

## EFICÁCIA DO NIM (*Azadirachta indica*) NO CONTROLE DE *Demodex canis* (LEYDIG, 1859) EM CÃES\*

### EFFICACY OF NEEM (*Azadirachta indica*) IN THE CONTROL OF *Demodex canis* (LEYDIG, 1859) ON DOGS

Julio Israel Fernandes<sup>1</sup>, Thaís Ribeiro Correia<sup>2</sup>, Francisco de Assis Ribeiro<sup>3</sup>, Yara Peluso Cid<sup>4</sup>, Pedro Vianna Tavares<sup>5</sup> e Fabio Barbour Scott<sup>6</sup>

**ABSTRACT.** Fernandes J.I., Correia T.R., Ribeiro F.A., Cid Y.P., Tavares P.V. & Scott F.B. [Efficacy of neem (*Azadirachta indica*) in the control of *Demodex canis* (Leydig, 1859) on dogs.] Eficácia do Nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Demodex canis* (Leydig, 1859) em cães. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32(Supl. 1):59-63, 2010. Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Avenida Universitária, s/n, Pirapora, Castanhal, PA 68750-000, Brasil. E-mail: fernandesji@ufpa.br

The canine demodicosis is a parasitic dermatopathy of high prevalence caused by excessive proliferation of *Demodex canis* mites, which belongs to animals' natural biota. These are very small and vermiform mites, which essentially parasitize hair follicles, sebaceous glands and less commonly sudoriparous glands of mammals. Many drugs have been used as treatment of canine demodicosis, usually demonstrating varied efficacy levels, and routinely causing side effects which make therapy impossible. The objective of the present study was to evaluate the efficacy of a 10% neem (*Azadirachta indica*) emulsion on the control of demodectic mange on naturally infested dogs. Eighteen crossbreed animals were divided in three groups of six animals. Group 1 was maintained untreated (control). Group 2 was weekly treated with the tested formulation, within a period of 60 days. Group 3 was treated with the same product, daily for the same period. Animals were evaluated daily for appearance of product-related side effects. Parasitological evaluation was realized on days + 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 and +63 post treatment through skin scrapings. One of the treated animals showed grave side effects following the product administration. At the end of the trial both control and treated animals still presented living mites, demonstrating the inefficacy of the tested formulation. However, daily and weekly treated animals showed clinical remission of lesions, possibly due to neem's anti-inflammatory and antibiotic properties. The product was not efficacious for treatment of demodicosis on dogs.

KEY WORDS. *Demodex canis*, control, neem, biopesticide.

**RESUMO.** A sarna demodécica canina é uma dermatopatia parasitária, com alta prevalência, causada pela excessiva proliferação do ácaro *Demodex canis*, que faz parte da biota normal dos animais, muito pequenos, de aspecto

\* Recebido em 19 de outubro de 2009.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, *Dr.CsVs*, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Avenida Universitária, s/n, Pirapora, Castanhal, PA 68750-000, Brasil. E-mail: fernandesji@ufpa.br

<sup>2</sup> Médica-veterinária, *Dr.CsVs*, Programa de Pós-Doutoramento, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000 e Faculdade de Medicina Veterinária de Valença, Fundação Educacional Dom André Arcoverde, Centro de Ensino Superior de Valença, Rua Sargento Vitor Hugo, 161 Bairro de Fátima, Valença, RJ 27600-000, Brasil. E-mail: thaisrca@gmail.com

<sup>3</sup> Médico-veterinário, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, IV, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ. E-mail: fran.ribeirovet@gmail.com - bolsista CAPES.

<sup>4</sup> Farmacêutica Industrial. Programa Binacional em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: yaracid@yahoo.com.br - bolsista CAPES.

