



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

WAGNER MCKLAYTON ALVES DE SOUZA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DA
Lippia sidoides Cham EM DERMATITES PARASITARIAS DE CÃES (*Canis
familiares*)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em Ciência Veterinária.

Orientadora:

Profa. Dra. Maria Cristina de Oliveira Cardoso Coelho

Co-orientador:

Prof . Dr. Lêucio Câmara Alves

RECIFE

2012

FICHA CATALOGRÁFICA

S729e Souza, Wagner Mcklayton Alves de
Avaliação clínica e laboratorial do óleo essencial da *lippia
sidoides* cham em dermatites parasitárias de cães (*Canis
familiares*). / Wagner Mcklayton Alves de Souza. --
Recife, 2012.
92 f. : il.

Orientadora: Maria Cristina de Oliveira Cardoso Coelho.
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) –
Departamento de Medicina Veterinária, Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2012.
Referências.

1. Planta medicinal 2. Alecrim 3. Pimenta 4. Sarnas
5. Dermatologia I. Coelho, Maria Cristina de Oliveira
Cardoso, orientadora II. Título

CDD 636.08965

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DO ÓLEO ESSENCIAL DA
Lippia sidoides Cham EM DERMATITES PARASITARIAS DE CÃES (*Canis
familiares*)**

Tese de doutorado elaborada por

WAGNER MCKLAYTON ALVES DE SOUZA

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. MARIA CRISTINA DE OLIVEIRA CARDOSO COELHO
Orientador – Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE

Profa. Dra. ANA PAULA MONTEIRO TENÓRIO
Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE

Profa. Dra. GRAZIELLE ANAHY DE SOUZA ALEIXO CAVALCANTI
Unidade Acadêmica de Garanhuns/UFRPE

Dra. VANDA LÚCIA DA CUNHA MONTEIRO
Médica Veterinária

Profa. Dra. LILIAN SABRINA SILVESTRE DE ANDRADE
Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE

RECIFE
2012

MENSAGEM

Preocupações

Não se aflija por antecipação, por quanto, é possível que a vida resolva o seu problema, ainda hoje, sem qualquer esforço de sua parte.

Não é a preocupação que aniquila a pessoa e sim a preocupação em virtude da preocupação.

Antes das suas dificuldades de agora, você já faceou inúmeras outras e já se livrou de todas elas, com o auxílio invisível de Deus.

Uma pessoa ocupada em servir nunca dispõe de tempo para comentar injúria ou ingratidão.

Disse um notável filósofo: “Uma criatura irritada está sempre cheia de veneno”, e podemos acrescentar: “e de enfermidade também”.

Trabalhe antes, durante e depois de qualquer crise e o trabalho garantirá sua paz.

Conte as bênçãos que lhe enriquecem a vida, em anotando os males que por ventura lhe visitem o coração, para reconhecer o saldo imenso de vantagens a seu favor.

Geralmente, o mal é o bem mal interpretado.

Em qualquer fracasso, compreenda que se você pode trabalhar, pode igualmente servir, e quem pode servir carrega consigo um tesouro nas mãos.

Por maior lhes seja o fardo de sofrimento, lembre-se de que Deus, que aguentou com você ontem, aguentará também hoje.

ANDRÉ LUIS

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de existir, de desenvolver este trabalho e acima de tudo de poder ser útil em alguma coisa junto à humanidade.

A minha orientadora Profa. Maria Cristina que pelo exemplo de devoção, humildade e respeito sempre nos direcionou para uma formação digna e de respeito.

Ao meu Co-orientador Lêucio Câmara, que em todas as horas mais difíceis nunca nos faltou.

Agradeço a minha Mãe pela força que sempre teve ao meu lado, por ter sido sempre meu refúgio e ter acreditado em mim.

A mãe-nem que Deus colocou como anjo em nossa vidas, que é a fortaleza de nossa morada e aquém, todos devemos devoção.

A minha querida esposa Isabel Cristina. O que dizer? Apenas, muito, muito obrigado por está sempre ao meu lado.

Aos meus filhos Arthur e Augusto que fizeram ascender uma luz em meu coração.

Ao meu Irmão Valdir e ao meu pai (in memória), que me preparam o caminho.

A minha irmã Sandra que com sua devoção está sempre disposta a servir.

Ao meu filho José Adalberto a quem o destino cuidou de presentear com esse sinônimo de amor e devoção.

Aos meus amigos Givanildo, Deivson que no momento da aflição estiveram como lanterna a mi guiar frente a escuridão.

A todos os petianos de ontem, de hoje e sempre. Pela oportunidade do convívio e aprendizado mútuo. São tantos nomes. Yslane, Raissa, Jaqueline, Fernando, Elton, Daniele, Priscila, Kath, Cosme, Joyce, Manuela, Sheilão, Marcela, Felipe, Vitor, Tiara, Natália, Claudia, Jéssica e tantos outros que em diversas oportunidades compartilhamos tanto.

Aos alunos da Graduação que contribuíram com está obra: Bruno, Melina, Rodrigo (química) e a todos que fazem este laboratório.

A todos do Laboratório de Doenças Parasitárias do DMV.

A todos do Laboratório de Doenças infecciosas do DMV, em especial ao Prof. Rinaldo por ter aberto as portas ao nosso trabalho.

A todos do Laboratório de Patologia Clínica e geral que nós foram tão prestimosos.

Aos companheiros de pós: Telga e Vanessa que foram de fundamental importância para o resultado desta luta.

Aos amigos construídos no passado, alunos, mestres e companheiros de lutas. Todos aqueles que fizeram parte dos projetos Manari, Ipojuca, Mondé e Pedra/Venturosa. Foi fantástico estar ao lado de vocês. E claro, aos responsáveis por tudo isto existir. Os Criadores.

Aos funcionários do DMV, (Fausto, Joana, Alcir, Flávia, Adeline, Tom, Acácio, Lana e tantos outros) em todos os níveis que estão sempre solícitos em nos ajudar.

A CAPES- CNPQ pelo apoio a pesquisa realizada.

Que Deus ilumine e proteja sempre o caminho de todos.

RESUMO

A *Lippia sidoides* Cham (alecrim pimenta) é uma planta presente em parte do semi-árido do Nordeste Brasileiro. Suas folhas tem apresentado elevado potencial no tratamento de diversas dermatites em humanos. O presente trabalho objetivou avaliar a atividade biológica do óleo de *L. sidoides* Cham sobre ectoparasitos de cães domésticos (*Canis familiares*) e antimicrobiana sobre *Staphylococcus sp* isoladas destes mesmos animais. Para tal, foram selecionados 20 cães acometidos de ectoparasitoses. Em 40 amostras de cultura de pele para crescimento bacteriano foi verificado resultado positivo em 09 amostras analisadas, sendo isolada a bactéria *Staphylococcus sp*, para avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana do óleo de *L. sidoides* as mesmas foram submetidas ao MIC. Os resultados revelaram ainda a presença da pulga *C. felis felis*, e carrapato *R. sanguineus*. Para avaliação *in vitro* da atividade inseticida contra *Ctenocephalides felis felis* através do teste de papel filtro, foram utilizadas 150 pulgas adultas divididas em três grupos com dez indivíduos cada. Sendo G 01 água destilada + Tween 20, G 02 óleo de *L. sidoides* a 5% tendo como dispersante o Tween 20 e G3 fipronil spray, avaliando-se a motilidade em tempos de 10 minutos 1, 3, 6, 12, 24 horas. No teste *in vivo* 20 cães domiciliados de ambos os sexos parasitados por *C. felis felis* foram divididos em dois grupos G1 com shampoo de óleo essencial de *L. sidoides* a 5% e G2 shampoo neutro, banhados duas vezes por semana por nove semanas. Para avaliação acaricida *in vitro* contra *R. sanguineus* utilizou-se 90 fêmeas teleóginas divididas em três grupos de tratamento, sendo o G1 à base de óleo essencial de *L. sidoides* Cham a 5% utilizando-se tween 20 como dispersante em água destilada, G2 cipermetrina + Diclorvós[®] DDVP e no controle negativo G3 água destilada e tween 20. Os resultados revelaram inibição do crescimento bacteriano significativo na concentração de 5% frente a *S. sp.* mortalidade de 100% frente *R. sanguineus* nas mesmas concentrações. Nos testes *in vivo* contra *C. felis* houve uma redução de 100% no número de pulgas tratadas com *L. sidoides* bem como eficácia de 100% na mortalidade *in vitro* de *C. felis felis* após 24h de exposição ao óleo de *L. sidoides*. Conclui-se que o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5% apresentou eficácia inseticida sobre a forma adulta de *Ctenocephalides felis felis* em ambos os testes. Bem como ação antimicrobiana frente a isolados de *Staphylococcus spp* e acaricida frente a teleóginas de *R. sanguineus*.

Palavras-chave: pulga, planta medicinal, ectoparasitos, timol.

ABSTRACT

The *Lippia sidoides* Cham (rosemary pepper) is a plant present in part of the semi-arid on Brazil northeastern. Their leaves have shown a high potential in the treatment of dermatitis in humans. This study aimed to evaluate the biological activity of the *L. sidoides* Cham oil on ectoparasites of domestic dogs (*Canis familiares*) and antimicrobial activities on *Staphylococcus* sp. isolated in these animals. To this end, were selected 20 dogs suffering from ectoparasites. In 40 samples of skin culture for bacterial growth it was found positive result in 09 samples analyzed, being *Staphylococcus* sp isolated, for *in vitro* evaluation of antimicrobial activity of oil *L. sidoides* they were subjected to MIC. The results also revealed the presence of flea *C. felis felis*, tick *R. sanguineus*. For *in vitro* evaluation of insecticidal activity against *Ctenocephalides felis felis* through the filter paper test, were used 150 adult fleas divided into three groups each with ten subjects. G 01 being distilled water + Tween 20, G 02 oil *L. sidoides* 5% with Tween 20 as a dispersant and G3 three spray fipronil, evaluating motility in time of 10 minutes 1, 3, 6, 12, 24 hours. In the *in vivo* test 20 pet dogs of both sexes parasitized by *C. felis felis* were divided into two groups G1 with shampoo of essential oil of *L. sidoides* 5% and G2 shampoo neutral, bathed twice a week for nine weeks. To *in vitro* acaricide evaluation against *R. sanguineus* were used 90 female ticks divided into three treatment groups, being G1 based on essential oil of *L. sidoides* Cham using Tween 20 as a dispersant at distilled water, G2 cypermethrin + Dichlorvos ® DDVP and in the negative control G3 distilled water and Tween 20. The results showed significant inhibition of bacterial growth at a concentration of 5% against *S. sp.* 100% mortality against *R. sanguineus* in the same concentrations. On *in vivo* tests against *C. felis* was a reduction of 100% in the number of fleas treated with *L. sidoides* and efficacy of 100% in the mortality *in vitro* of *C. felis felis* after 24 hours exposure to oil *L. sidoides*. It was concluded that the essential oil of *Lippia sidoides* Cham 5% presented insecticide effectiveness on the adult form of *Ctenocephalides felis felis* in both tests. Well as antimicrobial activity against *Staphylococcus* spp and acaricide against ticks of *R. sanguineus*.

Keywords: fleas, herbal medicine, ectoparasites, thymol.

LISTA DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	13
Revisão de literatura	17
Figura 1: Arbusto de <i>Lippia sidoides</i> Cham identificado no sertão pernambucano.	19
Figura 2: <i>Ctenocephalides felis felis</i> (A), <i>Ctenocephalides felis canis</i> (B). Observam-se as escovas genitais e pronotais e a forma do aspecto rostral da cabeça (setas). Em <i>Ct. Felis felis</i> , o primeiro dente da escova pronotal tem o mesmo comprimento que o segundo, e a cabeça é mais longa que profunda (setas).	22
Figura 3: Ácaros <i>Demodex canis</i> em raspado de pele. Observam-se os diferentes estágios do ácaro (setas)	25
Figura 4: Cão mestiço jovem, apresentando a distribuição típica, em todo o corpo, das lesões cutâneas associadas à escabiose. Estão evidentes alopecia, eritema, pústulas, crostas e escamas.	27
CAPÍTULO 2	40
Atividade biológica inseticida <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre a forma adulta de <i>Ctenocephalides felis felis</i> (Bouché, 1835) (Pulicidea) de cães (<i>Canino familiares</i>)	41
Figura 1: Perfil químico (CG-EM) do óleo essencial da <i>L. sidoides</i> Cham.	50
Figura 2: Número médio de pulgas por grupo tratamento (controle negativo, <i>L. sidoides</i> e Fipronil® spray) avaliados nos tempos 10', 1, 3,6,12 e 24 horas.	51
Figura 3: Fragmento de pele revestido parcialmente por tecido epitelial estratificado. Verificam-se áreas de vascularização (A), infiltrado inflamatório mononuclear (B) derme com folículos com hiperqueratose (C) e discreta acantose (D).	57
Figura 4: Diversas glândulas sebáceas (A) e folículo parasitado (B).	58
Figura 5: Número médio de pulgas (em dezenas) antes e após aplicação do óleo de <i>L. sidoides</i> .	59
Atividade biológica acaricida <i>in vitro</i> do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Ixodídeos)	67
Figura 1: Perfil químico (CG-EM) do óleo essencial da <i>L. sidoides</i> Cham	72
Figura 2: A-Teleóginas do grupo tratado com o óleo de <i>Lippia sidoides</i> Cham a 5%, B-grupo tratado com cipermetrina +DDPV e C-Teleóginas do grupo controle negativo após oviposição.	73
Avaliação da Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i> da <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre <i>Staphylococcus spp.</i> isolados de cultura de pele de cães	78
Figura 1: Perfil químico (CG-EM) do óleo essencial da <i>L. sidoides</i> Cham	83

LISTA DE QUADROS

	Página
CAPÍTULO 2	40
Atividade biológica inseticida <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre a forma adulta de <i>Ctenocephalides felis felis</i> (Bouché, 1835) (Pulicidea) de cães (<i>Canino familiares</i>)	41
Quadro 1: Componentes, atividade e concentração do <i>shampoo</i> <i>L. sidoides</i> a 5%.	49
Quadro 2: Componentes, atividade e concentração do <i>shampoo</i> neutro	49
Avaliação da Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i> da <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre <i>Staphylococcus</i> spp. isolados de cultura de pele de cães	78
Quadro 1: Crescimento bacteriano coletados e pele de cães.	84

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 2	40
Atividade biológica inseticida <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre a forma adulta de <i>Ctenocephalides felis felis</i> (Bouché, 1835) (Pulicidea) de cães (<i>Canino familiares</i>)	41
Tabela 1: Número de pulgas durante o período de observação após tratamentos <i>in vitro</i> .	52
Tabela 2: Mortalidade pulgas durante o período de observação após tratamentos <i>in vitro</i> com <i>L. sidoides</i> e Fipronil®.	53
Tabela 3: Eficácias médias entre o grupo <i>L. sidoides</i> e o grupo Fipronil (dados em porcentagem).	53
Tabela 4: Teste de médias t-Student para o número médio (em dezenas) de pulgas tanto no tratamento (<i>L. sidoides</i>) como no controle negativo.	54
Tabela 5: Valores hematológicos dos animais selecionados para tratamento em G1 e G2.	55
Tabela 6: Teste Qui-Quadrado para a presença de três tipos de sarnas.	56
Tabela 7: Teste Qui-quadrado para sinais clínicos em animais com dermatites por grupo.	56
Tabela 8: Teste Qui-quadrado presença da bactéria <i>Staphylococcus</i> .	57
Tabela 9: Redução percentual no número de pulgas de testes <i>in vivo</i> .	59
Atividade biológica acaricida <i>in vitro</i> do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Ixodídeos)	67
Tabela 1: Atividade carrapaticida <i>in vitro</i> do óleo de <i>Lippia sidoides</i> Cham (alecrim pimenta) 5% sobre teleóginas de <i>R. sanguineus</i> .	72
Avaliação da Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i> da <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre <i>Staphylococcus</i> spp. isolados de cultura de pele de cães	78
Tabela 1: Ppresença de <i>Staphylococcus</i> sp,	83
Tabela 2: Ccrescimento bacteriano	85

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Geral	19
2.2 Específicos	19
3 REVISÃO DE LITERATURA	20
CAPÍTULO 2	43
ARTIGO 1	44
Atividade biológica inseticida <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> de <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre a forma adulta de <i>Ctenocephalides felis felis</i> (Bouché, 1835) (Pulicidea) de cães (<i>Canino familiares</i>)	44
Resumo	44
Abstract	45
Introdução	46
Material e Métodos	49
Resultados e Discussão	53
Conclusão	64
Referências	65
ARTIGO 2	71
Atividade biológica acaricida <i>in vitro</i> do óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Ixodídeos)	71
Resumo	71
Abstract	71
Introdução	72
Material e Métodos	74
Resultados e Discussão	75
Conclusão	79
Referências	79
ARTIGO 3	83
Avaliação da Atividade Antimicrobiana <i>in vitro</i> da <i>Lippia sidoides</i> Cham sobre <i>Staphylococcus</i> spp. isolados de cultura de pele de cães	83
Resumo	83
Abstract	83
Introdução	84
Material e Métodos	85
Resultados e Discussão	87
Conclusão	91
Referências	91

1 INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da civilização humana, os povos da terra têm recorrido aos recursos que mantêm e preservam suas tradições e manifestações culturais, conjugando-as com as exigências do mundo contemporâneo. Ao invés de destruí-los, conseguem potencializar os avanços da técnica sem corromper as bases de sustentação da sociedade, ou seja, não recusam a mudança, e sim a administram para fortalecer e reiterar seus laços sociais.

O mundo de hoje participa de uma grande reforma sob vários aspectos relacionados com a vida. Valores naturais e ecológicos retornam com grande força na determinação de novos preceitos em todas as áreas do conhecimento e da vida prática. Na medicina veterinária produtos originários de plantas medicinais ocupam espaços cada vez maiores como alternativa de tratamento.

Nas sociedades onde, o conhecimento popular do potencial terapêutico da flora local, é aliado ao conhecimento científico, sua validação é produzida e, ocorre o reconhecimento de sua eficácia, vindo propiciar com isso, sua incorporação ao sistema oficial de tratamento. Essa incorporação vem facilitar a vida das comunidades de baixa renda, tendo em vista o elevado custo dos medicamentos da indústria farmacêutica moderna.

A Fitoterapia é o tratamento das doenças, alterações orgânicas, por meio de drogas vegetais secas ou partes recém-colhidas em seus extratos naturais. Segundo Baladrin et al. (1985), muitas plantas acumulam substâncias orgânicas que podem ser extraídas em quantidade suficiente para serem economicamente utilizadas para as mais variadas aplicações científicas, tecnológicas e comerciais.

A ideia primordial na indicação do uso de remédios a base de plantas na medicina veterinária não é substituir medicamentos registrados e já comercializados, mas sim, aumentar a opção terapêutica dos profissionais ofertando medicamentos equivalentes, também registrados, com menos custos e quiçá, com indicações terapêuticas complementares às medicações existentes; mas sempre com estrita obediência aos preceitos éticos que regem o emprego de xenobióticos nas espécies animais.

Muitas espécies vegetais vêm se destacando no controle e tratamento de doenças de pele em humanos, sendo utilizadas em formulações de cremes, xampus, pomadas, loções, entre outras. A obtenção de resultados positivos associados a menores índices de

contra indicações têm justificado o crescimento das pesquisas com os fitoterápicos, incentivando desta forma, a descoberta de novos princípios ativos e ou novos fármacos a base de plantas medicinais.

Dentre as muitas espécies vegetais estudadas destaca-se a *Lippia sidoides* Cham, presente no Sertão do Nordeste brasileiro, e conhecida popularmente como alecrim pimenta, alecrim bravo e estrepa cavalo. Esta planta já é utilizada em diversas formulações antissépticas e dermatológicas, abrindo fronteira para as inúmeras possibilidades de uso também na medicina veterinária.

Na clínica veterinária os problemas relacionados à pele são frequentemente encontrados e estão entre os de maior ocorrência no dia-dia do médico veterinário. Estes problemas têm como causa etiológica diversos agentes patógenos, que de acordo com a sua natureza vão receber tratamento específico e requerer do tutor uma dedicação maior durante o período vigente do mesmo.

As dermatites em cães podem ser classificadas de diversas formas, entre elas: dermatite alérgica a picada de pulgas (DAPP), dermatites bacterianas e fúngicas, além das provocadas por ácaros, separando-se, nessa última categoria, as de origem por carrapatos e as sarnas. Estes agentes podem ser primários ou secundários ao processo, provocando injúrias na pele, o que faz disparar diversos mecanismos de defesa exacerbando as lesões e permitindo a entrada de outros agentes etiológicos.

Como recurso terapêutico a dermatites muitas substâncias químicas foram pesquisadas e desenvolvidas para combater cada agente patógeno envolvido nos processos dermatológicos, mas essas mesmas substâncias também podem apresentar efeitos colaterais ou até tóxicos aos pacientes e residuais ao meio ambiente. Diante disso, surgiu a necessidade de se encontrar novos produtos e ou fitoterápicos como forma alternativa de tratamento e controle das dermatites.

Com base no exposto acima, essa pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade biológica *in vitro* e *in vivo* do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham (alecrim pimenta) a 5% sobre ectoparasitos causadores de dermatites primárias e bacteriana secundária em cães (*Canis familiares*).

