



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE BIOCÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ARIELLE LIMA OLIVEIRA

**ATIVIDADE PARASITICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO BRUTO DAS
FOLHAS DE *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. SOBRE A ECLOSÃO DE OVOS DE
FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE)**

Mossoró/RN

2019

ARIELLE LIMA OLIVEIRA

**ATIVIDADE PARASITICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO BRUTO DAS
FOLHAS DE *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. SOBRE A ECLOSÃO DE OVOS DE
FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE)**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Carla Diógenes
Suassuna Bezerra

**Mossoró/RN
2019**

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

O48a Oliveira, Arielle Lima.
ATIVIDADE PARASITICIDA in vitro DO EXTRATO
SALINO BRUTO DAS FOLHAS DE *Prosopis juliflora*
(Sw.) DC. SOBRE A ECLOSÃO DE OVOS DE FÊMEAS DE
Rhipicephalus sanguineus (LATREILLE, 1806)
(ACARI: IXODIDAE) / Arielle Lima Oliveira. -
2019.
41 f. : il.

Orientadora: Ana Carla Diógenes Suassuna
Bezerra.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia,
2019.

1. Cão doméstico. 2. Carrapato. 3. Controle
biológico . I. Bezerra, Ana Carla Diógenes Suassuna
, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

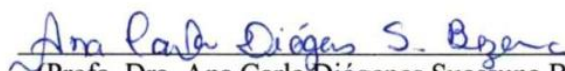
ARIELLE LIMA OLIVEIRA

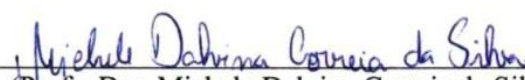
**ATIVIDADE PARASITICIDA *in vitro* DO EXTRATO SALINO BRUTO DAS
FOLHAS DE *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. SOBRE A ECLOSÃO DE OVOS DE
FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE)**

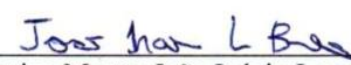
Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

Defendida em: 16/12/2019

BANCA EXAMINADORA


(Profa. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra)
Orientadora


(Profa. Dra. Michele Dalvina Correia da Silva)
Examinadora


(Farmacêutico Mestre João Inácio Lopes Batista)
Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, especialmente, à minha mãe, mulher guerreira, que foi meu suporte durante toda essa caminhada.

Aos meus grandes amigos, Lili, Lidia e Anderson Guilherme que sempre se mantiveram presentes nos momentos que mais precisei, pelas palavras de carinho e apoio, amo vocês.

A minha orientadora, Ana Carla, pela paciência, compreensão e conhecimento repassado, por motivar seus alunos a quererem ir além.

A toda equipe do LABIP (Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Doenças Infecto-parasitárias) pelos diálogos e auxílio nos experimentos.

A banca examinadora por ter aceitado o meu convite.

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão desse trabalho.

RESUMO

Em razão do número de patologias transmitidas através da espécie *Rhipicephalus sanguineus* surgiu a necessidade da utilização de métodos químicos de controle, o que ocasionou a seleção de carrapatos resistentes. Em consequência, pesquisas e emprego de fitoterápicos surgiram como alternativa viável para o controle destes ectoparasitos. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a ação parasiticida do extrato salino bruto de *Prosopis juliflora* sobre fêmeas de *R. sanguineus*, avaliando a mortalidade e eclosão de ovos. Para a obtenção do extrato, foram utilizadas as folhas de *P. juliflora*, submetidas à extração a 10% (p/v) em uma solução de NaCl 0,15 M sob agitação, filtração e centrifugação. As teleóginas foram coletadas em cães domésticos, transportadas e identificadas, homogeneizadas em grupos de oito fêmeas, imersas em 10 mL da solução do extrato e submetidas a dois tempos de exposição (10 e 20 minutos), foi utilizado água destilada no controle negativo e Amitraz para o controle positivo. Após a imersão, as teleóginas foram fixas em placas e incubadas em B.O.D. Como resultados, houve a inibição da eclosão das teleóginas tratadas, de 40% no tempo de 10 minutos e de 56% em 20 minutos e não ocorreu mortalidade das fêmeas pesquisadas. Conclui-se que o extrato salino bruto de *P. juliflora* apresentou atividade ovicida nas fêmeas testadas, como alternativa viável no controle biológico.

Palavras-chave: Cão doméstico. Carrapato. Controle biológico.

ABSTRACT

Due to the number of pathologies transmitted through the species *Rhipicephalus sanguineus*, there was a necessity of utilizing chemical control methods, causing the selection of resistant ticks. As a result, research and the use of herbal medicines have emerged as a viable alternative for control of these ectoparasites. In this context, the present study aimed to evaluate *in vitro* the parasitocidal action of *Prosopis juliflora* crude salt extract on *R. sanguineus* females, evaluating the mortality and hatching of eggs. To obtain the extract, the leaves of *P. juliflora* were used, submitted to 10% (w / v) extraction in a 0.15 M NaCl solution under agitation, filtration and centrifugation. The teleogens were collected from domestic dogs, transported and identified, homogenized in groups of eight females, immersed in 10 mL of the extract solution and subjected to two exposure times (10 and 20 minutes), distilled water was used in the negative control and Amitraz for positive control. After immersion, the teleogens were fixed in plates and incubated in B.O.D. As a result, there was an inhibition of the hatched teleogenes hatching, 40% in 10 minutes and 56% in 20 minutes and there was no mortality in the females surveyed. It is concluded that the crude extract of *P. juliflora* presented ovicidal activity in the tested females, as a viable alternative in biological control.

Keywords: Domestic dog. Tick. Biologic control.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – A – Carrapato duro ilustrado pela espécie <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ; B – Carrapato mole ilustrado pela espécie <i>Argas reflexus</i> ; C – Carrapato monoespecífico ilustrado pela espécie <i>Nuttalliella namaqua</i>	11
Figura 2 – Descrição morfológica de um carrapato duro com representação da parte dorsal e ventral	12
Figura 3 – Vista dorsal da espécie <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> principal ectoparasito de bovinos do Brasil: A – Fêmea; B – Macho	13
Figura 4 – Carrapatos: A – Da espécie <i>Dermacentor nintens</i> acomete pavilhão auricular em equídeos; B – <i>Amblyomma sculptum</i> encontrado em animais silvestres	13
Figura 5 – Carrapato marrom dos cães fêmea da espécie <i>Rhipicephalus sanguineus</i> : A – Vista dorsal; B – Vista ventral	14
Figura 6 – Ciclo de vida do carrapato da espécie <i>Rhipicephalus sanguineus</i> com demonstração das fases de ovo, larva, ninfa e adultos	15
Figura 7 – Ilustração de <i>Prosopis juliflora</i> conhecida popularmente como algaroba: A- Espécie vegetal; B – Folhas	20
Figura 8 – Preparação do extrato salino bruto das folhas de <i>Prosopis juliflora</i> : A – Obtenção do pó; B – Líquido obtido após a extração C – Centrifugação; D – Extrato	24
Figura 9 - Coletas dos ectoparasitos em cães domésticos do município de Mossoró: A – Coleta das fêmeas em cães; B – Espécimes armazenadas em frasco	25
Figura 10 – Avaliação <i>in vitro</i> da atividade do extrato contra <i>Rhipicephalus sanguineus</i> por meio do teste de imersão: A – Pesagem das teleóginas; B – Imersão; C – Fixação em placa; D – Fêmeas acondicionadas em B.O.D.	26
Figura 11 – A – Fêmeas após o período de ovipostura; B – Pesagem dos ovos; C – Acondicionamento dos ovos em seringa adaptada	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação das classes de metabólitos secundários a partir do extrato salino bruto das folhas de <i>Prosopis juliflora</i>	28
Tabela 2 – Efeito do extrato salino bruto de <i>Prosopis juliflora</i> sobre fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> coletados em cães naturalmente parasitados do município de Mossoró, Rio Grande do Norte	29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
2.1 CARRAPATOS	11
2.1.1 <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	14
2.1.1.1 Ciclo de Vida	15
2.2 CONTROLE PARASITÁRIO	16
2.2.1 Controle químico	16
2.2.1.1 Resistência parasitária	18
2.2.2 Controle alternativo por fitoterápicos	19
2.2.2.1 <i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC	20
3 OBJETIVOS	22
3.1 OBJETIVO GERAL	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4 METODOLOGIA	23
4.1 EXTRATO SALINO BRUTO DE <i>Prosopis juliflora</i>	23
4.1.1 Coleta do material vegetal	23
4.1.2 Análise Fitoquímica.....	23
4.1.3 Preparação do extrato salino bruto	23
4.2 COLETA DE TELEÓGINAS DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	24
4.2.1 Autorização do comitê de ética e pesquisa	24
4.2.2 Coleta dos ectoparasitos em cães	24
4.3 AVALIAÇÃO <i>in vitro</i> DA ATIVIDADE DO EXTRATO CONTRA <i>Rhipicephalus sanguineus</i> POR MEIO DO TESTE DE IMERSÃO	25
4.4 ANÁLISE <i>in vitro</i> DO EXTRATO CONTRA <i>Rhipicephalus sanguineus</i> POR MEIO DO TESTE DE ECLODIBILIDADE	26
4.5 ANÁLISE DOS DADOS	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6 CONCLUSÕES	31
REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus* pertencente à família Ixodidae, tem distribuição mundial, e no Brasil, encontrou condições favoráveis de temperatura e umidade para o seu desenvolvimento, podendo ser localizado em ambientes rurais e urbanos (DANTAS-TORRES, 2010). Possui como principal hospedeiro o cão doméstico, *Canis lupus familiaris* L. (VASQUEZ et al., 2019), porém tem com capacidade de parasitar animais silvestres, como répteis, aves e mamíferos (PEREIRA et al., 2017), além de humanos (DEHHAGHI et al., 2019).

