



**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**VETERINÁRIAS**

**DISSERTAÇÃO**

**Atividade inseticida e repelente dos óleos essenciais de  
*Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia  
sclarea* frente a *Ctenocephalides felis felis***

**Emily Andressa Santos Lima**

**2022**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**VETERINÁRIAS**

**Atividade inseticida e repelente dos óleos essenciais de**  
*Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia*  
*sclarea* frente a *Ctenocephalides felis felis*

**Emily Andressa Santos Lima**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Dra. Katherina Coumendouros**

*e Co-orientação*  
**Dr. Diefrey Ribeiro Campos**

Dissertação submetida como requisito  
parcial para obtenção do grau de **Mestre**  
**em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação  
em Ciências Veterinárias

Seropédica, RJ  
Agosto de 2022

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L732a      Lima, Emily Andressa Santos, 1992-  
            Atividade inseticida e repelente dos óleos  
            essenciais de Copaifera reticulata, Citrus paradisi,  
            Lavandula hybrida e Salvia sclarea frente a  
            Ctenocephalides felis felis / Emily Andressa Santos  
            Lima. - Guarapuava, 2020.  
            110 f.

            Orientadora: Katherina Coumendouros.  
            Coorientador: Diefrey Ribeiro Campos.  
            Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal  
            Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em  
            Ciências Veterinárias, 2020.

            1. Pulga. 2. Copaíba. 3. Lavandin. 4. Salvia. 5.  
            Grapefruit. I. Coumendouros, Katherina, 1968-,  
            orient. II. Ribeiro Campos, Diefrey, -, coorient. III  
            Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
            Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. IV.  
            Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



ATA N° 120/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

N° do Protocolo: 23083.003548/2024-10

Seropédica-RJ, 25 de janeiro de 2024.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

EMILY ANDRESSA SANTOS LIMA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre(a)** em Ciências, no Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 10/08/2022

(Assinado digitalmente em 25/01/2024 09:40)  
KATHERINA COUMENDOUROS  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)  
Matricula: ###563#6

(Assinado digitalmente em 25/01/2024 09:36)  
THAIS RIBEIRO CORREIA AZEVEDO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)  
Matricula: ###298#9

(Assinado digitalmente em 25/01/2024 21:45)  
FERNANDO HENRIQUE CORRER  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ### 638-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 120, ano: 2024, tipo: ATA, data de emissão: 25/01/2024 e o código de verificação: 48f4961ff1

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Pai Celestial por ter tido a oportunidade de fazer um mestrado e, apesar de todas as dificuldades não ter desistido, e por me permitir conseguir mais essa vitória.

Aos meus pais, Lina e Claudiomiro, por todo o apoio e por sempre me incentivarem, por acreditarem em mim, mesmo muitas vezes eu não acreditando em mim mesma.

Ao meu esposo Vinicius, por ter sido companheiro em todos os momentos, por acreditar que eu seria capaz de iniciar e finalizar essa etapa em minha vida, por me ajudar várias e várias noites, desde me ajudar a encontrar artigos, até mesmo me ajudar com palavras de apoio nos meus momentos de desespero.

Ao meu co-orientador Diefrey Ribeiro Campos, por ser a primeira pessoa acreditar em mim como médica veterinária, por me oferecer a oportunidade de aprender cada vez mais e por me estimular a sempre querer mais. Você foi uma peça fundamental para a conquista desta etapa, sem sua ajuda nada disso seria possível.

À minha orientadora Katherina Coumendouros e ao professor Fabio Scott, pela oportunidade da realização deste trabalho no laboratório.

Aos amigos Rayane, Roxanne, Ciro, Thalita, Daiane, Gabriela, Beatriz do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária. Vocês foram essenciais nessa trajetória, nunca me esquecerei do apoio e do suporte que vocês me deram durante esses 2 anos, e principalmente pela amizade de vocês.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade e apoio durante a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento – 001, agradeço o financiamento desta pesquisa.

A todos, muito obrigada!!!

## **BIOGRAFIA**

Emily Andressa Santos Lima, filha de Lina Levinski Lima e Claudiomiro Santos Lima, nascida em 06 de outubro de 1992, no município de Guarapuava, Paraná. Coursou o ensino fundamental e médio em escolas públicas, situadas nos estados do Paraná, Roraima e São Paulo. No ano de 2007 ingressou no curso profissionalizante de Magistério, e no ano de 2011 iniciou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Fronteira Sul - *Campus* Realeza. Durante a graduação ano de 2014 foi contemplada pelo programa Ciências sem Fronteiras, estudando na University of Wisconsin - River Falls, pelo período de 1 ano e meio. Graduando em agosto de 2019. Em 2020, foi aprovada no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, no nível Mestrado, na mesma instituição sob orientação da Professora Katherina Coumendouros e co-orientação de Diefrey Ribeiro Campos, sendo bolsista CAPES entre março de 2020 a fevereiro de 2022.

## RESUMO

LIMA, Emily Andressa Santos. **Atividade inseticida e repelente dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea* frente a *Ctenocephalides felis felis***. 2022. 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

A pulga *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) é um inseto parasito de cães e gatos com distribuição cosmopolita. São insetos de importância na saúde pública, destacam-se por serem vetores de diversos agentes patogênicos a animais e ao homem. O número de pesquisas e de tutores que buscam por produtos de origem vegetal, menos tóxicos e que causem menos danos ao ambiente, é crescente. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição química dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea*, avaliar as atividades inseticida e repelente, calcular as concentrações letais 50 (CL<sub>50</sub>) e 90 (CL<sub>90</sub>) e eficácia residual frente à pulga *Ctenocephalides felis felis*. A análise da composição química foi feita por Cromatografia Gasosa (CG) equipado com detector de ionização por chama (FID), e um injetor split / split-less para separar e detectar os constituintes voláteis dos óleos essenciais. Para o teste *in vitro*, preparou-se solução-mãe dos óleos essenciais (OE's) diluídas em acetona 20%, em diferentes concentrações. Para avaliar a atividade inseticida foram usados dez exemplares de cada estágio (ovo, larva, pupa e adultos). Para avaliar a inibição do ciclo biológico foram utilizados dez ovos e, para o teste de eficácia residual foram utilizadas dez pulgas adultas. Todos os testes foram realizados em seis repetições. A fase adulta foi alocada em tubos de ensaio (1x10 cm), e uma fita de papel filtro impregnada foi inserida com as concentrações de cada óleo essencial. Os testes na fase imatura, placa de petri (60x15mm) foram utilizadas, e inseridas em um disco de papel filtro impregnado com as mesmas concentrações. O número de insetos vivos e mortos após determinado tempo de exposição foram registrados. Utilizamos para calcular o percentual de mortalidade a seguinte fórmula: mortalidade (%) = número de insetos mortos X 100/número de insetos incubados. Para avaliação estatística, operou-se os dados tabulados e, a análise de Probit foi usado o programa computacional R Studio Team software para calcular os valores das CL<sub>50</sub> com intervalo de confiança de 95%. Os constituintes com maior percentual encontrados foram: β-cariofileno para o OE de *C. reticulata* (OECR), linalol para *L. hybrida* (OELH), acetato de linalila para *S. sclarea* (OEES) e, limoneno para *C. paradisi* (OECp). A respeito da atividade inseticida, foi possível obter a CL<sub>50</sub> para os estágios de adulto, ovo, larva pupa e inibição do desenvolvimento de todos os OE's, exceto para o OECp. Para a ação repelente, todos os óleos demonstraram atividade na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup>. Na persistência da eficácia, foi possível observar que o OECR apresentou maior persistência da eficácia, quando comparado aos outros. Conclui-se que cada OE testado apresenta uma melhor atividade inseticida para cada fase de *C. felis felis*.

**Palavras-chave:** Pulga; Copaíba; Lavandin; Salvia; Grapefruit.

## ABSTRACT

LIMA, Emily Andressa Santos. **Insecticidal and repellent activity of the essential oils of *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* and *Salvia sclarea* against *Ctenocephalides felis felis***. 2022. 110p. Dissertation (Master of Science). Veterinary Institute, Department of Animal Parasitology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The flea *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae) is a parasitic insect of dogs and cats with a cosmopolitan distribution. They are insects of importance in public health, they stand out for being vectors of several pathogenic agents to animals and man. The number of research and tutors looking for products of plant origin, less toxic and causing less damage to the environment, is growing. The aim of this research was to determine the chemical composition of the essential oils of *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* and *Salvia sclarea*, evaluate the insecticidal activity, repellent action, calculate the lethal concentrations 50 (LC<sub>50</sub>) and 90 (LC<sub>90</sub>) and residual efficacy against to the flea *Ctenocephalides felis felis*. Chemical composition analysis was performed by Gas Chromatography (GC) equipped with a flame ionization detector (FID), and a split/split-less injector to separate and detect the volatile constituents of essential oils. For the *in vitro* test, a stock solution of essential oils (EO's) diluted in 20% acetone was prepared at different concentrations. To evaluate the insecticidal activity, ten specimens of each stage (egg, larva, pupa and adults) were used. To evaluate the inhibition of the biological cycle, ten eggs were used, and, for the residual efficacy test, ten adult fleas were used. All tests were performed in six repetitions. The adult phase was placed in test tubes (1x10 cm), and a strip of impregnated filter paper was inserted with the concentrations of each essential oil. The tests in the immature phase, a petri dish (60x15mm) was used, and inserted into a filter paper disc impregnated with the same concentrations. The number of live and dead insects after a given time of exposure was recorded. We used the following formula to calculate the mortality percentage: mortality (%) = number of dead insects X 100/number of incubated insects. For statistical evaluation, the tabulated data were operated, and, for the Probit analysis, the computer program R Studio Team software was used to calculate the LC50 values with a confidence interval of 95%. The constituents with the highest percentage found were:  $\beta$ -caryophyllene for *C. reticulata* EO (OECR), linalool for *L. hybrida* (OELH), linalyl acetate for *S. sclarea* (OESS) and limonene for *C. paradisi* (OECF). Regarding the insecticidal activity, it was possible to obtain the LC50 for the stages of adult, egg, larva, pupa and inhibition of the development of all OE's, except for the OECF. For the repellent action, all oils showed activity for the concentration of 800  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>. Regarding the persistence of efficacy, it was possible to observe that the OECR presented greater persistence of efficacy, when compared to the others. It is concluded that each tested EO presents a better insecticidal activity for each phase of *C. felis felis*.

**Keywords:** Flea; Copaiba; Lavandin; Sage; Grapefruit.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Pirâmide da população de pulgas mostrando as proporções das diferentes formas do ciclo de vida da pulga com pulgas adultas. Fonte: WRIGHT; ELSHEIKHA (2014). ....	3
<b>Figura 2.</b> Principais sesquiterpenos encontrados em óleo de copaíba ( <i>Copaifera reticulata</i> ). Fonte: Junior <i>et al.</i> (2007).....	19
<b>Figura 3.</b> Principais constituintes encontrados no óleo essencial de lavandin ( <i>Lavandula hybrida</i> ). Fonte: Varona, 2009.....	20
<b>Figura 4.</b> Principais constituintes encontrados em óleo essencial de salvia ( <i>Salvia sclarea</i> ). Fonte: Aćimović <i>et al.</i> , 2022.....	21
<b>Figura 5.</b> Principais constituintes encontrados em óleo essencial de grapefruit ( <i>Citrus paradisi</i> ). Fonte: UYSAL <i>et al.</i> , 2011. ....	22
<b>Figura 6.</b> Valores de concentração letal 50 e 90 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Lavandula hybrida</i> (OELH) e <i>Salvia sclarea</i> (OESS) frente a ovos da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	38
<b>Figura 7.</b> Valores de concentração letal 50 e 90 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulata</i> (OECR) <i>Lavandula hybrida</i> (OELH) e <i>Salvia sclarea</i> (OESS) frente a larvas da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	39
<b>Figura 8.</b> Valores de concentração letal 50 e 90 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulata</i> (OECR) <i>Lavandula hybrida</i> (OELH) e <i>Salvia sclarea</i> (OESS) frente a pupas da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	40
<b>Figura 9.</b> Valores de concentração letal 50 e 90 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulata</i> (OECR) <i>Lavandula hybrida</i> (OELH) e <i>Salvia sclarea</i> (OESS) frente a adultos da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	41
<b>Figura 10.</b> Valores de concentração letal 50 e 90 em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulata</i> (OECR) <i>Lavandula hybrida</i> (OELH) e <i>Salvia sclarea</i> (OESS) na inibição do ciclo biológico da pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	43
<b>Figura 11.</b> Eficácia residual do óleo essencial de <i>Copaifera reticulata</i> frente a <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	45
<b>Figura 12.</b> Eficácia residual do óleo essencial de <i>Lavandula hybrida</i> frente a <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	45
<b>Figura 13.</b> Eficácia residual do óleo essencial de <i>Salvia sclarea</i> frente a <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	46
<b>Figura 14.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Copaifera reticulata</i> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	47
<b>Figura 15.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Citrus paradisi</i> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	48
<b>Figura 16.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Lavandula hybrida</i> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	49
<b>Figura 17.</b> Percentual de repelência do óleo essencial de <i>Salvia sclarea</i> frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	49
<b>Figura 18.</b> Percentual de repelência do controle positivo (N, N-Dietil-m-Toluamida) frente a pulgas adultas de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Distribuição geográfica das espécies de sifonápteros (Insecta) na região Neotropical.....	6
<b>Tabela 2.</b> Percentual de registro de ocorrência de <i>Ctenocephalides felis felis</i> nos estados brasileiros.....	7
<b>Tabela 3.</b> Plantas cujo seu óleo essencial demonstrou atividade inseticida ou repelente frente a pulgas (Siphonaptera: Pulicidae).....	18
<b>Tabela 4.</b> Faixas de concentrações para os testes definitivos para cada óleo essencial. ....	24
<b>Tabela 5.</b> Caracterização da composição química do óleo essencial de <i>Copaifera reticulata</i> (Seropédica, 2022). ....	28
<b>Tabela 6.</b> Caracterização da composição química do óleo essencial de <i>Lavandula hybrida</i> (Seropédica, 2022). ....	28
<b>Tabela 7.</b> Caracterização da composição química do óleo essencial de <i>Salvia sclarea</i> (Seropédica, 2022). ....	29
<b>Tabela 8.</b> Caracterização da composição química do óleo essencial de <i>Citrus paradisi</i> (Seropédica, 2022). ....	29
<b>Tabela 9.</b> Atividade inseticida do óleo essencial de <i>Copaifera reticulata</i> frente aos diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	30
<b>Tabela 10.</b> Atividade inseticida do óleo essencial de <i>Citrus paradisi</i> frente aos diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	30
<b>Tabela 11.</b> Atividade inseticida do óleo essencial de <i>Lavandula hybrida</i> frente aos diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	31
<b>Tabela 12.</b> Atividade inseticida do óleo essencial de <i>Salvia sclarea</i> frente aos diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> . ....	32
<b>Tabela 13.</b> Percentual de mortalidade do óleo essencial de <i>Copaifera reticulata</i> frente aos estágios de larva, pupa e adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> após o ajuste de concentrações. ....	33
<b>Tabela 14.</b> Concentração letal 50 e 90 obtidas para os diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> após a exposição ao óleo essencial de <i>Copaifera reticulata</i> . ....	33
<b>Tabela 15.</b> Percentual de mortalidade do óleo essencial de <i>Lavandula hybrida</i> frente aos estágios de larva, pupa e adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> após o ajuste de concentrações. ....	34
<b>Tabela 16.</b> Concentração letal 50 e 90 obtidas para os diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> após a exposição ao óleo essencial de <i>Lavandula hybrida</i> . ....	35
<b>Tabela 17.</b> Percentual de mortalidade do óleo essencial de <i>Salvia sclarea</i> frente aos estágios de larva, pupa e adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> após o ajuste de concentrações. ....	36
<b>Tabela 18.</b> Concentração letal 50 e 90 obtidas para os diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> após a exposição ao óleo essencial de <i>Salvia sclarea</i> . ....	36
<b>Tabela 19.</b> Percentual de interrupção do ciclo biológico de ovo a adulto para a pulga <i>Ctenocephalides felis felis</i> após a exposição à diferentes concentrações dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulata</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> . ....	42
<b>Tabela 20.</b> Concentração letal 50 e 90 obtidas para inibição do ciclo biológico de ovo a adulto de <i>Ctenocephalides felis felis</i> após a exposição aos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulata</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> . ....	43
<b>Tabela 21.</b> Percentual de repelência dos óleos essenciais <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> frente a <i>Ctenocephalis felis felis</i> . ....	51

## **LISTA DE ABREVIACÕES**

CEUA – Comitê de Ética em Utilização de Animais

CL – Concentração letal

CL<sub>50</sub> – Concentração letal 50

CL<sub>90</sub> – Concentração letal 90

DAPP – Dermatite Alérgica à Picada de Pulga

DAG – Doença da arranhadura do gato

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ICB – Interrupção do Ciclo Biológico

LQEPV – Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

LVZ – Leishmaniose visceral zoonótica

MAO - Enzima monoaminoxidase

MHF - Micoplasmose haemotrófica felina

OE – Óleo Essencial

OE's – Óleos Essenciais

PR- Percentual de repelência

RCI - Regulador de crescimento de insetos

UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

# SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Classificação e Biologia de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	2
2.2 Epidemiologia.....	5
2.3 Importância em saúde.....	7
2.4 Controle .....	10
2.4.1 Controle mecânico .....	11
2.4.2 Controle químico .....	12
2.4.3 Controle com química verde .....	15
2.4.4 Uso de óleos essenciais frente a pulgas .....	16
2.4.5. <i>Copaifera reticulata</i> .....	19
2.4.6 <i>Lavandula hybrida</i> .....	20
2.4.7 <i>Salvia sclarea</i> .....	21
2.4.8 <i>Citrus paradisi</i> .....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	22
3.1 Origem das pulgas .....	22
3.2 Obtenção do óleo essencial .....	23
3.3 Cromatografia gasosa .....	23
3.4 Testes <i>in vitro</i> com <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	23
3.4.1 Resumo do delineamento experimental.....	23
3.5 Preparo das diluições e impregnação do papel filtro .....	24
3.6 Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Salvia sclarea</i> e <i>Lavandula hybrida</i> frente a pulgas adultas .....	25
3.7 Avaliação da atividade na interrupção do ciclo biológico de <i>Ctenocephalides felis felis</i> dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> .....	25
3.8 Avaliação da eficácia residual de <i>Ctenocephalides felis felis</i> dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> .....	26
3.9 Atividade de repelente dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> frente a <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	26
3.10 Análise dos Dados .....	26
4. Resultados e Discussão.....	28
4.1 Caracterização da Composição Química dos Óleos Essenciais .....	28
4.2 Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais .....	29
4.2.1 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de <i>Copaifera reticulata</i> .....	29
4.2.2 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de <i>Citrus paradisi</i> .....	30
4.2.3 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de <i>Lavandula hybrida</i> .....	31
4.2.4 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de <i>Salvia sclarea</i> .....	32

4.3 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 dos Óleos Essenciais .....	33
4.3.1 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 do Óleo Essencial de <i>Copaifera reticulata</i> frente aos diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	33
4.3.2 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 dos Óleo Essencial de <i>Lavandula hybrida</i> frente aos diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	34
4.3.3 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 dos Óleo Essencial de <i>Salvia sclarea</i> frente aos diferentes estágios de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	36
4.4 Comparação entre a concentração 50 dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulata</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> frente aos estágios de ovo, larva, pupa e adultos.....	37
4.5 Atividade na interrupção do ciclo biológico de <i>Ctenocephalides felis felis</i> dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> ....	42
4.6 Eficácia residual dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> frente a adultos de <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	44
4.7 Avaliação da Atividade de repelência dos óleos essenciais de <i>Copaifera reticulada</i> , <i>Citrus paradisi</i> , <i>Lavandula hybrida</i> e <i>Salvia sclarea</i> e frente a <i>Ctenocephalides felis felis</i> .....	46
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	52
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	53
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	54

# 1. INTRODUÇÃO

A presença dos animais de companhia em lares brasileiros tem crescido de forma exponencial. O crescimento da procura por animais de estimação devido a organização familiar atual, tem favorecido a ampliação no mercado “pet”, sobretudo devido ao número crescente de pessoas que moram sozinhas e que, buscam a companhia de animais para suprir essa carência. Com o novo cenário sobre este mercado, se faz necessário a amplificação do conhecimento sobre a epidemiologia, controle e prevenção de ectoparasitoses.

Esta conexão homem/animal agrava o risco de transmissão de doenças, com consequências na saúde pública, principalmente onde a população humana mundial está cada vez mais envelhecida, e a população animal também. Dentre os agentes transmissores de patógenos com relevância à saúde pública e única, se encontram os ectoparasitos.

A pulga, em especial, também possui importância veterinária devido a capacidade de gerar desconforto aos animais, acarretando espoliação sanguínea, intenso prurido onde os animais desenvolvem tendência em morder, arranhar ou coçar a zona afetada, tendo potencial à lesões secundárias como: alopecia, eritema, hiperpigmentação da pele e lesões papulares, além da automutilação em casos de dermatite alérgica e, casos de grandes infestações podendo gerar quadros graves de anemia, sobretudo em animais pequenos.

Quanto às espécies de pulga, *Ctenocephalides felis felis* e *Ctenocephalides canis*, possuem maior prevalência em cães e gatos. Se apresentam como insetos achatados latero-lateralmente, sem asas, pertencentes ao filo Arthropoda, à classe Insecta e à ordem Siphonaptera. Podem ser vistos sem o auxílio de lentes ou aparelhos ópticos e, não demonstram claramente as divisões entre as partes do corpo (cabeça, tórax e abdômen). As pulgas são insetos ápteros, minúsculos, de cor amarronzada e, podem ser claramente visualizadas se movendo frequentemente sobre a pelagem em alguns casos.

A compreensão sobre o ciclo de vida e epidemiologia das ectoparasitoses é fundamental para o desenvolvimento e implementação de medidas preventivas e/ou controle, explorando a prevenção através do bloqueio dos ciclos de vida dos respectivos vetores, responsáveis pela transmissão de doenças. O diagnóstico precoce pode ser feito através da observação dos parasitas adultos, ou de qualquer um dos outros estádios (ovos, larvas ou pupas) presentes no ambiente, ou das suas fezes no pelo dos animais ou das suas fezes no pelo dos animais.

O controle de vetores traz como objetivo principal a redução das infestações a níveis toleráveis no hospedeiro e no ambiente, com base em uma combinação equilibrada de métodos mecânicos, culturais, e métodos de aplicação de compostos químicos. Normalmente, o controle de pulgas se faz com uso de inseticidas, e com menor frequência o uso de medidas mecânicas como catação manual e aspiração de ambiente, principalmente chãos de madeira ou taco.

Dessa maneira, o número de pesquisas em busca de produtos de origem natural e vegetal que possam ser capazes de atuar como inseticidas, dispondo de menor toxicidade aos animais e, capacidade de causar menos danos ao ambiente tem se tornado mais frequente. Inseticidas botânicos se apresentam como alternativa de uso, e dentro dessa área, o uso de óleos essenciais têm grande potencial, apesar de se encontrar em estágio inicial de pesquisa.

Os objetivos deste estudo foram: determinar a capacidade de biocontrole dos óleos essenciais (OE's) de *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea*, determinar as concentrações letais (CL) 50 e 90 nos estádios de ovo, larva, pupa e adultos e o percentual de repelência frente a pulga *Ctenocephalides felis felis*. Além da busca por óleos promissores para o desenvolvimento de formulações aduáticas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Classificação e Biologia de *Ctenocephalides felis felis*

São conhecidas aproximadamente 3.000 espécies e/ou subespécies de pulgas, incluídas em 238 gêneros e 15 famílias, é considerada cosmopolita de distribuição mundial (LEWIS, 1998). Devido a sua importância epidemiológica, merecem destaque as seguintes espécies: pertencentes à família Pulicidae: *Pulex irritans* L., *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides felis felis* e *C. canis*; de Tungidae, a espécie *Tunga penetrans* (L.); e as do gênero *Polygenis*, pertencentes à família Rhopalopsyllidae (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Sua classificação taxonômica pertence ao filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Siphonaptera, família Pulicidae, gênero *Ctenocephalides* com duas espécies de importância: *C. canis* e *C. felis*. No entanto, para a sua determinação, se exige a existência das variações morfológicas, hospedeiro, distribuição geográfica e prevalência (ZURITA *et al.*, 2016).

Algumas espécies merecem maior atenção como *C. felis* parasita várias espécies de mamíferos, entre eles canídeos, felídeos, roedores, marsupiais, além do ser humano (LINARDI; SANTOS, 2012). Outra espécie de grande importância é *T. penetrans*, popularmente conhecida como “pulga da areia” ou “bicho-do-pé”, acomete animais e o ser humano, causando lesões podais, e podendo veicular patógenos para seus hospedeiros, como é o caso de superinfecções estafilocócicas (HEUKELBACH *et al.*, 2001; CARVALHO *et al.*, 2003). Sob este aspecto, se tornam mais estudados, reunindo dados sobre interação parasito-hospedeiro, biologia e controle (FELDMEIER *et al.*, 2007).

A identificação de diferentes espécies de pulgas é baseada em características morfológicas. No entanto, ainda existem questões e preocupações significativas sobre as relações filogenéticas das pulgas e, a identificação de marcadores moleculares apropriados neste importante grupo de insetos (WHITING *et al.*, 2008)

A espécie *C. felis*, constituía-se de quatro subespécies originais: *Ctenocephalides felis felis*, *Ctenocephalides felis strongylus*, *Ctenocephalides felis orientis* e *Ctenocephalides felis damarensis* (LAWRENCE *et al.*, 2019).

Devido as características morfológicas, no final do século XIX, a taxonomia de *C. felis* foi revisada por Ménier e Beaucournu (1998), e com base na genitália masculina, *C. orientis* e *C. damarensis* foram elevados à uma espécie completa. Recentemente Lawrence *et al.* (2019) forneceu a primeira tentativa de esclarecer o *status* taxonômico das quatro subespécies dentro de *Ctenocephalides felis* usando uma abordagem morfológica e molecular incorporada. Tais autores concluíram dentro deste gênero a existência de três subespécies africanas (*C. felis felis*, *C. felis. strongylus* e *C. felis. damarensis*), além disso reconheceram *C. felis orientis* como espécie, e manteve-se o nome *C. felis orientis*.

Os sifonapteros são insetos pequenos (2,0 - 3,0 mm em média), ápteros, possuem o corpo achatado lateralmente e revestido por cerdas dirigidas para trás, com coloração acastanhada e o terceiro par de patas adaptadas para o salto. O gênero *Ctenocephalides* possuem a característica de apresentar ctenídeos (= pentes), que compreende cerdas mais robustas e esclerosadas atribuída a fixação e locomoção entre os pelos do hospedeiro (LINARDI, 2011).

Segundo Linardi (2011), no dimorfismo sexual, as fêmeas se apresentam maiores que os machos e a parte posterior arredondada. Os machos, por sua vez, possuem extremidade posterior voltada para cima pois possuem o órgão copulador nos últimos dois segmentos. O aparelho bucal é sugador-pungitivo apenas na fase adulta. O repasto sanguíneo é realizado pelos dois sexos, para as fêmeas se torna importante para a maturação ovariana e oviposição (LINARDI, 2011), e para o macho sem o repasto sanguíneo, o epidídimo do mesmo é bloqueado com células epiteliais colunares dobradas, assim o repasto sanguíneo desempenha o

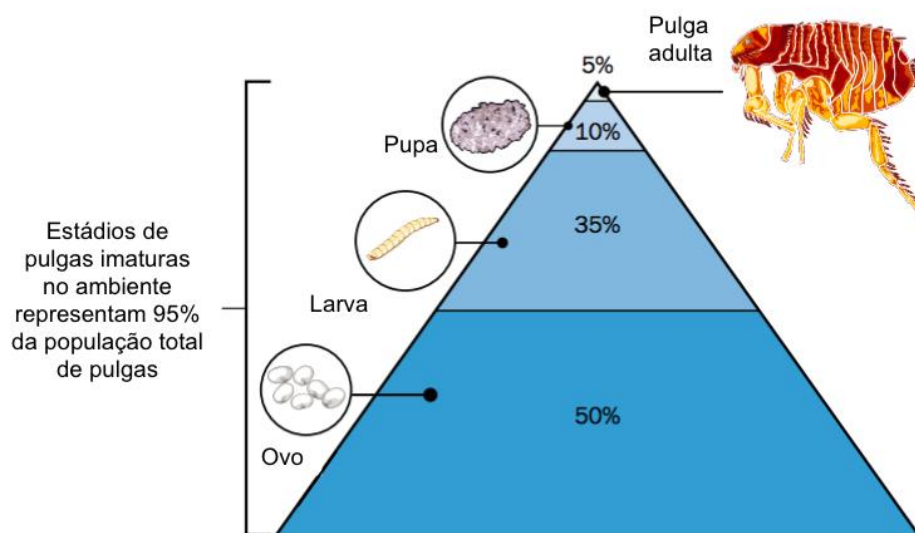
papel no estímulo a transferência de espermatozóides para o epidídimo (DEAN; MEOLA, 1997).

Uma vez sobre o hospedeiro, *C. felis felis* iniciará a hematofagia, que é feita pela introdução do aparelho bucal sugador através da epiderme, durante o dia quanto à noite. Após sua repleção, cerca de cinco minutos de sucção, a pulga prolonga sua alimentação até que gotículas de sangue começam a sair pela extremidade anal. Esse extravasamento de sangue serve de alimento às larvas (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Cada repasto dura cerca de cinco minutos, com duas a três refeições ao dia. Em um período de 48 horas, fêmeas e machos aumentam o peso do corpo em, respectivamente, 140% e 19%, respectivamente (DRYDEN; RUST, 1994), com as fêmeas podendo ingerir diariamente uma média de quase 3,6µL de sangue, o que corresponde a 15 vezes o seu próprio peso corpóreo (DRYDEN; GAAFAR, 1991).

Após o repasto sanguíneo, se inicia o acasalamento, e segundo Linardi e Guimarães (2000), ocorre dentro das primeiras oito a 32 horas após a saída do pupário, com as fêmeas copulando com vários machos. O pico da reprodução, ocorre entre quatro e nove dias após o início do processo alimentar, e a oviposição começa somente uma hora depois da primeira sucção (DRYDEN; RUST, 1994).

Pulgas são insetos com metamorfose completa (são holometábolos), com o ciclo biológico dividido em quatro estágios: ovo, larva, pupa e adultos (DRYDEN, 1993), com duração de aproximadamente 25-30 dias, dependendo exclusivamente das condições de temperatura, umidade e alimentação obtida das larvas (LINARDI; NAGEM, 1972), e Lima (1943) complementa que condições extremamente desfavoráveis, o ciclo biológico pode se prolongar por um ano ou mais. As pulgas adultas visualizadas no animal de estimação, representam apenas 5% de todo um ciclo, os outros 95% existem devido à presença de ovos, larvas e pupas no ambiente (Figura 1).



**Figura 1.** Pirâmide da população de pulgas mostrando as proporções das diferentes formas do ciclo de vida da pulga com pulgas adultas. Fonte: WRIGHT; ELSHEIKHA (2014).

Os ovos são branco perolado, ovais ou elipsoidais, extremidades arredondadas, um pouco transparentes, e possuindo 0,5 mm de comprimento (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). A oviposição ocorre exclusivamente sobre o hospedeiro sendo depositados sobre a pelagem e se apresentam com o cório úmido, assim que secam, os ovos caem da pelagem e se aglomeram em áreas de maior frequência do animal. Em um período de oito horas, 70% dos ovos não se encontram no hospedeiro (RUST, 1992).

Geralmente eclodem em um a 10 dias, dependendo da temperatura e umidade (LYONS, 1915). São extremamente sensíveis à dessecação, sendo 33% de umidade relativa letal as



mesmas. No entanto, toleram temperaturas acima de 27°C se a umidade relativa estiver superior a 50%, o que demonstra a dependência de seu desenvolvimento a este fator (DRYDEN; RUST, 1994).

Os padrões temporais de deposição de ovos são bimodais, com picos maiores no meio ou no final da escotofase (fase escura) e um pico menor no meio da fotofase (fase clara) (KERN *et al.*, 1992), logo durante a fase noturna a deposição de ovos é maior quando comparada a fase diurna. O número de ovos colocados varia com a espécie e estado de nutrição das fêmeas: *C. felis felis* coloca quase 1.800 ovos durante um período de 50 dias, e uma média diária de 50 ovos. (DRYDEN, 1989).

As larvas são eucéfalas, vermiformes, ápodas e de coloração esbranquiçada, portam o aparelho bucal mastigador e possuem três estádios larvais (L1, L2 e L3). Habitam tocas e ninhos de seus hospedeiros, de modo que se alimentam de excremento de pulgas adultas, detritos orgânicos, dejetos do hospedeiro e o cório dos ovos, podendo ser canibais entre si entre si (DRYDEN; RUST, 1994). Os requisitos nutricionais são mínimos de sangue seco para o seu desenvolvimento, no qual componentes sanguíneos (exceto fibrina), uma dieta sintética constituído por aminoácidos, gorduras, sais, açúcar e leveduras proporcionam o desenvolvimento larval (BRUCE, 1948) e após se alimentarem, o tubo digestivo passa a obter uma coloração de marrom a vermelho (TAYLOR *et al.*, 2017).

Durante cada estágio larval, o tamanho da larva é aumentado em que ao final do terceiro estágio se atinge o dobro de comprimento. As larvas passam por duas mudas até se tornarem pupa, podendo levar de 5 a 11 dias, pois seu desenvolvimento varia de acordo com a temperatura (RUST; DRYDEN, 1997). Larvas de primeiro estágio são portadoras de uma estrutura dorsal na cabeça e um espinho destinado a romper os ovos durante a eclosão (KERN *et al.*, 1992).

Microambientes protegidos conciliando temperatura moderada, umidade relativa e presença de alimento favorecem o desenvolvimento larval, no qual áreas expostas ao sol o dificultam, já que as mesmas podem se rastejar alguns centímetros se esquivando do contato com a luz solar, confirmando o fato de que os primeiros instares não se moveram para longe do seu local de eclosão. São capazes de tolerar temperaturas até 27°C e a umidade relativa superior a 50%, e são extremamente sensíveis à dessecação (DRYDEN; RUST, 1994).

Segundo Joseph (1981) e Bryon (1987) na sensibilidade à dessecação, as larvas possuem o comportamento que as possibilita encontrar locais seguros e escondidos para se protegerem contra a dessecação, pois todos os instares larvais são geotecnicaamente positivos (com movimento direcional orientado pela gravidade), fototacticamente negativas (movem-se em direção contrária à luz) e tigmotacticamente positivas (reconhecem estímulos tácteis e reagem ao contato mecânico) (KERN *et al.*, 1992), com isso, as larvas buscam a base dos carpetes domiciliares, se desenvolvem e podem se locomover por mais de 46 cm (DRYDEN, 1994). Kern *et al.*, (1992) complementam que se confinadas à areia, as larvas penetram até 2,3 mm, para se esquivar da luz.

A larva de terceiro estágio, deixa de se alimentar esvaziando seu trato digestivo e fabrica um casulo semelhante a seda, esbranquiçado e com uma fivela frouxa de 0,5 cm de comprimento, no qual é submetido a pupação (HUDSON; PRINCE, 1958). A larva em forma da letra "U" (ou de uma ferradura) inicia o desenvolvimento pupal cerca de 18 horas após a conclusão do casulo. O período de pré-pupação ocorre de três a quatro dias após a última fase larvária (LINARDI; NAGEM, 1972).

A pupa é o estágio de resistência. Ocorre a formação de um casulo feito de seda pegajosa, ovóide com meio centímetro de comprimento, coberto por resíduos do meio ambiente, geralmente encontrados no solo, vegetação, tapetes, mobiliário, e sobre a cama dos animais (SILVERMAN; RUST 1985). Podem ser nuas ou encasuladas, revestidas por material inorgânico cementado pelas glândulas salivares (SILVERMAN; RUST 1985). Desempenham

o papel de proteção durante o desenvolvimento do adulto pré-emergido, como por exemplo, proteção contra predadores, como formigas (SILVERMAN; APPLE 1984).

Após o desenvolvimento total da pupa, a pulga adulta pré-emergida se encontra dentro do casulo, o qual pode ser estimulada por pressão física/mecânica como: deslocamento do hospedeiro nas proximidades e pisoteio sobre os casulos, além do estímulo a presença de dióxido de carbono e calor (SILVERMAN; RUST 1985). O estágio de pupa dura de seis a sete dias e é mais resistente à dessecação, permanecendo inativos no casulo por até 140 dias em temperaturas de 11°C e UR de 75%, e possui capacidade de sobreviver por longos períodos dentro do casulo, se tornando extremamente importante pois são insetos que infestam hospedeiros móveis o qual não conseguem retornar com frequência ao seu ninho ou toca (DRYDEN; RUST, 1994).

Com 27°C e 80% de umidade relativa, as pulgas começam a surgir aproximadamente cinco dias após a pupação e atingem o pico de emergência em oito a nove dias (HUDSON, 1958). Se o adulto pré-emergido não receber qualquer estímulo de emergência, ele permanecerá inativo no casulo por várias semanas ou meses até que um hospedeiro adequado se aproxime (SILVERMAN; RUST, 1985). Segundo Linardi *et al.* (1997) a emergência dos adultos a partir das pupas pode chegar a 93,3%.

As fêmeas em especial podem ingerir uma média de 3,6 uL de sangue diariamente, cerca de 15 vezes o seu peso corporal (HINKLE *et al.*, 1991). Devido a essa alimentação, as fêmeas sobrevivem em média 11 dias e os machos 50 dias. Se não se alimentarem, podem ficar viáveis no ambiente por até 90 dias à espera de um hospedeiro (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

## 2.2 Epidemiologia

A alternância entre vida livre e parasitária tanto nos estágios imaturos e adultos cria a possibilidade de insetos sifonápteros participarem de diferentes elos na cadeia epidemiológica: parasitos propriamente ditos, vetores biológicos e hospedeiros invertebrados (LINARDI; GUIMARÃES, 2000). São considerados cosmopolitas, de distribuição mundial, além de parasitarem hospedeiros endotérmicos, especialmente mamíferos (94%), com os seguintes percentuais de infestação encontrados entre as ordens (Marshall, 1981): Rodentia (74%), Insectivora (8%), Marsupialia (5%), Chiroptera (5%), Lagomorpha (3%) e Carnivora (3%). Menos de 1% dos registros são encontrados em Monotremata, Edentata, Pholidota, Hyracoidea e Artiodactyla (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Em primatas, apenas o ser humano encontra-se como hospedeiro habitual. Segundo Traub (1980), a Ordem Rodentia situa-se como a mais importante, por integrar o maior número de espécies parasitadas, podendo atuar como reservatórios de infecções transmitidas por pulgas como peste, tifo murino e tularemia.

