



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

MADALENA DANTAS DE MEDEIROS NETA

AVALIAÇÃO *in vitro* DO EXTRATO SALINO BRUTO DAS FOLHAS DE *Prosopis juliflora* SOBRE OVIPOSIÇÃO EM FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE)

Mossoró/RN

2019

MADALENA DANTAS DE MEDEIROS NETA

AVALIAÇÃO *in vitro* DO EXTRATO SALINO BRUTO DAS FOLHAS DE *Prosopis juliflora* SOBRE OVIPOSIÇÃO EM 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.

M488a Medeiros Neta, Madalena Dantas de .
AVALIAÇÃO in vitro DO EXTRATO SALINO DAS
FOLHAS DE Prosopis juliflora SOBRE OVIPOSIÇÃO EM
FÊMEAS DE Rhipicephalus sanguineus
(LATREILLE, 1806) (ACARI: Ixodidae) / Madalena
Dantas de Medeiros Neta. - 2019.
32 f. : il.

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

1. Algaroba. . 2. Carrapato. . 3.
Fitoterápico. I. Bezerra, Ana Carla Diógenes
Suassuna, orient. II. Título.

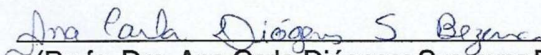
MADALENA DANTAS DE MEDEIROS NETA

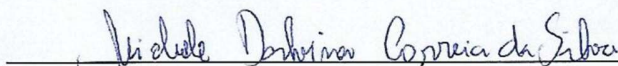
AVALIAÇÃO *in vitro* DO EXTRATO SALINO BRUTO DAS FOLHAS DE *Prosopis juliflora* SOBRE OVIPOSIÇÃO EM FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE)

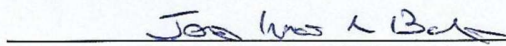
Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Defendida em: 07/08/2019.

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

Inicialmente gostaria de agradecer aos principais responsáveis por isso, meu Pai (José Honório) um dos homens mais inteligentes que conheço e que teria sido um grande cientista se tivesse a oportunidade, ele já é um engenheiro por natureza e minha Mãe (Maria Alice) minha inspiração de vida, uma mulher forte e batalhadora que, desde sempre, lutou pela família e por ela mesma. Aos meus amores, obrigada por tornarem tudo possível.

Agradecer também a todos os professores que já tive, pois todos eles contribuíram para a minha formação, como profissional e como pessoa.

À Ana Carla, minha orientadora, por ser quase uma mãe e por me aceitar me fazendo sentir tão à vontade em participar da sua equipe, por todas as conversas e conselhos que me fizeram crescer e, principalmente, por ter toda a paciência do mundo, sei que não sou fácil.

Aos companheiros de laboratório pelas horas investidas na pesquisa, mas sem perder a leveza, em especial a Arielle que foi minha principal companheira nos experimentos, mas também a Tallyson e a João que estavam lá desde o começo e me ajudaram muito.

Aos meus bebês, Paulo, Lhara e Matheus, por me darem força e coragem de continuar durante todos esses anos, por todas aquelas cadeiras, pelas conversas e companhia na caminhada, espero que a gente continue com essa conexão incrível pra sempre.

À Matheus Ananias, meu companheiro, por aguentar todas as reclamações durante o curso e a realização dessa pesquisa, por me ajudar sempre que podia inclusive correndo atrás de inseto pra mim, obrigada por sempre me salvar.

À Thaila Galvão, minha melhor amiga, por me ajudar sempre que pedi, por estar comigo todos esses anos, me ajudar a seguir em frente e ser essa irmã que a vida me deu.

Aos meus familiares que de alguma forma contribuíram nesse tempo, em particular à Luana (minha irmã) e Nichollas (meu sobrinho), por aguentarem a saudade de mim.

Por fim e não menos importante, gostaria de agradecer aos membros da banca, que disponibilizaram tempo para ler o trabalho e melhorá-lo.

À todos meu muito obrigada.

RESUMO

Rhipicephalus sanguineus, popularmente conhecido como carrapato marrom cão, tem distribuição mundial, com ênfase em locais de temperatura mais elevada. É controlado por acaricidas que podem ocasionar efeitos colaterais e resistência química parasitária, o que possibilitou pesquisas por alternativas de controle, como os fitoterápicos. Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar efeito *in vitro* do extrato salino bruto de *Prosopis juliflora* sobre oviposição de fêmeas de *R. sanguineus*. As folhas foram secas, trituradas e submetidas à extração em solução de cloreto de sódio para preparação do extrato. Enquanto teleóginas ingurgitadas foram coletas de cães sem utilização de antiparasitário por no mínimo 30 dias. Essas fêmeas foram homogeneizadas (pelo peso) em grupos, com posterior imersão em 20 mL do extrato, e submetidas a dois tempos de exposição (10 e 20 minutos). Para o controle negativo foi utilizada água destilada e para o positivo acaricida comercial (Amitraz). Após os tempos propostos, foram fixadas em placas de Petri e levadas para a estufa incubadora, onde todas apresentaram oviposição, excetuando-se o controle positivo. Como resultado obteve-se um índice de postura de ovos de 45% tanto no grupo de controle negativo, quanto nos grupos experimentais, não se constatando assim diminuição na ovipostura das fêmeas.

