CENTRO UNIVERSITÁRIO DO PLANALTO CENTRAL
PROFESSOR APPARECIDO DOS SANTOS

CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA – TCC

ELISÂNGELA MORAIS JAIME

EFEITO DO EXTRATO DO *EUCALYPTUS GLOBULUS* EM FÊMEAS INGURGITADAS DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS*.

GAMA – DF

2019

ELISÂNGELA MORAIS JAIME

EFEITO DO EXTRATO DO *EUCALYPTUS GLOBULUS* EM FÊMEAS INGURGITADAS DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS*.

Artigo apresentado como requisito para conclusão do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos – Uniceplac.

Orientador(a): Profª Dr. Alberto Andrade Reis Mota

GAMA – DF

2019

UNICEPLAC

ELISÂNGELA MORAIS JAIME

EFEITO DO EXTRATO DO *EUCALYPTUS GLOBULUS* EM FÊMEAS INGURGITADAS DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS.*

Artigo apresentado como requisito para conclusão do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos – Uniceplac.

Gama, 24 de junho de 2019

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Alberto Andrade Reis Mota
Orientador – UNICEPLAC

Prof. Manuella Rodrigues de Souza Melo
Examinador - UNICEPLAC

Prof. Daniela Carrilho
Examinador - UNICEPLAC

EFEITO DO EXTRATO DO *EUCALYPTUS GLOBULUS* EM FÊMEAS INGURGITADAS DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS*.

Elisângela Morais Jaime | **MORAIS**, Elisângela[1]

Alberto Andrade Reis de Mota | **MOTA**, Alberto[2]

Resumo:

Nos últimos anos os pets têm conquistado um espaço cada vez mais próximo aos humanos e a preocupação com a saúde e bem-estar tem crescido muito. O *Rhipicephalus sanguineus* conhecido como carrapato do cão, pode parasitar o homem devido à estreita ligação sendo o principal transmissor de doenças como Erliquiose, babesiose e algumas zoonoses como a febre maculosa. Diversos óleos essenciais apresentam propriedades acaricidas, sendo já comprovado a ação doo óleo essencial do *Eucalyptus Globulus* em carrapatos do tipo *Boophilus microplus*. Neste trabalho é testado o efeito acaricida (taxa de oviposição e de eclosão) deste óleo em fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. Foram estudadas diferentes faixas de concentrações, de 0,30% a 30% e condições variadas de solventes: solução aquosa, hidroetanólica e contendo o tensoativo dodecilsulfato de sódio. Concluiu-se que em baixas concentrações de óleo seu efeito acaricida se torna bastante reduzido, não sendo eficaz para o combate a estes carrapatos, o contrário já foi observado para concentrações acima de 10%. Além disso também foi observado no trabalho que nas concentrações mais altas a variação dos constituintes do solvente pode alterar a capacidade acaricida do óleo.

Palavras-chave: Eucalipto. Acaricida. Fitoterapia. Cães. Controle de Carrapatos.

Abstract:

In recent years, pets have become more and more close to humans, and concern for health and well-being has grown a lot. The *Rhipicephalus sanguineus* known as the dog tick, can parasitize the man due to the close connection being the main transmitter of diseases like Erliquiose, babesiose and some zoonoses as the spotted fever. Several essential oils have acaricidal properties, and the action of the essential oil of *Eucalyptus Globulus* on *Boophilus microplus* ticks has already been proven. In this work the acaricidal effect (oviposition and hatch rate) of this oil on engorged females of *Rhipicephalus sanguineus* is tested. Different concentration ranges from 0.30% to 30% and various solvent conditions were studied: aqueous solution, hydroethanolic and containing the surfactant sodium dodecylsulfate. It was concluded that in low concentrations of oil its acaricidal effect becomes very low, not being effective to combat these ticks, the opposite has already been observed for concentrations above 10%. In addition,

[1] Graduanda do Curso de Medicina Veterinária, do Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos – Uniceplac. E-mail: elisangelamoraisjaime@gmail.com.

[2] Professor e Doutor, do Centro Universitário do Planalto Central Apparecido dos Santos – Uniceplac. E-mail: albertomotabr@gmail.com.

it was also observed in the work that in the higher concentrations the variation of the solvent constituents can alter the acaricidal capacity of the oil

Keywords: Eucalyptus. Acaricide. Phytotherapy. Dogs. Tick Control

AGRADECIMENTO

A Deus por me fortalecer e nunca me abandonar, por me amar tanto e me capacitar para que eu pudesse chegar até aqui.

A minha querida professora Leila Costa que me ajudou a elaborar o meu primeiro projeto ainda no primeiro período da faculdade e me incentivou a seguir com a pesquisa.

A Professora Liana e professora Manuela que me ajudaram e incentivaram no projeto.

A professora Fabiana Fonseca, que sempre me ajudou com palavras de apoio e por me incentivar a participar do projeto de iniciação cientifica, ela acreditou muito na minha capacidade e não me deixou desistir.

Ao meu orientador, Prof. Alberto Andrade Reis Mota, pela paciência e imprescindível orientação acadêmica, por ter acreditado no meu projeto e ter contribuído muito para o resultado final.

A todas as colegas do laboratório de química e do laboratório de Parasitologia que contribuíram com carinho e atenção durante a construção deste Trabalho.

"É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota."

(Theodore Roosevelt)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A esquerda: Árvore da espécie *Eucalyptus globulus Labill*. A direita destaque das fluores folhas e flores da mesma espécie.

