

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

Atividade pulicida de óleos essenciais de *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus* em *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835)

Mariana Cunha Finamore

2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Atividade pulicida de óleos essenciais de *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus* em *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835)

MARIANA CUNHA FINAMORE

Sob a Orientação da Professora
Katherina Coumendouros

e Co-orientação do Professor
Douglas Siqueira de Almeida Chaves

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Veterinárias**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ
FEVEREIRO, 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

F491a Finamore, Mariana Cunha, 1982-
Atividade pulicida de óleos essenciais de Cedrela
fissilis, Mentha pulegium, Mentha arvensis e
Eucalyptus globulus em Ctenocephalides felis felis
(Bouché, 1835) / Mariana Cunha Finamore. -
Seropédica, 2019.
41 f.: il.

Orientadora: Katherina Coumendouros.
Coorientador: Douglas Chaves.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de pós graduação em
ciências veterinárias, 2019.

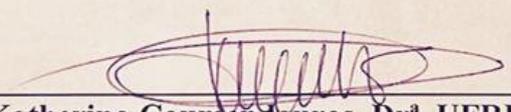
1. Atividade pulicida. 2. Óleos Essenciais. I.
Coumendouros, Katherina , 1968-, orient. II. Chaves,
Douglas , 1981-, coorient. III Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Programa de pós graduação em
ciências veterinárias. IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

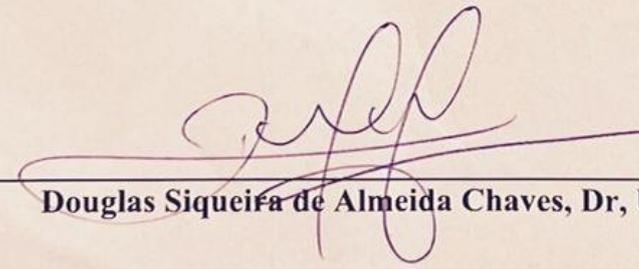
MARIANA CUNHA FINAMORE

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências Veterinárias**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

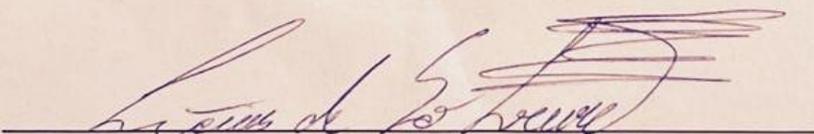
TESE APROVADA EM 25/02/19



Katherina Coumeñdours, Dr^a, UFRRJ



Douglas Siqueira de Almeida Chaves, Dr, UFRRJ



Licius de Sá Freire, Dr, FIPERJ

Ao meu lindo pai Weber, de onde quer que ele esteja, sei que está explodindo de orgulho...

AGRADECIMENTOS

Aos meus filhos, Gael e Théó, que me impulsionam a seguir com meus sonhos, cada vez que dizem que me amam.

A minha mãe, Marli, que abre mão de tudo por mim, que deixa minha vida muito mais fácil e sempre será minha melhor amiga.

Ao Felipe, meu amor, que me apoia em qualquer momento e foi grande motivador para que eu chegasse até aqui.

A minha amiga e psicóloga Renata Naylor, por todos esses anos de amizade e que me ajudou a manter a sanidade mental durante os últimos dois anos.

A minha “mãorientadora”, Katherina Coumendouros, que abriu as portas e me deu a oportunidade de crescer profissionalmente. Serei eternamente grata por tudo que me ajudou a construir.

Ao professor Fabio Barbour Scott, que muito mais que um mestre, é o grande maestro do laboratório.

A professora Yara Cid Peluso, que com muito carinho e paciência, colaborou enormemente para a execução do projeto.

As amigas Mariana e Paula que a biologia me deu, fundamentais para que tudo fosse concluído com mais doçura.

A todos os veterinários que trabalham comigo em Juiz de Fora e me ajudaram de várias formas, principalmente entendendo minha ausência para a realização de um sonho.

Aos professores e colegas do programa de Pós-Graduação, que sempre me ajudaram e enriqueceram minha experiência no mestrado.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES)-Código de Financiamento 001, agradeço o financiamento desta pesquisa.

BIOGRAFIA

Mariana Cunha Finamore nasceu na cidade de Juiz de Fora – MG, no dia 1º de maio de 1982, filha de Marli Cunha Finamore e Weber Josino Finamore. Em 2000 ingressou no curso de Medicina Veterinária do Centro de ensino superior de Valença – RJ, Fundação Dom André Arcoverde. Durante a graduação foi monitora da disciplina de Anatomia Patológica no ano de 2001. Graduou-se em Medicina Veterinária em dezembro de 2004. Em abril de 2005, começou a fazer parte do corpo clínico do Hospital Veterinário de Pequenos Animais, Prontovet na cidade de Juiz de Fora, MG, onde ainda trabalha como ultrassonografista e no atendimento de pacientes nefropatas no setor de hemodiálise. Proprietária da Maxiclin veterinária desde 2006, também na cidade de Juiz de Fora, atua no atendimento clínico e na administração. Em 2017, ingressou no Mestrado, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO

FINAMORE, Mariana Cunha. **Atividade pulcida de óleos essenciais de *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus* em *Ctenocephalides felis felis***. 2019 37 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

A pulga *Ctenocephalides felis felis* é o ectoparasita de pequenos animais de maior importância na medicina veterinária e o controle de pulgas adultas em animais infestados representa parte do programa necessário para eliminar efetivamente a população de ectoparasitos. Os fitoterápicos são ricos em substâncias que podem ser utilizadas no desenvolvimento de métodos seguros aplicados no controle de insetos. O presente trabalho tem como objetivo, avaliar a atividade de extratos de óleos essenciais de *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus*, e de possíveis derivados, contra *Ctenocephalides felis felis*. Foram utilizadas diferentes concentrações, de soluções mães desses óleos, impregnados em papel filtro e testada a mortalidade das pulgas após 24 horas e 48 horas. O óleo de *Cedrela fissilis* mostrou uma resposta linear com o aumento da concentração, alcançando 100% de mortalidade na concentração de 40000 µg/mL no tempo de 48h, representando uma ferramenta auxiliar para o controle de pulgas. Os demais extratos não apresentaram atividade relevante sobre *C. felis felis*.

Palavras chave: pulga, controle, plantas, cedro, menta, eucalipto

ABSTRACT

FINAMORE, Mariana Cunha. **Pulicidal activity of essential oils of *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* and *Eucalyptus globulus* on *Ctenocephalides felis felis*.** 2019 37 p. Dissertation (Master Science in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Veterinary Institute, Department of Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

The *Ctenocephalides felis felis* flea is the ectoparasite of small animals of major importance in veterinary medicine and the control of adult fleas in infested animals represents part of the program necessary to effectively eliminate the population of ectoparasites. Herbal medicines are rich in substances that should be used in the development of safe methods applied to insect control. The present work has the objective of evaluating the activity of extracts of essential oils of *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* and *Eucalyptus globulus*, and of possible derivatives, against *Ctenocephalides felis felis*. Different concentrations of mother solutions of these oils, impregnated on filter paper and tested for flea mortality after 24 hours and 48 hours, were used. *Cedrela fissilis* oil showed a linear response with increased concentration, reaching 100% mortality at the concentration of 40000 µg/mL in the time of 48 hours, representing an auxiliary tool for flea control. The other extracts did not present any relevant activity on *C. felis felis*.