Palavras-chave: Algaroba. Carrapato. Fitoterápico.

ABSTRACT

Rhipicephalus sanguineus, popularly known as brown dog tick, has worldwide distribution, with an emphasis on higher temperature locations. It is controlled by acaricides that can cause side effects and parasitic chemical resistance, which enabled research for control alternatives, such as herbal medicines. In this context, the present study aimed to evaluate in vitro parasitocidal effect of *Prosopis juliflora* crude saline extract on oviposition of *R. sanguineus* females. The leaves were dried, crushed and subjected to extraction in sodium chloride solution to prepare the extract. While engorged teleogines were collected from dogs without antiparasitic use for at least 30 days. These females were homogenized (by weight) in groups, then immersed in 20 mL of the extract, and subjected to two exposure times (10 and 20 minutes). For the negative control distilled water was used and for the positive commercial acaricide (Amitraz). After the proposed times, they were fixed in Petri dishes and taken to the incubator oven, where they all presented oviposition, except for the positive control. As a result, an egg laying index of 45% was obtained in both the negative control group and the experimental groups, thus not showing a decrease in female oviposture.

Keywords: Algaroba. Tick. Herbal medicine.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	9
2.1 CARRAPATOS	9
2.1.1 <i>Rhipicephalus Sanguineus</i> , como Parasito	10
2.1.2 Resistência parasitária.....	15
2.2 BIOATIVOS E CULTURA POPULAR.....	
2.2.1 <i>Prosopis juliflora</i> , Algaroba	16
3 OBJETIVOS	17
3.1 OBJETIVO GERAL.....	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1 EXTRATO SALINO BRUTO DE <i>Prosopis juliflora</i>	18
4.1.1. Coleta do material vegetal.....	18
4.1.2. Obtenção do extrato bruto salino de <i>Prosopis juliflora</i>	18
4.1.3. Fitoquímica.....	19
4.2. COLETA DE TELEÓGINAS DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	19
4.2.1 Autorização Do Comitê De Ética E Pesquisa.....	19
4.2.2. Coleta Dos Ectoparasitos Nos Cães.....	19
4.2.3. Análise <i>in vitro</i> do Extrato sobre a ovipostura <i>Rhipicephalus sanguineus</i> através do Teste De Imersão.....	20
4.3. ANÁLISE DOS DADOS.....	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
6. CONCLUSÕES.....	25
REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) a população de cachorros em domicílios brasileiros foi estimada em 52,2 milhões, fora os animais de rua (IBGE, 2013). Dentre os problemas que podem acometer esses animais de companhia, podemos citar as patologias causadas por ectoparasitos, como os carrapatos (GONÇALVES, HUERTA, FREITAG, 2016), com destaque para *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae).

O principal método de controle dos carrapatos são os acaricidas químicos (FAO, 2004). Porém quando utilizado de forma inadequada, um acaricida pode ocasionar intoxicação e desenvolvimento de resistência química parasitária. Assim, devido aos problemas relacionados ao uso desses acaricidas e diante da sua importância para a saúde, humana e animal, fica evidenciada a necessidade de utilizar tratamentos alternativos como os fitoterápicos (FRANCO, 2017). Além da necessidade de acompanhar a tendência de mercado por produtos amigáveis ao ambiente, é preciso a pesquisa com bioativos (SPRENGER *et al.* 2016).

Neste sentido os conhecimentos tradicionais, são enriquecidos com o passar dos anos, constituindo um patrimônio invisível (BRITO e POZZETTI, 2018) O livro ministério da saúde afirma, no livro Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, afirma que o uso terapêutico das plantas, é prática que está intrinsecamente relacionada aos territórios e seus recursos naturais, fazendo assim parte da reprodução sociocultural e econômica dos povos e comunidades. (Brasil, 2016). O sistema de informação em Saúde para a Atenção Básica (SISAB) registrou 66.445 atendimentos de Fitoterapia, em 1.794 estabelecimentos da Atenção Básica, distribuídos em 1.145 municípios.

Nesse contexto a *Prosopis juliflora* (popularmente conhecida no Brasil como Algaroba) tem sua atividade antimicrobiana *in vivo* (BATISTA *et al.*, 2018) inclusive contra diversas bactérias patogênicas que afetam o homem (SUDHAKAR *et al.*, 2015), também testada sua atividade no combate à malária (BATISTA *et al.*, 2018), seu extrato também foi testado quanto a atividade antitumoral, mostrando uma atividade que vale a pena ser melhor avaliada (COSTA; CAVALCANTE, 2018).

É uma planta exógena da região Nordeste do Brasil, que foi trazida com o objetivo de ajudar ao reflorestamento e servir de alimento para os animais (DAMASCENO et al., 2017). Com o tempo o foco da utilização mudou e se começou a usar a Algaroba para suprir a necessidade de madeira, para fornos, produção de carvão e confecção de cercas, dado o alto grau de desmatamento da Caatinga na região (BURNETT, 2018). É uma planta exógena da região Nordeste do Brasil, que foi trazida com o objetivo de ajudar ao reflorestamento e servir de alimento para os animais (DAMASCENO et al., 2017). Com o tempo o foco da utilização mudou e se começou a usar a Algaroba para suprir a necessidade de madeira, para fornos, produção de carvão e confecção de cercas, dado o alto grau de desmatamento da Caatinga na região (BURNETT, 2018).