Figura retirada de Fonte:
htttp://www.anbg.gov.au/photo/apii/name/Eucalyptus+globuluS..... **14**

Figura 2. A esquerda: Galho contendo folhas e flores da espécie *Eucalyptus globulus*. A direita destaque as flores da planta

Fonte: Fotos de arquivo pessoal, 2018 ..... **14**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Taxas de oviposição e de eclosão de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus Sanguineus* em baixas concentrações de óleo de eucalipto em solução de água com 1,25% de SDS **19**

Tabela 2. Taxas de ovipostura e eclosão dos ovos por fêmeas ingurgitadas *Rhipicephalus Sanguineus* em soluções com diferentes condições de polaridade e concentrações de óleo de eucalipto glóbulos acima de 10% **20**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LVC	Leishmaniose Visceral Canina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PNAD	Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 10
1.1 *Rhipicephalus sanguineus* 10
1.2 Fitoterapia 12
1.3 *Eucalyptus Globulus* 14
2. MATERIAIS E METÓDOS 17
2.1 Extração do óleo de Eucalipto 17
2.2 Coleta das fêmeas Ingurgitadas e preparo das amostras 18
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO 20
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS 24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁICAS 25

1. INTRODUÇÃO

A indústria de produtos pets é uma das que vêm mostrando maiores crescimentos nos últimos anos, os laços cada vez mais íntimos entre o homem e seu pet, coloca os cães em papel importante para epidemiologia de algumas doenças, pois o carrapato vermelho do cão pode parasitar o homem, aumentando assim a preocupação em controlar esse parasita.

Muito se falam do famoso Óleo de Eucalipto que costuma ser conhecido com uma agente eficaz em prol de vários problemas, esse óleo possui um aroma refrescante bem similar ao da menta, trazendo assim um aroma mentalizado. Já foi provado cientificamente sua proficiência em tratamentos de problemas respiratórios, dos quais podemos citar a falta de ar, a bronquite e até mesmo a asma. Também muito usado em tratamentos de dores musculares e em processos biológicos de inflamação, por sua vez também é adquirido com um repelente, assim, prevenindo de picadas de mosquitos de todas as espécies.

Na condição da Aromaterapia, possuímos cerca de 04 (quatro) tipos diferentes de óleo natural de eucalipto, dos quais são conhecidos como: *Eucaliptus Globulis*, *Eucaliptus Citriodora*, *Eucaliptus Stageriana* e por fim o *Eucaliptus Radiata*.

O eucalipto foi escolhido para realização da pesquisa devido sua capacidade terapêutica, por ser uma espécie facilmente encontrada e por apresentar resultados satisfatórios em estudos realizados com outra espécie de carrapato.

A pesquisa de fitoterápicos tem se mostrado uma fora alternativa de controle de ectoparasitas sendo assim promissora, uma vez que a toxicidade destas substâncias pode ser bastante reduzida frente a produtos químicos sintéticos.

1.1 *Rhipicephalus sanguineus*

A espécie de carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806), também conhecida como carrapato vermelho do cão, é considerada o ixodídeo mais prevalente no mundo (PEGRAM et al., 1987). Esta prevalência deve-se à sua fácil adaptação tanto em ambientes urbanos quanto em rurais e pela facilidade de transporte pelo seu principal hospedeiro, o cão doméstico. (DANTAS-TORRES, FIGUEREDO, & BRANDÃO-FILHO, 2006).

Este fato colocam os cães com um papel importante na epidemiologia de algumas doenças que ocorrem ao homem, pois os carrapatos podem transmitir diversas espécies de riquétsias como, Rickettsia rickettsii e a Rickettsia conorii , e outros agentes causais como da febre maculosa e febre botonosa. (PRETTE, MONTEIRO, GARCIA, & SOARES, 2006,

DANTAS- TORRES, 2008A, 2008C, WALKER; KEIRANS; HORAK, 2000). Estudos antigos como o de GODDARD (1989) já verificaram a relação do aumento de casos de erliquiose humana devido à infecção por Ehrlichia canis, causada pelo parasitismo do Rhipicephalus sanguineus também ao homem.

No Brasil os principais patógenos transmitidos por carrapatos descritos em cães são Babesia canis vogeli, Ehrlichia canis, Anaplasma platys, Hepatozoon canis e Mycoplasma haemocanis (SPOLIDORIO et al., 2011). Por seu hábito alimentar hematófago, aumentos destas infestações também levam a aumentos das proliferações de patógenos exclusivos para a espécie canina, acarretando piora na qualidade de vida dos cães e também uma diminuição da expectativa de vida dos mesmos.

Alta prevalência de infestações urbanas desta praga tem preocupado muito os veterinários e segundo Guglielmone e colaboradores 2006, foram notificadas infestações de *Rhipicephalus sanguineus* em humanos nos municípios de Goiana-GO, Recife-PE, Pedreira - SP e Cachoeira do Sul-RS, essas aparições fizeram da doença algo maior do que os pesquisadores acreditavam ser. Tornando-se um ectoparasita de interesse da saúde pública, pois embora seja parasita natural de cães tem a capacidade de carrear e transmitir uma série de agentes patogênicos para os seres humanos, como a febre maculosa. (DANTAS TORRES et al., 2006).

O controle do *Rhipicephalus sanguineus* geralmente é realizada por carrapaticidas sintéticos que feita de maneira errônea tem proporcionado o surgimento de carrapatos cada vez mais resistentes aos princípios ativos desses produtos químicos que apresentam alta toxicidade aos animais e ao homem, além de seus malefícios ao meio ambiente. Em busca de técnicas alternativas e que tenha eficácia no controle do carrapato, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas, a fim de reduzir a utilização dos produtos químicos e os riscos por eles causados (CHAGAS, 2004).