Para tal, Esta tese foi dividida em dois capítulos: Primeiro, contendo Revisão de literatura e Capítulo Segundo, contendo Artigos Científicos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar a atividade biológica *in vivo* e *in vitro* do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham contra ectoparasitos causadores de dermatite em caninos (*Canis familiares*)

2.2 ESPECÍFICOS

2.2.1 Avaliar a ação *in vitro* da atividade acaricida do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham contra *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodídeos);

2.2.2 Verificar *in vitro* a atividade inseticida de *Lippia sidoides* Cham contra *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Pulicidaeae);

2.2.3 Estudar a ação antimicrobiana da *Lippia sidoides* Cham sobre bactérias isoladas da pele de cães apresentando dermatite pruriginosa;

2.2.4 Avaliar *in vivo* a atividade biológica inseticida de *Lippia sidoides* Cham contra *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Pulicidaeae) em caninos (*Canis familiares*);

2.2.5 Realizar análise quantitativa do óleo essencial da *L. sidoides* Cham através da cromatografia gasosa.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas Medicinais

A utilização de plantas medicinais bem como de alguns de seus subprodutos com alguma atividade terapêutica data dos primórdios da civilização humana e, por muito tempo, produtos de origem animal, plantas e minerais foram as principais fontes de fármacos (BAJPAI et al., 2008). O achado histórico de registro médico mais antigo conhecido data de 4.000 anos atrás e é sumeriano, onde é relatado fitoterápicos utilizados no tratamento de diversas doenças (MORAIS et al., 2006). A civilização egípcia já fazia uso das plantas medicinais, e algumas das espécies vegetais utilizadas por eles ainda continuam sendo empregadas, como por exemplo: *Papaver somniferum* (papoula), *Scilla maritima* (scila), *Aloe vera* (babosa) e *Ricinus communis* (óleo de rícino) (MAGWA et al., 2006; MORAIS et al., 2006; ABDELGALEIL et al., 2008). Tido como farmacopéia faraônica o papiro de Ebers foi escrito por volta de 1.550 a.C., e já trazia referências de medicamentos de origem vegetal mencionando cerca de 700 remédios (GURGEL et al., 2005).

Considera-se como planta medicinal aquela que contém um ou mais princípios ativos que conferem atividade terapêutica (ASSIS et al., 2003), sendo os extratos preparações concentradas obtidas de drogas vegetais ou plantas frescas por meio de um solvente apropriado seguido de sua evaporação total ou parcial e ajuste do concentrado a padrões previamente estabelecidos (MATOS, 2004).

Já os óleos essenciais constituem uma mistura de princípios químicos complexos e variam amplamente em sua composição (BOTELHO et al., 2007). Na mistura, tais compostos se apresentam em diferentes concentrações, onde, normalmente um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (SIMÕES et al., 2004).

Tais substâncias podem ser utilizadas para a síntese de vitaminas, hormônios, antibióticos e antissépticos (MATOS, 2004), contudo, há necessidade de testes clínicos e nesses, segundo Fontenelle (2005), a etapa inicial ocorre com animais de laboratório, como ratos e camundongos, e envolve a determinação da toxicidade aguda, sub-crônica e crônica no hospedeiro. Além destes testes, é necessário também investigar a toxicidade do desenvolvimento (reprodução e teratologia), efeitos neurotóxicos e efeitos carcinogênicos e/ou mutagênicos.

Várias são as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos de origem natural. De uma maneira geral, inicia-se com extratos brutos de plantas, preparados com diversos solventes (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol e água). Em seguida os extratos ativos são fracionados através de métodos cromatográficos existentes e as frações obtidas são retestadas, repetindo-se o processo até a obtenção do(s) princípio(s) ativo(s). Deve-se então escolher o bioensaio mais apropriado para determinar a atividade, que depende dos hábitos do parasita com o qual se deseja fazer o ensaio (BEGNINE, 2001).

Para Araújo Filho (2000), a fitoterapia é base para o controle de doenças na produção ecológica animal e nos tratamentos de animais de estimação, trazendo como vantagem um maior retorno econômico em função de um menor desembolso com a compra de produtos químicos industrializados. Também traz como vantagem a redução de resíduos tóxicos contaminantes, além de terem demonstrado resultados positivos na prevenção e na cura de doenças.

3.1.2 *Lippia sidoides* Cham

A espécie *Lippia sidoides* Cham (Figura 1) é conhecida popularmente como alecrim-pimenta e é encontrada no sertão nordestino, principalmente nos estados do Ceará e Rio Grande do Norte. Estudos anteriores realizados com esta espécie relataram a presença de flavonoides, quinonas, triterpenos, lignanas, esteroides livres e glicosilados e ácidos orgânicos (COSTA, 2004). A exemplo de outras plantas do gênero, a referida espécie tem uso rotineiro na medicina popular, principalmente como antisséptico e antimicrobiano. As folhas e flores constituem a parte medicinal desta planta. Seu óleo essencial possui elevado valor comercial, tendo o timol e o carvacrol como constituintes principais, os quais apresentam propriedades antisséptica, antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória e larvicida. O chá ou a tintura diluída desta espécie é também usado no tratamento de problemas de pele (MATOS et al., 2004).



Figura 1: Arbusto de *Lippia sidoides* Cham identificado no sertão pernambucano.

Fonte: Souza, 2011.

Esta espécie de planta se destaca pelos elevados rendimentos de seu óleo essencial de até 6%, (MENDONÇA, 1997), sendo este rico em timol (43,5%), que é o responsável pelo alto poder antisséptico de suas folhas. Outros constituintes de seu óleo são: α - felandreno (22,4%), β -cariofileno (9,7%), α -cimeno (8,6%), mirceno (6,5%) e carvacrol (4,3%) (BOTELHO et al., 2007). Além de ser considerado um poderoso antisséptico e germicida natural, devido ao timol presente, esta planta apresenta um odor mais aprazível que aquelas ricas em ácido carbólico ou fenol comum (MENDONÇA, 1997). Possui inúmeras aplicações na medicina popular, sendo muitas delas comprovadas cientificamente. No ser Humano é usada para combater infecções da garganta e da boca, para o tratamento de ferimentos na pele e no couro cabeludo, para o tratamento de acne, sarna infectada, pitiríase versicolor, dermatomicoses, caspa, mau cheiro nos pés, nas axilas e virilha (MATOS, 2004).

Botelho et al. (2007) testaram extratos de *Lippia sidoides* contra bactérias causadoras de cárie, encontrando eficácia por parte desses extratos.

O timol, também conhecido como ácido tímico ou isopropilmetacresol (C₁₀H₁₄O) é encontrado em diversas plantas como *Thymus eriocalyx*, *Thymus xporlock* e principalmente no óleo essencial da *Lippia sidoides*. Apresenta-se sob a forma de cristais incolores grandes ou pó cristalino branco com aroma irritante, lembrando tomilho. Sendo, pouco solúvel em água, mas muito solúvel em álcool. É irritante da mucosa gástrica. Possui atividade antimicrobiana, que é diminuída na presença de

proteínas e medidas apropriadas devem ser tomadas para evitar a contaminação no acondicionamento e nas diluições (BOTELHO et al., 2007).

É absorvido no trato gastrointestinal e excretado na urina em sua forma pura e como glicuronídeo. É um antisséptico fenólico com atividade antibacteriana, antifúngica e é o mais potente dos fenóis, porém seu uso é limitado por causa da sua pouca solubilidade em água e sua ação irritante (BOTELHO et al., 2007), sendo usado principalmente como antisséptico bucal, associado à glicerina, em três vezes o seu volume, em água morna. O timol tem sido usado topicamente no tratamento de enfermidades da pele e por inalação, associado a outras substâncias voláteis, para tratar enfermidades respiratórias (ASSIS et al., 2003).

Fontenelle (2005) avaliou a toxicidade aguda dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Croton zenhtneri* verificando que estes óleos administrados por via oral não apresentaram qualquer toxicidade até 3 g kg⁻¹.

3.2 PELE

O Sistema Tegumentar, que engloba a pele e anexos, tem como uma de suas funções a proteção do corpo. Ele é composto por camadas identificadas como derme e epiderme. Reveste os órgãos e constitui uma barreira de proteção contra a entrada de microrganismos sendo de extrema importância a manutenção de sua integridade (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004) Desempenha várias funções tais como: ação contra perda de fluidos, proteção contra agressões do ambiente, regulação térmica, percepção sensorial, flexibilidade e conformação, ação antimicrobiana, controle da pressão sanguínea, secreção e excreção, produção de anexos, armazenamento, pigmentação, produção de vitamina D e ainda, é considerada indicadora de doença interna (FRASER, 1988; SCOTT et al., 1996).

A pele é um órgão extenso e complexo tendo porções hirsutas e glabras. A estrutura histológica varia muito entre as diferentes áreas e entre as diferentes espécies animais. A pele hirsuta é mais espessa no dorso do animal e nas faces laterais dos membros e mais delgada na face ventral do corpo e na face medial das coxas. O tecido subcutâneo conecta a derme às fáscias e musculaturas subjacentes. A epiderme da pele hirsuta é mais delgada e é constituída de quatro camadas sendo elas: basal, espinhosa, granulosa e córnea (HARGIS, 1998).

A camada basal é monocelular e está localizada na zona da membrana basal que separa a derme da epiderme. As mitoses das células da camada basal ocorrem principalmente à noite e, como a maioria das amostras histológicas é obtida durante o dia, as figuras de mitose raramente são vistas nos cortes histológicos da pele (GARTNER e HIATT, 1999). São as próprias células que sobem e passam a compor a camada espinhosa da camada basal e na pele hirsuta tem a espessura de uma a três lâminas celulares. A camada granulosa está inconstantemente presente na pele hirsuta, tendo a espessura de uma a duas lâminas celulares e no seu citoplasma há grânulos de querato-hialina. A camada córnea contém várias lâminas celulares cornificadas, é a camada mais externa da epiderme e está em constante descamação na porção periférica. Não há cristas interpapilares na pele hirsuta normal de cães (MULLER et al., 1985; SCOTT et al., 1996; BANKS, 1998; GARTNER e HIATT, 1999).

As zonas da membrana basal são a interface físico-química entre a epiderme, derme e outras estruturas da pele tais como: apêndices epidérmicos, vasos e músculos eretores do pêlo. Esta zona é importante para fixar a epiderme à derme, garantir uma epiderme funcional e proliferativa, manter a arquitetura tecidual, cicatrizar feridas e funcionar como barreira. A zona da membrana basal se cora muito bem pelo ácido periódico Schiff (PAS), sugerindo a presença de polissacarídeos neutros (MULLER et al., 1985; SCOTT et al., 1996). Cada fibra muscular lisa está envolvida por uma membrana basal na qual se inserem as fibras reticulares (BANKS, 1998; GARTNER e HIATT, 1999; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999; BACHA JR. e BACHA, 2000).

As alterações na pele serão avistadas quando mais notórias. Quase todos os tutores detectam alterações mais evidentes, como o início do prurido, uma alteração no odor da pele, a perda de pêlos, a presença de descamações ou crostas, ou uma alteração na pigmentação, e estes são os principais sinais de apresentação de doença dermatológica e também pela sensibilidade na apalpação (WILKINSON e HARVEY, 1995).

As lesões do tegumento, que ocorrem por vários motivos, sejam por atropelamento, queimaduras e outras, podem ser superficiais atingindo apenas a epiderme, ou com uma maior incursão atingindo a derme e até mesmo o músculo, sendo estas frequentes entre os animais. Existem ainda as afecções causadas por pulgas, como a dermatite alérgica a picada de pulga (DAP), ácaros (carrapatos) e também as por moscas como a miíase, cuja deposição de ovos eclodem rapidamente liberando larvas, que podem penetrar na pele causando perfurações (WILKINSON e HARVEY, 1995).

Ainda há as afecções parasitárias por ectoparasitos como as sarnas, consideradas também, como doenças cutâneas. Algumas delas são zoonoses, ou seja, podem ser transmitidas dos animais de estimação como cão e gato para os seres humanos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

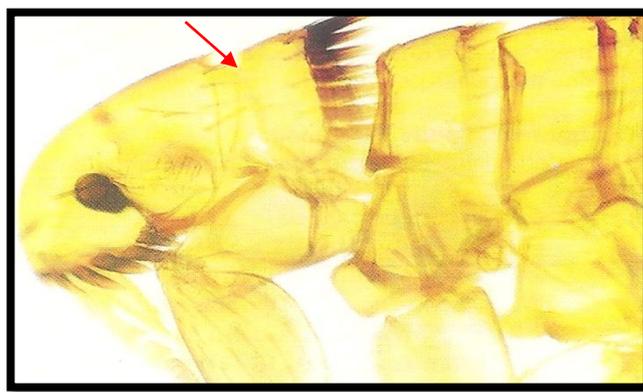
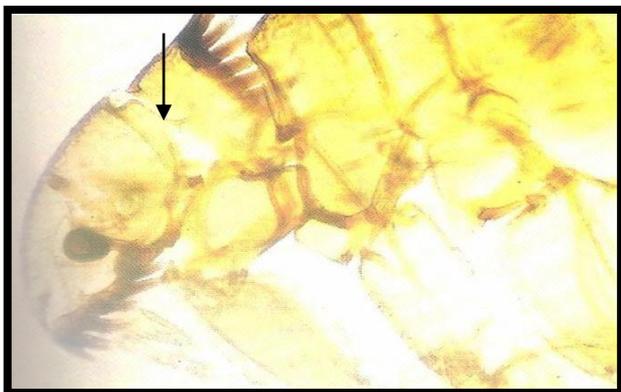
3.3 ECTOPARASITOS

Os carnívoros domésticos, cães e gatos, são hospedeiros frequentes de ectoparasitas, sendo os artrópodes os maiores causadores de afecções cutâneas. Assim, as lesões cutâneas mais comuns são causadas por ácaros da sarna e do carrapatos, e por insetos como os piolhos e as pulgas. Além destes ectoparasitas, as moscas, mosquitos, aranhas, vespas e formigas, também podem causar lesões cutâneas (NOLI, 2002).

3.3.1 Pulgas

As infecções parasitárias da pele são a causa mais frequente entre as diversas dermatopatologias existentes. A hipersensibilidade por picada de pulgas é, sem dúvida, a doença cutânea mais comum presente em cães e gatos (DRYDEN, 1994; WILKINSON e HARVEY, 1995; MEHLHORN et al., 2001) e conseqüentemente, favorece o aparecimento de contaminação secundária (MEHLHORN et al., 2001).

Há duas espécies de pulgas comumente envolvidas nas manifestações caninas e felinas: *Ctenocephalides felis* (pulga do gato), *Ct. Canis* (Figura 2) (pulga dos cães). *Ct. felis* é a pulga que mais comumente infesta cães e gatos na maioria das regiões do mundo, e também podem picar seres humanos. Na saliva desta pulga existem antígenos que provocam uma reação de hipersensibilidade, também conhecida como dermatite por alergia a pulgas (DAP) (WILKINSON e HARVEY, 1995; KUHL e GREEK, 2005).



A DAP depende, até certo ponto, da gravidade da reação e do grau de exposição à pulga, que pode ser durante todo o ano, principalmente nas regiões de clima quente e úmido. Foi proposto que todos os sinais dermatológicos associados seriam reações de hipersensibilidade e a presença de infestações caracteriza-se pelo prurido, eritema, pápulas crostosas e alopecia, particularmente na região lombossacral. Em casos severos, poderão ocorrer hiperpigmentação e liquen B

(A), *Ctenocephalides felis canis* (B). Observam-se as escovas genitais e do dente de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulto. Em *Ct. Felis felis*, o primeiro dente da escova é mais profundo que o segundo, e a cabeça é mais longa que profunda (setas). (SANTOS 2000; KUHLE e GREEK, 2005).

Os produtos da população de pulgas, enquanto apenas 5% estão sobre o hospedeiro (LINARDI e GUIMARÃES, 2000). A capacidade de sobrevivência fora do hospedeiro pode tornar difícil o controle deste ectoparasito (WILKINSON e HARVEY, 1995). O fato de as formas imaturas desenvolverem-se no ambiente proporciona uma constante população, servindo como fonte de reinfestações para animais domésticos e, também, para outros mamíferos silvestres que atuam como reservatórios, garantindo a continuidade do ciclo, mesmo na ausência do hospedeiro principal. A eliminação destas formas do ambiente é difícil, principalmente devido a sua localização, porque muitas vezes, os produtos não exercem sua atuação no controle, não conseguindo algumas fases do ciclo (pupa) penetrar no parasito (SANTOS, 2000).

Os programas de controle integrado de pulgas devem ter como objetivo principal a redução das infestações a níveis toleráveis nos hospedeiros e no ambiente. Esses níveis são subjetivos e devem ser determinados com base nas características próprias de cada sistema de criação, em que se integram o hospedeiro, o parasito e o ambiente comum a ambos. Os programas de controle têm como base a combinação equilibrada de métodos mecânicos, culturais e de aplicação de compostos químicos (DRYDEN, 1994).

3.3.2 Carrapatos

Diversos artrópodes que vivem como ectoparasitas em cães domésticos podem atuar como causadores de dermatites severas e, também, como vetores de patógenos, resultando na transmissão de doenças para os animais e para os seres humanos (TITUS et al., 2006). Dentre estes ectoparasitas, os carrapatos têm despertado o interesse da comunidade científica e da saúde pública devido a sua participação na transmissão de doenças como a babesiose, hepatozoonose, erlichiose, anaplasmoses e borreliose

(FÖLDEVÁRI, 2005). Segundo Shimada et al. (2003), recentemente o interesse pelos carrapatos e pelas doenças transmitidas por eles, tem aumentado devido à emergência e reemergência destas doenças e pela natureza zoonótica de algumas delas.

Para realizarem seu comportamento hematófago caracterizado por longos períodos de alimentação sobre o hospedeiro, os carrapatos tiveram que desenvolver mecanismos para modular muitos dos processos fisiológicos dos seus hospedeiros (DAIX et al., 2007), como por exemplo, a vasoconstrição, a inflamação e a resposta imunológica (TITUS et al., 2006). Apenas uma pequena resposta inflamatória na pele é observada quando os carrapatos estão se alimentando em seus hospedeiros naturais. Esta resposta inflamatória deficiente se deve a fatores imunomoduladores secretados pelos carrapatos durante a sua alimentação no local da lesão (DAIX et al., 2007). Essa modulação do sistema imune possivelmente ocorre em decorrência a alterações na resposta imune induzida por linfócitos T (MEJRI e BROSSAND, 2007).

Para modular essas defesas do hospedeiro, os carrapatos possuem substâncias com efeitos vasodilatadores e imunossupressores que auxiliam sua alimentação. Com os efeitos de vasoconstrição, inflamação e da resposta imunológica prejudicada, os carrapatos conseguem se fixar mais facilmente, mantendo o sangue fluindo sem a ocorrência de resposta fisiológica efetiva do hospedeiro para a eliminação do parasito. Consequentemente, patógenos têm sua transmissão facilitada durante o período em que o carrapato está se alimentando. Assim, certos patógenos podem utilizar esta lesão na pele do hospedeiro que está profundamente alterada pelos efeitos da saliva do carrapato como porta de entrada para uma infecção (TITUS et al., 2006).

Existem duas famílias de carrapatos com interesse para a medicina veterinária, a ixodidae (carrapatos de corpo duro) e a argasidae (carrapatos de corpo mole). Destas duas famílias a ixodidae é a que contém espécies mais especializadas e altamente parasitárias, sendo mais prolíferas e infestando todo o campo ocupado por seus hospedeiros (DAIX et al., 2007). Desta forma, a maior ocorrência de problemas clínicos se deve a infestação por ixodídeos (APPEL e JACOBSON, 1995).

Além do grande número de espécies estes carrapatos podem ser vetores de muitos microrganismos causadores de doenças como o *Rhipicephalus sanguineus* (*Babesia gibsoni*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*); *Dermacentor andersoni* (*Babesia canis*, *Rickettsia rickettsii*), *Amblyoma maculatum* (*Leptospira pomona*), *Amblyoma americanum* (*R. rickettsii*); *Ixodes dammini*, *Ixodes pacificus* e *Ixodes ricinus*: *Borrelia burgdorferi* (doença de Lyme) (APPEL e JACOBSON, 1995).

Rhipicephalus sanguineus, carrapato cosmopolita, é provavelmente o ixodídeo de mais ampla distribuição mundial (DAIX et al., 2007). Sua descrição tem sido frequentemente associada à presença do hospedeiro cão (SZABÓ et al., 2001) estando adaptado a cães de domicílios em cidade. Diversos microrganismos patogênicos podem ser veiculados pelo *R. sanguineus* (APPEL e JACOBSON, 1995)

3.3.3 *Demodex canis*

Além dos carrapatos, existem os ácaros causadores de dermatoses como a demodicose que é conhecida também como sarna demodécica, demodicose, sarna folicular ou sarna vermelha sendo uma doença parasitária inflamatória em cães distinguida pela presença de ácaros demodécicos em quantidade maior que os números normais (SCOTT et al., 1996), mas também é uma das desordens cutâneas parasitárias mais frequentes em cães. O agente etiológico da demodicose em cães é o *Demodex canis*, e normalmente, estes ácaros habitam os folículos pilosos, mas também podem ser encontrados nas glândulas sebáceas e apócrinas adjacentes (MEDLEAU e WILLEMSE, 2002).

O ácaro *Demodex canis* (Figura 3) é parte da flora normal da pele canina e se encontram em números reduzidos na maioria dos cães saudáveis (MEDLEAU e WILLEMSE, 2002). Desta forma, quando por algum motivo, esse equilíbrio entre hospedeiro e parasito é rompido, o número deste ácaro pode aumentar provocando alopecia e eritema na pele dos animais (SAKO, 1964).

