

# Teste *in vitro* do efeito acaricida do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* sobre *Otodectes cynotis*\*

## *In vitro* test of the acaricide effect of the *Melaleuca alternifolia* essential oil on *Otodectes cynotis*

Rita de Cássia da Silva Machado Neves,\*\* Rosa Helena dos Santos Ferraz,\*\*\* Adriane Jorge Mendonça,\*\*\* Samara Rosolem Lima,\*\*\* Felipe Augusto Constantino Seabra da Cruz,\*\*\* Jaqueline Gomes Rosa,\*\*\* Lúcia Aparecida de Fátima Mateus,\*\*\*\* Vany Ferraz,\*\*\*\*\* Luciano Antunes Barros\*\*\*\*\*

### Resumo

A otocariose é uma doença parasitária causada pelo ácaro *Otodectes cynotis*, sendo frequentemente observado no ouvido de cães e gatos, como um dos principais causadores de otite externa. Para o tratamento da otocariose é necessário o uso de substâncias acaricidas. No entanto é crescente o número de relatos sobre a resistência parasitária, sendo este um motivo de preocupação por parte de clínicos e proprietários. Este trabalho teve por objetivo testar o efeito acaricida, *in vitro*, do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) contra o ácaro *Otodectes cynotis*. Foram selecionados ácaros coletados do conduto auditivo de cães, tendo como critério a integridade estrutural e a ativa movimentação. Estes ácaros foram mantidos em placas de Petri e distribuídos em três grupos, correspondendo a três tratamentos diferentes: loção a 5% de óleo essencial de melaleuca; loção a 5% de tiabendazol e loção não-iônica, veículo utilizado nas duas loções anteriores. Foram realizados exames com intervalos regulares de uma hora após o início do experimento, até o total de 5 horas, utilizando a motilidade e integridade estrutural como parâmetros de avaliação. O óleo essencial de melaleuca apresentou propriedade acaricida, *in vitro*, desde a primeira hora de tratamento, podendo vir a ser uma opção de tratamento eficiente para a otocariose.

**Palavras-chave:** *Otodectes cynotis*, Otocariose, *Melaleuca alternifolia*, teste *in vitro*.

### Abstract

The otocariosis is a parasitic disease caused by the mite *Otodectes cynotis*, often found in the dogs and cats' ears, as one of the main causes of external otitis. In order to treat otocariosis the use of acaricidal substances is necessary. However, the number of reports about the parasitary resistance is increasing, being this a concern of veterinary and owners. This research aimed at testing the acaricide effect, *in vitro*, of the melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) essential oil against the mite *Otodectes cynotis*. Mites collected from the dogs' auditory canals were selected, having as a criterion the structural integrity and the active movement. These mites were kept in Petri plates and distributed into three groups, corresponding to three different treatments: a 5% lotion of melaleuca essential oil; a 5% lotion of tiabendazol and non-ionic lotion, a product used in the two prior lotions. Exams with regular intervals of one hour after the beginning of the experiment, up to the total of 5 hours were carried out, using the motility and structural integrity as parameters of evaluation. The melaleuca essential oil presented acaricidal properties, *in vitro*, since the first hour of the treatment, which could be an option of efficient treatment for otocariosis.

**Keywords:** *Otodectes cynotis*, Otocariosis, *Melaleuca alternifolia*, *in vitro* test.

### Introdução

As otites caninas constituem um dos principais motivos de consultas a Médicos Veterinários, produzindo efeitos de grande desconforto físico para o paciente, sendo a otite externa determinada por uma combinação de fatores predisponentes, primários e perpetuadores (August, 1988; Logas, 1994; Scott, 1996).

Dentre os fatores primários, destaca-se o ácaro *Otodectes cynotis*, que parasita frequentemente o ouvido de cães e gatos, atuando como um dos principais causadores de otite externa, sendo, portanto de considerável importância na clínica médica de pequenos animais (Six et al., 2000; Lohse et al., 2002).