Conforme pesquisa realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) apontou que 44,3% dos domicílios do país possuem pelo menos um cachorro, o equivalente a 28,9 milhões de unidades domiciliares. Os dados se referem a 2013. O IBGE estimou a população de cachorros em domicílios brasileiros em 52,2 milhões, o que dá uma média de 1,8 cachorro por domicílio que tem pelo menos um cão. O dado mostra que, no Brasil, existem mais cachorros de estimação do que crianças. De acordo com outra pesquisa do IBGE, a Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios (PNAD), em 2013, havia 44,9 milhões de

crianças de até 14 anos. Confirmando assim os laços cada vez mais íntimo e com maior contato entre o homem e seus cães contribuindo para o aumento de zoonose.

1.2 Fitoterapia

A Fitoterapia é o termo usado para tratamentos ou procedimentos com a utilização de plantas, para auxilio e tratamento de doenças. Nos dias atuais, é bem comum ouvir falar em medicamentos fitoterápicos, que neste caso são medicamentos com base de sua matéria-prima em alguma parta de uma planta, no universo da biologia usamos o termo "efeito farmacológico" para definir tais produções que são encontradas em forma de cápsula, pomada, extrato e entre outros. Assim, sendo considerado um fitoterápico.

A rica biodiversidade na flora do Brasil, com aproximadamente 55.000 espécies, torna a fitoterapia uma alternativa capaz de superar essa problemática, porém estudos sobre o controle da espécie estudada neste trabalho sejam escassos.

Para Araújo Filho (2000), a fitoterapia e a homeopatia são bases para o controle de doenças na produção animal ecológica, trazendo a vantagem do melhor retorno econômico pelo menor desembolso com a compra de produtos químicos industrializados, não deixando resíduos tóxicos contaminantes, além de terem demonstrado resultados na prevenção e na cura dessas doenças.

A utilização dos extratos vegetais tem mostrado ser uma alternativa eficiente no controle de ectoparasitas e endoparasitas. Algumas pesquisas demonstram que a espécie *Azadirachta* indica (Neem ou nim) apresenta ação carrapaticida, tanto em larvas, quanto em fêmeas adultas (KEMMELMEIER & MOSSINI, 2005; TERASSANI et al., 2012). Indo além através de pesquisas e estudos utilizando plantas nativas do cerrado tais como melão de São Caetano, neem e capim santo já foram fonte de pesquisas para avaliar eficácia desses vegetais no controle do *Rhipicephalus sanguineus*. (ANDRADE et al, 2013).

Como já falamos no início do trabalho, após diversas pesquisas e estudos foi descoberto que para repelir e controlar a manifestação do carrapato (carrapaticida) a planta do Eucalipto possui nítida proficiência em combate e repelência de tais parasitas, tendo destaque a espécie da planta de codinome *Corymbia citriodora*, que se tornou uma das mais utilizadas na produção de óleos essências (VITTI & BRITO, 2003). Alguns autores descrevem o uso desses óleos com

ação de repelir e de inseticida em meados 2002 (CHAGAS et al., 2002), portanto os estudos ainda eram in vitro.

Uma alternativa eficaz no controle de parasitas em forma de repelentes ou até mesmo carrapaticidas, é a fitoterapia. No entanto, em nossa medicina veterinária, diferentemente do que acontece na medicina humana, vertentes como essa utilizando o controle de doenças ainda são mínimas. Existe uma diversidade de plantas que são tradicionalmente conhecidas por possuírem atividade anti-helmíntica, da qual ressaltamos que sua eficácia e proficiência são comprovadas cientificamente (VIEIRA, 2003).

Após essa chamada "avaliação cientifica" relativos aos benefícios fitoterápicos em controles de parasitas, possuem como certo a eficiência de plantas de âmbito medicinais. Os testes *in vitro* permitiram a análise da existência de fatores dos quais combatiam com proeminência as ações helmínticas (COSTA *et al*., 2002).

O emprego de óleos vegetais no controle do carrapato tem sido foco de pesquisas em vários países (ÁLVAREZ et al., 2008). No Brasil, trabalhos que utilizaram óleos emulsionáveis de eucalyptus (Eucalyptus spp.) (Myrtaceae), rotenoides extraídos do timbó (Derris urucu) (Fabaceae) (VERÍSSIMO, 2004), e azadirachtina, presente em plantas da família Meliaceae (Melia azedarach) (BORGES et al., 2003; SOUSA et al., 2008), mostraram-se promissores no controle desse parasito.

Muitos estudos estão sendo desenvolvidos para o controle de Boophilus microplus (carrapato de bovinos) através da utilização de extratos de Cymbopongon citratus (capim – cidreira) (HEIMERDINGER, 2005). Pesquisas com extratos vegetais para controle de R. Sanguineus, estudo realizado em Juazeiro na Bahia, (ANDRADE, A. W. F. et al, 2013).

A redução nos parâmetros reprodutivos observados em pesquisa realizada por Silva, W.W (2006), para B. microplus e R. sanguineus os resultados obtidos indicam que os extratos alcoólicos das folhas do neem e do capim santo, são potencialmente úteis para o controle de carrapatos das espécies B. microplus e R. sanguíneos.

Embora sabemos que as plantas medicinais vêm sendo utilizada a séculos pela da civilização, houve um crescente significativa em sua utilização nas últimas décadas, como forma alternativa para controlar certos parasitas, minimizando a resistência por causar um desenvolvimento lento de resistência. Além disso são biodegradáveis e não causam resíduos

danosos, assim reduzindo os impactos ambientais. (CHAGAS, 2004). Porém a utilização e eficácia na medicina veterinária ainda são pouco conhecidas.