Keywords: flea, control, plants, eucalyptus, mint, cedar

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 - Mortalidade média de <i>Ctenocephalides felis felis</i> tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de <i>Cedrela fissilis</i> em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$), após 24 e 48 horas de exposição.....	15
Tabela 2 - Mortalidade média de <i>Ctenocephalides felis felis</i> tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de <i>Eucalyptus globulus</i> em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$), após 24 e 48 horas de exposição.....	16
Tabela 3 - Mortalidade média de <i>Ctenocephalides felis felis</i> tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de <i>Mentha pulegium</i> em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$), após 24 e 48 horas de exposição.....	17
Tabela 4 - Mortalidade média de <i>Ctenocephalides felis felis</i> tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de <i>Mentha arvensis</i> em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$) após 24 e 48 horas de exposição.....	17
Tabela 5 – Resumo da análise do cálculo da CL_{50} , dos óleos essenciais de <i>Cedrela fissilis</i> , <i>Eucalypto globulus</i> e <i>Mentha pulegium</i> , sobre a pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i>	18
Gráfico 1 – Valores de CL_{50} e intervalos de confiança, da atividade pulicida dos óleos de <i>Cedrela fissilis</i> , <i>Eucalypto globulus</i> e <i>Mentha pulegium</i> contra <i>Ctenocephalides felis felis</i>	20

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aparelho Clevenger para hidrodestilação usado na obtenção dos óleos essenciais	12
Figura 2 – Ovos coletados da colônia, o material é peneirado e acondicionado em recipientes plásticos em câmara climatizada (tipo BOD)	13
Figura 3 – Tubos com papel filtro impregnado e dez pulgas, com diversas concentrações dos óleos essenciais	14

LISTA DE ABREVIACOES

- PCR Reação em cadeia da polimerase
- RCI Regulador de Crescimento dos Insetos
- IGR Insect Growth Regulator
- JHA Análogos de hormônio juvenil
- IDI Inibidores do desenvolvimento de insetos
- GABA cido gama-aminobutírico
- LQEPV Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária
- DPAP Departamento de Parasitologia Animal
- IV Instituto de Veterinária
- UFRRJ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
- DeQuim Departamento de Química
- OE leo essencial
- BOD Biological oxygen demand

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 - A Pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i>	3
2.2 – Importância clínica	3
2.3 - Controle de <i>Ctenocephalides felis felis</i>	4
2.3.1 - Controle Mecânico	5
2.3.2 - Controle Químico	6
2.3.2.1 – Avermectinas	6
2.3.2.2 – Fipronil	7
2.3.2.3 – Piretróides e piretrinas.....	7
2.3.2.4 – Reguladores de crescimento de insetos	8
2.3.2.5 – Isoxazolinás	8
2.3.3 – Controle biológico	9
2.3.4 – Plantas com atividade inseticida	9
2.3.4.1 - <i>Mentha arvensis e Mentha pulegium</i>	9
2.3.4.2 - <i>Cedrela fissilis</i>	10
2.3.4.3 – <i>Eucalyptus globulus</i>	10
3 - MATERIAL E MÉTODOS	11
4 – RESULTADOS	14
5 - DISCUSSÃO	18
6 - CONCLUSÃO	21
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

1 – INTRODUÇÃO

A pulga *Ctenocephalides felis felis*, é o ectoparasito mais importante em animais domésticos de pequeno porte, em todo o mundo. As últimas revisões abrangentes da biologia e controle da pulga foram fornecidas há duas décadas. Várias revisões tratando da resistência a inseticidas, toxicologia de inseticidas veterinários e controle das pulgas foram escritas durante este período. (RUST, 2017)

As consultas em dermatologia de pequenos animais representam 25 a 30% do total das consultas veterinárias, merecendo cada vez mais destaque na prática clínica diária, sendo objeto de estudos constantes devido, não só à sua incidência, mas também à relação de proximidade crescente entre animais e humanos (DRYDEN; RUST, 1994).

A pulga *Ctenocephalides felis felis* é o ectoparasita de pequenos animais de maior importância na medicina veterinária (DRYDEN; RUST, 1994). Em estudos de casos de atendimento clínico-dermatológico, o percentual de incidência de dermatite alérgica a picada de *Ctenocephalides spp* variam entre 25 a 40% de todos os casos, (MACHICOTE & YOTTI, 2005), sendo maior em felinos. Há estudos que comprovam que a incidência ainda é maior em machos. A taxa de prevalência de *Ctenocephalides felis* em gatos atinge até 70% (BECK et al., 2006).

A *C. felis* é bem adaptada para infestar ambientes domésticos, sendo esta uma das principais características, a capacidade de gerar numerosos descendentes. A casa pode ficar infestada com um número excessivo de estágios de vida ao longo de algumas semanas (DRYDEN et al., 2015).

Anualmente, os gastos com o controle de pulgas em animais de companhia, é estimado em US\$ 1 bilhão nos EUA e € 1,1 bilhões na Europa Ocidental (GEURDEN et al., 2017).

O controle de pulgas adultas em animais infestados é importante e representa parte do programa necessário para eliminar efetivamente a população de ectoparasitos. Apesar da população adulta de pulgas nos animais domésticos representar apenas cerca de 5% da infestação total de pulgas em uma habitação, enquanto os outros 95% da população é constituída por ovos, larvas e pupas no ambiente doméstico (WILLIAMS et al., 2014).

As substâncias oriundas de óleos essenciais vegetais, ocupam lugar de destaque em estudos atuais, pois podem oferecer os mesmos efeitos benéficos que substâncias sintéticas. Diante dos problemas causados por essas substâncias à saúde de maneira geral e ao meio ambiente, a busca por alternativas naturais vem motivando a pesquisa nessa área (SILVA, 2014).

O uso de plantas como medicamentos é tão antigo como a medicina popular e pode fazer parte de um tratamento adjuvante ou principal ou de acordo com os preceitos do proprietário de pet. No Canadá há uma certa valorização de tratamentos orgânicos ou fitoterápicos com diferentes espécies de plantas, como *Melissa officinalis*, *Artemisia vulgaris*, *Lavandula officinalis*, *Juniperus communis* e *Thuja plicata* no tratamento contra *C. felis felis* (LANS; TURNER; KHAN, 2008).

As espécies botânicas que elaboram os compostos dos óleos essenciais são distribuídos em um número limitado de famílias como Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae e Piperáceas (BRUNETON, 1999).

A espécie vegetal *Mentha pulegium* da Família Lamiaceae é conhecida vulgarmente por poejo ou menta selvagem (SILVA, 2014). Estudos de Boukhebt et al. (2011) demonstraram a presença de pulegona, mentona e isomentona como componentes majoritários. Já a *Mentha arvensis* é amplamente estudada por seu efeito repelente contra *Trialeurodes vaporariorum* (TASLI et al., 2017), a inibição da ovoposição de alguns ácaros (PAVELA et al., 2016) e efeito inseticida propriamente dito (KUMAR et al., 2009). A variabilidade do óleo de pulegona apresenta propriedades inseticidas para vários gêneros de *Mentha spp* podendo apresentar 44 tipos constituintes em seu óleo (BOUKHEBTI et al., 2011).

O Cedro-rosa ou Acaiacá é uma árvore conhecida da espécie *Cedrela fissilis*. Seus frutos e sementes são objetos de estudo para extração dos derivados limonóides que demonstraram ação inseticida (AMBROZIN et al., 2006).

Espécies de *Eucalyptus sp.* não só servem para combustível de biomassa e reduzem os níveis atmosféricos de dióxido de carbono de forma direta, mas também funcionam de forma indireta através de seu óleo essencial usado como repelente de insetos e pragas, como um agente inseticida (BATISH et al., 2008).

2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - A pulga *Ctenocephalides felis felis*

As pulgas são insetos ápteros, de corpo achatado lateralmente, apresentando aparelho bucal sugador-pungitivo. Fazem parte da ordem Siphonaptera, com história evolutiva de 60 milhões de anos, que fazem infestação em hospedeiros endotérmicos, sendo 94% destes, mamíferos (DRYDEN; RUST, 1994). São descritas quase 3000 espécies, incluídas em 238 gêneros e 15 famílias (LEWIS, 1998). A pulga *C. felis* tem larga distribuição em muitos países, sendo a mais comum no Brasil e encontrada em 17 estados (LINARDI, 2012).

No ciclo biológico da pulga encontramos duas fases, sendo uma no hospedeiro, as formas adultas (machos e fêmeas) que são estritamente hematófagas e a outra no ambiente onde são encontradas as formas imaturas, ou seja, os ovos, as larvas, as pré-pupas e as pupas, além de adultos recém emergidos dos pupários (CORREIA, 2007). O ciclo tem duração média de 25 a 30 dias e está diretamente relacionado às condições ambientais, sendo influenciado principalmente pela temperatura e umidade (LINARDI, 2004).

De 24 a 36 horas depois do repasto sanguíneo e ovoposição, a eclosão dos ovos já pode acontecer. Esses ovos tem formato ovóide, esbranquiçados, e medindo em torno de 300 a 700 µm e uma fêmea alimentada deposita aproximadamente 1800 ovos em 50 dias (DRYDEN; RUST, 1994). São 3 estágios larvais que passam por muda a cada 3 dias, passando por curta fase de pré-pupa e enfim na fase pupal, onde o estímulo do próprio hospedeiro que provoca a emergência dos adultos (SILVERMAN; RUST, 1985).

2.2 - Importância clínica

A *Ctenocephalides felis felis* possui grande importância clínica por ser a ectoparasitose mais comum, exercendo ação irritativa, espoliadora e inflamatória, além de ser responsável pela transmissão de algumas moléstias (DRYDEN; RUST, 1994; LINARDI, 2004).