A distribuição geográfica das espécies está possivelmente relacionada com deriva continental e placas tectônicas e subsequente dispersão e redistribuição dos táxons hospedeiros (TRAUB, 1980), ressaltando que qualquer animal, seja ele ectoparasito ou mamífero, não reconhece os limites políticos entre localidades, municípios, estados ou outros países, ocorrendo nas dependências de biomas ou domínios morfoclimáticos, alguns deles em continuidade (TRAUB, 1980).

Segundo Linardi (2011) Em toda Região Neotropical, com exceção a porção mexicana, ocorrem 52 gêneros e cerca de 280 espécies de sifonápteros. O número de espécies e/ou subespécies assinalado no Brasil é pequeno, quando comparado com outros países do Novo Mundo de menor extensão territorial e ocorrência de biomas, observado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Distribuição geográfica das espécies de sifonápteros (Insecta) na região Neotropical.

Países	Número de espécies/subespécies	Referência
Panamá	37	(TIPTON; MÉNDEZ, 1966)
Venezuela	52	(TIPTON; MACHADO-ALLISON, 1972)
Colômbia	44	(MÉNDEZ, 1977)
México	134	MORALES-MUCIÑO; LLORENTE-BOUSQUETS, 1986)
Argentina	108	(AUTINO; LARESCHI, 1998)
Equador	41	(DPMIAC, 1998)
Chile	94	(HASTRITER, 2001)
Peru	81	(HASTRITER <i>et al.</i> , 2002)
Guiana Francesa	15	(BEAUCOURNU <i>et al.</i> , 1998)
Bolívia	29	(HOPKINS; ROTHSCCHILD, 1971)
Paraguai	17	(HOPKINS; ROTHSCCHILD, 1971)
<b>Brasil</b>	<b>32</b>	(LINARDI, 1987).

**Adaptado de:** LINARDI, P. M. Checklist de Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo. Biota Neotropica, 11 (suppl 1), 607–617, 2011.

*Ctenocephalides felis felis* embora tenha origem afrotropical, presume-se que foi introduzida no continente americano pela importação de gatos domésticos junto com os europeus na época das cruzadas (PETTER, 1973; BEAUCOURNU, 1990). Sendo considerado o ectoparasita mais disseminado entre cães e gatos, sobrepondo a disseminação de *C. canis* (RUST, 2005).

Gracia *et al.*, (2008) ressaltam que a espécie de pulga dominante na infestação de cães nos Estados Unidos da América, México e Europa Ocidental é *C. felis felis*, sendo que na América do Norte, a infestação por pulgas em cães e gatos é considerada como a ectoparasitose mais comum (RUST; DRYDEN, 1997). No Sudeste da África, as pulgas chegam a ser os parasitos mais comumente encontrados em animais domésticos, e Gracia *et al.* (2008) complementaram que independentemente da região geográfica, a *C. felis felis* é a principal pulga.

*Ctenocephalides canis* é uma espécie menos adaptável que *C. felis felis*, e ocorre com menor frequência, principalmente em áreas com altas ou baixas temperaturas (LINARDI; NAGEM, 1973)., instalando-se em poucas áreas, como Europa Central, Irlanda, Argentina (GRACIA *et al.*, 2008), e no Oriente, como a Coreia em que 28,4% dos cães de ar livre são infestados por *C. canis* (AHN *et al.*, 2018). Existem poucos registros em hospedeiros além dos canídeos (HOPKINS; ROTHSCCHILD, 1935), como por exemplo, em raposas vermelhas na Romênia (FOLEY *et al.*, 2017). No Brasil, foi relatado infestações com *C. canis* em apenas em nove estados: Amazonas, Bahia, Maranhão, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo (LINARDI; SANTOS, 2012).

Linardi (2017) relata que a subespécie com maior registro de ocorrências é *C. felis felis*, e a grande extensão geográfica do Brasil, permitindo diferenças climáticas regionais, seria fator relevante na distribuição dessas pulgas (LINARDI; NAGEM, 1973), consequentemente a floresta Atlântica aparece como o bioma que concentra o maior número de espécies de pulgas conhecidas, seguido pela floresta de Araucária (LINARDI *et al.*, 2005).

*Ctenocephalides felis felis* foi encontrada em 17 estados brasileiros como Alagoas, Amazonas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, São Paulo, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Pernambuco (incluindo o território de Fernando de Noronha), Santa Catarina, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul e Roraima (LINARDI; SANTOS, 2012).

Em todo o território brasileiro 63 espécies e/ou subespécies de pulgas foram assinaladas, incluídas em 19 gêneros e oito famílias (LINARDI, 2017) e o seu percentual de ocorrência pode ser visualizado na Tabela 2, conforme alguns estados brasileiros.

**Tabela 2.** Percentual de registro de ocorrência de *Ctenocephalides felis felis* nos estados brasileiros.

Estado	Percentual	Referência
Mato Grosso do Sul	15,9%	(LINARDI, 2017)
São Paulo	61,3%	(LINARDI, 2017)
Minas Gerais	54,8%	(LINARDI, 2017)
Rio de Janeiro	41,9%	(LINARDI, 2017)
Paraná	37,1%	(LINARDI, 2017)
Mossoró	11,3%	(FERREIRA <i>et al.</i> , 2009)
Rio Grande do Sul	39,3%	(OLIVEIRA; RIBEIRO, 1983)
Pernambuco	8,94%	(TORRES <i>et al.</i> , 2004)
Santa Catarina	33,9%	(LINARDI, 2017)
Manaus	72,7%	(CASTRO; RAFAEL, 2006)

Adaptado de: LINARDI, P. M. Checklist dos Siphonaptera do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Iheringia, Série Zoologia, 107(supl.): e2017148, 2017.

## 2.3 Importância Médico-veterinária

As pulgas possuem a capacidade de se alimentarem de seres humanos temporariamente, caso não consigam encontrar hospedeiros preferenciais como cão ou gato (ELSHEIKHAL; DAVID, 2014) podendo provocar uma reação alérgica cutânea em hospedeiros sensíveis como reação urticariforme alérgica às picadas, sendo importante realizar o diagnóstico diferencial para leishmaniose cutânea e dermatite cercariana, particularmente no início de suas manifestações (YOUSSEFI; RAHIMI, 2014).

A Dermatite Alérgica à Picada de Pulgas (DAPP) ocorre no período em que as pulgas durante seu repasto sanguíneo injetam saliva na pele do hospedeiro, o qual possui propriedades anticoagulantes. Algumas das proteínas presentes na saliva estimulam o sistema imunológico, o qual pacientes alérgicos reagem contra essa proteína, desencadeando uma reação de hipersensibilidade (ALVES, 2012). Os principais compostos alérgenos encontrados na saliva da pulga são: compostos histamínicos, enzimas, polipeptídeos e aminoácidos de diferentes tamanhos, que podem induzir reações de hipersensibilidade do tipo I, tipo IV e basofílicas (HALLIWELL *et al.*, 1987). Lee *et al.*, (1999) complementa duas principais proteínas responsáveis por ocasionar o quadro alérgico são MW 40 k e MW 12 k–18 k.

Um importante alérgeno salivar da pulga (Ctef1) foi identificado e clonado (McDERMOTT *et al.*, 2000). A atividade do fator ativador de plaquetas-acetil-hidrolase encontrou-se na saliva da pulga do gato, sugerindo que isso pode limitar a inflamação local e as respostas imunológicas do hospedeiro (CHEESEMAN *et al.*, 2003). Este antígeno Ctef1, apresentou-se como manifestação de alergias em 80% dos cães que tiveram contato com a saliva da pulga apresentando uma resposta IgE ao Ctef1. Este não é o único alérgeno, alguns cães alérgicos à pulga não reagem ao Ctef1 e nem todos manifestam a doença mediada por IgE (BIRCHARD *et al.*, 2008).

Hnilica (2012) destaca que os sinais clínicos e a localização envolvem principalmente a área lombossacral caudodorsal, na base da cauda, períneo e na face caudomedial das coxas (HARGINS; GINN, 2013). As lesões compreendem erupções pruriginosas, papulares e crostosas, com eritema secundário, seborréia, alopecia, escoriações, piodermite, hiperpigmentação e liquenificação (HNILICA, 2012). Guimarães *et al.*, (2001) complementam que em gatos, não há um padrão único de sintomatologia, pode-se apresentar como dermatite miliar pruriginosa, crostas, com escoriações secundárias, alopecia em regiões cervicais, lombossacral, caudomedial das coxas e abdômen ventral, bem como alopecia simétrica à limpeza excessiva e lesões do complexo granuloma eosinofílico.

As pulgas de forma geral por apresentarem um baixo grau de especificidade quanto a espécie hospedeira, concomitante a sua natureza hematófaga, tornam-se muito eficientes como vetores a transmissão de uma série de doenças importantes para animais selvagens, de companhia e domésticos, bem como para humanos (ELSHEIKHAI; DAVID, 2014), participando na transmissão de viroses (mixomatose), doenças bacterianas (tifo murino, bartonelose, salmoneloses, tularemia, peste), protozooses (tripanossomíases) e helmintoses (himenolepíases, dilepidiose, filarioses, infecções por tilenquídeos), bem como podem ser infectadas por outros artrópodes (LINARDI, 2004).

Na transmissão de patógenos virais, inclui-se o vírus da cinomose canina (TREBBIEN *et al.*, 2014), calicivírus felino (MENCKE *et al.*, 2009), parvovirose canina (MILLER *et al.*, 2000) e o vírus mixoma (KERR *et al.*, 2015).

O agente etiológico do tifo murino é *Rickettsia mooseri* (sinonímia de *R. typhi*), e possuem como reservatório os roedores. A transmissão ocorre através do contato com as fezes da pulga *X. cheopis*, especialmente quando são esmagadas pelos dedos. A riquetsia infecta e se reproduz no tubo digestivo da pulga, porém não produz ação patogênica sobre ele. Casos de tifo murino já foram relatados no Brasil, nos estados de Minas Gerais e São Paulo (LINARDI, 2004).

Através de técnicas moleculares, *Rickettsia felis* foi diagnosticada em pulgas *Ctenocephalides* spp. em Minas Gerais, sendo responsável pela nova riquetsiose que infecta humanos no México, Estados Unidos e Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2002). Horta *et al.*, (2010) relataram a presença de *R. felis* em humanos que possuíam acesso a uma colônia de pulgas experimental, embora o quadro clínico febril compatível com a febre maculosa clássica (febre, dor de cabeça e erupção cutânea) não tenha sido lembrada por nenhum dos humanos infectados, a riquetsiose pode se manifestar com uma variação de sintomatologia, tornando difícil a lembrança clínica (PÉREZ-OSORIO *et al.*, 2008).

Evidências de exposição a espécies de *Bartonella* foram encontradas em gatos de muitos países, particularmente em regiões com alta umidade e pulgas (PERSICHETTI *et al.*, 2018). *Ctenocephalides felis* é o vetor conhecido de *B. henselae*, *B. clarridgeiae* e *B. koehlerae* (BREITSCHWERDT *et al.*, 2010).

A doença da arranhadura do gato (DAG) é uma zoonose causada por *Bartonella henselae*, uma bactéria gram-negativa fastidiosa, hemotrópica. *B. henselae* é mantida e espalhada entre os gatos pela pulga do gato (*C. felis*); a transmissão para humanos ocorre por meio de arranhões e possivelmente mordidas de gatos (FLORIN, 2008), e, também pode ocorrer pelas fezes da *C. felis felis* (LINARDI, 2004), podendo sobreviver por pelo menos nove dias em pulgas infectadas (LAPPIN; HAWLEY, 2009), sendo capaz de causar sintomas semelhantes aos da gripe em humanos, angiomatose bacilar e peliose bacilar em pacientes imunodeficientes (KAUFMAN, 2017).

A característica clínica predominante da DAG é a linfadenopatia proximal ao local de uma arranhadura ou mordedura de gato; em alguns pacientes ocorre o surgimento de uma pápula no local inicial da ferida antes do início da linfadenopatia, e outros pacientes podem apresentar manifestações clínicas mais severas como neurorretinite, síndrome oculoglandular de Parinaud, osteomielite, encefalite ou endocardite (FLORIN, 2008).

A infecção por *B. henselae* pode ser particularmente grave para pacientes com condições imuno comprometedoras, como Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), nos quais lesões vasculares proliferativas (angiomatose bacilar e peliose bacilar) podem se desenvolver (REGNERY, 1995). As lesões são caracterizadas por proliferação capilar organizada em lóbulos, no qual as manifestações cutâneas são as mais frequentes. As lesões podem ser papulares, tumorais ou nodulares, múltiplas, únicas e podem se espalhar por todo o corpo (LEVELL *et al.*, 1995).

A peliose bacilar é caracterizada por lesões angioproliferantes associadas à dilatação capilar, formação de espaços cavernosos cheios de sangue no fígado, baço ou medula óssea (LOUTIT, 1997).

Nos gatos Bradbury e Lappin (2010) relatam que após inoculação experimental com *B. henselae* houve presença de febre que durou pelo menos 2 dias após a exposição a *C. felis* infectada. No entanto, a maioria dos gatos infectados com uma espécie de *Bartonella* permanecerá clinicamente normal (LAPPIN, 2020). Segundo Whittemore *et al.*, (2012) a ocorrência de febre durante a infecção por espécies de *Bartonella* é provavelmente influenciada por fatores do hospedeiro e por uma interação complexa do organismo. Linfadenopatia, endocardite, miocardite, hiperglobulinemia, osteomielite e uveíte são algumas manifestações de bartonelose em gatos (WHITTEMORE *et al.*, 2012)

*Dipylidium caninum* é um cestóide frequente em carnívoros domésticos que porventura podem parasitar o ser humano. A infecção das pulgas (*Ctenocephalides* spp., *P. irritans*) ocorre em suas fases larvárias, por meio da ingestão do ovo do cestódeo liberado junto com as fezes de cães, ou ainda pela ingestão direta das proglotes. No interior do pulicídeo (larvas ou adultos), os ovos de cestóides originam cisticercóides. Ao ser ingeridas, as pulgas liberam no tubo digestivo dos vertebrados, as larvas de cestódeos, quando ingeridas, as pulgas liberam no tubo digestivo dos vertebrados, as larvas de cestódeos, instaurando assim o ciclo biológico (LUNARDI, 2004).

Crianças que manuseiam cães, podem acidentalmente ingerir pulgas esmagadas ou restos de fezes ou conteúdo das pulgas, mostrando que o controle de ``*Ctenocephalides* spp.`` nos ambientes domiciliar e peridomiciliar podem atuar na diminuição do potencial de risco de dilepidiose na população infantil (LUNARDI, 2004).

*Acanthocheilonema reconditum* (Grassi 1889) é um helminto de cães transmitidos por vetores com distribuição global (OTRANTO *et al.* 2013). A pulga do gato, *C. felis*, é considerada o principal vetor desse filarióide (BRIANTI *et al.* 2012). Nesta espécie, Grassi e Calandruccio (1890) sugeriram que as larvas se desenvolvem até o estágio infeccioso nas células do tecido adiposo. É comumente considerado um parasita apatogênico, pois a maioria dos estudos não descreve a doença clínica associada à infecção confirmada (OTRANTO *et al.*, 2013).

A Peste Bubônica é, sem dúvida, a principal moléstia transmitida pelas pulgas, devido a sua morbidade, letalidade e registro histórico, tendo dizimado ¼ da população europeia no século XIX. O agente etiológico é a *Yersinia pestis* e a transmissão ocorre pela picada de pulgas infectantes após as bactérias reproduzem-se e bloquearem o proventrículo do inseto, atrapalhando sua alimentação, mas aumentando, significativamente, o número de picadas (LUNARDI, 2004). Os reservatórios são roedores domiciliares e silvestres, ainda que carnívoros silvestres e domésticos atuem como veículo de transporte de pulgas infectantes para roedores ou até mesmo para o homem (LUNARDI, 2004).

Mais de 200 espécies de pulgas já foram encontradas infectadas com *Y. pestis* (EISEN; GAGE, 2009). No Brasil, em áreas focais do Nordeste, as espécies *Polygenis bohlsi jordani*, *P. tripus* (parasitas de roedores silvestres), *X. cheopsis*, *P. irritans* e *C. felis* foram encontradas naturalmente infectadas pela *Y. pestis* (TAVARES *et al.*, 2012). *C. felis* é um vetor competente, mas sua capacidade vetorial é baixa em comparação com outra espécie de pulga (EISEN *et al.*, 2008), como a espécie *X. cheopsis*, por sua facilidade de bloqueio, larga distribuição geográfica e grande capacidade em picar o homem, é considerada o principal vetor (EISEN; GAGE, 2009). Além disso, a família de pulgas Rhopalopsyllidae inclui os gêneros *Delostichus* e *Polygenis*, que foram incriminados como vetores de *Y. pestis* responsáveis pela praga na sub-região Chile-Andina, na Argentina (Macchiavello, 1948; Dubyanskiy; Yeszhanov, 2016).

A leishmaniose visceral zoonótica (LVZ) é uma doença causada por *Leishmania chagasi* (sinóníma *L. infantum*), um protozoário amplamente distribuído nas Américas do Sul

e Central. As formas infecciosas do parasita (os promastigotas metacíclicos) se desenvolvem no intestino do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, principal vetor da LVZ (LAINSON; SHAW, 1988). Embora seja aceito que a transmissão natural da LVZ canina ocorra principalmente pela picada de um mosquito-pólvora infectado, outros mecanismos potenciais não podem ser descartados. Dentre os hospedeiros vertebrados incriminados na epidemiologia da LVZ, o cão é a principal fonte de infecção de flebotomíneos e também o principal reservatório doméstico de *L. chagasi* (COUTINHO; LINARDI, 2007).

Todos os reservatórios conhecidos de LVZ são parasitados por pulgas, mais comumente por *C. felis felis* (LINARDI; NAGEM, 1973; LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Segundo Dryden e Gaarfar (1991), o comportamento alimentar de *C. felis felis*, faz com que os cães realizem o comportamento de escovação, na tentativa de se aliviarem do desconforto removendo as pulgas com os dentes (HINKLE *et al.*, 1998). Estas ações, em conjunto com os gestos submissos comuns de lambar e acariciar o focinho de outros cães, facilitam a ingestão do conteúdo do intestino da pulga pelo animal, e isso pode atuar como um modo de transmissão na LVZ canina (COUTINHO; LINARDI, 2007).

Além disso, outros patógenos podem ser transmitidos como *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (Mhm; anteriormente referido como a forma pequena ou variante Califórnia de *Haemobartonella felis*) e *Mycoplasma haemofelis* (Mhf; anteriormente referido como a forma grande ou variante de Ohio de *H. felis*) (NEIMARK *et al.*, 2005). É uma bactéria de forma cocóide e epieritrocitário (TASKER, 2004), responsável pela micoplasmose felina ou micoplasmose haemotrópica felina (MHF) ou até anemia infecciosa felina que na maioria das vezes apresenta-se de forma subclínica, podendo ocorrer de forma aguda resultando em anemia hemolítica que varia de leve a grave (NEIMARK *et al.*, 2001), sendo transmitida através de picada de pulgas, carrapatos, e sangue infectado (THRALL *et al.*, 2007).

As infecções por hemoplasmas felino são geralmente mais comuns em gatos machos não castrados com acesso externo e abscessos por mordedura de gato. A infecção por *Candidatus M. haemominutum* é geralmente mais prevalente em gatos mais velhos, possivelmente porque os gatos têm um risco crescente de adquirir infecção subclínica crônica ao longo da vida (TASKER *et al.*, 2018), e em cães, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* encontra-se como o principal vetor de *M. haemocanis* (SENEVIRATNA *et al.*, 1973).

Na infecção por *Candidatus M. turicensis* geralmente a anemia é incomum. Pressupõem-se que a doença concomitante e a imunossupressão estejam ambas envolvidas na patogênese da doença de *Candidatus M. turicensis*, semelhante a *Candidatus M. haemominutum* (TASKER *et al.*, 2018). Determinar a patogenicidade de *Candidatus M. haemominutum* e *Candidatus M. turicensis* em gatos naturalmente infectados pode ser difícil, pois coinfeções com outras espécies de hemoplasma costumam ocorrer, confundindo associações de doenças (TASKER *et al.*, 2018).

Bleich (1988) relata a possibilidade de transmissão do vírus da Leucemia Viral Felina (FeLV) por pulgas através da sucção de sangue contaminado, transmitido a outros animais através da picada, sendo uma transmissão indireta que é transmitida por um vetor. Contudo,

Vobis *et al.*, (2003) demonstrou em seu estudo que uma pulga alimentada por 24 horas com sangue positivo para FeLV, excreta o RNA viral em suas fezes, além de ser participar da transmissão direta do vírus pela picada da pulga. Podendo ser transmitido pela ingestão da pulga e excretado com as fezes e/ou durante a atividade de sucção do sangue. Mas segundo Hartmann (2020), a transmissão por pulgas não parece desempenhar um papel importante na natureza.

## 2.4 Controle

Estratégias alternativas para controlar pulgas incluem controle biológico, saneamento e modificações ambientais (WITCHEY-LAKSHMANAN, 1999), envolvendo tratamentos químicos de superfícies internas e externas, bem como o tratamento do animal de estimação (COLES; DRYDEN, 2014).

Os inseticidas existem em diversos tipos de formulações e métodos de aplicação como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, “sprays” colares impregnados, pipetas com aplicações do tipo “spot-on”, “strip-on” e “pour-on”, sendo empregados no controle dos principais ectoparasitos de cães e gatos (SCOTT *et al.*, 2002), além do uso de comprimidos administrados oralmente (SNYDER *et al.*, 2007).

Nos últimos anos, o foco da pesquisa e desenvolvimento tem sido o tratamento do animal de estimação, matando rapidamente as pulgas adultas e evitando que o ciclo de vida da pulga se mantenha (RUST, 2017).

Caso um animal de estimação encontre-se infestado, o controle de pulgas deve ser realizado no animal e no ambiente, pois se não realizado, o animal poderá re-infestar o ambiente. E caso no domicílio haja a presença de mais animais todos devem ser tratados ao mesmo tempo, ou as pulgas farão a migração do animal tratado para o não tratado (RUST, 2005).

Dada a alta prevalência de pulgas com potencial vetorial, o controle eficaz representa um objetivo principal na medicina veterinária e na saúde única (HALOS *et al.*, 2014). Porém, as infestações por pulgas muitas vezes persistem ou reaparecem, mesmo após a aplicação de produtos para controle pulicida (COLES; DRYDEN, 2014), e muitas vezes esses fatores que influenciam a eficácia de um tratamento está compreendido no principal interessado, o dono do animal (COLES; DRYDEN, 2014).

Uma das principais razões de insucesso quando relacionado ao dono do animal, é a falta de comprometimento, que incluem: aplicação pouco frequente do produto ou intervalo estendido de aplicação; tratamento realizado somente quando o tutor visualiza pulgas no animal; falha em tratar todos os animais presentes na mesma casa e, suspensão do tratamento em períodos de inverno, mesmo com as pulgas vivas. Além disso, pode-se incluir: dosagem incorreta e técnica de administração incorreta (HALOS *et al.*, 2014).

Halos *et al.*, (2014) destacam que o tratamento regular em hospedeiros pode interromper o ciclo de vida das pulgas e fornecer controle, se as regras fundamentais forem seguidas como: aplicação eficaz, intervalos de tratamento corretos e prevenção a reinfeção de novas fontes de pulgas, incluindo não somente a parte visível da infestação, ou seja pulgas adulta, mas também os estágios imaturos.

#### **2.4.1 Controle mecânico**

A primeira etapa para realização do controle mecânico nos animais domésticos de pelo curto é a higiene associada com a catação manual frequente. Rust (2005), revelou que em gatos, as áreas de cabeça e o pescoço dos animais infestados possuem o maior número de pulgas, podendo chegar a 29,4% na cabeça e 26,6% no pescoço.

O método de controle mecânico visa alterar e/ou remover as condições que propiciam o desenvolvimento de populações em um ambiente interno e externo (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

O controle mecânico quando utilizado de forma isolada pode não ser o método mais efetivo, contudo programas de controle que usam como base a combinação dos métodos mecânico (manejo das condições ambientais) e químicos (uso adequado de produtos seletivos), conseguem um resultado mais eficaz (PEREIRA; SANTOS, 1998).

No ambiente interno, o item essencial é a limpeza com a remoção de matéria orgânica de tacos, tábuas, carpetes, tapetes e móveis, podendo ser realizado com a utilização de um



aspirador de pó, que é eficaz na remoção de ovos, larvas e pupas que estiverem sobre o tapete também poderão ser afetadas. Recomenda-se a aspiração de forma semanal em toda a casa, especialmente nos locais de repouso dos animais, que pode ser aspirado a cada dois dias (HNILICA, 2011), além de roupas e objetos dos animais, como camas, roupas e cobertas (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). Segundo Miller *et al.* (2000) a aspiração pode eliminar 63% das pupas em tapetes, e Hink e Needham (2007) em estudos comprovaram que aspirar pulgas adultas consegue-se uma mortalidade de 96%, e de 100% com pupas e larvas. O estímulo mecânico do aspirador estimula a emergência dos adultos para o ambiente, facilitando sua aspersão (DRYDEN; PRESTWOOD, 1993).

Quanto ao ambiente externo, as áreas protegidas de luz solar e solo úmido, proporcionam condições adequadas para o desenvolvimento dos estágios imaturos de pulgas, assim como locais com gramado, folhagens e matéria orgânica e que sejam frequentados pelos animais (DRYDEN, 1993). Medidas como varrer o canil, limpar a vegetação, impedir a circulação de biomassas para adubo, manejar o solo e evitar o contato do animal com animais externos ao domicílio ajudam a reduzir a população de pulgas (BATISTA *et al.*, 2012).

## 2.4.2 Controle químico

Um dos alvos no controle de ectoparasitos em animais domésticos como cães e gatos é *C. felis felis*, em virtude das injúrias causadas aos seus hospedeiros. Atualmente os produtos veterinários comerciais contêm os dois ativos, inseticida adulticida, como por exemplo, fipronil, imidaclopride, selamectina, isoxazolinas e os reguladores de crescimento de insetos RCI), como: lufenuron, piriproxifen e S-metoprene (RUST, 2020).

Organoclorados, organofosforados e carbamatos atuam inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase, em que os organofosforados disputam com a acetilcolina pelos sítios de ligação da acetilcolinesterase, provocando uma consecutiva estimulação nervosa, propiciando a morte do inseto por paralisia, contudo o processo é reversível; os carbamatos provocam uma inibição irreversível da acetilcolinesterase, possuindo o mecanismo de ação similar aos do organofosforados (MASON *et al.*, 1984). Na ausência da acetilcolinesterase, a acetilcolina liberada se acumula, provocando um colapso no sistema nervoso central, com hiper estimulação parassimpática, e paralisia neuromuscular (TAYLOR, 2001).

Os organofosforados quando usados para tratamento do ambiente onde há a presença de mamíferos, incluindo o homem, pode ser extremamente tóxico, se fazendo necessário o uso com precaução, pois são produtos usados contra larvas de moscas e estádios imaturos de pulga, contudo poucos continuam sendo usados no tratamento animal (TAYLOR, 2001).

Os principais compostos carbamatos comercializados no Brasil são: carbaril e propoxur, pois apontam baixa toxicidade para mamíferos (TAYLOR, 2001) disponíveis em formulações de talcos e coleiras para animais de companhia (SCOTT *et al.*, 2002), e o fenoxycarb atua como RCI prevenindo o desenvolvimento embrionário no ovo da pulga, desenvolvimento larval e emergência do adulto, caracterizado por não ser neurotóxico (GRENIER; GRENIER, 1993).

O principal representante das formamidinas é o amitraz, atuando na enzima monoaminoxidase (MAO) e nos receptores de octopamina dos ectoparasitos, gerando uma hiperexcitabilidade neuronal tendo como efeito a morte (NATHANSON, 1985). Segundo Floz *et al.*, (1986), o amitraz possui atividade repelente de moderada a baixa para *C felis* em cães e elevada eficácia no controle de *Rhipicephalus sanguineus* (RIBEIRO *et al.*, 2006) e, demonstrou eficácia no controle de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* (FERNANDES *et al.*, 2006).

Devido à sua atividade em artrópodes, o amitraz é utilizado na medicina veterinária para controlar carrapatos pois possui atividade frente à ácaros em cães, cabras, bovinos, porcos

e ovelhas, porém para pulgas não possui a mesma eficácia quando comparado para carrapatos (KITA *et al.*, 2017).

Os piretróides são um grupo químico de inseticidas sintéticos mímicos das piretrinas, obtidos por síntese a partir da extração com solvente das flores secas do crisântemo (*Chrysanthemum cineræfolium*, anteriormente conhecido como Piretro, e *Chrysanthemum coccineum*) (VALLE, 2000). A estrutura básica é embasada no ácido crisantêmico. As flores da planta são colhidas logo após a floração e, em seguida, secas ou pulverizadas, ou os óleos são extraídos das flores usando solventes (TODD *et al.*, 2003).

O modo de ação dos piretróides é o mesmo nos mamíferos e nos insetos, interrupção na bomba de sódio dos neurônios (NARAHASHI, 1996; RAY, 2000); causando interferência na propagação de impulsos em nível neuronal, por isso são chamados de neurotóxicos (HÉNAULT-ETHIER, 2015), e quando não presentes em quantidades fatais aos insetos, continuam a agir como repelente (REIGART; ROBERTS, 2013) podendo ser usados na forma de ``spray`` e aerossóis contra uma ampla variedade de insetos voadores (TODD *et al.*, 2003; VALLE, 2000).

Além disso, podem atuar deprimindo a função nervosa e causando eventualmente paralisia através da potencialização do ácido gama-aminobutírico (GABA) que é um neurotransmissor inibitório (MATOS; BALTHAZAR, 2008).

Podem ser utilizados em ambientes domésticos, comerciais, industriais, agrícolas, veterinário, área médica e saúde pública. Na área agrícola, seu uso se faz principalmente para o controle de insetos em plantações e armazenamento de grãos (FEO *et al.*, 2012), e no uso doméstico, para o controle de baratas, mosquitos e formigas, os quais as substâncias deltametrina, permetrina, e cipermetrina são alguns exemplos de piretróides utilizados nesse controle agrícola e doméstico. (GRISOLIA, 2005).

Na veterinária, se utiliza no controle de ectoparasitos, como por exemplo, carrapatos e pulgas, e na medicina humana no controle de ectoparasitos como os piolhos, e na saúde pública no combate aos vetores de algumas doenças como dengue e malária (UJIHARA, 2012).

As lactonas macrocíclicas: avermectinas (ivermectina, abamectina, doramectina, eprinomectina e selamectina) e milbemicinas (milbemicina e moxidectina) são oriundas da fermentação de dois fungos *Streptomyces avermitilis* e *S. cyanogriseus*, respectivamente. Há indicação em bula para o uso em animais de companhia as seguintes lactonas: ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina, selamectina e eprinomectina (NOLAN; LOK, 2012). Atuam inibindo a transmissão de sinais nas junções neuromusculares e hiperpolarização, por meio da potencialização da ação do GABA e do aumento da permeabilidade da membrana ao cloro promovendo ataxia e morte (TAYLOR, 2001).

A molécula spinosad, apesar de não ser estruturalmente um neonicotinóide (se trata de um macrólido tetracíclico, do grupo das espinosinas), derivado da fermentação do fungo *Saccharopolyspora spinosae* (WILLIAMS; VALLE; VIÑUELA, 2003). Atua igualmente nos mesmos receptores, mas em sítio distinto de ligação. Por possuir rápida absorção oral, se encontra disponível em comprimidos mastigáveis para cães e gatos, proporcionando proteção por 30 dias, com ação adulticida e redução na produção de ovos (LYNN, 2009)

Dentre os fenilpirazoles, há o fipronil, cujo mecanismo de ação é inibir o influxo de íons de cloreto pelo GABA, um neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central, presente no inseto, fazendo com que ocorra uma hiperexcitação levando-o a morte (BLACKBURN; LINDSAY, 2003). Específico para invertebrados, matando pulgas e carrapatos por um mês ou mais, pois se dissolve na oleosidade da pele e se acumula nos folículos pilosos e glândulas sebáceas, o que permite sua contínua liberação (MATOS; BALTHAZAR, 2008), possuindo alta persistência no ambiente (ZALUSKI, 2014).

Devido sua aplicação tópica e poder causar a morte de insetos por contato, não exige que as pulgas se alimentem nos animais para que entrem em contato com o produto, sendo

recomendado para animais com dermatite alérgica (TAYLOR, 2001; BRANDÃO, 2004). Nessa classe também há o piriprol, com atividade inseticida e acaricida, porém que o não se encontra nenhum produto comercial no mercado brasileiro (PATEL; FORSYTHE, 2008).

Os reguladores de crescimento de inseto (RCI) atuam na interrupção de estádios do ciclo de vida da pulga, não tendo efeito adúltica direto, podendo ser associados a um adúltica em programa de controle integrado (PAGE, 2008), tendo como alvo outros órgãos que não o sistema neural, e atuam de forma lenta e gradual afetando o crescimento e desenvolvimento do inseto (GRAF *et al.*, 2004).

Por atuarem a nível de fenômenos específicos do inseto, apresentam maior grau de seletividade entre insetos e vertebrados, sendo mais seguros, sem efeitos biológicos no hospedeiro (WALL; SHEARER, 2001) com menor toxicidade a mamíferos e vertebrados. Apresentam rápida fotodegradação e dissipação e não persistência de resíduos em sedimentos (MARTINS *et al.*, 2008). Podem ser divididos em inibidores da síntese de quitina (benzoilfeniluréias), inibidores da deposição de quitina (triazina/derivados de pirimidina) e análogos do hormônio juvenil (RUST; DRYDEN, 1997).

As benzoilfeniluréias atuam impedindo a síntese e deposição de quitina, componente principal da cutícula do exoesqueleto do inseto. Com isso, o desenvolvimento e eclosão dos ovos são interrompidos, ou como consequência morrem em estágio de larva, pupa ou adultos inviáveis – carraças (MEHLHORN, 2008). A molécula lufenuron é disponibilizada via oral, isolada ou em associação a endectocidas, podendo ainda ser administrada por via subcutânea e sua disposição no tecido adiposo confere proteção até seis meses (BEUGNET; FRANC, 2012).

Os juvenóides atuam como análogos do hormônio juvenil, atuam impedindo a metamorfose da larva em pupa, permanecendo em estágio imaturo (BAYNES, 2009). A molécula mais utilizada é o metopreno, sob a forma de isômero ativo S-metopreno, aparecendo associado a adúlticas (nomeadamente fipronil) em forma de “spot-on”, (BEUGNET; FRANC, 2012). O piriprofixeno se apresenta sob a forma de “spray”, para instalações (associado a ciflutrina), se tornando uma ferramenta útil no controle ambiental, devido a sua aplicação no lar de animais de companhia e seu uso em carpetes inibindo a reprodução por um período de seis meses (LYNN, 2009).

Quanto as semicarbazonas se destaca a molécula metaflumizona, um dos mais recentes inseticidas na prevenção e controle de pulgas. Age majoritariamente por ingestão pelo parasito, mais do que por contato (PAGE, 2008), e atua sobre os canais de sódio dos insetos causando hiperexcitação e como consequência, a morte (SALGADO; HAYASHI, 2007). Se apresenta como “spot-on”, isoladamente para gatos, ou associado a amitraz, para cães (PAGE, 2008). No entanto, o uso de uma formulação “spot-on” com 15% amitraz e 15% metaflumizona demonstrou reações medicamentosas, semelhante à identificadas em caso de pênfigo foliáceo (MUELLER *et al.*, 2011). Larsson e Lucas (2016), relataram que o uso de medicamentos com associação de metaflumizona pode predispor a dermatoses autoimunes em cães como o pênfigo.

Indoxacarb, um dihidropirazol, em particular uma oxadiazina, se apresenta em “spot-on” para gatos atuando como prevenção e controle de pulgas, reduzindo a contagem de pulgas adultas, produção de ovos e emergência de adultos (ARMSTRONG *et al.*, 2015.), e para cães é associado a permetrina. Para atuar, o indoxacarb tem de ser bioativado pelas enzimas do inseto, bloqueando os canais de íons de sódio (BEUGNET; FRANC, 2012).

Os neonicotinóides constituem um grupo descoberto a partir da molécula de nicotina, atuam seletivamente no receptor nicotínico de acetilcolina do inseto, hidrolisada pela acetilcolinesterase, não sendo degradados imediatamente. Portanto, os impulsos nervosos são transmitidos constantemente, gerando uma hiperexcitação do sistema nervoso (SCARPELLINI; ANDRADE, 2010). Devido a diferenças estruturais entre esses receptores

nos insetos e nos vertebrados, são moléculas de grande segurança no hospedeiro (TAYLOR, 2001). No Brasil possuem como principais ativos: nitempiram, imidacloprida e dinotefuran.

As isoxazolinás se apresentam como uma nova classe de compostos com atividade antiparasitária. Tais compostos possuem atividade contra o ácido gama-aminobutírico (GABA) e canais de cloro ativados por glutamato com seletividade significativamente maior pelos neurônios do inseto do que sobre os neurônios de mamíferos (OZOE, 2010). O principal representante dessa classe é o fluralaner, onde estudos *in vivo* mostraram que, após uma única administração por via oral a cães, o composto fornece atividade de eliminação de pulgas e carrapatos persistente durante 12 semanas (ROHDICH *et al.*, 2014). Outros compostos representam esta classe como o afoxolaner, sarolaner e lotilaner (KUNKLE *et al.*, 2014).

### 2.4.3 Controle com química verde

Desde 2008, o Brasil passou a ser o maior consumidor de praguicidas do mundo, foram utilizadas mais de 700 mil toneladas de produtos químicos (PEDLOWSKI *et al.*, 2012). Atualmente, o uso de inúmeros inseticidas não estão sendo mais permitido em vários países, por exibirem altos níveis de toxicidade e/ou devido a persistência no ambiente. Esta proibição vem gerando uma procura por novas moléculas, naturais ou sintéticas, para controle de ectoparasitos (SANTOS *et al.*, 2007).