R. sanguineus pode causar problemas aos seus hospedeiros, seja de forma direta, em grandes infestações ou como transmissor de agentes patogênicos como: *Ehrlichia canis* (OJEDA-CHI et al., 2019), *Hepatozoon canis* (CHAO; LIAO; SHIH, 2019), *Babesia canis* (GAMA-MELO et al., 2019), *Rickettsia conorii* (DEJAN et al., 2019), *Rickettsia rickettsii* (ORTEGA-MORALES et al., 2019), *Borrelia* spp. (RAULFA et al., 2018) e *Leishmania* spp. (VIOL et al., 2016).

A principal forma de controle ocorre com utilização de acaricidas químicos, o que predispõe o surgimento de populações de carrapatos resistentes (BECKER et al., 2019). Assim, a fitoterapia é uma alternativa relevante para o controle de infestações por ectoparasitos (AMANTE et al., 2019) em razão da possibilidade de tratamento, associado ao retardo no surgimento da resistência parasitária.

Neste sentido, extratos etanólicos de folhas vegetais foram testadas contra fêmeas adultas de *Dermacentor nitens*, quanto a eficiência acaricida, as espécies *Piptadenia viridiflora* e *Ximenia americana* demonstraram uma eficácia superior a 90%, *Schinopsis brasiliensis* exibiu um potencial acima de 70% e *Serjania lethalis* de 26% (VASCONCELOS et al., 2018). Pesquisas com óleo essencial das folhas de *Croton blanchetianus* foi utilizado contra *Rhipicephalus microplus* com uma taxa de mortalidade de 66,7% (RODRIGUES et al., 2019).

Dentre as plantas com atividade medicinal se evidencia *Prosopis juliflora* com atividade biológica associada a presença de compostos fenólicos, terpenos, alcaloides e flavonoides (UKANDE et al., 2019). Foram descritas atividades em terapia de doenças digestivas, reumáticas e pele (ARYA et al., 2018), além de antibacterianas, antifúngicas e anti-inflamatórias (MAGADI et al., 2018), entretanto, sem pesquisa descrita com *R. sanguineus*.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo pesquisar o potencial antiparasitário do extrato salino bruto obtido das folhas de *P. juliflora* em teleóginas ingurgitadas da espécie *R. sanguineus*. A obtenção de resultados positivos dá suporte para o futuro desenvolvimento de um bioproduto alternativo de controle desses ectoparasitos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CARRAPATOS

Os carrapatos são ectoparasitos hematófagos de mamíferos, aves e répteis (PEREIRA et al., 2017). Climas tropicais e subtropicais favorecem o seu crescimento por fatores como temperatura e umidade (RODRÍGUEZ et al., 2018). São vetores de doenças, como dermatites, lesões cutâneas e anemias (BOWMAN, 2010). Estes ectoparasitas possuem a capacidade de manter o patógeno ao decorrer de gerações, através de transmissão transovariana e transtestadial (DANTAS-TORRES, 2007).

Existem aproximadamente 937 espécies de carrapatos distribuídos mundialmente em três famílias (Figura 1): Ixodidae ou carrapatos duros que se destacam por apresentarem um escudo quitinoso e tem 212 espécies; Argasidae ou carrapatos moles, que não possuem escudo, com 724 espécies; e Nuttalliellidae representada pelo gênero monoespecífico *Nuttalliella* (BOWMAN, 2010; NAVA et al., 2017).

Figura 1 – A – Carrapato duro ilustrado pela espécie *Rhipicephalus sanguineus*; B – Carrapato mole ilustrado pela espécie *Argas reflexus*; C – Carrapato monoespecífico ilustrado pela espécie *Nuttalliella namaqua*.

A



B



C

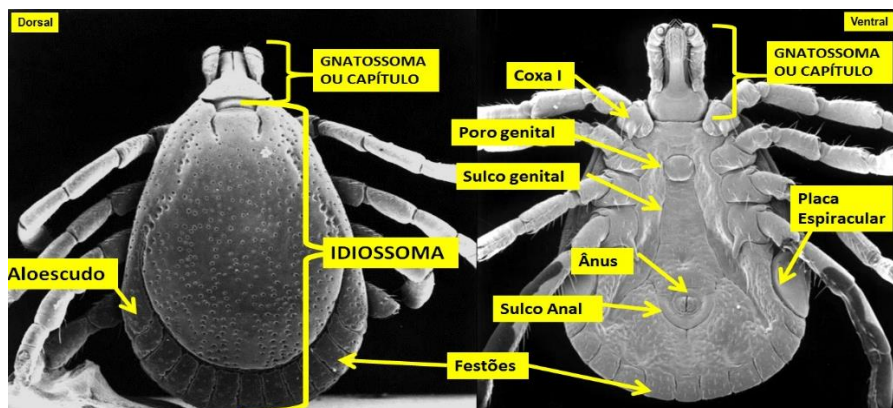


Fonte: <http://labs.russell.wisc.edu> Fonte: <https://bugguide.net> Fonte: <https://journals.plos.org>

As espécies da família Ixodidae apresentam dimorfismo sexual acentuado no qual os machos possuem um rígido escudo que cobre inteiramente sua parte dorsal, na fêmea, larva e ninfa apenas uma pequena parte da superfície dorsal é coberta, possibilitando a dilatação do abdômen após o repasto (URQUJART et al., 1998). O corpo dos carrapatos tem aspecto globoso e é dividido em gnatosoma que compreende a porção anterior e idiossoma sendo a posterior (NEVES et al., 2016). Apresenta um par de estigmas respiratórios, um par de

palpos, um par de quelíceras com lâminas cortantes, e um órgão nominado hipostômio que possui uma vasta quantidade de dentes e denticúlos (BOWMAN, 2010). Possui pregas denominadas festões, os olhos podem estar ausentes ou presentes e são dispostos na parte externa do escudo, ornamentado e com genital na parte ventral e o ânus na posterior (URQUJART et al., 1998) (Figura 2).

Figura 2 – Descrição morfológica de um carrapato duro com representação da parte dorsal e ventral



Fonte: <https://ppbio.inpa.gov.br>

A fixação dos carrapatos ocorre por breves períodos e varia de um a três hospedeiros, assim o ciclo biológico pode ocorrer completamente no mesmo hospedeiro (carrapatos de um hospedeiro); ou as larvas e ninfas se desenvolvem em um hospedeiro e os adultos em outro (carrapatos de dois hospedeiros); e quando os estágios diferem o hospedeiro (carrapatos de três hospedeiros) (URQUJART et al., 1998).

Os principais problemas ocasionados pelo parasitismo, são as reações cutâneas associadas à inflamação causada por componentes da saliva, algumas espécies possuem toxinas de efeito paralisante que podem ser fatais ao hospedeiro (NEVES et al., 2016).

No Brasil, a família Ixodidae agrupa os gêneros de maior importância médica e veterinária, por apresentar espécies predominantes, ampla distribuição geográfica e vetores de graves doenças (DANTAS-TORRES et al., 2019).

O gênero *Rhipicephalus* inclui 79 espécies de ectoparasitos (BOWMAN; NUTTALL, 2008; DANTAS TORRES, 2008). Possui grande importância médica e veterinária, por possuir espécies vetores de patógenos que acometem animais (LOCKWOOD et al., 2018).

A espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Figura 3) situa-se em diversos países tropicais e subtropicais, parasita mamíferos domésticos e silvestres, tendo preferência por bovinos, nos quais é responsável por transmitir babesiose e anaplasmose (SEQUEIRA;

AMARANTE, 2001). Acarreta grandes perdas a pecuária (GUGLIELMONE; BEATI; BARROS-BATTESTI, 2006), com redução de peso e produção de leite, perda de sangue e transmissão de doenças (AVINASH et al., 2017).

Figura 3 – Vista dorsal da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* principal ectoparasito de bovinos do Brasil: A – Fêmea; B – Macho.

A



Fonte: EMBRAPA (2018)

B



Fonte: EMBRAPA (2018)

Os carrapatos da espécie *Dermacentor nintens*, vetores da babesiose, localizam-se mais no pavilhão auricular de equinos e podem gerar lesões deformantes e mutilantes na cartilagem da orelha (BRITES-NETO; DUARTE; MARTINS, 2015). Enquanto a espécie *Amblyomma sculptum*, anteriormente denominada *Amblyomma cajennense* atua como vetor da *Rickettsia rickettsii*, o agente causador da Febre Maculosa em humanos (NAVA et al., 2014; MARTINS et al, 2017) (Figura 4).

