

Avaliação da atividade carrapaticida do óleo essencial de *Melaleuca armillaris* sobre carrapatos

Assessment of the acaricidal activity of Melaleuca armillaris essential oil on ticks

Maisa Vilas Boas Silva^{1*}, André de Souza e Silva², José Dias da Silva Neto³, Adriana Rodrigues dos Anjos Mendonça⁴

¹*Bióloga, Universidade do Vale do Sapucaí (UNIVÁS), Pós-graduada em Zoologia, Faculdade Metropolitana;* ²*Médico Veterinário, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Mestre em Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Sapucaí (UNIVÁS);* ³*Cirurgião Dentista, Instituto Superior de Ciências Letras e Artes de Três Corações (UNINCOR), Mestre, Endodontia, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), Doutor em Cirurgia Translocional, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP);* ⁴*Bióloga, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Mestre em Análises Clínicas, Hematologia, Universidade de São Paulo (USP), Doutora em Hematologia, Universidade Federal de São Paulo (USP)*

Resumo

Introdução: Carrapatos são causadores de lesões de pele e importantes vetores na transmissão de doenças infecciosas a animais e humanos. Seu controle tem sido dificultado pela resistência aos carrapaticidas sintéticos. **Objetivo:** desenvolver uma formulação à base de *Melaleuca armillaris* e avaliar sua ação carrapaticida *in vitro*. **Metodologia:** das folhas de *Melaleuca armillaris*, foram extraídos o óleo essencial e o hidrolato. Foram coletados carrapatos de bovinos, utilizando-se a técnica de rotação manual anti-horária, que foram colocados em tubo de ensaio. Foram realizados quatro ensaios. No primeiro, avaliou-se a ação carrapaticida do óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, quando aplicado direta e indiretamente. No segundo ensaio, comparou-se a ação carrapaticida do óleo essencial e hidrolato de *Melaleuca armillaris*, pelas técnicas de imersão e aspersão. Já no terceiro ensaio, foram desenvolvidas duas formulações à base de óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, testadas pela técnica de imersão dos carrapatos. No quarto ensaio, verificou-se se a glicerina que compõe os produtos possuía ação carrapaticida. **Resultados:** foi observado que o óleo essencial de *Melaleuca armillaris* possui ação carrapaticida quando aplicado diretamente sobre os carrapatos. O hidrolato, independentemente de ser aplicado por aspersão ou imersão, não possui ação carrapaticida. Os produtos à base de *Melaleuca armillaris* possuem ação carrapaticida após 72 horas de aplicação, por imersão *in vitro* ($p=0,000$). **Conclusão:** foram desenvolvidas duas formulações à base de óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, com ação carrapaticida *in vitro*.

Palavras-chave: Infestações por carrapato; Acaricidas; Fitoterapia; Melaleuca; Óleos voláteis.

Abstract

Introduction: Ticks cause skin lesions and are important vectors in the transmission of infectious diseases to animals and humans. Its control has been hampered by resistance to synthetic ticks. **Objective:** to develop a formulation based on *Melaleuca armillaris* and evaluate its acaricidal action *in vitro*. **Methods:** the essential oil and hydrolate were extracted from the leaves of *Melaleuca armillaris*. Bovine ticks were collected using the counterclockwise manual rotation technique and placed in a test tube. In the second test, the acaricidal action of the essential oil and *Melaleuca armillaris* hydrolate was compared, using the immersion and sprinkling techniques. In the third trial, two formulations based on the essential oil of *Melaleuca armillaris* were developed, tested using the tick immersion technique. In the fourth test, glycerin was evaluated, which makes up the products, which had an acaricidal action. **Results:** it was observed that the essential oil of *Melaleuca armillaris* has an acaricide action when applied directly on ticks; the hydrolate, regardless of whether applied by spraying or immersion, does not have acaricide action. Products based on *Melaleuca armillaris* have acaricide action after 72 hours of application, by immersion *in vitro* ($p=0.000$). **Conclusion:** two formulations based on the essential oil of *Melaleuca armillaris*, with *in vitro* acaricidal action, were developed.

Key words: Tick infestations; Acaricides; Phytotherapy; Melaleuca; Oils volatile.

INTRODUÇÃO

Carrapatos são ectoparasitas hematófagos de animais vertebrados, e, em sua fase de vida livre, podem ser encontrados em áreas de arbustos, árvores ou gramíneas¹. Pertencem ao filo *Arthropoda* e à ordem *Ixodida*.

Existem aproximadamente 956 espécies de carrapatos descritas no mundo, distribuídas nas famílias *Ixodidae*, *Argasidae* e *Nuttalliellidae*. No Brasil, são descritas 70 espécies, algumas, importantes para a saúde pública e veterinária, como *Rhipicephalus sp.* e *Amblyomma sp.*².