As pulgas como ectoparasitos infestantes, podem causar reações alérgicas que incluem sintomas como pápulas, crostas, eritema, alopecia, entre outros; já animais não alérgicos são portadores assintomáticos. São descritas diferentes lesões de pele quando há apenas a dermatite por picada e a dermatite alérgica, que se manifesta na região

dorsal lombo-sacra em formato triangular , podendo se estender por todo corpo do animal (LINARDI, 2004).

O estudo das interações entre *C. felis felis* e seus endossimbiontes abre novas perspectivas sobre a participação destas pulgas na epidemiologia das endoparasitoses em que participa como hospedeiro intermediário ou vetor, seja biológico ou mecânico. A pulga atua como hospedeiro intermediário do cestóide *Dipylidium caninum* habitualmente encontrado no intestino delgado dos cães e gatos e eventualmente no homem, e do filarídeo *Dipetalonema reconditum* parasita de cães. Além disso, são consideradas vetores biológicos de agentes patogênicos que representam risco potencial para a saúde, como *Rickettsia typhi* , *Rickettsia felis*, *Bartonella henselae* e *Yersinia pestis* (AVELAR, 2006; RUST, 2017). Através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi possível reconhecer o DNA de *Leishmania chagasi* em *Ctenocephalides felis felis* coletadas de cães naturalmente infectados na cidade de Belo Horizonte - MG (COUTINHO; LINARDI, 2007).

2.3 – Controle de *Ctenocephalides felis felis*

Para o sucesso no controle de infestações por esses ectoparasitas torna-se necessária uma combinação de estratégias, incluindo o uso de inseticidas hospedeiro/alvo e de ação ambiental, além de meios mecânicos de eliminar ou reduzir as fases imaturas do ambiente (BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, 2009). Estratégias de controle devem ser colocadas em prática, utilizando abordagens que representem menores riscos ambientais, à saúde animal e humana.

Combinado a um interesse crescente nas práticas de agricultura biológica, levou-se a um aumento na pesquisa para o desenvolvimento de alternativas e abordagens para o manejo de ectoparasitas, tais como óleos essenciais (WALL, 2013).

Nos últimos anos, mais atenção tem sido dada à rapidez com que os tratamentos matam as pulgas adultas. O pensamento predominante tem sido a velocidade de matar a pulga adulta, influenciando diretamente na prevenção e controle da dermatite alérgica a picada de pulgas (RUST, 2017) .

2.3.1 - Controle mecânico

A primeira medida para o controle mecânico de pulgas, nos animais domésticos é a higiene aliada à catação manual das pulgas. No ambiente, deve ser feita uma varrição cuidadosa, lavar o piso e a cama do animal, bem como cobertas, mantas, tapete e panos utilizados pelo mesmo, além do uso de aspirador em tapetes, almofadas e móveis (LINARDI & GUIMARÃES, 2000). A própria vibração do aparelho estimula a emergência de pulgas adultas de seus casulos, para que possam ser coletadas pelo aspirador, tomando as devidas providências para que os sacos do aspirador não provoquem uma recolonização do ambiente (SILVERMAN; RUST, 1985).

Em um programa de controle de pulgas, é importante que o tutor esteja ciente de que em qualquer lugar que o animal infestado tenha acesso, ovos de pulgas estarão sendo depositados. Portanto, lugares onde o animal passa a maior parte do tempo terão o maior número de ovos depositados e conseqüentemente, maior infestação. Este é o lugar onde as medidas de controle devem ser concentradas (DRYDEN, M. W; NEAL, J. J.; BENNETT, 1989). O controle mecânico deve preceder o uso de outras formas químicas de controle para maior eficácia (BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, 2009).

2.3.2 - Controle químico

Nos últimos 20 anos, numerosas novas substâncias ativas também apareceram. Um padrão de desempenho e eficácia geral estabelecido pela Agência Europeia de Medicina é 95% de mortalidade de pulgas e nos EUA é aceito 90% de mortalidade. Baseado em resultados dos grupos controle positivo e tratado, um valor recomendado ocorre quando pelo menos 95% das pulgas são mortas em ambos os grupos. Esses padrões são consistentes com as diretrizes da Associação Mundial de Parasitologia Veterinária. Controles positivos (um produto de referência padrão) são recomendados para validar tratamentos em animais e, portanto, muitos estudos relatam dados comparativos de eficácia a outros produtos existentes no momento do estudo (RUST, 2017). Dados consideráveis acumularam-se nos últimos anos para apoiar o novo paradigma de tratar o animal de estimação e não o meio ambiente (RUST, 2005).

2.3.2.1 - Avermectinas

Avermectinas são produtos da fermentação de fungos do solo *Streptomyces avermitilis* que possui eficácia anti-helmíntica e inseticida. A compreensão atual do

modo de ação das lactonas macrocíclicas envolve, a abertura de canais de cloreto nas membranas musculares dos artrópodes, levando à paralisia do inseto. Os compostos comercializados como abamectina, ivermectina, milbemicina e selamectina não têm atividade sistêmica contra pulgas em estudos de membrana artificial (ZAKSON-AIKEN et al., 2001). Mas, a ivermectina apresenta baixos níveis de eficácia no controle desses insetos. No entanto, uma associação de moxidectina e imidacloprid bem como a selamectina têm sido utilizadas para o controle de pulgas. A selamectina possui ainda a recomendação em bula de que possui atividade contra ovos (BRANDÃO, 2004).

2.3.2.2 - Fipronil

O fipronil é um inseticida fenilpirazólico que foi introduzido nos EUA em 1996 para uso em saúde animal e controle interno de pragas. Ele impede a função normal das funções nervosas da pulga, bloqueando os canais de cloro dos neurônios no sistema nervoso central, ligados ao ácido gama-aminobutírico (GABA) e, assim, compartilha um sítio de ligação comum com ciclodienos e t-butilbifosforotriatos. Formulações tópicas em spray para cães mataram 100% das pulgas por pelo menos 16 dias e 90% por 29 dias (LIEBISCH, A. AND REIMANN, 2000). Em um ambiente doméstico, aplicações tópicas forneceram redução de 97% do número de pulgas no animal de estimação e redução de 0,96% nos estágios do ciclo de vida fora do hospedeiro (RUST, 2005).

Estudos apontam que fipronil é pouco tóxico para organismos não alvos, outros descrevem que este inseticida apresenta alta toxicidade para parasitoides úteis em agroecossistemas e invertebrados aquáticos (OLIVEIRA, 2010) além de potencial efeito carcinogênico (LYONS, 2000).

2.3.2.3 - Piretróides e piretrinas

Piretróides e piretrinas sinergizadas, para uso tópico, são especialmente destacados por serem vendidos sem receita médica. Uma formulação de 65% de permetrina em éter monometílico de propilenoglicol proporcionou uma redução de 97,7% no número de *Ctenocephalides felis felis* em beagles durante 28 dias (ENDRIS et al., 2003).

O controle de ectoparasitas de importância veterinária com inseticidas neurotóxicos sintéticos estão cada vez sendo menos utilizados pelo possível desenvolvimento de uma resistência a inseticidas. Além disso, estão sendo aplicadas restrições quanto ao uso de alguns inseticidas, como organoclorados, organofosforados e piretróides, devido a seus efeitos sobre a saúde humana e ambiente (WALL, 2013).

2.3.2.4 - Reguladores de crescimento de insetos (IGR):

Os compostos químicos que interferem no crescimento e desenvolvimento de artrópodes são coletivamente referidos como reguladores de crescimento de insetos (IGR). Eles podem ser subdivididos ainda por seu modo de ação em análogos de hormônio juvenil (JHA) e inibidores do desenvolvimento de insetos (IDI) (RUST, 2005). Um IGR é uma substância que atua no interior de um inseto para acelerar ou inibir um processo de regulação fisiológica essencial para seu desenvolvimento normal ou de seus descendentes. Possuem como alvo outros órgãos que não os do sistema neural e atuando de forma lenta e gradual interferindo no crescimento e desenvolvimento do inseto, além de muito seguros para os mamíferos, pois os mesmos não apresentam estruturas quitinosas ou receptores para estas moléculas (GRAF et al., 2004).

A utilização de JHA, como o piriproxifen, mimetizam a atividade o efeito do hormônio juvenil, impedindo a evolução para o próximo estágio. Essa substância apresenta comprovada eficácia na interrupção do desenvolvimento da pulga *C. felis felis*, quando empregado no cão, no gato e no ambiente (RUST, 2005). Estudos recentes evidenciam eficácia na eliminação da infestação por *Ctenocephalides felis felis*, com o uso de uma combinação de piriproxifen, dinotefuran, e permetrina em coelhos. (BORGES et al., 2018)

Em uma outra categoria de IGR, temos o lufenuron, que a partir do seu efeito sistêmico, inibe a síntese de quitina durante o desenvolvimento do inseto, causando a degeneração das células epidérmicas da pulga, necessárias para o desenvolvimento normal da cutícula larval (MEOLA et al., 1999).