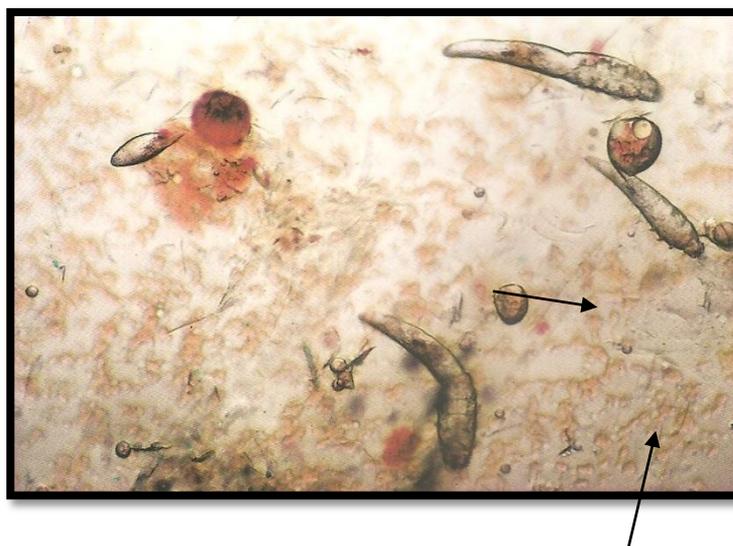


Figura 3: Ácaros *Demodex canis* em raspado de pele. Observam-se os diferentes estágios do ácaro setas (ovo, larva, pupa e adulto)
Fonte: Rhodes, 2010.

Demodex canis pertence ao Arthropoda subfilo Chelicerata, classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Acarina, subordem Trombidiforme, família Democidae. A característica deste parasito é uma reação de hipersensibilidade tardia, pois que os linfócitos são os infiltrados celulares que se instalam envolta dos ácaros e seus fragmentos. Essas células são do tipo T cetotóxicas e esse mesmo mecanismo estão presentes nas dermatites de contato (HARVEI e MEKEEVER, 2004).

A demodicose canina é uma dermatose primária causada pela excessiva proliferação do *Demodex canis*, ácaro comensal da pele normal, decorrente de quadro herdado de imunodepressão mediada celularmente (DELAYTE et al., 2006). O curso é benigno e a maioria dos casos se resolve espontaneamente. A demodicose generalizada (DG) é a forma mais grave da doença, e se apresenta como uma dermatite crônica com liquenificação, descamação, formação de crostas, hiperpigmentação, piodermite severa e alopecia, cobrindo grandes áreas do corpo, mas o estabelecimento dessa enfermidade é raro em adultos. Em cães mais idosos, as desordens imunossupressivas podem aumentar a suscetibilidade a esta dermatopatia (MEDLEAU e WILLEMSE, 2002). A demodicose generalizada é considerada uma das mais severas doenças de pele canina e frequentemente envolve infecções bacterianas secundárias (MUELLER, 2004).

As lesões de pele ocasionadas pelo *D. canis* em sua forma generalizada permitem que a flora bacteriana normal da pele torne-se patogênica. A piodermite gerada por essa proliferação é ocasionada principalmente por *Staphylococcus intermedius*, uma bactéria gram-positiva que está envolvida em aproximadamente 90% dos casos (HERNI et al., 2006). As piodermites profundas se desenvolvem em 50% dos casos de *D. canis* (BARRAGRY, 1994), mas sua incidência não está relacionada à quantidade de ácaros, e sim à infecção bacteriana (BOURDEAU, 2000).

3.3.4 Sarna Sarcóptica

A sarna sarcóptica, notoédrica e a queiletielose são dermatoses parasitárias causadas por ácaros que vivem na pele ou dentro do animal susceptível. A variabilidade das manifestações clínicas dessas dermatoses parasitárias reflete provavelmente as variações na duração e na intensidade da reação de hipersensibilidade e na capacidade do hospedeiro em limitar a multiplicação do parasita (BIRCHARD e SHERDING, 1998).

A exposição a esses ácaros e a ocorrência de dermatoses parasitárias se relacionam intimamente a fatores ambientais, especialmente ao contato com outros animais e à presença de áreas endêmicas. Embora os ácaros causadores não sejam completamente hospedeiros específicos, eles exibem uma preferência por certos hospedeiros. Apresentam também um potencial zoonótico para causar dermatoses nos humanos (BIRCHARD e SHERDING, 1998).

A sarna sarcóptica é uma dermatose pápulo-crostosa e intensamente pruriginosa dos cães, causada pelo ácaro epidérmico *Sarcoptes scabiei* var. *canis* (Figura 4). Embora seja citado na literatura como hospedeiro específico, o ácaro pode afetar gatos, raposas e o homem por períodos variáveis de tempo. O período de incubação no cão é de duas a oito semanas, tornando-se difícil rastrear a fonte da infestação (SCOTT et al., 2001).



Figura 4: Cão mestiço jovem, apresentando a distribuição típica, em todo o corpo, das lesões cutâneas associadas à escabiose. Estão evidentes alopecia, eritema, pústulas, crostas e escamas.

Fonte: Rhodes, 2005.

3.4 Reação Inflamatória

Há uma correlação direta entre resposta imunológica e a inflamação. Uma atividade inflamatória de curta duração geralmente traz benefícios para o organismo hospedeiro na presença de agentes agressores, contudo a persistência do processo inflamatório frequentemente resulta em dano tecidual e do DNA contribuindo para o desenvolvimento do câncer (DE VISSER et al., 2006). Os macrófagos participam tanto na imunidade inata como na adquirida através de várias atividades, que incluem:

fagocitose, produção de agentes microbicidas, secreção de citocinas, processamento de antígenos e apresentação de epítomos aos linfócitos T (MLAMBO e SIGOLA, 2003). Através da fagocitose, os macrófagos destroem os microrganismos, produzem diversas moléculas e apresentam antígenos às células T. Tanto macrófagos como células dendríticas orientam a resposta imune adaptativa conduzindo à expansão e diferenciação de linfócitos específicos para microrganismos invasores e também células cancerígenas (POZZI et al., 2005; PREYNANT-SEAUVE et al., 2006).

As citocinas são mediadores solúveis liberados por linfócitos e células do sistema fagocitário, essenciais na comunicação intracelular e em muitos processos fisiológicos e patofisiológicos. Elas também modulam a inflamação e a imunidade regulando o crescimento e a diferenciação de leucócitos e também de células não leucocitárias (OPPENHEIM et al., 1994).

A interleucina 1 é uma citocina pró-inflamatória envolvida na resposta imune contra infecções e agressões. Ela é produzida principalmente por monócitos e macrófagos (BIRD et al., 2002). A interleucina 6 é um exemplo de citocina das doenças alérgicas e parasitárias, correspondendo a uma proteína de 21 kDa, produzida por diversas células incluindo macrófagos, células endoteliais, neutrófilos e linfócitos. Algumas de suas funções são estimulação e diferenciação de células B (MLAMBO e SIGOLA, 2003), suporte de crescimento celular de hibridomas e plasmocitomas e estimulação da síntese de proteínas de fase aguda hepáticas, após exposição a materiais tóxicos ou agressão (BIRD et al., 2002). Ela modula diversos processos como proliferação e diferenciação celular, respostas imunológicas e inflamação (FARIVAR et al., 2006). Está envolvida na iniciação e manutenção da resposta inflamatória de fase aguda. A IL-6 aumenta proteínas de resposta de fase aguda associadas com inflamação e agressão (MATZARAKI et al., 2007).

3.5 Diagnóstico

Para a realização do diagnóstico de sarnas, utiliza-se raspado de pele profundo, onde o diagnóstico positivo é dado quando há demonstração aumentada de formas adultas do ácaro ou por relação aumentada de formas imaturas (ovos, larvas e ninfas) em relação aos adultos. No exame histopatológico as amostras de biópsia cutânea demonstram os folículos contendo ácaros e debris ceratinosos e perifoliculite inflamatória, foliculite ou furunculose supurativa (SCOTT et al., 1996). As lesões

microscópicas da demodicose generalizada podem variar em função da presença e da extensão da infecção bacteriana secundária e da geração de piodermite profunda. Tipicamente, o folículo piloso é ocupado por grande número de ácaros em todos os níveis (FARIVAR et al., 2006). Nas lesões crônicas severas, observa-se fibrose dérmica com obliteração de estruturas anexas (HARGIS e GINN, 2007).

Nos resultados positivos podem ser evidenciados as quatro fases de ciclo biológico do *D. canis* e mesmo em animais assintomáticos quando estes apresentarem um número excessivo de parasitos significará uma infecção ativa (URQUHART et al., 1998; GUERETZ, 2005).

A biópsia de pele é uma das ferramentas mais poderosas em dermatologia. Embora, a maximização dos seus benefícios necessite de uma equipe experiente composta por um clínico, que criteriosamente seleciona, obtém e preserva as amostras e um patologista que cuidadosamente processa, analisa e interpreta o material. Quando o patologista e clínico trabalham juntos, a biópsia de pele pode refletir corretamente o diagnóstico dermatológico em mais de 90% dos casos. Com frequência as biópsias de pele não são realizadas ou são feitas tardiamente no processo diagnóstico (SCOTT et al., 1996).

Além da utilidade da biópsia é útil também estabelecer o grupo de doenças a considerar. Embora sem um diagnóstico definitivo, uma biópsia geralmente pode guiar o clínico para a direção adequada já que o processo de tratamento também pode ser orientado com base nos achados histopatológicos. Enfim, a biópsia vem sempre acrescentar informações e contribuir com o clínico na dermatologia veterinária (SCOTT et al., 1996).

3.6 Tratamento de Ectoparasitos

O tratamento de ectoparasitos é essencialmente químico e realizado através de acaricidas sintéticos, onde se observa que há uma necessidade de redução do uso destes produtos, visto que os mesmos não apresentam a mesma eficiência. Neste contexto, novos produtos, com menos agressão ao meio ambiente, têm sido pesquisados a fim de controlar a população de carrapatos; os produtos naturais vêm sendo considerados como uma alternativa viável. Esta afirmação é de senso comum, principalmente devido ao fato que há um grande número de plantas e seus derivados com ações farmacológicas, os quais se incluem os efeitos acaricidas desejados para o controle de carrapatos. Soma-se

a este fato, o risco de intoxicação e a maior predisposição a outras doenças. (CLARK, 1982).

O desenvolvimento de acaricidas químicos vem de longa data, aproximadamente no ano de 1949, quando foram lançados os carrapaticidas arsênicos. Estes foram sendo substituídos por exemplares como fosforados, amidinas e ultimamente os piretróides e os quimioterápicos com ação inseticida (FURLONG, 1993). O uso indiscriminado destes acaricidas traz problemas como o desenvolvimento da resistência por parte dos carrapatos aos carrapaticidas químicos. Com relação ao carrapato, diversas plantas têm sido testadas em programas de controle, na tentativa de redução na utilização de produtos acaricidas sintéticos, tais como *Drimys brasiliensis* (RIBEIRO et al., 2008), *Hypericum polyanthemum* (RIBEIRO et al., 2007), *C. winterianus* (CHAGAS, 2002; MARTINS, 2006), *Azadirachta indica* (MARTINEZ, 2002), *Melinis multiflora* Beauv. (PRATES, 1993), e algumas espécies do gênero *Stylosanthes* (CASTREJÓN et al., 2003).

3.7 Bactérias de Pele

Processos mórbidos subjacentes podem alterar a pele diretamente em decorrência de traumatismo local, de irritantes ou do ato de coçar por causa de doença cutânea parasitária ou pruriginosa (ETTINGER e FELDMAN, 2004). Em cães, o *Staphylococcus aureus* causa a dermatite pustulosa (ACHA e SZYFRES, 2003).

As bactérias isoladas da pele de cães costumam ser divididas em três categorias: residentes, transitórias e microrganismos patogênicos comuns. As bactérias residentes incluem principalmente *Staphylococcus* coagulase negativo (*S. epidermis*, *S. cohnii*). As bactérias transitórias não são isoladas constantemente da pelagem do seu cães, mas ocasionalmente tornam-se patogênicos por invasão secundária em secundárias; incluem *E. coli*, *Proteus mirabili*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Corynebacterium sp.* Já os microrganismos patogênicos são capazes de invadir tecidos e originar doenças. Em geral, destacam-se o *S. intermedius* e *S. aureus* que causam infecções cutâneas que podem ser classificadas como primárias ou secundárias (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

Staphylococcus aureus foi observado pela primeira vez em 1878, por Robert Koch, em pus humano (GUERREIRO, 1984). É uma bactéria coco, gran-positiva não

esporulada, aeróbia e anaeróbia facultativa, não resistente ao calor, mas que possui enterotóxicas que resistem até 100° por 30 minutos (ACHA e SZYFRES, 2003).

Sinais de acometimento sistêmico podem ser evidentes, inclusive anorexia, depressão, perda de peso, letargia e febre, em geral indicando o desenvolvimento de bacteriemia ou septicemia (ACHA e SZYFRES, 2003; ETTINGER e FELDMAN, 2004).

4. REFERÊNCIAS

ABDELGALEIL, S. A. M.; ABBASSY, M. A.; BELAL, A.S.; RASOUL, M. A. A. A. Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemia judaica* L. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5947-50, 2008.

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. v. 01 3^aed. Washington,D.C.; **Pan Americana Heath Organization**, 2003. pag. 144- 152.

ANSEL, H. C. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. v.1. 6^aed. Lisboa: Fundação Calouste Gilbenkan, 2003.pag. 175-178

APPEL, M.J.; JACOBSON, R.H. CVT update: canine Lyme disease. In: Bonagura, J.D. (Ed.) **Current Vet.Therapy XII**, Philadelphia: WB Saunders, p.303-309. 1995

ARAÚJO FILHO, R. **Introdução à pecuária ecológica: a arte e a ciência de criar animais sem drogas ou venenos**. Porto Alegre: Digital Store, p. 64-69,2000

ASSIS, L. M., BEVILAQUA, C. M. L., MORAIS, S.M., VIEIRA, L. S., COSTA, C. T. C., SOUZA, J. A. L. Ovicidal and larvicidal activity *in vitro* of *Spigelia anthelmia* Linn extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 117, p. 43-9, 2003

BACHA JR.; W.J., BACHA, L.M. **Color atlas de veterinary histology**. 2.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p. 125-27, 2000

BAJPAI S.; KAY R. F.; WILLIAMS B. A.; et al. Oldest Asian record of Anthropeidea. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 105, p.11093-98, 2008.

BALANDRIN, M.F., KLOCKE, J.A., WURTELE, E.S., BOLLINGER, W.H. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. **Science**, v.228, p. 1154-60, 1985.

BANKS, W.J. **Histologia veterinária aplicada**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 256-271.

BARRAGRY, T. B. **Veterinary drug therapy**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994, p. 385-99.

BEGNINI, M. Potencial do uso, produção de extratos de plantas brasileiras e desenvolvimento de produtos para o controle de pragas e ectoparasitos em animais e seres humanos: plantas inseticidas”. **Proceedings of the 2nd Workshop** “Neem and Pheromones”: Practice oriented results on use and production of plant extracts and pheromones in integrated and biological pest control. ICTA - Universidade de Uberaba, MG, Brasil. p. 59-64, 2001.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais**. 1ed. São Paulo: Roca, 1998, p. 1245-56.

BIRD, S.; et al. Evolution of interleukin-1beta. **Cytokine Growth Factor Rev.**, v. 13, p. 483-92. 2002.

BOTELHO, M.A.; et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia siloides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Braz J Med Biol Res**, v.40, p.349-56. 2007.

BOURDEAU, P.; et al. Characteristics of generalized canine demodicosis and parasitological study on 103 cases. **Veterinary Dermatology**. v. 11, sup. 1, p.26, 2000.

CASTREJÓN, F. M.; et al. Repellence of *Boophilus microplus* larvae in *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* plants. **Parasitologia Latinoamericana**. v.58, n.2, p.118-21, 2003.

CHAGAS, A. C. S. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, p.247-53, 2002.

CLARK, L. G. ; et alli. Association of pesticide toxicosis with some health factors during the tick eradication program in Puerto Rico. In: **International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics**, Arlington. p. 620-3, 1982.

COSTA, C. T. C. **Atividade anti-helmíntica da *Azadirachta indica* A. Juss sobre nematóides gastrintestinais de ovinos**. 2004, 93f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2004.

DAIX V.,et al *Ixodes* ticks belonging to the *Ixodes ricinus* complex encode a family of anticomplement proteins. **Insect Molecular Biology**. v.16, p.155-66, 2007

DE VISSER, K.E.; EICHTEN, A.; COUSSENS, L.M. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. **Nat. Rev. Câncer**, v. 6, p. 24-37, 2006.

DELAYTE E. H.; OTSUKA M.; LARSSON, C.E.; CASTRO, R.C.C. Eficácia das lactonas macrocíclicas sistêmicas (ivermectina e moxidectina) na terapia da demodicidose canina generalizada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte v.58 n.1, p.31-38, 2006.

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

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ª. Edição. Editora Guanabara Koogan, v.01, 2004, p. 374-75.

FARIVAR, A. S.; et al. Interleukin-6 regulation of direct lung ischemia reperfusion injury. **Ann Thorac Surg.**, v. 82, n. 2, p. 472-478, 2006.

FÖLDVÁRI, G. Ixodid tick species attaching to dogs in Hungary. **Veterinary Parasitology**. p. 125-131, 2005.

FONTENELLE, R. O. S. **Avaliação do potencial antifúngico de óleos essenciais de plantas do nordeste brasileiro frente a diferentes cepas de dermatófitos e leveduras**. 2005. 102f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará , 2005.

FRASER, C.M. (Ed). **El manual Merck de veterinária**. 3.ed. Madrid: Gráficas Guada, 1988, p. 1346-55.

FURLONG, J. **Controle do carrapato dos bovinos na região sudeste do Brasil**. Cad. Téc. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais, v.1., 1993, p.849-61.

GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. **Tratado de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p. 342-49.

GONZÁLEZ, A. et al. Ectoparasitic species from *Canis familiaris* (Linné) in Buenos Aires province, Argentina. **Veterinary Parasitology**, p.123-29, 2004.

GUERETZ, J.S. **Prevalência pontual de *Demodex canis* e demodicose em parcela da população canina, na Cidade Guarapuava-PA**. 2005. 68f. Dissertação (Mestrado em Patologia Animal) – Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Paraná. 2005.

GUERREIRO, M.G. Staphylococcus in: GUERREIRO M.G.; OLIVEIRA, S.J.; SARAIVA, D. et al. **Bacteriologia especial: com interesse em saúde pública e saúde animal**. Porto Alegre, Ed. Sublime. 1984, p. 135-44.

GURGEL, L. A.; SIDRIM, J. J. C.; MARTINS, D. T.; CECHINEL-FILHO, V. S. *In vitro* antifungal activity of dragon's blood from *Croton urucurana* against dermatophytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p.409-412, 2005.

HARGIS, A.M. Sistema tegumentar. In: CARLTON, W.W.; McGAVIN, M.D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2.ed. São Paulo: Artmed, 1998, p.486-540.

HARGIS, A.M.; GINN, P.E. The integument. In: McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Pathologic basis of veterinary disease**. Mosby: St Louis, Cap.17, 2007, p.1107-261.

HARVEI, R.G.; MEKEEVER, P.J. Dermatoses que se caracterizam por alopecia em placas: Demodicose canina. **Manual Dermatologia de Cão e Gato**. Rio de Janeiro: Revinter. 2004, p. 206-9.

HERNI, J. A.; et al. Comparison of efficacy of cefpodoxime proxetil and cephalexin in treating bacterial pyoderma in dogs. **International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v.4, p. 85-93, 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Tecido Epitelial In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: Atlas Texto**. 10ª edição, Rio e Janeiro: Guanabara Koogan S/A, 2004, p.67-91.

KUHL, K. A.; GREEK, J.S. Pulgas e controle de pulgas in: RHODES, K.H. **Dermatologia de pequenos animais – Consulta em 5 minutos**. Rio de Janeiro, Ed. Revinter. 2005, p. 185-89.

LINARDI, P.M.; GUIMARÃES, L.R.; **Sifonápteros do Brasil**. São Paulo: Editora MZUSP/FAPESP, 2000, p. 291.

MAGWA, M. L.; GUNDIDZA, M.; GWERU, N.; HUMPHREY, G. Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. **Journal Ethnopharmacology**, v. 103, p. 5-89, 2006.

MARTINEZ, S. S. **O Neem (*Azadirachta indica*): natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: IAPAR, p.69-80. 2002.

MARTINS, R. M. Estudio *in vitro* de la acción acaricida del aceite esencial de La gramínea Citronela de Java (*Cymbogon winterianus* Jowitt) em la garrapata *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 2, p.71-78, 2006.

MATOS, F. J. A.; SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas mediciniais brasileiras**, 2ª ed., Edições UFC: Fortaleza, 2004.

MATZARAKI, V.; et al. Evaluation of serum procalcitonin and interleukin-6 levels as markers of liver metastasis. **Clinical Biochemical**, v. 40, p. 336-42, 2007.

MEDLEAU, L.; HNILICA, K.A. Sarna Sarcóptica. In: RHODES, K.H. **dermatologia de pequenos animais**. 1. Ed. São Paulo: Revinter, 2005. Cap. 25, p. 199.

MEDLEAU, L.; WILLEMSE, T. Efficacy of daily amitraz therapy for refractory, generalized demodicosis in dogs: two independent studies. **J.Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v.31, p.246-249, 2002.

MEHLHORN, H.; HANSEN, O.; MENCKE, N. Comparative study on effects of three insecticides (fipronil, imidacloprid, selamectin) on development stages of the cat flea (*Ctenocephalides felis* Bouché, 1835): a light and electron microscopic analysis of in vivo and in vitro experiments. *Parasitology Research*, v.87, n.1, p.198-207, 2001.

MEJRI, N.; B. M. Splenic dendritic cells pulsed with *Ixodes ricinus* tick saliva prime naive CD4+T to induce Th2 cell differentiation *in vitro* and *in vivo*. *International Immunology*. 19: p.535-43, 2007.

MENDONÇA, M. C. S. **Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.)**. 1997. 71f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará. 1997.