O uso de substâncias acaricidas para o tratamento desta parasitose é necessário, existindo no Brasil, como loção

\* Recebido em 11 de outubro de 2012 e aceito em 20 de fevereiro de 2013.

\*\* Hospital Veterinário, Universidade Federal de Mato Grosso.

\*\*\* Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso.

\*\*\*\* Faculdade de Biociências, Universidade Federal de Mato Grosso.

\*\*\*\*\* Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais.

\*\*\*\*\* Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense.

Autor para correspondência: Rita de Cássia da Silva Machado Neves. E-mail: [nevesrita@uol.com.br](mailto:nevesrita@uol.com.br)

otológica, a indicação de uso do tiabendazol e do diazinon, drogas que atuam como acaricidas com efeito residual limitado, requerendo aplicação regular por no mínimo 10 dias, até se completar o ciclo do ácaro, uma vez que o produto não apresenta efeito sobre os ovos (Curtis, 2004). O crescente número de relatos sobre a resistência aos compostos parasiticidas é também um motivo de preocupação sobre a eficácia do atual tratamento disponível, sendo uma atitude adequada à busca por novas bases farmacológicas para o aumento do arsenal terapêutico acaricida (Walton et al., 2004).

Ao se planejar um protocolo terapêutico para otite externa, deve-se considerar o possível efeito ototóxico das substâncias, capacidade de induzir à perda da audição ou à ocorrência de distúrbios do equilíbrio, devido às lesões das estruturas das orelhas médias e/ou internas (Merchant, 1994). Fatos como este, fazem com que o consumidor se torne cada vez mais exigente e mais criterioso, com a qualidade do produto que consome. É crescente a preocupação em fazer uso de produtos menos agressivos, de origem natural, ou mais próximo possível desta origem. Para a Organização Mundial de Saúde (OMS), vegetais medicinais deveriam ser a melhor fonte para obter-se uma variedade de drogas (Bertini et al., 2005), sendo que, no Brasil, apenas, 1% do mercado de fitoterápicos é voltado ao segmento veterinário (Ozaki e Duarte, 2006).

Dentre os fitoterápicos incluem-se os óleos essenciais, misturas complexas de substâncias voláteis, geralmente odoríferas e líquidas, obtidos de partes de determinadas plantas, tendo como forte característica o aroma agradável e intenso (Jesus et al., 2007).

A melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), ou *tea tree* (árvore do chá), é nativa da Austrália. Seu óleo essencial possui comprovada ação antimicrobiana contra bactérias, fungos e alguns vírus, além de forte atividade repelente contra mosquitos, pulgas, piolhos entre outros (Silva et al., 2002).

Os principais componentes ativos deste óleo são os terpenóides oxigenados (Walton et al., 2004), sendo significantes o 1,8 cineol e o terpinen-4-ol, com níveis máximos e mínimos respectivamente, já que o cineol é um conhecido irritante da pele e o terpinen-4-ol é apontado como o maior contribuinte da atividade antimicrobiana (Simões et al., 2002).

Resultados de estudos sugerem que a melaleuca tem potencial função como acaricida perante o ácaro *Sarcoptes scabiei* (Walton et al., 2004), bem como contra o *Demodex folliculorum*, encontrado no folículo de cílios humanos (Gao et al., 2005).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito acaricida, *in vitro*, do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) sobre o ácaro *O. cynotis*.

## Material e métodos

Os ácaros foram coletados dos condutos auditivos de cães provenientes de um abrigo particular, localizado no município de Cuiabá, Mato Grosso.

Foram utilizadas três loções manipuladas em farmácia comercial: loção de óleo essencial de melaleuca a 5% (produto teste); loção de tiabendazol a 5% (eficácia comprovada *in vivo*); loção a base de uma cera emulsificante não-iônica denominada Polawax®, utilizada na formulação de bases farmacológicas anteriores (Catunda et al., 2007).