2.3.2.5 - Isoxazolinas

Esta nova classe de substâncias tem demonstrado uma atividade acaricida e inseticida potente, através de um mecanismo duplo de ligação aos canais neuronais de

cloreto dependentes de GABA e glutamato em invertebrados suscetíveis. E possui uma alta seletividade para artrópodes e um perfil de segurança muito favorável em vertebrados, incluindo cães (WILLIAMS et al., 2014). Com base nas suas propriedades farmacocinéticas, um efeito duradouro é observado. Está diretamente ligado aos níveis plasmáticos máximos alcançados após a ingestão e à ligação as proteínas plasmáticas (BEUGNET; LIEBENBERG; HALOS, 2015).

Estudos apontam grande eficácia no uso de fluralaner, com apenas uma administração, é possível ter o controle de ectoparasitas por, no mínimo, 17 semanas. Isso é extremamente vantajoso em relação às outras moléculas, que demandam administrações mais frequentes (DRYDEN et al., 2015).

Outras moléculas do grupo das isoxazolininas, como o sarolaner e o afoxolaner, também exibiram ampla eficácia contra ectoparasitas, com redução de 99,8% e 99,2%, respectivamente, em um mês após a administração (J.A.B. BEZERRA, I.R.S. CARDOSO, R.T.G.A. RODRIGUES, 2017).

2.3.3 - Controle biológico

O fundamento básico de um controle biológico, é a capacidade de controlar ou até mesmo combater parasitas, utilizando-se de outros organismos vivos como fungos, bactérias e protozoários, ou seja, a partir das relações entre os indivíduos é possível eliminar determinadas espécies parasitas (MELO, I. S; AZEVEDO, 1998).

Os fungos entomopatogênicos *Metarhizium anisopliae* inibiram com sucesso os ovos de pulgas da eclosão e *Beauveria bassiana* conseguiu matar as pulgas adultas (DE MELO et al., 2008). Embora esses fungos tenham sido repetidamente mostrados como tóxicos para as pulgas, eles nunca foram desenvolvidos para estratégias de controle (RUST, 2017).

2.3.4 – Plantas com atividade inseticida

Óleos essenciais de plantas, na maioria das vezes são obtidos a partir da folhagem, através de vapor ou hidrodestilação. São misturas complexas de principalmente terpenóides, particularmente monoterpenos e sesquiterpenos, e uma variedade de fenóis, óxidos, éteres, álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas aromáticos que determinam o aroma e odor característico da planta doadora. A presença dessas substâncias nas plantas fornece uma importante estratégia de defesa, particularmente

contra pragas de insetos herbívoros e fungos patogênicos, além de desempenhar um papel vital nas interações planta-planta servindo como atrativos para os polinizadores (BATISH et al., 2008). A presença de monoterpenos voláteis ou óleos essenciais, fornecem uma importante estratégia de defesa para as plantas, particularmente contra pragas de insectos herbívoros e fungos patogênicos. (LANGENHEIM, 1994)

Algumas plantas repelentes são conhecidas por sua capacidade de controle de insetos e outras pragas, devido aos compostos das plantas, impeditivos de alimentação, toxinas e reguladores de crescimento. A maioria das plantas pode ser agrupada em cinco categorias químicas principais: (1) compostos nitrogenados (principalmente alcalóides), (2) terpenóides, (3) fenólicos, (4) inibidores de proteinase e (5) reguladores de crescimento (MAIA, M., & MOORE, 2011).

Ultimamente, os óleos essenciais estão sendo experimentados como potenciais candidatos a manejo de pragas e doenças, principalmente porque os óleos essenciais são facilmente extraíveis, sendo ecologicamente biodegradáveis e facilmente catabolizado no ambiente além de não persistem no solo e na água e possuem baixa ou nenhuma toxicidade contra vertebrados (BATISH et al., 2008; MARTINEZ-VELAZQUEZ et al., 2014).

Há um crescente corpo de evidências que indicam o valor potencial dos óleos essenciais como agentes de controle contra uma variedade de ectoparasitos. No entanto, a natureza volátil dos óleos essenciais sugere que sua atividade residual provavelmente será de curta duração (WALL, 2013).

2.3.4.1 - *Mentha arvensis* e *Mentha pulegium*

As espécies vegetais que constituem o gênero *Mentha*, pertencentes à família Lamiaceae, também denominadas hortelãs, possuem crescimento rápido e geralmente suportam variações significativas nas condições agroclimáticas. Existe um grande interesse econômico na utilização industrial de substâncias extraídas destas plantas, devido apresentarem o monoterpeno mentol em suas constituições, sendo este amplamente usado nas indústrias farmacêutica, cosmética, de higiene pessoal e alimentícia (PAVELA et al., 2016; SANTOS et al., 2012).

Os efeitos farmacológicos do óleo essencial de *Mentha pulegium*, foram relatados por Boukhebt et al. (2011): efeito abortivo no miométrio de ratos, atividade

citotóxica contra diferentes linhagens de células humanas e seu efeito antioxidante. Os ingredientes do óleo de *Mentha pulegium* e *Mentha arvensis* foram submetidos a vários estudos que mostraram uma diferença em seus constituintes dependendo da região de cultivo e houve algumas variações nos constituintes de diferentes países mas todos demonstraram a presença de pulegona, mentona e isomentona como componentes majoritários (BOUKHEBTI et al., 2011; PAVLIDOU et al., 2004). Diante destas descobertas muitos estudos são realizados quanto ao efeito fungicida, inseticida e acaricida sendo estes com resultados promissores contra *Drosophila melanogaster* (PAVLIDOU et al., 2004), *Callosobruchus chinensis*, inseto que causa grandes prejuízos na produção de grão de bico, *Cicer arietinum* (KUMAR et al., 2009) e *Tetranychus urticae*, ácaro da família Tetranychidae (PAVELA et al., 2016).

2.3.4.2 – *Cedrela fissilis*

A árvore do cedro *Cedrela fissilis* da Família Meliaceae é conhecida como cedro-cetim, cedro-rosa, cedro-missioneiro ou acaiaçá é uma árvore nativa do Brasil, apresenta constituintes importantes como o limonóide azadiractina, tetratriterpenos e tripterenóides. (BROCHINI; LAGO, 2007)

A busca de compostos inseticidas em espécies da família Meliaceae intensificou-se após o isolamento do limonóide azadiractina em 1968 por Butterworth, sendo este composto conhecido por apresentar atividade biológica sobre aproximadamente 400 espécies de insetos (MARTINEZ, 2002). Na avaliação bibliográfica, foi verificado que não existem muitos estudos em relação a atividade biológica dos óleos essenciais de *C. fissilis*, mas foram encontrados resultados de ensaios com larvas de *Aedes aegypti* (DE MENDONÇA et al., 2005), a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (MATOS et al., 2010), e a *Diabrotica speciosa*, um tipo de besouro conhecido por ser praga do feijão (SEFFRIN et al., 2008).

2.3.4.3 - *Eucalyptus globulus*

O eucalipto, pertencente a família Myrtaceae, é nativo da Austrália e é possui cerca de 700 espécies. O óleo obtido das folhas dessa planta fornece propriedades alelopáticas e defesa das folhas de eucalipto contra o ataque de insetos nocivos e, portanto, age como um pesticida natural. A eficácia biológica do óleo de eucalipto foi demonstrada em vários ensaios para diferentes fases da vida dos insetos. Sua toxicidade

é reconhecida contra adultos, larvas e ovos (BATISH et al., 2008; KUMAR et al., 2009).

De acordo com um relatório, o óleo essencial de eucalipto está entre os principais óleos comercializados do mundo e é conhecido há centenas de anos como antibacteriano, antifúngico e anti-séptico na natureza (BROOKER, M.I.H., KLEINIG, 2006).

O óleo de eucalipto é uma mistura de uma variedade de monoterpenos, sesquiterpenos e fenóis, óxidos, éteres, álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas aromáticas; no entanto, a composição exata e proporção de que varia com as espécies. A atividade pesticida dos óleos de eucalipto deve-se a componentes como 1,8-cineol (eucaliptol) , citronelal, citronelol, acetato de citronelila, p-cimeno, eucamalol, limoneno, linalol, a-pineno, g-terpineno, a-terpineol, aloocimeno e aromadendreno (BATISH et al., 2008).