MLAMBO, G.; SIGOLA, L. B. Rifampicin and dexamethasone have similar effects on macrophage phagocytosis of zymosan, but differ in their effects on nitrite and TNF- α production. *Institut Immunopharmacology*, v. 3, p. 513–22, 2003.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; BERTINI, L. M.; OLIVEIRA, C. L. L.; RODRIGUES, J. R. B.; CARDOSO, J. H. L. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti* L. *J Am Mosq Control Assoc.*, v. 22, p. 161-64, 2006.

MUELLER, RALF S. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Veterinary Dermatology*, p.75-89, 2004.

MULLER, G.H.; KIRK, R.W.; SCOTT, D.W. **Dermatologia dos pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Manole, 1985, p. 267-74.

NOLI, C. Principais ectoparasitoses de carnívoros domésticos. Tradução de A. J. De Vargas Cheuiche. *A hora veterinária*, n.125, 2002, p.45-47.

NUNES, R.S. **Desenvolvimento Galênico de Produtos de Uso Odontológico (Creme Dental e enxaguatório Bucal) a Base de *Lippia sidoides* Cham Verbanaceae Alecrim Pimenta**. 1999. 121f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1999.

OLIVEIRA, R.N.; DIAS, I.J.M.; CÂMARA, C.A.G. Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15 (1), p. 31-43, 2005.

OPPENHEIM, J. J.; RUSCETTI, F. W.; FALTYNEK, C. R. Cytokines. In: STITES, D. P.; STOBO, J. D.; WELLS, J. V. **Basic Clinical immunology**. 8. ed. Connecticut: Appleton & Lange, cap. 9, p. 105-23, 1994.

PEREIRA, J.R., FAMADAS, K.M., Avaliação “in vitro” da Eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) sobre *Boophilus microplus*. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo; v.71, n.4, p. 443-50, 2004.

POZZI, L.A.; MACIASZEK, J.W.; ROCK, K.L. Both dendritic cells and macrophages can stimulate naive CD8 T cells in vivo to proliferate, develop effector function, and differentiate into memory cells. **Journal Immunology**., v. 175, p. 2071-81, 2005.

PRATES, H. T. Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura. Brasília: **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, nº 5, p. 621-25, 1993.

PREYNAT-SEAUVE, O.; SCHULER, P.; CONTASSOT, E.; BEERMANN, F.; HUARD, B.; FRENCH, L.E. Tumor-infiltrating dendritic cells are potent antigenpresenting cells able to activate T cells and mediate tumor rejection. **Journal Immunology**., v. 176, p. 61-67, 2006.

PREYNAT-SEAUVE, O.; SCHULER, P.; CONTASSOT, E.; BEERMANN, F.; HUARD, B.; FRENCH, L.E. Tumor-infiltrating dendritic cells are potent antigenpresenting cells able to activate T cells and mediate tumor rejection. **J. Immunol.**, v. 176, p. 61-67, 2006.

REVILLA, J.D. **Cultivando a saúde em hortas caseiras e medicinais**. Manaus: Ed. Sebrae, 2004.

RHODES, K.H. **dermatologia de pequenos animais**. 1. Ed. São Paulo: Revinter, 2005. Cap. 25, p. 199.

RIBEIRO, V. L. S.; et alli. Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) on the cattle tick

Rhipicephalus (Boophilus) microplus and the brown dog tick Rhipicephalus sanguineus. **Parasitology Residency**. v. 102, p.531–53, 2008.

RIBEIRO, V.L.S.; Toigo, E.; Bordignon S.A.L.; Gonçalves, K.; Von Poser, G.L. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of Hypericum polyanthemum on the cattle tick Boophilus microplus. **Veterinary Parasitology**. v.147, p.199-203, 2007.

SAKO, S. Studies on the canine demodicosis. Experimental infection do Demodex folliculorum var canis to dogs. **Trans. Tottori Soc. Agri. Sci.**v.17, p.45, 1964.

SANTOS, H.D. **Período de desenvolvimento dos estágios imaturos de Ctenocephalides felis felis (Bouché, 1835) (Siphonaptera:Pulicidae) mantidos em condições controladas e no ambiente**. 2000. 93f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2000.

SCOTT, D.W., MILLER JR., W.H., GRIFFIN, C.E. Muller & Kirk. **Dermatologia de pequenos animais**. 5.ed. Rio de Janeiro: Interlivros, p.763-76, 1996.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. eds. Mueller & Kirk's. **Small Animal Dermatology**, 6^a ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001, p. 377-82.

SHIMADA, Y. et al. Ixodid tick species recovered domestic dogs in Japan. **Medical And Veterinary Entomologic**. v. 17, 2003, p. 38-45.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: de planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004, p.84-87.

SZABÓ, M.P.J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.25, p.909-16, 2001.

TITUS R.G., BISHOP J.V., MEJIA J.S. The immunomodulatory factors of arthropod saliva and the potential for these factors to serve as vaccine targets to prevent pathogen transmission. **Parasite Immunology**. v. 28, p. 131-41, 2006.

URQUHART, G. M. et. al. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. 2º ed. 1998, p. 92-99.

VASCONCELOS, A.L.C.F. **Estudo farmacológico e toxicológico do extrato acetato de etila de Spigelia anthelmia Linn em animais de laboratório**. 2002. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, UECE., 2002.

WILKINSON, G. T.; HARVEY, R. G. **Atlas colorido de dermatologia dos pequenos animais**- 2ª. edição- cap.2 p.15; cap.4, 1995, p.54-56.

WILKINSON, G.T.; HARVEY, R.G. **Atlas colorido de dermatologia dos pequenos animais-guia para diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1996, Cap. 4, p. 55.

WILLENSE, T. **Dermatologia Clínica de cães e gatos**. Barueri. 2ª ed. Editora: Manole, 1998, p. 28-31.

XAVIER, Z.N.; XAVIER, R. **Compêndio de Formulações Veterinárias**. 1ª. ed. 2006, p. 167.

YAGER, J.A.; SCOTT, D. W. The skin and appendages. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P.C.; PALME, N. Pathology of domestic animals. San Diego: **Academic Press**. v.1, p.531-737, 1992.

Atividade biológica inseticida *in vivo* e *in vitro* de *Lippia sidoides* Cham sobre a forma adulta de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Pulicidea) de cães (*Canis familiares*)

RESUMO

Objetivou-se com esse trabalho avaliar a atividade biológica inseticida *in vivo* e *in vitro* de *Lippia sidoides* Cham sobre a forma adulta de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Pulicidae) de cães (*Canis familiares*). A avaliação *C. felis felis in vitro* se deu através do teste de papel filtro, foram formados três grupos com dez pulgas cada com cinco repetições (n=150). Grupo 01 água destilada + Tween 20, grupo 02 óleo de *L. sidoides* a 5% tendo como dispersante o Tween 20 e grupo três fipronil spray com cinco repetições, sendo avaliada a motilidade das mesmas nos tempos de 10, minutos, 1, 3, 6, 12, 24 horas. No teste *in vivo* foram selecionados 20 cães domiciliados de ambos os sexos portadores de dermatites e parasitados por *C. felis felis* divididos em dois grupos. G1 tratamento com shampoo a base de óleo essencial de *L. sidoides* a 5% e G2 controle negativo recebendo banhos duas vezes por semana durante nove semanas. Realizando-se semanalmente a contagem do parasito direto no hospedeiro. Os resultados revelaram uma eficácia de 100% para o óleo de *L. sidoides* com 24h de exposição *in vitro*. Nos testes *in vivo* houve uma redução 100% significativa no número de parasitos adultos para o G1. Concluindo-se que o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5% *in vitro* apresentou eficácia inseticida sobre a forma adulta de *Ctenocephalides felis felis* e *in vivo* quando testado em formulação shampoo a 5%.

Palavras-chave: pulga, planta medicinal, ectoparasitos, timol.

ABSTRACT

Insecticide biological activity *in vivo* and *in vitro* of *Lippia sidoides* Cham on the adult form of *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835) (Pulicidea) from dogs (*Canis familiares*)

The objective of this study was to evaluate the biological insecticide activity *in vivo* and *in vitro* of *Lippia sidoides* Cham on the form adult *Ctenocephalides felis felis* (Bouche, 1835) (Pulicidae) from dogs (*Canis familiares*). The *in vitro* evaluation of *C. felis felis* was performed using the filter paper test, three groups were formed with ten fleas each with five replicates (n = 150). Group 01 distilled water + Tween 20, group 02 oil of *L. sidoides* 5% with Tween 20 as a dispersant and group three fipronil spray with five repetitions, being motility evaluated in times of 10 minutes, 1, 3, 6, 12, 24 hours. In the *in vivo* test were selected 20 pet dogs of both sexes suffering from dermatitis and parasitized by *C. felis felis* divided into two groups. G1 shampoo treatment with the essential oil based *L. sidoides* 5% and G2 negative control receiving baths twice a week for nine weeks. Performing a weekly count of parasites in the host directly. The results showed an efficacy of 100% for oil *L. sidoides* with 24 h exposure *in vitro*. *In vivo* tests were 100% significant reduction in the number of adult parasites in G1. It was concluded that the essential oil of *Lippia sidoides* Cham 5% showed *in vitro* insecticidal efficacy on the adult form of *Ctenocephalides felis felis* and *in vivo* when tested in a 5% shampoo formulation.

Keywords: fleas, herbal medicine, ectoparasites, thymol.

INTRODUÇÃO

No desenvolvimento da sociedade atual os animais domésticos e/ou de companhias tem sido em muitos casos, a solução para a problemática do isolamento humano. Cães e gatos vêm ao longo dos tempos se destacando no convívio direto com o homem fazendo surgir a preocupação com o bem estar e a saúde dos tutelados.

Dentre as doenças que podem afetar os cães, as de pele são frequentemente associadas à presença de ectoparasitos, que além de provocarem danos cutâneos no hospedeiro, também são veiculadoras de outros agentes patógenos causadores de enfermidades graves e urgentes que podem ganhar aspectos zoonóticos.

Entre os diversos ectoparasitos existentes, a pulga é o agente etiológico mais envolvido com as doenças de pele. Sua ação espoliadora e sua saliva irritante em contato direto com a derme provoca, principalmente nos cães, uma reação imuno-mediata que faz disparar no animal um prurido intenso. E, conseqüentemente, uma dermatite que no início tem caráter agudo, pode progredir para uma resposta crônica.

No Brasil, a pulga do gato *Ctenocephalides felis felis* é encontrada parasitando cães e provocando uma reação inflamatória. A identificação das pulgas se dá pela observância do ectoparasito ou das fezes residuais do repasto sanguíneo nas áreas mais atingidas (WILKERSON et al., 2004).

A pulga *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) é a espécie mais observada em cães e gatos. Fazem parte da Ordem Siphonaptera, pertencente à Família Pulicidae, Subfamília Archaeopsyllinae. Esta espécie está amplamente distribuída pelo mundo e até o presente momento já foram descritas quatro subespécies; a *C. felis felis* (Bouché, 1835) ocorre nas Américas e na Europa e é a única subespécie relatada no Brasil (LINARDI e GUIMARÃES, 2000).

O seu ciclo biológico é dividido em duas fases: uma fase de vida parasitária sobre o hospedeiro, e outra de vida livre, no ambiente. Nos hospedeiros são encontradas as formas adultas, machos e fêmeas, que são estritamente hematófagas, e no ambiente são encontradas as formas imaturas, ou seja, os ovos, as larvas, as pré-pupas e as pupas, além de adultos recém-emergidos dos pupários. As larvas são mastigadoras, tem fototropismo negativo e geotropismo positivo evitando assim a luminosidade, o que impede a ocorrência de dessecação. Sua importância médico-veterinário está relacionada com a ação irritativa, espoliadora e com a transmissão de patógenos para o homem e para os animais (LINARDI e GUIMARÃES, 2000).

O hematofagismo é determinante da ação espoliadora. O prurido vem da ação irritativa provocada pela sua picada e pela ação da saliva na pele podendo provocar um quadro de dermatite alérgica, conhecido como dermatite alérgica à picada de pulga (DAPP) (WILKERSON et al., 2004).

Com a aproximação dos animais de companhia do ser humano na atual sociedade urbana muitas espécies de pulgas têm se tornado um problema no ambiente familiar e doméstico (VISSER et al., 2001). O controle destas pragas é usualmente realizado de duas formas: mecânico e químico. A limpeza do ambiente, a catação manual de parasitos e a higienização do animal são alternativas eficazes no controle de ectoparasitos. O emprego de medidas de controle mecânico, juntamente com o controle químico, no qual se faz o uso de inseticidas e reguladores de crescimento de artrópodes, favorecem um controle estratégico deste ectoparasito (DRYDEN et al., 1989).

Neste combate existem vários grupos químicos de inseticidas, como os organofosforados, os carbamatos, as formamidinas, as piretrinas, os piretróides, as lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas), as nitroguanidinas e os fenilpirazoles, em diversos tipos de formulações e métodos de aplicação como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, spray, colares impregnados, “spot-on”, “strip-on”, “pour-on”, que são empregados no controle dos principais ectoparasitos de cães e gatos (SCOTT et al., 2002).

Outras formas de controlar as pulgas também já foram estudadas, como as vacinas, elaboradas a partir de intestino ou de glândula salivar, fitoterápicos e o uso de fungos entomopatogênicos (SCOTT et al., 2002). A necessidade se buscar alternativas de controle natural para a ocorrência de insetos no ambiente doméstico e nos animais faz da fitoterapia um dos mecanismos mais estudados no momento.

A grande biodiversidade de espécies vegetais presentes no Brasil constitui uma de suas maiores riquezas e se destaca como fonte para obtenção de novas substâncias com finalidade terapêutica (KORDALI et al., 2008). Apesar do aumento dos estudos sobre plantas medicinais, somente de 15% a 17% foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal. Considerando a grande biodiversidade do Nordeste brasileiro, esse número poderia ser bem maior (ALMEIDA et al., 2006).

Vários estudos têm comprovado o efeito de compostos isolados, extraídos de óleos essenciais de plantas, que atuam como fungicidas naturais, inibindo a atividade fúngica, dentre os quais, um número significativo destes constituintes se mostrou eficaz (ABDELGALEIL et al., 2008; KORDALI et al., 2008). Os constituintes químicos

desses óleos aromáticos variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, fenóis, aldeídos, éteres, ácidos orgânicos, ésteres, cetonas, lactonas, cumarinas, até compostos contendo nitrogênio e enxofre (SIMÕES et al., 2004).

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Também podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências. Essas denominações derivam de algumas de suas características físico-químicas, como, por exemplo, a de serem geralmente líquidos de aparência oleosa a temperatura ambiente, advindo daí a designação de óleo. Sua principal característica, entretanto, é a volatilidade, diferindo dos óleos fixos, misturas de substâncias lipídicas, obtidos geralmente de sementes. Outra característica importante é o aroma agradável e intenso, sendo, por isso, chamados de essências (GIORDANI et al., 2008).

Fatores ambientais tais como temperatura, umidade relativa, duração total de exposição ao sol, regimes de ventos, grau de hidratação do terreno e presença de micronutrientes no terreno, podem influenciar a composição dos óleos essenciais (KORDALI et al., 2008).

A *Lippia sidoides* Cham, conhecida popularmente como alecrim-pimenta, é um arbusto de folhas caducas, aromático e próprio da vegetação nordestina, pertencente à família *Verbenaceae* (MEDONÇA, 1997). Trabalhos já registrados na literatura mostram que a *Lippia sidoides* possui atividade bactericida e fungicida contra diferentes espécies microbianas, bem como larvicida (BOTELHO et al., 2007; KORDALI et al. 2008).

O gênero *Lippia* pertence à família *Verbenaceae*, a qual é distribuída nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. No Brasil existem cerca de 120 espécies dessa família e são caracterizadas como ervas eretas, procumbentes ou receptantes, até subarbustos e arbustos perenes e anuais. As folhas apresentam sua corola com colorido que varia de branco até rubescente, são pequenas e até mesmo diminutas, reunidas em inflorescências de diversos tipos, predominando as racemosas (MEDONÇA, 1997).

O timol, também conhecido como ác. tímico ou isopropilmetacresol (C₁₀H₁₄O) é encontrado em diversas plantas como *Thymus eriocalyx*, *Thymus x-parlock* e principalmente no óleo essencial da *Lippia sidoides*. Apresenta-se sob a forma de cristais incolores grandes ou pó cristalino branco com aroma irritante, lembrando tomilho. Pouco solúvel em água, mas muito solúvel em álcool. É irritante da mucosa gástrica, e a gordura e o álcool aumentam sua absorção. Possui atividade antimicrobiana, que é diminuída na presença de proteínas (BOTELHO et al., 2007).

Também tem sido usado topicamente no tratamento de enfermidades da pele e por inalação, associado a outras substâncias voláteis, para tratar enfermidades respiratórias (KORDALI et al., 2008).

Trabalhos já registrados na literatura mostram que a *L. sidoides* possui atividade bactericida e fungicida contra diferentes espécies microbianas, bem como larvicida (BOTELHO et al., 2007; KORDALI et al. 2008).

Diversas plantas brasileiras apresentam potencial terapêutico a controle de insetos, seu emprego está associado ao desenvolvimento de pesquisas que possam validar a sua eficácia. Neste sentido, este trabalho objetivou avaliar *in vivo* e *in vitro* a eficácia inseticida do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5% frente à *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) de caninos domésticos (*Canis familiares*).

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi encaminhada a Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFRPE recebendo licença nº 018/2011 13930/2011 D09.

Extração do óleo de *L. sidoides*

Para a extração do óleo foram utilizadas folhas de *L. sidoides* Cham provenientes da região do Semi-árido pernambucano (8° 25'00''Sul e 37° 03'15''Oeste). A planta foi coletada na zona rural do município de Venturosa Mulungu, sendo acondicionada e transportada para o Laboratório de Bioativos do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A *L. Sidodes* foi desfolhada, selecionada e depois distribuídas sobre uma superfície lisa coberta com papel tipo madeira em temperatura ambiente por um período de 24h. Após esse tempo foram acondicionadas e transportadas para o Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco. As folhas foram pesadas em balança analítica, em alíquotas de 250g, trituradas em liquidificador industrial e depois adicionadas a elas água destilada em quantidade suficiente para permitir a trituração. Foram depositadas em balões volumétricos de 5L e colocadas no aparelho de destilação modelo Clevenger modificado. Depois do 1° gotejamento marcou-se o tempo médio de duas horas para extração total do óleo.

O teor de óleos essenciais da *Lippia sidoides* Cham foi determinado por arraste a vapor d.água, em aparelho de Clevenger modificado (OLIVEIRA et al., 2005). Análise

quantitativa do teor de timol foi realizada a partir do método extração foi realizado por Cromatografia Gasosa. A *L. sidoides* Cham foi identificada e tombada no Herbário IPA-PE sob nº 82505 pela botânica Olívia Cano, funcionária da mesma instituição.

Teste *in vitro*

Foram capturadas 150 pulgas de *C. felis felis* diretamente do hospedeiro canino domiciliado em abrigo de animais no Município de Igarassu – PE. Os parasitos adultos foram acondicionados e transportados ao Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

O método utilizado para avaliar a eficácia do produto em teste foi o de impregnação de papel filtro. Três grupos foram formados, sendo eles:

Grupo 1- água destilada + Tween 20 = controle negativo;

Grupo 2 - óleo de *L. sidoides* a 5% + Tween 20 = grupo tratado;

Grupo 3 - fipronil® spray = controle positivo.

Para cada grupo foram empregadas cinco repetições.

Para a avaliação da atividade adulticida, dez adultos não alimentados de *C. felis felis* foram alocados em um tubo de ensaio contendo papel filtro impregnado com 0,2 mL do tratamento imposto, identificados e fechados com tampas rosqueadas para impedir a fuga, mas permitindo a aeração dos mesmos. Os mesmos foram mantidos em condições ambientais, e avaliados nos seguintes períodos de tempo: 10 minutos, 1, 3, 12, 24 horas. O critério utilizado para avaliação foi a motilidade do inseto. As pulgas que apresentassem qualquer tipo de movimento foram consideradas vivas.

Testes *in vivo*

Foram selecionados 20 cães domiciliados em abrigo de animais no Município de Igarassu – PE, de ambos os sexos, com idade entre três meses e dez anos, portadores de dermatites e parasitados por *C. felis felis*. Exame clínico foi realizado para determinação dos mais frequentes sinais clínicos presentes nos cães parasitados.

Coleta de material

Com antissepsia do local utilizando álcool a 70% foi realizado raspado de pele profunda em três locais diferentes da pele de cada animal, nos dias 0, 40 e 65 para

diagnóstico de sarna. Para tanto, lâmina de bisturi sem corte foi posicionada de forma perpendicular à pele e nela aplicada pressão moderada para o raspado cutâneo em direção ao crescimento do pêlo; conteúdo do raspado foi colocado em lâmina de microscopia eletrônica. As mesmas foram acondicionadas sobre refrigeração em caixa térmica e encaminhadas para o Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE.

Visando uma avaliação hematológica, a coleta de sangue foi realizada através de venopunção da veia jugular externa. O sangue coletado foi acondicionado em tubos de coleta tipo *vacutainer*, sendo retirado 3mL de sangue por animal e acondicionados em caixa térmica. O mesmo foi encaminhado para o Laboratório de Patologia Clínica do Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE.

Para a cultura microbiana foi coletado material com auxílio de *swab* estéril, em três locais diferentes da pele de cada animal. O material foi refrigerado em caixa térmica e encaminhado para o Laboratório de Doenças Infecto-Contagiosas dos Animais Domésticos do Departamento de Medicina Veterinária/UFRPE

Frontiline spray – Merial, São Paulo/SP

foram submetidos a bloqueio anestésico local com lidocaína 2% e com o auxílio de lâmina de bisturi nº19 foi retirado um fragmento de pele que imediatamente foi acondicionado em frascos individuais contendo solução de formol a 10% e devidamente identificados. Para contenção foi utilizada a acepromazina 0,2% por via intramuscular na dose de 0,2 mg/kg.