1.3 *Eucalyptus Globulus*

O gênero *Eucalyptus* pertence à família *Myrtaceae* e ordem *Myrtales*, possui grande variedade de espécies, entre elas algumas híbridas, distribuídas pelo mundo (PIGATO & LOPES, 2001). No Brasil, a espécie *Eucalyptus globulus Labill* é conhecida principalmente como eucalipto, *eucalyptus*, eucalipto-comum e eucalipto-limão. (J Silva, 2003; GM BASTOS, 2011).

Em forma de exemplos e especificações básicas, os *Eucalyptus* spp., em geral, apresentam fruto seco, capsular e folhas alternas, como pode ser observado na **figura 1**. No Brasil é no início da primavera que ocorre a floração (JOLY, 1998) dos mesmo que podem ser vistos abaixo da estrofe, **figura 2**. As folhas possuem cheiro forte (aromático), balsâmico e próprio; o sabor é amargo, resinoso, primeiramente quente e depois com sensação de frescor (COSTA, 1975). Fotos da planta na **figura 1** segundo literatura e foto 2 (dois) de arquivos de âmbito pessoal.

Figura 1. A esquerda: Árvore da espécie *Eucalyptus globulus Labill*. A direita destaque das fluores folhas e flores da mesma espécie. | **Figura retirada de Fonte**: http://www.anbg.gov.au/photo/apii/name/Eucalyptus+globulus

Figura 2. A esquerda: Galho contendo folhas e flores da espécie Eucalyto globulus. A direita destaque as flores da planta | **Fonte:** Fotos de arquivo pessoal, 2018

Depois de muito se estudar a respeito dos benefícios do óleo de eucalipto é comprovado que sua proficiência vai além do imaginado pelos pesquisadores. Através de seus princípios ativos o óleo remove manchas, previne de gripe e resfriado sendo utilizado como expectorante, do qual limpa o organismo de toxinas causadoras de tais incidentes, e sem contar que é um ótimo fitoterápico no auxílio de problemas respiratórios, e alergias e sinusite.

Farmacologicamente diversos estudos foram realizados com vários derivados vegetais de E. *globulus* utilizando metodologias *in vitro*. Estudos relatam em sua grande maioria o grande potencial antibacteriano da espécie. Os extratos aquoso, metanólico, hidroalcoólico, acetônico e diclorometânico obtidos das folhas do eucalipto, por exemplo, foram testados em concentrações de 0,61 a 10.000 µg/ mL no teste de difusão de disco, exibindo atividade considerável frente a isolados clínicos de Pseudomonas aeruginosa (V PEREIRA, 2014 et al).

Segundo estudo realizado por ROTTINI MM(2011), óleo essencial do eucalipto glóbulos demonstrou atividade leishmanicida significativa contra formas promastigotas após 24 horas de tratamento em concentrações variando de 1,87 a 60 µg/ mL. Em concentrações capazes de inibir o crescimento dos parasitos em 50%, sem apresentar toxicidade às células.

Referente a toxicidade aguda indicam que a administração do extrato metanólico das folhas da espécie é segura, mesmo em doses elevadas do derivado vegetal, não apresentando alterações de comportamento e nem mesmo apresentando óbitos entre os animais tratados (SHARMA B, 2011).

O *E. Glóbulus* em concentrações de 625 µg/ mL, apresentou efeito fungicida, promovendo a morte celular em 81% das espécies avaliadas, sendo a *C. albicans*, *C. tropicalis* (Castro RDd e Lima EdO, 2010). Já para cepas de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium poae* e *Fusarium moniliforme*, o extrato etanólico bruto obtido de caules e folhas do eucalipto também apresentou percentuais de inibição de crescimento consideráveis (TEQUIDA MENESES, 2002).

Os diversos extratos vegetais de *E. Glóbulos* e os óleos essenciais do mesmo, além das atividades farmacológicas já citadas, também demonstraram atividade anti-helmíntica, antiviral, imunoestimulante, antiplasmódica, inseticida e acaricidas. (TAUR DJ 2010), (CERMELLI C 2008), (SERAFINO A 2008), (ZOFOU D 2011), (MACIEL MV 2010), (GENDE L 2010).

Com relação ao carrapato, diversas plantas têm sido utilizadas em programas de controle, na tentativa de redução na utilização de produtos acaricidas sintéticos, tais como o neem (*Azadirachta indica*) (MARTINEZ, 2002), o capim-gordura (*Melinis multiflora Beauv*.) (PRATES et al., 1993) e algumas espécies do gênero *Stylosanthes* (CASTREJÓN et al., 2003). Veríssimo (1993) relata ainda que, além destas espécies citadas, também o capim-colonião (*Panicum maximum*) possui o efeito de matar as larvas do carrapato ou, pelo menos, de diminuir a sobrevivência destas nas pastagens formadas por esta espécie, isoladamente, ou em consórcio com outras espécies.

Estudos demonstram a eficácia do Eucalipto Sp sobre fêmeas ingurgitadas de em carrapato de bovinos, constatou -se que óleo essencial de eucalipto (*E. citriodora, E. Maigeriana e E.Globulos*) apresentam eficácia máxima em fêmeas ingurgitadas e também sobre as larvas de *B. Microplus* (carrapato bovino). (CHAGAS, 2002).