Porém sem pesquisa relacionada a ação acaricida. Assim o presente trabalho teve como objetivo avaliar atividade sobre a oviposição de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* do extrato salino bruto da folha da algaroba como tratamento alternativo aos acaricidas químicos presentes no mercado.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CARRAPATOS

Carrapatos são considerados os ectoparasitos mais prevalentes em cães no Brasil (VIEIRA *et al.*, 2018), podendo parasitar outras espécies, inclusive o homem (AGUIRRE, 2019). De acordo com Neves *et al.* (2016) são classificados como artrópodes, atribuídos a Classe Arachnida, subclasse Acarina. Se classificam em três famílias: Argasidae, Ixodidae e Nuttalliellidae (LUZ; MATHIAS; FUCCINI, 2014). Tem ampla distribuição geográfica, sendo muito comuns no Brasil e podem causar grandes infestações levando a problemas de saúde pública (NEVES *et al.*, 2016).

Os conhecidos como carrapatos “duros”, possuem um escudo de proteção no corpo, conseguem se fixar ao seu hospedeiro com aparelhos bucais serrilhados e de difícil extração (Figura 1).

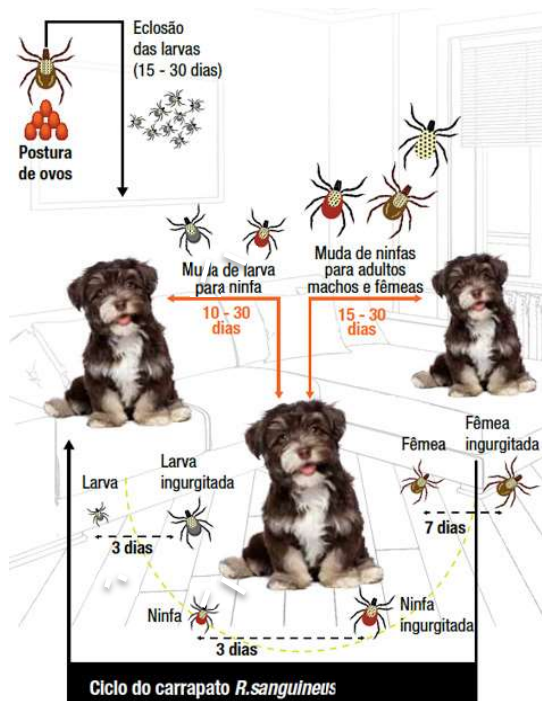
Figura 1- Carrapato estrela (*Amblyomma cajennense*) fixado à pele humana.



Fonte: Reprodução (Ashley Prytherch/Royal Surrey County Hospital NHS Foundation Trust1/VEJA/VEJA).

A fixação é indolor e pode ocorrer em diversos hospedeiros, após o parasito sair do ovo busca um animal para realizar o repasto (se encher de sangue) durante alguns dias, deixando então o hospedeiro, indo ao ambiente, para a troca de fase evolutiva de larva à ninfa, se repetindo de ninfa a adulto, por fim a fêmea adulta e ingurgitada (com ovos e sangue) deixa o animal para ovipor no ambiente dando início a uma nova geração (TAYLOR, COOP E WALL, 2017) como representada na figura 2:

Figura 2 - Representação do ciclo evolutivo do carrapato de três hospedeiros nas fases de ovo, larva, ninfa e adulta.



Fonte: Adaptado do Site Bayer.

Em suas diversas formas evolutivas tem a capacidade de transmitir diversos agentes infecciosos como bactérias, protozoários, fungos (HADDAD JUNIOR *et al.*, 2018), helmintos e vírus (FERREIRA VICENTINI *et al.*, 2016), parasitando diversos animais (ACOSTA; MARTINS; LABRUNA, 2017). Podem ocorrer até 5 gerações durante o ano, principalmente durante o verão (TAYLOR *et al.*, 2017).

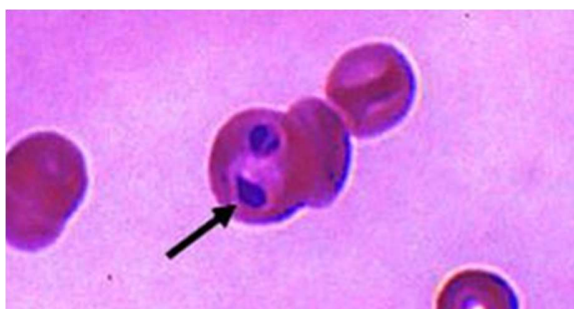
2.1.1 *Rhipicephalus sanguineus*

Ganha destaque no Brasil o *Rhipicephalus sanguineus* sendo o principal responsável pelo parasitismo em cães na região urbana (SILVA *et al.*, 2017). Esses ectoparasitos são capazes de transmitir patógenos incluindo bactérias, que podem causar doenças nos hospedeiros acometidos (BRAGA *et al.*, 2017).