A coleta de ácaros foi feita utilizando-se *swabs* e estes, com secreção auricular, foram mantidos em placas de Petri

descartáveis, com trava, para evitar a fuga dos parasitos. Imediatamente após a coleta, estas placas foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia Veterinária da UFMT, para exame em microscópio estereoscópico, com objetivo de selecionar ácaros, utilizando como parâmetros a motilidade e a integridade estrutural.

Quinhentos e vinte e cinco ácaros que apresentaram integridade estrutural e ativa movimentação foram selecionados e distribuídos em 105 placas de Petri com trava, distribuindo-se cinco ácaros em cada placa. Estas foram separadas em três grupos de 35 placas, sendo o primeiro grupo submetido à ação do óleo essencial de melaleuca a 5%, o segundo a loção de tiabendazol a 5% e o terceiro ao veículo das loções anteriores.

As placas foram mantidas em estufa para BOD com temperatura entre 36,3 e 39,7°C e umidade relativa variando entre 60,4 e 80,5%, valores próximos aos que ocorrem no canal auditivo externo (Harvey et al., 2004).

As avaliações foram feitas a cada hora, para os três grupos, no total de sete placas avaliadas / hora / produto. As observações foram feitas em estereomicroscópio até 5h após o início do experimento. No momento da avaliação, o conjunto de placas foi examinado, utilizando-se de motilidade e integridade estrutural como parâmetros.

A avaliação da eficácia do produto foi expressa através da fórmula adaptada, onde  $E = ((N^{\circ} \text{ de ácaros vivos antes} - N^{\circ} \text{ de ácaros vivos depois}) / (N^{\circ} \text{ de ácaros vivos antes})) \times 100$  (Souza et al., 2006).

## Resultados

Observou-se nas placas, com óleo essencial de melaleuca, 100% de eficácia do produto desde a primeira hora após o início do experimento, mantendo-se a mesma eficácia nas observações realizadas até o final do experimento. Na observação das cinco horas, observou-se em quatro ácaros (11%) perda da integridade estrutural.

Nas placas com tiabendazol, não se observou morte de ácaro na primeira hora; no entanto com duas horas ocorreu 14,3% de morte, 48,6% com três horas, 60,0% com quatro horas e 68,6% com cinco horas.

Nas placas com produto controle, não foi observada morte dos ácaros nas quatro primeiras horas, sendo encontrados 2 (5,71%) ácaros mortos, na quinta hora (Tabela 1).

**Tabela 1:** Percentual de eficácia dos produtos *in vitro* (loção de óleo essencial de melaleuca a 5%; loção de tiabendazol a 5%; loção não iônica) testados nos ácaros *Otodectes cynotis*

Tempo das observações	Loção de óleo essencial de melaleuca a 5%	Loção de tiabendazol a 5%	Loção não iônica
<b>Hora 1</b>	35 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Hora 2</b>	35 (100%)	5 (14,3%)	0 (0%)
<b>Hora 3</b>	35 (100%)	17 (48,6%)	0 (0%)
<b>Hora 4</b>	35 (100%)	21 (60%)	0 (0%)
<b>Hora 5</b>	35 (100%)	24 (68,6%)	2 (5,7%)

O percentual de eficácia, calculado para cada produto, nas determinadas horas, permitiu uma análise descritiva de cada um e a comparação entre eles.

## Discussão

Na presente pesquisa, utilizando-se o óleo de melaleuca 5%, a totalidade dos ácaros estava morta nos primeiros 60 minutos, resultado similar a um trabalho realizado por Walton et al. (2004) com *Sarcoptes scabiei var hominis*. Embora os ácaros sejam de gêneros diferentes, os resultados aqui apresentados são compatíveis com os daquele estudo. No referido trabalho, o óleo essencial de melaleuca a 5% e seu componente ativo, terpinen-4-ol foram altamente eficazes na redução do tempo de sobrevivência do parasito.