<sup>5</sup> Médico-veterinário. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, DPA, IV, UFRRJ, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: pviannavet@gmail.com

<sup>6</sup> Médico-veterinário, *Dr.CsVs*, Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: scott@ufrj.br

vermiforme, que parasitam essencialmente folículos pilosos, glândulas sebáceas e menos comumente nas glândulas sudoríparas de mamíferos. Muitas drogas têm sido usadas no tratamento da sarna demodécica canina. De uma forma geral, demonstram níveis de eficácia muito variados e, rotineiramente a ocorrência de efeitos colaterais que podem impossibilitar a conclusão da terapia. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficácia da emulsão de nim (*Azadirachta indica*) na concentração de 10% no controle da sarna sarcóptica em cães naturalmente infestados. Foram utilizados 18 animais divididos em três grupos com seis animais cada. O grupo 1 permaneceu sem tratamento, grupo controle. O grupo 2 recebeu tratamento com a formulação teste em intervalos semanais por um período de sessenta dias. O grupo 3 foi medicado com o mesmo produto diariamente pelo mesmo período. Os animais foram avaliados diariamente para acompanhamento de eventuais efeitos colaterais ao produto. A avaliação da eficácia foi realizada nos dias 0, +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63 após o tratamento, feita através de raspados cutâneos. Um dos animais submetidos ao tratamento apresentou graves efeitos colaterais após a administração do produto. Ao final do período experimental, todos os animais do grupo controle e do grupo tratado apresentavam ácaros vivos, demonstrando a ineficácia da formulação em teste. Entretanto, os animais do grupo tratado diariamente ou semanalmente demonstraram melhora das lesões clínicas, possivelmente devido às propriedades anti-inflamatórias e antibióticas do nim. O produto não foi eficaz no controle da sarna demodécica em cães.

**PALAVRAS-CHAVE.** *Demodex canis*, controle, nim, biopesticidas.

## INTRODUÇÃO

A sarna demodécica canina é uma das dermatopatias mais comumente observadas na rotina veterinária (Mueller 2004), especialmente em regiões tropicais e subtropicais, onde tende a seguir um curso mais agressivo. Têm distribuição mundial e infesta praticamente todas as espécies de sangue quente, inclusive o homem (Guimarães et al. 2001). Dentre as espécies do ácaro descritas, *D. canis* é a de maior prevalência e importância em cães.

Não existe predisposição sexual ou sazonal em relação à infestação, entretanto, o fator racial e idade são importantes na epizootiologia da enfermidade. A sarna demodécica parece ser uma doença multifatorial tendo como fatores predisponentes: alterações genéticas, nutricionais, utilização de drogas imunossupressoras, doenças debilitantes e estresse, especialmente em animais jovens (Ghubash 2006, Santarem 2007).

Diversas formulações químicas já foram utilizadas no controle da parasitose. Os organofosforados já foram recomendados para tratamento da sarna demodécica em diversas formulações. Apesar de serem muito eficazes, podem desenvolver graves efeitos colaterais nos pacientes e nas pessoas que o aplicam, podendo inclusive levar ao óbito (Mueller 2004). Já os piretróides, que são moléculas consideradas mais seguras, já foram utilizados em diversas apresentações, entretanto os resultados apresentados nem sempre eram satisfatórios.

Atualmente, o acaricida do grupo das formamidinas é o grupamento químico mais utilizado. Entretanto, os protocolos para a utilização vêm sendo adequados em virtude, principalmente, da resistência do parasito (Santarém 2007). Outros grupamentos químicos utilizados são as lactonas macrocíclicas, destacando-se o uso da ivermectina, moxidectina e da milbemicina. São moléculas utilizadas que podem provocar graves efeitos adversos nos animais.

Na tentativa de minimizar o uso de produtos químicos, muitas vezes deletérios aos animais, a associação com produtos fitoterápicos pode representar uma alternativa no controle dos parasitos, diminuindo a dose ou o tempo de aplicação dos produtos convencionais.