Há diferentes fases de desenvolvimento na vida desses ectoparasitas: larva, ninfa e adulto². O ciclo biológico dos carrapatos da família *Ixodidae* se inicia pela deposição de grande massa de ovos no solo pela

Correspondente/Correspondin *Maisa Vilas Boas Silva – End: Rua Antônio Scodeler, número 711, Bloco 5, apartamento 501, Bairro Faisqueira, Pouso Alegre, MG. CEP 37555-100. – E-mail: maisavilas@outlook.com

fêmea após a cópula no hospedeiro. Então, as larvas eclodem e têm um período de adaptação de cinco a seis dias. Elas ficam à espera do hospedeiro, e, depois de se fixarem, se alimentarem neles, tornam-se ninfas e chegam à fase adulta, no solo ou no hospedeiro. As fêmeas morrem após terem encontrado lugar protegido para fazer a oviposição, e os machos podem permanecer no hospedeiro por quatro meses ou mais³.

Os carrapatos, ao se fixarem à pele do hospedeiro para ingerir sangue ou fluidos de tecidos, causam lesões teciduais. O hipostômio, estrutura de fixação, é utilizado como âncora para que o carrapato se fixe, e seu aparelho bucal penetre na pele do hospedeiro, causando lacerações de tecidos e de vasos sanguíneos⁴. Então, o carrapato ingere sangue e outros líquidos tissulares do hospedeiro e regurgita saliva, inoculando o micro-organismo no hospedeiro. Além disso, a saliva contribui para a fixação do carrapato ao hospedeiro⁵.

Eles são considerados importantes vetores na transmissão de doenças infecciosas que afetam os animais e o homem, podendo causar prejuízo na atividade pecuária, aumento de morbidade e mortalidade em pequenos animais e seres humanos¹, importantes motivos a serem analisados, por estarem intimamente relacionados⁶.

Dentre os patógenos transmitidos através de carrapatos estão alguns vírus, bactérias, protozoários e helmintos^{6,7}, que atuam como vetores, transmitindo a humanos, doenças como anaplasmoze, babesiose e febre maculosa⁸.

A febre maculosa brasileira foi relatada pela primeira vez no Instituto Bacteriológico de São Paulo, por Adolpho Lutz, em 1900, e somente a partir do ano de 1937 recebeu essa denominação⁹. A transmissão ocorre pela picada do carrapato infectado com *Rickettsia rickettsi*, e essa bactéria se dissemina, através de vasos linfáticos e sanguíneos, para o tecido endotelial de cérebro, pulmões, coração, fígado, baço, pâncreas e trato gastrointestinal, ocasionando lesões teciduais. O tempo de incubação da FMB varia entre cinco a quatorze dias, sendo caracterizada por estado febril, cefaleia, vômito, dor abdominal e exantema, sendo considerado o maior indicador de diagnóstico¹⁰.

Há diversas estratégias para controle de carrapatos, sendo que os carrapaticidas químicos são os mais utilizados. Dentre eles, há os de contato, que são aplicados por meio de pulverização, imersão e *pour on* (aplicação no dorso do animal), e atuam sobre o sistema nervoso central dos carrapatos, bloqueando os impulsos nervosos. Porém esses artrópodes podem manifestar recursos para sobreviver, resultando na resistência a esses produtos¹¹.

O uso constante de carrapaticidas sintéticos, resultou em carrapatos com resistência às principais classes de acaricidas. Além disso, a resistência a carrapaticidas sintéticos leva ao aumento na frequência de aplicação do acaricida. Tal situação pode causar sua presença em produtos animais, como leite e carne¹², constituindo um

grande problema para a pecuária, em regiões tropicais e subtropicais no planeta, devido às perdas econômicas¹³.

Nesse contexto, o uso de plantas medicinais com ação carrapaticida tem despertado interesse de vários pesquisadores para reduzir os casos de agressão ao meio ambiente e resistência ao princípio ativo sintético^{14,15}. O Brasil é o país que lidera as publicações sobre acaricidas e repelentes botânicos contra carrapatos¹⁴, porém, até o momento, não há estudos sobre efeito carrapaticida da *Melaleuca armillaris*.

A *Melaleuca armillaris* pertence à família *Myrtaceae* e tem ampla distribuição mundial. O principal constituinte do óleo essencial de *Melaleuca armillaris* é 1,8 Cineol, seguido de Terpene-4-ol, com ações antimicrobiana, antioxidante e anti-histamínica^{16,17}. Apresenta atributos positivos, como matéria-prima acessível, consistência líquida, sendo considerada de fácil manuseio e aroma agradável (eucaliptol)¹⁸. A maioria dos estudos utilizando o gênero *Melaleuca* foram realizados com a espécie *Melaleuca alternifolia*, que demonstra também efeito antimicrobiano¹⁹ e é utilizada em soluções farmacológicas de uso tópico, além de ser considerada como a principal base comercial do óleo essencial denominado popularmente como óleo de melaleuca²⁰.