Gao et al. (2005) realizaram estudo semelhante com *Demodex folliculorum*, em diferentes soluções de melaleuca, observando-se os ácaros em contato com o produto, durante todo o tempo do experimento. Estes autores descrevem o momento em que o movimento das patas e do corpo dos ácaros cessou, sendo este definido como tempo de sobrevivência, estabelecido em 2 horas e 30 minutos. No presente estudo com *O. cynotis*, não se observou o tempo exato de morte dos ácaros tendo em vista que os mesmos foram mantidos em BOD, embora possamos afirmar, com precisão, que não ultrapassou 60 minutos, concluindo-se que *O. cynotis*, foi ainda mais sensível a melaleuca que ácaro *D. folliculorum*.

## Referências

- AUGUST, J. Otitis externa. A disease of multifactorial etiology. *Vet. Clin North Am Small Anim Pract.*, v. 18, n. 4, p. 731-742, 1988.
- BERTINI, L.M.; PEREIRA, A.F.; OLIVEIRA, C.L.L.; MENEZES, E.A.; MORAIS, S.M.; CUNHA, F.A.; CAVALCANTI, E.S.B. Perfil da Sensibilidade de Bactérias Frente a Óleos Essenciais de Algumas Plantas do Nordeste do Brasil. *Inf.*, v. 17, n. 3/4, p. 80-83, 2005.
- CATUNDA, A. P. M.; NEVES, I. P. F.; MEDEIROS, M. A. P.; MIRANDA, N. A.; SILVEIRA, W. L. L.; ARAGAO, C. F. S. Avaliação do comportamento de diferentes lotes do creme Polawax® comercializados na cidade de Natal/RN. In: XLVII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 9., 2007, Natal. Anais eletrônicos do Congresso Brasileiro de Química. Natal: ABQ, 2007. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2007/trabalhos/4/4-467-640.htm>>. Acesso em: 20 dez. 2009.
- CURTIS, C. Current trends in the treatment of Sarcoptes, Cheyletiella and Otodectes mite infestations in dogs and cats. *Vet. Dermatol.*, v. 15, n. 2, p. 108-114, 2004.
- FAULK, R.; SCHWIRCK, S. Effect of Tresaderm against otocariasis: a clinical trial. *Vet. Med Small Anim Clin.*, v. 73, n. 3, p. 307-308, 1978.
- GAO, Y.; DI PASCUALE, M.A.; LI, W.; BARADARAN-RAFII, A.; ELIZONDO, A.; KUO, C.L.; RAJU, V.K.; TSENG, S.C.G. *In vitro* and *in vivo* killing of ocular Demodex by tea tree oil. *Br. J Ophthalmol.*, v. 89, n. 11, p. 1468-1473, 2005.
- HARVEY, R.G.; HARARI, J.; DELAUCHE, A.J. *Doença do Ouvido em Cães e Gatos*. Rio de Janeiro: Revinter, 2004.
- JESUS, E.R.; BARIN, C.S.; MACHADO, R.E. Óleo Essencial de Melaleuca alternifolia - Otimização do Método de Análise. XV ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIAO SUL. UEPG. 2007. Arapongas-PR

A loção de tiabendazol a 5% confirmou a eficácia acaricida de diversos estudos *in vivo* realizados por Faulk e Schwirck (1978), Patterson e Kirchain (1999) e Souza et al. (2006), quando apresentou ação evidente a partir da segunda hora de experimento, aumentando gradativamente a ação acaricida nas horas subsequentes. Como forma de controle negativo, utilizou-se o veículo das outras loções (tiabendazol e melaleuca), observando-se apenas dois ácaros mortos no final de cinco horas após o início do experimento. A longevidade de ácaros *O. cynotis* foi estudada por Otranto et al. (2004) em condições de laboratório, sob diferentes temperaturas, encontrando longevidade máxima de 5 a 6 dias para ácaros mantidos sob temperatura de 34°C. Neste trabalho, não havia o objetivo de analisar a longevidade máxima para o grupo controle, portanto a observação para este grupo foi interrompida na quinta hora após o início do experimento, uma vez que este foi o período de tempo máximo de longevidade dos ácaros mantidos sob ação do tiabendazol. No entanto, os resultados apresentados por Otranto et al. (2004) sugerem que para a temperatura utilizada neste experimento, o grupo controle provavelmente apresentaria longevidade máxima muito acima do período final de observação.