Diversos protocolos terapêuticos têm sido descritos na literatura apresentando bons resultados. Estes protocolos incluem o uso de medicações consideradas tóxicas aos animais que podem ser empregadas em diferentes vias de administração, seja por via oral, injetável ou tópica. Nos casos mais graves da doença causada pelo ácaro, a forma generalizada, frequentemente é possível encontrar lesões ulceradas o que pode aumentar a absorção do medicamento e levar o animal ao quadro de intoxicação.

Nesse contexto, novas modalidades terapêuticas devem ser desenvolvidas com o intuito de minimizar os possíveis efeitos colaterais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficácia da emulsão de nim no controle da sarna demodécica em cães.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliação da eficácia do nim no controle da sarna demodécica foram utilizados 18 animais, SRD, de idades variadas, oriundos de um abrigo localizado no município do Rio de Janeiro, sendo identificados através de raspados cutâneos, de seis regiões distintas: região periocular, lados direito e esquerdo, base da cauda e região ventral do animal, espaço interdigital, observados posteriormente ao microscópio. Estes raspados foram realizados com lâminas de bisturi nº 23 sem corte, repetidamente, até que houvesse sangramento capilar. O material obtido dos raspados, diluído em solução fisiológica

a 0,9%, foi colocado entre lâmina e lamínula para visualização de ácaros sob microscópio óptico.

Só foram incluídos no ensaio animais cujo exame apresentasse ácaros vivos nas fases de larva, ninfa ou adulto. Cães com apenas ovos de ácaros presentes no raspado não foram aproveitados. Todos os animais utilizados no estudo apresentavam a forma generalizada da doença, que é a apresentação clínica da doença mais grave e mais difícil de ser controlada.

Foi utilizada a emulsão de nim, a partir do óleo de nim puro, adquirido do laboratório Natural Rural®. Para o preparo da emulsão foi acrescentado a uma parte do óleo, tween 80 (emulsificante) na concentração de 30%. Posteriormente, a solução foi levada a um agitador magnético com aquecimento, onde permanecia por 10 minutos a uma temperatura de 40° C, completando até a quantidade desejada com água. A dose empregada em cada animal foi de 3 ml/kg de peso vivo, sendo administrada com auxílio de um borrifador.

Os animais foram divididos em três grupos com seis animais cada. O grupo 1 foi mantido sem tratamento, grupo controle. O grupo 2 foi tratado com a formulação em teste, contendo 10% de nim, aplicados na formulação spray, sendo empregado a cada sete dias, por um período de sessenta dias de experimentação. O grupo 3 foi tratado com a mesma formulação aplicando o produto diariamente por um período de trinta dias. Em ambos os grupos tratados, os animais foram medicados de maneira que todas as regiões do corpo fossem banhadas.

Os animais de cada grupo experimental foram mantidos em canis cimentados, de maneira que os animais de cada não tivessem contato entre si. Os animais foram mantidos com água *ad libitum* e comida sendo oferecida apenas uma vez ao dia.

A avaliação foi realizada diariamente para o acompanhamento de possíveis reações adversas do produto, bem como para o acompanhamento da evolução clínica dos animais. Para avaliação da eficácia, foram realizados raspados cutâneos das mesmas regiões, nos dias +7, +14, +21, +28, +35, +42, +49, +56 e +63 após o tratamento onde a mobilidade era o parâmetro para analisar a viabilidade do ácaro. Para avaliação da eficácia foi utilizado como parâmetro a evolução clínica dos animais tratados, além da fórmula:  $(n^{\circ} \text{ de positivos antes do tratamento} - n^{\circ} \text{ de positivos depois do tratamento}) / (n^{\circ} \text{ de positivos antes do tratamento}) \times 100$ .

## RESULTADOS

Os resultados dos raspados cutâneos realizados nos animais ao longo do período experimental e nos diferentes grupos, encontram-se descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Resultado dos raspados cutâneos dos cães naturalmente infestados com o ácaro *Demodex canis* nos diferentes dias e grupos experimentais.