Entre os vários componentes do óleo de eucalipto, o 1,8-cineol é o mais importante e característico do gênero *Eucalyptus*. Mostrou toxicidade contra piolhos da cabeça humana, *Pediculus humanus capitis* (YANG, Y.C. et al, 2004), larva do *Aedes aegypti* (BATISH et al., 2008) e pupa da *Musca domestica*.(KUMAR et al., 2012) Também notou-se ação repelente contra *Acanthoscelides obtectus*, além de reduzir a fertilidade, diminuir a eclosão de ovos, aumentar a mortalidade larval e prejudicar a emergência de adultos nessa espécie (PAPACHRISTOS; STAMOPOULOS, 2002) .

Mas por outro lado mostra baixo efeito acaricida já que a taxa de mortalidade, foi de apenas 37,5%, em carrapatos adultos aos 6 dias após a imersão em solução a 5% (WALL, 2013).

3 – MATERIAL E MÉTODOS

As plantas *Cedrela fissilis* (madeira), *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus* (folhas) foram coletadas e depositadas no herbário do Instituto de Botânica (UFRRJ, Brasil) sendo este material identificado sob os respectivos códigos RBR324675 - *Cedrela fissilis*, RBR324687 – *Mentha arvensis* e RBR324701 – *Eucalyptus globulus*, sendo que a *Mentha pulegium* ainda está em processo de classificação.

Todo material vegetal de foi seco à temperatura ambiente, protegido da luz e umidade, em seguida foi triturado e submetidas ao processo de extração por

hidrodestilação separadamente em um aparelho do tipo Clevenger. (FIGURA 1). Para os testes *in vitro*, com adultos de *Ctenocephalides felis felis*, foram obtidos óleos essenciais de *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus*.

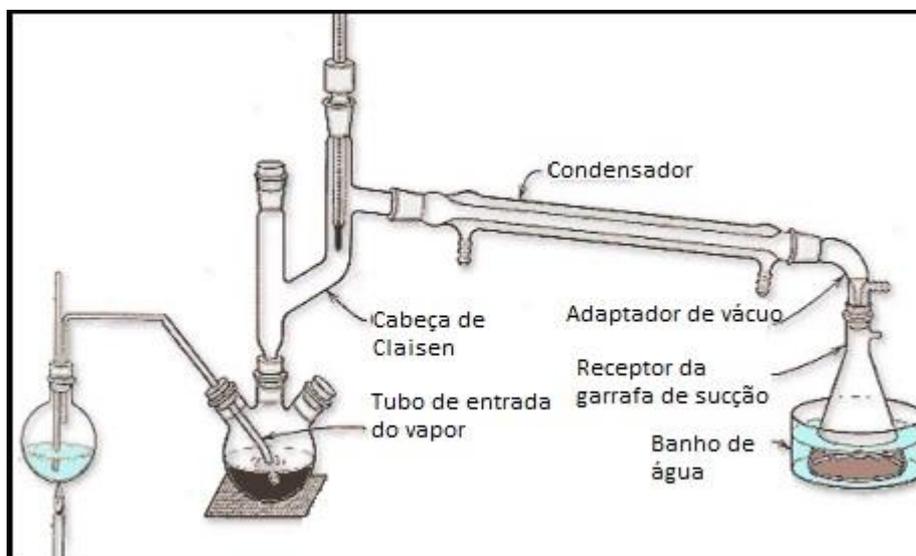


Figura 1 – Aparelho Clevenger para hidrodestilação usado na obtenção dos óleos essenciais (SILVA, L.V. ; CONSTANCIO, S.C.M. ; MENDES, M.F. ; COELHO, 2005).

As pulgas utilizadas são oriundas da colônia mantida nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV). A colônia de *C. felis felis* mantida em gatos desde de 1998 sem introdução de exemplares externos tem aprovado no Comitê de Ética em Utilização de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA – IV – UFRRJ) com número de protocolo 091/2014.

Para manutenção da colônia são utilizados gatos infestados duas vezes por semana com 50 casais de pulgas e realizadas coletas do material contido na bandeja das gaiolas do gatil. Esse material é coletado com auxílio de pincel e pá, depois o material é peneirado e acondicionado em recipientes plásticos adaptados com tampas teladas para manutenção dos diferentes estágios de pulgas e mantidos em câmara climatizada (tipo BOD) a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\pm 10\%$ até a emergência das pulgas adultas, como mostrado na figura 2.



Figura 2 – Ovos coletados da colônia, o material é peneirado e acondicionado em recipientes plásticos na câmara climatizada (tipo BOD)

No ensaio foram mantidos os grupos controle positivo separadamente e um grupo de controle negativo. O método utilizado para avaliar a mortalidade do produto em teste foi a impregnação de papel filtro. Cada papel filtro, com dimensões aproximadas de dez centímetros de altura por um centímetro de largura, foi impregnado com um volume de 0,2 mL com o auxílio de uma pipeta volumétrica graduada. Foram utilizadas concentrações de 40000 $\mu\text{g/mL}$, 20000 $\mu\text{g/mL}$, 10000 $\mu\text{g/mL}$, 5000 $\mu\text{g/mL}$, 2500 $\mu\text{g/mL}$, 1250 $\mu\text{g/mL}$, 625 $\mu\text{g/mL}$, 312,5 $\mu\text{g/mL}$, 156,25 $\mu\text{g/mL}$ e 78,1 $\mu\text{g/mL}$, para cada óleo essencial de cada planta. Para cada concentração e para os grupos controles positivo e negativo, foram empregadas duas repetições. Uma hora após o tratamento, dez adultos de *C. felis felis*, com a mesma idade, foram colocados em cada tubo, juntamente com o papel filtro, devidamente identificados, como mostra a figura 3. Os tubos foram fechados com tecido do tipo TNT e elástico e mantidos no ambiente, e avaliados em intervalos de tempo após o tratamento até completarem 48 horas. O critério utilizado para avaliação foi a motilidade do inseto. As pulgas que apresentaram qualquer tipo de movimento foram consideradas vivas.

O fipronil é o inseticida de escolha para ser utilizado no estudo como controle positivo, pois trata-se de uma substância com boa atividade seletiva contra os insetos (OLIVEIRA, 2010; RUST, 2005). No controle negativo, foi apenas utilizado papel filtro impregnado com diluente (acetona 20%). Os resultados para os controles negativos e positivos são necessários para validar o ensaio in vitro, demonstrando assim que os dados obtidos são confiáveis.



Figura 3 – Tubos com papel filtro impregnado e dez pulgas, com diversas concentrações dos óleos essenciais.

A avaliação da mortalidade corrigida, *in vitro* dos óleos essenciais sobre adultos de *C. felis felis*, foi realizada seguindo-se a fórmula de Abbot (1925), com base na média das repetições (R1 e R2)

$$\text{Mortalidade corrigida} = \frac{(\text{Mortalidade no tratamento} - \text{N}^\circ \text{ de mortos no controle})}{(100 - \text{N}^\circ \text{ de mortos no controle})} \times 100$$

Considerando a relação de sobrevivência e utilizando o método de análise próbite, foi verificado a normalidade dos dados amostrais sendo utilizado. Com os resultados encontrados neste teste foi avaliada a CL_{50} dos óleos de *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus* sobre adultos de *Ctenocephalides felis felis* através do programa IBM SPSS, versão 23.00.2.

4 - RESULTADOS

A mortalidade corrigida de *C. felis felis* adultas induzida pelo óleo de *Cedrela fissilis* foi de 90% no tempo de 24 horas e de 100% no tempo de 48 horas na concentração de 40.000 µg/mL 95% das pulgas estavam vivas no grupo controle negativo (TABELA 1). No entanto, na concentração de 5.000µg/mL a mortalidade diminui pela metade ficando em 49,49% no tempo de 48 horas, demonstrando uma mortalidade decrescente a medida que a concentração diminui. A mortalidade é diretamente proporcional a dose ou concentração do óleo essencial e tem relação com a biodisponibilidade para que o princípio ativo seja absorvido pelo parasito.

Entre os óleo essenciais testados, em diferentes concentrações, o óleo de *Cedrela fissilis* mostrou atividade inseticida com os valores de CL₅₀ de 7404,48 µg/mL e 4021,38 µg/mL após 24 e 48 horas, respectivamente. (TABELA 5) A estimativa da potência relativa apresenta um resultado 1,84 vezes maior em 48 horas, com limites de confiança de 95% entre 1,16 – 3,35, demonstrando que o tempo é fator de influência nos resultados de mortalidade.

TABELA 1 - Mortalidade de *Ctenocephalides felis felis* tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de *Cedrela fissilis* em condições de laboratório (27±1°C e UR 80±10%) , após 24 e 48 horas de exposição.