Nesse cenário, ciente de que os carrapatos, através de suas picadas, são importantes vetores de microrganismos causadores de doenças, e que seu controle tem sido dificultado pela resistência de populações aos acaricidas sintéticos, torna-se de extrema importância, o desenvolvimento de agentes carrapaticidas com princípio ativo natural e de eficácia comprovada. O objetivo deste experimento foi desenvolver uma formulação à base de *Melaleuca armillaris* e avaliar sua ação carrapaticida, *in vitro*.

METODOLOGIA

Obtenção do óleo essencial e do hidrolato de *Melaleuca armillaris*

A coleta de galhos e folhas de *Melaleuca armillaris* foi realizada no viveiro do Laboratório de Botânica da Universidade do Vale do Sapucaí, localizado na cidade de Pouso Alegre, Minas Gerais, Brasil (latitude 22°13'06.17"S; longitude 45°55'37.36"W; altitude: 895 m), com registro de tombo no herbário (UNIVAS-003). Após a coleta, os galhos e folhas foram distribuídos em tabuleiros e postos para secar à sombra, com temperatura ambiente e baixa umidade relativa, até o ponto de as folhas se soltarem naturalmente dos galhos. As folhas foram, então, selecionadas e utilizadas para a extração de óleo e hidrolato.

As folhas de *Melaleuca armillaris* foram trituradas e submetidas à extração por hidrodestilação, utilizando-se autoclave 2549 Greco e condensador (Figura 1). A autoclave arrasta o vapor e o óleo até o condensador, que é circundado por uma lâmina de água que faz os

compostos saírem do estado gasoso e migrarem para o estado líquido. Os líquidos que não são solúveis entre si formam duas fases, e o óleo, por apresentar densidade menor, fica na parte superior. Por essa técnica, foram obtidos o óleo essencial e um segundo produto, denominado de hidrolato, que é uma substância líquida que contém os constituintes mais solúveis do óleo essencial.

Figura 1 – Aparato utilizado para o processo de hidrodestilação, composto por uma autoclave modelo 2549 Greco acoplada a um condensador



Fonte: autoria própria.

Coleta dos carrapatos

A coleta dos carrapatos ocorreu em três momentos distintos: a primeira e a segunda coletas foram realizadas em uma propriedade rural, na localidade do bairro Cachoeirinha, situada no município de Cachoeira de Minas (MG). Os animais da propriedade eram bovinos com aptidão leiteira. A primeira coleta foi realizada no mês de agosto de 2019, e os carrapatos foram destinados ao estudo inicial da ação do óleo essencial de *Melaleuca armillaris* (projeto-piloto 1). A segunda coleta foi realizada no mês de setembro de 2019, e os carrapatos foram destinados à avaliação comparativa do óleo essencial e do hidrolato de *Melaleuca armillaris* (projeto-piloto 2).

A terceira coleta de carrapatos foi realizada em junho de 2020, em fêmeas bovinas adultas com aptidão para corte, da raça *Aberdeen Angus*, da propriedade rural denominada Casa Branca Agropastoril, localizada na zona rural do município de Silvianópolis (MG). Os carrapatos dessa coleta, foram destinados ao estudo da ação do produto à base de óleo essencial de *Melaleuca armillaris*. Para essa coleta, foi realizado o cálculo do tamanho da amostra, com base no resultado do projeto-piloto 1 e na eficácia de 95% necessária para carrapaticidas²¹, sendo

definido como 60 o número mínimo de carrapatos por grupo.

A técnica empregada para as três coletas de carrapatos, foi manual: por rotação anti-horária após inspeção visual no dorso dos animais²². Foram coletados carrapatos somente dos bovinos que apresentaram um período mínimo de 35 dias sem contato com produto utilizado em controle de carrapatos.

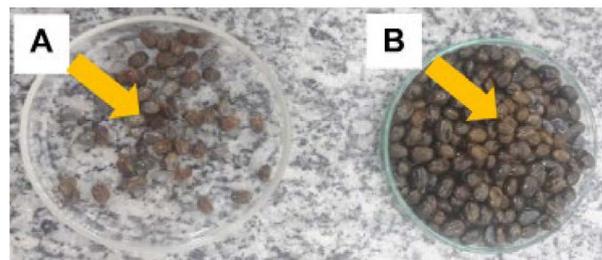
Os carrapatos foram acondicionados em frascos de vidro com tampa de rosca, juntamente com capim picado no frasco, a fim de manter grau de umidade e, assim, preservar por maior tempo a integridade dos carrapatos durante o transporte do local da coleta até o laboratório de fitoterapia.