Na União Europeia, no período de 2001 a 2008, 704 substâncias ativas foram proibidas, dos quais 26% eram inseticidas, 23% herbicidas e 17% fungicidas (KARABELAS *et al.*, 2009). Além da União Europeia, as agências da ONU (Organização das Nações Unidas) para saúde, OMS (Organização Mundial da Saúde), e para alimentação e agricultura, FAO (``Food and Agriculture Organization of the United Nations``, 2015), afirmam que há consenso crescente de que é preciso "restringir severamente" o uso de neonicotinóides, por representarem "alto risco ao meio ambiente".

Produtos ectoparasiticidas demonstraram ser seguros e eficazes quando usados conforme as instruções, e podem eliminar a necessidade de tratar ambientes internos e externos (RUST, 2005). Por serem substâncias tóxicas os praguicidas exigem utilização criteriosa e demandam diagnóstico preciso, para além de cuidados especiais de manuseio e aplicação (GONÇALVES, 2016). No entanto, preocupações de segurança relacionadas aos seus efeitos em espécies não-alvo e resíduos deslocáveis começaram a ser questionadas. (GLEADHILL, 2004).

O sucesso atribuído ao atual modelo agrícola predominante não considera as externalidades negativas sobre o ambiente e sobre a saúde dos trabalhadores rurais (PORTO; SOARES, 2012). Como por exemplo, consumo de água contaminada por pesticidas sobre a saúde humana e animal varia de acordo com o princípio ativo ingerido, tais danos podem envolver: problemas no sistema nervoso central e no fígado, alterações nos sistemas cardiovascular e reprodutivos, problemas oculares, nos rins e no baço (WELL, 2015).

Com isso, podemos destacar a química verde ou sustentável com a concepção, desenvolvimento e implementação de produtos e processos químicos que reduzem ou eliminem o uso e geração de substâncias perigosas para saúde humana e meio ambiente (CLARK *et al.*, 2012). Na perspectiva do desenvolvimento sustentável, espera-se que governos, universidades e empresas busquem maximizar a eficiência no uso dos recursos naturais por meio de atividades associadas ao conceito Química verde (CARIOCA *et al.*, 2010).

A palavra verde é sinônimo de limpo e tem um tom político; a química é o centro da questão ambiental, sustentabilidade ambiental, social e econômica que traduz o futuro desejado; e a química verde reflete a união dessas idéias (CARIOCA *et al.*, 2010). Dentro dos princípios fundamentais da química verde, encontra-se o uso de matérias-primas renováveis: o uso de biomassa como matéria-prima deve ser priorizado no desenvolvimento de novas

tecnologias e processo; e a criação de produtos biodegradáveis: os produtos químicos precisam ser projetados para a biocompatibilidade. Após sua utilização, ele não deve permanecer no ambiente, degradando-se em produtos inócuos (CARIOCA *et al.*, 2010).

Com base nos dados acima, podemos destacar um dos produtos dentro da química verde, que são os provenientes da natureza; substâncias químicas oriundas do metabolismo secundário de espécies vegetais, que podem desempenhar o papel defensivo inibindo a ação de insetos, por inanição, redução na oviposição e/ou afetar o crescimento larval (ISMAN, 2006).

Nesse contexto, segundo VASCONCELOS *et al.* (2006), uma alternativa que vem sendo retomada para o controle de pragas é o uso de metabólitos secundários presentes em algumas plantas, que são chamadas de “plantas inseticidas”, no qual encontram-se alguns óleos essenciais e os extratos vegetais (SAITO; SCRAMIN, 2000).

Segundo Gelinski *et al.* (2007) os óleos essenciais são fontes em potencial de substâncias biologicamente ativas, derivados das partes aromáticas das plantas, como flores, raízes e folhas, usando um processo chamado destilação a vapor. Essa câmara de vapor libera uma corrente de ar capaz de exprimir os compostos aromáticos do material vegetal na forma de óleo. Já os extratos vegetais são obtidos por mistura a um solvente (água ou álcool), o material vegetal permanece embebido em um solvente por longos períodos, para que seu aroma ou propriedades medicinais sejam infundidos no líquido.

O óleo essencial é uma mistura complexa de compostos químicos, voláteis, solúveis em gordura e raramente coloridos (BAKKALI *et al.*, 2008; BASER; BUCHBAUER, 2015), que podem ser obtidos de diferentes órgãos da planta como botões, flores, sementes, raízes, cascas (KHATER, 2012); e pode ser extraído por hidrodestilação (DOS SANTOS CAVALCANTI *et al.*, 2015), sendo o método mais comum (TRAN, 2019) ou expressão de pericarpo de frutos cítricos, porém há outros métodos de extração como a *enfleurage*, extração por CO<sub>2</sub> supercrítico, técnica muito utilizada na indústria (SAITO; SCRAMIN, 2000).

A composição química é baseada em terpenos (mono e sesquiterpenos) e/ou fenilpropanóides, e tem se mostrado promissores devido ao seu potencial inseticida devido a sua composição de bioativos (BENELLI; PAVELLA, 2018), podendo variar devido os diferentes períodos de crescimento da planta (ABDI *et al.*, 2019).

O modo de ação de muitos óleos essenciais ou seus componentes ainda está sob investigação, mas há muitas evidências de um efeito tóxico no sistema nervoso do inseto. Um exemplo é o terpinen-4-ol, um monoterpene que inibe a artrópode acetilcolinesterase (MILLS *et al.*, 2004; LOPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010).

A natureza hidrofóbica dos óleos pode causar efeitos mecânicos ao romper as ceras cuticulares e bloquear os espiráculos, levando à morte do parasita por estresse hídrico ou sufocação (BURGESS, 2009) sendo capaz de afetar a taxa de crescimento, reprodução, longevidade e oviposição de insetos (CASTILHOS *et al.*, 2018), podendo também apresentar efeitos de citotoxicidade (POWERS *et al.*, 2018), fototoxicidade (ERDOGAN ELUIZ *et al.*, 2017), mutagenicidade e carcinogenicidade (BAKKALI *et al.*, 2008).

Na medicina veterinária, os óleos essenciais para o controle de ectoparasitas vem ganhando espaço por apresentarem alta eficácia, múltiplos mecanismos de ação e baixa toxicidade em vertebrados não-alvo (ELLSE; WALL, 2014), além disso, os potenciais impactos adversos na saúde pública e no ambiente estão incentivando o aumento da pesquisa sobre opções terapêuticas alternativas, incluindo óleos essenciais (ISMAN, 2008).

#### **2.4.4 Uso de óleos essenciais frente a pulgas**

A utilização de óleos essenciais no combate à pulga *Ctenocephalides felis felis* vem sendo realizada por diversos pesquisadores e, nos mais diversos tipos de óleos essenciais, como por exemplo, óleos de *Cinnamomum osmophloeum* (da folha), *Taiwania cryptomerioides* (do

cerne) e *Plectranthus amboinicus* (SU *et al.*, 2014), *Ziziphora tenuiore* e *Myrtus communis* em *Pulex irritans* (GHAVAMI *et al.*, 2016), *Schinus molle* (BATISTA *et al.*, 2016), *Alpinia zerumbet*, *Cinnamomum* spp., *Laurus nobilis*, *Mentha spicata*, *Ocimum gratissimum* e *Cymbopogon nardus* (DOS SANTOS *et al.*, 2020), óleo de *Syzygium aromaticum* (LAMBERT *et al.*, 2020), *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* e *Cinnamomum* spp (CONCEIÇÃO *et al.*, 2020), *Illicium verum* e *Pelargonium graveolens* (FREITAS *et al.*, 2021),

Além disso estudos com óleos essenciais de cascas cítricas em pó (ELHAG, 2000) e, cascas de frutas cítricas (WEINZIREL; HENN, 1992) também apresentaram resultados frente a *Ctenocephalides felis felis*. Isso nos mostra que os OE's são de grande importância para o controle de insetos e ácaros. Alguns estudos relataram a ação eficiente desses produtos, com alto efeito residual, o que é desejado pela indústria fitoterápica de produtos para tratamento de animais (GEORGE *et al.*, 2014).

Podemos quantificar tais estudos conforme o tipo de atividade/teste, autor e ano de pesquisa (Tabela 3).

**Tabela 3.** Plantas cujo seu óleo essencial demonstrou atividade inseticida ou repelente frente a pulgas (Siphonaptera: Pulicidae).

Óleo Essencial	Constituinte majoritário	Espécie de Pulga	Teste	Estágio(s)	Referência
<i>Cinnamomum osmophloeum</i> (Lauraceae)	Trans-cinamaldeído	<i>C. felis felis</i>	R	Adulto	Su <i>et al.</i> , (2014)
<i>Taiwania cryptomerioides</i> (Cupressaceae)	$\alpha$ -cadinol	<i>C. felis felis</i>	R	Adulto	Su <i>et al.</i> , (2014)
<i>Plectranthus amboinicus</i> (Lamiaceae)	Timol	<i>C. felis felis</i>	R	Adulto	Su <i>et al.</i> , (2014)
<i>Myrtus communis</i> (Myrtaceae)	$\alpha$ -pinene; 1,8 cineol; Limoneno; Linalol	<i>Pulex irritans</i>	R	Adulto	Ghavami <i>et al.</i> (2016)
<i>Ziziphora tenuiore</i> (Lamiaceae)	Timol; Geraniol	<i>Pulex irritans</i>	R	Adulto	Ghavami <i>et al.</i> (2016)
<i>Schinus molle</i> (Anacardiaceae)	Lupenona; Octadecil-vinil-éter	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Batista <i>et al.</i> , (2016)
<i>Syzygium aromaticum</i> (Myrtaceae)	Eugenol; $\beta$ -cariofileno	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Lambert <i>et al.</i> , (2020)
<i>Mentha spicata</i> (Lamiaceae)	Carvona	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Ocimum gratissimum</i> (Lamiaceae)	Eugenol; Eucaliptol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Alpinia zerumbet</i> (Zingiberaceae)	4-terpineol; Eucaliptol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Cinnamomum</i> spp. (Lauraceae)	(E)-cinamaldeído	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Laurus nobilis</i> (Lauraceae)	Eucaliptol; Linalol; Acetato de $\alpha$ terpineol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Cinnamomum cassia</i> (Lauraceae)	Cinamaldeído	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Conceição <i>et al.</i> , (2020)
<i>Thymus vulgaris</i> (Lamiaceae)	Timol; Ocimeno	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Conceição <i>et al.</i> , (2020)
<i>Origanum vulgare</i> (Lamiaceae)	Timol; Carvacrol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Conceição <i>et al.</i> , (2020)
<i>Alpinia zerumbet</i> (Zingiberaceae)	4-terpineol; Eucaliptol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Cinnamomum</i> spp. (Lauraceae)	(E)-cinamaldeído	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Cymbopogon nardus</i> (Poaceae)	Citronelal; Geraniol; Citronelol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Dos Santos <i>et al.</i> (2020)
<i>Illicium verum</i> (Schisandraceae)	(E)-Anetol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Freitas <i>et al.</i> , (2021)
<i>Pelargonium graveolens</i> (Geraniaceae)	Citronelol; Geraniol	<i>C. felis felis</i>	M	Adulto e imaturos	Freitas <i>et al.</i> , (2021)

M = Mortalidade; R = Repelência

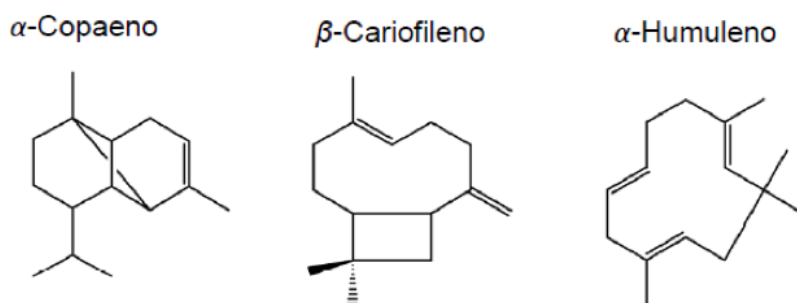
#### 2.4.5. *Copaifera reticulata*

*Copaifera* spp. são árvores pertencentes à família Leguminosae e subfamília *Caesalpinaceae* (LEANDRO *et al.* 2012) apresentam de 25 a 40 metros de altura chegando até quatro metros de diâmetro. As copaibeiras são árvores comuns na América Latina e África Ocidental, sendo encontradas, no Brasil, nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica (FRANCISCO, 2005).

No Brasil, as árvores são conhecidas como copaíba, copaibeira, pau-de-óleo, copaúva, copai, copaibo, copal, marimari e bálsamo dos jesuítas, e o óleo é chamado de óleo de copaíba ou bálsamo (CASCON, 2004).

O oleorresina da copaíba é derivado de um metabólito secundário gerado por células distribuídas em todos os tecidos da árvore. Apesar de ser mais evidente e usual a extração no tronco, extrair de folhas, frutos e sementes também é possível (ARRUDA *et al.* 2019).

A atividade do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) é conhecida em virtude das propriedades cicatrizantes, anti-inflamatória e antifúngicas (DEUS *et al.*, 2011; MENDONÇA; ONOFRE, 2009). As principais substâncias majoritárias dos compostos voláteis (sesquiterpenos) do óleo fixo da copaíba, são o  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -humuleno e  $\alpha$ -copaeno, como exemplificado na Figura 2 (JUNIOR *et al.*, 2007), e sua eficácia sobre os insetos pode ser atrelada a presença do  $\beta$ -cariofileno (KEELER *et al.*, 2011).



**Figura 2.** Principais sesquiterpenos encontrados em óleo de copaíba (*Copaifera reticulata*). Fonte: Junior et al. (2007).

A espécie *C. reticulata* produz um óleo fixo de aspecto líquido, fino, odor fraco e de coloração amarelo claro (OLIVEIRA *et al.*, 2006). A copaíba tem apresentado boa atividade *in vitro* contra os agentes causadores de doenças infecciosas parasitárias como, a inibição no crescimento das formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* (VIEIRA *et al.*, 2002; IZUMI *et al.*, 2012), e atividade contra as formas amastigotas de *Trypanosoma brucei* e *Leishmania donovani* (MIZUNO *et al.* 2015).

Como atividade inseticida, apresentou resultados na redução nos ataques de *Bemisia tabaci* e *Tuta absoluta* a tomateiros após 24 horas da pulverização (BARBOSA, 2007), além de ter boa atividade larvicida contra *Aedes aegypti* (GERIS *et al.*, 2008).

Silva *et al.* (2003) demonstraram através de bioensaios a ação larvicida sobre *C. quinquefasciatus* após 48 h de exposição, para todos os estádios larvais desta espécie e, tem se mostrado um eficiente acaricida alternativo no controle da população de carrapatos *Rhipicephalus microplus*, ainda na fase larval (FERNANDES; FREITAS, 2007). Em moscas *Liriomyza trifolii* apresentou ação tóxica em larvas e pupas quando aplicado na fase de ovo e quando aplicado sobre as pupas somente a maior concentração teve um efeito satisfatório, além disso observou-se a ação repelente (ZUIM, *et al.*, 2013).

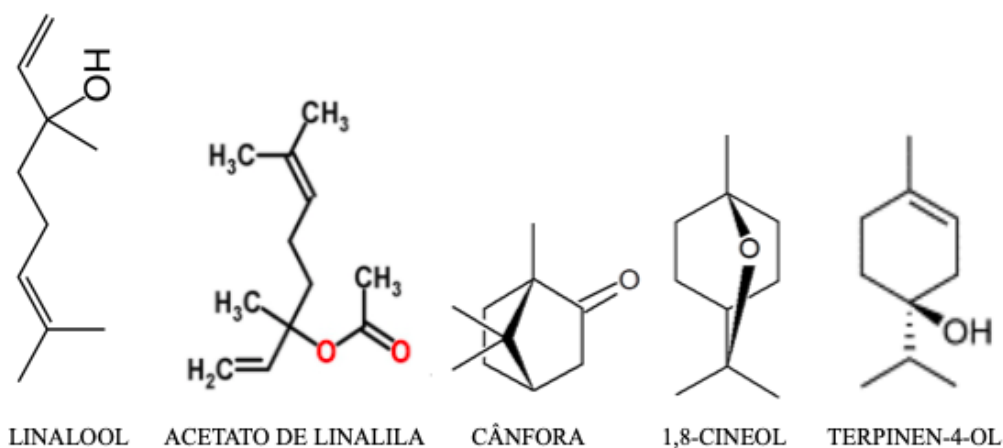


Coutinho *et al.*, (2006), observaram que o efeito do óleo de copaíba sobre *Sitophilus zeamais* MOTS ocasionou 20% de mortalidade do inseto e reduziu a emergência de adultos em 51%, e estudos realizados com *Zabrotes subfasciatus* observou-se uma redução 85% da emergência de adultos, e ação repelente também (FRANÇA *et al.*, 2012). Dos Santos *et al.*, (2021) relataram um resultado satisfatório quanto a repelência frente a baratas (*Periplaneta* spp.) no ambiente doméstico.

#### 2.4.6 *Lavandula hybrida*

O óleo essencial de lavandin (*Lavandula hybrida*) se encontra prontamente disponível em muitas áreas do mundo e particularmente na região de Castilla-León (Valladolid) (CERPA; COCERO, 2005). *Lavandula hybrida* é um clone estéril resultante da hibridização entre *Lavandula angustifolia* (anteriormente *L. officinalis*) e *Lavandula latifolia* (anteriormente *L. spica* L.). Esta planta, pertencente à família Lamiaceae (anteriormente *Labiatae*) (CHBAUER *et al.*, 1991). É natural da área mediterrânica, cresce em solos rochosos pobres, com 70-80 cm de altura, forma de arbusto sendo uma planta perene, conseguindo render quatro vezes mais óleo por volume de plantas do que a lavanda verdadeira (LIS-BALCHIN, 2002).

Os principais constituintes (Figura 3) deste óleo essencial são linalol, acetato de linalila, cânfora, 1,8-cineol e terpinen-4-ol (VARONA, 2009).



**Figura 3.** Principais constituintes encontrados no óleo essencial de lavandin (*Lavandula hybrida*). Fonte: Varona, 2009.

Acredita-se tradicionalmente que o óleo essencial de lavandin tenha propriedades sedativas e com eficiência em aromaterapia (BAROCELLI *et al.*, 2004), antiplaquetárias/antitrombóticas (BALLABENI *et al.*, 2004), atividade anti estafilocócica, e atividade antifúngica moderada (ROBU *et al.*, 2016), além da atividade antibacteriana principalmente contra *E. coli* e *S. agalactiae*, e moderada a alta atividade antibacteriana contra *K. pneumoniae* e *S. aureus* (BAJALAN *et al.*, 2017).

A planta lavandin vem destacando-se por atuar no controle de pragas devido suas propriedades inseticidas, repelentes ou antialimentares e, toxicidade fumigante do OE contra ovos de insetos de produtos armazenados (PAPACHRISTOS; STAMOPOULOS, 2004).

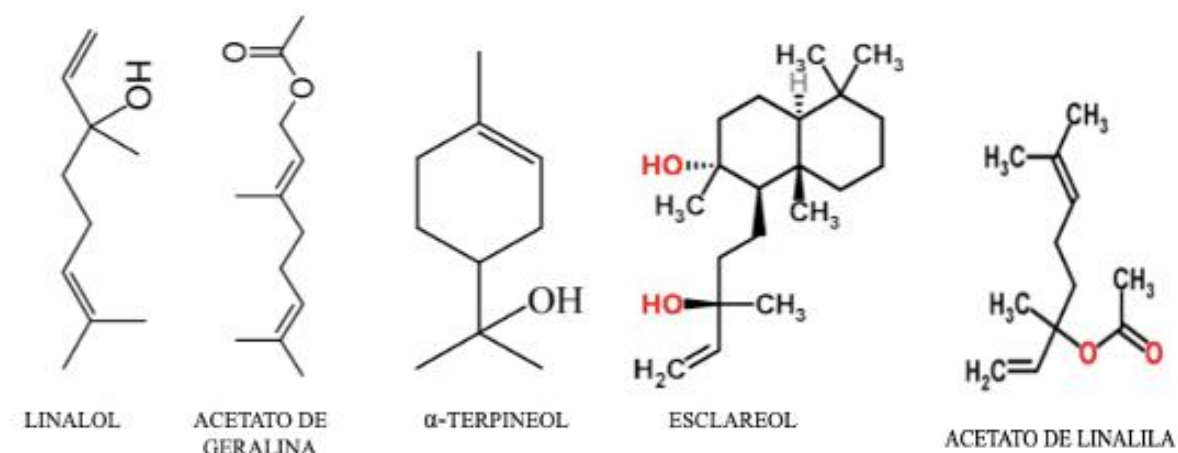
O OE de lavandin também mostrou atividade acaricida e repelente contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e, atividade antifúngica contra *M. anisopliae* e *B. bassiana*. (NARDONI *et al.*, 2018). Mostrou ação fumigante e repelente contra *Acanthoscelides obtectus* (EROS; BIRGÜCÜ, 2020), e exibiu forte toxicidade fumigante para todos os estágios imaturos e adultos de *T. confusum* (THEOU *et al.*, 2013).

Apresentou toxicidade para larvas de *H. lusitanicum* e moderadamente antialimentar para *S. littoralis* (ORTIZ DE ELGUEA-CULEBRAS *et al.*, 2018), e com *Ctenocephalides felis felis* não possui atividade descrita.

#### 2.4.7 *Salvia sclarea*

*Salvia sclarea*, também conhecida como sálvia, pertence à família Lamiaceae, nativa do sul da Europa e, cultivada mundialmente em climas temperados e subtropicais, como planta ornamental e portadora de óleo essencial (LATTO *et al.*, 2006). É um importante óleo fixo comercial, representado por um líquido incolor, amarelo-acastanhado ou amarelo-pálido com odor característico descrito como doce, verde, floral e picante com nuances limpas, amadeiradas e cítricas (SZENTMIHÁLYI, 2009).

Possui na sua composição o componente majoritário (Figura 4) o acetato de linalila, seguido pela presença de linalol, acetato de geranila,  $\alpha$ -terpineol e esclareol (AĆIMOVIĆ *et al.*, 2022).



**Figura 4.** Principais constituintes encontrados em óleo essencial de salvia (*Salvia sclarea*). Fonte: Aćimović *et al.*, 2022.

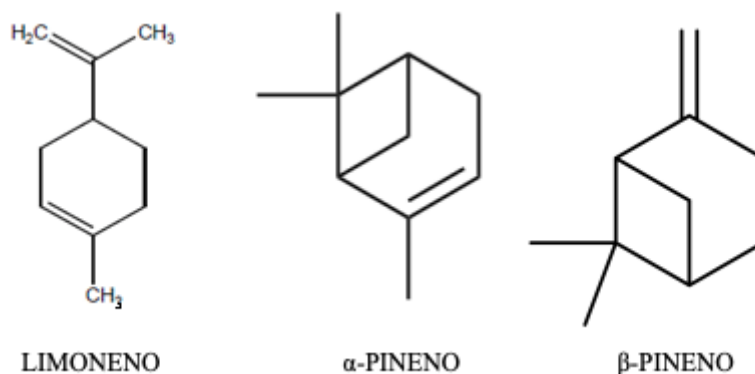
O teor de acetato de linalila aumenta no período de floração até a formação da semente e, é mais alto durante a maturidade da semente, enquanto o teor de linalol diminui (PEŠIĆ; BANKOVIĆ, 2003).

Amplamente utilizada na indústria de perfumes e aromaterapia contra estresse, tensão, depressão e insônia (VERMA *et al.*, 2011), e possui ação contra condições inflamatórias da cavidade oral, como gengivite, estomatite e aftas (KOSTIĆ *et al.*, 2018). Além disso apresenta atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e analgésica, bem como antidiabéticos e citotóxicos (AĆIMOVIĆ *et al.*, 2018).

Possui atividade contra as bactérias Gram-negativas: *S. enteritidis*, *E. coli* (AĆIMOVIĆ *et al.*, 2022), *Pseudomonas fluorescens*, *Kocuria marina* e *B. cereus* (OVIDI *et al.*, 2021), além de mostrar atividade repelente contra *A. albopictus* (CONTI *et al.*, 2012), *A. aegypti*, *A. stephensi* e *C. quinquefasciatus* (AMER; MEHLHORN, 2006), e ação larval contra *C. pipiens* (CETIN *et al.*, 2006), *A. albopictus* (MATHEW; THOPPIL, 2011), e atividade frente as pulgas *Ctenocephalides felis felis* ainda não existem estudos realizados.

#### 2.4.8 *Citrus paradisi*

Pertence ao gênero *Citrus* da família (XU *et al.*, 2007). Possui em sua composição os componentes (Figura 5) limoneno,  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno (UYSAL *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Principais constituintes encontrados em óleo essencial de grapefruit (*Citrus paradisi*). Fonte: UYSAL *et al.*, 2011.

O extrato das sementes de Grapefruit demonstrou possuir propriedades antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. faecalis*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. marcescens* e *P. vulgaris* (UYSAL *et al.*, 2011; HA *et al.*, 2009), antibacteriana (ARSÈNE *et al.*, 2021; HEGGERS *et al.*, 2002), bom efeito inibitório sobre a proliferação de células cancerígenas de fígado e cólon (DENG *et al.*, 2020). Também demonstrou possuir atividade contra patógenos orais *S. mutans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *C. albicans* (LEE *et al.*, 2009) e cutâneos como *M. furfur*, *M. restricta*, *P. arnes*, *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* (HA *et al.*, 2009),

O óleo essencial de *C. paradisi* apresentou capacidade protetora (ROTIMI; EKPERUSI, 2012) e fumigante (MORAVVEJ; ABBAR, 2008) contra *Collosobruchus maculatus*, além de apresentarem proteção contra *Rhyzopertha dominica* em grãos armazenados (ABBAS *et al.*, 2012). Zahran *et al.*, (2017) relatou o potencial do óleo essencial de *C. paradisi* para o desenvolvimento de larvicidas naturais e fumigantes para controle de *C. pipiens*. Além de possui ação termiticida contra *Odontotermes feae Wasmann* (KHANIKOR *et al.*, 2018).

Na indústria é utilizada para a conservação de alimentos, incluindo hortaliças (XU *et al.*, 2007; LEE *et al.*, 1988), frutas (JANG *et al.*, 2011), produtos de pescado (CORBO *et al.*, 2008) e carne suína (HONG *et al.*, 2009). E Choi *et al.*, (2017) mostraram que em doses moderadas é um valioso OE para o desenvolvimento de agentes larvicidas em ambientes aquáticos.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Obtenção e origem das pulgas

A pulga da subespécie *Ctenocephalides felis felis* e seu respectivos estágios (ovo, larva, pupa e adultos) utilizados no experimento foram oriundas da colônia experimental presente no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), a qual foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da UFRRJ (CEUA-IV-UFRRJ) com protocolo 4313110419.

### 3.2 Obtenção do Óleo Essencial

Os óleos essenciais das folhas de *C. reticulata* (Leguminosae), das cascas dos frutos de *C. paradisi* (Rutaceae), das flores de *L. hybrida* (Lamiaceae) e das flores e folhas de *S. sclarea* (Lamiaceae) foram obtidos de forma comercial em lojas *online* intitulada Via aroma Indústria de Aromatizadores de Ambientes LTDA - Porto Alegre, e mantidos em frascos âmbar protegidos com batoque e, em um freezer à -20°C até o momento da análise cromatográfica e análises biológicas com a finalidade de refrear a degradação dos compostos químicos presentes.

### 3.3 Cromatografia Gasosa

A cromatografia gasosa (CG) foi realizada no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRJ (LABPAM- UFRJ) através de um detector de ionização por chama (FID), e um injetor split/split-less, utilizados para separação e detecção dos constituintes dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Salvia sclarea* e *Lavandula hybrida*.

As substâncias foram separadas em uma coluna capilar de sílica fundida HP- (30 m x 0,25 mm d.i., espessura do filme 0,25 m, Agilent J & W). As temperaturas do forno, injetor e detector foram programadas conforme descrito por Adams (2005).

O gás transportador utilizado foi de He (1 mL/min). O volume injetado foi de 1 µL numa razão de divisão de 1:20. A percentagem dos compostos do óleo essencial foi calculada a partir da área relativa de cada pico analisado por GC-FID. O óleo essencial também foi analisado em um GC/MS QP-2010 Plus (Shimadzu, JPN). O fluxo de gás de arraste, a coluna capilar e as condições de temperatura para a análise de GC/MS foram os mesmos descritos para GC/FID (ADAMS, 2005).

As condições de operação do espectrômetro de massa será a tensão de ionização a 70 eV e a faixa de massa 40-400 m/z e 0,5 scan/s. O índice de retenção de compostos foi calculado com base na co-injeção de amostras com uma mistura de hidrocarbonetos C8-C20. Os constituintes foram identificados por comparação de seus espectros de massa com a biblioteca NIST- Mass Spectrometry Data Center, e com os dados de Adams (2005).

### 3.4 Testes *in vitro* com *Ctenocephalides felis felis*

#### 3.4.1 Resumo do delineamento experimental

Os ensaios *in vitro* para a avaliação da mortalidade dos diferentes estágios de *C. felis felis* pelos quatro OE's aconteceram em duas etapas:

- **1ª etapa:** determinação da atividade inseticida (teste "screening") no qual foi realizado a exposição dos diferentes estágios a uma faixa de 10 diferentes concentrações de cada OE. A faixa de concentração utilizada é a padrão nos ensaios para testes *in vitro* do LQEPV. Estes testes foram sempre realizados em duplicatas (2 réplicas), com um controle positivo, controle negativo e placebo.
- **2ª etapa:** determinação da concentração letal (CL) 50 e 90 (teste definitivo) no qual foram selecionadas cinco concentrações dentro da faixa de mortalidade do primeiro teste ("screening") para o cálculo de Probit. Estes testes foram sempre realizados em sextuplicatas (6 réplicas), com um controle positivo, controle negativo e placebo.

#### Delineamento em bloco

Além dos ensaios de avaliação da mortalidade, neste trabalho também foi realizada a avaliação da atividade repelente e eficácia residual com as formas adultas de *C. felis felis* para

os quatro OE's. O preparo das diluições dos OE's, a metodologia para a execução dos testes *in vitro* para mortalidade e os controles positivos utilizados em cada um dos testes está descrito nos tópicos seguintes.

### 3.5 Preparo das diluições e impregnação do papel filtro

Para o preparo das diferentes concentrações dos óleos essenciais neste estudo o diluente escolhido foi a acetona 20%. Nos testes de avaliação da atividade adulticida e eficácia residual, foram usadas fitas de papel filtro com área de 10 cm<sup>2</sup> (1x10cm) Whatman nº1 (80g) impregnadas com 0,200 mL de cada solução. Para a avaliação das atividades: ovicida, larvicida, pupicida e na inibição do desenvolvimento do ciclo biológico utilizou-se discos do mesmo papel filtro com área de 23,76 cm<sup>2</sup> impregnados com 0,470 mL de cada solução. Nos testes de avaliação da atividade repelente, as tiras do mesmo papel filtro com área de 7 cm<sup>2</sup> (0,7x10cm) foram usadas. Após a impregnação o material permanecia em bancada por um período de 30 minutos para completa evaporação da acetona antes da realização do teste.

No preparo das concentrações do teste de “screening” foi realizada uma diluição seriada 1:2 com as concentrações de 40.000; 20.000; 10.000; 5.000; 2.500; 1.250; 625; 312,5, 156,25 e 78,12 µg/mL, que após a impregnação correspondeu as concentrações em gramas: área de 800; 400; 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12 e 1,56 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio adulto e imaturos. Para os testes definitivos foi efetuada a diluição direta a partir dos OE's, ou solução estoque para se obter a faixa de concentrações desejadas (Tabela 4). Para o teste de repelência as foram utilizadas três concentrações para os quatro OE's que foram 40.000; 20.000 e 5.000 µg/mL que corresponderam a 800; 400 e 85,7 µg/cm<sup>2</sup> após a impregnação das tiras.

**Tabela 4.** Faixas de concentrações para os testes definitivos para cada óleo essencial.

Estágio	Faixa de Concentrações	
	µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>
<b><i>Copaifera reticulada</i></b>		
Larva	5000; 7500; 10000; 15000; 20000; 30000	110; 165; 220; 330; 440 e 660
Pupa	10000; 15000; 20000; 30000 e 40000	200; 300; 400; 500; 600; 800
Adulto	10000; 20000; 25000; 30000; 35000; 40000	150; 200; 300; 400; 600; 800
ICB	2500; 5000; 7500; 10000; 15000	30; 50; 100; 150; 200; 300
<b><i>Lavandula hybrida</i></b>		
Ovo	2000; 6000; 8000; 10000; 15000; 20000	40; 120; 160; 200; 300; 400
Larva	90; 130; 150; 180; 200; 220	4000; 6000; 7000; 8000; 9000; 10000
Pupa	15000; 20000; 30000; 35000; 40000; 50000	300; 400; 600; 700; 800; 1000
Adulto	10000; 20000; 25000; 30000; 35000; 40000	200; 400; 500; 600; 700; 800
ICB	250; 1000; 2000; 6000; 8000; 15000	5; 20; 40; 120; 160; 300
<b><i>Salvia sclarea</i></b>		
Ovo	5000; 10000; 15000; 20000; 30000; 40000	100; 200; 300; 400; 600; 800

Larva	4000; 5000; 6000; 8000; 9000; 10000	80; 100; 120; 160; 180; 200
Pupa	5000; 10000; 20000; 40000; 60000; 80000	100; 200; 400; 800; 1200; 1600
Adulto	20000; 30000; 40000; 50000; 60000; 80000	400; 600; 800; 1.000; 1.200; 1.600
ICB	500; 1250; 2500; 5000; 10000; 20000	10; 25; 50; 100; 200; 300

ICB= Inibição de controle biológico

Como controle negativo dos testes, os discos ou tiras de papel filtro não receberam qualquer tipo de impregnação. O controle negativo tem como finalidade avaliar a viabilidade das pulgas (adultas ou estágios imaturos) manipuladas nos testes.

Para o placebo usou-se tiras ou discos de papel filtro impregnados com o mesmo volume de impregnação de acetona 20% empregado nos testes com as diferentes concentrações de OE's.

Como controle positivo, para os desafios que avaliaram atividade frente pulgas adultas, larvas e pupas foi utilizado fipronil na concentração de 400 µg/mL (8 µg/cm<sup>2</sup>) e para os ensaios de ovo e inibição do ciclo biológico foi usado piriproxifen na mesma concentração. Para o teste de repelência o controle positivo usou-se N,N-dietil-m-toluamida (DEET) na concentração de 40.000 µg/mL (800 µg/cm<sup>2</sup>).

### **3.6 Avaliação da atividade inseticida dos óleos essenciais de *Copaifera reticulada*, *Citrus paradisi*, *Salvia sclarea* e *Lavandula hybrida* frente a pulgas adultas**

A metodologia descrita abaixo foi realizada da mesma maneira nos testes de "screening" e, nos testes definitivos. Para determinar a atividade dos OE's frente a pulgas adultas, para cada repetição, foram selecionadas 10 pulgas adultas, não alimentadas, com 14 dias de idade, sendo cinco machos e cinco fêmeas. Os insetos foram dispostos em um tubo de ensaio (1x10cm) com uma fita de papel filtro impregnada com as diferentes concentrações de OE's, conforme descrito no item acima.

Para a avaliação da atividade inseticida frente aos estágios imaturos, foram selecionados por repetição: 10 ovos com idade inferior a 24 horas, 10 larvas com idade entre cinco a sete dias (L3) e 10 pupas com idade de 10 dias de idade. Estes foram dispostos em placas de petri plásticas (60x15cm) que continham em seu interior o disco de papel filtro impregnado com as diferentes concentrações de OE's, conforme descrito no tópico acima.

Após o desafio, o material foi incubado em câmaras climatizadas com demanda bioquímica de oxigênio com temperatura e umidade relativa controlada (27±1°C; 75±10%). O período de avaliação para as pulgas adultas e larvas foi de 24 e 48 horas, para ovos 72 horas e para as pupas foram 15 dias após a incubação.

O critério de motilidade empregado para pulgas adultas e larvas foi a movimentação, onde, qualquer movimentação mínima apresentada pelo inseto, caracteriza-o vivo. Os ovos foram considerados mortos, aqueles que não ocorresse a eclosão de larvas. Para pupas, foi considerado como indivíduo morto, pupários que não emergiram pulgas adultas. Após as avaliações os dados foram tabulados, e foi calculado o percentual de mortalidade.

### **3.7 Avaliação da atividade na interrupção do ciclo biológico de *Ctenocephalides felis felis* dos óleos essenciais de *Copaifera reticulada*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea***

Para análise da interrupção do ciclo biológico de *C. felis felis* foram utilizados 10 ovos com idade inferior a 24 horas dispostos em placas de petri plásticas (60x15cm) que continham

em seu interior o disco de papel filtro impregnado com as diferentes concentrações de OE's, conforme descrito no item acima.

Logo depois, foi adicionado meio grama de uma dieta larval para o desenvolvimento larval a base de farelo de trigo, sangue de bovino desidratado e areia lavada, na proporção de 1:1:5, conforme descrito por Correia *et al.*, (2003). As placas de petri foram fechadas com suas tampas, e acondicionadas em câmara climatizada com temperatura de  $27\pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $75\pm 10\%$  por um período de 30 dias. Foi considerado morto todo ovo que não fosse capaz de gerar uma pulga adulta. Após as avaliações os dados foram tabulados, e foi calculado o percentual de mortalidade para cada concentração.

### **3.8 Avaliação da eficácia residual de *Ctenocephalides felis felis* dos óleos essenciais de *Copaifera reticulada*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea***

Para avaliação da atividade residual dos OE's foi utilizada a mesma metodologia descrita no item 3.6. Neste caso, foi escolhida a primeira concentração que obteve 100% de mortalidade nos testes definitivos e a mortalidade foi avaliada a cada 24 horas após a exposição ao papel filtro impregnado e, então, as pulgas eram removidas e adicionados novos indivíduos. A avaliação foi realizada até que se obtivesse percentual de mortalidade igual a zero.

### **3.9 Atividade de repelente dos óleos essenciais de *Copaifera reticulada*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea* frente a *Ctenocephalides felis felis***

A metodologia empregada para a avaliação *in vitro* da atividade repelente dos OE's de *C. reticulada*, *C. paradisi*, *S. sclarea* e *L. hybrida* foi a técnica para determinar a suscetibilidade ou resistência de pulgas com inseticidas descrita pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 1981), adaptada por Su *et al.* (2014).

Para a avaliação da atividade repelente *in vitro*, utilizaram-se tubos de ensaio de vidro (1,4 x 25 cm) e, duas longas fitas de papel filtro que foram identificadas com o nome do OE testado, concentração do produto e sua respectiva repetição.