Tratamento (µg/mL)	24 Horas	48 Horas
Controle Negativo	0.00	5.00
Controle Positivo	100.00	100.00
78,1	20.00	29.29
156,25	15.00	29.29
312,5	0.00	34.34
625	0.00	39.39
1250	0.00	14.14
2500	15.00	34.34
5000	35.00	49.49
10000	65.00	79.80
20000	85.00	94.95
40000	90.00	100.00

Os ensaios de avaliação da atividade pulicida do óleo essencial de *Eucalypto globulus*, contra *C. felis felis* foram realizados com concentrações a partir de 1.250 µg/mL até 40.000 µg/mL. (TABELA 2). Na concentração de 10000 µg/mL, no tempo de 48 horas acontece uma mortalidade de quase 40% Na maior concentração, após 24 horas os percentuais de mortalidade foram de 25% e após 48 horas esses percentuais dobram para 54,55%, demonstrado pelo valor de estimativa de potência com relação entre elas de 9,21 e limites de confiança de 95% entre 2,45 – 198,78, que o tempo otimiza os resultados. Na análise, $p < 0,05$ demonstrando que os dados são normais. Os valores de CL_{50} ficam em 376428,67 com 24 horas e 40873,67 com 48 horas. (TABELA 5)

TABELA 2 - Mortalidade de *Ctenocephalides felis felis* tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* em condições de laboratório ($27 \pm 1^\circ C$ e UR $80 \pm 10\%$), após 24 e 48 horas de exposição.

Tratamento (µg/mL)	24 Horas	48 Horas
Controle Negativo	0.00	5.00
Controle Positivo	100.00	100.00
1250	0.00	9.09
2500	10.00	24.24
5000	0.00	19.19
10000	15.00	39.39
20000	15.00	24.24
40000	25.00	54.55

As avaliações, no tempo de 24 horas, utilizando óleo essencial de *Mentha pulegium* até a concentração de 10.000 µg/mL não apresentaram eficácia, nas doses sequências de 20.000 e 40.000 µg/mL, os resultados foram, respectivamente 60 e 65%. Nas contagens de 48 horas, a mortalidade de pulgas foram progressivas de 1.250 a 40.000 µg/mL. A máxima ação do óleo essencial foi 80%. Dentro do contexto das avaliações, verificou-se que as contagens de 48 horas tiveram um incremento residual, indicado pelo resultado de 79,80% (TABELA 3). Na análise da CL_{50} após 48 horas foi encontrado o valor de 11337,88 µg/mL, com intervalo entre 4491,81 – 32154,48 µg/mL (TABELA 5).

TABELA 3 - Mortalidade de *Ctenocephalides felis felis* tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de *Mentha pulegium* em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$), após 24 e 48 horas de exposição.

Tratamento ($\mu\text{g/mL}$)	24 Horas	48 Horas
Controle Negativo	0.0	5.00
Controle Positivo	100.00	100.00
78,1	0.00	14.14
156,25	0.00	44.44
312,5	0.00	34.34
625	0.00	24.24
1250	0.00	24.24
2500	0.00	9.09
5000	0.00	34.34
10000	0.00	34.34
20000	60.00	79.80
40000	65.00	74.75

Nos ensaios com óleo essenciais de *Mentha arvensis*, na concentração de $40.000\mu\text{g/mL}$, houve relevante mortalidade com valores de 84,85% em 24 horas e 89,69% em 48 horas. Já na concentração de $20000\mu\text{g/mL}$, a mortalidade foi de 17,53% em 48 horas e numa concentração menor, de $2500\mu\text{g/mL}$, a mortalidade foi maior e chegou a 63,92%. O controle negativo utilizado no teste com *M. arvensis* apresentou 85% ($n=20$) de pulgas vivas em 48h. No caso desse óleo essencial, os dados não suportaram a análise de próbites.

TABELA 4 - Mortalidade de *Ctenocephalides felis felis* tratadas com diferentes concentrações de óleos essenciais de *Mentha arvensis* em condições de laboratório ($27\pm 1^\circ\text{C}$ e UR $80\pm 10\%$) após 24 e 48 horas de exposição.

Tratamento ($\mu\text{g/mL}$)	24 Horas	48 Horas
Controle Negativo	5.00	15.00
Controle Positivo	100.00	100.00
78,1	9.09	12.37
156,25	9.09	12.37
312,5	9.09	22.68
625	0.00	0.00
1250	9.09	12.37
2500	49.49	63.92
5000	14.14	12.37
10000	9.09	12.37
20000	9.09	17.53
40000	84.85	89.69

TABELA 5 – Resumo da análise do cálculo da CL_{50} , dos óleos essenciais de *Cedrela fissilis*, *Eucalypto globulus* e *Mentha pulegium*, sobre a pulga *Ctenocephalides felis felis*.

	CL 50	95% CL_{50} Mínima	95% CL_{50} Máxima	R ² linear
<i>Cedrela fissilis</i> 24hrs	7404,48	5349,65	10056,63	0,97
<i>Cedrela fissilis</i> 48hrs	4021,38	2921,45	5423,96	0,98
<i>Eucalypto globulus</i> 24hrs	376428,67	91729,50	17795599,61	0,85
<i>Eucalypto globulus</i> 48hrs	40873,67	18025,77	276156,81	0,70
<i>Mentha pulegium</i> 24hrs	26927,23	9504,44	116070,24	1,00
<i>Mentha pulegium</i> 48hrs	11337,88	4491,81	32154,48	0,86

5 - DISCUSSÃO

A utilização de produtos industriais derivados da indústria química no controle de pragas e doenças da agricultura moderna, têm sofrido um grande questionamento pela sociedade por diferentes motivos ambientais como contaminação do solo, água e animais. Também é bastante conhecido o aparecimento de resistência por patógenos, pragas e plantas invasoras. As plantas são ricas em substâncias que podem ser utilizadas no desenvolvimento de métodos seguros aplicados no controle de insetos. O modo de ação dos óleos essenciais vegetais, totais ou fitoquímicos purificados, nos insetos, apresentam-se de diferentes formas, incluindo a ação por toxicidade, retardamento do desenvolvimento, inibição da alimentação e oviposição e redução da fertilidade e fecundidade. (WALL, 2013).

De acordo com Oliveira et al. (2011), a presença de pulegona, substância tóxica presente no óleo essencial da *M. pulegium*, impulsiona estudos do uso como repelente e mostra a importância de difundir o conhecimento químico dos metabólitos secundários dessa planta visando ao seu uso seguro. Porém o uso do óleo essencial não resultou em uma mortalidade satisfatória, já que ficou em 0% na concentração de 10000 µg/mL em 24 horas, podendo ter seu efeito potencializado a partir do uso da substância isolada. No cálculo da CL₅₀ é possível observar um valor elevado para a concentração letal e com um intervalo amplo de confiança.

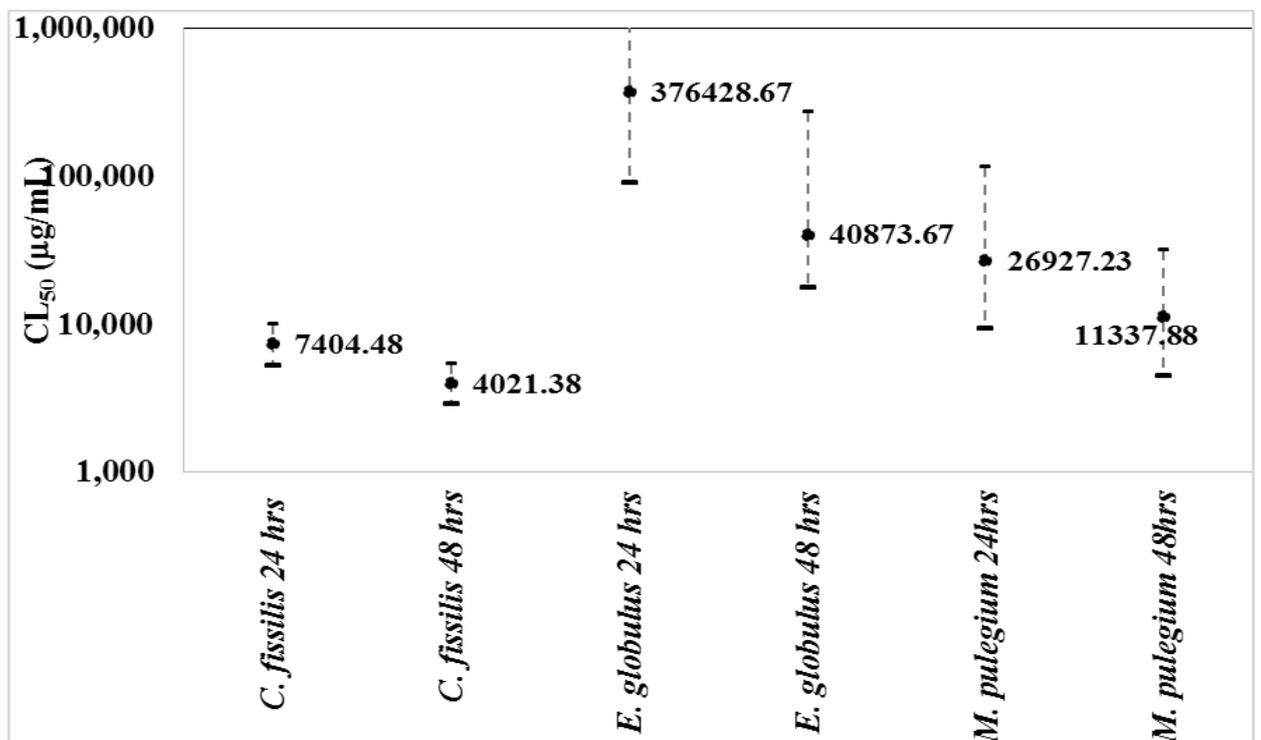
Apesar dos ensaios com *M. arvensis* não terem sido conclusivos, é importante ressaltar a importância da planta, já que já foi comprovado o seu potencial no controle de diversos organismos (CHAGAS, 2016; ISMAN; WAN; PASSREITER, 2001; MISHRA, 2012) ,sendo assim, novos estudos devem ser realizados para maximizar o potencial dessa planta no controle de *C. felis felis*.