Ao ser parasitado por *R. sanguineus* o cão pode se infectar com hemoprotozoários,

como *Babesia canis* e *Babesia gibsoni* (Figura 3) (SILVA, 2017). A Babesiose canina, como é denominada a enfermidade, é uma importante infecção que acometem os canídeos, podendo causar sintomas como: anorexia, apatia, diarreia, pneumonia, febre, hemoglobínúria, anemia branda a grave e icterícia, até danos considerados neurológicos que levam a agressividade, paralisia, desequilíbrio e ataxia (DIAS; FERREIRA, 2016).

Figura 3 – Hemácias de canídeos infectadas por hemoprotozoários transmitidos por carrapatos infectados com *Babesia canis*.



Legenda: Seta com indicação do hemoprotozoário *Babesia canis*. **Fonte:** Wikimedia Commons.

Outra doença transmitida por esse carrapato são as erliquioses, essas são causadas pelo agente etiológico *Ehrlichia* sp (Figura 4) sendo caracterizada por febre, anorexia, emagrecimento, chegando até quadros de vômito, assim como sangramento nasal (BRAGA, 2017).

Figura 4- Imagem esfregaço sanguíneo indicando a presença da bactéria do gênero *Ehrlichia* sp infectando hemácias caninas.



Fonte: Reprodução do portal dog.

2.1.2 Resistência parasitária

Segundo Taylor, Coop e Wall (2017) são utilizados três grupos de substâncias químicas como princípio para controle de ectoparasitos: organoclorados (que são proibidos em diversos países em razão dos riscos ambientais), organofosforados (mais utilizados, presentes em diversos produtos, embora haja preocupação sobre a possibilidade de toxicidade crônica à longo prazo) e piretróides sintéticos (muito usados como repelente, porém tóxicos para seres aquáticos o que causa risco ao meio ambiente). Esses produtos químicos, são caros e geram muitos resíduos prejudiciais tanto aos animais, aos humanos e meio ambiente (CASTRO *et al.*, 2018).

O desenvolvimento da resistência parasitária a medicamentos estabeleceu-se como área de estudo há muitos anos, em razão dessa ter se tornado generalizada (CASTRO *et al.*, 2018). Alguns ectoparasitos apresentam resistência elevada, como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (que afeta principalmente os bovinos) não sendo afetado pela maior parte dos acaricidas químicos utilizados (KOLLER, 2019).

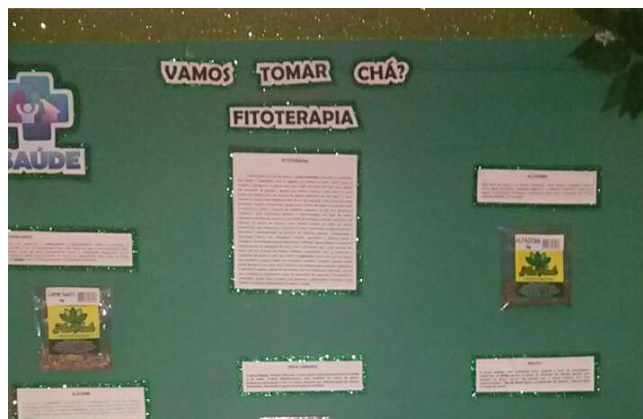
Abbas e colaboradores (2014), apontaram que a resistência é causada principalmente por motivos genéticos (mutações espontâneas), fatores relacionados ao uso, como a frequência do tratamento e/ou modo de aplicação e por fim os fatores biológicos.

Já sendo registrada a resistência no Brasil (BECKER *et al.* 2019). Portanto é preciso o estudo e desenvolvimentos de alternativas de tratamento (SANTOS *et al.*, 2017).

2.2. BIOATIVOS E CULTURA POPULAR

O conhecimento sobre medicina tradicional sendo adquirido e passado de geração em geração, sobre medicina tradicional (FENALTI *et al.*, 2017), informações essas que vieram dos índios, europeus e africanos originando a fitoterapia. Esse assunto é abordado Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos como a utilização da planta como um todo para a cura, sem um composto químico selecionado, com recomendações para o tratamento de diversas enfermidades (BRASIL, 2016), o livro já vem sendo adotado em diversas cidades como forma de estimular o uso da fitoterapia (Figura 5).

Figura 5 –Mural educativo sobre fitoterapia fixada no Centro de Saúde da Família de Ipueira, estado do Rio Grande do Norte.



Fonte: Arquivo pessoal.

A partir de estudos aplicados em fitoterapia foi observado a capacidade acaricida de um metabolismo especializado com compostos como terpenos, flavonóides, alcaloides e cumarinas com resultados publicados (GONÇALVES; HUERTA; FREITAG, 2016). Várias espécies se destacam como Cominho (*Cuminum cyminum L.*) (VILLAREAL *et al.*, 2017) e Cravo-de-defunto (*Tagetes minuta*) (SILVA, 2016).