Grupos/ Animais	Dias de experimentação									
	0	+7	+14	+21	+28	+35	+42	+49	+56	+63
Controle	+ <sup>1</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nim 10% SE <sup>2</sup>										
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nim 10% DI <sup>3</sup>										
13	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
15	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

<sup>1</sup>Presença do ácaro; <sup>2</sup>Nim 10% de aplicação semanal; <sup>3</sup>Nim 10% de aplicação diária.

No dia zero da experimentação todos os animais apresentavam sinais clínicos da doença (Figura 1A), além de apresentarem positivos através da técnica de raspado cutâneo. Todos os animais do grupo controle e do grupo tratado semanalmente com extrato de nim a 10% permaneceram positivos ao longo de todo período experimental. Já no grupo tratado diariamente com o produto dois animais foram negativos no raspado cutâneo no dia + 21, permanecendo um deles negativo no raspado do dia + 28. Do dia + 35 ao dia +63, todos os animais eram positivos ao realizar o diagnóstico em pelo menos uma das áreas analisadas.

Embora seja descrita como uma droga segura e não demonstrar nenhum efeito colateral, um dos animais submetidos ao tratamento semanal apresentava intenso prurido e grandes placas por toda a pele (Figura 1B), quadro típico de reação alérgica, autolimitante, permanecendo por apenas algumas horas, não havendo a necessidade de tratamento terapêutico.

Embora o produto contendo 10% de nim, empregado semanalmente ou diariamente, não apresente nenhuma eficácia no controle do ácaro *D. canis* em cães naturalmente infestados, todos os animais tratados apresentavam-se clinicamente melhores em relação ao grupo controle e em relação ao dia zero do experimento. Os animais ao final do período experimental já apresentavam avançado estágio de cicatrização das lesões dermatológicas e crescimento folicular discreto (Figura



Figura 1. (A) Animal positivo para *Demodex canis* apresentando áreas alopécicas, hiperêmicas com escoriações secundárias ao prurido. (B) Animal apresentando lesões dermatológicas caracterizadas por pápulas e placas logo após a aplicação do produto contendo 10% de extrato de nim.



Figura 2. Animal pertencente ao grupo tratado com a emulsão contendo 10% de nim, tratado semanalmente, no dia zero (A) e no dia +60 (B).



Figura 3. Animal pertencente ao grupo tratado com a emulsão contendo 10% de nim, tratado diariamente, no dia zero (A) e no dia +60 (B).

ras 2 e 3), possivelmente pelas propriedades anti-inflamatórias do nim já descritas por outros autores.

### DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Por se tratarem de animais mantidos em um abrigo em condições precárias, muitas vezes os animais ficavam sem cuidados básicos de criação, inclusive com a

falta de alimentação. Sendo assim, os resultados clínicos poderiam ser melhores caso o manejo tivesse recebido tratamento de suporte.

A falta de protocolos documentados para o uso de fitoterápicos em testes *in vivo*, sobretudo na utilização em pequenos animais, torna difícil traçar uma comparação entre os tratamentos já descritos na literatura.

Os resultados do presente estudo também são inferiores aos relatados por Tripathy et al. (1988) que relatam eficácia do tratamento através de banhos diários com sabonetes contendo extratos de nim. Os resultados descritos por Das (1993) são muito superiores ao presente estudo. O autor empregou uma formulação contendo três diferentes plantas: *A. indica*, *C. deodara* e *E. ribes*, em quatorze cães identificados através de raspados positivos para *D. canis*. O autor obteve eficácia de 100% ao utilizar os produtos fitoterápicos com apenas uma aplicação nos casos leves e duas aplicações com intervalo de 24 nos casos graves. Os dados foram superiores ao presente estudo ao compararmos o resultado final dos experimentos. Entretanto, a comparação fica difícil de ser estabelecida pela diferenças na metodologia empregada, uma vez que no trabalho de Das, foi empregado associação de diversos produtos.