Estudos com óleos essenciais das espécies do gênero *Cedrela sp.*, apresentaram atividade importante na larva da lagarta Lepidoptera. O óleo essencial diclorometânico de folhas de *C. fissilis*, que apresentou maior atividade inseticida devido ao alongamento da fase larval e diminuição do peso pupal e uma mortalidade larval importante de 63,3 % (MATOS et al., 2010) E nesse estudo foi verificada importante atividade pulicida com o uso do óleo essencial, com mortalidade de 100% em 48 horas na maior concentração. Carminate et al. 2014 realizaram um estudo fitoquímico e biológico do extrato etanólico da casca de *C.fissilis* e justificaram a atividade microbiana encontrada pela presença de saponinas, fenóis, taninos pirogálicos e triterpenóides. (CARMINATE; CARVALHO; PACHECO, 2014)

Os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* e seus componentes extraídos, ricos em cineol, podem ser utilizados para combater ácaros. (SAAD et al., 2006). Mas seria necessária investigação dos componentes dos óleos essenciais de *E. globulus*, para termos a percepção dos diferentes efeitos e dos seus constituintes, como inseticida contra *C. felis felis*, interpretando que os dados não foram lineares e com CL₅₀ de 40873,67 µg/mL, seria necessária uma concentração muito alta do óleo para uma mortalidade satisfatória.

A comparação entre os valores da CL₅₀ , estão representadas no gráfico 1 e permite a visualização das concentrações com maior mortalidade .

GRÁFICO 1 – Valores de CL₅₀ e intervalos de confiança, da atividade pulicida dos óleos de *Cedrela fissilis*, *Eucalypto globulus* e *Mentha pulegium* contra *Ctenocephalides felis felis*.



Novos ingredientes ativos e tratamentos combinados continuam a ser investigados e registrados como terapias orais em animais, embora haja uma série de excelentes produtos no mercado. Seu desenvolvimento parece ser impulsionado por questões de marketing, como conveniência, segurança, custo e necessidade de tratamentos que controlam uma variedade de pragas de artrópodes. No entanto, o aumento da conveniência para o consumidor pode levar ao uso excessivo e à resistência a medicamentos. Em um esforço para ampliar a atividade biológica dos produtos,

inúmeras combinações de inseticidas foram testadas e registradas nas últimas duas décadas. (RUST, 2017).

Estudos de Ellse e Wall (2013), podem considerar limitado o uso de óleos essenciais no controle de pulgas, visto que o efeito residual pode não ser satisfatório a ponto de promover uma prevenção da reinfestação pelo ambiente.

Há muitas variações na produção de drogas vegetais, a coleta de espécimes a campo para extração de óleos essenciais incluem o horário da coleta, os sistemas de chuvas e a utilização de raças e variedades nas plantas coletadas. (GONÇALVES; MANCINELLI; SALGADO, 2009) Estudos destacam como constituinte majoritário do *E. globulus*, o monoterpeneo 1,8-cineol, em percentuais que podem variar de 14,55 a 95,61%, conforme parte da planta, método de extração, local e época de coleta. Além disso, a literatura também destaca a presença de limoneno, α -pineno, aromadreno e globulol nos óleos essenciais dessa espécie. (SU et al., 2013)

6 – CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a o óleo derivado da planta *Cedrela fissillis* foi eficaz como pulicida. Essa atividade do produto sobre a forma adulta das pulgas permite uma diminuição da população no ambiente e conseqüentemente uma menor reinfestação dos animais. Novos estudos precisam ser aplicados na atividade pulicida de *Mentha pulegium*, *M. avensis* e *Eucalyptus globulus*.

A utilização de óleos essenciais no controle de ectoparasitas na veterinária é uma área que possui um enorme potencial. No entanto, a pesquisa sobre o uso de óleos essenciais como agentes de controle ainda está em um estágio preliminar.

Os próximos passos seriam: ensaios de campo extensivos, padronização de componentes, padronização de técnicas de extração, padronização do desenho experimental, perfil toxicológico em mamíferos e desenvolvimento de excipiente, bem como investigação adicional sobre as atividades residuais e duração da vida de prateleira desses óleos, sendo todas etapas necessárias antes que seu potencial possa ser explorado. (WALL, 2013)

Na literatura científica não existe relato da atividade pulicida, para os gêneros estudados, sendo este trabalho o primeiro relato destas atividades frente a *C. felis felis*.

Os resultados encontrados indicam que os óleos essenciais de *Cedrela fissilis*, *Mentha pulegium*, *Mentha arvensis* e *Eucalyptus globulus* podem possuir em sua composição constituintes com potencial ação pulicida. Sendo assim, torna-se imprescindível o estudo da composição química destas espécies vegetais, visando o isolamento dos constituintes majoritários que podem estar relacionados a atividade biológica encontrada. O uso de óleos essenciais no controle de ectoparasitos veterinários é uma área que possui considerável potencial para o futuro e a pesquisa sobre seu uso ainda está em um estágio inicial.

Um maior conhecimento das propriedades pulicidas de substâncias sintetizadas a partir de vegetais pode sugerir novas alternativas para o controle de pulgas. Para lançar mais luz sobre o potencial pulicida dessas substâncias, é necessário realizar mais estudos de outras espécies e pesquisas *in vivo*.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROZIN, A. R. P. et al. Limonoids from Andiroba Oil and. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n. 3, p. 542–547, 2006.

AVELAR, D. DE. Endossimbiontes de *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) de cães vadios de Belo Horizonte, MG–Brasil. **Parasitologia.Icb.Ufmg.Br**, 2006.

BATISH, D. R. et al. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**, v. 256, n. 12, p. 2166–2174, 2008.

BEUGNET, F.; LIEBENBERG, J.; HALOS, L. Comparative speed of efficacy against *Ctenocephalides felis* of two oral treatments for dogs containing either afoxolaner or fluralaner. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 3–4, p. 297–301, 2015.

BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. B. Biology, Treatment, and Control of Flea and Tick Infestations. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, p. 1173– 1200, 2009.

BORGES, D. A. et al. Efficacy of a dinotefuran, pyriproxyfen and permethrin combination product against *Ctenocephalides felis felis* (Bouché 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) on artificially infested rabbits. **Veterinary Parasitology**, v. 259, p. 74–79, 2018.

- BOUKHEBTI, H. et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. **Der Pharmacia Lettre**, v. 3, n. 4, p. 267–275, 2011.
- BRANDÃO, L. P. Pulicidas Empregados na Medicina de Pequenos Animais. **Revista Brasileira de parasitologia veterinária**, v. 13, p. 107, 2004.
- BROCHINI, C. B.; LAGO, J. H. G. Divulgação Aplicação de técnicas cromatográficas e espectrométricas como ferramentas de auxílio na identificação de componentes de óleos voláteis. v. 17, n. 2, p. 266–270, 2007.
- BROOKER, M.I.H., KLEINIG, D. A. **Field Guide to Eucalyptus**. 3. ed. Melbourne: [s.n.].
- CARMINATE, B.; CARVALHO, C. A. DE; PACHECO, T. F. Investigação antibacteriana in vitro de extratos etanólicos das folhas e cascas de. p. 335–340, 2014.
- CHAGAS, A. C. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. n. February, 2016.
- CORREIA, T. R. **Activity of neonicotinoid dinotefuran on Ctenocephalides felis felis (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**. [s.l.] Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.
- COUTINHO, M. T. Z.; LINARDI, P. M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 3–4, p. 320–325, 2007.
- DE MELO, D. R. et al. Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to *Ctenocephalides felis felis*. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1149, p. 388–390, 2008.
- DE MENDONÇA, F. A. C. et al. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7–8, p. 629–636, 2005.
- DRYDEN, M. W.; NEAL, J. J.; BENNETT, G. W. Concepts of Flea Control. **Companion Animal Practice-Parasitology/Dermatology**, v. 19, n. n. 4-5, p. 11–20, 1989.
- DRYDEN, M. W. et al. Efficacy of fluralaner flavored chews (Bravecto ®) administered to dogs against the adult cat flea , *Ctenocephalides felis felis* and egg

production. **Parasites & Vectors**, 2015.