2.2.1 *Prosopis juliflora*, Algaroba

A Algaroba é uma planta estrangeira que chegou ao Brasil no ano de 1942. Foi considerada salvação para a região semiárida, por apresentar um rápido crescimento, oferecendo sombra, e com suas vagens servindo de alimentos para animais (BURNETT, 2017). Com o tempo o foco da utilização mudou e se começou a usar a Algaroba para suprir a necessidade de madeira, para fornos, produção de carvão e confecção de cercas, dado o alto grau de desmatamento da Caatinga na região (BURNETT, 2018). A algaroba pertence a família Fabaceae, sub família Mimosaceae e o gênero *Prosopis* (DASMACENO *et al.*, 2017), apresenta raiz principal que busca os lençóis freáticos abaixo da terra, suas folhas são compostas, bipinadas, de inserção alterna (SILVA, 2017). (Figura 6).

Figura 6 – Imagem representativa do espécime de *Prosopis juliflora* no ambiente demonstrando suas folhas compostas e vagens.



Fonte: Central líder.

Utilizada como antibacteriano com ação comprovada contra patógenos humanos, o extrato produzido com DMSO a partir das folhas se mostrou eficaz contra *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Paecilomyces variotii* e *Phomopsis leptostromiformis* (SUDHAKAR *et al.*, 2015). A planta também tem ação antimalárica testada *in vivo*, com extratos produzidos por percolação com etanol a partir das folhas e vagens, ricos em alcaloides causou uma inibição dos parasitas no sangue na dose de 2 mg / kg semelhante à observada para a cloroquina na dose de 50 mg / kg, que é um fármaco usado no tratamento contra a malária (BATISTA *et al.*, 2018), além de ser atualmente utilizada na pesquisa contra o câncer de mama humano (COSTA; CAVALCANTE, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar atividade acaricida do extrato salino bruto das folhas de *Prosopis juliflora* contra a ovipostura de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito *in vitro* do extrato da folha da *Prosopis juliflora* sobre a ovipostura das teléoginas da espécie *R. sanguineus*;
- Realizar análise fitoquímica do extrato salino bruto das folhas de *Prosopis juliflora*.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. EXTRATO SALINO BRUTO DE *Prosopis juliflora*

4.1.1. Coleta do material vegetal

No município de Assú, estado do Rio Grande do Norte, foram coletadas as folhas da espécie *P. juliflora*, uma parte da planta foi depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima, da Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), para obtenção da exsicata número 14.999.

4.1.2. Obtenção do extrato bruto salino de *Prosopis juliflora*

As folhas de *P. juliflora* foram separadas, limpas e postas para secar em temperatura ambiente. Após secagem as folhas passaram pelo processo de trituração e então o pó obtido foi submetido a extração a 10% (p/v) em solução de NaCl 0,15M, onde permaneceu em temperatura ambiente por 16 horas, usando a proporção de 1 grama de soluto pra 10 mL de solvente, em seguida foi realizada centrifugação a 4°C, 8.000 rpm durante 20 minutos para obtenção do extratos bruto que foi armazenado em frasco âmbar no freezer até seu uso (Figura 7).

Figura 7: Metodologia para obtenção do extrato salino bruto das folhas de *Prosopis juliflora*.



A) Coleta da *P. juliflora*: B) Pó obtido das folhas. C) Líquido após a extração D) Extrato após a centrifugação.

Fonte: Arquivo pessoal.

4.1.3. Fitoquímica

A análise fitoquímica visa identificar os grupos de metabolitos secundários presentes nas espécies vegetais e posteriormente caracterizá-los e isolar metabólitos de interesse (SIMÕES et al. 2017) que podem estar relacionados as atividades biológicas do produto testado. Ressalta-se que durante o desenvolvimento do extrato alguns metabólitos podem ser perdidos reforçando a importância da análise fitoquímica após preparo do produto.

A análise da composição química do extrato 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.

4.2. COLETA DE TELEÓGINAS DE *Rhipicephalus sanguineus*

4.2.1 Autorização do comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)

O referido estudo foi submetido à CEUA/UFERSA, sendo devidamente autorizado pelo CEUA/UFERSA de acordo com parecer N° 23091.001136/2015-55.

4.2.2. Coleta dos ectoparasitos nos cães

Para a obtenção dos carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806), foram selecionados animais infestados encontrados nos municípios de Mossoró-RN e Ipuera-RN sem tratamento prévio com produtos químicos por um período de no mínimo 30 dias (Figura 8).

Figura 8: Coleta dos exemplares de *Rhipicephalus sanguineus*.



A) Coleta das fêmeas de carrapato em canídeo. B) Espécimes recolhidos armazenados em frasco aerado. Fonte: Arquivo pessoal.

As teleóginas foram obtidas com auxílio de uma pinça, e foram acondicionadas vivas em frascos aerados e encaminhados ao Laboratório de Biotecnologia Aplicada a Doenças Infecto-Parasitárias (LABIP) da UFERSA. No laboratório, foram identificadas em estereomicroscópio para confirmação da espécie, passando por posterior higienização com água destilada e secagem com papel toalha. As teleóginas foram então homogeneizadas pelo peso em balança analítica de precisão, visando a homogeneização dos grupos, constituídos por 8 fêmeas (PIRES, 2006).

4.2.3. Análise *in vitro* do extrato sobre a oviposição de *Rhipicephalus sanguineus* através do teste de imersão

Após os procedimentos de limpeza e homogeneização, os grupos foram transferidos para tubos de ensaio com o extrato salino bruto das folhas de *P. juliflora*, onde o primeiro grupo permaneceu 10 minutos em contato com 20 mL da amostra vegetal e o segundo grupo 20 minutos (PIRES *et al*, 2007; CASTRO *et al*, 2010; POLITI *et al*, 2012).