Devido a estreita relação entre cães e homens, levando em consideração a transmissão de doenças nos casos às zoonoses, e as populações de carrapatos cada vez mais resistentes aos carrapaticidas sintéticos, a escassez de pesquisas direcionadas ao Eucalipto glóbulos para controle de carrapato em cães, e a busca por biocarrapaticidas que sejam menos agressivos, ao homem, aos animais e ao meio ambiente o presente trabalho objetivou avaliar o efeito carrapaticida do E. Globulus sobre teleóginas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*.

2. MATERIAS E MÉTODOS

2.1 Extração do óleo de Eucalipto

O Eucalipto foi colhido na cidade do Gama, DF, sendo retirado galhos e folhas inteiros de árvores. Após colhidos foram colocados em um laboratório a temperatura ambiente e sem incidência de radiação solar e as folhas só foram separadas dos galhos no momento de sua utilização para destilação. Os galhos não eram mantidos por mais de um mês até a extração do óleo de eucalipto. As folhas foram processadas em liquidificador até uma granulação grossa para um aumento a superfície de contato destas com o solvente, otimização da extração do óleo.

Em todos os testes realizados foi utilizado o método de arraste a vapor para obtenção do óleo sendo utilizado para a técnica um destilador clevenger. Foram pesadas em média 100 gramas de folhas já processadas, sendo estas transferidas para o balão e completadas para 250 mL de água destilada. Na destilação por arraste a vapor, a água leva consigo, ao evaporar, os óleos voláteis presentes na planta. Uma vantagem é que não é necessário atingir o ponto de ebulição do óleo (176 °C), que seria mais alto que a temperatura na qual se obtém o mesmo por esta técnica (95 °C), sendo armazenado a água e o óleo destilados em um reservatório do próprio aparelho. Após terminada a destilação, o material óleo/água é separado por um processo semelhante a um funil de separação onde deixa-se escorrer a água, fase inferior do material bifásico e é recolhido em um frasco separado o óleo que está na fase superior.

A presença de qualquer traço de água no óleo bruto obtido foi retirada com a adição de sulfato de sódio anidro, logo após a destilação que foi posteriormente separado do óleo por filtração. Não houve nenhum método posterior de purificação do óleo obtido.

O tempo de destilação foi de 4 horas de duração, sendo o óleo recolhido em frasco âmbar, seco conforme descrito anteriormente e imediatamente acondicionado em congelador. A quantidade de óleo obtida para 100 g de folhas foi de 3,172 gramas, sendo o rendimento de extração semelhantes a estudos sobre o método de extração escolhido, a média de extrato obtido pelos estudos é de 3,00%. (FARASHIANI, 2013)

A pesquisa foi realizada no laboratório de química e laboratório de parasitologia do Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos- UNICEPLAC na cidade do Gama-DF.

2.2 Coleta das fêmeas Ingurgitadas e preparo das amostras

As teleóginas ingurgitadas do *R. Sanguineus* foram coletadas diretamente de cães infestados de forma aleatória na periferia da cidade do Gama- DF. Assim que eram coletadas, foram acondicionadas em um vasilhame de plástico limpo e com tampa perfurada, permitindo a ventilação e transporte.

No laboratório as teleóginas foram selecionadas pelos maiores tamanhos, pesadas, lavadas com água destilada e secas com papel toalha. Os carrapatos foram separados em grupos de 3 a 5 carrapatos, para a realização dos testes de imersão.

Cada grupo foi imerso em diferentes soluções contendo diferentes concentrações do óleo de eucalipto: Soluções de água pura com óleo, água e dodecilsulfato de sódio (SDS) com o óleo e água com etanol e óleo, sendo mantidos por 10 minutos imersos nestas misturas.

É importante ressaltar que o óleo de eucalipto foi todo obtido pela destilação de arraste a vapor, não sendo utilizada a solução hidroetanólica para extração do óleo e sim apenas para observar o efeito do etanol na mistura junto com a água e o óleo.

Após o banho, os carrapatos foram retirados da solução com uma pinça, enxugadas com auxílio de papel absorvente e coladas em decúbito dorsal com o auxílio de fita dupla face em placas de Petri, segundo as recomendações de Drummond et al. (1973). Em cada placa, durante os experimentos foram pesadas de 3 a 5 fêmeas a depender das quantidades de carrapatos disponíveis. As placas contendo as fêmeas foram mantidas em condições ambientes com uma média de temperatura de 32 °C e umidade média de 65%. Após o início da ovipostura, e ao final os ovos foram retirados e acondicionados em tubos de ensaio, onde foram mantidos sob mesma temperatura e umidade para se observar o início da eclosão.

A taxa de ovipostura foi calculada pelo número de carrapatos colocados na placa e que os que realizaram a ovipostura, segundo as equações abaixo, adaptadas de Junior (2005). (JÚNIOR DUNEZEU ALVES, C.; DE OLIVEIRA, P.)

$$Taxa\ de\ ovipostura = \frac{número\ de\ carrapatos\ que\ ovipostaram}{número\ de\ carrapatos\ totais\ colocados\ no\ ensaio}$$

A taxa de eclosão foi calculada pelo número de ovipostagens recolhidas para determinado ensaio, pelo número de ovipostagens nas quais houve eclosão dos ovos como na equação a seguir:

$$Taxa\ de\ eclosão = \frac{número\ de\ ovipostagem\ eclodidas}{número\ de\ ovipostagens\ colocadas}$$

Nas concentrações mais baixas, 0,31, 0,62, 1,23, 2,47% de óleo na solução final, foram realizadas apenas com a mistura H2O/SDS. As concentrações de 10, 20 e 30% foram realizadas com as soluções de H2O/Etanol, H2O/SDS e H2O pura.