DRYDEN, M. W.; RUST, M. K. The cat flea: biology, ecology and control. **Veterinary Parasitology**, v. 52, n. 1–2, p. 1–19, 1994.

ENDRIS, R. G. et al. Efficacy of two 65% permethrin spot-on formulations against induced infestations of *Ctenocephalides felis* (Insecta: Siphonaptera) and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) on beagles. **Veterinary therapeutics : research in applied veterinary medicine**, v. 4, n. 1, p. 47–55, 2003.

GEURDEN, T. et al. Efficacy and safety of a new spot-on formulation of selamectin plus sarolaner in the treatment of naturally occurring flea and tick infestations in cats presented as veterinary patients in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 238, p. S12–S17, 2017.

GONÇALVES, G. G.; MANCINELLI, R. C.; SALGADO, L. A. Influência do horário de corte no rendimento de óleo essencial de alfavaquinha e alecrim. **Embrapa**, p. 108–112, 2009.

GRAF, J. F. et al. Tick control: An industry point of view. **Parasitology**, v. 129, n. SUPPL., 2004.

ISMAN, M. B.; WAN, A. J.; PASSREITER, C. M. Insecticidal activity of essential oils to the tobacco cutworm , *Spodoptera litura*. p. 5–8, 2001.

J.A.B. BEZERRA, I.R.S. CARDOSO, R.T.G.A. RODRIGUES, K. D. F. Uso do fluralaner no tratamento da demodicidose canina juvenil generalizada: relato de caso. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 69, n. 6, p. 1491–1495, 2017.

KUMAR, A. et al. Use of essential oil from *Mentha arvensis* L. to control storage moulds and insects in stored chickpea. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 15, p. 2643–2649, 2009.

KUMAR, P. et al. Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (family: Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*). **Acta Tropica**, v. 122, n. 2, p. 212–218, 2012.

LANGENHEIM, J. H. HIGHER PLANT TERPENOIDS : A PHYTOCENTRIC OVERVIEW OF THEIR ECOLOGICAL ROLES Chemical Characteristics (Table 1). **Journal of Chemical Ecology**, v. 20, n. 6, p. 58, 1994.

- LANS, C.; TURNER, N.; KHAN, T. Medicinal plant treatments for fleas and ear problems of cats and dogs in British Columbia, Canada. **Parasitology Research**, v. 103, n. 4, p. 889–898, 2008.
- LEWIS, R. E. Résumé of the Siphonaptera (Insecta) of the World. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 377–389, 1998.
- LIEBISCH, A. AND REIMANN, U. (2000). The efficacy of imidacloprid against flea infestation on dogs compared with three other topical preparations. **Canine Pract**, v. 25, p. 8–11, 2000.
- LINARDI. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal**, v. 21, n. 4, p. 3456–354, 2012.
- LINARDI, P. M. Biologia e epidemiologia das pulgas. **Rev. Bras. Parasitol. Vet., Jaboticabal**, v. 13, p. 103–106, 2004.
- LINARDI, P. M. . L. R. G. **Sifonápteros do Brasil**. Ed. Museu ed. São Paulo: Ed. Museu de Zoologia USP/FAPESP, 2000.
- LYONS, G. Mixed messages: pesticides that confuse hormones. **Pesticide Science**, v. 23, p. 4–6, 2000.
- MAIA, M., & MOORE, S. J. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. **Malaria Journal**, v. 10, n. Suppl 1, 2011.
- MARTINEZ-VELAZQUEZ, M. et al. Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum* , *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari : Ixodidae)* . n. February 2011, 2014.
- MARTINEZ, S. S. **O Nim Azadirachta indica: Natureza, usos múltiplos, produção**. Instituto ed. Londrina - PR: Instituto Agronômico do Paraná, 2002.
- MATOS, A. et al. Atividade de *Cedrela fissilis* e *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **BioAssay**, v. 5:5, n. 1809–8460, 2010.
- MELO, I. S; AZEVEDO, J. L. Controle Biológico. **Embrapa**, v. 1, p. 262, 1998.
- MEOLA, R. W. et al. Effect of lufenuron on chorionic and cuticular structure of

unhatched larval *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 36, n. 1, p. 92–100, 1999.

MISHRA, B. B. Biological Agriculture & Horticulture : An International Journal for Sustainable Response of *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera : Curculionidae) to potential insecticide derived from essential oil of Men. n. February 2016, 2012.

OLIVEIRA, P. R. **Avaliação dos efeitos do fipronil (ingrediente ativo do frontline®) nos ovários de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e no sangue periférico de roedores.** [s.l.] Universidade Estadual Paulista, 2010.

PAPACHRISTOS, D. P.; STAMOPOULOS, D. C. Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus*. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, p. 365–373, 2002.

PAVELA, R. et al. Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 755–761, 2016.

PAVLIDOU, V. et al. Insecticidal and Genotoxic Effects of Essential Oils of Greek sage , *Salvia fruticosa* , and Mint , *Mentha pulegium* , on *Drosophila melanogaster* and *Bactrocera oleae* (Diptera : Tephritidae). **Journal of Agricultural Urban Entomology**, v. 21, n. August, p. 39–49, 2004.

RUST, M. K. **Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs****Trends in Parasitology**, 2005.

RUST, M. K. The biology and ecology of cat fleas and advancements in their pest management: A review. **Insects**, v. 8, n. 4, 2017.

SAAD, E.-Z. et al. Acaricidal activities of some essential oils and their monoterpenoidal constituents against house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 7, n. 12, p. 957–962, 2006.

SANTOS, V. M. C. S. et al. Alternativas de propagação na produção de óleo essencial de *Mentha canadensis* L. no Litoral Norte Catarinense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 97–102, 2012.

SEFFRIN, R. DE C. A. DOS S. et al. Comportamento alimentar de adultos de

- Diabrotica speciosa na presença de extratos aquosos de Meliaceae. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2115–2118, 2008.
- SILVA, L.V. ; CONSTANCIO, S.C.M. ; MENDES, M.F. ; COELHO, G. L. V. **Extração do óleo essencial da pimenta rosa (Schinus molle) usando hidrodestilação e Soxhlet**. VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica EXTRAÇÃO. **Anais...2005**
- SILVA, L. F. **Mentha viridis (L). L. e Mentha pulegium L.: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADES ANTIBACTERIANA, ANTIOXIDANTE, FOSFOLIPÁSICA, HEMOLÍTICA E GENOTÓXICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS**. [s.l.] UFLA - Universidade Federal de Lavras, 2014.
- SILVERMAN, J.; RUST, M. K. Extended Longevity of the Pre-Emerged Adult Cat Flea (Siphonaptera, Pulicidae) and Factors Stimulating Emergence From the Pupal Cocoon. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 78, n. 6, p. 763–768, 1985.
- SU, L. et al. An improved bioassay facilitates the screening of repellents against cat flea , *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera : Pulicidae). n. February, 2013.
- TASLI, M. et al. **Effects of some repellent plants on greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westw .) in greenhouse tomato production**. Proc. III International Symposium on Organic Greenhouse Horticulture. **Anais...2017**
- WALL, L. E. ; R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control : a review. **Medical and Veterinary Entomology**, p. 2–11, 2013.
- WILLIAMS, H. et al. Fluralaner, a novel isoxazoline, prevents flea (*Ctenocephalides felis*) reproduction in vitro and in a simulated home environment. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 275, 2014.
- YANG, Y.C., CHOI, H.C., CHOI, W.S., CLARK, J.M., AHN, Y. J. Ovicidal and adulticidal activity of Eucalyptus globulus leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis*. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 2507–2511, 2004.
- ZAKSON-AIKEN, M. et al. Systemic activity of the avermectins against the cat flea (*Siphonaptera: Pulicidae*). **Journal of medical entomology**, v. 38, n. 4, p. 576–80, 2001.