Foi realizado controle negativo com utilização de água destilada e positivo com a droga química com princípio Amitraz (0,25mg/ml) utilizado de acordo com recomendações do fabricante, havendo o contato durante 20 minutos. Todos os ensaios foram realizados em três repetições. Após o tempo estipulado as fêmeas passaram dos tubos para papel absorvente para sua secagem, posteriormente foram fixadas com fita adesiva em placas de petri (Figura 9), e levadas à incubadora com temperatura e umidade controlados, ajustadas a 27 °C e Umidade Relativa 80 %, durante dezesseis dias.), onde tiveram o período de ovipostura observado (DOURADO, 2001).

Figura 9: Fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* fixadas em placa de petri após ovipostura.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.3. ANÁLISE DOS DADOS

Os dados avaliados no decorrer do estudo foram: peso das fêmeas antes da oviposição e peso da postura após separação dos ovos (Bennet, 1974; Roulston et al., 1968). Para cálculo do índice de produção de ovos (IPO) se usou a formula 1 (Bennet, 1974), e para calculara redução da oviposição (RO) se usou a formula 2 (Roulston et al., 1968):

$$IPO = \frac{\text{Peso dos ovos}}{\text{Peso das fêmeas ingurgitadas}} \times 100 \quad (1)$$

$$RO = \frac{IPO \text{ grupo controle} - IPE \text{ grupo experimental}}{IPE \text{ grupo controle}} \times 100 \quad (2)$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado obteve-se um índice de postura de ovos de 45% tanto no grupo de controle negativo, quanto nos grupos experimentais, não se constatando assim diminuição na ovipostura das fêmeas, como disposto na tabela 1:

Tabela 1 - Efeito do extrato salino bruto das folhas de *Prosopis juliflora* sobre oviposição de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* coletados em cães naturalmente parasitados do município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

Grupo	Peso das teleóginas (g)	Peso dos ovos (g)	Período de postura (dias)	IPO (%)	RO (%)
Exposição 10 minutos	1,1841	0,5457	16	45	0
Exposição 20 minutos	1,9717	0,8909	16	45	0
C- (20 minutos)	0,6864	0,3102	16	45	0
C+ (20 minutos)	0,4112	0	0	0	0

C- - Controle negativo; C+ - Controle positivo; IPO - Índice de produção de ovos; RO - Redução da oviposição.

Divergindo do trabalho de Bispo (2016) que obteve um índice de postura de 5,6 a 36,2 % e as reduções da oviposição variando de 78,1 a 6,3 % com extrato bruto da casca do fruto do Cajá (*Spondias mombin*) sobre fêmeas de *Rhipicephalus microplus*

Enquanto Sprenger em 2016, com o extrato hidroalcólico de *Himatanthus sucuuba* encontrou um índice de um índice de postura (com a concentração de 6,2 mg.mL⁻¹) de 68,2% e as reduções da oviposição de apenas 2,7%, chegando a 11,7% e 83% respectivamente em sua concentração de 113 mg.mL⁻¹.

Outros fitoterápicos foram pesquisados com ação acaricida contra *R. microplus*, onde Villarreal e colaboradores (2017) encontram como resultado 100% de atuação do óleo de

cominho (*Cuminum cyminum* L.), enquanto o óleo de castanha-do-pará (*Bertholletia excelsa*) com 39,39% de eficácia e girassol (*Helianthus annuus*) com 58,75%. Enquanto Silva e colaboradores (2016) realizaram testes *in vitro* a eficácia do extrato de flor-de-defunto (*Tagetes minuta*) contra o carrapato *R. sanguineus* observando 100% de eficácia contra larvas, ninfas e adultos dos carrapatos. Já os óleos de chan (*Mesosphaerum suaveolens*), alfavacão (*Ocimum gratissimum*) e louro-de-baiano (*Alpinia zerumbet*) obtiveram eficiência contra *R. microplus* 95% de eficácia (CASTRO *et al.*, 2018).

A inibição da oviposição poderia ser explicada pela presença dos metabólitos secundários encontrados no produto testado. Nesse contexto, no extrato de *Prosopis juliflora* foram identificadas a presença de: cumarinas, fenóis, saponinas e taninos condensados. A presença de alcaloides não foi testada, porém já foi descrita por Batista e colaboradores (2018), a fitoquímica descrita na tabela 2:

Tabela 2. Identificação das classes de metabólitos secundários obtidos do extrato salino bruto das folhas de *Prosopis juliflora*.

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

Legenda: + presença de composto após reação; - ausência do composto após reação.

A ação dos metabólitos, relaciona-se a presença das saponinas com ação sobre as membranas celulares, podendo aumentar a permeabilidade das mesmas e levar a danos na parede celular (SIMÕES *et al.*, 2017), podendo proporcionar a entrada de outros metabólitos com ação direta sobre o desenvolvimento das larvas dentro dos ovos.