Nas três misturas em que foram realizados os testes onde adicionou-se o óleo, também foram realizados testes controle (sem adição de óleo). Sendo um grupo de carrapatos imersos em: H2O pura, um grupo em H2O/1,25% (m/m) SDS e um último grupo em H2O/ 25%(v/v) Etanol.

Tanto o SDS quanto o etanol foram adicionados à solução aquosa para se avaliar os efeitos dos constituintes na formulação.

Os parâmetros observados para a análise dos resultados foram as taxas de ovoposição e as taxas eclosão dos ovos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não são encontrados na literatura relatos da utilização de extratos aquosos do óleo de eucalipto como forma de controle do carrapato *R Sanguineus* em cães. Desta maneira, optou-se por discutir os resultados obtidos no presente trabalho com relatos existentes na literatura em pesquisas semelhantes, porém realizados com os carrapatos da espécie *R. Booplhilus microplus.*

Inicialmente foram testadas baixas concentrações do óleo de eucalipto em soluções contendo o surfactante SDS. A escolha desta substância, além de servir para avaliar os efeitos dos constituintes na formulação, também foi realizada devido a ser uma substância comum em muitos compostos com formulações detergentes, como no caso de sabões e shampoos e para aumentar o coeficiente de solubilidade do óleo de eucalipto em água.

As baixas concentrações iniciais de testes em SDS foram realizadas com o intuito de, caso observada eficiência no impedimento da ovipostura ou na taxa de eclosão dos ovos em alguma destas concentrações, as mesmas não fossem tão agressivas para cães em formulações

de sabonetes e shampoos carrapaticidas, uma vez que o faro dos mesmos é bastante aguçado e o cheiro do eucalipto muito forte.

Os resultados obtidos nestas concentrações, menores que 5% de óleo em água, não foram satisfatórios, uma vez que não foi observado o impedimento da ovipostura pelos carrapatos. Foi notada uma baixa redução na taxa de eclosão, sendo esta provavelmente ocasionada pelo surfactante, uma vez que no ensaio de controle havendo o SDS também se observou uma mesma taxa de eclosão, Tabela 1.

Tabela 1. Taxas de oviposição e de eclosão de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus Sanguineus* em baixas concentrações de óleo de eucalipto em solução de água com 1,25% de SDS.

% de óleo em H_2O/SDS (1,25%)	**Taxa de ovipostura**	**Taxa de eclosão dos ovos**
Controle H_2O	100%	100%
Controle H_2O/SDS	100%	80%
0,31%	100%	80%
0,62%	100%	80%
1,23%	100%	80%
2,47%	100%	80%

Em um estudo realizado por Chagas et al (2002), a utilização de substâncias tensoativas, afim de transformar os óleos em concentrados emulsionáveis melhorou os resultados acaricidas das misturas óleo/água, porém segundo os autores, este aumento deve-se à adição do tensoativo tornar o concentrado lipofílico e hidrofílico, reduzindo o tamanho das partículas do óleo em água, através da modificação das interações entre estas moléculas e permitem uma maior biodisponibilidade para as substâncias presentes no óleo penetrar e agir sobre o carrapato.

Não são encontradas na literatura estudos que relacionam o efeito de surfactantes diretamente na ovipostura ou na taxa da eclosão dos ovos de carrapatos, podendo este fato estar relacionado a: Interações entre o surfactante diretamente com os ovos, que são revestidos por uma cera superficial, produzido pelo órgão de Gene, no momento da ovipostura, havendo assim uma possível janela de contaminação desta cera pelo surfactante presente no corpo da fêmea ou a alguma internalização do surfactante pela fêmea levando a uma mudança na oogênese que atrapalhe o desenvolvimento do embrião e leve o mesmo a morte, porém estudos posteriores são necessários para conclusões sobre o que causou esta diminuição na taxa de eclosão dos ovos.

Com os resultados insatisfatórios do efeito em baixas concentrações do óleo, foram testadas também concentrações mais altas, igual e superiores a 10% de óleo em água. O mesmo autor citado no parágrafo anterior, relata que em concentrações acima destas porcentagens há no mínimo 48% de mortalidades das fêmeas ingurgitadas, não chegando estas nem mesmo a realizar ovipostura. (CHAGAS et al., 2002)

Os resultados obtidos com as fêmeas para as concentrações acima de 10% podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2. Taxas de ovipostura e eclosão dos ovos por fêmeas ingurgitadas *Rhipicephalus Sanguineus* em soluções com diferentes condições de polaridade e concentrações de óleo de eucalipto glóbulos acima de 10%

Concentração do óleo	**Solução**					
	Aquosa		**Hidroetanólica**		**com SDS**	
	Ovipostura	Eclosão	Ovipostura	Eclosão	Ovipostura	Eclosão
Controle	100%	100%	100%	100%	100%	100%
10%	0%	0%	100%	40%	25%	100%
20%	0%	0%	0%	0%	--	--
30%	0%	0%	0%	0%	50%	50%

Nas concentrações de óleo em água, a partir de 10% do óleo, nenhum carrapato realizou ovipostura. Este resultado encontra-se em concordância com resultados obtidos na literatura para carrapatos Boophilus microplus. Segundo Chagas et.al (2002) para as concentrações de 20 e 30% de óleo de eucalipto leva a uma taxa de mortalidade de 100% dos carrapatos, ainda no estudo realizado pelos autores, na concentração de 10% há uma taxa de mortalidade de 48% dos carrapatos.