Foram utilizadas somente fêmeas adultas (teleóginas) ingurgitadas, sendo que elas foram reconhecidas por seu tamanho. Os machos possuem tamanho reduzido em comparação com as fêmeas, devido ao fato de elas possuírem uma dilatação abdominal após a alimentação³. Os carrapatos foram verificados um a um, por meio de lupa estereoscópica, no laboratório de Fitoterapia da UNIVÁS. Os carrapatos que apresentaram lesões no aparelho bucal e nas patas foram descartados.

Avaliação *in vitro* da ação carrapaticida do óleo essencial de *Melaleuca armillaris* – projeto-piloto 1

Os carrapatos foram classificados e pesados em placas de Petri, utilizando-se balança semianalítica (Marte AD330), sendo considerados aptos para o estudo os que apresentaram peso superior a 0,100 gramas, e foram acondicionados individualmente em tubos de ensaio. A vedação dos tubos foi feita com gaze, a fim de manter o fluxo de oxigênio. Foram constituídos 2 grupos: 1 e 2. No grupo 1, foi administrada uma gota do óleo essencial diretamente sobre eles. Para os carrapatos do grupo 2, foi administrada uma gota do óleo essencial na gaze que fazia a vedação dos tubos. Após 72 horas da aplicação do óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, os carrapatos de ambos os grupos foram avaliados quanto à letalidade (número de carrapatos mortos, enrijecidos), com auxílio de uma lupa estereoscópica.

Figura 2 – Carrapatos após classificação em lupa estereoscópica: carrapatos inaptos para o estudo (A), carrapatos aptos para o estudo (B).



Fonte: autoria própria.

Avaliação comparativa da ação carrapaticida *in vitro* do hidrolato e óleo essencial de *Melaleuca armillaris* – projeto-piloto 2

Para o projeto-piloto 2, foram considerados aptos ao teste cerca de 70 gramas de carrapatos. Tal montante foi dividido em 5 placas de Petri, com a seguinte classificação: óleo essencial por imersão (P1), hidrolato por imersão (P2), óleo essencial por aspersão (P3), hidrolato por aspersão (P4) e grupo de controle (P5). Cada placa pesava cerca de 14 gramas, com carrapatos.

Após 24 horas de aplicação do óleo essencial e do hidrolato de *Melaleuca armillaris*, por imersão e aspersão, os carrapatos dos cinco grupos foram avaliados quanto à letalidade, com auxílio de lupa estereoscópica. A mesma avaliação foi realizada 9 dias após aplicação inicial.

Desenvolvimento de produto à base de *Melaleuca armillaris*

Em farmácia de manipulação magistral, foi solicitado o desenvolvimento de duas formulações à base de óleo essencial comercial de *Melaleuca armillaris* e glicerina (excipiente sem ação farmacológica) em diferentes concentrações: 1% e 2,5%. Todo o material utilizado para a formulação foi proveniente da farmácia de manipulação, seguindo as concentrações solicitadas para a preparação dos produtos.

Avaliação *in vitro* da ação carrapaticida de produto à base de óleo essencial de *Melaleuca armillaris*.

Foram coletadas 246 teleóginas; três teleóginas foram desclassificadas por apresentarem lesão no aparelho bucal e 59 foram desclassificadas por peso inferior a 0,100 gramas, restando 184 teleóginas aptas ao estudo.

Inicialmente, as teleóginas selecionadas, foram distribuídas em placas de Petri, de acordo com os grupos: controle (n=60), produto 1% (n=60) e produto 2,5% (n=64) (Figura 3). Os produtos à base de *Melaleuca armillaris*, de ambas concentrações, foram homogeneizados manualmente antes de sua aplicação sobre os carrapatos utilizados nos testes.

Houve avaliação quanto à letalidade nos seguintes momentos: após a aplicação dos produtos, uma hora, duas horas, três horas, quatro horas, cinco horas, seis horas, vinte e quatro horas e setenta e seis horas.

Posteriormente, as teleóginas do grupo de controle (n=60) foram submetidas a um segundo teste. Foram redistribuídas em quatro grupos, com 15 teleóginas cada: controle, glicerina, produto 1% e produto 2,5%. A avaliação quanto à letalidade foi realizada em 24 horas, 48 horas e 72 horas, após aplicação dos produtos.

Análise estatística

Os dados foram tabulados no *Microsoft Excel 2016* e submetidos à análise estatística. Foram utilizadas medidas de tendência central para variáveis quantitativas e

frequência absoluta e relativa para variáveis categóricas. Foi utilizado o programa *Minitab* versão 18.1 e *Statistical Package for the Social Sciences, inc. (SPSS)* Chicago, USA, versão 22.0. O nível de significância utilizado como critério de aceitação ou rejeição nos testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$).

