

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ATIVIDADE REPELENTE E CARRAPATICIDA DE COMPOSTOS
DERIVADOS DO ÓLEO DE COCO CONTRA *Amblyomma sculptum***

Mayara Macêdo Barrozo Santos
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lígia Miranda Ferreira Borges

GOIÂNIA
2021



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES
E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

☒ Dissertação ☐ Tese

2. Nome completo do autor

Mayara Macêdo Barrozo Santos

3. Título do trabalho

ATIVIDADE REPELENTE E CARRAPATICIDA DE COMPOSTOS DERIVADOS DO ÓLEO DE COCO CONTRA *Amblyomma sculptum*

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento ☒ SIM ☐ NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
- b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por Ligia Miranda Ferreira Borges, Professor do Magistério Superior, em 28/04/2021, às 11:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por MAYARA MACEDO BARROZO SANTOS, Discente, em 28/04/2021, às 17:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2031529 e o código CRC 63CADD69.

MAYARA MACÊDO BARROZO SANTOS

**ATIVIDADE REPELENTE E CARRAPATICIDA DE COMPOSTOS
DERIVADOS DO ÓLEO DE COCO CONTRA *Amblyomma sculptum***

Trabalho apresentado junto ao Programa de Pós-
Graduação em Ciência animal
Nível: Mestrado

Área de concentração:

Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de alimentos

Linha de pesquisa:

Parasitologia e doenças parasitárias dos animais de
companhia, produção e selvagens

Orientadora:

Prof^a. Dr^a Lígia Miranda Ferreira Borges - IPTSP/UFG

Comitê de orientação:

Prof^a. Dr^a Viviane Zeringóta Rodrigues Cotta-UFMT

Prof^a. Dr^a Caio Márcio de Oliveira Monteiro -
IPTSP/UFG

GOIÂNIA

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do
Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Barrozo, Mayara Macêdo
ATIVIDADE REPELENTE E CARRAPATICIDA DE COMPOSTOS
DERIVADOS DO ÓLEO DE COCO CONTRA *Amblyomma sculptum*
[manuscrito] / Mayara Macêdo Barrozo. - 2021.
f.

Orientador: Profa. Dra. Lígia Miranda Ferreira Borges; co
orientador Viviane Zeringóta Rodrigues Cotta; co-orientador Caio
Márcio de Oliveira Monteiro.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola
de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em
Ciência Animal, Goiânia, 2021.

Bibliografia. Anexos.

Inclui fotografias, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. ácidos graxos. 2. bioensaios in vitro. 3. carrapato-estrela. 4.
fitoterapia. 5. repelência. I. Borges, Lígia Miranda Ferreira, orient. II.
Título.

CDU 639.09

03/03/2021

SEI/UFG - 1903265 - Ata de Defesa de Dissertação



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 570 da sessão de Defesa de Dissertação de Mayara Macêdo Barrozo Santos, que confere o título de Mestra em Ciência Animal, na área de concentração em Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de Alimentos.

Aos três dias do mês de março de dois mil e vinte e um a partir das 09h00min, por meio de videoconferência, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada "Avaliação da atividade repelente e carrapaticida de compostos derivados do óleo de coco contra *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888". Os trabalhos foram instalados pelo(a) Orientador(a), Prof.ª Dr.ª Lígia Miranda Ferreira Borges (IPTSP/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Prof.ª Dr.ª Lorena Lopes Ferreira (UFMG), membro titular externo; Prof. Dr. Éverton Kort Kamp Fernandes (IPTSP/UFG), membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do trabalho: 'conforme explicitado abaixo'. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido a candidata aprovada pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Prof.ª Dr.ª Lígia Miranda Ferreira Borges, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos três dias do mês de março de dois mil e vinte e um.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

ATIVIDADE REPELENTE E CARRAPATICIDA DE COMPOSTOS DERIVADOS DO ÓLEO DE COCO CONTRA *Amblyomma sculptum*



Documento assinado eletronicamente por Lígia Miranda Ferreira Borges, Professor do Magistério Superior, em 03/03/2021, às 11:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Éverton Kort Kamp Fernandes, Professor do Magistério Superior, em 03/03/2021, às 11:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Lorena Lopes Ferreira, Usuário Externo, em 03/03/2021, às 11:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orcao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1903265 e o código CRC E5ADB531.