Neste trabalho não se observou a taxa de mortalidade dos carrapatos, porém a não ovipostura pelas fêmeas ocorreu devido a sua morte, ou seja, em 10% de óleo de eucalipto, houve 0% de taxa de ovipostura pelas fêmeas (resultado observado na tabela 2), o que pode-se concluir que houve nesta concentração de óleo um total de 100% de mortalidade das mesmas, taxa esta maior que a encontrada por Chagas.

É comum observar na literatura, a extração dos princípios ativos das plantas por maceração, onde a mesma é deixada em contato com um solvente extrator por dias ou semanas. Em um estudo realizado por Almança et.al. (2013), o autor realiza este tipo de extração para a erva de santa maria (chenopodium ambrosioides), com solução hidroetanólica 25% e testa os

extratos em carrapatos Boophilus microplus obtendo melhores resultados de taxas de eclosão dos ovos destes carrapatos que extrações realizadas apenas por soluções aquosas, 31,87% de eficácia do extrato alcoólico. Outros estudos como também mostram que a ação acaricida do extrato etanólico do Eucalyptus SP, apresentou eficácia média de 97.45% no controle sobre fêmeas ingurgitadas de Boophilus microplus, com concentração do extrato em 5%. Demonstrando assim eficácia acaricida sobre carrapato bovino. (RH Alves, et al 2014). Porém deve-se ressaltar que estes estudos realizam a extração por maceração, sendo no presente estudo foi realizada a extração por arraste a vapor e posteriormente o óleo extraído foi misturado a uma solução água/ etanol 25%.

O propósito de misturar o etanol em água foi de avaliar o efeito da presença deste solvente na mistura contendo o óleo e não utilizar suas propriedades para a extração do óleo da planta, como nos trabalhos onde é utilizado o etanol misturado à água. Desta maneira, com o resultado de taxa de ovipostura de 100% e taxa de eclosão de 40% com a concentração de 10% do óleo na solução hidroetanólica pode-se concluir que, para o óleo puro já extraído, obtém-se melhores resultados sobre a ovipostura e eclosão dos ovos do carrapato quando o óleo é misturado apenas em água.

Para a misturas de óleo em maiores concentrações na solução de H2O/SDS os resultados não foram conclusivos, uma vez que houve uma maior taxa de ovipostura na concentração de 30% de óleo que nas concentrações mais baixas: 50% das fêmeas realizaram ovipostura a 30% de óleo na mistura, enquanto apenas 25% das fêmeas realizaram ovipostura com 10% de óleo na mistura. Para as taxas de eclosão, observa-se que um maior impedimento em concentrações maiores de óleo de eucalipto, porém o efeito do óleo de eucalipto na mistura H2O/SDS não é tão eficiente quanto o efeito do óleo em água pura. Ao contrário do relatado por Chagas et.al.(2002) onde a presença de tensoativos, leva a uma maior eficiência na taxa de mortalidade dos carrapatos Boophilus microplus. A falta de fêmeas ingurgitadas impediu que fossem realizados os testes na concentração de 20% de óleo em H2O/SDS.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que existe um efeito acaricida do óleo de eucalipto em fêmeas ingurgitadas do *Rhipicephalus sanguineus* e demonstram que estes efeitos são observados apenas em maiores concentrações do óleo. Em concentrações acima de 10% de óleo há uma inibição não só da eclosão dos ovos como também de ovipostura das fêmeas. Em concentrações abaixo de 5% não foram observados nem impedimento de ovipostura pelos carrapatos tampouco da eclosão dos ovos. A eficiência do eucalipto como carrapaticida ou até mesmo como repetente para este ectoparasita ainda precisa ser mais esclarecida embora os testes demonstraram efeito quando realizados em concentrações iguais ou superiores a 10% inibiram a ovipostura e acima de 20% ocasionaram a morte da teleógenas.

Não há relatos na literatura da utilização de óleo de *Eucalipytus globulus* para o controle de carrapatos em cães, sendo este estudo pioneiro no que diz respeito a utilização desta planta controle de pragas em ambientes domésticos. Assim, sugere-se que novas pesquisas sejam desenvolvidas para se descobrir quais concentrações mínimas de inibição da ovipostura de carrapatos por estes óleos e quais os efeitos de tensoativos no potencial acaricida destas substâncias e no processo de ovipostura dos carrapatos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALMANÇA, C. C. J. et al. Eficácia in vitro de extratos de Chenopodium ambrosioides sobre teleóginas de Rhipicephalus (Boophilus) microplus Arquivos do **Instituto Biológico scielo**, 2013.

ANDRADE, A. W. F. Comprovação da eficácia de fitoterápicos regionais no controle do Rhipicephalus sanguineus 2013. **Universidade Federal do Vale do São Francisco**, 56304-917 Petrolina, PE, Brasil.

BASTO GM *et al*. Determinação in vitro do potencial antimicrobiano de preparações caseiras de plantas medicinais utilizadas para o tratamento de doenças infecciosas. 2011;32(1):113- 20.

BERRADA ZL, TELFORD SR. Burden of Tick-borne Infections on American Companion Animals**. Topics Compan Anim. Med**. 2009; 24(4):175-181

BRASIL, **Ministério da Saúde**. Tabela de casos confirmados de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas 2007 a 2015.
Disponível em: Http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/febremaculosaes.def acesso em: 29/04/2019

CASTRO RDd, LIMA EdO. Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de Eucalyptus globulus L. sobre Candida spp Antifungal activity of the essential oils from Eucalyptus globulus L. on Candida spp. **Rev odontol UNESP** (Online).39(3), 2010

CHAGAS, A. C. DE S. et al. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de Eucalyptus spp em Boophilus microplus Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal **Science scielo**, 2002.

CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas usando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n.1, p.156-160, 2004.