A avaliação inicial dos dados foi realizada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov, que evidenciou que a distribuição dos dados era compatível com a normalidade. Diante disso, optou-se pela aplicação do teste pareado para a comparação das médias entre os grupos analisados.

Foram aplicados: Teste Qui-Quadrado, na comparação entre mais de dois grupos independentes com variáveis categóricas de dois níveis, com o objetivo de verificar a associação entre as respostas; o Teste Exato de Fisher, indicado para dois grupos independentes em situações com frequências reduzidas, também envolvendo variáveis categóricas de dois níveis; e o Teste Q de Cochran, empregado na análise de três ou mais grupos emparelhados, quando se busca identificar diferenças entre condições avaliadas repetidamente no mesmo grupo.

Figura 3 – Carrapatos distribuídos nos três grupos de estudo: P1 (controle), P2 (produto 1%) e P3 (produto 2,5%).



Fonte: autoria própria.

RESULTADOS

Para o projeto-piloto 1, as teleóginas foram submetidas a classificação e pesagem. Foram consideradas aptas ao estudo, aquelas sem lesão e com peso superior a 0,100 gramas (n=31 por grupo). Foi constatado que o óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, possui ação carrapaticida quando entra em contato direto com as teleóginas (grupo 1). Esse resultado foi observado, ao se realizar a contagem das teleóginas mortas no grupo 1 (n=31 teleóginas mortas, 100% de letalidade). Ao contrário, no grupo 2,

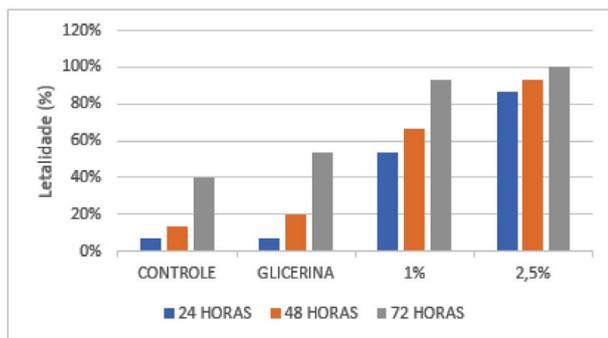
no qual o óleo essencial de *Melaleuca armillaris* não teve contato direto com as teleóginas, não houve morte (n=0 teleóginas mortas, não houve mortes).

No projeto piloto 2, as teleóginas foram distribuídas em 5 placas, que tiveram pesos equiparados. Constatou-se que o hidrolato de *Melaleuca armillaris* não foi eficaz quanto à ação carrapaticida (0% letalidade), tanto para aplicação através de imersão, quanto por aspersão. Já para o óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, verificou-se que tanto para as teleóginas submetidas à administração via imersão, quanto por aspersão, houve 100% de letalidade. As teleóginas do grupo de controle continuaram seu ciclo natural, e ocorreu ovopostura.

Para avaliar a ação carrapaticida do produto à base de óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, as teleóginas foram pesadas e divididas em três grupos: controle (60 teleóginas na ausência de produto), 1% (60 teleóginas na presença de produto na concentração de 1%), 2,5% (64 teleóginas na presença de produto na concentração de 2,5%). Em 72 horas, constatou-se letalidade de 100% das teleóginas do grupo 1% e do grupo 2,5% (p=0,000 *versus* grupo controle; Teste Qui-quadrado). Porém, não houve diferença estatística entre o grupo 1% e 2,5% (p=1,000; Teste de Fischer).

A glicerina se mostrou sem efeito carrapaticida, assim como o controle. Somente o produto a 2,5% após 72 horas, mostrou-se com eficácia carrapaticida de 100% (n=15 carrapatos por grupo) (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Letalidade de carrapatos no grupo de controle, glicerina, produto a 1% e produto a 2,5% nos tempos 24, 48 e 72 horas (n=15 carrapatos por grupo).



Fonte: autoria própria.

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi desenvolvido um carrapaticida à base de *Melaleuca armillaris*, que demonstrou efeito *in vitro* em carrapatos. É de grande importância a criação de novos carrapaticidas, devido ao aumento na incidência de lesões teciduais e doenças transmitidas a humanos e a animais por carrapatos²³.

As desvantagens no uso de acaricidas sintéticos incluem: aumento da resistência ao princípio ativo e

possibilidade de presença de resíduos de acaricida no ambiente e nos produtos de origem animal, trazendo riscos à saúde humana e ao ambiente²⁴. Dessa maneira, alternativas ao uso de carrapaticidas sintéticos vêm sendo buscadas para controlar os carrapatos, sem causar danos à saúde dos animais e perdas econômicas. Uma alternativa relevante é a utilização de carrapaticidas à base de fitoterápicos, a exemplo do produto desenvolvido neste trabalho.