Já os alcaloides podem ter ação como inibidores mitóticos, atuando nos microtúbulos e na topoisomerase I, o que pode ocasionar uma inibição da multiplicação da massa celular dos ovos e posterior formação das larvas (MARQUES; LOPES, 2015).

Quanto aos derivados dos fenóis também encontrados no extrato testado, são conhecidos por serem antioxidantes, e apresentar a ação anti-inflamatória (SIMÕES *et al.*, 2019). Extratos ricos em fenóis podem apresentar efeitos acaricidas (SPRENGER *et al.*, 2016), porém com mecanismo direto ainda não descrito na literatura.

Existem pesquisas de associação entre compostos fenólicos e aos alcaloides, relacionados à participação na inibição de acetilcolinesterase, com ação prejudicial aos estímulos do sistema nervoso dos carrapatos e consequente morte por paralisia espástica (BISPO, 2018).

Os taninos de forma geral, são citados por Sprenger e colaboradores (2015), como antiparasitários de nematoides, responsáveis por reduzir a excreção de ovos e diminuir a fertilidade das fêmeas adultas. Simões *et al.* (2017) descrevem ações bactericida, citotóxica, cicatrizante, antimutagênica e inibitória de várias enzimas. Esta inibição em enzimas pode ter ação direta ou indireta em ectoparasitos, porém não descritas na literatura.

As cumarinas podem apresentar efeito contra artrópodes como lagartas, besouros, formigas, devido a uma ligação de forma não reversível ao citocromo P450 (SANTOS *et al.*, 2018), o que compromete a capacidade detoxificativa do inseto e inibindo a cadeia de transporte de elétron.

6. CONCLUSÃO

O extrato de *Prosopis juliflora* apresenta metabolitos interessantes, cumarinas, fenóis, saponinas, alcaloides e taninos condensados, que podem ter diversas aplicações, porém não apresentou efeito direto sobre a oviposição das fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus*.

REFERÊNCIAS

ABBAS, R. Z. *et al.* Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. **Veterinary Parasitology**, v. 203, n. 1-2. p. 6-20. 2014

ACOSTA, I. C. L.; MARTINS, T. F.; LABRUNA, M. B. Parasitismo humano por *Rhipicephalus Sanguineus sensu lato* (ACARI: IXODIDAE) no Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 54, n. 1, p. 96-99, 2017.

AGUIRRE, A. de A. R. *et al.* *Amblyomma scalpturatum* Neumann, 1906 (Acari: Ixodidae): confirmation in Acre State, Brazil, and description of parasitism in a human. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 2019.

BATISTA, R. *et all.* *In vivo* e *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, ed. 5, p 1046-1050, 2019.

BENNETT G.F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae) and Influence of tick size on egg production. **Acarologia**, v.16, p.52–61, 1974.

BISPO. J. L. P. **Atividade acaricida, inibição da acetilcolinesterase e análise química de resíduos agroindustriais**. 2018. 104f. Tese (Doutorado Acadêmico em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2018.

BRAGA, Í. A. *et al.* Felinos domésticos parasitados por carrapato *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (sl) infectados por *Ehrlichia canis* no Brasil - relato de caso. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 54, n. 4, p. 412-415,

2017.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa nacional de saúde: 2013: acesso e utilização dos serviços de saúde, acidentes e violências: Brasil, grandes regiões e unidades da federação. / IBGE, Coordenação de Trabalho e Rendimento. – Rio de Janeiro: IBGE, 2015. 1050p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos** / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 190 p.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS**. 2018. Disponível em: < <http://www.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-medicinais-e-fitoterapicos-ppnmpf/plantas-medicinais-e-fitoterapicos-no-sus> >

BRITO, A. C. L.; POZZETTI, V. C. Biodiversidade, conhecimentos tradicionais associados e repartição de benefícios. **Revista de Direitos Difusos**, v. 69, n. 1, p. 51-63, 2018.

BURNETT, A. A “saga” político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro. **Revista de Estudos Sociais**, v. 19, n. 38, p. 148-175, 2017.

BURNETT, A. DESENVOLVIMENTO REGIONAL: O CASO DA TECNOLOGIA DA ALGAROBA NO SEMIÁRIDO. **Revista Ambivalências**, v. 6, n. 11, p. 268-291, 2018.

CASTRO, K. N. C. *et al.* Efficacy of essential oils with different concentrations of 1, 8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 203-210, 2018.

CASTRO, K.N.C. *et al.* Prospecção de plantas medicinais para controle do carrapato dos bovinos. **Embrapa Meio-Norte-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2010.

COLES, T, B.; DRYDEN, M. W. Insecticide/acaricide resistance in fleas and ticks infesting dogs and cats. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 8, 2014.

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, p. 130-136, 2018.

DAMASCENO, G. A. de B.; FERRARI, M.; GIORDANI, R. B. *Prosopis juliflora* (SW) DC, an invasive specie at the Brazilian Caatinga: phytochemical, pharmacological, toxicological and technological overview. **Phytochemistry reviews**, v. 16, n. 2, p. 309-331, 2017.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Genetic characterization of *Rhipicephalus sanguineus* (*sensu lato*) ticks from dogs in Portugal. **Parasites & vectors**, v. 10, n. 1, p. 133, 2017.