Para contagem das pulgas *in vivo* foi considerado no dia 0, antes de qualquer tratamento, a metodologia proposta por Dryden et al. (1994) adaptada para essa pesquisa, na qual a contagem foi realizada em seis regiões distintas do corpo (pescoço, dorso, base da cauda, antímero direito e esquerdo e região inguinal) sendo considerado os seguintes escores (valores aproximados):

< dez = +

> dez e < 20 = ++

>20 e < 30 = +++

>30 = ++++

O autor supracitado recomenda a multiplicação por uma constante de valor igual a 4,3 para padronização das amostras.

Os 20 cães foram divididos igualmente em dois grupos utilizando-se para tal o sistema de sorteio. Os animais do grupo 1 receberam banhos com *shampoo* contendo como componente principal na sua formulação o óleo de *L. sidoides* a 5% (Quadro 1); os animais do grupo 2 foram banhados com *shampoo* base neutra (Quadro 2). Os cães foram acomodados em canil com 20 m² comum a cada grupo, separados por tela de arame e área para banho de sol dentro do próprio abrigo. Receberam ração comercial uma vez ao dia e água *ad libitum*. Os *shampoos* foram manipulados e fornecidos pela Farmácia Pirâmide, Recife-PE sob a orientação de farmacêutico responsável.

Quadro 1 – Componentes, atividade e concentração do *shampoo L. sidoides* a 5%

Componentes	Atividade	Concentração (5%)
Lauril éter sulfato de sódio	Tensoativo	18%
Cocoamida propilbetaína	Co-tensoativo	4,0%
Óleo <i>L. sidoides</i> /Timol		5%
Água destilada qsp	Veículo	300mL

Quadros 2 – Componentes, atividade e concentração do *shampoo* neutro

Componentes	Atividade	Concentração (5%)
Lauril éter sulfato de sódio	Tensoativo	18%
Cocoamida propilbetaína	Co-tensoativo	4,0%
Água destilada qsp	Veículo	300mL

Todos os animais foram banhados duas vezes por semana durante nove semanas. O *shampoo* era distribuído em linha reta ao longo do dorso, cabeça e membros o suficiente para que cada animal tivesse todo o corpo recoberto pela espuma gerada durante os banhos, permanecendo em contato com o produto por dez minutos, sendo em seguida enxaguado e retirado toda espuma residual. A contagem das pulgas foi realizada uma vez por semana durante nove semanas, sempre antes e após os banhos.

Cálculo da Eficácia e Análise de Dados

Para cada item supracitado foi calculada a eficácia através da seguinte fórmula:

Eficácia = [(número médio de larvas ou pulgas vivas no grupo controle - número médio de larvas ou pulgas vivas no grupo tratado) / número médio de larvas ou pulgas vivas no grupo controle] x 100 (ABBOTT, 1925).

Todos os dados obtidos sofreram uma transformação logarítmica [$\log(n+1)$]. Os dados transformados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), quando se tinham três tratamentos (teste *in vitro*), seguido do Teste de Tukey quando as variâncias fossem menor ou igual a 0,05. Quando se tinham apenas dois tratamentos (teste *in vivo*), os dados foram submetidos ao Teste t para duas amostras independentes (SAMPAIO, 2002; AYRES et al., 2005).

Análise Estatística

Foi realizada uma análise descritiva para expor os resultados obtidos. A apresentação das variáveis mensuradas foi feita através de tabelas ou figuras. Para verificar se existiu algum tipo de relação/associação, foi utilizado o teste de Qui-quadrado considerando um nível de significância de 5%.

O software utilizado correspondeu ao R 2.11 e Excel 2011.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os trabalhos envolvendo a ação do óleo de *L. sidoides* sobre o desenvolvimento de pulgas não são comumente encontrados em literatura, existindo somente discussões sobre uma possível ação sobre elas.

A análise quantitativa do óleo essencial da *L. sidoides* Cham através da cromatografia gasosa (figura 1) revelou uma concentração de timol de 60,50%, carvacrol 4% ambos caracterizados como fenóis e outros elementos como p- cimeno, γ -terpineno, acetato de verbanol 3,27%, prezizaeno 4,05% e Cis-Acetato e Carvil 3,25%, estes resultados estão em desacordo com os resultados apresentados por Botelho et al. (2007), mas concordando com os mesmos ao afirmarem que as concentrações presentes em cada constituinte de um óleo essencial pode variar de acordo com as características do local onde habita a planta, horário de coleta e tempo de conservação da mesma.

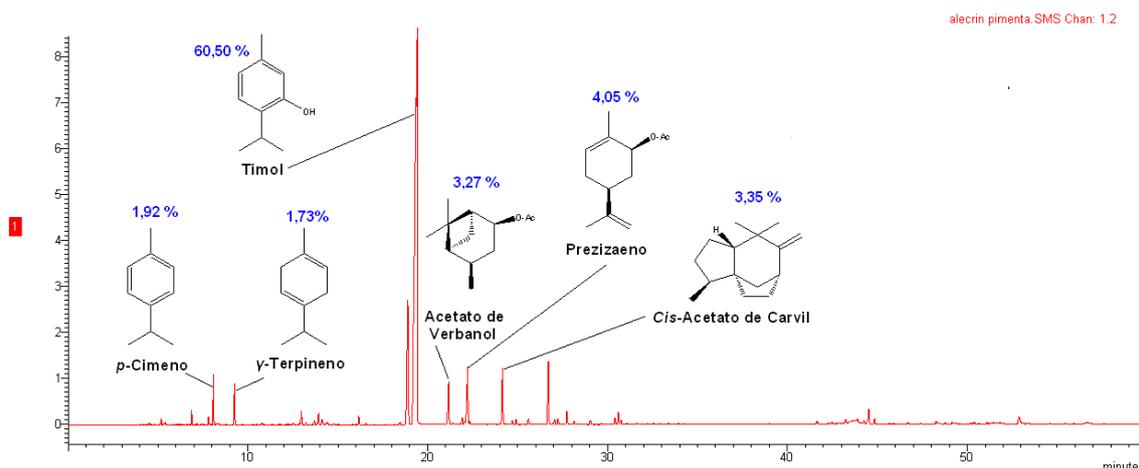


Figura 1- Perfil químico (CG-EM) do óleo essencial da *L. sidoides* Cham

Testes *in vitro*

O óleo essencial de *Lippia sidoides* a 5% (G1) e o fipronil (G3) provocaram mortalidade de *C. felis felis* adultas em teste de tira de papel impregnada após 24h em 100% das pulgas. No grupo controle negativo (G2) o observado foi em 2/50 (4%) dos insetos em todo o período de avaliação (24 horas); como nesse último grupo as tiras de papel foram impregnadas com água destilada e o dispersante Twenn 20 a mortalidade verificada provavelmente se deu a outros fatores como, por exemplo, idade dos parasitos e ou a falta de alimentação.

Ainda com referência a mortalidade, nas pulgas do G1 (*L. sidoides* a 5%), a mortalidade iniciou-se a partir da primeira avaliação (dez minutos após impregnação) concluindo-se com 24 horas após o contato com o óleo essencial. No G3 (fipronil), o mesmo achado iniciou-se a partir da terceira avaliação (1h após impregnação) finalizando com 100% após as 24 horas.

O acompanhamento da mortalidade das *C. felis felis* pode ser visualizado na figura 2.

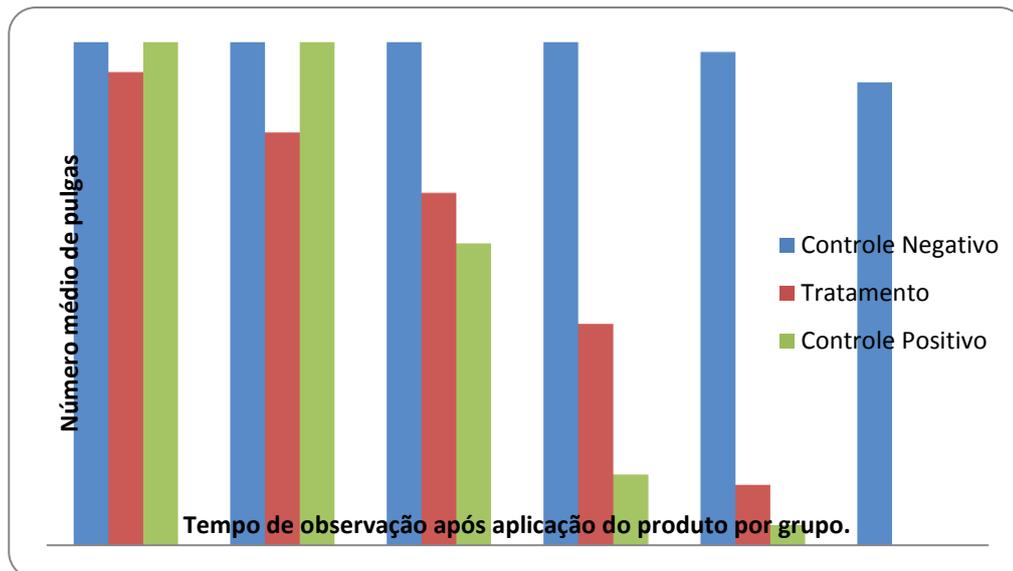


Figura 2 – Número médio de pulgas por grupo tratamento (controle negativo, *L. sidoides* e Fipronil® spray) avaliados nos tempos 10, 1, 3, 6, 12 e 24 horas.

Mehlhorn et al, (1999) demonstraram em um ensaio *in vitro*, que adultos e larvas de *C. felis felis* morreram rapidamente quando entraram em contato com papel filtro impregnado com uma solução aquosa de imidacloprid ou em contato com pêlos de cães tratados com uma formulação “spot-on”. Quando comparado com os resultados aqui apresentados nessa pesquisa, se observa que apesar do período médio de redução dos adultos não ser acentuado nas primeiras horas, o óleo de *L. sidoides* apresentou redução gradativa no número de indivíduos vivos, chegando a uma redução significativa a partir da sexta hora de observação até 100% em 24 horas, esses percentuais devem ser valorizados uma vez que o fitoterápico apresenta também características desejáveis aos produtos comerciais, como ausência de resíduos medicamentosos no animal e no meio ambiente.

Tabela 1 – Avaliação do número de pulgas vivas durante o período de observação após tratamentos *in vitro*.

Grupo	10 minutos	1 hora	3 horas	6 horas	12 horas	24 horas	Total
Controle negativo	10±0	10±0	10±0	10±0	9,8±0,44	9,2±0,83	9,83±0,46
<i>L. sidoides</i>	9,4±0,89	8,2±0,44	7±1	4,4±1,14	1,2±1,3	0±0	5,03±3,65
Fiproni	10±0	10±0	6±0,7	1,4±0,54	0,4±0,54	0±0	4,63±4,35

Média e desvio padrão

Estudo comparativo realizado Mehlhorn et al. (2001) da atividade do fipronil, do imidacloprid e da selamectina sobre as larvas e os adultos de *C. felis* revelaram que as pulgas adultas morreram entre 50 e 90 minutos da exposição ao imidacloprid, e as larvas sobreviveram por seis horas. Em relação ao fipronil, produto também estudado nesse trabalho, as pulgas adultas morreram entre 24 e 29 horas após o tratamento, e as larvas foram encontradas mortas depois de 29 horas. Em relação à selamectina, 95% das pulgas adultas morreram dentro de 96 horas e as larvas dentro de 29 horas após o tratamento.

Com esses dados supracitados é importante ressaltar que apesar de não ter sido avaliado todas as formas evolutivas de *C. felis*, a média de sobrevivência dos membros adultos reduziu-se em menor tempo quando comparados aos resultados de Mehlhorn et al. (2001) com o fipronil e imidacloprid, ou seja, mortalidade em 100% dos insetos com 24 e 29 horas, respectivamente para esse estudo e os dos autores acima citados.

Discordando de Mehlhorn et al. (2001) Tanner, (1997) cita que o fipronil age antes mesmo do primeiro repasto. Segundo Koutinas et al. (2001) o produto é considerado de maior aceitação mundial justificando a escolha neste experimento, pois é de baixa toxicidade e eficaz.

Os resultados aqui apresentados estão de acordo com estudos de Carvalho et al. (2003) que demonstraram a propriedade inseticida da *L. sidoides* Cham na atividade larvicida do óleo essencial frente a outras espécies de insetos. Estes autores consideraram o timol (73%), componente principal como o responsável pelos resultados obtidos; semelhança foi verificada neste estudo com relação à concentração do timol, já que na cromatologia da planta se identificou 60,50% do mesmo no perfil químico da *L. sidoides*.

A tabela 2 demonstra os dados do Fipronil quando comparados aos demais tratamentos. Nela é possível visualizar que a média final na mortalidade dos parasitos foi superior naquele grupo, porém, o desvio-padrão também foi maior e isso se deve a variação de mortalidade encontrada nas primeiras horas em uma das repetições, apesar da tendência de estabilidade ao final do experimento. Quando comparado por períodos de observação, o grupo da *L. sidoides* é superior até a primeira hora após a aplicação do produto, enquanto que o Fipronil® esse resultado é mais expressivo após 6 horas da aplicação. Não foi observada diferença estatística significante entre os grupos (tabela 3).

Tabela 2 – Mortalidade pulgas durante o período de observação após tratamentos *in vitro* com *L. sidoides* e Fipronil® (dados em porcentagem)

Grupo	10 minutos	1 hora	3 horas	6 horas	12 horas	24 horas	Total
<i>L. sidoides</i>	6±8,9	18±4,47	30±10	56±11,4	87,3±14,2	100±0	49,55±36,47
Fipronil®	0±0	0±0	40±7,07	86±5,47	96±5,47	100±0	53,67±43,59

Outros autores como Sousa (2000) ao estudar ação inseticida de *L. sidoides* contra a mosca branca (*Benisia argentifoli*), obteve resultados superiores a 95% de ação, corroborando com estes, que mesmo em espécies de insetos diferentes revelam o potencial apresentado pela *L. sidoides* na ação inseticida deste óleo no Brasil.

Analisar a eficácia em si de cada um dos produtos aplicados torna a análise melhor em termos de comparação entre o tratamento (*L. sidoides*) e o controle positivo (Fipronil) podendo-se destacar qual dos produtos é mais eficiente. Para isso, utilizou-se o teste de Mann-Whitney (tabela 3).

Tabela 3 – Eficácias médias entre o grupo *L. sidoides* e o grupo Fipronil (dados em porcentagem).

Tempo/Grupo	<i>L. sidoides</i>	Fipronil®	Valor p
10'	6	0	0,1797
1H	18	0	<0,01*
3H	30	40	0,14
6H	56	86	0,01*
12H	87,7	95,9	0,36
24H	1	1	---
Total	49,55	53,67	0,69

* nível de significância: 5%

Na tabela 4 é possível verificar a diferença média na contagem de pulgas entre os grupos *L. sidoides* e o grupo controle negativo e a relação entre os tratamentos citados, onde se identifica que:

- Diferença média na contagem de pulgas (Tratamento): Após a aplicação do tratamento com *L. sidoides* (G1), a diferença média (em dezenas) de pulgas encontradas foi superior a 03. Ou seja, após o tratamento, a quantidade de pulgas diminuiu, em média, em 03 dezenas. Isso é significativo estatisticamente com valor $p < 0,01$;
- Diferença média na contagem de pulgas (Controle negativo): observou-se que, após a aplicação no controle negativo (G2), a diferença média (em dezenas) de pulgas encontradas foi de 0,43. Ou seja, após o controle negativo ser aplicado, a

quantidade de pulgas diminuiu, em média, em 0,43 dezenas. Isso é significativo estatisticamente com valor p de 0,002;

- Diferença média na contagem de pulgas no tratamento e no controle após a aplicação (Tratamento x Controle): Percebe-se que o número médio (em dezenas) de pulgas encontrados no grupo G1 foi inferior a 1 dezena (0,83), enquanto que essa medida no grupo G2 controle negativo foi superior a 13 dezenas. Ou seja, após a aplicação de ambos os produtos, o tratamento com *Lippia sidoides* zerou a quantidade de pulgas ao fim do tratamento. Essa diferença estatística foi comprovada com valor $p < 0,01$.

Tabela 4 – Teste de médias t-Student para o número médio (em dezenas) de pulgas tanto no tratamento (*L.sidoides*) como no controle negativo.

Tempo/Grupo	Diferença média na contagem de pulgas	Valor p
<i>L.sidoides</i>	3,12	<0,01*
Controle Negativo	0,43	0,002*
<i>L.sidoides</i> x Controle	(0,82;13,66)	<0,01*

* nível de significância: 5%

Teste *in vivo*

Os resultados hematológicos no momento zero para ambos os grupos (média e desvio padrão) estão expressos na tabela 1. Quanto às interpretações dos resultados se observou:

Anemia normocítica normocromica;

anemia normocítica hipocrômica;

leucocitose e eosinofilia;

leucocitose com desvio neutrofilico a esquerda e eosinofilia;

leucocitose com eosinofilia e linfopenia;

leucocitose com eosinofilia, desvio neutrofilico a esquerda e linfopenia;

ausência de eosinofilia

Tabela 5 – Valores hematológicos dos animais selecionados para tratamento em G1 e G2.

Medida	Antes	Depois	Valor p
Ht	30%±7%	28%±5%	0,14
He	4,46±1,1	4,42±0,91	0,75
Hb	9,27±2,86	9,19±2,32	0,81
V.C.M	67,2±5,24	65,14±5,47	0,09
C.H.C.M	30,65±3,22	32,13±2,84	0,03*
Leuc	21161,11±7101,71	21188,89±7820,25	0,99
Mon%	5,94±2,84	5,44±3,2	0,66
Linf%	13±5,28	14,39±7,72	0,46
Eosi%	15,06±6,93	12±8,14	0,10
Segm%	63,89±7,52	64,44±11,76	0,86
Bast%	2,11±2,49	3,72±4,62	0,14

*nível de significância: 5%

Pode-se observar que a maior alteração presente nos dois grupos refere-se a uma eosinofilia acentuada que entre a primeira e a segunda avaliação sofreu uma redução; essa eosinofilia segundo Meyer et al, (2003) pode ser causada por hipersensibilidade (parasitismo em hospedeiro sensível, doença eosinofílica, leucemia, carcinoma e linfossarcoma), porém, nesse estudo ficou caracterizado como uma provável alteração eosinofílica por alergia a presença de ectoparasitos, conhecida como DAP. principalmente observado pelo aumento do prurido e presença de mais pulgas no grupo controle negativo. Já a anemia observada nos animais pode está associada a vários fatores, dentre eles e possivelmente neste caso, pode-se associar a presença de ectoparasitos e hemoparasitos presente nos animais e nas instalações do abrigo. A reação leucocitária pode está associada aos constantes desafios infecciosos dermatológicos, parasitários e estressantes sofridos por esses cães.

Os resultados encontrados no raspado cutâneo demonstraram a presença de outras doenças parasitárias acometendo os animais desse estudo, com destaque para sarna sarcóptica (tabela 6) e demodécica. Os cães acometidos foram principalmente os animais jovens e apesar de não ter sido objetivo desta pesquisa pode-se constatar que sarna sarcoptes apresentou uma redução estatisticamente significativa (valor $p < 0,01$) nos cães do grupo 1. No grupo 2 houve um aumento na presença de *Sarcoptes escabiei*, variedade canis. Esse achado se repete para os outros dois tipos de sarnas *Demodex* e *Otodex*, o que demonstra uma ação do *shampoo* com *Lippia sidoides* do tratamento das referidas sarnas. Como diagnóstico diferencial pôde-se verificar clinicamente a ausência

do prurido para *D. canis*; outros sintomas não foram considerados como patognômicos para qualquer uma das lesões.

Tabela 6 – Presença de três tipos de sarnas.

Medida	1ª Coleta	2ª Coleta	3ª Coleta	Valor p
Sarcoptes – grupo 1	6	1	0	<0,01*
Sarcoptes – grupo 2	2	5	5	0,29
Demodex – grupo 1	1	1	0	0,59
Demodex – grupo 2	1	5	5	0,1
Otodex – grupo 1	1	0	0	0,36
Otodex – grupo 2	1	1	1	---

* nível de significância: 5%

Os sinais clínicos encontrados (tabela 7) apesar de não determinarem uma causa específica, servem como indicadores do agente etiológico presente nas dermatites, já que segundo Kulrl e Greek (2005) os achados mais frequentes para DAP podem ser a hiperpigmentação, liquenificação, prurido intenso, alopecia e descamação. Tais achados foram compatíveis com os encontrados neste estudo. Pode-se destacar a redução estatisticamente significativa dos sinais prurido, crostas e dos ectoparasitos.

Tabela 7 – Sinais clínicos em animais com dermatites por grupo.

Medida	1ª Avaliação	2ª Avaliação	3ª Avaliação	Valor p
Prurido – grupo 1	10	8	5	0,01*
Prurido – grupo 2	9	9	8	0,36
Alopecia – grupo 1	10	10	9	0,33
Alopecia – grupo 2	7	9	9	0,11
Liquenificação – grupo 1	7	6	6	0,88
Liquenificação – grupo 2	7	9	8	0,33
Crostas – grupo 1	10	7	5	0,02*
Crostas – grupo 2	7	7	8	0,78
Pápulas – grupo 1	6	8	7	0,68
Pápulas – grupo 2	3	4	4	0,85

* nível de significância: 5%

Com a presença do *C. felis* e sua resposta alérgica provocando o prurido pode-se supor que o ato de coçar pode ter propiciado a entrada na pele de outros agentes infecciosos (tabela 8) haja vista que a análise microbiológica identificou a bactéria *Staphylococcus* sp. Segundo Codner e Rhodes, (2005) essas bactérias são comensais da

pele, mas quando se rompe a barreira de proteção ocorre uma piodermatite infecciosa com sinais de pápulas, pústulas, bolhas hemorrágicas, manchas circulares eritematosas ou hiperpigmentas com descamação e liquenificação.