Em seguida, as fitas de papel filtro foram impregnadas (conforme descrito no item 3.5) e após a secagem, uma fita adesiva dupla face transparente foi colada longitudinalmente nas duas tiras de papel filtro impregnadas. Em cada tubo, foram inseridas duas fitas de forma vertical ao tubo e paralelas entre si, uma impregnada com o diluente (acetona 20%) e outra impregnada com o OE (ou controle positivo). Após fixação das fitas, foram inseridos cinco casais de pulgas e, aguardado um período de 30 minutos.

Após o tempo de exposição às fitas impregnadas, foi realizado o registro quantitativo da distribuição dos exemplares nas duas tiras de papel filtro (impregnado com diluente e com o OE) presentes dentro do tubo de ensaio, possibilitando assim, a determinação do percentual de repelência. Para a avaliação da persistência, os exemplares foram removidos dos tubos e novos casais foram introduzidos e novas avaliações foram realizadas nos tempos de 3, 6, 12, 24 e 48 horas e calculado o percentual de repelência.

### **3.10 Análise dos Dados**

Nos testes em que foi realizado a avaliação da atividade inseticida, após a contagem do número de indivíduos vivos e mortos foi realizado o cálculo do percentual de mortalidade para cada concentração, utilizando a fórmula descrita por Abbott (1925) indicada abaixo

**Mortalidade (%)** =  $(\text{número de insetos mortos no tratado} - \text{número de insetos mortos no controle}) \times 100 / (100 - \text{número de insetos mortos no controle})$ .

Os dados obtidos no experimento foram tabulados e, os valores de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> para cada uma das avaliações listadas acima foram calculados estatisticamente por meio da análise Probit, utilizando o programa computacional RStudio Team software (2020, RStudio: Integrated Development Environment for R. RStudio, PBC, Boston, MA, USA) com intervalo de confiança de 95% ( $p \leq 0,05$ ).

Nos ensaios de repelência, após contabilizado a distribuição das pulgas nas fitas foi determinado o percentual de repelência a partir da fórmula descrita pela WHO (1981):

**Repelência (%)** = (Número de indivíduos na fita com placebo - Número de indivíduos na fita com OE / Número de indivíduos na fita com placebo) x 100



## 4. Resultados e Discussão

### 4.1 Caracterização da Composição Química dos Óleos Essenciais

Na análise dos constituintes do óleo essencial de *C. reticulata*, foi possível observar a presença de 48% de  $\beta$ -cariofileno, e os demais constituintes apresentaram-se com uma variação de 8 a 4% como descritos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Caracterização da composição química do óleo essencial de *Copaifera reticulata* (Seropédica, 2022).

RT	Compostos	Percentual %
25,427	Copaeno < $\alpha$ ->	7,87
<b>27,393</b>	<b><math>\beta</math>-cariofileno</b>	<b>48,82</b>
27,835	Bergamoteno < $\alpha$ -trans>	7,02
28,798	Humuleno < $\alpha$ ->	8,65
29,846	Muuroleno < $\gamma$ ->	7.15
30,912	Bisaboleno < $\beta$ ->	4,16

RT- Tempo de Retenção.

Segundo Junior *et al.*, (2007) o OE de copaíba foi constituído na sua totalidade 78,2% de sesquiterpenos, no qual o  $\beta$ -cariofileno se apresentou com 40,9% em sua composição, como um dos componentes majoritários. A análise por CG-EM identificou sesquiterpeno e hidrocarbonetos respectivamente, dois quais 6% de  $\alpha$ -humuleno e 3% de  $\alpha$ -copaene, corroborando com os dados deste estudo. O percentual de sesquiterpenos deste trabalho vai de acordo com o encontrado por Junior *et al.* (2007) e Barbosa *et al.*, (2019) para o óleo de *C. reticulata*, e no trabalho de De Lima *et al.* (2021) com óleo de resina de copaíba.

No óleo essencial de *L. hybrida* notou-se que 27,8% do óleo é linalol, 19,29% acetato linalila, e 13,48% de cânfora, os demais constituintes encontrados estão descritos na tabela 6.

**Tabela 6.** Caracterização da composição química do óleo essencial de *Lavandula hybrida* (Seropédica, 2022).

Compostos	Alc	Ait	Percentual %
<b>Linalol</b>	<b>1095</b>	<b>1104</b>	<b>27,81</b>
<b>Acetato de linalila</b>	<b>1254</b>	<b>1256</b>	<b>19,29</b>
<b>Cânfora</b>	<b>1141</b>	<b>1154</b>	<b>13,48</b>
1,8-cineol	1031	1038	9,17
Trans-cariofileno	1417	1425	7,29
Limoneno	1024	1033	5,61

Alc- cromatograma de íon analítico; Ait - lax literatura.

Para o OE de lavandin, Varona *et al.*, (2009) identificou 33,2% de linalool, 29,7% de acetato de linalila, 7,1% de cânfora e 7,6% de 1,8-cineole, o que corresponde com os resultados obtidos nesse estudo com o óleo essencial de *L. hybrida*, assim como Robu *et al.*, (2016) encontrou tais componentes químicos na avaliação do OE de lavandin.

O óleo essencial de *S. sclarea* possui como um dos constituintes majoritários o acetato de linalila com 51,37% e 21,13% de linalol, os demais constituintes químicos se apresentaram entre 5 e 3% na composição, e estão descritos na Tabela 7.

**Tabela 7.** Caracterização da composição química do óleo essencial de *Salvia sclarea* (Seropédica, 2022).

RT	Compostos	Percentual %
<b>13,327</b>	<b>Linalol</b>	<b>21,13</b>
17,611	Terpineol < $\alpha$ ->	5,17
<b>20,006</b>	<b>Acetato de linalila</b>	<b>51,37</b>
25,584	Acetato de geranila	3,61
27,315	Cariofileno <(E)->	3,34
29,865	Germacreno D	3,88

RT – Tempo de Retenção.

Hristova *et al.*, (2013) em seus estudos com o OE *S. sclarea* encontraram como constituintes majoritários o acetato de linalila com 56,04%, e, linalol com 20,49%, seguido de 2,58%  $\alpha$ -Terpineol, e 1,05% de geraniol, sendo compatível com os resultados que obtivemos nesse estudo com o óleo essencial de *S. sclarea*, bem como Acimović *et al.*, (2022) encontraram esta conformação química dos componentes do OE de sálvia.

Por fim, o óleo essencial de *C. paradisi* após a análise de seus constituintes apresentou como um dos constituintes majoritários o limoneno com 91,42%, e os demais constituintes apresentaram uma porcentagem entre 1 e 3% e, estão descritos na Tabela 8.

**Tabela 8.** Caracterização da composição química do óleo essencial de *Citrus paradisi* (Seropédica, 2022).

RT	Compostos	Percentual %
6,880	Pineno- $\alpha$	1,08
8,737	Mirceno	3,76
<b>10,394</b>	<b>Limoneno</b>	<b>91,42</b>

RT – Tempo de Retenção.

Em relação ao OE de grapefruit, Uysal *et al.*, (2011) em seus estudos relataram que o componente limoneno também foi observado com maior porcentagem (91,5) e, os outros compostos químicos se apresentaram com porcentagens menores que 1%, conciliável com os resultados obtidos no presente estudo com *C. paradisi*.

## 4.2 Avaliação da Atividade Inseticida dos Óleos Essenciais

Os testes de avaliação da atividade inseticida dos OE's foram realizados com a finalidade de determinar uma faixa de concentração, na qual o percentual de mortalidade fosse linear e crescente atingindo, quando possível, o total de 100% de mortalidade para cada OE.

### 4.2.1 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Copaifera reticulata*

No teste para avaliação da atividade inseticida do OE de *C. reticulata* foi possível perceber que a faixa de mortalidade crescente ocorreu nos intervalos de 100 – 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio de larva, 200 - 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio de pupa e, 25 - 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio de adulto. Os resultados detalhados do percentual de mortalidades podem ser visualizados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Copaifera reticulata* frente aos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*.

$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/cm}^2$	Percentual de Mortalidade (%)					
		Ovo	Larva (24h)	Larva (48h)	Pupa	Adulto (24h)	Adulto (48h)
Cont. Neg.	- - -	5,0	0	0	10,0	0	0
Placebo	- - -	0	0	0	10,0	0	5,0
78,125	1,56	0	0	0	5,0	0	5,0
156,25	3,13	0	0	0	15,0	0	5,0
312,25	6,25	5,0	0	0	5,0	0	10,0
625	12,5	0	0	0	0	0	20,0
1250	25	0	0	0	40,0	0	5,0
2500	50	0	0	0	30,0	40,0	20,0
5000	100	0	15,0	20,0	45,0	70,0	30,0
10000	200	0	65,0	75,0	20,0	95,0	100,0
20000	400	15,0	90,0	90,0	60,0	95,0	100,0
40000	800	15,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Cont. Pos.	8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (fipronil para o estágio adulto, larva e pupa e piriproxifen para o estágio de ovo).

Como para o estágio de ovo não foi possível obter 100% de atividade ovicida, um novo teste foi realizado chegando à concentração máxima de 2000  $\mu\text{g/cm}^2$  (100.000  $\mu\text{g/mL}$ ) e não foi verificada atividade ovicida para o OE de *C. reticulata*.

#### 4.2.2 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Citrus paradisi*

Para o primeiro ensaio com OE de *C. paradisi*, realizado nas concentrações de 1.56 – 800  $\mu\text{g/cm}^2$  foi possível perceber uma mortalidade máxima de 5% para os estágios de ovo, e adultos (após 48h) e, 15% para o estágio de larva. Por este motivo, foi realizado um novo teste chegando à concentração máxima de 2000  $\mu\text{g/cm}^2$  (= 100.000  $\mu\text{g/mL}$ ). Nesta nova faixa de concentração, foi obtido o percentual de mortalidade 25% para os estágios de ovo e larva. Os resultados médios estão demonstrados na Tabela 10.

**Tabela 10.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Citrus paradisi* frente aos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*.

$\mu\text{g/mL}$	$\mu\text{g/cm}^2$	Percentual de Mortalidade (%)					
		Ovo	Larva (24h)	Larva (48h)	Pupa	Adulto (24h)	Adulto (48h)
Cont. Neg.	- - -	5,0	0	0	0	0	0
Placebo	- - -	10,0	0	0	0	0	0
78,125	1,56	5,0	0	0	0	0	0
156,25	3,13	5,0	0	0	0	0	0
312,25	6,25	0	0	0	0	0	0
625	12,5	5,0	0	0	0	0	0
1250	25	0	0	0	0	0	0
2500	50	0	5,0	5,0	0	0	0
5000	100	5,0	0	0	0	0	0
10000	200	5,0	0	0	0	0	0
20000	400	5,0	0	0	0	0	0
40000	800	5,0	15,0	15,0	0	0	5,0

<b>Cont. Pos.</b>	<b>8</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
<b>2º teste para avaliação da atividade inseticida</b>							
<b>Cont. Neg.</b>	<b>- - -</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Placebo</b>	<b>- - -</b>	0	0	0	0	0	0
<b>50000</b>	<b>1000</b>	15,0	0	0	0	0	0
<b>60000</b>	<b>1200</b>	0	0	0	0	0	0
<b>70000</b>	<b>1400</b>	0	0	0	0	0	0
<b>80000</b>	<b>1600</b>	10,0	0	0	0	0	0
<b>90000</b>	<b>1800</b>	25,0	25,0	25,00	0	0	0
<b>100000</b>	<b>2000</b>	25,0	25,0	25,00	0	0	0
<b>Cont. Pos.</b>	<b>8</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (fipronil para o estágio adulto, larva e pupa e piriproxifen para o estágio de ovo).

Devido ao OE de *C. paradisi* não ter obtido mortalidade superior a 50% para nenhum estágio, não foram realizados testes de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub>. Apesar do OE de *C. paradisi* (JEON *et al.*, 2016; EL HOUDA *et al.*, 2020) apresentar atividade inseticida descrita na literatura para diversos insetos devido ao seu componente majoritário d- limoneno (HOLLINGSWORTH, 2005), com base nos resultados desse estudo é possível perceber que tal atividade não foi demonstrada para nenhum estágio da pulga *C. felis felis* nas concentrações avaliadas. Contudo, é possível que o uso de concentrações maiores permita a detecção de uma faixa de mortalidade para este OE.

#### 4.2.3 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Lavandula hybrida*

No teste para avaliação da atividade inseticida do OE de *L. hybrida* foi possível perceber que a faixa de mortalidade crescente ocorreu nos intervalos de 200 – 800 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio de ovo, 50 - 200 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio de larva e, 25 - 800 µg/cm<sup>2</sup> para os estágios de pupa e adultos. Os resultados detalhados do percentual de mortalidades podem ser visualizados na Tabela 11.

**Tabela 11.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Lavandula hybrida* frente aos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*.

µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>	Percentual de Mortalidade (%)					
		Ovo	Larva (24h)	Larva (48h)	Pupa	Adulto (24h)	Adulto (48h)
<b>Cont. Neg.</b>	<b>- - -</b>	10,0	0	0	5,0	0	0
<b>Placebo</b>	<b>- - -</b>	10,0	0	0	5,0	0	0
<b>78,125</b>	<b>1,56</b>	0	0	0	0	5,0	5,0
<b>156,25</b>	<b>3,13</b>	5,0	0	0	0	10,0	10,0
<b>312,25</b>	<b>6,25</b>	0	0	0	0	15,0	15,0
<b>625</b>	<b>12,5</b>	5,0	0	0	0	25,0	25,0
<b>1250</b>	<b>25</b>	10,0	0	0	0	15,0	15,0
<b>2500</b>	<b>50</b>	10,0	0	0	5,0	55,0	55,0
<b>5000</b>	<b>100</b>	0	75,0	95,0	15,0	80,0	90,0
<b>10000</b>	<b>200</b>	10,0	100,0	100,0	5,0	75,0	85,0
<b>20000</b>	<b>400</b>	95,0	100,0	100,0	40,0	90,0	100,0
<b>40000</b>	<b>800</b>	100,0	100,0	100,0	85,0	100,0	100,0
<b>Cont. Pos.</b>	<b>8.0</b>	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (fipronil para o estágio adulto, larva e pupa e piriproxifen para o estágio de ovo).

#### 4.2.4 Avaliação da Atividade Inseticida do Óleo Essencial de *Salvia sclarea*

No primeiro teste realizado com o OE essencial de *S. sclarea* foi possível observar um crescente percentual de mortalidade no intervalo de concentrações de: 200 – 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio de ovo e larva. Para os estágios de pupa e adultos os percentuais foram de 60 e 45% respectivamente para a concentração de 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Após a realização do segundo teste, foi possível verificar percentual de mortalidade crescente nas concentrações de 200 – 1600  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio de pupa e 400 – 1600  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio adulto. Os resultados detalhados do percentual de mortalidade médio em cada concentração, para cada estágio e em cada teste estão descritos na Tabela 12.

**Tabela 12.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Salvia sclarea* frente aos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*.

$\mu\text{g}/\text{mL}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	Percentual de Mortalidade (%)					
		Ovo	Larva (24h)	Larva (48h)	Pupa	Adulto (24h)	Adulto (48h)
Cont. Neg.	---	5,0	0	0	0	0	0
Placebo	---	5,0	0	0	0	5,0	5,0
78.125	1,56	0	0	7,0	7,0	5,0	15,0
156.25	3,13	0	0	0	0	0	35,0
312.25	6,25	10,0	0	0	0	15,0	40,0
625	12,5	15,0	0	0	0	15,0	20,0
1250	25	15,0	0	0	0	0,0	60,0
2500	50	5,0	0	0	0	15,0	15,0
5000	100	20,0	0	30,0	5,0	45,0	45,0
10000	200	15,0	35,0	90,0	20,0	20,0	20,0
20000	400	20,0	100,0	100,0	15,0	33,0	33,0
40000	800	100,0	100,0	100,0	60,0	45,0	45,0
Cont. Pos.	8	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2º teste para avaliação da atividade inseticida							
Cont. Neg.	---	---	---	---	10,0	0	0
Placebo	---	---	---	---	15,0	0	0
10000	200	---	---	---	15,0	5,0	5,0
20000	400	---	---	---	25,0	5,0	5,0
30000	600	---	---	---	50,0	70,0	70,0
40000	800	---	---	---	60,0	85,0	85,0
50000	1000	---	---	---	65,0	95,0	95,0
60000	1200	---	---	---	85,0	95,0	95,0
70000	1400	---	---	---	95,0	95,0	95,0
80000	1600	---	---	---	100,0	100,0	100,0
90000	1800	---	---	---	100,0	100,0	100,0
100000	2000	---	---	---	100,0	100,0	100,0
Cont. Pos.	8	---	---	---	100,0	100,0	100,0

Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (fipronil para o estágio adulto, larva e pupa e piriproxifen para o estágio de ovo).

### 4.3 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 dos Óleos Essenciais

#### 4.3.1 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 do Óleo Essencial de *Copaifera reticulata* frente aos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*

Após a realização dos testes definitivos com o OE de *C. reticulata* frente aos diferentes estágios de *C. felis felis* foi possível observar 100% de mortalidade nas concentrações de 660  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio de larva após 48 horas de exposição ao papel filtro impregnado com o OE e, na concentração de 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para os estágios de pupa e adultos. Conforme demonstrado na tabela 13.

**Tabela 13.** Percentual de mortalidade do óleo essencial de *Copaifera reticulata* frente aos estágios de larva, pupa e adultos de *Ctenocephalides felis felis* após o ajuste de concentrações.

Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	Larva		Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	Pupa*	Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	Adultos	
	(24h)	(48h)				(24h)	(48h)
	Mortalidade (%)			Mortalidade (%)		Mortalidade (%)	
Cont. neg.	0	0	Cont. neg.	12,2	Cont. neg.	0	0
Placebo	0	0	Placebo	11,7	Placebo	1,6	1,6
110	6,7	6,7	200	34,0	150	0	5,0
165	30,0	45,0	300	59,6	200	16,7	20,0
220	51,7	68,3	400	78,7	300	43,3	45,0
330	78,3	88,3	500	80,8	400	43,3	50,0
440	83,3	90,0	600	93,6	600	83,3	91,7
660	96,7	100,0	800	100,0	800	100,0	100,0
Cont. pos.	100,0	100,0	Cont. pos.	100,0	Cont. pos.	100,0	100,0

Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (fipronil para o estágio adulto, larva e pupa).

A partir da determinação do percentual de mortalidade na nova faixa de concentração estabelecida foi realizado o cálculo das concentrações letais para os respectivos estágios em seu tempo de avaliação. Para larvas a  $\text{CL}_{50}$  foi de 230,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (208,0 – 253,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para a avaliação após 24 horas e, de 159,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (140,5 – 180,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) após 48 horas. Para pupa a  $\text{CL}_{50}$  foi de 223,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (190,5 – 251,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e, para adultos foi de 462,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (419,4 – 507,4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) após 24 horas de exposição e, de 439,4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (412,2 – 539,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) após 48 horas.

Para  $\text{CL}_{90}$  foi obtido para larvas 477,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (425,0 – 551,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) na avaliação de 24 horas, 405,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (362,7 e 448,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para 48 horas; para pupa 533,2  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (463,9 – 643,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e adultos 695,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (595,8 – 718,4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para avaliação após 24 horas e 659,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (602,4 – 732,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para a avaliação após 48 horas. Os valores slope, coeficiente de regressão ( $R^2$ ) e  $p$  estão demonstrados na tabela 14.

**Tabela 14.** Concentração letal 50 e 90 obtidas para os diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis* após a exposição ao óleo essencial de *Copaifera reticulata*.

Estágio	Intervalo de Confiança (95%)			Slope	Variação	$R^2$	Qui-quadrado	$p$
	Concentração Letal	Mínimo	Máximo					
Larva 24h	$\text{CL}_{50}$	230,6	208,0	253,6	4,78	0,50	0,919	4,779
	$\text{CL}_{90}$	477,3	425,0	551,0				
Larva 48h	$\text{CL}_{50}$	159,6	140,5	180,0	5,27	0,98	0,982	11,923
	$\text{CL}_{90}$	405,7	362,7	448,8				
Pupa	$\text{CL}_{50}$	223,1	190,5	252,6	3,39	0,98	0,924	11,419
	$\text{CL}_{90}$	533,2	463,9	643,6				

<b>Adulto 24h</b>	<b>CL<sub>50</sub></b>	462,5	419,4	507,4	7,22	1,51	0,970	2,258	0,311
	<b>CL<sub>90</sub></b>	695,8	595,8	718,4					
<b>Adulto 48h</b>	<b>CL<sub>50</sub></b>	439,4	412,2	539,0	6,23	0,88	0,977	13,223	0,898
	<b>CL<sub>90</sub></b>	659,1	602,4	732,9					

Quando comparadas as CL<sub>50</sub> do OE de copaíba frente aos diferentes estágios, foi possível perceber a seguinte ordem de potência: pupa (CL<sub>50</sub> = 223,12 µg/cm<sup>2</sup>) > larva (CL<sub>50</sub> = 230,64 µg/cm<sup>2</sup>) > adulto (CL<sub>50</sub> = 462,45 µg/cm<sup>2</sup>). Quando calculado a potência relativa, percebe-se que este OE foi 2,07 vezes mais potente para pupa e 2,01 vezes mais potente para larva quando comparado ao estágio adulto. Quando avaliada a potência relativa entre o tempo de exposição de 24 e 48 horas para adultos e larvas é possível perceber que a razão foi inferior a 2 demonstrando que a exposição por um tempo maior não difere na mortalidade dos parasitos.

Após a avaliação do OE de *C. reticulata* notamos que o mesmo apresenta atividade inseticida frente aos estágios de larva, pupas e adultos corroborando com os resultados de outros autores, mostrando que o OE de plantas do gênero *Copaifera* também possui atividade inseticida frente a larvas e adultos de outros insetos hematófagos, como os mosquitos dos gêneros *Anopheles* e *Aedes* (KANIS *et al.*, 2012; PROPHIRO *et al.*, 2012; TRINDADE *et al.*, 2013).

Não foi observada atividade ovicida para o OE de *C. reticulata* neste estudo frente a *C. felis felis*. Apesar disso, existem trabalhos publicados utilizando outros subprodutos (extratos e o óleo resina) demonstrando esse tipo de atividade frente a ovos de artrópodes (YORULMAZ SALMAN *et al.*, 2014). No entanto, é importante destacar que a forma de extração e a composição química desses outros subprodutos, normalmente, é diferente da composição química de OE's. Por este motivo, tal atividade ovicida não foi observada nesse trabalho.

#### 4.3.2 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 dos Óleo Essencial de *Lavandula hybrida* frente aos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*

Após a realização dos testes definitivos com o OE de *L. hybrida* frente aos diferentes estágios de *C. felis felis* observou-se 100% de mortalidade nas concentrações de 400 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio de ovo, 220 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio de larva, 800 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio de adulto e 1000 µg/cm<sup>2</sup> para o estágio de pupa. Conforme demonstrado na tabela 15.

**Tabela 15.** Percentual de mortalidade do óleo essencial de *Lavandula hybrida* frente aos estágios de larva, pupa e adultos de *Ctenocephalides felis felis* após o ajuste de concentrações.

Conc. (µg.cm <sup>-2</sup> )	Ovo* Mort. (%)	Conc. (µg.cm <sup>-2</sup> )	Larva		Conc. (µg.cm <sup>-2</sup> )	Pupa* Mort. (%)	Conc. (µg.cm <sup>-2</sup> )	Adultos	
			(24h) Mort. (%)	(48h) Mort. (%)				(24h) Mort. (%)	(48h) Mort. (%)
Cont. neg.	10,0	Cont. neg.	0	0	Cont. neg.	1,7	Cont. neg.	0	0
Placebo	5,0	Placebo	0	0	Placebo	1,7	Placebo	0	0
40	7,0	90	0	1,7	300	8,5	200	10,0	10,0
120	15,8	130	35,0	36,1	400	25,4	400	16,7	30,0
160	38,6	150	71,2	81,7	600	40,7	500	21,7	40,0
200	82,5	180	90,0	90,2	700	61,0	600	60,0	70,0
300	98,3	200	90,2	95,0	800	76,3	700	85,0	85,0
400	100,0	220	100,0	100,0	1000	100,0	800	100,0	100,0
Cont. pos.	100,0	Cont. pos.	100,0	100,0	Cont. pos.	100,0	Cont. pos.	100,0	100,0

Mort. = mortalidade; Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (fipronil para o estágio adulto, larva e pupa e piriproxifen para o estágio de ovo).

A partir da determinação do percentual de mortalidade na nova faixa de concentração estabelecida foi realizado o cálculo das concentrações letais para os respectivos estágios em

seu tempo de avaliação. Para larvas a CL<sub>50</sub> foi 171,4 µg/cm<sup>2</sup> (116,1 – 193,0 µg/cm<sup>2</sup>) para o estágio de ovo, de 142,0 µg/cm<sup>2</sup> (133,9 – 149,2 µg/cm<sup>2</sup>) para a avaliação após 24 horas e de 136,7 (128,3 – 143,6 µg/cm<sup>2</sup>) após 48 horas. Para pupa a CL<sub>50</sub> foi de 672,9 µg/cm<sup>2</sup> (508,2 – 708,0 µg/cm<sup>2</sup>) e para adultos foi de 559,3 µg/cm<sup>2</sup> (520,9 – 596,3 µg/cm<sup>2</sup>) após 24 horas de exposição e de 513,0 µg/cm<sup>2</sup> (465,7 – 553,4 µg/cm<sup>2</sup>) após 48 horas.

Para CL<sub>90</sub> foi obtido para ovos foi de 281,9 (240,1 – 352,3), larvas 188,4 µg/cm<sup>2</sup> (177,9 – 204,1 µg/cm<sup>2</sup>) na avaliação de 24 horas, 174,4 µg/cm<sup>2</sup> (165,4 – 188,1 µg/cm<sup>2</sup>) para 48 horas; para pupa 961,3 µg/cm<sup>2</sup> (846,4 – 1199,9 µg/cm<sup>2</sup>) e adultos 748,3 µg/cm<sup>2</sup> (688,7 – 857,7 µg/cm<sup>2</sup>) para avaliação após 24 horas e 735,4 µg/cm<sup>2</sup> (667,0 – 872,1 µg/cm<sup>2</sup>) para a avaliação após 48 horas. Os valores slope, coeficiente de regressão (R<sup>2</sup>) e *p* estão demonstrados na tabela 16.

**Tabela 16.** Concentração letal 50 e 90 obtidas para os diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis* após a exposição ao óleo essencial de *Lavandula hybrida*.

Estágio	Intervalo de Confiança (95%)			Slope	Variação	R <sup>2</sup>	Qui-quadrado	<i>p</i>
	Concentração Letal	Mínimo	Máximo					
Ovo	CL <sub>50</sub>	171,4	116,1	193,0	4,0	0,25	0,951	29,313
	CL <sub>90</sub>	281,9	240,1	352,3				
Larva 24h	CL <sub>50</sub>	142,0	133,9	149,2	10,4	3,01	0,919	11,328
	CL <sub>90</sub>	188,4	177,9	204,1				
Larva 48h	CL <sub>50</sub>	136,7	128,3	143,6	12,1	2,72	0,917	5,117
	CL <sub>90</sub>	174,4	165,4	188,1				
Pupa	CL <sub>50</sub>	672,9	508,2	708,0	5,7	1,23	0,975	13,532
	CL <sub>90</sub>	961,3	846,4	1199,9				
Adulto 24h	CL <sub>50</sub>	559,3	520,9	596,3	10,1	1,54	0,965	10,345
	CL <sub>90</sub>	748,3	688,7	857,7				
Adulto 48h	CL <sub>50</sub>	513,0	465,7	553,4	8,2	1,34	0,950	12,432
	CL <sub>90</sub>	735,4	667,0	872,1				

Ao compararmos as CL<sub>50</sub> dos diferentes estágios, o OE de lavandin demonstrou a seguinte ordem de potência: larva (CL<sub>50</sub> = 142,04 µg/cm<sup>2</sup>) > ovo (171,44 µg/cm<sup>2</sup>) > adulto (CL<sub>50</sub> = 559,26 µg/cm<sup>2</sup>) > pupa (CL<sub>50</sub> = 672,90 µg/cm<sup>2</sup>). Para este OE o estágio menos suscetível foi o de pupa. Quando calculado a potência relativa, foi possível perceber que este OE 3,9 vezes mais potente para ovos, 4,73 vezes mais potente para larva quando comparado ao estágio de pupa. A razão entre as CL<sub>50</sub> dos estágios de pupa e adultos foi inferior a 2, por isso, é possível inferir que não existe razão de potência entre esses dois estágios. A mesma interpretação pode ser realizada quando comparados os estágios de ovo e larva.

Quando comparado o tempo de exposição, potência relativa avaliada entre o tempo de exposição de 24 e 48 horas para adultos e larvas é possível perceber que a razão foi inferior a 2, respectivamente, mostrando que o tempo de exposição é indiferente para eliminar larvas ou pulgas adultas.

Diferente do observado para o OE de *C. reticulata*, o OE de *L. hybrida* demonstrou possuir atividade frente a ovos, larvas, pupas e adultos de *C. felis felis*. A atividade ovicida e larvicida frente a ovos e larvas de outros insetos já foi descrita para OE's de plantas do gênero *Lavandula*. (BARKER; ALTMAN, 2011; SALMAN *et al.*, 2015; VALIZADEH *et al.*, 2021)



### 4.3.3 Determinação da Concentração Letal 50 e 90 dos Óleo Essencial de *Salvia sclarea* frente aos diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis*

Após a realização dos testes definitivos com o OE de *S. sclarea* frente aos diferentes estágios de *C. felis felis* foi possível observar 100% de mortalidade nas concentrações de 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o estágio de ovo, 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para larvas após 48 horas de exposição ao papel filtro impregnado com o OE e, na concentração de 1600  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para os estágios de pupa e adultos, conforme demonstrado na Tabela 17.

**Tabela 17.** Percentual de mortalidade do óleo essencial de *Salvia sclarea* frente aos estágios de larva, pupa e adultos de *Ctenocephalides felis felis* após o ajuste de concentrações.

Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	Ovo* Mort. (%)	Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	Larva		Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	Pupa* Mort. (%)	Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	Adultos	
			(24h) Mort. (%)	(48h) Mort. (%)				(24h) Mort. (%)	(48h) Mort. (%)
Cont. neg.	0	Cont. neg.	0	0	Cont. neg.	10,0	Cont. neg.	0	0
Placebo	0	Placebo	0	0	Placebo	5,5	Placebo	0	0
100	10,0	80	21,7	23,3	100	5,5	400	1,7	1,7
200	13,3	100	46,7	53,3	200	18,2	600	8,3	11,7
300	25,5	120	61,7	66,7	400	30,9	800	40,0	45,0
400	53,3	160	85,0	88,3	800	54,5	1000	61,4	66,7
600	76,7	180	90,0	93,3	1200	80,0	1200	81,7	88,7
800	100,0	200	98,4	100,0	1600	100,0	1600	100,0	100,0
Cont. pos.	100,0	Cont. pos.	100,0	100,0	Cont. pos.	100,0	Cont. pos.	100,0	100,0

Mort. = mortalidade; Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (fipronil para o estágio adulto, larva e pupa e piriproxifen para o estágio de ovo).

A partir da determinação do percentual de mortalidade na nova faixa de concentração estabelecida foi realizado o cálculo das concentrações letais para os respectivos estágios em seu tempo de avaliação. Para larvas a  $\text{CL}_{50}$  foi 390,2  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (346,1 – 438,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para o estágio de ovo, de 103,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (94,5 – 112,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para a avaliação após 24 horas e de 103,7 (94,5 – 112,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) após 48 horas. Para pupa a  $\text{CL}_{50}$  foi de 891,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (823,0 – 958,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e para adultos foi de 559,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (520,9 – 596,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) após 24 horas de exposição e de 851,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (783,6 – 916,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) após 48 horas.

Para  $\text{CL}_{90}$  foi obtido para ovos foi de 390,2 (346,1 – 438,3), larvas 168,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (142,3 – 187,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) na avaliação de 24 horas, 168,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (142,3 – 187,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para 48 horas; para pupa 1483,2  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (1279,5 – 1573,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e adultos 1290,6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (1171,1 – 1502,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para avaliação após 24 horas e 1237,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (1124,2 – 1437,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para a avaliação após 48 horas. Os valores slope, coeficiente de regressão ( $R^2$ ) e  $p$  estão demonstrados na tabela 18.

**Tabela 18.** Concentração letal 50 e 90 obtidas para os diferentes estágios de *Ctenocephalides felis felis* após a exposição ao óleo essencial de *Salvia sclarea*.

Estágio	Intervalo de Confiança (95%)				Slope	Variação	$R^2$	Qui-quadrado	$p$
	Concentração Letal	Mínimo	Máximo						
Ovo	$\text{CL}_{50}$	390,2	346,1	438,3	4,85	0,74	0,989	9,749	0,955
	$\text{CL}_{90}$	716,6	609,7	923,6					
Larva 24h	$\text{CL}_{50}$	103,7	94,5	112,1	7,01	0,88	0,975	5,566	0,766
	$\text{CL}_{90}$	168,0	142,3	187,1					
Larva 48h	$\text{CL}_{50}$	103,7	94,5	112,1	7,01	0,88	0,975	5,566	0,766
	$\text{CL}_{90}$	168,0	142,3	187,1					

Pupa	CL <sub>50</sub>	475,0	364,9	589,0	2,45	0,50	0,997	14,286	0,994
	CL <sub>90</sub>	1483,2	1279,5	1573,9					
Adulto 24h	CL <sub>50</sub>	891,0	823,0	958,6	7,97	0,66	0,995	2,754	0,400
	CL <sub>90</sub>	1290,6	1171,1	1502,0					
Adulto 48h	CL <sub>50</sub>	851,3	783,6	916,1	7,89	0,54	0,954	1,862	0,239
	CL <sub>90</sub>	1237,3	1124,2	1437,3					

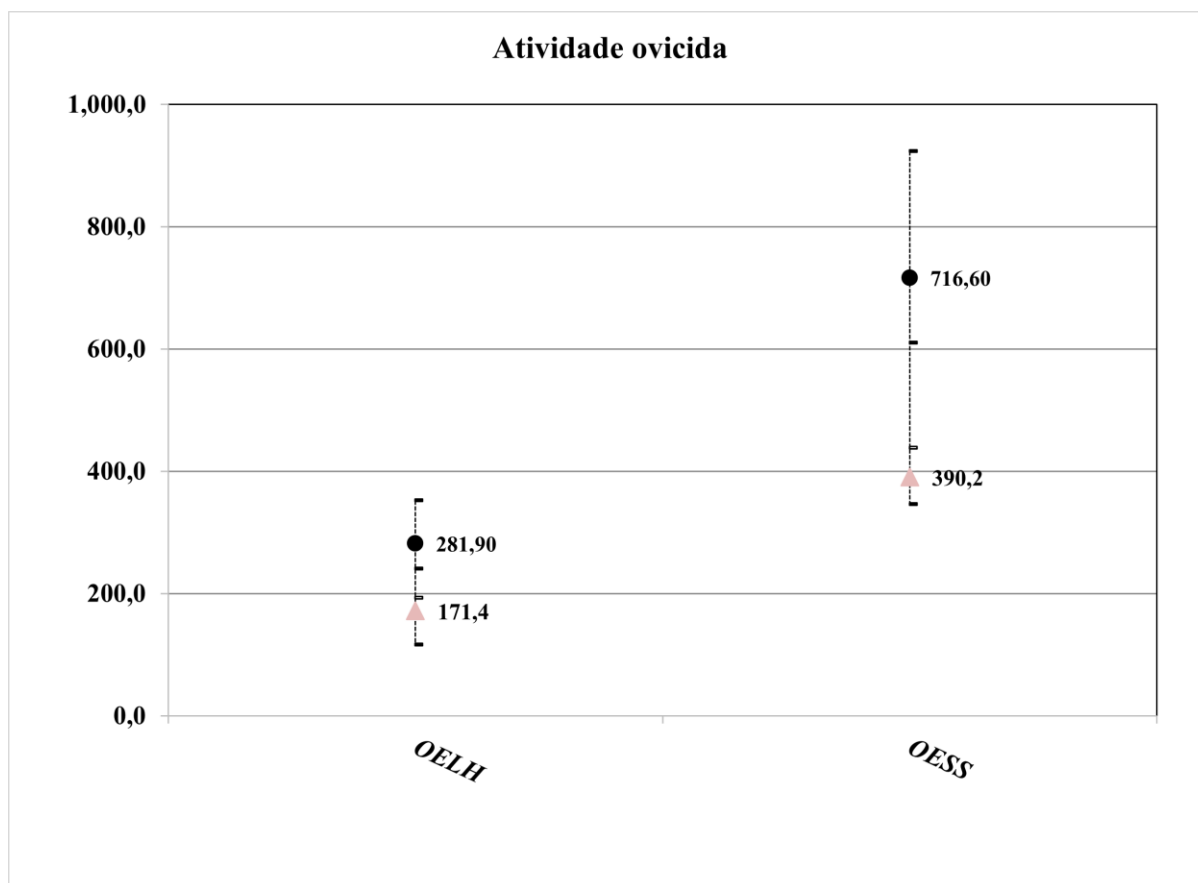
A partir dos resultados expostos, quando comparadas as CL<sub>50</sub> dos diferentes estágios, observamos que o OE de *S. sclarea* foi mais eficaz na seguinte ordem: larva (CL<sub>50</sub> = 103,73µg/cm<sup>2</sup>) > ovo (CL<sub>50</sub>= 390,16 µg/cm<sup>2</sup>) > pupa (CL<sub>50</sub>= 474,97µg/cm<sup>2</sup>) > adulto (CL<sub>50</sub> = 891,04µg/cm<sup>2</sup>). A potência relativa foi de 8,58 vezes mais potente para o estágio de larva, 2,28 vezes mais potente para o estágio de ovo. A razão entre as CL<sub>50</sub> dos estágios de pupa e adultos foi inferior a 2, por isso, é possível inferir que não existe razão de potência entre esses dois estágios. Quando comparado o tempo de exposição, potência relativa avaliada entre o tempo de exposição de 24 e 48 horas para adultos e larvas é possível perceber que a razão foi inferior a 2, respectivamente.