O mesmo problema de comparação foi verificado ao comparar os dados relatados por Pathak & Shukla (1998) que empregaram uma formulação contendo extratos das plantas *C. deodora*, *A. indica*, *P. glabra*, *E. globulus* e *A. calamus* no controle da sarna demodécica em cães, com eficácia após vinte e cinco dias de tratamento.

A associação de fitoterápicos também foi testada por Das & Bhatia (1993) que empregaram com sucesso os fitoterápicos *C. deodora*, *A. indica* e *E. ribes*, no controle de cães com sarna demodécica com apenas duas aplicações com intervalo de 24 horas na formulação spray. Apesar de utilizar o mesmo modo de aplicação do presente estudo, a associação dos fitoterápicos inviabilizou qualquer comparação com os dados do presente estudo.

Os resultados finais descritos por Roy & Roy (2008) são superiores aos do presente estudo, uma vez que comparações entre os experimentos não foi possível de ser avaliada devido à diferença entre as metodologias. Os autores empregaram em lesões localizadas e generalizadas causadas pelo ácaro *D. canis*, duas formulações distintas de fitoterápicos: uma contendo os fitoterápicos *C. deodara*, *P. glabra*, *E. globulus* e *A. calamus* associado ao produto comercial conhecido por Zerokeet, aplicado topicamente duas vezes ao dia por uma semana e depois por mais uma semana uma vez ao

dia. A outra formulação era composta pelos fitoterápicos *C. deodara*, *P. glabra*, *A. indica*, *E. globulus* e *A. calamus* seguindo o mesmo protocolo de tratamento da formulação A, ambas de aplicação gel, acrescida de cápsulas administradas por via oral contendo os fitoterápicos *Curcuma longa*, *Allium sativum*, *C. deodara*, *Berberis aristata*, *A. indica*, *Mangifera indica*, extrato de Shilajit e extrato de *Saussurea lappa*. Os resultados demonstraram que houve recidivas no tratamento feito exclusivamente pela via tópica e que no grupo tratado concomitantemente por via oral os resultados não demonstraram recidivas.

Embora os animais tenham se apresentado clinicamente melhores em relação ao dia zero e até mesmo os animais do grupo controle, os resultados do presente estudo demonstram que o nim na concentração de 10%, aplicado a cada sete dias ou diariamente por um período de trinta dias não são capazes de controlar o parasitismo causado por *D. canis* em cães.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Das S.S. Efficacy of Pestoban aerosol spray in treatment of canine demodicosis. *Journal of Veterinary Parasitology*, 7(1):67-69, 1993.
- Das S.S. & Bhatia B.B. Comparative therapeutic evaluation of Ectozee aerosol spray and Betnovate-N against mite causing canine dermatitis. *Indian Journal of Indigenous Medicine*, 10(1):9-101, 1993.
- Ghubash R. Parasitic miticidal therapy. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 21(3):135-144, 2006.
- Guimarães J.H., Tucci E.C. & Barros-Battesti D.M. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*. 1 ed. Plêiade/FAPESP, São Paulo, 2001. 218p.
- Mueller R.S. Treatment protocols for demodicosis: an evidence-based review. *Veterinary Dermatology*. 15:75-89, 2004.
- Pathak K.M.L. & Shukla R.C. Efficacy of AV/EPP/14 (herbal ectoparasiticide) against canine demodicosis. *Journal of Veterinary Parasitology*, 12(1):510-511, 1998..
- Roy S. & Roy M. Therapeutic evaluation of herbal formulations against canine demodicosis. *Indian Veterinary Journal*. 85(6):672-673, 2008.
- Santarem V.A. Demodicose canina: revisão. *Revista Clínica Veterinária*, 69:86-98, 2007.
- Tripathy S.B., Tripathy S.N. & Das P.K. Studies on the therapeutic efficacy of himax (lotion) on sarcoptic mange of goat and dog. *Indian Journal of Indigenous Medicine*, 5(1):19-26, 1988.