Yim *et al.*²⁵ (2016) relatou que óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, possui ação repelente à larva do carrapato *Rhipicephalus microplus*. Porém, até o momento, a avaliação da espécie *Melaleuca armillaris* e seu potencial carrapaticida não havia sido realizada. Tal situação demonstra o ineditismo da presente pesquisa.

Para desenvolver o carrapaticida à base de *Melaleuca armillaris*, foi realizado, inicialmente, um projeto-piloto, com o objetivo de verificar se a aplicação direta do produto nos carrapatos teria resposta diferente da aplicação indireta (em gaze que vedava tubo de ensaio), sendo constatado que a aplicação direta do produto sobre os carrapatos foi eficaz e que a realizada de modo indireto não apresentou efeito carrapaticida.

O hidrolato de *Melaleuca armillaris* não exerceu efeito carrapaticida *in vitro*, independentemente da forma de aplicação (aspersão ou imersão). O hidrolato é um dos produtos obtidos na extração de óleo essencial de diferentes plantas. Estudos anteriores demonstram que os constituintes e os efeitos do hidrolato de plantas medicinais podem ser diferentes dos relativos ao óleo essencial²⁶⁻²⁸. Tais constatações explicam o resultado observado neste trabalho. Acredita-se que a substância ativa responsável pela ação carrapaticida observada esteja presente no óleo essencial de *Melaleuca armillaris* e ausente no hidrolato obtido dessa planta, visto que, quando testado o óleo essencial puro de *Melaleuca armillaris*, houve efeito carrapaticida *in vitro*.

A imersão dos carrapatos em óleo essencial puro de *Melaleuca armillaris* mostrou efeito carrapaticida semelhante ao da aplicação desse produto por aspersão. Dessa maneira, no presente estudo, foram testadas duas diluições do óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, aplicadas por imersão. Ao avaliar diversas publicações sobre carrapaticidas fitoterápicos, é possível verificar que o método mais utilizado para testar a ação carrapaticida de produtos naturais é através da prática por imersão²⁹.

A Portaria nº 88 de 6 de novembro de 2015 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que regulamenta todos os ensaios clínicos, *in vitro*, *in vivo*, parâmetros de eficácia, de duração e de período de carência de produtos antiparasitários, no capítulo 5, item 9.2, recomenda que os produtos antiparasitários classificados como carrapaticidas tenham eficácia de 95%²¹.

O produto desenvolvido no presente estudo demonstrou, em ambas as concentrações, a eficácia recomendada pelo MAPA, quando avaliado após 72 horas de aplicação. Em segundo momento, quando se avaliou a

ação carrapaticida da glicerina, também para os grupos do produto a 1% e 2,5%, observou-se que a concentração de 1% não atingiu eficácia de 100%, em 72 horas. Demonstra-se uma das limitações do estudo, pois, nesse teste, os carrapatos permaneceram *in vitro* por mais tempo que nos testes anteriores. Dessa maneira, esse teste foi utilizado para descartar a ação carrapaticida da glicerina, sendo que a ação carrapaticida do produto à base de óleo essencial de *Melaleuca armillaris* ocorreu com 1% e 2,5%, em 72 horas de aplicação.

No presente trabalho, não foi estudado o mecanismo de ação do óleo essencial da *Melaleuca armillaris* como carrapaticida. Os óleos essenciais geralmente não apresentam mecanismo de ação específico, devido à complexidade de sua composição³⁰. Porém, Nwanade, Yu, Liu³¹ (2020), ao avaliarem estudos de carrapaticidas à base de fitoterápicos, observou que muitos deles causam mudança de estrutura do carrapato, em glândula salivar e reprodutiva, de extrema importância para fixação e atividade do carrapato.

Apesar de não ter sido realizado estudo diretamente com o óleo essencial de *Melaleuca armillaris*, este estudo determinou que 1,8 cineol, principal componente desse óleo, apresentou efeito tóxico ao carrapato. Dessa maneira, acredita-se que o produto aqui desenvolvido, tenha efeito carrapaticida devido ao 1,8 cineol presente no óleo de *Melaleuca armillaris*.

O carrapaticida à base de *Melaleuca armillaris* pode ser considerado uma alternativa para a substituição dos carrapaticidas sintéticos, pois, entre as vantagens do uso de produtos naturais para essa finalidade, destacam-se a menor probabilidade de desenvolvimento de resistência, boa eficácia e o reduzido impacto ambiental^{32,33}. Além da possibilidade de reduzir também a presença de componentes sintéticos e tóxicos em produtos animais como carne e leite. O fator impactante do produto desenvolvido no presente estudo está vinculado à possibilidade de se apresentar em duas concentrações diferentes e custo menor que os produtos sintéticos disponíveis no mercado. Despontam perspectivas para futuros estudos *in vivo* em animais e humanos.