Assim como o OE de *L. hybrida*, o OE de *S. sclarea* apresentou atividade frente a todos os estágios de *C. felis felis*. Resultado esperado devido a semelhança na composição química e, por apresentarem como constituintes majoritários o linalol e o acetato de linalila. A atividade inseticida deste OE já foi descrita para OE de plantas do gênero *Salvia* frente a piolhos (YANG *et al.*, 2004), além de atividade larvicida e adulticida frente aos mosquitos dos gêneros *Anopheles* e *Aedes* (MATHEW; THOPPIL, 2011; ALI *et al.*, 2015) e, a insetos que causam problemas no armazenamento de grãos como: *Tribolium confusum* (SENER *et al.*, 2009), *T. castaneum* (UKUKANLI *et al.*, 2013) e *Spodoptera littoralis* (PAVELA *et al.*, 2005).

#### 4.4 Comparação entre a concentração 50 dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea* frente aos estágios de ovo, larva, pupa e adultos

Para realizar a atividade comparativa dos OE's frente aos diferentes estágios, foi utilizado somente o tempo de avaliação de 24 horas para os estágios de adulto e larva. Uma vez que o tempo de exposição de 48 horas não demonstrou aumentar a potência de nenhum deles.

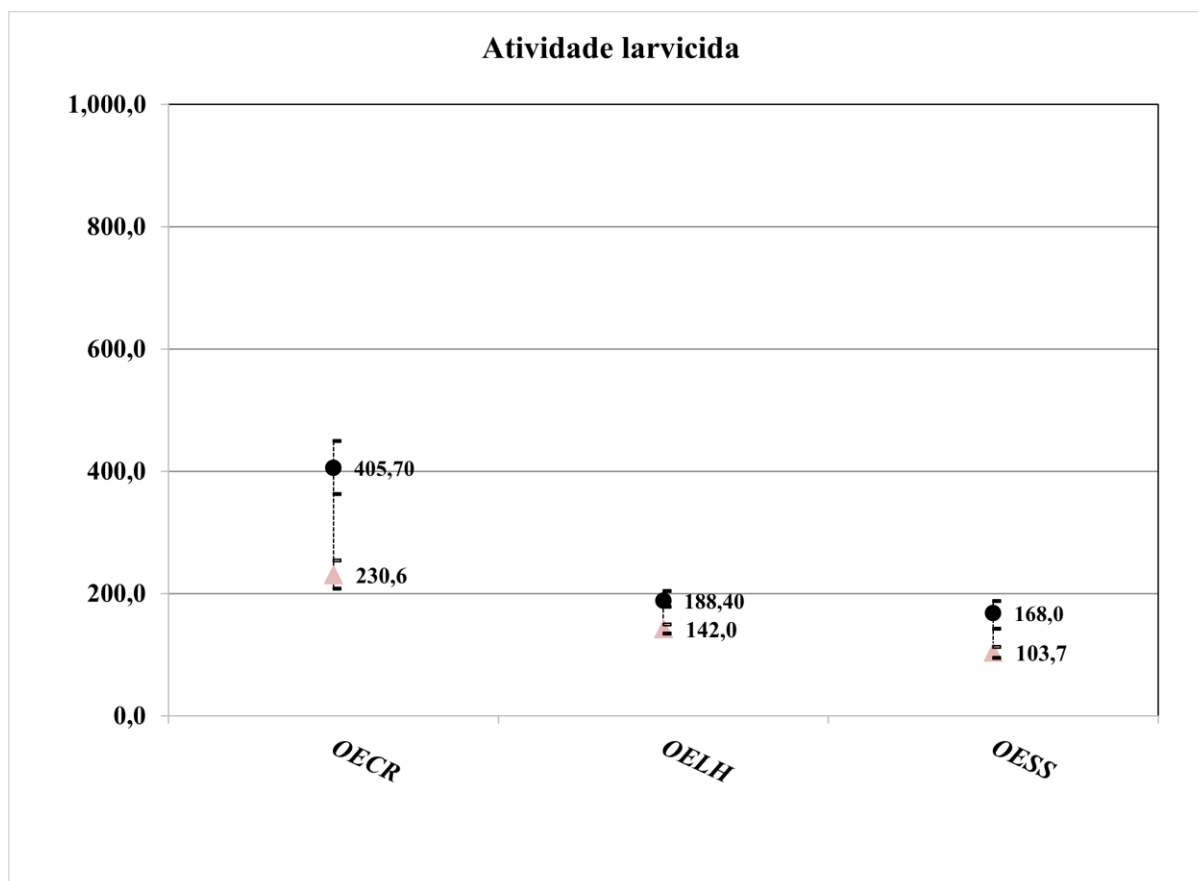
Para o estágio de ovo, foi possível verificar que o OE de *L. hybrida* apresentou um menor valor de CL<sub>50</sub> (171,4 µg/cm<sup>2</sup>) quando comparado ao OE de *S. sclarea* (390,2 µg/cm<sup>2</sup>). Quando realizado o cálculo de potência relativa, foi possível perceber que o OE de *L. hybrida* foi 2,27 vezes mais potente quando comparado com ao de *S. sclarea*. A Figura 6 demonstra os valores de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> e seus respectivos valores mínimos e máximos para os OE's que apresentaram atividade larvicida.



**Figura 6.** Valores de concentração letal 50 e 90 em µg/cm<sup>2</sup> dos óleos essenciais de *Lavandula hybrida* (OELH) e *Salvia sclarea* (OEES) frente a ovos da pulga *Ctenocephalides felis felis*.

Outros OE's demonstraram possuir atividade ovicida frente a ovos de *C. felis felis*. Conceição *et al.* (2020) demonstrou tal atividade para os óleos essenciais de *O. vulgare* (CL<sub>50</sub> = 94,5 µg/cm<sup>2</sup>), *T. vulgaris* (CL<sub>50</sub> = 13,5 µg/cm<sup>2</sup>) e *C. cassia* (CL<sub>50</sub> = 3,0 µg/cm<sup>2</sup>). Freitas *et al.* (2020) também demonstrou atividade ovicida para este mesmo parasito para os OE de *I. verum* (CL<sub>50</sub> = 36,9 µg/cm<sup>2</sup>) e *P. graveolans* (CL<sub>50</sub> = 18,8 µg/cm<sup>2</sup>). Quando comparados aos resultados obtidos para os OE's avaliados neste trabalho, é possível verificar que todos eles apresentam valores inferiores de CL<sub>50</sub>.

Quanto aos três OE's, é possível inferir que o OE de *S. sclarea* foi o que apresentou menor valor de CL<sub>50</sub> (103,7 µg/cm<sup>2</sup>), seguido dos OE de *L. hybrida* (188,4 µg/cm<sup>2</sup>) e *C. reticulata* (230,6 µg/cm<sup>2</sup>) frente a larvas de pulgas. Com relação à potência relativa, foi possível verificar que este estágio foi 2,22 vezes menos suscetível para o OE de *C. reticulata* quando comparado aos demais. O OE de *L. hybrida* quando analisado com os OE's de *S. sclarea* e *C. reticulata*, notou-se que a razão foi inferior a 2, portanto, não possuem diferença entre eles para o estágio de larva. A Figura 7 demonstra os valores de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> e seus respectivos valores mínimos e máximos para os OE's avaliados neste estudo.

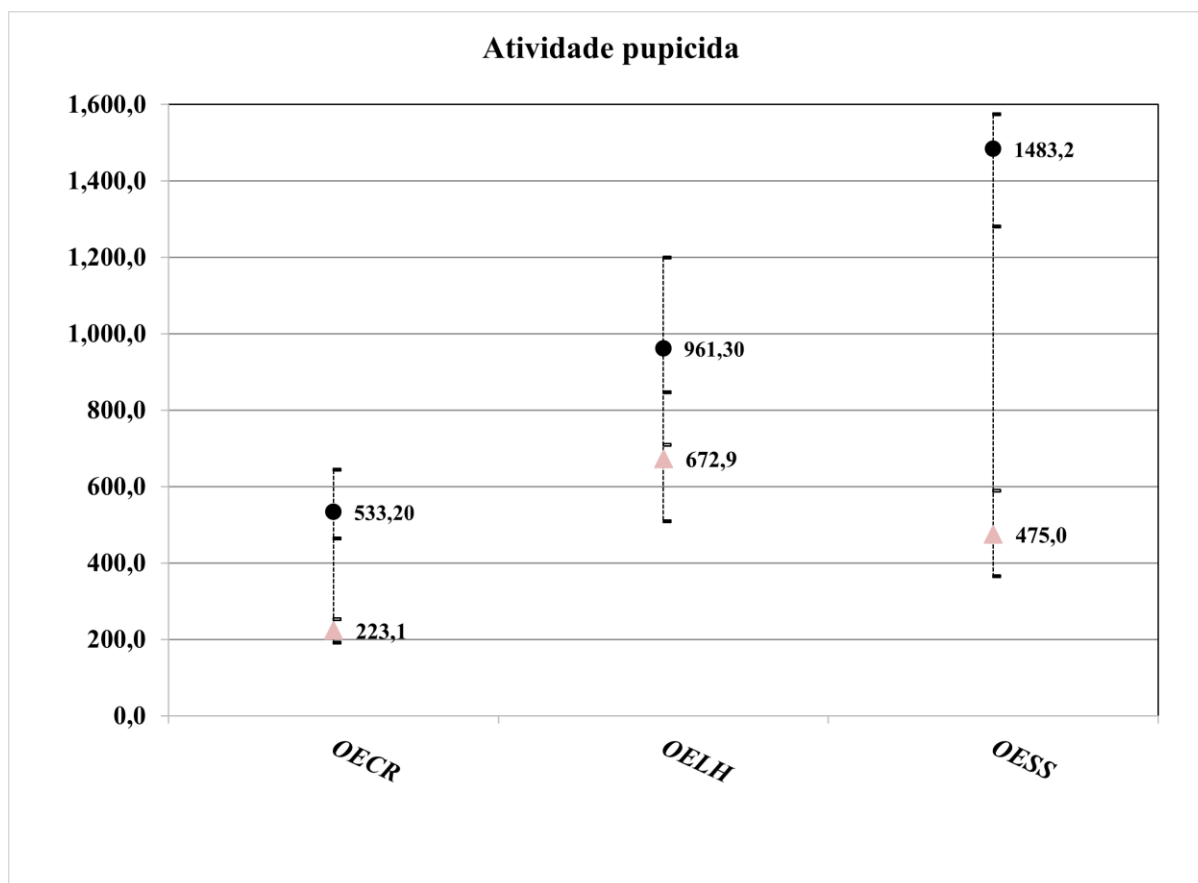


**Figura 7.** Valores de concentração letal 50 e 90 em µg/cm<sup>2</sup> dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata* (OECR) *Lavandula hybrida* (OELH) e *Salvia sclarea* (OEES) frente a larvas da pulga *Ctenocephalides felis felis*.

Outros OE's demonstraram possuir atividade larvicida frente a *C. felis felis*, como os OE's de *I. verum* (CL<sub>50</sub>=14,4 µg/cm<sup>2</sup>) e *P. graveolans* (CL<sub>50</sub>=20,1 µg/cm<sup>2</sup>) em estudo realizado por Freitas *et al.*, (2020), enquanto Conceição *et al.* (2020) demonstrou atividade larvicida para os OE's de *C. cassia* (CL<sub>50</sub>=17,2 µg/cm<sup>2</sup>), *T. vulgaris* (CL<sub>50</sub>=35,4 µg/cm<sup>2</sup>) e *O. vulgare* (CL<sub>50</sub>=155,1 µg/cm<sup>2</sup>).

Quando comparados aos resultados deste estudo, apenas o OE de orégano apresentou CL<sub>50</sub> maior ao descrito para o OE de *S. sclarea*. Todos os outros OE utilizados para o controle *in vitro* de larvas de *C. felis felis* apresentaram CL<sub>50</sub> inferiores encontradas neste estudo.

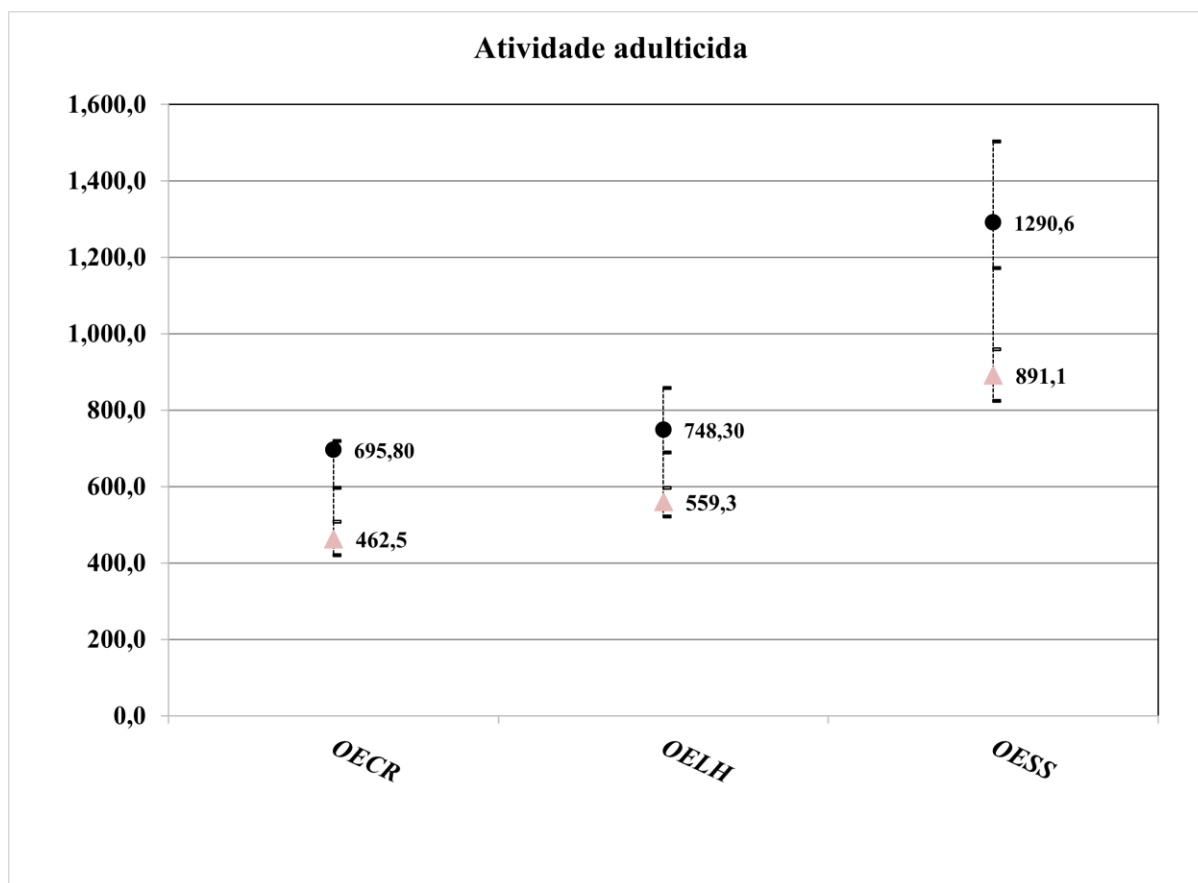
Para o estágio de pupa, o OE de *C. reticulata* foi o que apresentou menor valor de CL<sub>50</sub> (223,1 µg/cm<sup>2</sup>), seguido dos OE's de *S. sclarea* (475,0 µg/cm<sup>2</sup>) e *L. hybrida* (672,9 µg/cm<sup>2</sup>). Com relação à potência relativa, foi possível verificar que este estágio foi 3,01 vezes menos suscetível para o OE de *C. reticulata* quando comparado de *L. hybrida*, e de 2,12 vezes quando comparado ao de *S. sclarea*. Quando comparado o OE de *L. hybrida* com o OE de *S. sclarea*, foi possível perceber que a razão foi inferior a 2, portanto, não possuem diferença entre eles para o estágio de pupa. A Figura 8 demonstra os valores de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> e seus respectivos valores mínimos e máximos para os OE's avaliados neste estudo.



**Figura 8.** Valores de concentração letal 50 e 90 em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata* (OECR) *Lavandula hybrida* (OELH) e *Salvia sclarea* (OEES) frente a pupas da pulga *Ctenocephalides felis felis*.

Óleos essenciais já demonstraram possuir atividade pupicida frente a *C. felis felis*. Conceição *et al.* (2020) demonstrou em seu trabalho atividade pupicida com OE de *C. cassia* ( $\text{CL}_{50} = 34,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), *O. vulgare* ( $\text{CL}_{50} = 98,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e *T. vulgaris* ( $\text{CL}_{50} = 203,2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), da mesma forma, Freitas *et al.* (2020) demonstrou tal atividade para os OE's de *I. verum* ( $\text{CL}_{50} = 35,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e *P. graveolans* ( $\text{CL}_{50} = 67,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

Sobre a atividade adulticida, foi possível notar que o OE com maior valor de  $\text{CL}_{50}$  foi o de *S. sclarea* ( $891,1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) seguido pelo de *L. hybrida* ( $559,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e, o que apresentou menor valor de  $\text{CL}_{50}$  foi o de *C. reticulata* ( $462,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Com relação à potência relativa, foi possível verificar que para este estágio a razão foi inferior a 2, portanto, não possuem diferença entre eles para o estágio de adultos. A Figura 9 demonstra os valores de  $\text{CL}_{50}$  e  $\text{CL}_{90}$  e seus respectivos valores mínimos e máximos para os OE's avaliados neste estudo.



**Figura 9.** Valores de concentração letal 50 e 90 em µg/cm<sup>2</sup> dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata* (OECR) *Lavandula hybrida* (OELH) e *Salvia sclarea* (OESS) frente a adultos da pulga *Ctenocephalides felis felis*.

A atividade aduIticida de OE já vem sendo descrita. Freitas *et al.* (2020) mostraram que o OE de *I. verum* (CL<sub>50</sub>=121,7 µg/cm<sup>2</sup>) e *P. graveolans* (CL<sub>50</sub>=173,0 µg/cm<sup>2</sup>) demonstraram ser eficazes no controle *in vitro* de pulgas adultas. Da mesma forma, Conceição *et al.* (2020) observaram que os OE's de *O. vulgare* (CL<sub>50</sub>=33,5 µg/cm<sup>2</sup>), *T. vulgaris* (CL<sub>50</sub>=64,5 µg/cm<sup>2</sup>) e *C. cassia* (CL<sub>50</sub>=74,7 µg/cm<sup>2</sup>) também foram eficazes para este propósito. Assim como o OE de *S. aromaticum* (CL<sub>50</sub>=5,7 µg/cm<sup>2</sup>) que dentro os OE's descritos na literatura, apresenta menor valor de CL<sub>50</sub>. Quando comparado aos resultados de CL<sub>50</sub> dos OE descritos para pulgas, foi possível verificar nesse estudo que os valores observados de CL<sub>50</sub> foram superiores aos encontrados na literatura. De forma comparativa é possível inferir que o OE de *C. reticulata* foi o que apresentou melhores resultados frente a pupas e pulgas adultas. Demonstrando, desta forma, ser promissor para o desenvolvimento de formulações aduIticidas para que possam ser administradas em animais de companhia para o controle deste ectoparasito.

Por outro lado, o OE de *S. sclarea* foi o que apresentou ser capaz de eliminar as larvas de *C. felis felis* em menores concentrações, enquanto o OE de *L. hybrida* demonstrou tal característica para eliminação de ovos. Tornando-os promissores para o desenvolvimento de formulações que possam ser aplicáveis no ambiente com a finalidade de promover o controle das formas imaturas deste inseto.

Apesar de grande parte das CL<sub>50</sub> dos OE's avaliados neste estudo serem maiores do que as descritas na literatura para a maioria dos estágios, é importante ressaltar que este é o primeiro trabalho que avaliar a atividade inseticida dos OE's de *C. reticulata*, *L. hybrida* e *S. sclarea* frente a pulgas. Assim como, de maneira indireta, a possível atividade inseticida de seus constituintes majoritários, pois apesar de algumas exceções, são os responsáveis por tal ação.

Ainda assim, novos estudos podem ser realizados avaliando a atividade sinérgica destes OE's para o controle de pulgas.

#### 4.5 Atividade na interrupção do ciclo biológico de *Ctenocephalides felis felis* dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea*

O OE de *C. paradisi* não foi capaz de interromper o desenvolvimento do ciclo biológico de ovo à adulto, de *C. felis felis*. Em relação a emergência de pulgas adultas, não foi possível observar tal ação na concentração utilizada para os outros três óleos (300  $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ ). Os resultados de interrupção no desenvolvimento do ciclo biológico para cada OE estão demonstrados na Tabela 19.

**Tabela 19.** Percentual de interrupção do ciclo biológico de ovo a adulto para a pulga *Ctenocephalides felis felis* após a exposição à diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea*.

<i>Copaifera reticulata</i>		<i>Lavandula hybrida</i>		<i>Salvia sclarea</i>	
Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	ICB* Mortalidade (%)	Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	ICB* Mortalidade (%)	Conc. ( $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ )	ICB* Mortalidade (%)
Cont. neg.	25,3	Cont. neg.	11,7	Cont. neg.	5,5
Placebo	21,5	Placebo	15,3	Placebo	5,5
30	0	5	3,8	10	1,7
50	1,7	20	18,9	25	10,0
100	13,6	40	34,0	50	35,0
150	52,3	120	62,3	100	68,3
200	72,7	160	88,7	200	85,0
300	100,0	300	100,0	300	100,0
Cont. pos.	100,0	Cont. pos.	100,0	Cont. pos.	100,0

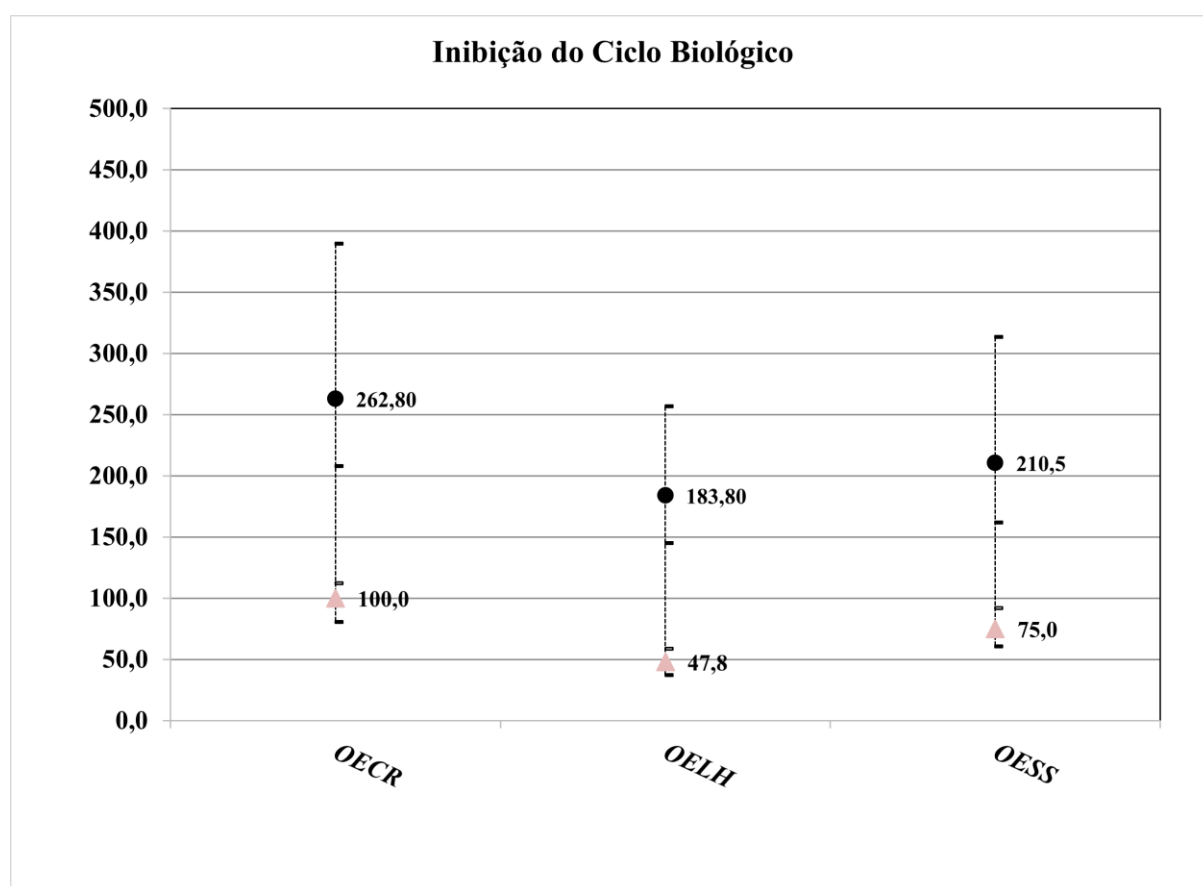
ICB = interrupção do ciclo biológico; Cont. Neg = controle negativo (fitas sem impregnação); Cont. Pos. = controle positivo (piriproxifen).

Foi verificada mortalidade no controle negativo e placebo dos ensaios realizados com os três OE's, e esse percentual de mortalidade variou de 5,5 a 25,3%. Apesar de ser considerado alto para um grupo controle negativo/ placebo, este percentual de mortalidade se torna aceitável dentro deste tipo de ensaio, uma vez que, está sendo avaliado o efeito desde a eclosão das larvas dos ovos até a emergência de adulto a partir do pupário. Dentro de uma população saudável de pulgas existe uma mortalidade considerada normal que ocorre na ecdise de cada estágio e de acordo com o descrito por Meola (2003) e Rust (1994), o percentual de emergência de adultos pode variar de 70 – 100%, portanto, existe uma mortalidade inerente ao ciclo biológico que pode corresponder até 30%.

A  $\text{CL}_{50}$  para os OE's de *C. reticulata*, *L. hybrida* e *S. sclarea* 100,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (80,3 - 112,0  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), 47,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (37,2 - 58,4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e 75,0  $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$  (60,3 - 91,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) respectivamente. Para  $\text{CL}_{90}$  foram obtidos os valores de 262,8  $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$  (207,8 - 389,6  $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$ ), 183,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (144,9 - 256,5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), 210,5  $\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$  (161,7 - 313,  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), para os OE's de *C. reticulata*, *L. hybrida* e *S. sclarea* (Tabela 20 e Figura 10). Para o OE de *C. paradisi* não foi possível fazer os cálculos de CL por não apresentar interrupção no desenvolvimento do ciclo biológico.

**Tabela 20.** Concentração letal 50 e 90 obtidas para inibição do ciclo biológico de ovo a adulto de *Ctenocephalides felis felis* após a exposição aos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea*.

Óleo Essencial	Concentração Letal	Intervalo de Confiança (95%)			Slope	Variação	R <sup>2</sup>	Qui-quadrado	p
		Mínimo	Máximo						
<i>Copaifera reticulata</i>	CL <sub>50</sub>	100,0	80,3	112,0	3,1	1,11	0,973	13,012	0,989
	CL <sub>90</sub>	262,8	207,8	389,6					
<i>Lavandula hybrida</i>	CL <sub>50</sub>	47,8	37,2	58,4	2,2	1,32	0,934	19,747	0,997
	CL <sub>90</sub>	183,8	144,9	256,5					
<i>Salvia sclarea</i>	CL <sub>50</sub>	75,0	60,3	91,8	2,9	0,28	0,850	4,435	0,963
	CL <sub>90</sub>	210,5	161,7	313,1					



**Figura 10.** Valores de concentração letal 50 e 90 em µg/cm<sup>2</sup> dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata* (OECR) *Lavandula hybrida* (OELH) e *Salvia sclarea* (OESS) na inibição do ciclo biológico da pulga *Ctenocephalides felis felis*.

Quando comparada com os estágios evolutivos de *C. felis felis* (ovo, larva, pupa e adultos) a ICB foi que apresentou os menores valores de CL<sub>50</sub> para os três OE's que apresentaram tal atividade (*C. reticulata*, *L. hybrida* e *S. sclarea*). Essa menor concentração encontrada para evitar a emergência de pulgas adultas, quando comparadas com os estágios imaturos isolados, se deve muito provavelmente, a exposição do parasito a um maior período ao OE, o que pode ter resultado em uma toxicidade crônica.



Dentre os OE's analisados, *C. reticulata* foi o que apresentou maiores valores de CL<sub>50</sub> na ICB, possivelmente, tal resposta tenha sido causada pelo fato deste OE não possuir atividade ovicida somada a seu efeito final, resultando em maiores concentrações para inibir a emergência de pulgas adultas.

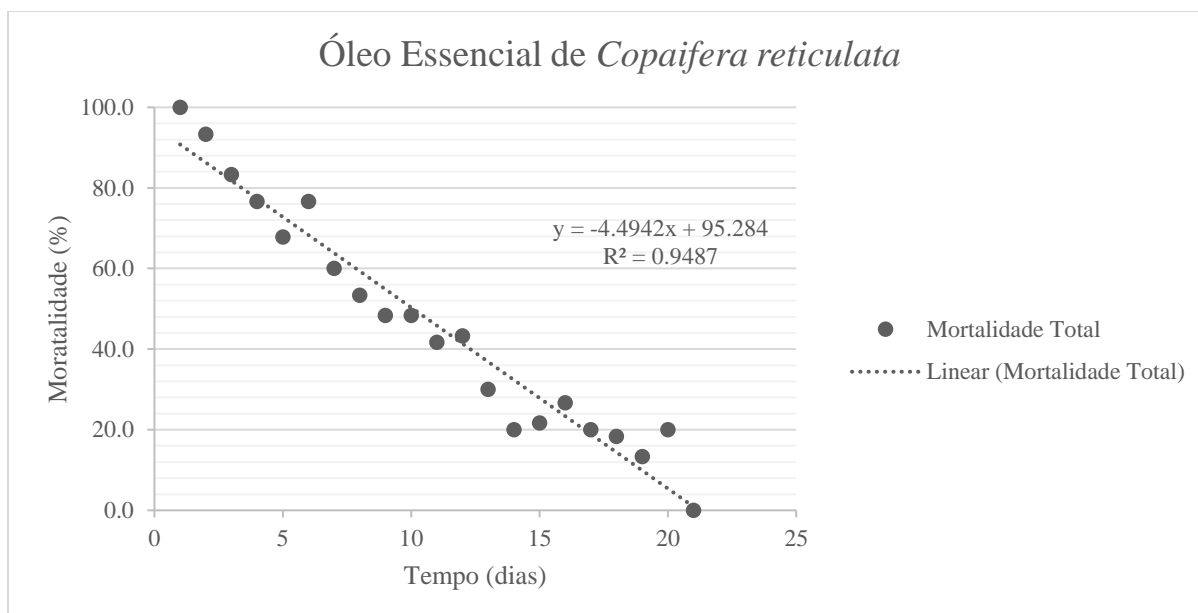
Com a metodologia aplicada nesse trabalho, é difícil afirmar que tenha ocorrido o efeito como regulador de crescimento de insetos (disruptor de crescimento de insetos), pois não foi acompanhado o desenvolvimento de cada estágio, apenas o resultado final (a emergência do adulto). Contudo, tal mecanismo de ação já foi descrito para outros OE's frente a outros tipos de insetos (HALDER *et al.*, 2012) e pode ser mais bem elucidado no futuro.

Quando comparados entre os OE's avaliados neste trabalho, foi possível perceber que em ordem crescente de CL<sub>50</sub> frente a ICB temos: *L. hybrida* (47,8 µg/cm<sup>2</sup>) > *S. sclarea* (75,0 µg/cm<sup>2</sup>) > *C. reticulata* (100, 0 µg/cm<sup>2</sup>). Quando comparados, o OE de *L. hybrida* foi 2,09 vezes mais potente do que de *C. reticulata*. A razão entre o OE de *S. sclarea*: *L. hybrida* e *C. reticulata*: *S. sclarea* foi menor do que 2, demonstrando que não existe diferença de potência entre eles.

Não foram encontrados outros trabalhos que apontassem a atividade dos OE's avaliados neste trabalho na ICB de outros insetos. No entanto, quando comparados as CL<sub>50</sub> de outros OE's frente a *C. felis felis* como *S. aromaticum* (CL<sub>50</sub> = 0.3 µg/cm<sup>2</sup>) (LAMBERT *et al.*, 2020) *C. cassia* (CL<sub>50</sub> = 2.3 µg/cm<sup>2</sup>) *O. vulgare* (CL<sub>50</sub> = 6.2 µg/cm<sup>2</sup>), *T. vulgaris* (CL<sub>50</sub> = 4.7 µg/cm<sup>2</sup>) (CONCEIÇÃO *et al.*, 2020), *I. verum* (CL<sub>50</sub> = 7.9 µg/cm<sup>2</sup>) e *P. graveolens* (CL<sub>50</sub> = 12.5 µg/cm<sup>2</sup>) (FREITAS *et al.*, 2021). Quando comparados aos OE's citados anteriormente, é possível perceber que as CL<sub>50</sub> obtidas para os OE's de *C. reticulata*, *L. hybrida* e *S. sclarea* foram superiores, mostrando que outros OE's possuem melhor atividade na ICB quando comparadas aos avaliados neste estudo.

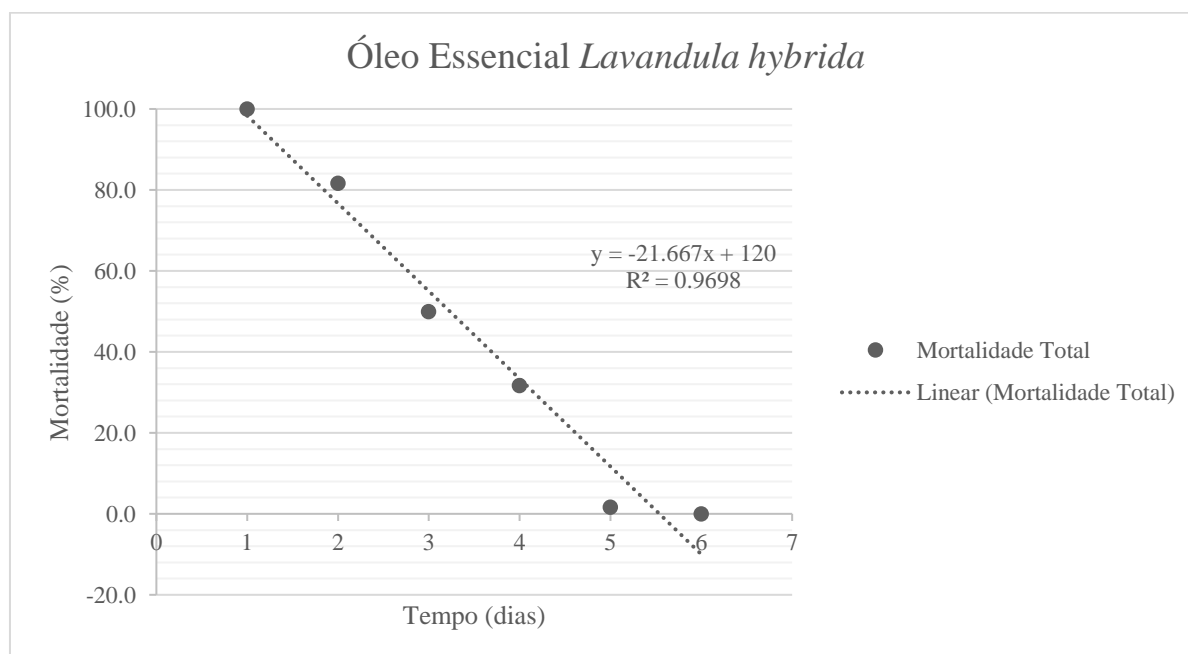
#### **4.6 Eficácia residual dos óleos essenciais de *Copaifera reticulata*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea* frente a adultos de *Ctenocephalides felis felis***

A eficácia residual não foi calculada para o óleo essencial de *C. paradisi* pois este não apresentou atividade adulticida na concentração de 2000 µg/cm<sup>2</sup> (100000 µg/mL). Para o OE de *C. reticulata* a concentração utilizada para a eficácia residual foi de 800 µg/cm<sup>2</sup> (40000 µg/mL), o percentual de mortalidade foi de 100% apenas no primeiro dia e foi decrescendo até a zero no dia 21. Os dados de eficácia residual para o OE de *C. reticulata* estão demonstrados na figura 11.



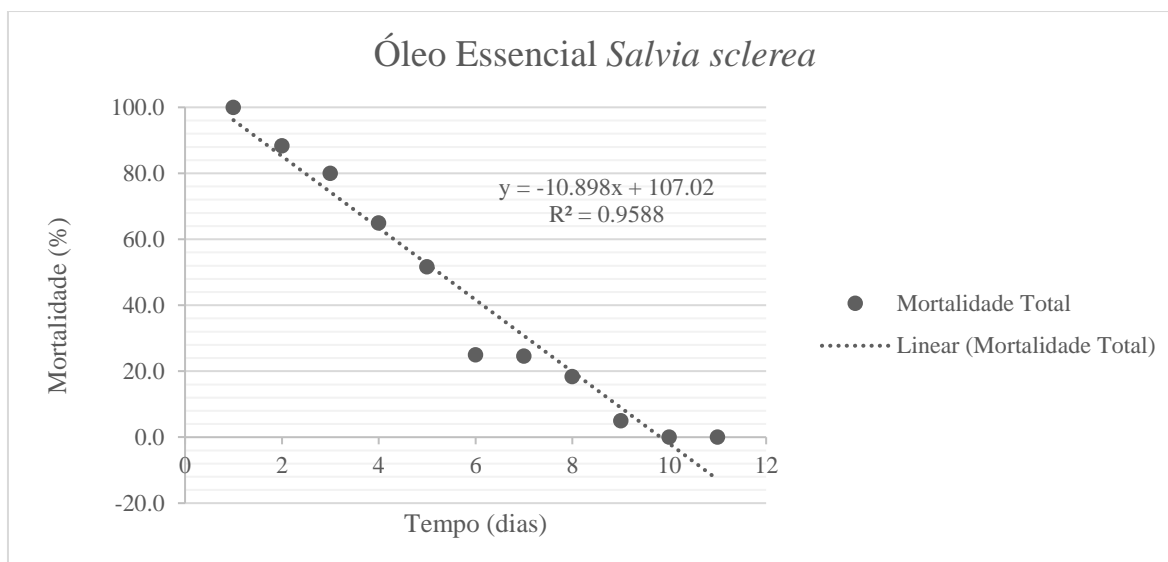
**Figura 11.** Eficácia residual do óleo essencial de *Copaifera reticulata* frente a *Ctenocephalides felis felis*.

O OE de *L. hybrida* foi testado também na concentração de 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (40000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e apresentou percentual de mortalidade igual a 100% no primeiro dia de análise e foi decaindo até a zero após seis dias do desafio. Os dados de eficácia residual para o OE de *L. hybrida* estão demonstrados na figura 12.