Tabela 8 – Presença da bactéria *Staphylococcus* em amostras de pele canina

Medida	1ª Coleta	2ª Coleta	Valor p
<i>Staphylococcus</i> – grupo 1	3	2	0,6
<i>Staphylococcus</i> – grupo 2	1	3	0,26

A luz da avaliação histopatológica foi evidenciado, na maioria dos tecidos epiteliais observados, uma hiperqueratose folicular (figura 3), vacualização, acantose, e inflamação mononuclear; onde a hiperqueratose, nesse estudo, foi associada ao prurido intenso. A acantose foi considerada como uma resposta adaptativa a infestação por parasitos, porém não específica, podendo inclusive, ser ação de um parasito comensal da pele com uma resposta secundária a uma possível infecção já que também foi verificado a presença de bactérias.

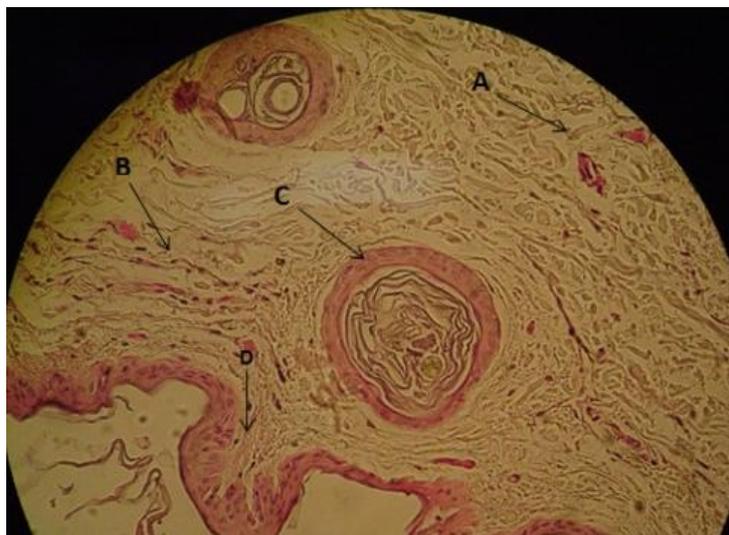


Figura3- Fragmento de pele revestido parcialmente por tecido epitelial estratificado. Verificam-se áreas de vascularização (A), infiltrado inflamatório mononuclear (B) derme com folículos com hiperqueratose (C) e discreta acantose (D). aumento de 40x.

Fonte: Souza, 2012.

Ainda nessas mesmas análises pode-se evidenciar a presença de parasito no folículo piloso (figura 4) *Demodex canis* em duas das lâminas avaliadas na primeira coleta do G1. Segundo Yager e Wilcock, (1994) pode ser observado na pele foliculite, perifoliculite, hiperpigmentação, degeneração da camada basal do fólculo, degeneração hidrópica nos queratinocitos basais e células apoptóticas ocasionais nas demodicoses caninas.

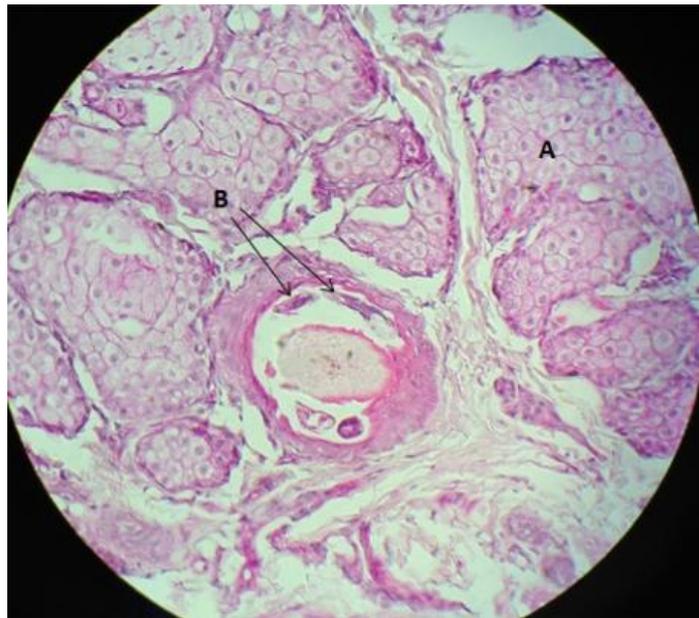


Figura 4- Diversas glândulas sebáceas (A) e folículo parasitado (B). aumento de 40x.

Fonte: Souza, 2012.

Um percentual de 100% do G1 e G2 compostos pelos dez animais avaliados neste experimento apresentavam sinais clínicos compatíveis com diversas enfermidades parasitárias e infecciosas, alguns com ocorrência simultânea, revelando a necessidade de intervenções não somente clinica, mas também, da implantação de medidas higiênico sanitárias no controle de dermatites parasitárias e infecciosas.

Em testes de toxicidade aguda e sub-crônica Fontenele (2008) testou em ratos Wistar diversas concentrações do extrato de *L. sidoides* Cham variando de 100mg até 3gr/kg aplicados por via oral e intraperitoneal. Avaliando alterações hemotológicas, bioquímica e histopatológica não havendo quaisquer diferença significativa que levasse a percepção de ação tóxica da *L. sidoides*. Lembrando também que a absorção da pele é menor que as vias testadas no estudo citado.

Na contagem das pulgas, antes e após os banhos se observou que ocorreu uma diminuição em ambos os grupos, porém de forma diferenciada quantitativamente (figura 5). Essa redução nos animais do grupo controle (banho com *shampoo* neutro) deve ter sido ocasionada pela ação mecânica do banho que permitiu o desprendimento das pulgas, mas em quantidade menores que o *shampoo* da *L. sidoides* e sem diferença significativa entre os mesmos.

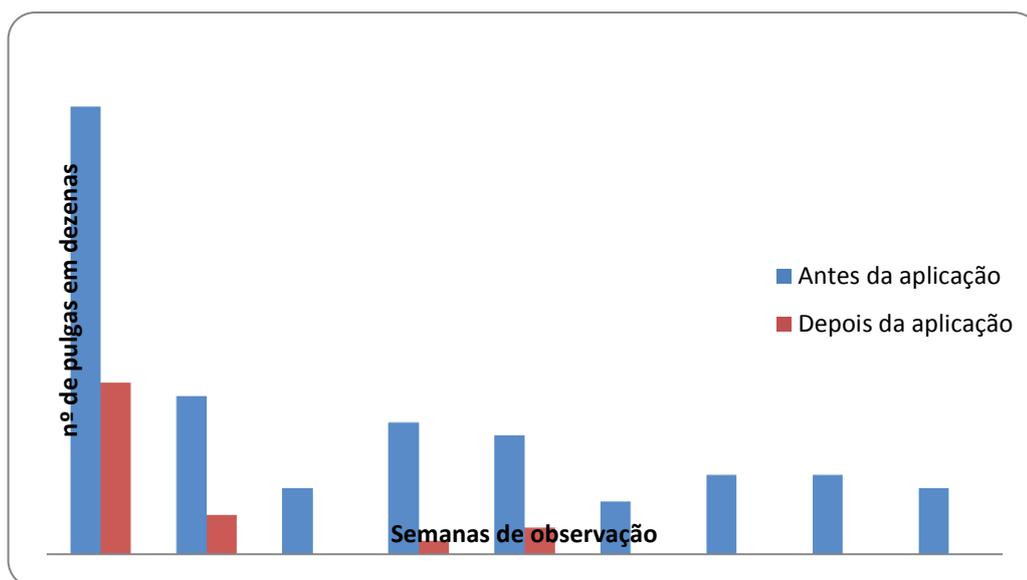


Figura 5 – Número médio de pulgas (em dezenas) antes e após aplicação do óleo de *L. sidoides*.

Quando analisado os dados referentes aos grupos e as avaliações realizadas (tabela 9) percebe-se que o tratamento com *L. sidoides* (G1) obteve efeitos antes dos banhos e após os banhos (reduções de 85,3% e 100% antes e após os banhos, respectivamente ao fim das observações). No caso do controle (*shampoo* neutro, G2), houve um aumento no número de pulgas (42,3% antes dos banhos e 56,5% após os banhos) o que indica que um tratamento com xampu neutro não possui nenhum efeito no combate as pulgas.

Tabela 9 – Redução percentual no número de pulgas de testes *in vivo*.

Grupos e período	Início das observações	Fim das observações	Redução percentual
G1 - Antes dos banhos	3,1	0,45	85,3%
G1 - Após os banhos	1,18	0	100%
G2 - Antes dos banhos	2,6	3,7	-42,3%
G2 - Após os banhos	2,3	3,6	-56,5%

Dryden et al. (1997) avaliaram a eficácia do imidacloprid em cães e gatos em situações de campo. Os animais sofreram três tratamentos com intervalos de 28 a 30 dias. Os autores observaram uma redução na população de pulgas de 86,8% por volta do 28^o dia, e níveis de eficácia superiores a 95% até o 90^o dia. Se compararmos os princípios testados junto a este experimento o óleo de *L. sidoides* Cham a 5% foi capaz de reduzir o número de pulgas presentes a partir do primeiro banho, mas não impediu a reinfestação por *C. felis felis* nos dias subsequentes, apenas manteve-se sobre controle

Ao final das nove semanas de observação o shampoo com *L. sidoides* a 5% reduziu em 100% a contagem *C. felis felis* em cães banhados duas vezes (tabela 9).

Apesar de permitir a diminuição das pulgas presentes, deve-se salientar que o controle deste ectoparasito depende em muito da intervenção do ambiente habitado pelo hospedeiro. Ao analisar o abrigo em foco, percebeu-se a dificuldade de se manter o ambiente descontaminado. A grande presença de outros animais caninos (170) e felinos (120) favorecia a permanência da colônia de *C. felis felis* no ambiente concordando com Visser et al. (2001) ao afirmarem que infestações por pulgas tem se tornado um problema doméstico.

Os resultados encontrados com o teste *in vivo* neste estudo foram semelhantes aos obtidos por Mehlhorn et al. (2001) que ao empregarem o neonicotinóide imidacloprid a 10% em uma formulação “spot-on” observaram que as pulgas expostas a pele dos cães tratados, após sete dias do tratamento, tinham morrido uma hora após o desafio. Porém, é importante ressaltar que esse tipo de solução apresenta um poder residual mais duradouro que as formulações em *shampoo*. Esse mesmo autor também ressalta a importância residual nos pêlos como forma de controle ambiental. Apesar da retirada do *shampoo* de *L. sidoides*, observou-se que não ocorreu infestação maciça das pulgas, não sendo possível a avaliação da ação residual já que o mesmo foi retirado após 10 minutos da aplicação.

CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5% apresenta *in vitro* eficácia inseticida sobre a forma adulta de *Ctenocephalides felis felis*;

Formulação de *shampoo* contendo óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5% pode ser indicado para cães no combate ao *Ctenocephalides felis felis* como opção terapêutica;

REFERÊNCIAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-67, 1925.

ABDELGALEIL, S. A. M.; ABBASSY, M. A.; BELAL, A.S.; et al Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemia judaica* L. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 5947-50, 2008.

ALMEIDA, C.F.C.B.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. et al. Medicinal plants popularly used in the Xingó region – a semi-arid location in Northeastern Brazil. **J. Ethnobiol. Ethnomed.** v.15, p. 1-7, 2006.

AYRES, M.; AYRES JR, M; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. BioEstat 4.0 – **Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil Mamirauá/Imprensa Oficial do Estado do Pará, Belém, 4ª Edição, 2005, p. 110- 27.

BOTELHO, M.A.; NOGUEIRA, N.A.P.; BASTOS, G.M.; et al . Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal Medical Biology Residence**. v. 40, p. 349-56. 2007.

BREITSCHWERDT, E.B.; KORDICK, D. L. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potencial, pathogenicity, and zoonotic potencial for human infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 13, n. 3, p. 428-38, 2000.

BRITO, M.H.; GODIM JR, M.G.C; OLIVEIRA, J.V.; CÂMARA, C.A.G.; Toxicidade de Formulações de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao Ácaro-Rajado e a *Euseius alatus* De Leon e *Phytoseiulus macropilis* (Banks) (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 500- 05, 2006.

CARVALHO, A.F.U.; MELO, V.M.M.; CRAVEIRO, A.A. *et al*. Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. Against *Aedes aegypti* linn. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**. vol.98, 2003, p. 569-71.

CASIDA, J.E.; GAMMON, D.W.; GLICKMAN, A. H.; LAWRENCE, L.J. Mechanisms of selection action of pyrethroid insecticides. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 23, n. 1, p. 413-38, 1983.

CODNER, E.C.; RHODES, K.H. Piodermatite bacteriana: foliculite e furunculose in: RHODES, K.H. **Dermatologia de pequenos animais – Consulta em 5 minutos**. Rio de Janeiro, Ed. Revinter. 2005, cap. 43. p. 287-292.

CORREIA, T.R.; SCOTT, F.B.; FERNANDES, J.I.; MELO, R.M.P.S.; VEROCAI, G.G.; SOUZA, C.P. Eficácia do regulador de crescimento de insetos piriproxifen associado ao piretróide d-fenotrina (Mypet® Aerosol) no controle ambiental de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **A Hora Veterinária**, v. 25, n. 146, 2005, p. 27-31.

COSTA, S. M. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do Nordeste do Brasil *Lippia sidoides* Cham.** 2001. 198f. Tese (doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

DRYDEN, M.W.; BOYER, J.E.; SMITH, V. Techniques for estimating on-animal populations of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 31, n. 4, p. 631-34, 1994.

DRYDEN, M.W.; NEAL, J.J.; BENNETT, G.W. Concepts of flea control. **Companion Animal Practice**, v. 19, n. 4-5, p. 11-21, 1989.

DRYDEN, M.W.; PEREZ, H.R. ULITCHNY, D.M. Efficacy of imidacloprid against *Ctenocephalides felis* in dogs and cats under field conditions. In: **Proceedings of The Bayer International Flea Control Symposium**, 1, Birmingham, p. 5-10, 1997.

GIORDANI, R., TREBAUX, J., MASI, M.; et al. Enhanced antifungal activity of ketoconazole by *Euphorbia characias* latex against *Candida albicans*. **Journal Ethnopharmacology**. v.78, p. 1-5, 2001.

KORDALI, S.; KOTAN, R.; MAVI, A.; et al. Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculus* and of the antifungal and antibacterial activities of Turkish *Artemisia absinthium*, A.

dracunculus, *Artemisia santonicum*, and *Artemisia spicigera* essential oils. **J. Agric. Food. Chem.** v. 53, p. 9452-58, 2008.

KORKEJIAN, A.; EDESON, J.F. Studies on naturally occurring filarial infections in dogs in Lebanon. I. *Dipetalonema reconditum*. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 72, n. 1, p. 65-78, 1978.

KOUTINAS, A.F.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; SOUBASIS, N.; BORNSTEIN, S.; KOUTINAS, C.K. Treatment of canine sarcoptic mange with fipronil spray: a field trial. **Australian Veterinary Practitioner**, v. 31, p. 115-19, 2001.

KUHL, K. A.; GREEK, J.S. Pulgas e controle de pulgas in: RHODES, K.H. **Dermatologia de pequenos animais – Consulta em 5 minutos**. Rio de Janeiro, Ed. Revinter. 2005, p. 185-187.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. **Sifonápteros do Brasil**. Editora MZUSP/FAPESP, 1ª edição, São Paulo, 2000, p. 135-42.

MARSHALL, A.G. The cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) as an intermediate host for cestodes. **Parasitology**, v. 57, n. 3, p. 419-30, 1967.

MEHLHORN, H.; HANSEN, O.; MENCKE, N. Comparative study on the effects of three insecticides (fipronil, imidacloprid, selamectin) on development stages of the cat flea (*Ctenocephalides felis* Bouché, 1835): a light and electron microscopic analysis of in vivo and in vitro experiments. **Parasitology Research**, v. 87, n. 3, p. 198-207, 2001.

MEHLHORN, H.; MENCKE, N.; HANSEN, O. Effects of imidacloprid on adults and larval stages of the flea *Ctenocephalides felis* after in vivo and in vitro application: a light and electron-microscopy study. **Parasitology Research**, v. 85, n. 8-9, p. 625-37, 1999.

MENDONÇA, M. C. S. **Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.)**. 1997. 78f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.

MEYER, D.L.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de laboratório veterinário**. 1. Ed. São Paulo: Roca, 2003. Cap. 23, p. 35-36.

NOLI, C. Principais ectoparasitoses de cães e gatos. **A Hora Veterinária**, v. 125, 2002, p. 45-50.

OLIVEIRA, R.N.; DIAS, I.J.M.; CÂMARA, C.A.G. Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15(1), p.31-43, 2005.

POLLMEIER, M.; PENGO, G.; JEANNIN, P.; SOLL, M. Evaluation of the efficacy of fipronil formulations in the treatment and control of biting lice, *Trichodectes canis* (De Geer, 1778) on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 107, n. 1-2, p. 127-36, 2002.

PUGH, R.E. Effects on the development of *Dipylidium caninum* and on the host reaction to this parasite in the adult (*Ctenocephalides felis felis*). **Parasitology**, v. 73, n. 2, p. 171-77, 1987.

RIBEIRO, V. L. S.; TOIGO, E.; BORDIGNON, S. A. L.; GONÇALVES, K.; POSER, G. V. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 1-2, p. 199-203, 2007.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Editora FEPMVZ, 2ª edição, Belo Horizonte, 2002, p.157-63.

SCOTT, F.B.; MARTINS, V.F.; SOUZA, C.P.; CORREIA, T.R., Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, 2002, p. 13-18.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; et al. **Farmacognosia: de planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004, p. 92-6.

SOARES, L. **Estudo tecnológico, fitoquímico e biológico de *Lippia alba* (miller) n. E. Brown ex britt. & wils. (falsa-melissa) verbenaceae**. 2001. 78f. Dissertação (Mestrado em Farmácia). Universidade Federal de Santa Catarina. 2001.

SOUZA, C.V.B. **Óleos essenciais no controle de mosca branca (*Bemisia argentifolli* Bellow & Perring), em melão**. 2000. 62f. (Dissertação Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2000.

TANNER, P.A.; MEO, N.J.; SPARER, D.; BUTTER, S.J.; ROMANO, M.N.; KEISTER, M. Advances in the treatment of heartworm, fleas and ticks. **Canine Practice**, v. 22, n. 2-3, p. 40-47, 1997.

VALENTINE, W.M. Pyrethrin and pyrethroid insecticides. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, n. 20, n. 2, p. 375-82, 1990.

VIEGAS-JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VINCENZI, P.; GENCHI, C. Efficacy of fipronil (Frontline®) against ear mites (*Otodectes cynotis*) in dogs and cats. In: **Proceedings of the 14th Annual Congress of the ESVDECVD**, Pisa, Itália, p. 177, 1997.

VISSER, M.; REHBEIN, S.; WIEDEMANN, C. Species of flea (Siphonaptera) infesting pets and hedgehogs in Germany. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 48, n. 3, p. 197-202, 2001.

WENDINCAMP, J.; FOIL, L.D. Vertical transmission of *Rickettsia felis* in the cat flea (*Ctenocephalides felis* Bouché). **Journal of Vector Ecology**, v. 27, n. 1, p. 96-101, 2002.

WILKERSON, M.J.; BAGLADI-SWANSON, M.; WHEELER, D.W.; FLOYD-HAWKINS, K.; CRAIG, C.; LEE, K.W.; DRYDEN, M.W. The immunopathogenesis of flea allergy dermatitis in dogs an experimental study. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 99, n. 3-4, p. 179-92, 2004.

WILLAMS, S.G.; SACCI JR., J.B.; SCHRIEFER, M.E.; ANDERSEN, E.M.; FUJIOKA, K.K.; SORVILLO, F.J.; BARR, A.R.; AZAD, A.F. Typhus and typhuslike *Rickettsiae* associated with opossums and their fleas in Los Angeles County, California. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 7, p. 1758-62, 1992.

WOODS, J.E.; BREWER, M.M.; HAWLEY, J.R.; WISNEWSKI, N.; LAPPIN, M.R.
Evaluation of experimental transmission of Candidatus *Mycoplasma haemominutum*
and *Mycoplasma haemofelis* by *Ctenocephalides felis* to cats. **American Journal of
Veterinary Research**, v. 66, n. 6, p. 1008-12, 2005.

Atividade biológica acaricida *in vitro* do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodídeos)

RESUMO

Objetivou-se avaliar a atividade carrapaticida *in vitro* do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham (alecrim pimenta) sobre o controle do *Rhipicephalus sanguineus*. Para tanto utilizou-se 90 fêmeas teleoginas que foram divididas em três grupos de tratamento para o controle de *R. sanguineus*, sendo o G1 óleo essencial de Alecrim pimenta a 5% utilizando-se tween 20 como dispersante em água destilada, G2 à base de cipermetrina + Diclorvós[®] (DDVP) controle positivo, e o G3 grupo controle negativo com água destilada e tween 20. Os resultados revelaram uma mortalidade de 100% das fêmeas ingurgitadas para o *L. sidoides*. Conclui-se que a avaliação da atividade biológica *in vitro* do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5 % sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* apresentou eficácia na mortalidade deste ectoparasito.

Palavras-chave: alecrim pimenta, carrapatos, controle natural e ácaros.

ABSTRACT

Acaricide *in vitro* biological activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham on engorged females of *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodid).