CONCLUSÃO

Foram desenvolvidas duas formulações à base de óleo essencial de *Melaleuca armillaris* com ação carrapaticida *in vitro*. Devido à resistência apresentada pelos carrapatos aos produtos convencionais disponíveis no mercado, o presente estudo apresenta uma perspectiva de utilização como alternativa aos carrapaticidas sintéticos.

REFERÊNCIAS

1. Cunha LG da. Tick attack: proposta de um modelo para o controle estratégico do carrapato [dissertação]. Bagé: Universidade Federal do Pampa; 2020.
2. Dantas-Torres F, Fernandes Martins T, Muñoz-Leal S, Onofrio VC, Barros-Battesti DM. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: updated species checklist and taxonomic keys. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019 Oct;10(6):101252. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.06.012
3. Martins IVF. Parasitologia veterinária [recurso eletrônico]. 2ª ed. Vitória: Editora da Universidade Federal do Espírito Santo; 2019. p. 65-9.
4. Barbosa YO. Biomoléculas com potencial farmacológico presente em saliva de carrapatos: uma revisão sistemática [dissertação]. Uberaba: Universidade Federal do Triângulo Mineiro; 2021. 54 p.
5. Geraldini DB. Aplicação metagenômica para detecção de viromas em carrapatos coletados de animais silvestres [dissertação]. São José do Rio Preto: Universidade Estadual Paulista; 2023. 35 p.
6. Springer A, Glass A, Probst J, Strube C. Tick-borne zoonoses and commonly used diagnostic methods in human and veterinary medicine. *Parasitol Res.* 2021;120(12):4075-90. doi:10.1007/s00436-020-07033-3
7. Benelli G. Pathogens manipulating tick behavior—through a glass, darkly. *Pathogens.* 2020;9(8):664. doi:10.3390/pathogens9080664
8. Rochlin I, Toledo A. Emerging tick-borne pathogens of public health importance: a mini-review. *J Med Microbiol.* 2020;69(6):781-91. doi:10.1099/jmm.0.001206
9. Spinola RM, Leite RM. Febre maculosa. BEPA, *Bol Epidemiol Paul.* 2023;20(220):1-13. (Série Histórica 2010 – 2021). doi: https://doi.org/10.57148/bepa.2022.v.19.37855
10. Scinachi CA. Avaliação da competência de cães domésticos como hospedeiros amplificadores da bactéria *Rickettsia rickettsii* para carrapatos *Amblyomma aureolatum* e modelagem espacial ecológica preditiva para ocorrência de febre maculosa brasileira no Estado de São Paulo [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2022. 38 p.
11. Koller WW, Higa L, Zimmermann NP, Oshiro LM, Andreotti R. Resistência dos carrapatos aos acaricidas. In: Andreotti R, Garcia MV, Koller WW, editores. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. Brasília (DF): Embrapa; 2019.
12. Raynal JT, Souza BC, Silva AB, Bahiense TC, Silva HC, Meyer R, et al. Resistência do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a acaricidas. *Rev Port Cienc Vet.* 2015;110(593-594):23-9.
13. Garcia MV, Rodrigues VS, Koller WW, Andreotti R. Biologia e importância do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. In: Andreotti R, Garcia MV, Koller WW, editores. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte; 2019. p. 17-28.
14. Nwanade CF, Wang M, Wang T, Yu Z, Liu J. Botanical acaricides and repellents in tick control: current status and future directions. *Exp Appl Acarol.* 2020;81(1):1-35. doi:10.1007/s10493-020-00489-z
15. Goode P, Ellse L, Wall R. Preventing tick attachment to dogs using essential oils. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9(4):921-6. doi:10.1016/j.ttbdis.2018.03.029
16. Buldain D, Buchamer AV, Marchetti ML, Aliverti F, Bandoni A, Mestorino N. Combination of cloxacillin and essential oil of *Melaleuca armillaris* as an alternative against *Staphylococcus aureus*. *Front Vet Sci.* 2018;5:177. doi:10.3389/fvets.2018.00177
17. Pauliello KE, Souza DMST, Mesquita Filho M, Teixeira MA, Mendonça AR dos A. Antihistaminic action of *Melaleuca armillaris* ointment. *J Med Plants Res.* 2019;13(10):236-41. doi: https://doi.org/10.5897/JMPR2019.6733
18. Marques EC, Souza DMST de, Vilela FF, Teixeira MA. Óleo essencial de *Melaleuca armillaris* redutor de odor em bolsas de estomia intestinal: estudo quase experimental. *Rev Esc Enferm USP.* 2022;56:e20210245.