**Figura 12.** Eficácia residual do óleo essencial de *Lavandula hybrida* frente a *Ctenocephalides felis felis*.

Para o OE de *S. sclarea* (Figura 13) a concentração utilizada foi de 1600  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (80000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e foi possível observar 100% de mortalidade após 24 horas do desafio e a eficácia residual foi decaindo até a zero no décimo primeiro dia após início do desafio.



**Figura 13.** Eficácia residual do óleo essencial de *Salvia sclarea* frente a *Ctenocephalides felis felis*.

Juntamente com os desafios sempre foi realizado o controle positivo (fipronil 8 µg/cm<sup>2</sup> - 400 µg/mL) que apresentou eficácia residual de 99% no vigésimo segundo dia após o desafio. Também foram realizados controle negativo e placebo em conjunto, que não foi observado mortalidade durante as análises.

O teste de eficácia residual busca avaliar a persistência da atividade inseticida dos OE's frente ao estágio adulto de *C. felis felis*, tal avaliação se faz importante pensando na aplicabilidade de OE's para o tratamento das formas adultas quando aplicados, por exemplo, em animais.

O OE de *C. reticulata* foi o que apresentou maior período de eficácia residual, durante 21 dias, seguido pelo OE de *S. scalrea* (11 dias) e do OE de *L. hybrida* (6 dias). Tais resultados mostram que OE's possuem um efeito inseticida persistente que vai decaindo ao longo dos dias, muito provavelmente, pelo fato de que seus constituintes são voláteis e, vão sendo perdidos ao longo do tempo.

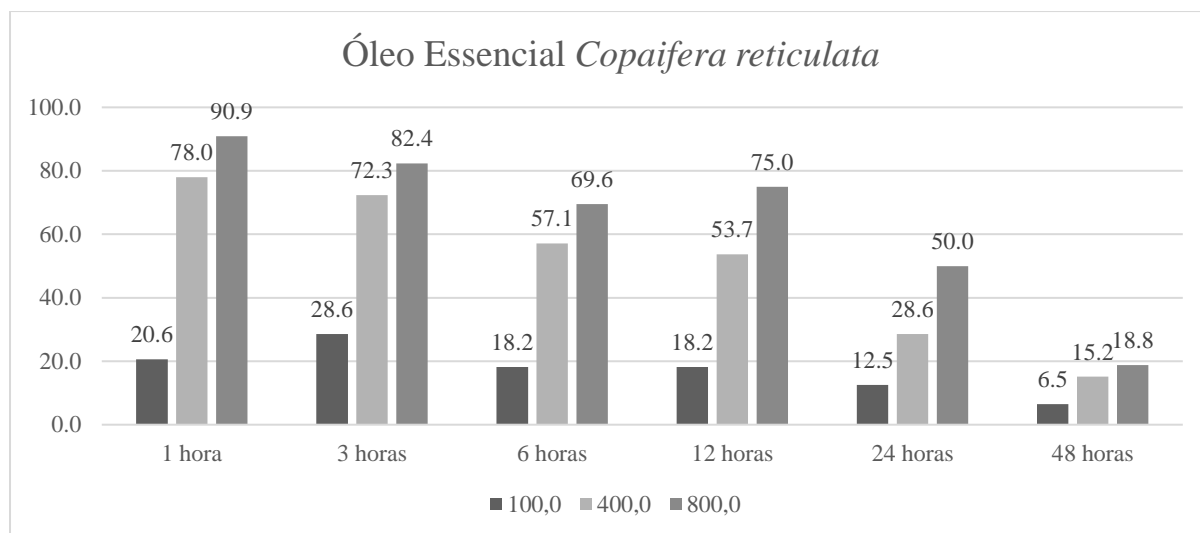
Apesar de Else e Wall (2014) questionarem a aplicação de OE's para o controle de ectoparasitos de animais devido ao seu baixo efeito residual, os resultados demonstrados neste estudo mostram que alguns OE's possuem maior persistência para o controle de insetos do que outros, e talvez, o desenvolvimento de algumas formulações farmacêuticas que reduzam a volatilidade dos constituintes aumente essa persistência da eficácia quando utilizado para o tratamento de animais.

Por outro lado, o fato de a eficácia destes produtos serem menores, mostra que em teoria são menos nocivos para o ambiente, uma vez que seu resíduo não permanece de forma persistente como contaminante. Atendendo aos objetivos da utilização de produtos naturais (química verde) para tornar o controle de ectoparasitos mais sustentável (LINTHORST, 2010; DUNN 2012). A eficácia residual do fipronil foi de 99% após 21 dias de impregnação, mostrando que produtos sintéticos permanecem sim por mais tempo, principalmente por não possuírem a característica de serem voláteis. Contudo, da mesma forma, permanecem por mais tempo como contaminantes do ambiente (TINGLE, *et al.* 2003)

#### **4.7 Avaliação da Atividade de repelência dos óleos essenciais de *Copaifera reticulada*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea* e frente a *Ctenocephalides felis felis***

Para o OE de *C. reticulata* o percentual de repelência (PR) observado para a concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi de 90,9; 82,4; 69,6; 75,0; 50,0; e 18,8% nas avaliações de 1, 3,

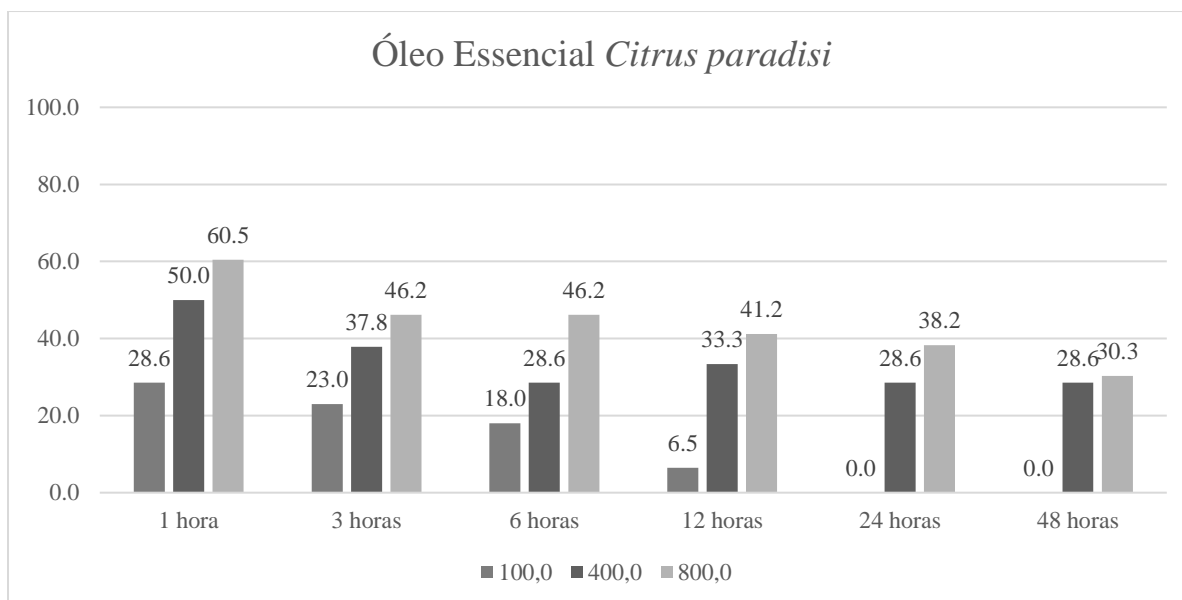
6, 12, 24 e 48h respectivamente. Para a concentração de 400  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  o percentual de repelência foi de 78,0; 72,3; 57,1; 53,7; 28,6 e 15,2%. Já para a concentração de 100  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  o percentual de repelência foi inferior a 30%. Os percentuais de repelência por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 14.



**Figura 14.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Copaifera reticulata* frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*.

A atividade repelente de OE's já foi reportada frente a diversas espécies de insetos de importância na agricultura e em saúde (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010; MARSIN *et al.*, 2020). Especificamente para pulgas, já foi descrita para as espécies *C. felis* (SU *et al.* 2014) e *P. irritans* (GHAVAMI *et al.*, 2017). Para o OE de *C. reticulata* não foi descrita para nenhuma espécie de inseto na literatura. Contudo, o OE de *C. langsdorffii* já foi descrita para *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). Da mesma forma, outras plantas que possuem o  $\beta$ -cariofileno com constituinte majoritário também já demonstraram possuir atividade repelente (ADJALIAN *et al.*, 2015; BOUGHERRA *et al.*, 2015). Logo, a possível atividade repelente deste OE está atribuída ao seu constituinte majoritário.

Para o OE de *C. paradisi* o percentual de repelência observado para a concentração de 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  foi inferior a 60% a partir da avaliação de 1h e, de 30% na avaliação de 48h. Para a concentração de 400  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  o percentual de repelência foi inferior a 50,0% na primeira avaliação e de 28,6% na avaliação de 48h. Já para a concentração de 100  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  o percentual de repelência foi inferior a 30%. Os percentuais de repelência por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 15.

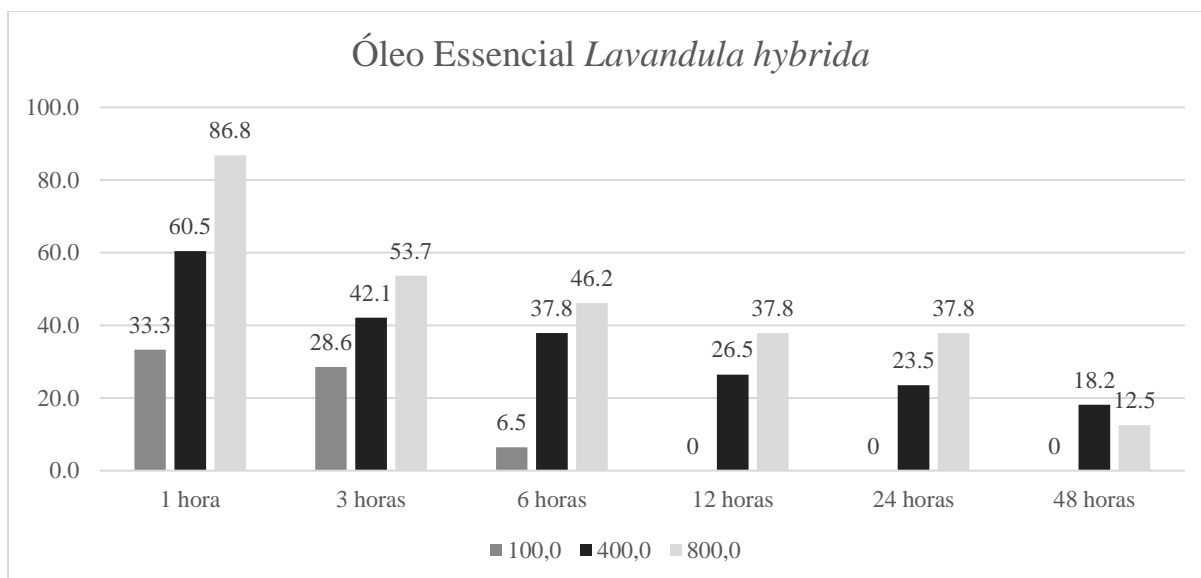


**Figura 15.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Citrus paradisi* frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*.

Atividade repelente do OE de *C. paradisi* já foi descrita para *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) com PR de 86% para este inseto considerado um problema para o armazenamento de grãos (YONN *et al.*, 2007). Para pulgas, o maior PR foi obtido na maior concentração 800 µg/cm<sup>2</sup> na avaliação de primeira hora, decaindo de forma linear nas avaliações subsequentes.

Assim como para o OE, o constituinte majoritário de *C. paradisi*, o D-limoneno, também já demonstrou possuir atividade repelente aos insetos (IBRAHIM *et al.*, 2001; MALACRINÒ *et al.*, 2016). No entanto, pelo observado neste trabalho e em comparação aos outros OE's avaliados o *C. paradisi* não se mostrou ser o mais eficaz para repelir pulgas adultas. Apesar disso, quando avaliado isoladamente, este OE apresentou melhores resultados como repelente quando comparado com sua atividade inseticida frente aos diferentes estágios de *C. felis felis*.

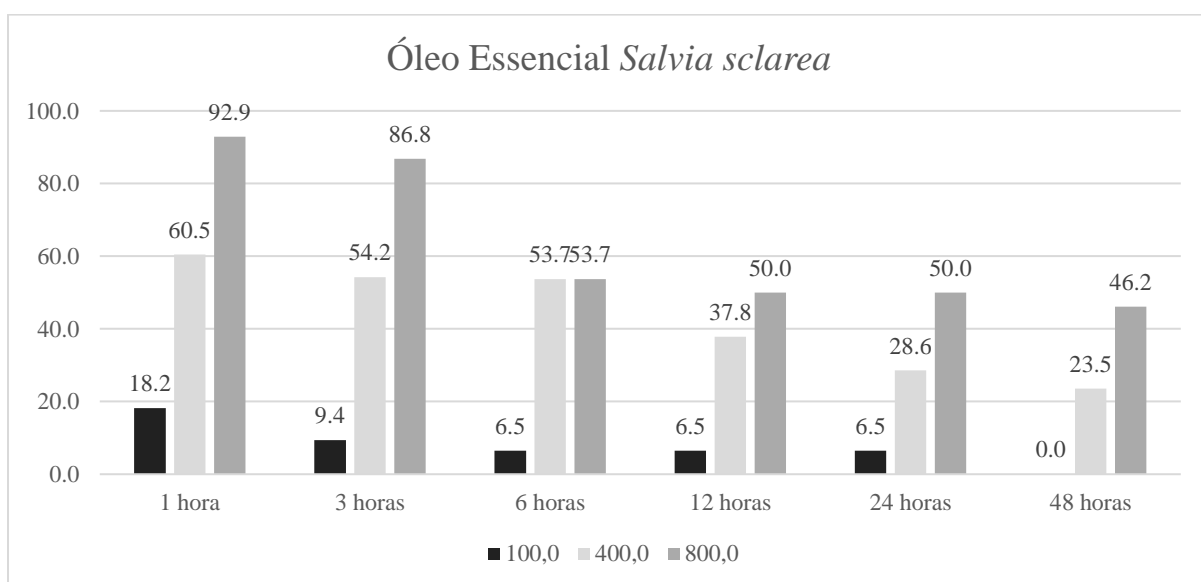
Para o OE de *L. hybrida* o percentual de repelência observado para a concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi de 86,8; 53,7; 46,2; 37,8; 37,8 e 12,5% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48h respectivamente. Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup> o percentual de repelência foi 60,5; 42,1; 37,8; 26,5; 23,5 e 18,2% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48h respectivamente. Já para a concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup> o percentual de repelência foi inferior a 30%. Os percentuais de repelência por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 16.



**Figura 16.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Lavandula hybrida* frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*.

A atividade repelente para o OE de *L. hybrida* já foi descrita para insetos considerados problemáticos no armazenamento de grãos como *Sitophilus zeamais*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tenebrio molitor* (COSIMI *et al.*, 2009). Outras espécies dentro do gênero *Lavandula*, como *L. angustifolia*, já demonstraram possuir atividade repelente frente insetos também considerados problemas no armazenamento de grãos como *S. granarius* (DI STEFANO, 2017; GERMINARA *et al.*, 2017).

Para o OE de *S. sclarea* o percentual de repelência observado para a concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi de 92,9; 86,8; 53,7; 50,0; 50,0 e 46,2% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48h respectivamente. Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup> o percentual de repelência foi 60,5; 54,2; 53,7; 37,8; 28,6 e 23,5% nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48h respectivamente. Já para a concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup> o percentual de repelência foi inferior a 20%. Os percentuais de repelência por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 17.

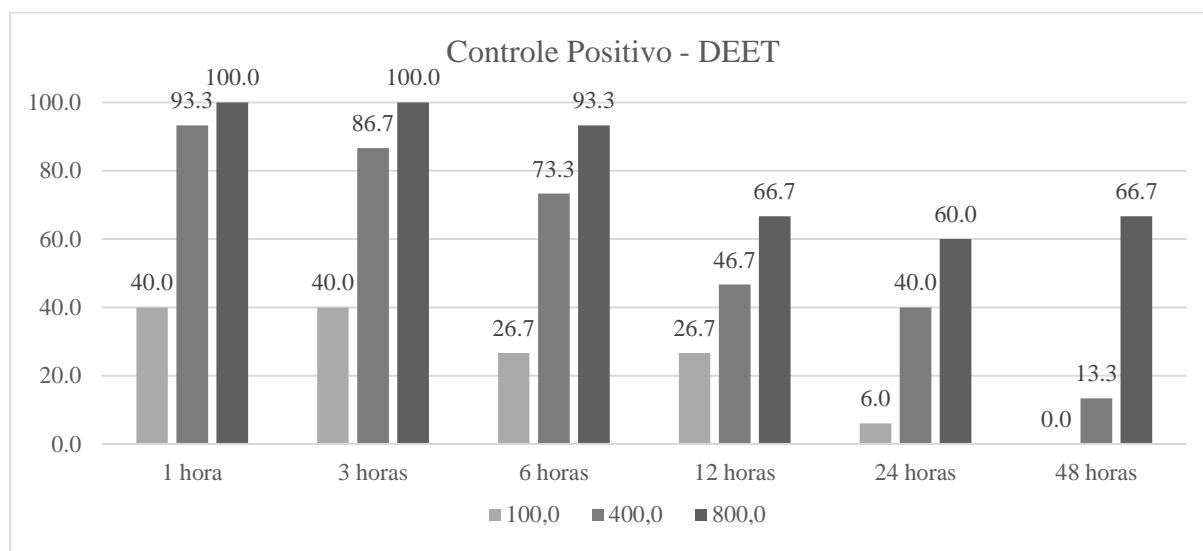


**Figura 17.** Percentual de repelência do óleo essencial de *Salvia sclarea* frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*.

A atividade repelente do OE de diferentes espécies do gênero *Salvia* já foram descritas para insetos hematófagos (CONTI *et al.*, 2012; KAYEDI *et al.*, 2014; ALI *et al.*, 2015), moscas causadoras de miíases (BENDI *et al.*, 2020) e, insetos que causam problemas no armazenamento de grãos (SCARIOT *et al.*, 2016; ALCALA-OROZCO *et al.*, 2019).

Os constituintes majoritários dos OE's de *L. hybrida* e *S. sclarea*, linalol e acetato de linalila, também já demonstraram possuir atividade repelente de forma isolada. O linalol demonstrou possuir atividade repelente frente à mosquitos (MÜLLER *et al.*, 2009; TAMBWE *et al.*, 2014; ESTRADA) e, a carrapatos (TABARI *et al.*, 2017; DEL FABBRO; NAZZI, 2019). Assim como o acetato de linalila já demonstrou atividade repelente frente a ninfas do percevejo *Rhodnius prolixus* (SFARA; ZERBA; ALZOGARAY, 2009)

Para o DEET o percentual de repelência observado para a concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> foi de 100,0; 100,0; 93,3; 66,7; 60,0 e 66,7% avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48h respectivamente. Para a concentração de 400 µg/cm<sup>2</sup> o percentual de repelência foi 93,3; 86,7; 73,3; 46,7; 40,0 e 13,3 nas avaliações de 1, 3, 6, 12, 24 e 48h respectivamente. Já para a concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup> o percentual de repelência foi inferior a 40%. Os percentuais de repelência por momento de avaliação estão demonstrados na Figura 19.



**Figura 18.** Percentual de repelência do controle positivo (N, N-Dietil-m-Toluamida) frente a pulgas adultas de *Ctenocephalides felis felis*.

Após a análise estatística realizada entre as diferentes concentrações de um mesmo óleo essencial nas diferentes tomadas de tempo, foi possível verificar que as concentrações de 800 e 400 µg/cm<sup>2</sup> não diferiram estatisticamente entre si ( $p \leq 0,05$ ) no entanto ambas diferiram estatisticamente da concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ) para os OE's de *C. reticulata*, *L. hybrida* e *S. sclarea* nas avaliações de 1, 3, 6 e 12h. A partir de 24 h não foi observada diferença ( $p > 0,05$ ) estatística para esses mesmos OE's. Não foi observado diferença estatística ( $p > 0,05$ ) em nenhuma concentração em nenhum momento de avaliação para o OE de *C. paradisi* (Tabela 21 – letras ab).

Quando realizada a análise estatística comparando uma dada concentração de um óleo essencial dentro das diferentes tomadas de tempo de avaliação, para os OE's de *C. reticulata* e *S. sclarea* foram verificadas diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) nas concentrações de 400 µg/cm<sup>2</sup> a partir da avaliação de 12h e na concentração de 800 µg/cm<sup>2</sup> a partir da avaliação de 6h. Para o OE de *L. hybrida* foi verificada diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) a partir da

avaliação de 3h. Para o OE *C. paradisi* não foi verificada diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) em nenhuma avaliação (Tabela 21 – letras cd).

Quando comparado com o controle positivo (DEET), o OE de *C. reticulata* não apresentou diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) ao DEET em nenhuma concentração e em nenhuma tomada de tempo. O OE *C. paradisi* apresentou diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparado com os demais OE e o controle positivo nas concentrações 400 e 800  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  nas avaliações de 1 e 3 horas.

**Tabela 21.** Percentual de repelência dos óleos essenciais *Copaifera reticulada*, *Citrus paradisi*, *Lavandula hybrida* e *Salvia sclarea* frente a *Ctenocephalis felis felis*.

Óleo Essencial	$\mu\text{g}/\text{mL}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
<i>Copaifera reticulata</i>	5000	100	20,6 <sup>a,c,e</sup>	28,6 <sup>a,c,e</sup>	18,2 <sup>a,c,e</sup>	18,2 <sup>a,c,e</sup>	12,5 <sup>a,c,e</sup>	6,5 <sup>a,c,e</sup>
	20000	400	78,0 <sup>b,c,e</sup>	72,3 <sup>b,c,e</sup>	57,1 <sup>b,c,e</sup>	53,7 <sup>b,d,e</sup>	28,6 <sup>a,d,e</sup>	15,2 <sup>a,d,e</sup>
	40000	800	90,9 <sup>b,c,e</sup>	82,4 <sup>b,c,e</sup>	69,6 <sup>b,d,e</sup>	75,0 <sup>b,d,e</sup>	50,0 <sup>a,d,e</sup>	18,8 <sup>a,d,e</sup>
<i>Salvia sclarea</i>	5000	100	18,2 <sup>a,c,e</sup>	9,4 <sup>a,c,e</sup>	6,5 <sup>a,c,e</sup>	6,5 <sup>a,c,e</sup>	6,5 <sup>a,c,e</sup>	0 <sup>a,c,e</sup>
	20000	400	60,5 <sup>b,c,e</sup>	54,2 <sup>b,c,f</sup>	53,7 <sup>b,c,e</sup>	37,8 <sup>a,d,e</sup>	28,6 <sup>a,d,e</sup>	23,5 <sup>a,d,e</sup>
	40000	800	92,9 <sup>b,c,e</sup>	86,8 <sup>b,c,e</sup>	53,7 <sup>b,d,e</sup>	50,0 <sup>b,d,e</sup>	50,0 <sup>b,d,e</sup>	46,2 <sup>a,d,e</sup>
<i>Citrus paradisi</i>	5000	100	28,6 <sup>a,c,e</sup>	23,0 <sup>a,c,e</sup>	18,0 <sup>a,c,e</sup>	6,5 <sup>a,c,e</sup>	0 <sup>a,c,e</sup>	0 <sup>a,c,e</sup>
	20000	400	50,0 <sup>a,c,f</sup>	37,8 <sup>a,c,f</sup>	28,6 <sup>a,c,e</sup>	33,3 <sup>a,c,e</sup>	28,6 <sup>a,c,e</sup>	28,6 <sup>a,c,e</sup>
	40000	800	60,5 <sup>a,c,f</sup>	46,2 <sup>a,c,f</sup>	46,2 <sup>a,c,e</sup>	41,2 <sup>a,c,e</sup>	38,2 <sup>a,c,e</sup>	30,3 <sup>a,c,e</sup>
<i>Lavandula hybrida</i>	5000	100	33,3 <sup>a,c,e</sup>	28,6 <sup>a,c,e</sup>	6,5 <sup>a,c,e</sup>	0 <sup>a,c,e</sup>	0 <sup>a,c,e</sup>	0 <sup>a,c,e</sup>
	20000	400	60,5 <sup>b,c,e</sup>	42,1 <sup>a,c,f</sup>	37,8 <sup>a,c,e</sup>	26,5 <sup>a,c,f</sup>	23,5 <sup>a,c,e</sup>	18,2 <sup>a,c,e</sup>
	40000	800	86,8 <sup>b,c,e</sup>	53,7 <sup>a,d,f</sup>	46,2 <sup>a,d,e</sup>	37,8 <sup>a,d,f</sup>	37,8 <sup>a,d,e</sup>	12,5 <sup>a,d,e</sup>
DEET	5000	100	40,0 <sup>a,c,e</sup>	40,0 <sup>a,c,e</sup>	26,7 <sup>a,c,e</sup>	26,7 <sup>a,c,e</sup>	6,0 <sup>a,c,e</sup>	0 <sup>a,c,e</sup>
	20000	400	93,3 <sup>b,c,e</sup>	86,7 <sup>b,c,f</sup>	73,3 <sup>b,c,e</sup>	46,7 <sup>a,d,e</sup>	40,0 <sup>a,d,e</sup>	13,3 <sup>a,d,e</sup>
	40000	800	100,0 <sup>b,c,e</sup>	100,0 <sup>b,c,e</sup>	93,3 <sup>b,c,e</sup>	66,7 <sup>b,c,e</sup>	60,0 <sup>b,c,e</sup>	66,7 <sup>b,c,e</sup>
Placebo	- - -	- - -	6,5	0,0	0,0	6,5	0,0	0,0

Médias com letras diferentes <sup>a b</sup> diferença estatística entre as concentrações de um mesmo óleo essencial (ou DEET) nas diferentes tomadas de tempo; <sup>c d</sup> diferença estatística de uma mesma concentração nas diferentes tomadas de tempo; <sup>e f</sup> diferença estatística entre os diferentes óleos essenciais na mesma concentração e mesma tomada de tempo

Quando comparados os quatro OE's avaliados neste trabalho é possível perceber que o OE de *C. paradisi* foi o que apresentou menores percentuais de repelência nas concentrações testadas, diferindo estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Os OE's de *C. reticulata* e *S. sclarea* se destacaram como atividade repelente, pois, apesar de apresentar PR inferiores ao controle positivo (DEET) não apresentou diferença estatística ( $p > 0,05$ ) em nenhuma das avaliações realizadas em nenhuma das concentrações.

O OE de *L. hybrida* apresentou resultados de PR semelhantes na primeira avaliação (1h). No entanto, a partir da segunda avaliação (3h) os PR foram inferiores a 50% diferindo estatisticamente dos OE's de *C. reticulata*, *S. sclarea* e do controle positivo.



## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se que o óleo essencial de *Lavandula hybrida* possui maior atividade inseticida frente a *C. felis felis* na fase imatura de ovo e larva. O óleo de *Copaifera reticulata* apresentou maior atividade inseticida frente as outras fases imaturas (pupa) e a fase adulta de *C. felis felis*, quando comparado aos óleos essenciais de *Lavandula hybrida*, *Citrus paradisi* e *Salvia sclarea*. O óleo essencial de grapefruit não possui atividade inseticida frente a *C. felis felis*.

Quanto a atividade repelente podemos observar a eficácia dos óleos na seguinte ordem: OESS > OECR > OELH > OECF. O óleo essencial de *Copaifera reticulata* foi também o óleo essencial que apresentou persistência de eficácia prolongada, quando comparado aos óleos essenciais de *Lavandula hybrida*, *Citrus paradisi* e *Salvia sclarea*, apresentando eficácia residual de 21 dias.

Acredita-se que esta pesquisa contribuirá o meio acadêmico, fazendo com que mais estudos com os óleos essenciais testados sejam realizados para outros parasitos de animais de companhia, assim como, a realização de estudos *in vivo*.

## 6. CONCLUSÕES

Concluimos que o óleo essencial de *Copaifera reticulada* inibiu o desenvolvimento de pulgas *Ctenocephalides felis felis* nos estágios de (larva, pupa e adulto), e apresentou eficácia residual superior a 20 dias.

Contudo os óleos essenciais de *Lavandula hybrida*, e *Salvia sclarea* inibiram o desenvolvimento das pulgas *Ctenocephalides felis felis* em todos os seus estágios (ovo, larva, pupa e adulto), apresentando eficácia residual de 7 e 11 dias, respectivamente.

O óleo essencial de *Citrus paradisi* não apresentou atividade inseticida frente a *C. felis felis*, porém apresentou ação repelente de 46% com 3 horas.

## 7. REFERÊNCIAS

- ABBAS, S. K.; FAROOQ, A.; MUHAMMAD, S.; MUHAMMAD, Y.; SAEED, A.; WALI, M. Insecticidal and growth inhibition activities of *Citrus paradisi* and *Citrus reticulata* essential oils against lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). **World Journal of Zoology**, 7(4), 289-294, 2012.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1987.
- ABDI, G.; SHOKRPOUR, M.; SALAMI, S. A. Essential Oil Composition at Different Plant Growth Development of Peppermint (*Mentha x piperita* L.) Under Water Deficit Stress. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 22:2, p. 431-440, 2019.
- AĆIMOVIĆ, M.; KIPROVSKI, B.; RAT, M.; SIKORA, V.; POPOVIC, V.; KOREN, A.; BRDAR-JOKANOVIC, M. *Salvia sclarea*: chemical composition and biological activity. **Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management**, 1(1):18-28, 2018.
- AĆIMOVIĆ, M. G.; CVETKOVIĆ, M. T.; STANKOVIĆ JEREMIĆ, J. M.; PEZO, L. L.; VARGA, A. O.; ČABARKAPA, I. S.; KIPROVSKI, B. Biological activity and profiling of *Salvia sclarea* essential oil obtained by steam and hydrodistillation extraction methods via chemometrics tools. **Flavour and Fragrance Journal**, 37(1), 20-32, 2022.
- ADAMS, R. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. **Carol Stream**. 16. 65-120, 2005.
- ADJALIAN, E.; SESSOU, P.; ODJO, T.; FIGUEREDO, G.; KOSSOU, D.; AVLESSI, F.; MENUT, C.; SOHOUNHLOUÉ, D. Chemical composition and insecticidal and repellent effect of essential oils of two *Premna* species against *Sitotroga cerealella*. **Journal of Insects**, v. 2015, 2015.
- AHN, K S.; HUH, SE.; SEOL, S.W.; KIM, H. J.; SUH, K. H.; SHIN, S. *Ctenocephalides canis* is the dominant flea species of dogs in the Republic of Korea. **Parasites Vectors**, v.11, p.196, 2018.
- ALVES, P. **Dermatite alérgica a picada de pulgas – DAPP** Disponível em: <<http://www.drapriscilaalves.com.br/artigos/DAPP.pdf>> Acesso em: 19 de jan. 2021.
- ALCALA-OROZCO, M.; CABALLERO-GALLARDO, K.; STASHENKO, E. E.; OLIVERO-VERBEL, J. Repellent and fumigant actions of the essential oils from *Elettaria cardamomum* (L.) Maton, *Salvia officinalis* (L.) Linnaeus, and *Lippia origanoides* (V.) Kunth against *Tribolium castaneum* and *Ulomoides dermestoides*. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 22, n. 1, p. 18-30, 2019.
- ALI, A.; TABANCA, N.; DEMIRCI, B.; BLYTHE, E. K.; ALI, Z.; HUSNU CAN BASER, K.; KHAN, I. A. Chemical composition and biological activity of four salvia essential oils and individual compounds against two species of mosquitoes. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 2, p. 447-456, 2015.
- AL-JABR, A. M. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)**, 7(1), 49-60, 2006.
- AMER, A.; MEHLHORN, H. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles* and *Culex* mosquitoes. **Parasitology Research**, 99:478–490, 2006.
- ARSÈNE, M. M.; PODOPRIGORA, I. V.; DAVARES, A. K.; RAZAN, M.; DAS, M. S.; SENYAGIN, A. N. Antibacterial activity of grapefruit peel extracts and green-synthesized silver nanoparticles. **Veterinary World**, 14(5), 1330, 2021.
- ARMSTRONG, R. D.; LIEBENBERG, J. E.; HEANEY, K.; GUERINO, F. Flea (*Ctenocephalides felis*) control efficacy of topical indoxacarb on dogs subsequently bathed

with a chlorhexidine–ketoconazole shampoo. **Australian Veterinary Journal**, v. 93:8, p.293-294, 2015.

ATANASOVA, D.; LEATHER, S. Plant essential oils: The way forward for aphid control? **Annals of Applied Biology**, v.173, p.175–179, 2018.

AUTINO, A. G.; LARESCHI, M. Siphonaptera. In: MORRONE, J. J.; COSCARÓN, S. eds. **Biodiversidad de artrópodos argentinos. Una perspectiva biotaxonómica**. La Plata, Editora Sur, p. 279-290, 1988.

AJAYI, O. E.; APPEL, A. G.; FADAMIRO, H. Y. Fumigation toxicity of essential oil monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Insects**, 2014.

DE AZEVEDO, S. A.; BENIGNO, R. N. M.; COSTA-JUNIOR, L. M.; LOPES, S. G.; DE AZEVEDO, S. A. Atividade *in vitro* de *Carapa guianensis* Aublet, *Copaifera officinalis* Jacquin Linnaeus e *Psidium guajava* Linnaeus sobre *Haemonchus contortus*. **Revista Veterinária Em Foco**, v. 14, n. 2, 2017.

BALLABENI, V.; TOGNOLINI, M.; CHIAVARINI, M.; IMPICCIATORE, M.; BRUNI, R.; BIANCHI, A.; BAROCELLI, E. Novel antiplatelet and antithrombotic activities of essential oil from *Lavandula hybrida* Reverchon “grosso”. **Phytomedicine**, 11(7-8), 596-601, 2004.

BAJALAN, I.; ROUZBAHANI, R.; PIRBALOUTI, A.G.; MAGGI, F. Chemical composition and antibacterial activity of Iranian *Lavandula hybrida*. **Chemistry & Biodiversity**, 14(7), p.e1700064, 2017.

BARBOSA, F.S. **Plantas medicinais: efeito sobre insetos-praga e seus inimigos naturais**. Montes Claros, MG: NCA/UFGM, 2007, p.80.

BARKER, S. C.; ALTMAN, P. M. An ex vivo, assessor blind, randomised, parallel group, comparative efficacy trial of the ovicidal activity of three pediculicides after a single application-melaleuca oil and lavender oil, eucalyptus oil and lemon tea tree oil, and a "suffocation" pediculicide. **BMC dermatology**, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2011.

BATISTA, O. S. C. L.; VIEIRA, C. P. V.; CORREIA, R. T.; SANTOS, F. C. E.; FAZIO JR, I. P.; FLORENCIO, N. C.; CARNEIRO, B. M.; SCOTT, B. F.; COUMENDOUROS, K. Eficácia *in vitro* de uma formulação aerossol de piriproxifen e ciflutrina no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 1, p. 41 - 45, 2012.

BATISTA, L. C. D. S.; CID, Y. P.; DE ALMEIDA, A. P.; PRUDÊNCIO, E. R.; RIGER, C. J.; DE SOUZA, M. A.; COUMENDOUROS, K.; CHAVES, D. S. *In vitro* efficacy of essential oils and extracts of *Schinus molle* L. against *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, 143(5), 627-638, 2016.

BATISTA, L. C. S. O. Eficácia *in vitro* de uma formulação aerossol de piriproxifen e ciflutrina no controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae), 2013, p. 48. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária)**. Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2013.

BARBOSA, A. L. P.; WENZEL-STORJOHANN, A.; BARBOSA, J. D.; ZIDORN, C.; PEIFER, C.; TASDEMIR, D.; ÇİÇEK, S. S. Antimicrobial and cytotoxic effects of the *Copaifera reticulata* oleoresin and its main diterpene acids. **Journal of Ethnopharmacology**, 233, 94-100, 2019.

BAROCELLI, E.; CALCINA, F.; CHIAVARINI, M.; IMPICCIATORE, M.; BRUNI, R.; BIANCHI, A.; BALLABENI, V. Antinociceptive and gastroprotective effects of inhaled and orally administered *Lavandula hybrida* Reverchon “Grosso” essential oil. **Life sciences**, 76(2), 213-223, 2004.

BASER, K. H. C.; BUCHBAUER, G. **Handbook of essential oils: science, technology, and applications**. (Ed), CRC press, 2015.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BAYNES, R.E. **Ectoparasitides**. In J. E. Riviere & M.G. Papich (Ed.), *Veterinary pharmacology and therapeutics*. (9<sup>th</sup> ed.), Iowa: Willey-Blackwell, p.1181-1201, 2009.

BEAUCOURNU, J. C. Les puces synanthropes. **Bull Society France Parasitology**, v. 8, p.145-156, 1990.

BEAUCOURNU, J. C.; REYNES, J. M.; VIÉ, J. C. Fleas in French Guiana (Insecta: Siphonaptera). **Journal of Medical Entomology**, v.35:1, p.3-10, 1998.

BEDINI, S.; GUARINO, S.; ECHEVERRIA, M. C.; FLAMINI, G.; ASCRIZZI, R.; LONI, A.; CONTI, B. *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis*, and *Salvia officinalis* essential oils: A spiced shield against blowflies. **Insects**, v. 11, n. 3, p. 143, 2020.

BENELLI, G.; PAVELLA, R. Beyond mosquitoes – essential oil toxicity and repellency against bloodsucking insects. **Industrial Crops & Products**, v.117, p.382–392, 2018.

BEUGNET, F.; FRANC, M. Insecticide and acaricide molecules and/or combinations to prevent pet infestation by ectoparasites. **Trends in Parasitology**, v.28:7; p.267-79, 2012.

BIRCHARD, S. J.; ROBERT, G. S. **Manual Saunders de Clínica de pequenos animais** 3 ed., Cap.5, p. 415-617, São Paulo: Editora Roca, 2008.

BLACKBURN, B. L.; LINDSAY, D. S. Ectoparasitoides In: ADAMS, H. R. *Farmacologia e terapêutica em veterinária*. Rio de Janeiro: **Guanabara-Koogan**, p.851-870, 2003.

BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, treatment, and control of flea and tick infestations. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v.39: 6, p.1173-1200, 2009.

BLEICH, I. M. Leucemia Felina: diagnóstico e profilaxia. Cães e Gatos: **Revista do Clínico, Pet Shop e Revenda**, Porto Feliz, v. 3, n. 21, p. 22-23, 1988.