Figura 4 – Carrapatos: A – Da espécie *Dermacentor nintens* acomete pavilhão auricular em equídeos; B – *Amblyomma sculptum* encontrado em animais silvestres.

A



Fonte: <https://www.researchgate.net>

B



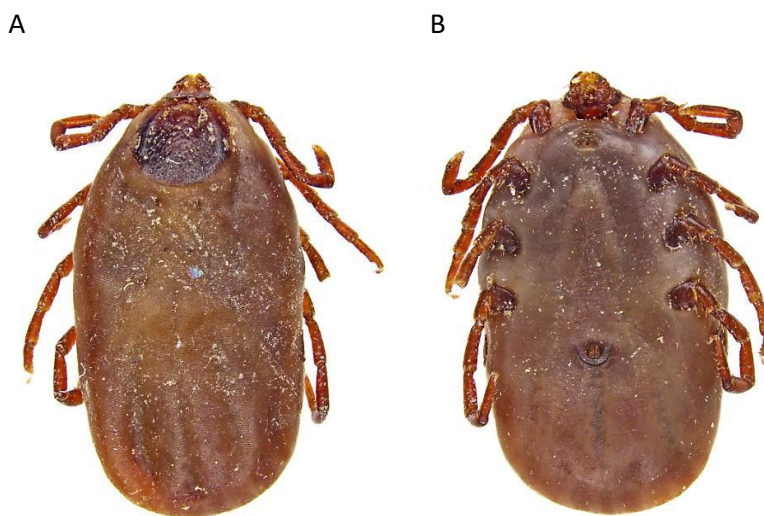
Fonte: <http://www.boiapasto.com.br>

2.1.1 *Rhipicephalus sanguineus*

Espécie que se localiza em todos os continentes, parasita preferencialmente o cão doméstico, mas pode ter como hospedeiros outros mamíferos e aves. Originado na região Afrotropical, porém com distribuição cosmopolita associado as migrações humanas (WALKER; KEIRANS; HORAK, 2000), conhecido por "carrapato marrom" (NAVA et al., 2018) é comumente encontrado no Brasil em áreas rurais e urbanas, podendo gerar grandes infestações (SZABÓ et al., 2010).

Encontra-se em diferentes cores e tamanhos, o hispostômio e os palpos são curtos, a base do capítulo hexagonal, as primeiras coxas com dois esporões e as pernas maiores do par anterior para o posterior, com os machos apresentando placas adanais e escudos (TAYLOR; COOP; WALL, 2010; NEVES et al., 2016) (Figura 5). Vivem em ninhos, abrigos dos hospedeiros, frestas e buracos (LABRUNA, 2004; DANTAS-TORRES, 2008).

Figura 5 - Carrapato marrom dos cães da espécie *Rhipicephalus sanguineus*: A - Vista dorsal: B – Vista ventral.



Fonte: <https://bugguide.net>

O parasitismo por *R. sanguineus* em humanos tem sido descrito, apesar de incomum (ACOSTA; MARTINS; LABRUNA, 2017). Casos de parasitismo no Brasil foram notificados em: Goiânia/GO, Recife/PE, Olinda/PE, Pedreira/SP, Cachoeira do Sul/RS e Mato Grosso do Sul/MS (GUGLIELMONE et al., 2006; ACOSTA; MARTINS; LABRUNA, 2017).

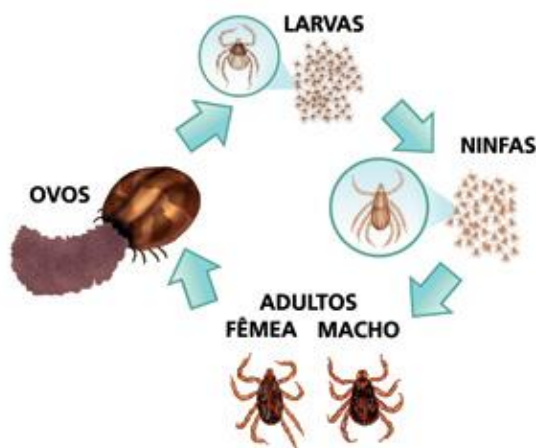
Este ectoparasito apresenta quatro estágios em seu ciclo de vida, com três ativos e dependentes do repasto sanguíneo para desempenho de suas funções biológicas (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2016).

2.1.1.1 Ciclo de vida

Em cada estágio de desenvolvimento, ovo, larva, ninfa e adultos ocorre alimentação, e a muda (ecdise) acontece no ambiente em que vive, mantendo vínculo com seu hospedeiro (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006; DANTAS-TORRES, 2008). Fatores bióticos e abióticos influenciam diretamente na nutrição de *R. sanguineus* (DANTAS-TORRES, 2015).

No decorrer do ciclo, os carrapatos apresentam duas fases distintas, a de vida livre e a parasitária (SERRA-FREIRE, 2009). O hospedeiro é parasitado pelas larvas e ninfas (3 a 7 dias), as fêmeas adultas de 5 a 10 dias e os machos mais de 15 dias se alimentando; as larvas e ninfas ingurgitadas soltam-se, efetuam a ecdise e desprendem-se do hospedeiro para acontecer a ovipostura no ambiente (LABRUNA, 2004). As teleóginas podem ovipor cerca de 4.000 ovos durante uma postura, sendo que a quantidade tem relação direta com o peso corporal (DANTAS-TORRES, 2010) (Figura 6).

Figura 6 – Ciclo de vida do carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus* com demonstração das fases de ovo, larva, ninfa e adultos.



Fonte: <http://bichodomatosaude.blogspot.com>

R. sanguineus pode ter entre três ou quatro gerações por ano de acordo com a região, condições de temperatura, umidade e disponibilidade de hospedeiros (SILVEIRA; PASSOS; RIBEIRO, 2009).

No repasto, os carrapatos ficam sobre a pele de seu hospedeiro e utilizam os palpos maxilares que são dotados de estruturas sensoriais, com as quais procuram encontrar o ponto adequado, em seguida se fixam e forçam o hipostômio; este possui fileiras de dentes quitinosos que penetram a pele. Juntamente com as quelíceras, e atingem as camadas superiores da derme, são geralmente encontrados nas orelhas e entre os dedos dos cães, estágios imaturos têm preferência por pelos do pescoço (TAYLOR; COOP; WALL, 2010). Também se alimentam de linfa e restos da derme e/ou epiderme, lesionada por enzimas proteolíticas excretadas na sua saliva (LABRUNA, 2004).

Os carrapatos e as pulgas são conhecidos no Brasil como os principais ectoparasitos dos cães, sendo objeto de estudos com relatos de ocorrência de diversas patologias, fazendo com que o estudo da epidemiologia tenha importância na busca por formas de controle de infestações (VIEIRA et al., 2018).

Assim é importante o desenvolvimento de estratégias para o controle de carrapatos, como tratamento seletivo de hospedeiros (MOLENTO et al., 2013), emprego de controle biológico (CAMARGO et al., 2016), uso de fitoterápicos (AMANTE et al., 2019), além da adoção de produtos químicos em instalações de ordenha e canis (SOUZA et al., 2015), sendo os últimos acaricidas os mais aceitos e utilizados.

2.2 CONTROLE PARASITÁRIO

O controle em áreas contendo infestações de carrapatos ocorre pela redução populacional; emprego de carrapaticidas, uso de proteção individual e corte de gramíneas que servem de abrigo ao ectoparasito (NEVES et al., 2016). Entretanto o controle químico é o mais utilizado.

2.2.1 Controle químico

A utilização de acaricidas sintéticos auxilia tanto no controle em hospedeiros como no ambiente (BECKER et al., 2019) e existe uma diversidade de bases, formulações e formas de uso, podendo ser aplicados por imersão, spray, ducha ou *pour on*, coleiras, shampoos e preparações em pó (DANTAS-TORRES, 2008). Os grupos químicos que compõem os carrapaticidas de contato são os organofosforados, amidínicos, piretroides e fenilpirazóis (SPAGNOL; PARANHOS; ALBUQUERQUE, 2010).

Já as lactonas macrocíclicas e o fluazuron são carrapaticidas sistêmicos, com aplicação de forma injetável ou *pour on*, fazendo com que o princípio ativo seja metabolizado e distribuído em todo o corpo do animal e, através do sangue, chega ao carrapato e ocasiona sua morte (FURLONG, 2005). Esses produtos têm custos associados, desenvolvimento de resistência e riscos ambientais.

Os organofosforados são os carrapaticidas mais antigos provenientes do ácido fosfórico. Esse grupo causa a inibição da enzima acetilcolinesterase, ocorrendo aumento de acetilcolina em níveis tóxicos para o carrapato e promovendo aumento das contrações dos músculos até alcançar a paralisia (ANDREOTTI, 2010). Possuem baixo poder residual e ainda são comercializados, apesar do baixo interesse por esse grupo, devido à resistência dos carrapatos; além disso, muitos produtos dessa família estão em associações com os piretróides ou bernicidas para melhoria na eficácia (FURLONG, 2005).