## Conclusão

O óleo de melaleuca (*M. alternifolia*), a 5%, possui propriedade acaricida *in vitro* satisfatória sobre ácaros *O. cynotis*, podendo se tornar uma terapia tópica útil.

LOGAS, D.B. Diseases of the Ear Canal. *Vet. Clin of North Am: Small An Pract.*, v. 24, n. 5, p. 905-919, 1994.

LOHSE, J.; RINDER, H.; ZAHLER, M. Validity of species status of the parasitic mite otodectes cynotis. *Med. Vet Entomol.*, v. 16, n. 2, p. 133-138, 2002.

MERCHANT, S.R. Ototoxicity. *Vet. Clin North Am Small Anim Pract.*, v. 24, n. 5, p. 971-980, 1994.

OTRANTO Domenico, MILILLO Piermarino, MESTO Paola, DE CAPRARIIS Donato, PERRUCCI Stefania, CAPELLI Gioia. *Otodectes cynotis* (ACARI: PSOROPTIDAE): examination of survival off-the-host under natural and laboratory conditions. *Experimental and applied acarology*, v. 32, n. 3, p. 171-179, 2004.

OZAKI, A.T.; DUARTE, P.C. Fitoterápicos utilizados na medicina veterinária, em cães e gatos. *J. Art.*, v.18, n. 11/12, p. 17-25, 2006.

PATTERSON, M.M.; KIRCHAIN, S.M. Comparasion of Three Treatments for Control of Ear Mites in Ferrets. *Am. Assoc Lab Anim Sci.*, v. 49, n. 6, p. 655-657, 1999.

SILVA, R.S.S.; DEMUNER, A.J.; BARBOSA, L.A.; CASALI, V.W.D.; NASCIMENTO, E.A.; PINHEIRO, A.L. Efeito do Estresse Hídrico sobre Características de Crescimento e a Produção de Óleo Essencial de Melaleuca alternifolia Cheel. *Acta. Sci.*, v. 24, n. 5, p. 363-368, 2002.

SIMÕES, R.P.; GROppo, F.C.; SARTORATO, A.; DEL FIOLE, F.S.; FILHO, T.R.M.; RAMACCIATO, J.C.; RODRIGUES, M.V.N. Efeito do Óleo de Melaleuca alternifolia sobre a Infecção Estafilocócica. *Rev. Lecta.*, n. 2, p. 143-152, 2002.

SIX, R.H.; CLEMENCE, R.G.; THOMAS, C.A.; BEHAN, S.; BOY, M.G.; WATSON, P.; BENCHAOUI, H.A.; CLEMENTS, P.J.; ROWAN T.G.; JERNIGAN, A.D. Efficacy and safety of selamectin against Sarcoptes scabiei on dogs and Otodectes cynotis on dogs and cats presented as veterinary patients. *Vet. Parasitol.*, v. 91, n. 3-4, p.291-309, 2000.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. Muller & Kirk. *Dermatologia de Pequenos Animais*. 5. ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996.

SOUZA, C.P.; CORREIA, T.R.; MELO, R.M.P.S.; VEROCAI, G.G.; CASTRO, D.S.E.; CAVALCANTI, M.C.H.; SCOTT, F.B. Eficácia acaricida do Tiabendazol sobre *Otodectes cynotis* (Hering 1838) em cães. *Rev. Bras Parasitol Vet.*, v. 15, n. 4, p. 143-146, 2006.

WALTON, S.F.; MCKINNON, M.; PIZZUTTO, S.; DOUGALL, A.; WILLIAMS, A.; CURRIE, B.J. Acaricidal activity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: *in vitro* sensitivity of sarcoptes scabiei var hominis to terpinen-4-ol. *Arch Dermatol.*, v. 140, n. 5, p. 563-566, 2004.