BORRERO, M. A.; JONNY, E.; DUQUE, S. C.; MENDEZ, S. Insecticide design using in silico and *in vivo* analysis of different pharmacological targets in *Aedes aegypti*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, 229, 108-664, 2019.

BOUHSIRA, E.; FYSIKOPOULOS, A.; FRANC, M. Efficacy of fipronil-(S)-methoprene, metaflumizone combined with amitraz, and pyriprole commercial spot-on products in preventing *Culex pipiens pipiens* from feeding on dogs. **Veterinary Record**, London, v.165:5, p. 135-137, 2009.

BOUGHERRA, H. H.; BEDINI, S.; FLAMINI, G.; COSCI, F.; BELHAMEL, K.; CONTI, B. Pistacia lentiscus essential oil has repellent effect against three major insect pests of pasta. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 249-255, 2015.

BOŽOVIĆ, M.; NAVARRA, A.; GARZOLI, S.; PEPI, F.; RAGNO, R. Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation systematic methodology. **Natural Product Research**, v. 31, p. 2387-2396, 2017.

BRANDÃO, L. P. Pulicidas empregados na medicina de pequenos animais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.107, 2004.

BREITSCHWERDT, E. B.; MAGGI, R. G.; CHOMEL, B. B.; LAPPIN, M. R. Bartonellosis: an emerging infectious disease of zoonotic importance to animals and human beings. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 20, p. 8–30, 2010.

BRIANTI, E.; GAGLIO, G.; NAPOLI, E.; GIANNETTO, S.; DANTAS-TORRES, F.; BAIN, O.; OTRANTO, D. New insights into the ecology and biology of *Acanthocheilonema reconditum* (Grassi, 1889) causing canine subcutaneous filariosis. **Parasitology**, v. 139, p. 530–536, 2012.

BRUCE, W. N. Studies on the biological requirements of the cat flea. **Annals of the Entomological Society of America**, v.61, p.334-52, 1948.

BRYON, D.W. **Aspects of the biology, behavior, and control of immature stages of the cat flea *Ctenocephalides felis felis* (Bouché) in the domiciliary environment**. 1987. 135f. Ph.D. Dissertation, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, In:

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

BUCHBAUER, G.; JIROVETZ, L.; JÄGER, W. Aromatherapy: evidence for sedative effects of the essential oil of lavender after inhalation. *Zeitschrift für Naturforschung C*, v. 46, n. 11-12, p. 1067-1072, 1991.

BURGESS, I. F. The mode of action of dimeticone 4% lotion against head lice, *Pediculus capitis*. *BMC Pharmacol.*, v.9, p. 3, 2009.

CARDOSO, D. P.; SOUSA ESTRELA, D.; SARAIVA, L. A.; FARIAS, M. P. O.; SILVA, P. O. Perfil dos tutores de cão e gato no município de Bom Jesus-PI. *Pubvet*, v.10, p. 580-635, 2016.

CARIOCA, J. O. B.; SEIDL, P.; SOUSA-AGUIAR, E. F.; ALMEIDA, M. F. L. D. Química Verde no Brasil: visão de futuro e estratégia nacional para o período 2010-2030. *Parcerias Estratégicas*, 15(30), 311-338, 2012.

CARVALHO, R. W.; ALMEIDA, A.B.; BARBOSA-SILVA, S. C.; AMORIM, M.; RIBEIRO P. C.; SERRA-FREIRE. The patterns of Tungiasis in Araruama Township, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 98:1, p. 31-6, 2003.

CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. *Phytochemistry*, v.55, n.7, p.773-8, 2000.

CASTRO, M. C. M; RAFAEL, J. A. Ectoparasitos de cães e gatos da cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, v.36(4), p. 535-538, 2006.

CAVALLERI, D.; MURPHY, M.; SEEWALD, W.; DRAKE, J.; NANCHEN, S. Assessment of the speed of flea kill of lotilaner (Credelio™) throughout the month following oral administration to dogs. *Parasites Vectors*, v.10, p. 529, 2017.

CASTILHOS, R. V.; GRÜTZMACHER, A. D.; COATS, J. R. Acute toxicity and sublethal effects of terpenoids and essential oils on the predator *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, v. 47: 2, p. 311-317, 2018.

CENSO PET: 139,3 milhões de animais de estimação no Brasil. *Instituto Pet Brasil*. 12 de Junho de 2019. Disponível em: <<http://institutopetbrasil.com/imprensa/censo-pet-1393-milhoes-de-animais-de-estimacao-no-brasil/>>. Acesso em: 05 julho 2020.

CERPA, M.; COCERO, M. J. Hydroextraction of essential oil from Lavandin Super. In: **Proceedings of the 36th International Symposium on Essential Oils, Budapest, Hungary**. 2005.

CETIN, H.; CINBILGEL, I.; YANIKOGLU, A.; GOKCEOGLU, M. Larvicidal activity of some Labiatae (*Lamiaceae*) plant extracts from Turkey. *Phytotherapy Research*, 20:1088–1090, 2006.

CHEN, W.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. Camphor—a fumigant during the black death and a coveted fragrant wood in ancient Egypt and Babylon—a review. *Molecules*, 18(5), 5434-5454, 2013.

CHEESEMAN, M.T.; BATES, P. A.; CRAMPTON, J. M. Preliminary characterization of esterase and platelet-activating factor (PAF)—Acetylhydrolase activities from cat flea (*Ctenocephalides felis*) salivary glands. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, v.31, p.157–164, 2001.

CHOI, J. S. Larvicidal effects of grapefruit seed extract (GSE) on brine shrimp *Artemia salina*. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 9(3), 209-214, 2017.

CLARK, J. H.; LUQUE, R; MATHARU, A. S. Green Chemistry, Biofuels, and Biorefinery. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, v.3:1, p.183–207, 2012.

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

CONCEIÇÃO, C. L.; MORAIS, L. A.; CAMPOS, D. R.; CHAVES, J. K.; SANTOS, G. H.; CID, Y. P.; SOUSA, M. A.; SCOTT, F. B.; CHAVES, D.; COUMENDOUROS, K. Evaluation of Insecticidal Activity of Thyme, Oregano, and Cassia Volatile Oils on Cat Flea. **Revista Brasileira De Farmacognosia-brazilian Journal of Pharmacognosy**, p.1-6, 2020.

CONTI, B.; BENELLI, G.; LEONARDI, M.; AFIFI, F. U.; CERVELLI, C.; PROFETI, R.; PISTELLI, L.; CANALE, A. Repellent effect of *Salvia dorisiana*, *S. longifolia*, and *S. sclarea* (Lamiaceae) essential oils against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research** 111, 291–299, 2012.

COOP, R.L.; TAYLOR, M.A.; JACOBS, D.E.; JACKSON, F. Ectoparasites: recent advances in control, **Trends in Parasitology**, v.18:2, p. 55-56, 2002.

COUTINHO, M.T.; LINARDI, P. M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? **Veterinary Parasitology**, Jul 20;147(3-4):320-5, 2007.

CORBO, M. R.; SPERANZA, B.; FILIPPONE, A.; GRANATIERO, S.; CONTE, A.; SINIGAGLIA, M.; DEL NOBILE, M. A. Study on the synergic effect of natural compounds on the microbial quality decay of packed fish hamburger. **International Journal of Food Microbiology**, 127(3), 261-267, 2008.

CORREIA, T. R.; DE SOUZA, C. P.; FERNANDES, J. I.; MARTINS, I. V. F.; SANTOS, H. D.; SCOTT, F. B. Ciclo biológico de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera, Pulicidae) a partir de diferentes dietas artificiais. **Revista Brasileira de Zoociências**, 5(2), 2003.

COSIMI, S.; ROSSI, E.; CIONI, P. L.; CANALE, A. Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). **Journal of Stored Products Research**, 45: 125-132, 2009.

COUTINHO R.L.B.C.; OLIVEIRA J.V.; GONDIM JUNIOR M.G.C.; CÂMARA C.A.G. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) em milho armazenado. **Caatinga**, Mossoró, v.19, n.2, p.176-182, 2006.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry and molecular biology of plants**, 24, 1250-1319, 2000.

DANTAS-TORRES, F.; CAPELLI, G.; GIANNELLI, A.; ANTONIO, R.; RAMOS, N.; LIA, R. P.; CANTACESSI, C.; CAPRARIIS, D. DE.; TOMMASI, A. S. DE.; LATROFA, M. S.; LACASELLA, V.; TARALLO, V. D.; PAOLA, G. DI.; QUROLLO, B.; BREITSCHWERDT, E.; STANNECK, D.; OTRANTO, D. Efficacy of an imidacloprid / flumethrin collar against fleas, ticks and tick-borne pathogens in dogs. **Parasitology Vectors**, v.6, p.245, 2013.

AVOUDI, A.; SHAYESTEH, N.; SHIRDEL, D.; HOSSEINZADEH, A. Effect of diethyl maleate on toxicity of linalool against two stored product insects in laboratory condition. **African Journal of Biotechnology**, 10(48), 9918-9921, 2011.

DEAN, S.R.; MEOLA, R.W. Effect of juvenile hormone and juvenile hormone mimics on sperm transfer from the testes of the male cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.34, p.485-488, 1997.

DEUS, R. J. A; ALVES, C. N; ARRUDA, M. S. P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, 2011.

DELAVEAU, P.; GUILLEMAIN, J.; NARCISSE, G.; ROUSSEAU, A. Sur les propriétés neuro-dépressives de l'huile essentielle de Lavande. **Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales**, 183(4), pp.342-348, 1989.

DE LIMA, M. C. F.; RIBEIRO, R.; ALMEIDA E SILVA, J. E.; DOS SANTOS TAVARES, S. S.; DE ARAUJO, Y. C. D.; DA VEIGA-JUNIOR, V. F. Chemistry, Biological Activities, and Uses of Copaiba Oil Resins. In **Gums, Resins and Latexes of Plant Origin: Chemistry, Biological Activities and Uses** (pp. 1-21). Cham: Springer International Publishing, 2021.

DENG, W.; LIU, K.; CAO, S.; SUN, J.; ZHONG, B.; CHUN, J. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation. **Molecules**, 25(1), 217, 2020.

DEL FABBRO, S.; NAZZI, F. Repellent effect of sweet basil compounds on *Ixodes ricinus* ticks. **Experimental and Applied Acarology**, v. 45, n. 3, p. 219-228, 2008.

DI STEFANO, M. G. **Toxic, repellent and antifeedant activities of *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiaceae) essential oil against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera, Curculionidae) adults**. 2017. 81 f. Tese (Doutorado em Tecnologia Agrícola e Biotecnologia) – Università Degli Studi Del Molise, 2017.

DOS SANTOS, J. V. B.; DE ALMEIDA CHAVES, D. S.; DE SOUZA, M. A. A.; RIGER, C. J.; LAMBERT, M. M.; CAMPOS, D. R.; MOREIRA, L. O.; DOS SANTOS SIQUEIRA, R. C.; DE PAULO OSORIO, R.; BOYLAN, F.; CORREIA, T. R.; COUMENDOUROS, K.; CID, Y. P. *In vitro* activity of essential oils against adult and immature stages of *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, v.147(3), p. 340-347, 2020.

DOS SANTOS, A. C. S.; FAVACHO, H. A. S.; MACHADO, L. D. O.; GOMES, M. R. F. Desenvolvimento E Avaliação Da Análise De Textura (Tpa) De Formulações Semissólidas Contendo O Óleo-Resina Da *Copaifera Reticulata* Ducke Para Aplicação No Controle De Baratas Domésticas (Periplaneta Americana). **Revista Multidisciplinar em Saúde**, 2(3), 05-05, 2021.

DOS SANTOS CAVALCANTI, A.; DE SOUZA ALVES, M.; DA SILVA, L. C. P.; DOS SANTOS PATROCÍNIO, D.; SANCHES, M. N., DE ALMEIDA CHAVES, D. S.; DE SOUZA, M. A. A. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.25, p.356–362, 2015.

DPMIAC – **Defense Pest Management Information Analysis Center**. 1998. Disease vector. Ecology profile Ecuador. Walter Reed Army Medical Center, Washington. Disponível em: <<http://www.afpmb.org/pubs/dveps/Ecuador.pdf>> Acessado em 23/01/2021.

DRYDEN, M. W. Host association, on-host longevity, and egg production of *Ctenocephalides felis felis*. **Veterinary Parasitology**, v.1:34, p.117-122, 1989.

DRYDEN, M. W.; GAAFAR, S. M. Blood consumption by the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 28:3, p. 394-400, 1991.

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

DRYDEN, M.W. Biology of fleas of dogs and cats. **Compendium of Continuing Education Practice Veterinary**, v.15, p. 569-579, 1993.

DRYDEN, M.W.; PRESTWOOD, A.K. Successful flea control. **Compendium of Continuing Education Practice Veterinarian**, v. 15: 1, p.821-831, 1993.

DRYDEN, M.W.; CANFIELD, M.S.; KALOSY, K.; SMITH, A.; CREVOISERAT, L.; McGRADY, J. C.; FOLEY, K. M.; GREEN, K.; TEBALDI, C.; SMITH, V.; BENNETT, T.; HEANEY, K.; MATH, L.; ROYAL, C.; SUN, F. Evaluation of fluralaner and afoxolaner treatments to control flea populations, reduce pruritus and minimize dermatologic lesions in naturally infested dogs in private residences in west central Florida USA. **Parasites Vectors**, v.9, p.365, 2016.

DRYDEN, M. W. - Flea Allergy Dermatitis - Integumentary System. **Veterinary Manual**, 2018.



DE ANDRADE DUTRA, K.; DE OLIVEIRA, J. V.; NAVARRO, D. M. D. A. F.; SANTOS, J. P. O. Control of *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in *Vigna unguiculata* (L.) WALP. with essential oils from four *Citrus* spp. plants. **Journal of Stored Products Research**, 68, 25-32, 2016.

DUNN, P. J. The importance of green chemistry in process research and development. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 4, p. 1452-1461, 2012.

DUBYANSKIY, V. M.; YESZHANOV, A. B. Ecology of *Yersinia pestis* and the epidemiology of plague. **Yersinia pestis: Retrospective and Perspective**, p. 101-170, 2016.

EISEN, R.J.; GAGE, K.L. Adaptive strategies of *Yersinia pestis* to persist during inter-epizootic and epizootic periods. **Veterinary Research**, v. 40, p.1, 2009.

EISEN, R. J.; BORCHERT, J. N.; HOLMES, J. L.; AMATRE, G.; VAN WYK, K.; ENSCORE, R. E.; BABI, N.; ATIKU, L. A.; WILDER, A. P.; VETTER, S. M.; BEARDEN, S. W.; MONTENIERI, J. A.; GAGE, K. L. Early-phase transmission of *Yersinia pestis* by cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and their potential role as vectors in a plague-endemic region of Uganda. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Jun;78(6):949-56, 2008.

EL HOUDA, A. K. N.; ALI, B.; AHMED, A.; SALAH, O.; YAZID, F. C. Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of *Citrus paradisi* peel essential oil from Algeria. **Journal of microbiology, biotechnology, and food sciences**, 9(6), 1093-1098, 2020.

ELHAG, E. A. 2000. Deterrent effect of some botanical products on oviposition of the cowpea bruchide *callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchid). **International Journal of Pest Management**, v.46:2, p.109-113, 2000.

ELLSE, L.; WALL, R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v.28, p.233–243, 2014.

ELSHEIKHA, H.; DAVID, P. Clinical and public health risks associated with feline fleas. **Companion Animal**, v.19:4, p.177–180, 2014.

ERDOGAN ELIUZ, E. A.; AYAS, D.; GOKSEN, G. In Vitro Phototoxicity and Antimicrobial Activity of Volatile Oil Obtained from Some Aromatic Plants. **Journal of Essential Oil-Bearing Plants**, v. 20, n. 3, p. 758-768, 2017.

EROL, A. B.; BIRGÜCÜ, A. K. Effects of different plant essential oils on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchidae) adults. **Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi**, 7(2), 143-149, 2020.

ESTRADA, J. L. T.; MOSCOSO, K. E. P.; SALAS, I. F.; ACHEE, N. L.; GRIECO, J. P. Spatial repellency and other effects of transfluthrin and linalool on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. **Journal of Vector Ecology**, v. 44, n. 1, p. 89-93, 2019.

FAO (2015). **Prevention and Disposal of Obsolete Pesticides**. Retrive from: <http://www.fao.org/agriculture/crops/obsolete-pesticides/why-problem/pesticide-bans/en>

FRATERNALE, D.; GIAMPIERI, L.; BUCCHINI, A.; RICCI, D.; EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; CURINI, M. Composition and antifungal activity of essential oil of *S. sclarea* from Italy. **Chemistry of Natural Compounds**, 41:604–606, 2005.

FEO, M. L.; ELJARRAT, E.; MANACA, M. N.; DOBAÑO, C.; BARCELO, D.; SUNYER, J.; ALONSO, P. L.; MENENDEZ, C.; GRIMALT, J. Pyrethroid use-malaria control and individual applications by households for other pests and home garden use. **Environment International**, v. 38, n. 1, p. 67-72, 2012.

FELDMEIER, H.; WITT, L.; SCHWALFENBERG, S.; LINARDI, P.M.; RIBEIRO, R.A.; CAPAZ, R.A.C.; MARCK, E.V.; MECKES, O.; MEHLHORN, H.; MENCKE, N. & HEUKELBACH, J. Investigations on the biology, epidemiology, pathology, and control of Tunga penetrans in Brazil. VI. Natural history of the infestation in laboratory raised Wistar rats. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.76, n.4, p.666- 68, 2007.

FERNANDES, J.I.; CORREIA, T. R.; MELO, R.P.M.S.; VEROCAI, G.G.; CRUZ, V.P.; SCOTT, F.B.; RIBEIRO, F.A. Avaliação da eficácia in vitro do amitraz no controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Anais do 14º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e 2º Simpósio Latino-americano de Rickettsioses, Ribeirão Preto**, São Paulo, p. 224, 2006.

FERNANDES, F. DE F.; E. DE P. S. FREITAS. Acaricidal activity of an oleoresinous extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology** 147:150– 154, 2007.

FERNANDES, J. L.; VEROCAI, G. G.; RIBEIRO, F. A.; MELO, R. M. P. S.; CORREIA, T. R.; COUMENDOUROS, K.; SCOTT, F. B. Eficácia da associação de d-fenotrina e piriproxifen no controle de ácaros em coelhos naturalmente co-infestados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33:5, p. 597-600, 2013.

FERREIRA, A.V.T. **Contribuição do médico veterinário na educação dos proprietários de cães e gatos sobre o tratamento e controle das parasitoses**. 2016. 100f. Lisboa. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, 2016.

FERREIRA, C.G.T.; BEZERRA, A.C.D.S.; FIGUEIRA, K. D.; FONSECA, Z.A.A.; SAHID, S. M. M. Levantamento de ectoparasitas de cães e gatos provenientes do município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. **Pubvet**, v. 3(12), p.1-2, 2009.

FOLEY, P.; FOLEY, J.; SÁNDOR, A.; IONICĂ, A.; MATEI, I.; D'AMICO, G.; GHERMAN, C.M.; DOM, C. A.; MIHALCA, A. D. Diversity of flea (Siphonaptera) parasites on red foxes (*Vulpes vulpes*) in Romania. **Journal of Medical Entomology**., v.54:5, p.1243–50, 2017.

FLORIN, T. A.; ZAOUTIS, T. E.; ZAOUTIS, L. B. Beyond cat scratch disease: widening spectrum of *Bartonella henselae* infection. **Pediatrics**, v. 121, n. 5, p. 1413-1425, 2008.

FOLZ, S.D.; ASH, K.A.; CONDER, G.A.; RECTOR, D.L. Amitraz: a tick and flea repellent and tick detachment drug. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 9, n. 2, p. 150-156, 1986.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4 ed. São Paulo: Ícone, 2004.

FRANCISCO, S.G. Uso do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) em inflamação ginecológica. **Femina**, v.33, n.2, p.89-93, 2005.

FRANÇA S.M.; OLIVEIRA J.V.; ESTEVES FILHO A.B.; OLIVEIRA C.M. Toxicity and repellency of essential oils to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* L. **Acta Amazonia**. Manaus, vol.42 n.3. 2012.

FREITAS, J. P.; DE JESUS, I. L. R.; CHAVES, J. K. D. O.; GIJSEN, I. S.; CAMPOS, D. R.; BAPTISTA, D. P.; FERREIRA, T. P.; ALVES, M. C.C.; COUMENDOUROS, K.; CID, Y. P.; CHAVES, D. S. D. A. Eficácia e efeito residual dos óleos essenciais de *Illicium verum* (anis-estrelado) e *Pelargonium graveolens* (gerânio rosa) em pulgas de gato *Ctenocephalides felis felis*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 30, 2021.

FRÍAS, Alicia Romero. **Estudio de los semioquímicos responsables de la interacción entre la guayaba (Psidium guajava L.) y el picudo de la guayaba Conotrachelus psidii Marshall**. 2015. 169 f. Tese (Doutorado em Ciência Química) - Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia, 2015.

GELINSKI, J. M. L. N.; ROSA, J. C. D.; PARAVISI, E. F. A.; BARATOO C. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ao EDTA ou lisozima. **Evidência, Joaçaba**, v. 7, n.2, p. 131-144, 2007.

GEORGE, D.R.; FINN, R.D.; GRAHAM, K.M.; OLIVIER, A.E. Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. **Parasites and Vectors**, v.7, p.28, 2014.

GERIS, R.; SILVA, I. G. D.; SILVA, H. H. G. D.; BARISON, A.; RODRIGUES-FILHO, E.; FERREIRA, A. G. Diterpenos de *Copaifera reticulata* Ducke com atividade larvídica contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 50(1), 26-28, 2008.

GERMINARA, G. S.; DI STEFANO, M. D.; ACUTIS, L.; PATI, S.; DELFINE, S.; CRISTOFARO, A.; ROTUNDO, G. Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*. **Bulletin of Insectology**, v. 70, n. 1, p. 129-138, 2017

GHAVAMI, M. B.; POORRASTGOO, F.; TAGHILOO, B.; MOHAMMADI, J. Repellency Effect of Essential Oils of some Native Plants and Synthetic Repellents against Human Flea, *Pulex irritans* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Arthropod-Borne Disease**, v. 11(1), p. 105-115, 2017.

GLEADHILL, A. Permethrin toxicity in cats. **Vet. Record.**, v.55, p.648, 2004.

GONÇALVES, Márcia dos Santos. **Uso sustentável de pesticidas: análise comparativa entre a União Europeia e o Brasil**. 2016. 155 f. Tese (Doutorado em Ciências do ambiente) Universidade de Lisboa, 2016.

GRACIA, M.; CALVETE, C.; ESTRADA, R.; CASTILLO, J.; PERIBANEZ, M.; LUCIENTES, J. Fleas parasitizing domestic dogs in Spain. **Veterinary Parasitology.**, v.151:2, p. 312–9, 2008.

GRAF, J. F. R.; GOGOLEWSKI, N.; LEACH-BING, G. A.; SABATINI, M. B.; MOLENTO, E. L.; BORDIN, ARANTES, G. J. Tick control an industry point of view. **Parasitology**, v. 129:1, p. 427-442, 2004.

GRASSI, B.; CALANDRUCCIO, S. Über haematozoon lewis entwicklungscyclus einer filaria (*F. recondita*) des hudes. **Central Bakt Parasitenk Infections**, v. 7, p. 8–16, 1890.

GRENIER, S.; GRENIER, A. M. Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulator: a review of its effects on insects. **Annals of Applied Biology**, v.122, p. 369-403, 1993.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução**. Brasília, DF: Universidade de Brasília, p.392, 2005.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos De Importância Veterinária**. 7 ed. Ed. Plêiade: São Paulo; 2001.

HA, Y.M.; LEE, B.; BAE, H.; JE, K.; KIM, S.; CHOI, J.; CHOI, I.S. Anti-microbial Activity of Grapefruit Seed Extract and Processed Sulfur Solution against Human Skin Pathogens, **Journal of Life Science**, vol. 19, no. 1, pp. 94–100, 2009.

HAJHASHEMI, V.; GHANNADI, A.; SHARIF, B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. **Journal of ethnopharmacology**, 89(1), pp.67-71, 2003.

HALLIWELL, R. E.; PRESTON, J. F.; NESBITT, J.G. Aspects of the immunopathogenesis of flea allergy dermatitis in dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.17, p. 483–494, 1987.

HALDER, J.; SRIVASTAVA, C.; DHINGRA, S.; DUREJA, P. Effect of essential oils on feeding, survival, growth, and development of third instar larvae of *Helicoverpa armigera* Hubner. **National Academy Science Letters**, v. 35, n. 4, p. 271-276, 2012.

HALOS, L.; BEUGNET, F.; CARDOSO, L.; FARKAS, R.; FRANC, M.; GUILLOT, J.; PFISTER, K.; WALL, R. Flea control failure? Myths and realities. **Trends in Parasitology**, v.30:5, p.228-33, 2014.

HAMED, R. K.; AHMED, S.; ABOTALEB, A. O.; ELSAWAF, B. M. Efficacy of certain plant oils as grain protectants against the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) on wheat. **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology**, 5(2), 49-53, 2012.

HARGIS A.M.; GINN P.E. O tegumento, p. 975-1186. In: Zachary J.F., McGavin M.D. (Eds), **Bases da Patologia em Veterinária**. 5ª ed. Elsevier, Rio de Janeiro, 2013.

HARTMANN, K.; LEHMANN-HOFMANN, R. What's new in feline leukemia virus infection, **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.50:5, p. 1013-1036, 2020.

HASTRITER, M. W. Fleas (Siphonaptera: Ctenophthalmidae and Rhopalopsyllidae) from Argentina and Chile with two new species from the rock rat, *Aconaemys fuscus*, in Chile. **Annals of the Carnegie Museum**, v. 70:2, p.169-178, 2001.

HASTRITER, M. W.; ZYZAK, M. D.; SOTO, R.; FERNANDEZ, R.; SOLORZANO, N.; WHITING, M. Fleas (Siphonaptera) from Ancash Department Peru with the description of a new species, *Ectinorus alejoi* (Rhopalopsyllidae), and the description of the male of *Plocopsylla pallas* (Rothschild, 1914) (Stephanocircidae). **Annals of the Carnegie Museum**, v. 71:2, p. 87-106, 2002.

HEMATPOOR, A.; LIEW, S. Y.; AZIRUN, M. S.; AWANG, K. Insecticidal activity and the mechanism of action of three phenylpropanoids isolated from the roots of *Piper sarmentosum* Roxb. **Scientific Reports**, 7(1), 1-13, 2017.

HÉNAULT-ETHIER, L. Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive Summary and Scientific Literature Review. **Prepared for Équiterre**. Montreal, Canada, p. 68, 2015.

HEUKELBACH, J.; OLIVEIRA, F. A. S.; HESSE, G.; FELDMEIER, H. Tungiasis: a neglected health problem of poor communities. **Tropical Medicine & International Health**, v. 6:4, p. 267-72, 2001.

HINK, W.; NEEDHAM, G. Vacuuming is lethal to all postembryonic life stages of the cat flea, *Ctenocephalides felis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.125:2 p. 221-221, 2007.

HINKLE, N.C.; KOEHLER, P.G.; PATTERSON, R.S. Host grooming efficiency for regulation of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) populations. **Journal of Medical Entomology**, 35, 266-269, 1998.

HINKLE, N.C.; KOEHLER, P.G.; KERN, W.H. Jr.; PATERSON, R.S. Hematophagous strategies of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). **Florida Entomologist**, v.74, p. 377-85, 1991.

HNILICA, Keith A. Dermatologia de Pequenos Animais: **Atlas colorido e guia terapêutico**. 3ed., Cap.7, p. 175-225, Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2012.

HOLLINGSWORTH, R. G. Limonene, a citrus extract, for control of mealybugs and scale insects. **Journal of Economic Entomology**, v. 98, n. 3, p. 772-779, 2005.

HONG, Y. H.; LIM, G. O; SONG, K. B. Physical properties of Gelidium corneum-gelatin blend films containing grapefruit seed extract or green tea extract and its application in the packaging of pork loins. **Journal of Food Science**, 74, C6-10, 2009.

HOPKINS, G.H.E.; ROTHSCCHILD, M. An Illustrated Catalogue of the Rothschild Collection of Fleas (Siphonaptera) in the British Museum (Natural History). Tungidae and Pulicidae British Museum (**Natural History**), London, v. 1, p.361, 1935.

HOPKINS, G. H. E.; ROTHSCCHILD, M. **An illustrated catalogue of the Rothschild Collection of fleas (Siphonaptera) in the British Museum (Natural History)**, London, British Museum (Natural History), p. 529, 1971.

HORTA, M. C.; SCOTT, F. B.; CORREIA, T. R.; FERNANDES, J. I.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia felis* infection in cat fleas *Ctenocephalides felis felis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41(3), p. 813-818, 2010.

HORI, M. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). **Applied entomology and zoology**, v. 38, n. 4, p. 467-473, 2003.

HRISTOVA, Y.; GOCHEV, V.; WANNER, J. K. R. Chemical composition and anti-fungal activity of essential oil of *Salvia sclarea* L. from Bulgaria against clinical isolates of *Candida* species. **Journal of BioScience and Biotechnology**;2(1):39-44, 2013.

HUDSON, B. W.; PRINCE, F. M. A method for large scale rearing of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis* (Bouché). **Bull World Health Organ**, v.19, p.1126-9, 1958.

IBRAHIM, M. A.; KAINULAINEN, P.; AFLATUNI, A.; TIILIKKALA, K.; HOLOPAINEN, J. K. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and Food Science**, 10(3), 243-259, 2001.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides: for richer, for poorer. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 64:1, p. 8-11, 2008.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, 2006.

IZUMI, E.; UEDA-NAKAMURA, T.; VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; NAKAMURA, C. V. Terpenes from *Copaifera* demonstrated in vitro antiparasitic and synergistic activity. **Journal of Medicinal Chemistry** 55:2994–300, 2012.

JANG, S. A.; SHIN, Y. J.; SONG, K. B. Effect of rapeseed protein-gelatin film containing grapefruit seed extract on ‘Maehyang’ strawberry quality. **Internacional Journal of Food Science and Technology**, 46, 620-625, 2011.

JEON, YE-JIN.; CHOI, BYEONG-RYEOL.; LEE, HOI-SEON. Insecticidal toxicities of essential oils extracted seven plants against *Ricania sp.* nymphs and adults. **Journal of Applied Biological Chemistry**, v. 59, n. 3, p. 243-245, 2016.

JOSEPH, S. A. Studies on the bionomics of the *Ctenocephalides felis orientis* (Jordan) 1925. **Cheiron**, v. 10, p. 275-280, 1981.

JUNIOR, V. V.; ROSAS, E. C.; CARVALHO, M. V. D.; HENRIQUES, M. D. G. M. D. O.; PINTO, A. C. Chemical composition, and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne—A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, 112(2), 248-254, 2007.

KARABELAS, A.J.; PLAKAS, K.V.; SOLOMOU, E.S.; DROSSOU, V.; SARIGIANNIS, D.A. Impact of European legislation on marketed pesticides - A view from the standpoint of health impact assessment studies. Review. **Environment International**. 35(19),1096–1107, 2009.

KAYEDI, M. H.; HAGHDOOST, A. A.; SALEHNIA, A.; KHAMISABADI, K. Evaluation of repellency effect of essential oils of *Satureja khuzestanica* (Carvacrol), *Myrtus communis* (Myrtle), *Lavendula officinalis* and *Salvia sclarea* using standard WHO repellency tests. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 8, n. 1, p. 60, 2014.

KEELER, R. F.; TU, A. T. Toxicological of Plant and Fungal Compounds. **Handbook of Natural Toxins**, vol. 6, Marcel, Dekker, ed.; Nova York, 2011. p.665.

KENDRA, P. E.; OWENS, D.; MONTGOMERY, W. S.; NARVAEZ, T. I.; BAUCHAN, G. R.; SCHNELL, E. Q.; TABANCA, N.; CARRILLO, D.  $\alpha$ -Copaene is an attractant, synergistic with quercivorol, for improved detection of *Euwallacea nr. fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). **PLOS ONE**, 12(6), 2017.

KERN, W.H.Jr.; KOEHLER, P.G.; PATTERSON, R.S. Diel patterns of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) egg and fecal deposition. **Journal of Medical Entomology**, v.29, p.203-6, 1992.

KERR, P. J.; LIU, J.; CATTADORI, I.; GHEDIN, E.; READ, A. F.; HOLMES, E. C. Myxoma virus and 590 the leporipoxviruses: an evolutionary paradigm. **Viruses**, v.7, p. 1029-1061, 2015.

KHATER, H. F. Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. **Pharmacologia**, v. 3:12, p. 641-656, 2012.

KHANIKOR, B.; BARMAN, J.; SARMA, R.; MAHANTA, S.; ADHIKARI, K. Evaluation of efficacy of three essential oils against *Odontotermes feae* (Isoptera: Termitidae). **Journal of Environment Pollution and Human Health**, 6(2), 68-76, 2018.

KITA, T.; HAYASHI, T.; OHTANI, T.; HARUKA, T.; TAKASU, H.; LIU, G.; OHTA, H.; OZOE, F.; OZOE, Y. Amitraz and its metabolite differentially activate  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenergic-like octopamine receptors. **Pest Management Science**, v. 73, p., 984-990, 2017.

KOSTIĆ, M.; KITIĆ, D.; PETROVIĆ, M. B.; JEVTOMIĆ-STOIMENOV, T.; JOVIĆ, M.; PETROVIĆ, A.; ŽIVANOVIĆ, S. The anti-inflammatory effect of the clary sage extract (*Salvia sclarea* L.). **Arhiv za Farmaciju**, 68(3):702-703, 2018.

KRYDA, K.; MAHABIR, S.P.; CARTER, L.; EVERETT, W. R.; YONG, D. R.; MEYER, L.; THYS, M.; CHAPIN, S.; HOLZMER, S. J.; BECSKEI, C. Laboratory studies evaluating the efficacy of a novel orally administered combination product containing sarolaner, moxidectin and pyrantel (Simparica Trio™) for the treatment and control of flea infestations on dogs. **Parasites Vectors**, v.13, p. 57, 2020.

KUNKLE, B. N.; DRAG, M.D.; CHESTER, S. T.; LARSEN, D.L. Assessment of the onset of action of afoxolaner against existing adult flea (*Ctenocephalides felis*) infestations on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 201:3-4, p. 204-206, 2014.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Observations on the development of *Leishmania* (L.) *chagasi* Cunha and Chagas, in the midgut of the sandfly vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva). **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**. 62, 134–145, 1988.

LAMBERT, M. M.; CAMPOS, D. R.; BORGES, D. A.; DE AVELAR, B. R.; FERREIRA, T. P.; CID, Y. P.; BOYLAN, F.; SCOTT, F. B.; DE ALMEIDA CHAVES, D. S.; COUMENDOUROS, K. Activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and its main constituent eugenol in the inhibition of the development of *Ctenocephalides felis felis* and the control of adults. **Veterinary Parasitology**, v. 282, p. 109-126, 2020.

LAPPIN, M. R.; HAWLE, Y J. Presence of *Bartonella* species and *Rickettsia* species DNA in the blood, oral cavity, skin and claw beds of cats in the United States. **Veterinary Dermatology**, v.20: p.509–514, 2009.

LAPPIN, M. R.; TASKER, S.; ROURA, X. Role of vector-borne pathogens in the development of fever in cats: 1. Flea-associated diseases. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 22, n. 1, p. 31-39, 2020.

LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de medicina externa: dermatologia veterinária**. São Caetano do Sul: interbook; 2016.

LATTOO, S. K.; DHAR, R. S.; DHAR, A. K.; SHARMA, P. R.; AGARWAL, S. G. Dynamics of essential oil biosynthesis in relation to inflorescence and glandular ontogeny in *Salvia sclarea*. **Flavour and Fragrance Journal**, 21(5), 817-821, 2006.

LAWRENCE, A.L.; WEBB, C.E.; CLARK, N.J.; HALAJIAN, A.; MIHALCA, A.D.; MIRET, J.; D'AMICO, G.; BROWN, G.; KUMSA, B.; MODRÝ, D.; ŠLAPETA, J. Out-of-Africa, human-mediated dispersal of the common cat flea, *Ctenocephalides felis*: The hitchhiker's guide to world domination. **International Journal for Parasitology**, v.49, p. 321-336, 2019.

LEE, S. E.; LEE, B. H.; CHOI, W. S.; PARK, B. S.; KIM, J. G.; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, 57(6), 548-553, 2001.

LEE, D. S.; HWANG, Y. I.; CHO, S. H. Developing anti- microbial packaging film for curled lettuce and soy- bean sprouts. **Food Science and Biotechnology**, 7, 117-121, 1998.

LEE, S.E.; JOHNSTONE, I.P.; LEE, R.P.; OPDEBEECK, J.P. Putative salivary allergens of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, **1999**, 69, 229–237, 1999.

LEE, B. B.; HA, Y. M.; SHIN, S. H.; JE, K. M.; KIM, S. R.; CHOI, J. S.; CHOI, I. S. Antimicrobial activity of test dentifrice product containing grapefruit seed extract and processed sulfur solution against oral pathogens. **Journal of Life Science**, **19**(7), 956-962, 2009.

LEGAULT, J.; PICHETTE, A. Potentiating effect of  $\beta$ -caryophyllene on anticancer activity of  $\alpha$ -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 59, n. 12, p. 1643-1647, 2007.

LEVELL, N. J.; BEWLEY, A. P.; CHOPRA, S.; CHURCHILL, D.; FRENCH, P.; MILLER, R.; GILKES, J. J. Bacillary angiomatosis with cutaneous and oral lesions in an HIV-infected patient from the UK. **British Journal of Dermatology**, v. 132, p. 113-5, 1995.

LEWIS, R. E. Resumé of Siphonaptera (Insecta) of the world. **Journal of Medical Entomology**, v. 35: 4, p. 377-389, 1998.

LIS-BALCHIN, M. Ed. **Lavender: the genus Lavandula**. CRC press, 2002.

LINARDI, P. M. Checklist dos Siphonaptera do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. Iheringia, **Série Zoologia**, 107(supl.): e2017148, 2017.

LINARDI, P. M. Checklist dos Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**. v.11, p.607-17, 2011.

LINARDI, P. M. Biologia e epidemiologia das pulgas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, p. 103-106, 2004.

LINARDI, P. M.; CARDOSO, V.A.; BOTELHO, J.R.; LARESCHI, M.; FREITAS, T.O. Polygenis (Polygenis) platensis (Jordan & Rothschild) (Siphonaptera: Rhopalopsyllidae, Rhopalopsyllinae), a New Record in Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 837-841, 2005.