O grupo de amidínicos tem ação sobre a postura de ovos nas teleóginas, a partir da inibição de enzimas relevantes para o seu metabolismo, como as monoaminooxidas. É tóxico para as fases do carrapato, principalmente para as larvas (ANDREOTTI, 2010). Tem grande aprovação por parte dos produtores, sendo bastante aplicados, têm um poder residual maior que os organofosforados e proporcionam maiores intervalos de tratamentos (FURLONG, 2005).

Os piretroides sintéticos possuem ação sobre os canais de sódio dos filamentos nervosos do ectoparasita, ocasionando bloqueio da sua abertura e fechamento, com isso, ocorre morte por hiperexcitação (DOS SANTOS; AREAS; REYES, 2007). Foram elaborados com o intuito de causarem menor toxicidade aos animais e possuírem um poder residual maior que os outros; contudo esses resíduos influenciaram na resistência dos carrapatos a esse grupo. Na tentativa de estender sua vida útil, foram criadas novas formulações, sendo associados aos organofosforados e os produtos mais populares dessa família contêm na sua constituição a delmetrina, cipermetrina e alfametrina (FURLONG, 2005).

Os fenilpirazóis tem ação sobre o sistema nervoso causando paralisia, apresentam como desvantagem a proibição de seu uso nos animais em lactação, possuem aplicação na forma de *pour-on* (ANDREOTTI, 2010).

As lactonas macrocíclicas revolucionaram o mercado mundial dos antiparasitários; apresentam maior poder residual que os piretroides e demonstram também eficiência contra parasitos, na qual adquirem o nome de “endectocidas”. São originados de produtos adquiridos com a fermentação do fungo *Streptomyces avermitiles*, possuindo quatro

subgrupos no mercado que são Ivermectin, Moxidectin, Doramectin e Abamectin (FURLONG, 2005). Bloqueiam a transmissão dos impulsos nervosos no carrapato, que morre paralisado (ANDREOTTI, 2010).

O fluazuron não possibilita a mudança de fase e crescimentos do carrapato, também interfere na sua reprodução e é capaz de afetar a produção de quitina, um importante constituinte desse ectoparasita (FURLONG, 2005).

Esses controles químicos matam os carrapatos ou impedem a oviposição de fêmeas, entretanto estão relacionados à resistência desses.

2.2.1.1 Resistência parasitária

A utilização indiscriminada de acaricidas sintéticos tem selecionado populações resistentes (ANDREOTTI et al., 2011), causado problemas ambientais pelo descarte incorreto desses resíduos químicos como contaminação ambiental, além de ocasionar intoxicação e mortalidade de animais (OLIVO et al., 2013).

Pesquisas vêm notificando casos de resistência aos acaricidas químicos, como a realizada por Bandara e Karunaratne (2017), onde *R. microplus* apresentou uma forte resistência ao DDT (diclorodifeniltricloroetano) e resistência moderada a organofosforados e carbamatos; além do diagnóstico de alterações moleculares como acetilcolinesterases insensíveis e mutações de resistência do tipo knockdown (kdr).

Nagar et al. (2018) identificaram em seis isolados de *R. microplus* resistência contra piretróides sintéticos e organofosforados, por meio de mutação nos genes para proteínas do canal de sódio e acetilcolinesterase. Cuore, Solari e Trelles (2017), detectaram a presença de resistência múltipla em carrapatos a cinco princípios ativos, as lactonas macrocíclicas na qual tiveram a menor porcentagem de resistência, os piretróides sintéticos maiores percentuais e fipronil, amitraz e organofosforado, porcentagem de resistência mediana.

A resistência aos carrapaticidas geralmente é menor em carrapatos de hospedeiros múltiplos do que em hospedeiros individuais, e o desenvolvimento de resistência em países tem sido mais rápido em *R. microplus* em comparação a carrapatos de múltiplos hospedeiros (RODRIGUEZ-VIVAS et al., 2014). A frequência de aplicação, assim como o método e manejo inadequado dos campos são alguns fatores associados à resistência dos carrapatos aos acaricidas (DAHER et al, 2012). Segundo Souza et al. (2015), o uso descontrolado desses carrapaticidas e em doses incorretas tem se tornado um grave problema para a saúde dos

animais, devido ao aumento de resíduos ambientais e atuando como fator de seleção e indução de resistência.

Os métodos de controle para combater o estabelecimento, progressão e impacto da resistência envolvem a redução da frequência de aplicação de carrapaticidas com mudança de dose e concentração, aplicação de pesticidas sinérgicos e misturas, rotatividade na aplicação de grupos químicos com diferentes mecanismos de ação, utilização de extratos de plantas, vacinação e uso de agentes de controle biológico (RODRIGUEZ-VIVAS et al., 2014).

É notória a busca por outras formas de controle de ectoparasitos e desenvolvimento de estratégias eficientes para retardar o surgimento de resistência. Com isso, o interesse por pesquisas com o uso de plantas medicinais vem aumentando nos últimos anos quanto as suas propriedades farmacológicas e composição química. A utilização de plantas como fitoterápicos decorre da vasta diversidade de espécies existentes, baixo custo e fácil disponibilidade em determinadas regiões (AGNOLIN et al., 2010; NICOLINO; PARALHOS; MACIEL, 2013).

2.2.2 Controle alternativo por fitoterápicos

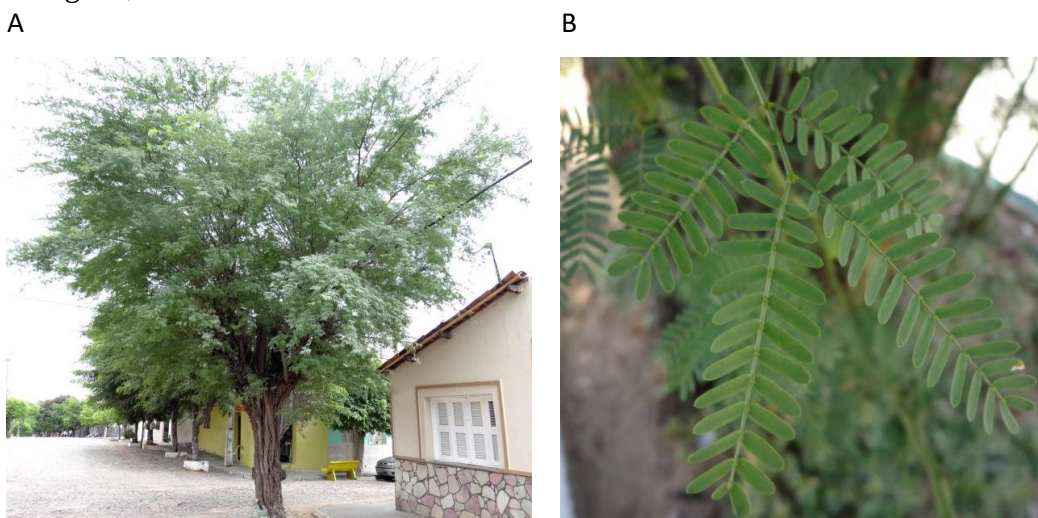
Os fitoterápicos tornaram-se alternativa importante no controle de ectoparasitos, com potencial na diminuição aos impactos econômicos, ambientais e uso de acaricidas sintéticos. Os testes realizados com os extratos e outras preparações de plantas tendem a apresentar menor toxicidade aos animais, rápida degradação, menor produção de resíduos e desenvolvimento tardio de resistência (NICOLINO; PARALHOS; MACIEL, 2013).

Estudos relatam a eficiência de fitoterápicos no bloqueio da ovipostura e/ou eclosão de ovos de fêmeas ingurgitadas de carrapatos (SPRENGER et al., 2016). Amante et al. (2019) descrevem que existe grande possibilidade de que extratos de plantas forneçam formulações eficazes e ecológicas para o controle de infestações por piolhos e carrapatos em animais. Godara et al. (2014) analisaram a atividade acaricida de *Artemisia absinthium* contra *R. sanguineus* com extrato de clorofórmio obtido das partes aéreas da planta, onde foi observado inibição na eclosão de 100% (concentração de 20%). Já Oliveira (2018) avaliaram extrato bruto de partes aéreas (flores, folhas e caule) de *Acmella oleracea* sobre as fêmeas semi-ingurgitadas de *R. sanguineus*, e foram observadas taxas de mortalidade de 100% na concentração de 100 mg/ml.

2.2.2.1 *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.

Prosopis juliflora (Sw.) DC. referente à família Leguminosae (Fabaceae), subfamília Mimosoideae (UKANDE et al, 2019) é conhecida popularmente como algaroba (FELIPPE, 2004), alfarroba ou mesquita (LORENZI, 2018). É uma árvore considerada rústica com resistência à seca e adequada a solos pobres e áridos, nativa de países do continente americano, como Estados Unidos e México (LORENZI, 2018), que chegou em território brasileiro em 1942 (BURNETT, 2017) (Figura 7).