The objective was to evaluate the acaricide activity *in vitro* of essential oil of *Lippia sidoides* Cham (rosemary pepper) under the control of *Rhipicephalus sanguineus*. For this purpose were used 90 female ticks divided into three treatment groups for the control of *R. sanguineus*, being G1 essential oil from rosemary pepper 5% using Tween 20 as the dispersant in distilled water, G2 based on cypermethrin + Dichlorvos[®] (DDVP) positive control and G3 negative control group with distilled water and Tween 20. The results showed a 100% mortality of engorged females to *L. sidoides*. It is concluded that the evaluation of *in vitro* biological activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham 5% on engorged females of *R. sanguineus* exhibited efficacy on the mortality in this ectoparasite.

Keywords: rosemary pepper, ticks, natural control, mites

INTRODUÇÃO

Na natureza várias plantas apresentam propriedades inseticidas e sua utilização torna-se uma alternativa de menor impacto ambiental, e capaz também de diminuir a ocorrência de cepas resistentes ao tratamento convencional (FERNANDES et al ., 2007; VALENTE et al ., 2007).

Para Araújo Filho (2000) a fitoterapia é base para o controle de doenças na produção animal ecológica e nos tratamentos de animais de estimação, trazendo como vantagem um maior retorno econômico em função de um menor desembolso com a compra de produtos químicos industrializados. Uma outra vantagem seria a redução de resíduos tóxicos contaminantes, além de terem demonstrado resultados positivos na prevenção e na cura dessas doenças. Ressaltando que é preciso haver uma recuperação e valorização histórica dos modos de cura das doenças dos animais, tanto o utilizado pelos meios populares, quanto às técnicas terapêuticas mais antigas.

Os carrapatos são artrópodes (filo Arthropoda) de importância médica e veterinária. São hematófagos e esse hábito alimentar pode causar danos diretos sobre o animal parasitado, bem como, são agentes transmissores de diversos outros parasitos ou agentes causadores de doenças. Os carrapatos estão entre os mais importantes vetores de patógenos que afetam o gado, animais de companhia e humanos (LABRUNA, 2004).

Rhipicephalus sanguineus, carrapato cosmopolita, é provavelmente o ixodídeo de mais ampla distribuição mundial (DAIX et al., 2007). Sua descrição tem sido freqüentemente associada à presença do hospedeiro cão (SZABÓ et al., 2001), estando adaptado a cães de domicílios em cidade. Diversos microrganismos patogênicos podem ser veiculados pelo *R. sanguineus* (APPEL e JACOBSON, 1995). Estes ectoparasitas têm despertado o interesse da comunidade científica e da saúde pública devido a sua participação na transmissão de doenças como a babesiose, hepatozoonose, erlichiose, anaplasmose e borreliose (FÖLDVÁRI, 2005). Segundo Shimada et al. (2003), recentemente o interesse pelos carrapatos e pelas doenças transmitidas por eles, tem aumentado devido à emergência e reemergência destas doenças e pela natureza zoonótica de algumas delas.

O principal método de controle contra esse ectoparasita tem sido o uso de acaricidas, mas se tem propagado de forma generalizada à resistência em populações de carrapatos, conjuntamente com as reações tóxicas em animais e no homem, devido à

presença de produtos químicos residuais no meio ambiente. Por isso se tem buscado novas alternativas não químicas e mais seguras (RIBEIRO et al., 2006).

Paz et al. (2008) ressaltam a importância no desenvolvimento de produtos naturais ou a base de plantas medicinais que possam atuar de forma semelhante nas diversas fases de vida do *R. sanguineus*. O que poderia também contribuir para a diminuição de agentes químicos sintéticos presentes no meio ambiente que segundo Ponte (1999) o Brasil é o terceiro maior consumidor de Agrotóxico do mundo, tendo como base para a classificação à Organização para Alimentação e Agricultura, elevando sua colocação devido o uso exacerbado de organofosforados, por isso, algumas plantas tem sido utilizadas no controle de ectoparasitos a exemplo do Neem.

A *Lippia sidoides* Cham (Verbanaceae) ou alecrim pimenta é uma planta bastante usada como fitoterápico no nordeste brasileiro em função da ação anti-séptica, devido aos altos teores de timol e carvacrol (MATOS, 2004). É um arbusto de folhas caducas, bastante aromático e próprio da vegetação nordestina, pertencente à família *Verbenaceae*. Esta espécie de planta se destaca pelos elevados rendimentos de seu óleo essencial, de até 6%, (MATOS, 2004), sendo este rico em timol (43,5%), que é o responsável pelo alto poder antiséptico de suas folhas. Outros constituintes de seu óleo são: α - felandreno (22,4%), β -cariofileno (9,7%), α -cimeno (8,6%), mirceno (6,5%) e carvacrol (4,3%) (BOTELHO et al., 2007). Possui inúmeras aplicações na medicina popular, sendo muitas delas comprovadas cientificamente. Em humanos é usada para combater infecções da garganta e da boca, para o tratamento de ferimentos na pele e no couro cabeludo, para o tratamento de acne, sarna infectada, pitiríase versicolor, dermatomicoses, caspa, odor fétido nos pés, nas axilas e virilha (MATOS, 2004).

Todos os óleos essenciais constituem uma mistura de princípios químicos muito complexos e variam amplamente em sua composição (BOTELHO et al., 2007). Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, normalmente um deles é o composto majoritário, existindo outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades (SIMÕES et al., 2004). Tais substâncias podem ser utilizadas para a síntese de vitaminas, hormônios, antibióticos e antissépticos (MATOS, 2004).

Com base no exposto, objetivou-se com esse trabalho avaliar *in vitro* a atividade biológica acaricida do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5% sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi encaminhada a Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFRPE recebendo licença nº 018/2011 13930/2011 D09.

Para a extração do óleo foram utilizadas folhas de *L. sidoides Cham* provenientes da região do semi-árido pernambucano (8° 25'00''Sul e 37° 03'15''Oeste). A planta foi coletada na zona rural do município de Venturosa Mulungu, sendo acondicionada e transportada para o Laboratório de Bioativos do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A *L. sidoides* foi desfolhada, selecionada e depois distribuídas sobre uma superfície lisa coberta com papel tipo madeira em temperatura ambiental por um período de 24h. após esse tempo elas foram acondicionadas e transportadas para o Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco. As folhas foram pesadas em balança analítica, em alíquotas de 250g, trituradas em liquidificador industrial e depois adicionadas a elas água destilada em quantidade suficiente para permitir a trituração. Foram depositadas em balões volumétricos de 5L e colocadas no aparelho de destilação modelo Clevenger modificado. Depois do 1° gotejamento marcou-se o tempo médio de duas horas para extração total do óleo.

O teor de óleos essenciais da *Lippia sidoides Cham* foi determinado por arraste a vapor d'água, em aparelho de Clevenger modificado (OLIVEIRA et al., 2005). A análise quantitativa do teor de timol foi realizada a partir do método extração por Cromatografia Gasosa. A *L. sidoides Cham* foi identificada e tombada no Herbário IPA-PE sob nº 82505 pela botânica Olívia Cano, funcionária da mesma instituição.

Foram utilizadas 120 fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* coletadas manualmente de hospedeiros infestados naturalmente, no município de Jaboatão dos Guararapes - PE, as quais foram transportadas, em recipientes plásticos com aeração adequada. No laboratório, foram selecionadas 90 fêmeas com base nos aspectos de aparência e motilidade normais, corpo íntegro e máximo de ingurgitamento (LEITE et al., 1995). Essas fêmeas foram limpas com papel absorvente e distribuídas em grupos de dez transferidos para placas de Petri devidamente identificadas e pesados em balança analítica.

As fêmeas teleóginas foram divididas em três grupos em triplicata, sendo o G1 o grupo que recebeu imersão do óleo essencial à 5% de alecrim pimenta + água destilada e usando tween 20 como dispersante, G2 utilizando uma apresentação comercial diluída

conforme recomendação do fabricante à base de cipermetrina + DDVP® e G3 utilizando água destilada e tween 20.

Cada grupo de 10 fêmeas ingurgitadas foi submetido à imersão em Becker de 100mL, cada um deles contendo 10mL das soluções testadas, mantendo-se em constante agitação durante cinco minutos, após os quais o líquido foi desprezado e o excesso das soluções retirado com papel absorvente. Cada grupo testado foi recolocado em placa de Petri e transferidos para estufa (BIOD) no laboratório em temperatura de 26° C +- 1 e umidade relativa de 75% +-5 aferidas diariamente por um termo-higrômetro digital, modelo Termohygro - TFA, instalado no local. Diariamente foram observadas e avaliadas as fêmeas do *R. sanguineus* quanto a motilidade, conservação de forma anatômica e oviposição. Transcorridos 10 dias do início da postura, a massa de ovos de cada grupo foi pesada em balança analítica, transferida para seringas plásticas descartáveis de 20mL previamente adaptadas, identificadas e vedadas com algodão hidrófobo, mantendo-se as mesmas condições anteriormente descritas. Após o período de incubação, o percentual de eclosão foi estimado objetivamente, estabelecendo-se como parâmetro a verificação visual com intervalos de 10%.

A eficácia de cada produto (EP) foi calculada com base na eficiência reprodutiva (E.R.) do grupo controle-água, segundo Drummond et al. (1973). Para a interpretação dos resultados, considerou-se como eficácia dos princípios ativos o valor mínimo de 95%, conforme legislação pertinente para a comercialização de carrapaticidas no país (BRASIL, 1990).

O cálculo para a (ER) por produto foi realizado utilizando-se a seguinte fórmula:

$$ER = \frac{\text{Peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000}{\text{Peso das teleóginas}}$$

O cálculo para a percentagem da (EP) seguiu a fórmula:

$$\% EP = \frac{ER \text{ controle} - ER \text{ tratado}}{ER \text{ controle}} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise quantitativa do óleo essencial da *L. sidoides* Cham através da cromatografia gasosa (figura 1) revelou uma concentração de timol de 60,50%, carvacrol 4% ambos caracterizados como fenóis e outros elementos como p- cimeno, y-

terpineno, acetato de verbanol 3,27%, prezizaeno 4,05% e Cis-Acetato e Carvil 3,25%, estes resultados estão em desacordo com os resultados apresentados por Botelho et al. (2007), mas concordando com os mesmos ao afirmarem que as concentrações presentes em cada constituinte de um óleo essencial pode variar de acordo com as características do local onde habita a planta, horário de coleta e tempo de conservação da mesma.

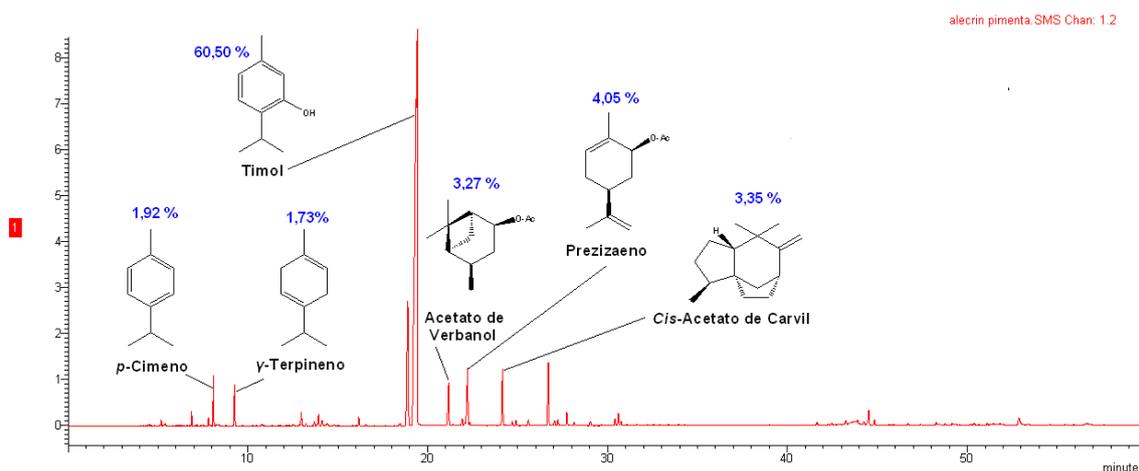


Figura 1- Perfil químico (CG-EM) do óleo essencial da *L. sidoides* Cham

Os resultados demonstraram uma mortalidade *in vitro* de 100% das fêmeas ingurgitadas (Tabela 01), sendo observada o início das mortes a partir de 24h após imersão decorridos três dias todas as fêmeas do grupo tratamento controle positivo bem como tratamento grupo óleo *L. sidoides* a 5% se encontravam mortas, havendo alterações de peso e desidratação de todos os exemplares de ambos os grupos.

Tabela 1. Atividade carrapaticida *in vitro* do óleo de *Lippia sidoides* Cham (alecrim pimenta) 5% sobre teleóginas de *R. sanguineus*.

Tratamento	Peso das teleóginas (g)	Peso dos ovos (g)	Eclosão %	Eficácia do produto %
G1	1,1524+-024	-	-	100
G2	1,161+-018	-	-	100
G3	1,139+- 026	0,9167	95	-

Média+- dp G1: tratamento *Lippia sidoides* Cham, média G2: cipermetrina + DDVP, G3: controle negativo (água destilada)

Tal resultado demonstra uma real possibilidade de utilização de substâncias ativas presentes no óleo essencial de *L. sidoides*, fato comprovado por Chagas (2004) ao

relatar que algumas substâncias de origem vegetal tem potencial para o controle de ácaros, podendo com isso, reduzir o uso exacerbado e conseqüente desenvolvimento de resistência aos acaricidas convencionais.

Quando comparado os grupos G1 e G2 podemos verificar que *L. sidoides* obteve o mesmo percentual de mortalidade que o tratamento com cipermetrina + DDVP produto já comercialmente conhecido e utilizado frequentemente no controle de diversos Ixodídeos.

Monteiro et al. (2009) ao avaliarem a eficácia acaricida apenas com timol nas concentrações de 1,0%, 1,5% e 2% sobre ninfas e fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, obtiveram 100% de mortalidade para todas as diluições testadas em ninfas, mas nos testes conduzidos sobre as fêmeas ingurgitadas não houve diferenças significativas, não obtendo resultados eficientes sobre essa fase de vida do parasito, diferente deste estudo no qual o óleo essencial à 5% foi o que apresentou 100% de mortalidade de fêmeas adultas.. Tal diferença pode estar associada à composição da substância testada e a concentração do timol presente nos dois experimentos e o fato de ter utilizado o óleo essencial de *L. sidoides* neste estudo pode possibilitar a presença de outras substâncias próximas ao timol que podem potencializar sua ação tóxica sobre os carrapatos, porém deve-se atentar pôs o contrario pode acontecer Botelho et al.(2007). Há também a concentração testada do timol da planta oriunda da região do semi-árido pernambucano utilizado neste experimento que seria maior que os exemplares estudados por Monteiro ET al. (2009), demonstrando-se assim mais eficazes em maiores concentrações na fase adulta do parasito.

Nos resultados obtidos neste experimento não foi necessário realizar o cálculo do E.R. uma vez que os grupos controle tratamento com *L. sidoides* a 5% e o composto químico cipermetrina + DDPV[®] não realizaram oviposição de suas fêmeas ingurgitadas após 30 dias de observação (Fig. 2) e não apresentavam mais movimentação nem respostas a estímulos mecânicos. Fato diferentemente observado no controle negativo (água + tween 20%) que demonstrou em iguais condições de avaliação uma postura de ovos de 95%.



Figura 2. A-Teleóginas do grupo tratado com o óleo de *Lippia sidoides* Cham a 5%, B-grupo tratado com cipermetrina +DDPV e C-Teleóginas do grupo controle negativo após oviposição.

Fonte: Souza, 2012.

Daemon et al., (2009) ao trabalharem com larvas e ninfas de *R. sanguineus* utilizando no controle o timol a 2% obtiveram 100% de mortalidade, confirmando seu potencial uso sobre os estágios mais jovens deste parasito que ao serem associados aos resultados encontrados neste estudo corroboram com o potencial carrapaticida apresentado pela *L. sidoides* sobre *R. sanguineus* uma vez que esta planta tem como principal componente o timol.

Nos diversos estudos de atividades carrapaticidas têm-se usado como comparativo compostos químicos já empregado no controle de ectoparasitos principalmente *R. sanguineus* e *Boophilus Ripicephalus microplus* pois Sant'anna et al.(2002) demonstraram que o *R. sanguineus*, assim como outros Ixodídeos na fase adulta já apresentam maior resistência a carrapaticidas, mas avaliando o piretroídeo sintético alfametrina observou que nas diluições recomendadas pelo fabricante (50ppm), este agente químico apresentou eficácia acaricida, mas que em várias diluições menores testadas frente as fases de larva e ninfa não obtiveram resultados satisfatórios corroborando com este estudo, pois apesar ter sido utilizado outro piretroídeo para comparação cipermetrina + DDPV, também não houve a evolução do ciclo biológico deste parasito. Resultado observado com o óleo essencial de *L. sidoides* a 5% ao obter equivalência a produtos sintéticos comercialmente utilizados, mas representando menor riscos ao hospedeiro e ao meio ambiente, podendo se tornar uma opção no arsenal terapêutico para o controle de carrapatos.

Outras plantas também são utilizadas pela ação ectoparasiticida como a *Caracanis guianense* (andiroba), onde Farias (2007) avaliando o óleo desta planta nas concentrações de 100%, 50% até 10% obteve 100% de eficácia para todas as diluições testadas para *R. Boophilus microplus*, *R. sanguineus* e *Anocentor nitens*. Silva et al., (2008) ao testarem a atividade do *Azadicachta indica* (Neem) demonstraram a mortalidade de fêmeas ingurgitadas ou teleóginas e inibição da eclosão *Ripicephalus Boophilus microplus*, chegando a atingir 100%, quando utilizaram a formulação comercial pura e índice de 95% com as soluções aquosa e alcoólica. Estes estudos têm demonstrado o potencial que plantas medicinais podem apresentar no controle de ectoparasitos, a exemplo da *L. sidoides* Cham nesta avaliação.

CONCLUSÃO

A avaliação da atividade biológica *in vitro* do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham a 5 % sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* apresentou eficácia na mortalidade deste ectoparasito.

REFERÊNCIAS

APPEL, M.J.; JACOBSON, R.H. CVT update: canine Lyme disease. Bonagura, J.D. (Ed.) **Current Vet. Therapy XII**, Philadelphia. p.303-09. 1995.

ARAÚJO FILHO, R. **Introdução à pecuária ecológica: a arte e a ciência de criar animais sem drogas ou venenos**. Porto Alegre: São José, 2000, p.74-75.

BOTELHO, M.A.; et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia siloides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Braz J Med Biol Res.** v.40, p.349-56, 2007.

CHAGAS A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Rev. Bras. de Parasit. Vet.** v.13, p.156-60, 2004.

DAEMON E.; MONTEIRO C.M.O.; ROSA L.S, CLEMENTE MA, ARCOVERDE A evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasit. Resid.** 2009.

DAIX V., et al *Ixodes* ticks belonging to the *Ixodes ricinus* complex encode a family of anticomplement proteins. **Insect Molecular Biology.** v.16, p.155-66, 2007.

DRUMMOND, R.O.; ERNST, S.E.; TREVINO, J.L. et al. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory tests of insecticides. **J. Econ. Entomol.**, v.66, p.130-33, 1973.

FARIAS, M.P.O. **Avaliação “in vitro” da atividade ectoparasiticida e anti-helmíntica da anndiroba (*Carapa guianensis* Aubl.)**. 2007. 134f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

FERNANDES, F.F.; LELES, R.N.; SILVA, I.G. et al. Larvicidal potencial of *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) against *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, p.145-49, 2007.

FÖLDEVÁRI, G. Ixodid tick species attaching to dogs in Hungary. **Veterinary Parasitology**. v.129, p.125-31, 2005.

LABRUNA, M.B. Biologia-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari:Ixodidae). **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, supl., p.123-24, 2004.

LEITE, R.C.; LABRUNA, M.B.; OLIVEIRA, P.R. et al. In vitro susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to comercial acaricide. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.4, p.283-94, 1995.

MATOS, F. J. A.; SOUSA, M. P.; MATOS, M. E. O.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras**, 2ª ed., Edições UFC: Fortaleza. 2004, p.467-69.

MONTEIRO, C.M.O.; DAEMON, E.; CLEMENTE, M.A.; ROSA, L.S.; MATURANO, R. Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 105, n.4, p.1093-97, 2009.

OLIVEIRA, R.N.; DIAS, I.J.M.; CÂMARA, C.A.G. Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. De diferentes localidades de Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15 (1), p. 31-43, 2005.

PAZ, G.F.; LEITE R.C.; OLIVEIRA P.R. in Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) no canil da Escolade Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** v.17, p.41-44, 2008.

PEREIRA, J.R., FAMADAS, K.M., Avaliação “in vitro” da Eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) sobre *Boophilus microplus*. **Arq. Inst. Biol.** São Paulo; v.71, n.4, p. 443-50, 2004.

PONTE, J. J. **Cartilha demanipueir, uso do composto como insumo agrícola.** Fortaleza: SECITECE, 1999, p.53.

PORTARIA n.90 de 04 de dez. de 1989. Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários [Ministério da Agricultura]. sec.1, col.2. Diário Oficial, 22 jan. 1990.

RIBEIRO, F.A.; FERNANDES, J.I.; CORREIA, T.R. et al. Eficácia "in vitro" de diferentes acaricidas no controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e simpósio latino-americano de riquetsioses**, 14., 2006, Ribeirão Preto. *Anais* Ribeirão Preto: [s.n.], 2006. p.225. (Resumo).

SANT'ANNA, F.B. et al Eficácia do piretróide sintético alfametrina no controle de *Rhipicephalus sanguineus* em cães. **Parasitologia Latinoamericana** v.57, p.30-33, 2002.

SHIMADA, Y.; BEPPU, T.; INOKUMA, H.; OKUDA, M.; ONISHI, T. Ixodid tick species recovered from domestic dogs in Japan. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 17, n. 1, p. 38-45, 2003.