DIAS, V. A. C; M.; FERREIRA, F. L. A. **Babesiose canina: Revisão**. PUBVET, v. 10, p. 873-945, 2016.

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.

DRUMMOND, R.O. *et al.* *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v.66, n. 1, p.130-133, 1973.

FENALTI, J. M. *et al.* Diversidade das plantas brasileiras com potencial anti-helmíntico.

VITTALLE-**Revista de Ciências da Saúde**, v. 28, n. 1, p. 38-49, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO.
Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants: module 1 –
ticks: acaricide resistance: diagnosis, management and prevention. Rome: Animal
Production and Health Division Agriculture Department, p. 25-26, 2004

FRANCO, P. F. Desenvolvimento de novas ferramentas para o controle de carrapatos.
Sinapse Múltipla, v. 6, n. 1, p. 66-69, 2017.

GONÇALVES, V. de M.; HUERTA, M.; FREITAG, R. A. Potencial de plantas acaricidas
no controle de carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista de Ciência
Veterinária e Saúde Pública**, v. 3, n. 1, p. 14-22, 2016.

HADDAD JUNIOR, V. *et al.* Manifestações cutâneas de picadas de carrapatos em seres
humanos. **An Bras Dermatol**, v. 93, n. 2, p. 254-8, 2018.

KOLLER, W. W. *et al.* Resistência dos carrapatos aos acaricidas. **Embrapa Gado de
Corte-Capítulo em livro científico (ALICE)**, p. 147-158, 2019.

LUZ, H. R.; MATHIAS, C.; FACCINI, J. L. H. Carrapatos parasitando cães em uma área
insular do estado do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary
Medicine**, v. 36, n. 4, p. 437-442, 2014.

MACIEL, M. V. *et al.* Atividade inseticida *in vitro* do óleo de sementes de nim sobre
Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae). **Rev Bras Parasitol Vet.** Jaboticabal, v. 19,
n. 1, p. 7-11, 2010.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 1 ed. Fortaleza: Universidade
Federal do Ceará, p.148, 2008.

MARQUES, J. P.; LOPES, G. C. Alcaloides como agentes antitumorais: considerações químicas e biológicas. **Revista Uningá Review**, [S.l.], v. 24, n. 1, p.56-61, 2015.

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

NEVES, D. P. *et al.* **Parasitologia Humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016. 264 p.

OLIVEIRA, M. K. F.; PEDRASSANI, D. Extrato hidroalcoólico de eucalipto, *Eucalyptus dunnii*, no controle do carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, [S.l.], v. 15, p. 41-48, maio 2017.

OLIVEIRA-FILHO, R. D. Purificação parcial e Caracterização de Amostras Lectínicas de Folhas de *Bryophyllum pinnatum (Lam.) Oken*. 2013. 42 p. Estágio Supervisionado Obrigatório (Graduação em Biotecnologia) UFERSA, Mossoró, 2013.

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.* Acaricidal activity of ethanolic extract from aerial parts of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) against larvae and engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Parasites & vectors**, v. 5, n. 1, p. 295, 2012.

ROULSTON W. J.; STONE B.R.; WILSON J. T.; WHITE L.I.; Chemical control of an organophosphorus and carbamate resistant strain *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). **Bull of Entomological Research**, v. 58, p. 379–391, 1968.

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. 67 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018

SANTOS, E. P. *et al.* Atuação carrapaticida do neem e manejo consorciado de pastagem no controle do carrapato: revisão sistemática de literatura. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Brasil, v. 9, n. 2, p.79-91, 2017.

SCHRODER, B; REILLY, B. K. A comparison between tick species collected in a controlled and control free area on a game ranch in South Africa. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 24, n. 84, p. 1-5, 2013.

SILVA, B. R. *et al.* Ixodidae fauna of domestic dogs in Parana, southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 3, p. 375-377, 2017.

SILVA, C. G. da. Algarobeira. Disponível em: <<http://www.ct.ufpb.br/lpfd/contents/paginas/lcc/pesquisas/a-algaroba>>. Acesso em: 01 jul. 2018.

SILVA, E. M. G.; Efficacy of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) on infested dogs and *in vitro*. **Experimental Applied Acarology**, v.70, n. 4, p. 483-489, 2016.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento.** Porto Alegre: Artmed, 2017. 486p.

SPRENGER, L. K. *et al.* Atividade ovicida e larvicida do extrato hidroalcoólico de *Artemisia annua* sobre parasitas gastrintestinais de bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 1, p. 25-31, 2015.

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,

2016.

SUDHAKAR, S. *et al.* Inhibitory Effect of *Prosopis Juliflora* on Plant and Human Pathogens. **International Journal of Advanced Science and Engineering**. v. 1, n. 3, p 47-49. 2015.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 742 p., 2017.

VICENTINI Y. F. *et al.* Levantamento Da Fauna Acarológica (Ordem: Ixodida) No Município De Bom Jesus Dos Perdões, Utilizando Métodos De Captura De Carrapatos De Vida Livre. In: **Colloquium Agrariae**. 43-48 p. 2016.

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.

VILLARREAL, J. P. V. *et al.* Evaluation of phytotherapy alternatives for controlling *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* *in vitro*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 3, p. 299-306, 2017.