19. Pires VC. Avaliação do potencial larvicida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* e sua formulação em nanocápsulas poliméricas [dissertação]. Salvador: Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz; 2019. 38 p.
20. Kong Q, Zhang L, An P, Qi J, Yu X, Lu J, et al. Antifungal mechanisms of α -terpineol and terpene-4-ol as the critical components of *Melaleuca alternifolia* oil in the inhibition of rot disease caused by *Aspergillus ochraceus* in postharvest grapes. *J Appl Microbiol.* 2019;126(4):1161-74. doi: 10.1111/jam.14193
21. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BR). Portaria nº 88 de 6 de novembro de 2015 e Projeto de Instrução Normativa aprovando Regulamento Técnico dos Produtos Antiparasitários de Uso Veterinário [Internet]. 2015 [citado 2019 out 14]. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/acao-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/2015-2017/consulta-publica-portaria-sda-no-88-2015-e-projeto-de-instrucao-normativa-aprovando-regulamento-tecnico-dos-produtos-antiparasitarios-de-uso-veterinario>
22. Gruhn KD, Ogrzewalska M, Rozental T, Farikoski IO, Blanco C, de Souza Freitas L, et al. Evaluation of rickettsial infection in free-range capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) (Rodentia: Caviidae) and ticks (Acari: Ixodidae) in the Western Amazon, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019;10(5):981-6. doi:10.1016/j.ttbdis.2019.04.007
23. Sousa AIP. Óleos essenciais e terpenos como estratégia de controle de carrapatos e nematoides [tese]. São Luís: Universidade Federal do Maranhão; 2022. 15 p.
24. Andreotti R, Garcia MV, Koller WW. Controle estratégico dos carrapatos nos bovinos. In: Andreotti R, Garcia MV, Koller WW, editors. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. Brasília, DF: Embrapa; 2019. p. 125-35.
25. Yim WT, Bhandari B, Jackson L, James P. Repellent effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against cattle tick larvae (*Rhipicephalus australis*) when formulated as emulsions and in β -cyclodextrin inclusion complexes. *Vet Parasitol.* 2016;225:99-103. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.06.007
26. Ferreira FM, Delmonte CC, Novato TLP, Monteiro CMO, Daemon E, Vilela FMP, et al. Acaricidal activity of essential oil of *Syzygium aromaticum*, hydrolate and eugenol formulated or free on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus*. *Med Vet Entomol.* 2018;32(1):41-7. doi:10.1111/mve.12259
27. Lei G, Li J, Zheng T, Yao J, Chen J, Duan L. Comparative chemical profiles of essential oils and hydrolate extracts from fresh flowers of eight *Paeonia suffruticosa* Andr. cultivars from Central China. *Molecules.* 2018;23(12):3268. doi:10.3390/molecules23123268
28. Sainz P, Andrés MF, Martínez-Díaz RA, Bailén M, Navarro-Rocha J, Díaz CE, et al. Chemical composition and biological activities of *Artemisia pedemontana* subsp. *assoana* essential oils and hydrolate. *Biomolecules.* 2019;9(10):558-80. doi:10.3390/biom9100558
29. Adenubi OT, McGaw LJ, Eloff JN, Naidoo V. In vitro bioassays used in evaluating plant extracts for tick repellent and acaricidal properties: a critical review. *Vet Parasitol.* 2018;254:160-71. doi:10.1016/j.vetpar.2018.03.008
30. Salman M, Abbas RZ, Israr M, Abbas A, Mehmood K, Khan MK, et al. Repellent and acaricidal activity of essential oils and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle. *Vet Parasitol.* 2020;283:109178. doi:10.1016/j.vetpar.2020.109178
31. Nwanade CF, Yu Z, Liu J. Botanical acaricides induced morphophysiological changes of reproductive and salivary glands in tick: a mini-review. *Res Vet Sci.* 2020;132(1):285-91. doi:10.1016/j.rvsc.2020.07.008
32. Boito JP, Santos RC, Vaucher RA, Raffin R, Machado G, Tonin AA, et al. Evaluation of tea tree oil for controlling *Rhipicephalus microplus* in dairy cows. *Vet Parasitol.* 2016;225:70-2. doi:10.1016/j.vetpar.2016.05.031
33. Pazinato R, Klauck V, Volpato A, Tonin AA, Santos RC, de Souza ME, et al. Influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Exp Appl Acarol.* 2014;63:77-83. doi:10.1007/s10493-013-9765-8

SUBMISSÃO: 25/10/2024

ACEITE: 04/04/2025