CERMELLI C, FABIO A, FABIO G, QUAGLIO P. Effect of eucalyptus essential oil on respiratory bacteria and viruses. **Curr Microbiol**. 2008;56(1):89-92

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L.A.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, p.64-67, 2006.

DANTAS-TORRES, F *et al*. Detection of Leishmania infantum in Rhipicephalus sanguineus ticks from Brazil and Italy. **Parasitology Research**, v.106, p.857-860, 2010.

FARASHIANI, M. et al. Extraction methods effects on composition and toxicity of Eucalyptus essential oil. **Life Science Journal** v.10, p.2401-2405, 2010

GABRIELA M, *et al*. Óleo essencial de *Eucalipto globulus* na forma pura e nano estruturada sobre carrapato bovino, mosca doméstica e mosca do chifre: **Teste in vitro e in vivo**. 2015.

GODDARD, J. Focus of human parasitism by the brown dog tick,Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae). **J Med Entomol**, v. 26, n. 6, p. 628-629, 1989.

HEGARTY BC *et al*. Ehrlichia muris infection in a dog from Minnesota. J Vet Intern Med. 2012; 26(5):1217-1220.

HEIMERDINGER, A.: Extrato alcoólico de capim-cidreira (Cymbopogon citratus) no controle do carrapato (Boophilus microplus) de bovinos leiteiros. Dissertação. **Universidade Federal de Santa Maria**, 78p., 2005.

LABRUNA, M. B. Biologia-ecologia de Rhipicephalus sanguineus (Acari: ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia e Veterinária**, 2004; 13, 123-124.

MACIEL MV *et al*. Chemical composition of Eucalyptus spp. essential oils and their insecticidal effects on Lutzomyia longipalpis. **Veterinary Parasitology**. 2010;167(1):1-7

NICHOLSON WL *et al*. The increasing recognition of rickettsial pathogens in dogs and people. **Trends Parasitol**. 2010; 26(4):205-212.

OGRZEWALSKA M *et al*. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. Parasitology. 2012;139(10):1283-300. PMid:22716923.

PAZ GF, LABRUNA MB, LEITE RC. Ritmo de queda de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) de cães artificialmente infestados. **Rev Bras Parasitol Vet** 2008a; 17:139-144.

PAZ GF *et al*. Evaluation of the vectorial capacity of Rhipicephalus sanguineus (Acari:Ixodidae) in the transmission of canine visceral leishmaniasis. **Parsitol Res 2010a**; 106:523-528.

PEGRAM, R.G *et al*. Clarification of the Rhipicephalus sanguineus group (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). II. R. sanguineus (Latreille, 1806) and related species. **Systematic Parasitology**, v.10, n.1, p.27-44, 1987.

PEREIRA V *et al*. Antibacterial activity and synergistic effects between Eucalyptus globulus leaf residues (essential oils and extracts) and antibiotics against several isolates of respiratory tract infections (Pseudomonas aeruginosa). **Industrial Crops and Products**. 2014;52:1-7.

REEVES WK *et al*. 2008. The first report of human illness associated with the Panola Mountain Ehrlichia species: a case report. **J Med Case Rep**. 2-139.

RH ALVES, IL MENDONÇA, JP DOS SANTOS. Ação do extrato etanólico de Eucalyptus sp. sobre fêmeas ingurgitadas e larvas de Rhipicephalus (Boophilus) microplus- 2015

RICARDO H *et al*. Efeito do extrato etanólico de Eucalyptus sp. sobre fêmeas ingurgitadas e larvas de Rhipicephalus (Boophilus) microplus. (2014)

ROTTINI MM. Ação de óleos essenciais e do alfa-bisabolol em ensaios experimentais in vitro com *Leishmania amazonensis*

http://g1.globo.com/natureza/noticia/2015/06/brasileiros-tem-52-milhoes-de-caes-e-22-milhoes-de-gatos-aponta-ibge.html acesso em 29/04/19

SAVAGE HM *et al*. 2013. First detection of heartland virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) from field collected arthropods. **Am J Trop Med Hyg**. 89(3):445-452.

SHARMA B *et al*. Screening of some indian medicinal plant extracts for their antihyperglycemic activities in streptozotocin-induced diabetic mice. **Journal of Food Biochemistry**. 2011;35(5):1398-406.

SERAFINO A *et al*. Stimulatory effect of Eucalyptus essential oil on innate cell-mediated immune response. **BMC Immunology**. 2008;9

SILVA J *et al*. Analgesic and antiinflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. **Journal of Ethnopharmacology**. 2003;89(2- 3):277-83.

SPOLIDORIO, M.G *et al*. Molecular detection of Hepatozoon canis and Babesia canis vogeli in domestic dogs from Cuiabá, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária,** 20(3):253-255, 2011.

TAUR DJ, KULKARNI VB, PATIL RY. Chromatographic evaluation and anthelmintic activity of Eucalyptus globulus oil. **Pharmacognosy Res**. 2010;2(3):125-7

TEQUIDA MENESES M *et al*. Effect of alcoholic extracts of wild plants on the inhibition of growth of Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Penicillium chrysogenum, Penicillium expansum, Fusarium moniliforme and Fusarium poae moulds. **Rev Iberoam Micol**. 2002;19(2):84-8

VÉLEZ JCQ, HIDALGO M, GONZÁLEZ JDR. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. Universitas Scientiarum. 2012;17(1):82-99.

ZOFOU D *et al*. In vitro antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts of selected medicinal plants used by traditional healers of Western cameroon. **Malar Res Treat**. 2011;2011:561342.