Figura 7 - *Prosopis juliflora* conhecida popularmente como algaroba: A- Visão geral da espécie vegetal; B – Folhas.



Fonte: <https://appverde.wordpress.com>

É uma espécie vegetal de grande importância melífera (FELIPPE, 2004), que pode ser aplicada no setor de apicultura, na produção de carvão vegetal e madeira, uso na área médica e farmacêutica (PEGADO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2010), no paisagismo e suas vargens servem ainda de forragem para o gado (LORENZI, 2018).

Entre as características possui de 7 a 12 metros de altura, tronco sinuoso com casca escamosa e grossa, ramos abertos apresentando espinhos axilares, por vezes frágeis, criando copa alongada; suas folhas são perenes, bipinadas com folíolos linear-alongados, as flores são pequenas de cor verde amarelado, produzidas em diversas épocas do ano, dispõe de inflorescências axilares, espigas cilíndricas, as vagens são achatadas, de cor branco amarelado e presença de depressões entre suas sementes (LORENZI, 2018).

Na planta estão presentes compostos fenólicos, terpenos, alcaloides e flavonoides (UKANDE, 2019), com utilização no tratamento de doenças digestivas, reumáticas e de pele (ARYA et al., 2018). As folhas podem ser utilizadas no tratamento da asma, bronquite, conjuntivite e doenças venéreas, com propriedades inseticida, antibacteriana, antifúngica e anti-inflamatória (MAGADI et al., 2018).

El-Mergawi, Ibrahim e Al-Humaid (2018) avaliaram o efeito de quinze plantas contra as espécies de fungos *Fusarium solani*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* e *Stemphylium botryosum*, onde o extrato metanólico de parte aéreas de *P. juliflora* reduziu o crescimento de todos os fungos testados, revelando potencial antifúngico. Batista e colaboradores (2018) investigaram a atividade *in vivo* de extratos etanólicos de folhas e de vargens de *P. juliflora* (enriquecidos com alcaloides) em modelo murino, onde foi relatado ação antimalárica contra *Plasmodium berghei*. Costa e Cavalcante (2018) realizaram testes *in vitro* com *P. juliflora* contra células tumorais humanas, com o extrato bruto da casca do caule inibindo a proliferação de células tumorais de mama em 28,9%. Badri et al. (2017) aplicaram o extrato metanólico de folhas de *P. juliflora* em bactérias gram-negativas (*Escherichia coli*, *Escherichia coli ESBL*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*); e em bactérias gram-positivas (*Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus*), com efeitos inibitórios contra a maioria dos micro-organismos testados, tendo maior efeito contra *P. aeruginosa* e *L. monocytogenes*, demonstrando assim, potencial antibacteriano.

Assim, tendo em vista a necessidade do desenvolvimento de carrapaticidas naturais para o controle de *R. sanguineus*, a avaliação do extrato salino bruto de *P. juliflora* como potencial antiparasitário sobre esses ectoparasitos foi de grande importância, servindo de base para um futuro desenvolvimento de produto, para o surgimento de controle biológico de *R. sanguineus* e influenciando na redução da seleção de indivíduos resistentes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar *in vitro* a ação parasiticida do extrato salino bruto das folhas de *Prosopis juliflora* sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* e eclosão de ovos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar análise fitoquímica do extrato salino bruto das folhas de *P. juliflora*;

Analisar a atividade *in vitro* parasiticida do extrato salino bruto das folhas de *P. juliflora* sobre a mortalidade de fêmeas de *R. sanguineus*.

Analisar a atividade *in vitro* parasiticida do extrato salino bruto das folhas de *P. juliflora* sobre a eclosão dos ovos de *R. sanguineus*;

4 METODOLOGIA

4.1 EXTRATO SALINO BRUTO DE *Prosopis juliflora*

4.1.1 Coleta do material vegetal

As folhas da espécie *Prosopis juliflora* foram coletadas no município de Ipueira, Estado do Rio Grande do Norte. A identificação taxonômica da espécie realizada no Herbário Dárdano de Andrade-Lima, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), sendo registrada como exsicata nº 14.999.

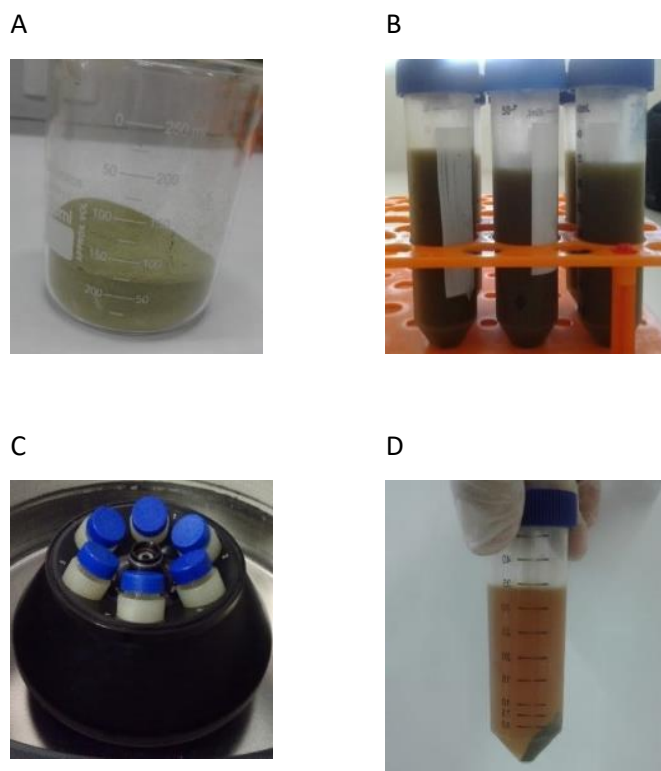
4.1.2 Análise Fitoquímica

A análise da composição química do pó da folha da *P. juliflora* foi realizada seguindo a metodologia de Matos (2008) na qual os constituintes foram categorizados por classes metabólicas, através da submissão do pó obtido das folhas da algaroba à tratamento térmico com diferentes reagentes químicos específicos. A observação de reações de precipitação, colorimétricas e de fluorescência serviu para a identificação da presença dos metabólitos secundários.

4.1.3 Preparação do extrato salino bruto

As folhas da espécie vegetal foram separadas, lavadas, secas a temperatura ambiente, trituradas para obtenção do pó, com posterior extração a 10% (p/v), em uma solução de NaCl 0,15 M, sob agitação constante durante 16 horas. Posteriormente foi submetido à filtração e centrifugação (4°C; 8.000 rpm) durante 20 minutos, para se obter o extrato salino bruto à 10% (NELSON; COX, 2014) (Figura 8).

Figura 8 - Preparação do extrato salino bruto das folhas de *Prosopis juliflora*: A – Pó obtido da tritura das folhas; B - Líquido obtido após a extração salina; C – Centrifugação; D – Extrato bruto após centrifugar.



Fonte: Arquivo pessoal

4.2 COLETA DE TELEÓGINAS DE *Rhipicephalus sanguineus*

4.2.1 Autorização do comitê de ética e pesquisa

O referido estudo foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA com aprovação mediante número N^o 23091.009318/2016-40.

4.2.2 Coleta dos ectoparasitos em cães

Os carrapatos foram coletados de cães do município de Mossoró, sem expostos à ação de antiparasitários por um período de 30 dias. Fêmeas ingurgitadas foram coletadas, armazenadas em frascos aerados (Figura 9) e levadas ao Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Doenças Infecto-parasitárias, da UFERSA, onde houve a identificação morfológica em estereomicroscópio

Figura 9 - Coletas dos ectoparasitos em cães domésticos do município de Mossoró: A - Coleta das fêmeas em cães; B - Espécimes armazenadas em frasco.

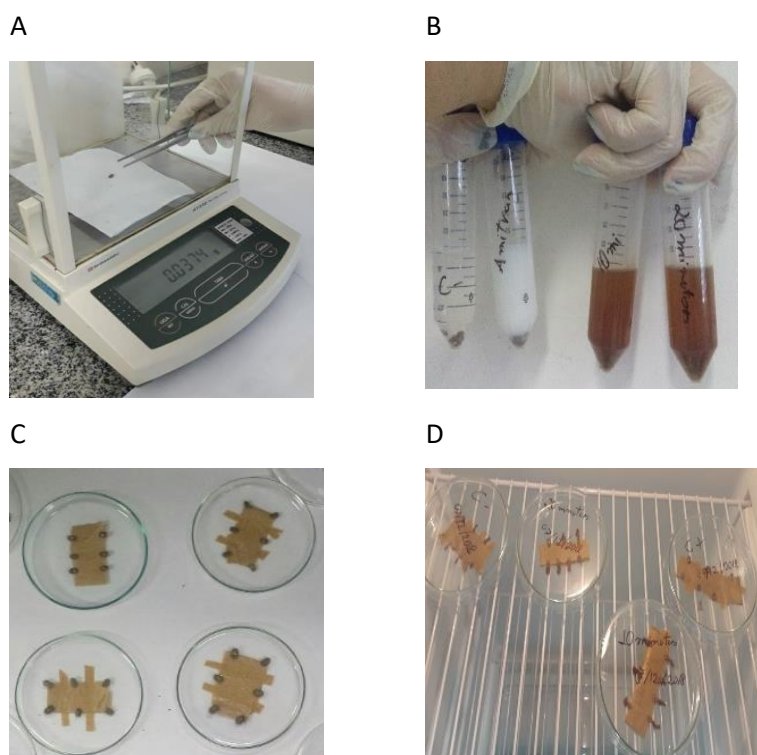


Fonte: Arquivo pessoal

4.3 AVALIAÇÃO *in vitro* DA ATIVIDADE DO EXTRATO CONTRA *Rhipicephalus sanguineus* POR MEIO DO TESTE DE IMERSÃO

As teleóginas foram pesadas em balança analítica de precisão para homogeneização de quatro grupos, cada um composto por 8 fêmeas (PIRES, 2006). Posteriormente imersas em 10 ml do extrato salino bruto em tempos distintos de exposição, 10 e 20 minutos. O Amitraz (0,25mg/mL) foi utilizado como controle positivo (na concentração recomendada pelo fabricante) e a água destilada foi utilizada como controle negativo. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. (Figura 10).