LINARDI, P. M.; SANTOS, J. L. C. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21:4, p. 345-54, 2012.

LINARDI, P. M.; NAGEM, R. I. Observações sobre o ciclo evolutivo de *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera, Pulicidae) e sua sobrevida fora do hospedeiro. **Boletim do Museu de História Natural, UFMG Zoologia**. v.13, p.1- 21, 1972.

LINARDI, P.M.; NAGEM, R.L. Pulicídeos e outros ectoparasitos de cães em Belo Horizonte e municípios vizinhos. **Revista Brasileira de Biologia**, v.33:4, p.529-538, 1973.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. **Siphonapteros do Brasil**. São Paulo, Museu de Zoologia, USP/FAPESP. p. 291, 2000.

LINARDI, P. M.; DE MARIA, M.; BOTELHO, J. R. Effects of larval nutrition on the postembryonic development of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 34:4, p. 494-497, 1997.

LINARDI, P. M.; DE MARIA, M.; BOTELHO, J. R. 1987. Effects of larval nutrition on the postembryonic development of *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.34, p. 494-497, 1987.

LINTHORST, J. A. An overview: origins and development of green chemistry. **Foundations of chemistry**, v. 12, n. 1, p. 55-68, 2010.

LIMA, A. C. Suctoria. In: **Insetos do Brasil**. Escola Nacional de Agronomia. Série Didática v. 4;6, p. 17-71, 1943.

LIU, C. H.; MISHRA, A. K.; TAN, R. X.; TANG, C.; YANG, H.; SHEN, Y. F. Repellent, and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. **Bioresource technology**, 97(15), 1969-1973, 2006.

LUCIĆ, P.; LIŠKA, A.; ROZMAN, V.; BALIČEVIĆ, R.; ĐUMLIĆ, M. Potencijal uporabe lavandina (*Lavandula x intermedia*) u zaštiti uskladištene pšenice protiv skladišnih kukaca. **Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Poljoprivredni fakultet u Osijeku**, 2015.

LOPEZ, M.D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products.**, v.31, p. 284–288, 2010.

LOPEZ-HERNANDEZ, G. Y.; THINSCHMIDT, J. S.; ZHENG, G., ZHANG, Z.; CROOKS, P. A.; DWOSKIN, L. P.; PAPKE, R. L. Selective inhibition of acetylcholine-evoked responses of  $\alpha 7$  neuronal nicotinic acetylcholine receptors by novel tris- and tetrakis-azaaromatic quaternary ammonium antagonists. **Molecular pharmacology**, 76(3), 652-666, 2009.

LOUTIT, J. S. *Bartonella* infections. **Current Clinical Topics in Infectious Disease**, v.17, p. 269-90, 1997.

LYNN, R.C. **Antiparasitic drugs**. In D.D. Bowman, Georgis' Parasitology for veterinarians. (9<sup>th</sup> ed.), Missouri: Saunders-Elsevier, p. 254-294, 2009.

LYONS, H. Notes on the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouche). **Pshyche**, v.22, p.122-32, 1915.

MACCHIAVELLO, A. Siphonaptera de la Costa Sur-Occidental de América:(Primera lista y distribución Zoo-Geográfica). **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)**; 27 (5), 1948.

MALACRINÒ, A.; CAMPOLO, O.; LAUDANI, F.; PALMERI, V. Fumigant and repellent activity of limonene enantiomers against *Tribolium confusum* du Val. **Neotropical entomology**, v. 45, n. 5, p. 597-603, 2016.

MARTINS, J. F. S.; GRÜTZMACHER, A. D.; CUNHA, U. S.; GIOLO, F. P. Inseticida regulador de crescimento no controle do gorgulho-aquático-do-arroz *Oryzophagus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Agrociência. Pelotas**, v. 14:3-4, p. 8795, 2008.

MASON, I.; CARR, B. R.; RAINEY, W. E. The Action of Phorbol Ester on Steroidogenesis in Cultured Human Fetal Adrenal Cells. **Endocrine Research**, v. 12:4, p. 447 – 467, 1984.

MARSIN, A. M.; MUHAMAD, I. I.; ANIS, S. N. S.; LAZIM, N. A. M.; CHING, L. W.; DOLHAJI, N. H. Essential oils as insect repellent agents in food packaging: a review. **European Food Research and Technology**, v. 246, n. 8, p. 1519-1532, 2020.

MATOS Jr., D. G.; BALTHAZAR, L. M. C. Ectoparasitocidas comuns de uso em medicina veterinária. **Pubvet**, v. 2, n.12, 2008.

MATHEW, J.; THOPPIL, J. E. Chemical composition and mosquito larvicidal activities of *Salvia* essential oils. **Pharmaceutical Biology**, 49:456–463, 2011.

McDERMOTT, M.J.; WEBER, E.; HUNTER, S.; STEDMAN, K.E.; BEST, E.; FRANK, G.R.; WANG, R.; ESCUDERO, J.; KUNER, J.; MCCALL, C. Identification, cloning, and characterization of a major cat flea salivary allergen (Cfe f 1). **Molecular Immunology.**, v.37, p.361–375, 2000.

MCTIER, T. L.; JONES, R. L.; HOLBERT, M. S.; MURPHY, M. G. Efficacy of selamectin against adult flea infestations (*Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis*) on dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v.91:34, p.187-189, 2000.

MENDONÇA, D.E.; ONOFRE, S.B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2b, p. 577-581, 2009.

MEHLHORN, H. **Encyclopedia of parasitology**. (3<sup>rd</sup> ed.). Berlin: Springer., 2008.

MELO, D. R. **Ação de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 e *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *C. felis felis* (Bouché, 1806)**



(**Siphonaptera: Pulicidae**). 2006. 38 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ. 2006.

MENCKE, N.; VOBIS, M.; MEHLHORN, H. J. D. H.; REHAGEN, M.; MANGOLD-GEHRING, S.; TRUYEN, U. Transmission of feline calicivirus via the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitology Research**, v.105, p. 185-189, 2009.

MÉNDEZ, E. Mammalian-siphonapteran associations, the environment, and biogeography of mammals of Southwestern Colombia. **Quaestiones Entomologicae**, v.13, p.91-182, 1977.

MÉNIER, K.; BEAUCOURNU, J. C. Taxonomic study of the genus *Ctenocephalides* Stiles & Collins, 1930 (Insecta: Siphonaptera: Pulicidae) by using aedeagus characters. **Journal of Medical Entomology**, v. 35:5, p.883-890, 1998.

MILLER, D. S.; COVELL, D. F.; MCLEAN, R. G.; ADRIAN, W. J.; NIEZGODA, M.; GUSTAFSON, J. M.; RONGSTAD, O. J.; SCHULTZ, R. D.; KIRK, L. J.; QUAN, T. J. Serologic survey for selected infectious disease agents in swift and kit foxes from the western United States. **Journal of Wildlife Disease**, v.36, p. 798–805, 2000.

MILLER, R. J.; DRYDEN, M. W.; BROCE, A. B.; SUITER, D. R. Pupation site selection of cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) in various carpet types and its influence on insecticide efficacy. **Journal of Medical Entomology**, v.93, p.1391–1397, 2000.

MILLS, C.; CLEARY, B. J.; GILMER, J. F.; WALSH, J. J. Inhibition of acetylcholinesterase by tea tree oil. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.56, p.375- 379, 2004.

MIZUNO, C. S.; SOUZA, A. B.; TEKWANI, B. L.; AMBRÓSIO, S. R.; VENEZIANI, R. C. S. Synthesis and biological evaluation of polyalthic acid derivatives for the treatment of neglected diseases. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 25:5529–5531, 2015.

MORALES-MUCIÑO, J. C.; LLORENTE-BOUSQUETS, J. Estado actual del conocimiento de los Siphonaptera de México. **Anales del Instituto de Biología**, Serie Zoología, v. 56:2, p. 497-554, 1986.

MORAVVEJ, G.; ABBAR, S. Fumigant toxicity of citrus oils against cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 11(1), 48-54, 2008.

MUELLER, R. S.; BENSIGNOR, E.; FERRER, L.; HOLM, B.; LEMARIE, S.; PARADIS, M.; SHIPSTONE, M. A. Treatment of demodicosis in dogs: 2011 clinical practice guidelines, **Veterinary Dermatology**, Oxford, v.23:2, p. 86-90, 2012.

MÜLLER, G. C.; JUNNILA, A.; BUTLER, J.; KRAVCHENKO, V. D.; REVAY, E. E.; WEISS, R. W.; SCHLEIN, Y. Efficacy of the botanical repellents geraniol, linalool, and citronella against mosquitoes. **Journal of Vector Ecology**, v. 34, n. 1, p. 2-8, 2009.

NABAVI, B.; TALEBI JAHROMI, K.; GOLDANSAZ, S. H.; KHALIGHI-SIGAROODI, F.; HOSSEINI NAVEH, V. Insecticidal Effect of Clary Sage (*Salvia sclarea*) Essential oil Against *Callosobruchus maculatus* (Col: Bruchidae) and *Tribolium confusum* (Col: Tenebrionidae). **Journal of Medicinal Plants**, 10(39), 25-33, 2011.

NAJAR, B.; PISTELLI, L.; VENTURI, F.; FERRONI, G.; GIOVANELLI, S.; CERVELLI, C.; BEDINI, S.; CONTI, B. *Salvia Spp.* Essential Oils against the Arboviruses Vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Bioactivity, Composition, and Sensorial Profile—Stage 1. **Biology**, 9(8), 206, 2020.

NATHANSON, J.A. Characterization of octopamine-sensitive adenylate cyclase: elucidation of a class potent and selective octopamine-2 receptor agonists with toxic effects in insects. **Proceedings of National Academy of Science**, v. 82, p. 599-603, 1985.

NARAHASHI, T. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. **Pharmacology and Toxicology**, v. 78, p.1–14, 1996.

NARDONI, S.; EBANI, V. V.; D’ASCENZI, C.; PISTELLI, L.; MANCIANTI, F. Sensitivity of entomopathogenic fungi and bacteria to plants secondary metabolites, for an alternative

control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in cattle. **Frontiers in pharmacology**, 9, 937, 2018.

NEIMARK, H.; JOHANSSON, K.E.; RIKIHISA, Y.; TULLY, J.G. Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of ‘*Candidatus Mycoplasma haemofelis*’, ‘*Candidatus Mycoplasma haemomuris*’, ‘*Candidatus Mycoplasma haemosuis*’ and ‘*Candidatus Mycoplasma wenyonii*’. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.891–899, 2001.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource technology**, v. 101, n. 1, p. 372-378, 2010.

NOLAN, T. J.; LOK, J. B. Macrocyclic lactones in the treatment and control of parasitism in small companion animals. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v.13, p.1078-94, 2012.

OLIVEIRA, Fernando Teixeira de. **Atratividade de *Cosmopolites sordidus* (Germar) a diferentes genótipos de bananeira**. 2012. 63f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

OLIVEIRA, E. C. P de; LAMEIRA, O. A.; ZOGHBI, M. G. B. Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju, PA. **Embrapa Amazônia Oriental-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2006.

OLIVEIRA, A. C.; MACHADO, J. A. C.; ANTONIO, N. S.; NEVES, M. F. *Ctenocephalides canis* e *Ctenocephalides felis*: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária**, v.6:11, 2008.

OLIVEIRA, R. P.; GALVÃO, M. A. M.; MAFR A, C. L.; CHAMONE, C. B.; CALIC, S. B.; SLIVA, S.U.; WALKER, D. H. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 8, n.3, p.317-319, 2002.

ORTIZ DE ELGUEA-CULEBRAS, G.; SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; BERRUGA, M. I.; HERRAIZ-PENÁLVER, D.; GONZÁLEZ-COLOMA, A.; ANDRÉS, M. F.; SANTANA-MÉRIDAS, O. Biocidal potential and chemical composition of industrial essential oils from *Hyssopus officinalis*, *Lavandula× intermedia* var. *super*, and *Santolina chamaecyparissus*. **Chemistry & biodiversity**, 15(1), e1700313, 2018.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.; BRIANTI, E.; TRAVERSA, D.; PETRIĆ, D.; GENCHI, C.; CAPELLI, G. Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe. **Parasites and Vectors**, v. 6, p. 16, 2013.

OVIDI, E.; LAGHEZZA MASCI, V.; ZAMBELLI, M.; TIEZZI, A.; VITALINI, S.; GARZOLI, S. *Laurus nobilis*, *Salvia sclarea* and *Salvia officinalis* essential oils and hydrolates: evaluation of liquid and vapor phase chemical composition and biological activities. **Plants**, 10:707, 2021.

OZOE, Y.; ASAH, M.; OZOE, F.; NAKAHIRA, K.; MITA, T. The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 391, p. 744-749, 2010.

PAGE, S.W. Antiparasitic drugs. In J.E. MADDISON.; S.W. PAGE.; D.B. CHURCH, **Small animal clinical pharmacology** (2<sup>nd</sup> ed.), Philadelphia: Saunders-Elsevier, p. 198-260, 2008.

PAPACHRISTOS, D.P.; STAMOPOULOS, D.C. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, 40(5), pp.517-525, 2004.

PAPACHRISTOS, D. P.; KARAMANOLI, K. I.; STAMOPOULOS, D. C.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U. The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Pest Management Science: Formerly Pesticide Science**, 60(5), 514-520, 2004.

PAVELA, Roman. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. **Fitoterapia**, v. 76, n. 7-8, p. 691-696, 2005.

PARK, S. J.; YU, M. H.; LEE, E. J.; JANG, S. H.; LEE, I. S.; KIM, B. H.; LEE, S. P. Evaluation of natural oils in antimicrobial activity and rodent repellent effectiveness. **Journal of Life Science**, 23(5), 637-642, 2013.

PATEL, A.; FORSYTHE, P. J. Flea allergic dermatitis. In: **Sauders Solutions in Veterinary Practice: Small Animal Dermatology**, Oxford: Elsevier, cap. 5, p.28-34, 2008.

PRAVEENA, A.; SANJAYAN, K.P. Inhibition of acetylcholinesterase in three insects of economic importance by linalool, a monoterpene phytochemical. **Insect pest management, a current scenario**, 2010, pp.240-345, 2011.

PEŠIĆ, P. Z.; BANKOVIĆ, V. M. Investigation on the essential oil of cultivated *Salvia sclarea* L. **Flavour and Fragrance Journal**, 18(3):228-230, 2003.

PEDLOWSKI, M. A.; CANELA, M. C.; TERRA, M. A. da C.; FARIA, R. M. R. de. Modes of pesticides utilization by Brazilian smallholders and their implications for human health and the environment. **Crop Protection (Guildford)**, v. 31, n. 1, p. 113 – 118, 2012

PEREIRA, M. C.; SANTOS, A. P. *Ctenocephalides felis felis*: biologia, ecologia e controle integrado (1a parte e biologia e ecologia). **Clínica Veterinária**, v. 16, p. 34-38, 1998.

PERSICHETTI, M. F.; PENNISI, M. G.; VULLO, A.; MASUCCI, M.; MIGLIAZZO, A.; SOLANO-GALLEGO, L. Clinical evaluation of outdoor cats exposed to ectoparasites and associated risk for vector-borne infections in southern Italy. **Parasitology Vectors**, v.11, p.136, 2018.

PÉREZ-OSORIO, C. E.; ZAVALA-VELAZQUEZ, J. E.; LEÓN, J. J. A.; ZAVALA-CASTRO, J. E. *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 1019-1023, 2008.

PETTER, F. Lês animaux domestiques et leurs ancetres. **Bordas Edition Paris**, 1973.

PORTO, M. F.; SOARES, W. L. Modelo de desenvolvimento, agrotóxicos e saúde: um panorama da realidade agrícola brasileira e propostas para uma agenda de pesquisa inovadora. **Revista brasileira de Saúde Ocupacional**, 37(125), 17-31, 2012.

POWERS, C. N.; OSIER, J. L.; McFEETERS, R. L.; BRAZELL, C. B.; OLSEN, E.L.; MORIATY, D.M.; SATYAL, P.; SETZER, W. N. Antifungal and cytotoxic activities of sixty commercially-available essential oils. **Molecules**, v. 23:7, p. 1549, 2018.

RADÜNZ, L.L. **Efeito da temperatura do ar de secagem no teor e na composição dos óleos essenciais de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e hortelã-comum (*Mentha x villosa* Huds.** 2004. 90f. Tese (Doutorado) – Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2004.

RASMANN, S.; KÖLLNER, T. G.; DEGENHARDT, J.; HILTPOLD, I.; TOEPFER, S.; KUHLMANN, U.; GERSHENSON, J.; TURLINGS, T. C. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. **Nature**, 434(7034), 732-737, 2005.

REIGART, J. R.; ROBERTS, J. R. 2013. Recognition and Management of Pesticide Poisonings. U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Sixth Edition, 2013.

REGNERY, R. L.; CHILDS, J. E.; KOEHLER, J. E. Infections associated with Bartonella species in persons infected with human immunodeficiency virus. **Clinical infectious diseases**, v. 21, p. 94-98, 1995.

RIBEIRO, F. A.; CORREIA, T. R., FERNANDES, J. I.; MELO, R. M. P. S.; VIEIRA, V. P. C.; BEZERRA, L. L.; SCOTT, F. B. Atividade do extrato de nim sobre o desenvolvimento embrionário de *C. felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 17, Supl. 1, p. 87-91, 2008.

RIBEIRO, L. G. **Extração assistida por micro-ondas de óleo essencial de folhas de eucalipto (*Eucalyptus urophylla* x *globulus*)**, 118f. Tese (Mestrado) – Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, 2018.

RIBEIRO, F.A.; FERNANDES, J.I.; CORREIA, T.R.; MELO, R.M.P.S.; VEROCAI, G.G.; CAVALCANTI, M.C.H. SCOTT, F.B. Eficácia do amitraz (Amipur®) no controle de

*Rhipicephalus sanguineus* em cães Beagle naturalmente infestados. **Anais da XV Jornada de Iniciação Científica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Seropédica, RJ, CD-ROM, 2006.

RISTOW, L. E.; Dermatite alérgica a picada de pulgas - DAPP. Tecsa, 2012.

ROBU, S.; HANCIANU, M.; TUTUNARU, D.; SPAC, A.; TUCHILUS, C.; TRIFAN, A.; STANESCU, U.; GILLE, E.; CIOANCA, O. *Lavandula hybrida*: assessment of the essential oil properties. **Analele Stiintifice ale Universitatii "Al. I. Cuza" din Iasi**, 62(1), 134, 2016.

ROBU, S.; CHESARU, B. I.; DIACONU, C.; DUMITRIU, B. O.; TUTUNARU, D.; STANESCU, U.; LISA, E. L. *Lavandula hybrida*: Microscopic characterization and the evaluation of the essential oil. **Farmacía**, 64(6), 914-917, 2016.

ROHDICH, N.; ROEPKE, R. K. A.; ZSCHIESCHE, E. A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto™ (fluralaner) against Frontline™ (fipronil) in flea- and tick-infested dogs. **Parasitology Vectors**, v.7, pg.83, 2014.

RUST, M. K. Recent advancements in the control of cat fleas. **Insects**, v. 11, n. 10, p. 668, 2020.

RUST, M.K. Influence of photoperiod on egg production of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) infesting cats. **Journal of Medical Entomology**, v.29, p.301-5, 1992.

RUST, M.; DRYDEN, M. The biology, ecology and management of the cat flea. **Annual Review Entomology**, v.42, p.451-73, 1997.

RUST, M. K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. **Trends in Parasitology**, v. 21:5, p. 232-236, 2005.

RUST, M. K. The biology and ecology of cat fleas and advancements in their pest management: a review. **Insects**, v. 8:4, p. 118, 2017.

ROSETTI, M. K. de P. **Toxicidade de óleos essenciais de anonáceas para *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) e seletividade para *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

ROTIMI, J.; EKPERUSI, O. A. Effectiveness of Citrus oils as cowpea seed protectant against damage by the cowpea Bruchid *Collosobruchus maculatus* (F) (Coleopteran: Bruchidae). **Advances in Applied Science Research**, 3, 3540-3544, 2012.

SAITO, M. L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente, p. 48, 2000.

SALGADO, V. L.; HAYASHI, J. H. Metaflumizone is a novel sodium channel blocker insecticide. **Veterinary Parasitology**, v. 150:3, p. 182-189, 2007.

SALMAN, S. Y.; SARITAS, S.; KARA, N.; AYDINLI, F.; AY, R. Contact, repellency and ovicidal effects of four *Lamiaceae* plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 18, n. 4, p. 857-872, 2015.

SAMPSON, B. J.; TABANCA, N.; KIRIMER, N.; DEMIRCI, B.; BASER, K. H. C.; KHAN, I. A.; SPIERS, J. M.; WEDGE, D. E. Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). **Pest Management Science**, 61:1122-1128, 2005.

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

SCARIOT, M. A.; JÚNIOR, F. R.; RADÜNZ, L. L.; BARRO, J.; MOSSI, A. J. *Salvia officinalis* essential oil in bean weevil control. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, p. 177-182, 2016.

SCARPELLINI, J. R.; ANDRADE, D. J. de. Avaliação do efeito de inseticidas sobre a joaninha *Hippodamia convergens* Guérin-Meneville (Coleoptera: Coccinellidae) em algodoeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77:2, p.323-330, 2010.

SAJJAD, A. L. Í.; ULLAH, M. I.; ARSHAD, M.; IFTIKHAR, Y.; SAQIB, M.; AFZAL, M. Effect of botanicals and synthetic insecticides on *Pieris brassicae* (L.,1758) (Lepidoptera: Pieridae). **Turkish Journal of Entomology**, 41(3), 275-284, 2017.

SEIXAS, P. T. L.; DEMUNER, A. J.; ALVARENGA, E. S.; BARBOSA, L. C. A.; MARQUES, A.; FARIAS, E. D. S.; PICANÇO, M. C. Bioactivity of essential oils from *Artemisia* against *Diaphania hyalinata* and its selectivity to beneficial insects. **Scientia Agricola**, 75, 519-525, 2018.

SENEVIRATNA, P.; WEERASINGHE, N.; ARYIADASA, S. Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Research in Veterinary Science**, v. 14, n. 1, p. 112-114, 1973.

SENER, O.; ARSLAN, M.; DEMIREL, N.; UREMIS, I. Insecticidal effects of some essential oils against the confused flour beetle (*Tribolium confusum* du Val) (Col.: Tenebrionoidea) in stored wheat. **Asian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 5, p. 3995, 2009.

SFARA, V.; ZERBA, E. N.; ALZOGARAY, R. A. Fumigant insecticidal activity and repellent effect of five essential oils and seven monoterpenes on first-instar nymphs of *Rhodnius prolixus*. **Journal of medical entomology**, v. 46, n. 3, p. 511-515, 2009.

SILVA, J.M.A.; SANTOS, J.F.; LAVINA, M.S.; SOUZA, A.P.; SOUZA, S.F. Ectoparasitos em cães de áreas peri-rurais do município de Rio Branco, Acre, **Amazônia Ocidental. Enciclopédia Biosfera**. v.14:26, p. 306-316, 2017.

SILVA, F. H.; OLIVEIRA, M.; BRAGA, M.; YOUNG, M.; BOLZANI, V.; CARDOSO-LOPES, E. M.; TORES, L. Estudo do óleo essencial e extrato hidrometanólico de *Copaifera langsdorffii* Desf (Caesalpinaceae) do cerrado e mata atlântica. **Reunião Nacional da Sociedade Brasileira de Química**, 29, 2006.

SILVA, I. G.; ZANON, V. O. M.; SILVA, H. H. G. Larvicidal activity of *Copaifera reticulata* ducke oil-resin against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Neotropical Entomology**, 32(4): 729-732, 2003.

SILVERMAN, J.; RUST, M. K. Extended longevity of the pre-emerged adult cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) and factors stimulating emergence from the pupal cocoon. **Annals of Entomological Society of America**, v. 78:1, p. 763-768, 1985.

SILVERMAN, J.; APPLE, A. G. Adult cat flea (Siphonaptera: Pulicidae) excretion of host blood proteins in relation to larval nutrition. **Journal of Medical Entomology**, v.21, p.394-97, 1984.

SIMAS, N. K.; LIMA, E. D. C.; CONCEICAO, S. D. R.; KUSTER, R. M.; OLIVEIRA FILHO, A. D.; LAGE, C. L. S. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue-atividade larvicida de *Myroxylon balsamum*, **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

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. 21:125, p. 13-18, 2002.

STAUDINGER, H.; RUZICKA, L. Insektentötende Stoffe I. Über Isolierung und Konstitution des wirksamen Teiles des dalmatinischen Insektenpulvers, **Helvetica Chimica Acta**, v. 7:1, p. 177-201, 1924.

SNYDER, D.E.; MEYER, J.; ZIMMERMANN, A. G.; QIAO, M.; GISSENDANNER, S. J.; CRUTHERS, L. R.; SLONE, R. L.; YOUNG, D. R. Preliminary studies on the effectiveness of the novel pulicide, spinosad, for the treatment and control of fleas on dogs. **Veterinary Parasitology**, 150:345-351, 2007.

SODERLUND, D. M.; CLARK, J. M.; SHEETS, L. P.; MULLIN, L. S.; PICCIRILLO, V.J.; SARGENT, D.; STEVENS, J. T.; WEINER, M. L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v.171:1, p.3-59, 2002.

- SU, L. C.; HUANG, C. G.; CHANG, S. T.; YANG, S. H.; HSU, S. H.; WU, W. J.; HUANG, R. N. An improved bioassay facilitates the screening of repellents against cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Pest Management Science**, v. 70(2), p. 264-270, 2014.
- SU, H. C.; SPEIRS, R. D.; MAHANY, P. G. Citrus oils as protectants of black-eyed peas against cowpea weevils: laboratory evaluation. **Journal of Economic entomology**, 65(5), 1433-1436, 1972.
- ŠUČUR, J.; GVOZDENAC, S.; ANAČKOV, G.; MALENČIĆ, Đ.; PRVULOVIĆ, D. Allelopathic effect of *Clinopodium Menthifolia* and *Salvia sclarea* aqueous extracts. **Matica Srpska Journal of Natural Sciences Novi Sad**, 131: 177-188, 2016.
- ŠUČUR, J.; POPOVIĆ, A.; PETROVIĆ, M.; ANAČKOV, G.; MALENČIĆ, Đ.; PRVULOVIĆ, D. Allelopathic effects and insecticidal activity of *Salvia sclarea* L. **Studia UBB Chemia**, 60: 253-264, 2015.
- SUKUMAR, K.; PERICH, M. J.; BOOBAR, L. R. Botanical derivatives in mosquito control: a review. **Journal of the American Mosquito Control Association**, 7:210-237, 1991.
- SZENTMIHÁLYI, K. Mineral elements in muscat sage plant (*Salvia sclarea* L.) and essential oil. **Acta Biologica Szegediensis**, 53(suppl.), 35-38, 2009.
- TABARI, M. A.; YOUSSEFI, M. R.; MAGGI, F.; BENELLI, G. Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 245, p. 86-91, 2017.
- TAMBWE, M. M.; MBEYELA, E. M.; MASSINDA, B. M.; MOORE, S. J.; MAIA, M. F. Experimental hut evaluation of linalool spatial repellent agar gel against *Anopheles gambiae* sensu stricto mosquitoes in a semi-field system in Bagamoyo, Tanzania. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2014.
- TASKER, S. Hemobartonellafelis. In: LAPPIN, M. R. Segredos em medicina interna felina. Porto Alegre: **Artmed**, p.455-459, 2004.
- TASKER, S.; HOFMANN-LEHMANN, R.; BELÁK, S.; FRYMUS, T.; ADDIE, D. D.; PENNISI, M. G.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; HARTMANN, K.; HOSIE, M. J.; LIORET, A.; MARSILIO, F.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; MÖSTL, K. Haemoplasmosis in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.20(3), p.256–261, 2018.
- TAVARES, C.; ARAGÃO, A. I.; LEAL, N. C.; LEAL-BALBINO, T. C.; DE OLIVEIRA, M. B.; DE OLIVEIRA GONÇALVES FERREIRA, G. M.; DE ALMEIDA, A.M. Plague in Brazil: from now and then. **Advances in Experimental Medicine Biology**, v. 954, p. 69-77, 2012.
- TAYLOR, M. A. Recent developments in ectoparasiticides. **The Veterinary Journal**, v.161:3, p. 253-268, 2001.
- TINGLE, C. C. D.; ROTHER, J. A.; DEWHURST, C. H.; LAUER, S.; KING, W. J. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, p. 1-66, 2003.
- TIPTON, V. J.; MÉNDEZ, E. The fleas (Siphonaptera) of Panama. In: Wenzel, R. L. & Tipton, V. J. eds. **Ectoparasites of Panama**. Chicago, Field Museum of Natural History, p. 289-385, 1996.
- TIPTON, V. J.; MACHADO-ALLISON, C. E. Fleas of Venezuela. **Brigham Young University Science Bulletin**, v.17:6, p. 1-115, 1972.
- THEOU, G.; PAPACHRISTOS, D. P.; STAMOPOULOS, D. C. Fumigant toxicity of six essential oils to the immature stages and adults of *Tribolium confusum*. **Hellenic Plant Protection Journal**, v. 6, n. 1, p. 29-39, 2013.
- THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca; 2007.

TRAN, T. H.; HA, L. K.; NGUYEN, D. C.; DAO, T. P.; NHAN, L. T. H.; NGUYEN, D. H.; NGUYEN, T. D.; VO, D. V. N.; TRAN, Q. T.; BACH, L. G. The study on extraction process and analysis of components in essential oils of black pepper (*Piper nigrum* L.) seeds harvested in Gia Lai Province, Vietnam. **Processes**, v. 7:2, p. 56, 2019.

TRAUB, B. R. The zoogeography and evolution of some fleas, lice and mammals. In: Traub, R. & Starcke, H. eds. **Fleas**. Rotterdam, A. A. Balkema, p. 93-172, 1980.

TREBBIEN, R.; CHRIEL, M.; STRUVE, T.; HJULSAGER, C.K.; LARSEN, G.; LARSEN, L. E. Wildlife reservoirs of canine distemper virus resulted in a major outbreak in Danish farmed mink (*Neovison vison*). **PLoS One.**, v. 13:9, p. 855-98, 2014.

TRIPATHI, A.K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, v.1, p.52–63, 2009.

TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P. S.; KUMAR, S. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**, 93(1), 43-47, 2000.

TRIPATHI, A. K.; PRAJAPATI, V.; KHANUJA, S. P. S.; KUMAR, S. Effect of d-limonene on three stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**, 96(3), 990-995, 2003.

TODD, G. D; WOHLERS, D.; CITRA, M. Toxicology Profile for Pyrethrins and pyrethroids. Department of Health and Human Services. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, Atlanta, GA, 2003.

TORRES, F. D.; FIGUEIREDO, L. A.; FAUSTINO, M. A. G. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13(4), p.151-154, 2004.

UJIHARA, K.; MATSUO, N.; MORI, T. Recent Advances of Pyrethroids for Household Use. **Pyrethroids From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide**, v.314. p. 31-48, 2012.

ULUKANLI, Z.; KARABORKLU, S.; ÇENET, M.; SAGDIC, O. Essential oil composition, insecticidal and antibacterial activities of *Salvia tomentosa* Miller. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 2, p. 832-840, 2013.

UYSAL, B.; SOZMEN, F.; AKTAS, O.; OKSAL, B. S.; KOSE, E. O. Essential oil composition and antibacterial activity of the grapefruit (*Citrus Paradisi*. L) peel essential oils obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. **International Journal of Food Science and Technology**, 46, 1455–1461, 2011.

VALIZADEH, B.; SENDI, J. J.; OFTADEH, M.; EBADOLLAHI, A.; KRUTMUANG, P. Ovicidal and Physiological Effects of Essential Oils Extracted from Six Medicinal Plants on the Elm Leaf Beetle, *Xanthogaleru-Ca Luteola* (Mull.). **Agronomy**, v. 11, n. 10, p. 2015, 2021.

VALLE, V. P. Toxicología de los alimentos. **División de Estudios de Posgrado**, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Salud Pública, Centro Nacional de Salud Ambiental, México, D.F, 2000.

VASCONCELOS, G.J.N.; GODIN JUNIOR, M.G.C.; BARROS, R. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, v.36, n.5, p.1353-1359, 2006.

VARONA, S.; MARTÍN, Á.; COCERO, M. J. Formulation of a natural biocide based on lavandin essential oil by emulsification using modified starches. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 48, n. 6, p. 1121-1128, 2009.

VERMA, R.; CHAUHAN, A.; RAHMAN, L.; SINGH, A. Aroma profile of clary sage (*Salvia sclarea* L.): influence of harvesting stage and post-harvest storage in Uttarakhand Hills. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**, 5(2):139-42, 2011.

VIEIRA JUNIOR, J. R.; ANJOS, E.; FERNANDES, C. D. F.; RUDNICK, V.; SANTOS, C. F.; SOUZA, C. F.; UCHOA, F. P.; SILVA, G. R.; FIGUEIREDO, M. C. Potencial biofumigante de duas espécies amazônicas no controle do nematoide-das-galhas do cafeeiro. In **Embrapa Rondônia-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 10., 2019, Vitória. Pesquisa, Inovação e Sustentabilidade dos Cafés do Brasil. Anais... Brasília, DF: Embrapa Café, 2019.

VIEIRA, H. S.; TAKAHASHI, J. A.; DE OLIVEIRA, A. B.; CHIARI, E.; BOAVENTURA, M. A. D. Novel derivatives of kaurenoic acid: preparation and evaluation of their trypanocidal activity. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 13:151–157, 2002.

VOBIS, M.; D'HAESE, J.; MEHLHORN, H.; MENCKE, N. The feline leukemia virus (FeLv) and the cat flea (*Ctenocephalides felis*). **Parasitology Research**, v.90, p. 132-134, 2003.

XU, W. T.; HUANG, K. L.; GUO, F.; QU, W.; YANG, J. J.; LIANG, Z. H.; LUO, Y. B. Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control *Botrytis cinerea*. **Postharvest Biology and Technology**, 46(1), 86-94, 2007.

WALL, R., SHEARER, D. **Veterinary ectoparasites – biology, pathology and control**. (2<sup>nd</sup> ed.) Oxford: Blackwell Science Ltd, 2001.

WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, p. 300-312, 2006.

WANG, C. F.; YANG, K.; ZHANG, H. M.; CAO, J.; FANG, R.; LIU, Z. L.; DU, S. S.; WANG, Y. Y.; DENG, Z. W.; ZHOU, L. Components and insecticidal activity against the maize weevils of *Zanthoxylum schinifolium* fruits and leaves. **Molecules**, 16(4), 3077-308, 2011.

WEINZIERL, R.; HENN, T. **Alternatives in insects' management: Biological and Biorational Approaches**. University of Illinois, Urban-Champaign, North Central Regional Extension publication 401, 1992.

WELL, H. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)**. 2015.

WILKINSON, G. T.; HARVEY, R. G. Dermatoses psicogênica. In: WILKINSON, G. T.; HARVEY, R. G. **Atlas colorido de dermatologia dos pequenos animais**. 2 ed. São Paulo: Manole, 1996.

WILLIAMS, T.; VALLE, J.; VIÑUELA, E. Is the naturally derived insecticide Spinosad® compatible with insect natural enemies? **Biocontrol science and technology**, v. 13:5, p. 459-475, 2003.

WRIGHT, I.; ELSHEIKHA, H. Flea infestations: epidemiology, treatment and control. **The Veterinary Nurse**, v.5:5, p. 261–269, 2014.

WITCHEY-LAKSHMANAN, L.C. Long-acting control of ectoparasites a review of collar technologies for companion animals. **Advanced Drug Delivery Review**, v.38, p. 113–122, 1999.

WHITING, M. F.; WHITING, A.S.; HASTRITER, M. W.; DITTMAR, K. A molecular phylogeny of fleas (Insecta: Siphonaptera): origins and host associations, **Cladistics**, v.24, p. 677–707, 2008.

WHITTEMORE, J. C.; HAWLEY, J. R.; RADECKI, S. V.; STEINBERG, J. D.; LAPPIN, M. R. *Bartonella* species antibodies and hyperglobulinemia in privately owned cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.26, p. 639–644, 2012.

YANG, Y. C.; LEE, H. L., AHN, Y.J. Insecticidal activity of plant essential oils against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). **Journal of medical entomology**, v. 41, n. 4, p. 699-704, 2004.

YOON, C.; KANG, S.; JANG, S.; YJM, Y.; KIM, G. Repellent efficacy of caraway and grapefruit oils for *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 10:263–267, 2007.



YORULMAZ SALMAN, S.; SARITAS, S.; KARA, N.; AY, R.; RECEP, R. Acaricidal and ovicidal effects of sage (*Salvia officinalis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (Lamiaceae) extracts on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). 2014.

YILDIRIM, E.; EMSEN, B.; KORDALI, S. Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Applied Botany and Food Quality**, 86(1), 2013.

YOUSSEFI, M. R.; RAHIMI, M. T. Extreme human annoyance caused by *Ctenocephalides felis felis* (cat flea). **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4:4, p. 334-336, 2014.

ZALUSKI, R. **Efeito do inseticida fipronil em abelhas africanizadas e na expressão de gene relacionado ao sistema imunológico**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2014.

ZAHRAN, H. E. D. M.; ABOU-TALEB, H. K.; ABDELGALEIL, S. A. Adulticidal, larvicidal and biochemical properties of essential oils against *Culex pipiens* L. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 20(1), 133-139, 2017.

ZORTÉA, T., BARETTA, D., VOLPATO, A., LORENZETTI, W. R., SEGAT, J. C., MACCARI, A. P., SANTOS, R. C.; VAUCHER, R. A.; STEFANI, L. M.; SILVA, A. S. Repellent effects of andiroba and copaiba oils against *Musca domestica* (common house fly) and ecotoxicological effects on the environment. **Acta Scientiae Veterinariae**, 45(1), 8, 2017.

ZUIM, V.; ROCHA, L. Í.; VALBON, W.; RODRIGUES, H.; PRATISSOLI, D. Efeito do óleo-resina de copaíba sobre a mosca minadora *Liriomyza trifolii* (Burguess) (Diptera: Agromyzidae). **Enciclopédia Biosfera**, 9(16), 2013.

ZURITA, A.; CALLEJÓN, R.; DE ROJAS, M.; HALAJIAN, A.; CUTILLAS, C. *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis*: Introgressive hybridization? **Systematic Entomology**. v.41, p.567–579, 2016.