SILVA, F.F.; SOARES, M.C.S.C.; ALVES, L.C.; LIMA, M.M.; SILVA.; FAUSTINO, M.A.G.; Aplicação comparativa da eficácia de fitoterápicos e produtos químicos carrapaticidas no controle de *Boophilus microplus* meio do biocarrapaticidograma. **Medicina Veterinária**, Recife, v.02, n. 03, p. 1-8, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: de planta ao medicamento.** 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/Editora da UFSC, 2004, p. 65-67.

SZABÓ, M.P.J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.25, p.909-16, 2001.

VALENTE, M.; BARRANCO, A.; SELLAIVE-VILLAROEL, A.B. Eficácia do extrato aquoso de *Azadiracta indica* no controle de *Boophilus microplus* em bovino. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, p.1341-43, 2007.

Avaliação da Atividade Antimicrobiana da *Lippia sidoides* Cham sobre *Staphylococcus* spp. isolados de cultura de pele de cães acometidos de dermatopatias.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham sobre amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de cães com dermatites multifatoriais. As amostras foram obtidas por meio de coletas com swabs estéreis de lesões cutâneas originadas de caninos domiciliados em abrigo localizado no município de Igarassu-PE. Inicialmente foi realizado o isolamento bacteriano por meio do plaqueamento em Ágar base acrescido de sangue ovino a 5% e posteriormente procedeu-se à técnica de coloração de Gram para a identificação dos microrganismos, após a identificação os isolados de *Staphylococcus* spp. foram submetidos a determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC). Das 40 amostras analisadas foi verificado crescimento bacteriano em nove amostras, sendo isolado o gênero bacteriano *Staphylococcus* spp. quanto a MIC observou-se inibição do crescimento bacteriano significativa na concentração de 5%. Conclui-se que o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham na concentração de 5% possui atividade antimicrobiana frente a isolados de *Staphylococcus* spp.

Palavras-chaves: dermatite, fitoterapia, MIC

ABSTRACT

Evaluation of Antimicrobial Activity of *Lippia sidoides* Cham on *Staphylococcus* spp. isolated from culture of skin of dogs suffering from dermatopathies.

The objective of this study to evaluate the antimicrobial activity of essential oil of *Lippia sidoides* Cham on samples of *Staphylococcus* spp. isolated from dogs with dermatitis multifactorial. The samples were obtained from sterile swabs from skin lesions originated of dogs resident in a shelter in the city of Igarassu-PE. Initially bacterial isolation was performed by plating on agar base supplemented with 5% sheep blood and then proceeded to the Gram staining technique for the identification of

microorganisms, after the identification the isolates of *Staphylococcus* spp. underwent determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Of the 40 samples analyzed bacterial growth was observed in nine samples, being isolated the bacterial genus *Staphylococcus* spp. and in the MIC was observed significant inhibition of bacterial growth at a concentration of 5%. It is concluded that the essential oil of *Lippia sidoides* Cham at a concentration of 5% has antimicrobial activity against *Staphylococcus* spp.

Keywords: dermatitis, phytotherapy, MIC

INTRODUÇÃO

As lesões de pele por ectoparasitos vêm comumente associadas a processos infecciosos secundários decorrentes da infiltração no tecido tegumentar por microrganismos patogênicos que em geral são comensais da pele. Estes mesmos agentes quando não tratados podem progredir para processos infecciosos severos inclusive septicemia.

Estima-se que de 20 a 75% dos atendimentos na clínica de pequenos animais sejam decorrentes de dermatopatias (SCOTT e PARADIS, 1990). Pesquisa realizada no Japão revelou que as desordens de pele mais comuns em cães são as infecções e as doenças alérgicas como a dermatite alérgica a picada de pulga, as piodermites e as dermatites atópica e seborréica (NAGATA e SAGAI, 1999).

Entre os agentes mais comumente relacionados às infecções de pele em pequenos animais destaca-se o grupo do *Staphylococcus* spp., especialmente o *Staphylococcus pseudo intermedius* e *S. aureus* (KEMPKER et al., 2009). Essas infecções cutâneas podem ser classificadas como primárias ou secundárias. Processos mórbidos subjacentes podem alterar a pele diretamente em decorrência de traumatismo local, de irritantes ou do ato de coçar por causa de doença cutânea parasitária ou pruriginosa (ETTINGER e FELDMAN, 2004).

O tratamento da dermatopatias bacterianas piogênicas consiste basicamente na utilização de antimicrobianos que, na maioria das vezes, se faz de forma empírica, sem o resultado de cultura bacteriana e o apoio de testes de susceptibilidade e de concentração adequada, contribuindo para o aparecimento de cepas cada vez mais resistentes (BARBOSA et al., 2011). Tal situação vem despertando o interesse dos

cientistas na busca de novas drogas. As plantas são uma excelente fonte de busca de novas substâncias antimicrobianas, tendo em vista que a diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese química (NOVAIS et al., 2003).

Lippia sidoides Cham., planta da família Verbenaceae popularmente conhecida como alecrim pimenta, é um arbusto nativo da Caatinga, região do Nordeste do Brasil. Seu óleo essencial é rico em timol e carvacrol o que lhe confere forte atividade antimicrobiana e antisséptica (MACAMBIRA et al., 1986). As folhas da *Lippia sidoides* Cham. são geralmente utilizadas para tratamento de acne, ferimentos, infecções da pele e do couro cabeludo. Sua infusão tem sido usada popularmente em inalações, rinite alérgica e no tratamento das infecções vaginais, da boca e da garganta (MATOS e OLIVEIRA, 1998).

O óleo essencial desta planta mostra forte atividade sobre os microrganismos que vivem na pele dos pés e especialmente sobre o *Corynebacterium xerosis*, bactéria responsável pelo odor característico das axilas no homem; apresenta também ação contra *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium smegmatis* e os fungos *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus flavus* (COSTA, 2001).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidoides* Cham sobre amostras de *Staphylococcus* spp., isoladas de cães acometidos de dermatopatias piogênicas domiciliados em abrigo de animais.

MATERIAL E MÉTODOS

A presente pesquisa foi encaminhada a Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFRPE recebendo licença nº 018/2011 13930/2011 D09.

Extração do óleo de *L. sidoides*

Para a extração do óleo foram utilizadas folhas de *L. sidoides* Cham provenientes da região do Semi-árido pernambucano (8° 25'00''Sul e 37° 03'15''Oeste). A planta foi coletada na zona rural do município de Venturosa (sítio Mulungu), sendo acondicionada e transportada para o Laboratório de Bioativos do Departamento de

Medicina Veterinária (DMV) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A *L. sidoides* foi desfolhada, selecionada e depois distribuídas sobre uma superfície lisa coberta com papel tipo madeira em temperatura ambiente por um período de 24h. Após esse tempo foram acondicionadas e transportadas para o Laboratório de Produtos Naturais e Bioativos do Departamento de Química da UFRPE. As folhas foram pesadas em balança analítica, em alíquotas de 250g, trituradas em liquidificador industrial e depois adicionadas a elas água destilada em quantidade suficiente para permitir a trituração. Foram depositadas em balões volumétricos de 5L e colocadas no aparelho de destilação modelo Clevenger modificado. Depois do 1º gotejamento marcou-se o tempo médio de duas horas para extração total do óleo.

O teor de óleos essenciais da *Lippia sidoides Cham* foi determinado por arraste a vapor d'água, em aparelho de Clevenger modificado (OLIVEIRA et al., 2005). A análise quantitativa do teor de timol foi realizada a partir do método extração por Cromatografia gasosa. A *L. sidoides Cham* foi identificada e tombada no Herbário IPA-PE sob nº 82505 pela botânica Olívia Cano, funcionária da mesma instituição.

Animais

Foram selecionados, aleatoriamente, 20 cães de ambos os sexos e diferentes idades portadores de lesões cutâneas, provenientes de um abrigo para pequenos animais localizado na cidade de Igarassú-PE, Os animais foram divididos em dois grupo; o primeiro (G1) recebeu banhos semanais num período de 9 semanas com shampoo a base de *Lippia sidoides* a 5% já o segundo (G2) recebeu banhos semanais com shampoo neutro.

Análises bacteriológicas

Antes de cada banho foram coletadas amostras, através de esfregaços na pele com *swabs* estéreis, em áreas onde se observou lesões indicativas de dermatite piogênica, totalizando 40 amostras para o isolamento bacteriano. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Doenças Infecto-contagiosas dos Animais Domésticos, do DMV/UFRPE. O isolamento bacteriano foi realizado através de plaqueamento em Ágar base acrescido de sangue ovino a 5% e posteriormente, as placas foram semeadas e incubadas a 37° C por 24/48h. Decorrido este período, realizou-se a leitura para

verificação de colônias e posteriormente, foi realizada a técnica de coloração de Gram para determinação da morfologia dos agentes bacterianos (CARTER, 1998).

Concentração Inibitória Mínima

Após a identificação, os isolados de *Staphylococcus* spp. foram submetidos a determinação da Concentração Inibitória Mínima (MIC) utilizando o método de macrodiluição em caldo Müeller-Hinton (NCCLS, 1997). Determinou-se a CIM do óleo de *Lippia sidoides* a 10 % e tween 20 como dispersante seguindo diluições seriadas em seis tubos contendo caldo Mueller Hinton (MH), realizadas em triplicata e utilizando controles positivos (tubo com o caldo mais bactéria) (RESCHKE et al., 2007). Foram adicionados 100 µl da suspensão de *Lippia sidoides* a 10 % aos primeiros tubos (2 mL) de cada série e posteriormente realizada diluições seriadas (1 mL), desprezando-se no final 1 mL do último tubo; com essas diluições foi possível avaliar a ação inibitória do óleo nas seguintes concentrações: 10%, 5%, 2,5%, 1,25% e 0,625%. Foram adicionados 100µl da suspensão bacteriana aos tubos de caldo MH contendo *Lippia sidoides* a 10% e nos tubos controle, posteriormente incubados a 37 °C por 24 h. Em seguida, a atividade antibacteriana foi avaliada pela turvação (SOUZA, 2007), semeados em ágar nutriente, e incubadas nas mesmas condições acima citada. A CIM foi determinada pela presença ou ausência de crescimento (ANTUNES et al., 2006).

Análise estatística

Para verificar a presença/ausência do crescimento bacteriano de acordo com a concentração, realizou-se um teste estatístico para saber se a presença da bactéria é significativa em diferentes níveis de concentração. Para tanto, foi utilizado o teste de Qui-quadrado considerando um nível de significância de 5%. O Software utilizado correspondeu ao R 2.11 e Excel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise quantitativa do óleo essencial da *L. sidoides* Cham através da cromatografia gasosa (Figura 1) revelou uma concentração de timol de 60,50%, carvacrol 4%, ambos caracterizados como fenóis, e outros elementos como p- cimeno, y- terpineno, acetato de verbanol 3,27%, prezizaeno 4,05% e Cis-Acetato e Carvil

3,25%. O timol tem sido reconhecido como o composto ativo relacionado com a propriedade antibacteriana e antifúngica de óleo *L. sidoides* essencial (MATOS e OLIVEIRA, 1998).

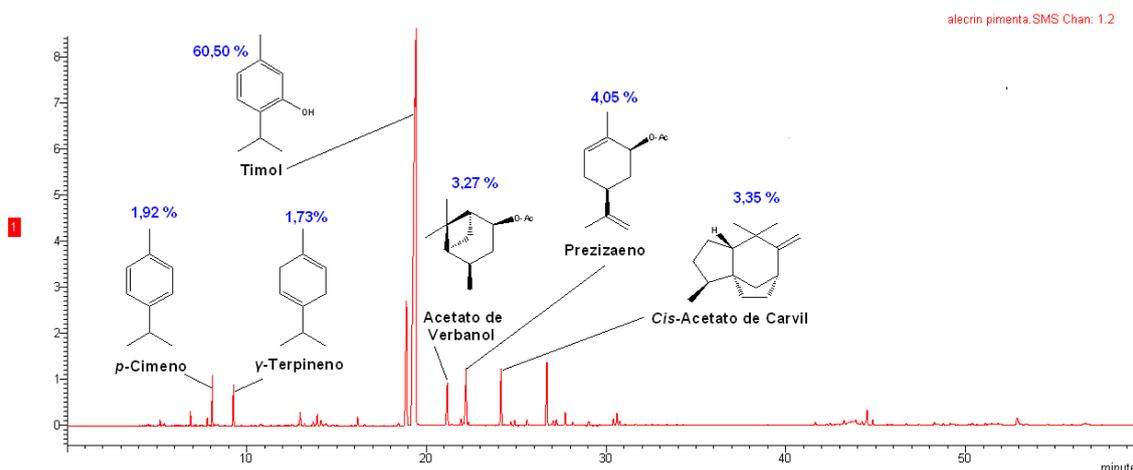


Figura 1: Perfil químico (CG-EM) do óleo essencial da *L. sidoides* Cham

Neste experimento foi avaliada a atividade do óleo essencial da *L. sidoides* (LSEO) sem a separação dos princípios químicos presentes no óleo, sendo realizado apenas o isolamento para determinação da concentração de cada elemento frente a amostra do Agreste Pernambucano, mas Botelho et al. (2007) ao testarem isoladamente o óleo essencial e os dois principais componentes químicos fenóis afirmaram que os elementos puros, timol e carvacrol, foram mais ativos, com valores de MIC de 2,5 a 5,0 mg/mL, quando comparados com o óleo essencial de *L. sidoides* (MIC = 5-10 mg/mL), mostrando assim um efeito significativo contra bactérias cariogênicas e que as zonas de inibição determinada pelo óleo essencial de *L. sidoides*, timol e carvacrol foram dependentes da concentração de todas as estirpes. Esta última afirmação está em parte de acordo com os resultados aqui encontrados, pois em algumas de cepas isoladas a reação foi dose dependente, porém em uma única amostra todas as concentrações foram ineficientes.

Das 40 amostras analisadas foi verificado crescimento bacteriano em nove amostras. Os resultados por grupo e coleta encontram-se distribuídos na tabela 1.

Tabela 2 – Presença de *Staphylococcus sp* em amostras de pele de cães com dermatopatias.

Medida	1ª Coleta	2ª Coleta	Valor p
<i>Staphylococcus</i> – grupo 1	3	2	0,6
<i>Staphylococcus</i> – grupo 2	1	3	0,26

A eficácia do óleo essencial da *L. sidoides* neste estudo demonstra-se eficaz mesmo em amostras estudadas e isoladas de cães (Quadro1) com dermatites e os resultados estão em acordo com os resultados obtidos Silva et al. (2009) que ao analisarem amostras de fontes diferentes, os referidos autores revelaram que o extrato da *Lippia sidoides* Cham possui um potencial antimicrobiano contra os *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite em bovinos na diluição 1/8 obtendo ação de 30%.

Quadro 1- Avaliação de Crescimento bacteriano coletados e pele de cães.

Animal	1ª coleta	2ª coleta
A1g1	<i>Staphylococcus spp.</i>	-
A3g1	-	<i>Staphylococcus spp.</i>
A4g2	-	<i>Staphylococcu spp.</i>
A5g2		<i>Staphylococcus spp.</i>
A6g2	-	-
A7g1	-	-
A8g2	<i>Staphylococcus spp.</i> e cocos Gram-	-
A9g1	-	-
A10g2	-	-
A11g1	-	<i>Staphylococcus spp.</i>
A12g1	-	-
A13g1	<i>Staphylococcus spp.</i>	-
A14g2	-	-
A16g1	-	-
A17g1	<i>Staphylococcus spp.</i>	-
A19g2	-	-
A 21g2		

A 22g2		<i>Staphylococcus</i> spp.
A 24g1		
A 25g1		

Pelo quadro acima, percebe-se que houve uma redução na presença da bactéria no grupo 1, enquanto que o aumento da mesma para o grupo dois foi ligeiramente mais significativo. Ou seja, o tratamento não permitiu a proliferação da bactéria nos animais tratados no grupo 1, enquanto que o controle negativo nada pôde fazer para evitar essa proliferação no grupo 2.

Quanto ao teste *in vitro* para determinar a MIC da *L. sidoides* Cham os resultados encontram-se distribuídas na tabela 2.

Tabela 2 – Análise de crescimento bacteriano *S. sp.* frente ao óleo de *L. sidoides* Cham em diversas diluições.

Concentração	Presença	Ausência	Redução	
			percentual	Valor p
10%	1	9	90%	0,01*
5%	2	8	80%	0,05*
2,5%	3	7	70%	0,2
1,25%	4	6	60%	0,5
0,625%	4	6	60%	0,5
C	10	0		---

* nível de significância: 5%

Pela (Tabela 2), percebe-se que a partir de 5% de concentração, a ausência da bactéria é significativa. Para as demais concentrações, não houve diferença significativa entre a presença/ausência de bactérias. Percebe-se ainda que quanto maior a concentração maior a redução, obtendo-se uma redução máxima de 90% (concentração de 10%) e uma redução mínima de 60% (concentração de 0,625%). Tais resultados corroboram os encontrados por Oliveira et al. (2006) que comprovaram o efeito bacteriostático do óleo essencial de *L. sidoides* Cham, através do MIC em cepas de *S. aureus* isoladas de material clínico de pacientes humanos no estado da Paraíba, Brasil. Já Botelho et al., (2007) estudaram a atividade antimicrobiana da *L. sidoides* Cham frente a cepas de *Streptococcus mutans*, *mitis*, *salivarius*, *sanguis* e *Candida albicans*,

segundo os autores seu óleo essencial, nas concentrações de 2,5 e 5%, possui atividade antibacteriana contra o *S. mutans*.

Vale ressaltar que apenas a cepa Ag11g1 apresentou crescimento bacteriano para todas as concentrações testadas em todas as repetições, o que pode demonstrar o aparecimento uma cepa resistente ao óleo essencial da *L. sidoides* Cham necessitando de novos estudos para melhor avaliar a ação sobre esta amostra.

A atividade antimicrobiana da *L. sidoides* a 5% também está em acordo com vários outros estudos frente a diferentes microrganismos patógenos (por exemplo, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *Streptococcus* spp. *Trichosporon* spp.) (PONTES, 2002; COSTA et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2006).

CONCLUSÃO

Conclui-se que o óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham na concentração de 5% possui atividade antimicrobiana frente a isolados de *Staphylococcus* spp.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, R. M. P. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.16(4), p.517-24, 2006.

BARBOSA, D. C.; SANTOS, L. L.; WARTH, J. F.; SOUZA, C.; FARIAS, M. R.; MONTIANI-FERREIRA, F. Dermatopatias piogênicas em cães de abrigo e padrões de sensibilidade aos antimicrobianos *in vitro* de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*. **Cínica Veterinária**. n. 93, p. 72-78, 2011.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M. et al. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, p. 349-56, 2007.

CARTER, C.G. **Fundamentos da microbiologia e micologia veterinária**. ed. Rocca – São Paulo, 1998.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C. et al . Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Rev Bras Farmacogn** v. 15, p. 304-09. 2005.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ª. Edição. Editora Guanabara Koogan, v.1, 2004, p. 374-75.

KEMPKER, R. M. D.; MANGALAT, D. M. D.; KONGPHET-TRAN, T. M.S.; EATON, M. M. D. Beware of the pet dog: A case of *Staphylococcus intermedius* infecção. **American Journal of the Medical Science**, v. 338, p. 425-27, 2009.

MACAMBIRA, L. M. A.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. A.; CRAVEIRO, A. A. Naphtoquinoids from *Lippia sidoides*. **Journal of Natural Products**, v.49, p.310-12, 1986.

MATOS, F. J. A.; OLIVEIRA, F. *Lippia sidoides* Cham. – Farmacognosia, química e farmacologia. **Rev Bras Farmcogn** v. 79, p. 84-87, 1998.

NAGATA, M.; SAKAI, T. Clinical survey of canine dermatosis in Japan. **Japanese Journal of Veterinary Medical Association**. V. 52, p.775-79, 1999.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) 1997. Reference Method For Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts; Approved Standard. Villanova, **NCCLS**, v.17, p. 28. M27- A.

NOVAIS T. S, COSTA J. F. O.; DAVID J. P. L.; DAVID J. M.; QUEIROZ L. P.; FRANÇA F.; GIULIETTI A. M.; SOARES M. B. P.; SANTOS R. R. Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Rev Bras Farmacogn**. v.13(Supl. 2) p.5-8. 2003

OLIVEIRA, F. P.; LIMA, E. O.; SIQUEIRA JÚNIOR, et al. Effectiveness of *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae) essential oil in inhibiting the growth of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical material. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, n.4, p. 510-16, 2006.

PONTES, Z. B. V. S. **Atividade antifúngica de produtos naturais e sintéticos sobre espécies de *Tr. ichosporon* Behrend**. 2002. 173f. Tese de Doutorado - Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2002.

RESCHKE, A.; MARQUES, L. M.; MAYWORM, M. A. S. Atividade antibacteriana e *Ficus benjamina* L. (Moraceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.2, p.67-70, 2007.

SCOTT, D. W.; PARADIS, M. A survey of canine and feline skin disorders seen in a university practice: Small Animal Clinic, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, Quebec (1987-1 988). **Can Vet J.** v. 31, p. 830-35, 1990.

SILVA, V. A.; FREITAS, PEREIRA, M. S. Avaliação da atividade antimicrobiana “*in vitro*” da *Lippia sidoides* sobre *S. aureus* de origem bovina. **ACSA – Agropecuária Científica no Semi-árido** . v. 05, p. 52-56, 2009.

SOUZA, T. M. de, **Estudo farmacognóstico e avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de preparações cosméticas contendo o extrato de folhas de *Myrciaria cauliflora* O. Berg. (Myrtaceae) e de casca de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Leguminosae-Mimosoidae)**. 2007. 171f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. Araraquara, 2007.