Figura 10 – Avaliação *in vitro* da atividade do extrato contra *Rhipicephalus sanguineus* por meio do teste de imersão: A – Pesagem das teleóginas; B - Imersão; C – Fixação em placa; D - Fêmeas acondicionadas em B.O.D.



Fonte: Arquivo pessoal

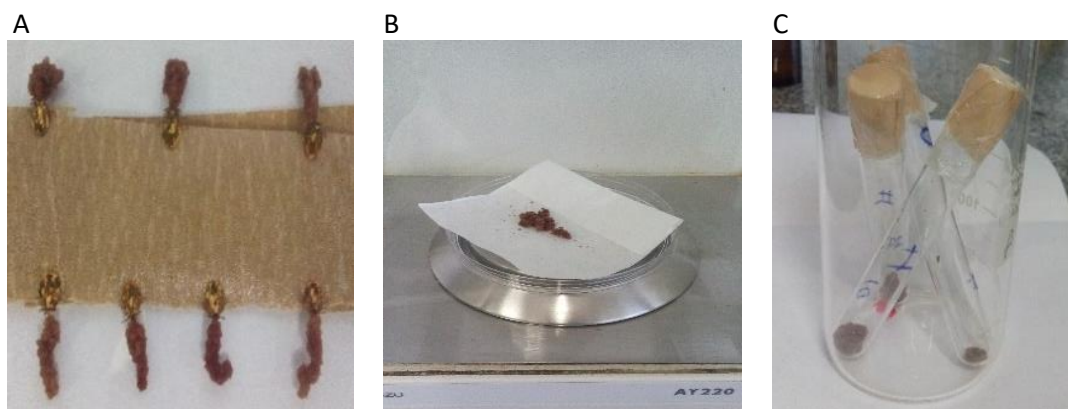
Após imersão, as teleóginas foram secas com papel adsorvente, fixadas com fita adesiva em placas de Petri e acondicionadas em estufa incubadora tipo B.O.D. (+27 °C e UR>80%) (DOURADO, 2001). Após o início da ovipostura as fêmeas sobreviventes permaneceram na B.O.D por 16 dias, foi observado se houve morte das fêmeas após imersão.

4.4 ANÁLISE *in vitro* DO EXTRATO CONTRA *Rhipicephalus sanguineus* ATRAVÉS DO TESTE DE ECLODIBILIDADE

Após ovipostura, os ovos obtidos foram pesados (CASTRO et al, 2010), retirados e transferidos com o auxílio de um pincel para um tubo de ensaio fechado com fita microporosa (Figura 11), depois acondicionados até a eclosão (GIGLIOTI et al., 2011). Os tubos ficaram na B.O.D. (+27 °C e UR>80%) durante 24 dias, ao final foram conduzidas ao congelador onde ficaram por 2 h para morte das larvas. O conteúdo (de cada tubo) foi depositado em frasco e adicionou-se álcool etílico 70%, para realizar a leitura das amostras.

Por meio de três alíquotas foi realizada a contagem de ovos, contabilizado o total de ovos eclodidos e não eclodidos e o total de larvas, por fim, calculado a taxa de eclosão de cada alíquota e fazendo sua média aritmética.

Figura 11 – A – Fêmeas após o período de ovipostura; B – Pesagem dos ovos; C – Acondicionamento dos ovos em tubos de ensaio.



Fonte: Arquivo pessoal

4.5 ANÁLISE DOS DADOS

O peso da postura, a taxa de larvas eclodidas (sendo comparadas a partir do controle negativo), o período de postura e incubação foram analisados no estudo (PIRES, 2006).

O cálculo da eclosão foi realizado a partir da seguinte razão matemática: a taxa de eclosão é igual ao número de larvas dividido pelo número de ovos, multiplicado por cem (ROSA; AVILA, 2000).

$$\text{Taxa de eclosão} = \frac{\text{Número de larvas}}{\text{Número de ovos}} \times 100$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise fitoquímica foi diagnosticada presença de fenóis, cumarinas, taninos condensados e saponinas, podendo esses metabólitos terem ação sobre as fêmeas testadas (SPRENGER et al., 2015) (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação das classes de metabólitos secundários a partir do pó das folhas de *Prosopis juliflora*.

Classe de metabólitos secundários	Método de identificação	Resultado
Fenóis	Reação de cloreto férrico	+
Antraquinonas	Borträger	-
Cumarinas	Teste de Fluorescência	+
Taninos Condensados	Stiasny	+
Taninos Hidrossolúveis	Stiasny	-
Taninos livres	Precipitação por gelatina	-
Saponinas	Agitação vigorosa	+

Descrição: após reação: (+) presença de composto; (-) ausência do composto.

A ação do extrato produzido de *P. juliflora* sobre a eclosão, demonstrou uma porcentagem de inibição de 40% e 56% de eclosão para a imersão em 10 e 20 minutos, respectivamente (Tabela 2). E não foi observado morte das fêmeas ingurgitadas no experimento.

Tabela 2 – Efeito do extrato salino bruto de *Prosopis juliflora* sobre a eclosão de ovos de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* coletados em cães naturalmente parasitados do município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

Tempo	PI (g)	PP (g)	Pp (dias)	Eclosão (%)	Mortalidade (%)	Pe (dias)
10 min	1,1841	0,5457	16	40	0	24
20 min	1,9717	0,8909	16	56	0	24
C-	0,6864	0,3102	16	90	0	24
C+	0,4112	0	0	0	0	0

C- - Controle negativo; C+ - Controle positivo; PI - Peso médio inicial das teleóginas; PP - Peso médio da postura após separação dos ovos; Pp - Período de postura; Pe - Período de eclosão.

O potencial de inibição da eclosão de 40% e 56% para a imersão em 10 e 20 minutos do extrato testado pode estar relacionado aos metabólicos secundários encontrados. Quanto aos fenóis são conhecidos por possuírem ação antioxidante e anti-inflamatória (SIMÕES et al., 2017), podendo demonstrar efeito acaricida (SPRENGER et al., 2016). Porém esse efeito apresenta mecanismo ainda não conhecido em carrapatos.

As cumarinas foram descritas apresentando ação contra artrópodes, devido a uma ligação ao citocromo P450, de forma não reversível, o que implica na capacidade detoxificante do inseto e inibindo a cadeia de transporte de elétron (SANTOS, 2018). Mecanismo que pode ter interferido diretamente na eclosão das larvas dos carrapatos testados.

Em relação a presença de taninos, Cala et al. (2012) verificaram uma relação entre os taninos e uma interação com proteínas livres, agindo sobre a cutícula do parasito e levando-o a morte em nematoides. Nesse contexto, deduz-se que essa interação pode interferir também nas larvas evitando o seu desenvolvimento e consequentemente a eclosão. Testes com carrapatos de bovino realizados por Sprenger e colaboradores (2015) demonstraram que os taninos influenciaram na redução da postura de ovos e na fertilidade das fêmeas adultas de *R. microplus*.

Quanto a presença de saponinas, Simões et al. (2017) demonstraram que apresentam atividade sobre as membranas celulares, aumentando a permeabilidade destas e ocasionando

lesões, o que pode levar a entrada de metabólitos com ação em larvas dentro dos ovos. Evitando assim a eclosão da larva no grupo testado.

Estudos avaliaram o potencial acaricida de fitoterápicos utilizando extratos metanólicos obtidos a partir das plantas inteiras, *Calotropis procera* e *Taraxacum officinale* contra fêmeas adultas de *R. microplus*, com mortalidade larval de 96,0% e 96,7% respectivamente (KHAN et al., 2019).

Extrato etanólico de partes aéreas (folhas, flores e caules) de *Tagetes patula* contra *R. microplus*, demonstrou eficácia de 99,2%, no estágio larval e descreveu interferência em todas as fases do desenvolvimento do ectoparasito (POLITI et al., 2019).

Pinto et al. (2018) pesquisou extratos metanólicos bruto foliar de espécies de plantas em ovos de *Dermacentor nitens* e *R. sanguineus*, e obteve efeito significativo com relação de taxa de eclosão dos ovos, na qual *Hovenia dulcis* e *Malpighia glabra* foram as espécies que demonstraram maior eficiência sobre *D. nitens* e *R. sanguineus*, sendo de 89% e 100%, respectivamente.

Dias e colaboradores (2019) analisaram a atividade do extrato hidroalcólico de folhas e cascas de *Schinus terebinthifolius* sob ovos de *R. microplus* e clodibilidade de larvas, o resultado mostrou 100% de eficácia do extrato nas concentrações de 50% e 100%.

Assim, fica claro o potencial de utilização da fitoterapia como tratamento alternativo contra ectoparasitos de animais.

6. CONCLUSÕES

O pó das folhas de *Prosopis juliflora* demonstrou a presença de fenóis, cumarinas, taninos condensados e saponinas na análise fitoquímica, e apresentou resultados satisfatórios sobre a inibição da eclosão das teleóginas tratadas, porém sem causar mortalidade nas fêmeas, podendo ser uma alternativa viável de controle biológico de *Rhipicephalus sanguineus*.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, I. C. L.; MARTINS, T. F.; LABRUNA, M. B. Human parasitism by *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (ACARI: IXODIDAE) in Mato Grosso do Sul, West-Central Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 54, n. 1, p. 96-99, 2017.
- AGNOLIN, C. A et al. Eficácia do óleo de citronela [*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle] no controle de ectoparasitos de bovinos. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 12, n. 4, p. 482-487, 2010.
- AMANTE, M. et al. *In-vitro* louscidal and acaricidal activities of alkaloid of *Calpurnia aurea* extracts against *Linognathus ovillus* and *Amblyomma variegatum*. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 1, p. 431-437, 2019.
- ANDREOTTI, R. et al. Acaricide resistance of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinaria**, v. 20, n. 2, p. 127-133, 2011.
- ANDREOTTI, Renato. **Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* aos acaricidas no Brasil**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2010. 36 p.
- ANDREOTTI, Renato et al. **Museu do Carrapato da Embrapa Gado de Corte: Espécimes de carrapatos descritos no Brasil e depositados na coleção até o momento**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2018. 50 p.
- ARYA, G. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using *Prosopis juliflora* bark extract: reaction optimization, antimicrobial and catalytic activities. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 46, n. 5, p. 985-993, 2018.
- AVINASH, B. et al. *In vitro* evaluation of acaricidal activity of novel green silver nanoparticles against deltamethrin resistance *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 237, n. 15, p. 130-136, 2017.

BADRI, A. M. et al. *In vitro* anti-bacterial activity of *Prosopis juliflora* leaf extract against pathogenic bacteria. **Advancement in Medicinal Plant Research.**, v. 5 n. 1, p. 1-4, 2017.

BANDARA, K. M. U. J.; KARUNARATNE, S. H. P. P. Mechanisms of acaricide resistance in the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in Sri Lanka. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 139, p. 68-72, 2017.

BARROS-BATTESTI, Darci Moraes Barros; ARZUA, Márcia; BECHARA, Gervásio Henrique. **Carrapatos de importância médica veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, 223 p.

BATISTA, R. et al. *In vivo* antimalarial extracts and constituents of *Prosopis juliflora* (Fabaceae). **Journal of Functional Foods**, v. 44, p. 74–78, 2018.

BECKER, S. et al. Resistance to deltamethrin, fipronil and ivermectin in the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto, Latreille (Acari: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 5, p. 1046-1050, 2019.

BOWMAN, Dwight D. **Georgis Parasitologia veterinária**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. 448 p.

BOWMAN, Alan S.; NUTTALL, Patricia A. **Ticks: biology, disease and control**. 1ª ed. New York: Cambridge, 2008. 23 p.

BRITES-NETO, J.; DUARTE, K.M.R; MARTINS, T.F. Tickborne infections in human and animal population worldwide. **Veterinary World**, v. 8, n. 3, p. 301-315, 2015.

BURNETT, A. “saga” político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro. **Revista de Estudos Sociais**, v 19, n. 38, p. 148, 2017.

CALA, A. C. et al. *In vitro* Anthelmintic effect of *Melia azedarach* L. and *Trichilia clausenu* C. against sheep gastrointestinal nematodes. **Experimental Parasitology**, v. 130, p. 98-102, 2012.

CAMARGO, M. G. et al. *Metarhizium anisopliae* for controlling *Rhipicephalus microplus* ticks under field conditions. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 223, n.15, p. 38-42, 2016.

CASTRO, Karina Neoob de Carvalho [et al.]. **Prospecção de plantas medicinais para controle do carrapato dos bovinos**. Teresina: Embrapa Meio Norte, p. 32, 2010.

CHAO, L. L.; LIAO, H. T.; SHIH, C. M. First detection and genetic identification of *Hepatozoon canis* in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks collected from dogs of Taiwan. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 4, p. 929-934, 2019.

COSTA, A. C. F; CAVALCANTE, G. M. Atividade antitumoral *in vitro* de *Prosopis juliflora* frente a células de câncer de mama e câncer de ovário. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 9, n. 1, 2018.

CUORE, U; SOLARI, M. A.; TRELLES, A. Situación de la resistencia y primer diagnóstico de poblaciones de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* resistente a cinco principios activos en forma simultánea en Uruguay. **Veterinaria (Montevideo)**, v. 53, n. 205, p. 2, 2017.

AHER, D. O. et al. Fatores associados à resistência do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) no sul de Minas Gerais. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)**, v.7, n.1, p. 102 – 115, 2012.

DANTAS-TORRES F. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, ed. 3, p. 452-61, 2015.

DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & Vectors**, n. 26, v.3, p. 1–11, 2010.

DANTAS-TORRES, F. et al. Detection of *Leishmania infantum* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil and Italy. **Parasitology Research**, v.106, n. 4, p. 857-860, 2010.

DANTAS-TORRES, F. et al. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic Keys. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 6, p. 45, 2019.

DANTAS-TORRES, F. ***Rhipicephalus sanguineus* e a epidemiologia da leishmaniose visceral canina no Estado de Pernambuco**. 2009. 96f. Tese (Doutorado em Ciências – Saúde Pública). Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

DANTAS-TORRES, F. Rocky mountain spotted fever. **The Lancet Infectious Diseases**, v.7, n.11, p. 724– 732, 2007.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 3, p. 173–185, 2008.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; OTRANTO, D. Seasonal variation in the effect of climate on the biology of *Rhipicephalus sanguineus* in southern Europe. **Parasitology**, v. 138, p. 527–536, 2011.

DEJAN, L. et al. Seroprevalences of *Rickettsia conorii*, *Ehrlichia canis* and *Coxiella burnetii* in Dogs from Montenegro. **Acta Parasitologica**, p. 1-10, 2019.

DIAS, A. S. et al. In vitro activity of the *Schinus terebinthifolius* (R.) extract on engorged female tick of *Rhipicephalus Boophilus microplus* and on larvae hatchability. **Scientific Electronic Archives**, Sinop, v.12, n. 2, 2019.

DOS SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides – uma visão geral. **Alimentos e Nutrição**, v.18, n.3, p. 339-349, 2007.

DOURADO, J. C. L. **Influência do sumo de melão – de – são – Caetano (*Mormodica charantia*, L) sobre a atividade reprodutiva de teleóginas de *Boophilus microplus*, *Canestrini*, 1887**. Dissertação do curso de mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí: Teresina, 42 f., 2001.

EL-MERGAWI, R.; IBRAHIM G.; AL-HUMAID A. Screening for Antifungal Potential of Plant Extracts of Fifteen Plant Species Against Four Pathogenic Fungi Species. **Gesunde Pflanzen**, v. 70, n. 4, p. 217–224, 2018.

FELIPPE, Gil. **No rastro de Afrodite: plantas afrodisíacas e culinária**. São Paulo: Ateliê Editorial, 2004. 312 p.

FURLONG, John. **Carrapato: problemas e soluções**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. 65 p.

GAMA-MELO, M. O et al. Evaluation of canine leishmaniasis and concomitant seropositivity for *Babesia canis* and *Rickettsia* in a nonendemic area in the central west region of Minas Gerais. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 41, 2019.

GIGLIOTI, R. et al. In vitro acaricidal activity of neem (*Azadirachta indica*) seed extracts with known azadirachtin concentrations against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, p. 309–315, 2011.

GODARA, R. et al. Acaricidal activity of extract of *Artemisia absinthium* against *Rhipicephalus sanguineus* of dogs. **Parasitology Research**, v. 113, p. 747–754, 2014.

GUGLIELMONE, A. A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, n. 2, p. 83-100, 2006.

KARIMI, M.; SADEGHI, R.; KOKINI, J. Pomegranate as a promising opportunity in medicine and nanotechnology. **Trends in Food Science & Technology**, v. 69, p. 59-73, 2017.

KHAN, A. et al. Acaricidal efficacy of *Calotropis procera* (Asclepiadaceae) and *Taraxacum officinale* (Asteraceae) against *Rhipicephalus microplus* from Mardan, Pakistan. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdã, v. 78, p. 595–608, 2019.

LABRUNA, M. B. Biologia-Ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p.123-124, 2004.

LOCKWOOD, B. et al. Widespread distribution of ticks and selected tick-borne pathogens in Kentucky (USA). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, p. 738–741, 2018.

LORENZI, H. **Árvores e arvoretas exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, v. 75, n. 4, p. 419-427, 2018.

MAGADI, K. et al. Evaluation on Antifungal Property of Supercritical Carbon Dioxide Extract of *Prosopis juliflora* Leaves against Plant Pathogens. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 8, p. 1-9, 2018.

MARTINS, L. A. et al. The Distinct Transcriptional Response of the Midgut of *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma aureolatum* Ticks to *Rickettsia rickettsii* Correlates to Their Differences in Susceptibility to Infection. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. 129, p. 1-13, 2017.

MATOS, Francisco José de Abreu. **Introdução à fitoquímica experimental**. 1 ed. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2008. 148 p.

MENDES, T. M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Rhipicephalus sanguineus*: uma revisão sobre as perspectivas, distribuição e resistência. **Pubvet**, v. 13 n. 6, p. 127, 2019.

MOLENTO, M. B. et al. Partial selective treatment of *Rhipicephalus microplus* and breed resistance variation in beef cows in Rio Grande do Sul, **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Carlos, v. 192, n. 1-3, p. 234-239, 2013.

NAGAR, G. et al. Molecular mechanism of synthetic pyrethroid and organophosphate resistance in field isolates of *Rhipicephalus microplus* tick collected from a northern state of India. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, p. 319-331, 2018.

NAVA, S. et al. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 3, p. 252-276, 2014.

NAVA, S. et al. *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): Neotype designation, morphological re-description of all parasitic stages and molecular characterization. **Ticks and Tick-borne**, v. 9, n. 6, p. 1573–1585, 2018.

NAVA, S. et al. **Ticks of the Southern Cone of America (Diagnosis, Distribution, and Hosts with Taxonomy, Ecology and Sanitary Importance)**. 1. ed., London, San Diego, Cambridge: Elsevier, p. 375, 2017.

- NELSON, David. L.; COX, Michael. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. 1328 p.
- NEVES, D.P. et al. **Parasitologia humana**, 13.ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 616, 2016.
- NICOLINO, C. A.; PARANHOS, R. M.; MACIEL, W. Avaliação *in vitro* de fitoterápicos no controle de *Rhipicephalus boophilus microplus*. **Nucleus Animalium**, v.5, n.1, p. 91-96, 2013.
- OJEDA-CHI, M. M et al. *Ehrlichia canis* in dogs of Mexico: Prevalence, incidence, co-infection and factors associated. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 67, n. 1-6, 2019.
- OLIVEIRA, L. P. et al. Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Prosopis juliflora* L., Punicaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 201-207, 2010.
- OLIVEIRA, P. R. The potential of *Acmella oleracea* (Jambu) extract in the control of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) female ticks. **International Journal Of Acarology**, v. 44, p. 192–197, 2018.
- OLIVO, C. J. et al. Efeito do óleo de eucalipto (*Corymbia Citriodora*) no controle do carrapato bovino. **Ciência rural**, v. 43, n. 2, p. 331-337, 2013.
- ORTEGA-MORALES, A. I. et al. Detection of *Rickettsia spp.* in *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato) collected from free-roaming dogs in Coahuila state, Northern Mexico. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, 2019.
- PEGADO, C. M. A. et al. Efeitos da invasão biológica de algaroba: *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. sobre a composição e a estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 887-898, 2006.
- PEREIRA, J. S. et al. Infestação por carrapatos Argasidae e Ixodidae em pequenos mamíferos silvestres da Estação Experimental Rafael Fernandes, Mossoró/RN. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 741-748, 2017.
- PINTO, Z. T. et al. Acaricidal effects of seven Brazilian plant extracts. **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 44, n. 1, p. 44-47, 2018.

PIRES, J. E. P. **Efeito dos extratos aquoso e etanólico de planta *Simarouba versicolor* St. Hill “in vitro” sobre larvas e teleóginas de carrapatos *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 e *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806.** 2006. 46f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2006.

PIRES, J. E. P. *et al.* Determinação da concentração inibitória média (CI₅₀) do extrato salino bruto de *Simarouba versicolor*, St. Hill sobre a ovipostura do carrapato bovino (*Boophilus microplus*, Canestrine, 1887). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.9, n.4, p. 23-26, 2007.

POLITI, F. A. S. *et al.* Evaluation of *Tagetes patula* (Asteraceae) as an ecological alternative in the search for natural control of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdã, v. 77, n. 4, p. 601–618, 2019.

RAULFA, M. K. *et al.* Association of *Borrelia* and *Rickettsia* spp. and bacterial loads in *Ixodes ricinus* ticks. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, p. 18–24, 2018.

RODRIGUES, O. G. *et al.* *In vitro* biological activity of the *Croton blanchetianus* (Baill) essential oil against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, v. 7, n. 02, p. 55-58, 2019.

RODRÍGUEZ, Y. *et al.* Tick-borne diseases and autoimmunity: A comprehensive review. **Journal of Autoimmunity**, v. 88, p. 21-42, 2018.

RODRIGUEZ-VIVAS, R. I. *et al.* Integrated control of ticks in bovine livestock. **Ecosistemas y Recursos Agropecuarios**, Villahermosa, v. 1, n. 3, p. 295-308, 2014.

ROSA, P. S.; AVILA, V.S. Variáveis relacionadas ao rendimento da incubação de ovos em matrizes de frangos de corte. Concórdia, SC: **Embrapa Suínos e Aves**, p. 2, 2000.

SANTOS, D. D. M. **Avaliação do efeito inseticida de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae) sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae), vetor da leishmaniose visceral no Brasil.** 2018. 67f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri: Diamantina, 2018.

SEQUEIRA, Teresa Cristina Goulart de Oliveira; AMARANTE Alessandro Francisco Talamini. **Parasitologia animal: animais de produção**. Rio de Janeiro: EPUB, 2001, 149 p.

SERRA-FREIRE, Nicolau Maués. **Doenças Causadas por Carrapatos**. In: Marcondes CB. Doenças transmitidas e causadas por artrópodes. 1. ed. São Paulo, Atheneu, 2009. 402 p.

SHARMA, A. et al. Antibacterial activity of medicinal plants against pathogens causing complicated urinary tract infections. **India Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.71, n. 2, p. 136-139, 2009.

SILVEIRA, J. A; PASSOS, L. M; RIBEIRO, M. F.: Dinâmica populacional de *Rhipicephalus sanguineus* (Latrielle, 1806) em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 3–4, p. 270-275, 2009.

SIMIONI, C. V.; FREITAS, F. L. C.; SOARES, L. C. Uso de extrato de *Schinus molle* (Anacardiaceae) como alternativa sustentável para o controle larval de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em propriedade de agricultura familiar. **Revista Científic@ Universitas**, v. 4, n. 2, p. 1, 2017.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. 486 p.

SOUZA, L. M. et al. Eficácia da deltrametrina no controle de larvas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, p. 1120, 2015.

SPAGNOL, F. H.; PARANHOS, E. B.; ALBUQUERQUE, G. R. Avaliação *in vitro* da ação de acaricidas sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini, 1887 (Acari: Ixodidae) de bovinos leiteiros no município de Itamaraju, Bahia, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 731-736, 2010.

SPRENGER, L. K. et al. Efeito acaricida in vitro do extrato hidroalcoólico de *Himatanthus sucuuba* contra *Rhipicephalus microplus*. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 2, p. 64-74, 2016.

SPRENGER, L. K. et al. Ovicidal and larvicidal activity of Artemisia annua hydroalcoholic extract against gastrointestinal nematode. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 25-31, 2015.

SZABÓ, M. P. J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) on Dogs from Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 57, p. 72–74, 2010.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 1052, 2010.

UKANDE, M. D. et al. Review on Pharmacological potentials of *Prosopis juliflora*. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, Índia, v. 9, n. 4, p. 755-760, 2019.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 196-202, 1998.

VASCONCELOS, V.O. et al. Efficacy of plants extracts from the Cerrado against adult female of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 75, n. 4, p. 419–427, 2018.

VASQUEZ, A. et al. Incidence of the Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* and its parasitoid, *Ixodiphagus hookeri* on dogs in South Texas. **Subtropical Agriculture and Environments**, v. 70, p. 6-10, 2019.

VIEIRA, F. T. et al. Occurrence of ticks in dogs in a hospital population in the state of Espírito Santo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 519-521, 2018.

VIOL, M. A. et al. Identificação de promastigotas de *Leishmania* spp. nos intestinos, ovários e glândulas salivares de *Rhipicephalus sanguineus* infestando ativamente os cães. **Parasitology Research**, v. 115, p. 3479, 2016.

WALKER, J. B.; KEIRANS, J. E.; HORAK, I. G. The Genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae): **A Guide to the Brown Ticks of the World**. Cambridge: Cambridge University Press, v. 32, n. 6, p. 417–418, 2000.