Referência: Processo nº 23070.003503/2021-41

SEI nº 1903265

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo encorajamento quando a pós-graduação era ainda apenas uma idealização. Pela força nos momentos em que pensamentos de desistência e incapacidade insistiam em me amedrontar. Pela companhia desde o ato da matrícula até cada processo desafiador de escrita.

Ao meu amado marido, Felipe Santos Farias, pela compreensão, apoio e suporte durante todo o curso. Sem você seria tudo mais difícil.

Aos meus pais, Aécio Domingos Barrozo e Maria Edileusa de Macêdo Barrozo pela base familiar, amor incondicional e principalmente pelo exemplo de esforço, trabalho, superação, caráter e dedicação a toda atividade que se propõem em fazer.

A minha querida irmã Lays Macêdo Barrozo, que me sustentou no momento mais desafiador da pós-graduação. Sem você, provavelmente, não estaria redigindo esses agradecimentos agora. Muito obrigada.

Ao meu querido irmão Octávio Macêdo Barrozo, por ser um dos meus maiores incentivadores. Esse título e todos os avanços profissionais é por você também.

Ao amigo Nélio Roberto de Moraes Júnior, que foi meu braço direito na execução dos meus experimentos.

Aos amigos e colegas, Helton Freires Oliveira, Eduardo Nascente, Luan Elias, Lucianne Cardoso, Warley Vieira de Freitas, Luiza de Paula, Tainá Gottschalk Andrade, Aline Oliveira de Magalhães, Diego Araújo e Sarah Rodrigues Chagas, que fizeram a diferença e tornaram essa caminhada mais leve e valiosa.

A toda equipe do Laboratório de Ecologia Química de Carrapatos (LEQC) do Centro de Parasitologia Veterinária (CPV), da Universidade Federal de Goiás (UFG), por toda ajuda no desenvolvimento deste trabalho. Em especial a Joelma Gomes de Oliveira, Natânia Carvalho e Ariele Campos.

A Beatriz Rodrigues de Barcelos, ao professor Dr. Matias Pablo Juan Szabó e equipe do Laboratório de Ixodologia (LABIX) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), por todo apoio e suporte.

A profa. Dra. Lígia Miranda Ferreira Borges pela confiança e por possibilitar a realização desse estudo pela colaboração que mantêm com o Dr. Junwei Jerry Zhu, vinculado ao Departamento de agricultura da Universidade de Nebraska dos Estados Unidos, a quem estendo meus agradecimentos.

A profa. Dra. Viviane Zeringóta Rodrigues Cotta, pela oportunidade, acolhimento, confiança, incentivo, suporte, ensinamentos e orientação. Serei eternamente grata.

A Capes pela concessão da bolsa.

A Universidade Federal de Goiás (UFG) e ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal (PPGCA) pela oportunidade de aprimoramento profissional e intelectual.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS	xiv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 <i>Amblyomma sculptum</i>	3
2.1.1 Taxonomia e distribuição	3
2.1.2 Importância, hospedeiros e ciclo de vida.....	3
2.1.3 Controle	5
2.2 Repelentes.....	6
2.3 Fitoterapia.....	8
2.3.1 Ação acaricida contra carrapatos.....	9
2.3.2 Ação repelente contra carrapatos.....	9
2.4 Derivados de óleo de coco.....	14
3. OBJETIVOS.....	16
3.1 Objetivo geral	16
3.2 Objetivos específicos.....	16
4. REFERÊNCIAS	17
 CAPÍTULO 2 - ATIVIDADE REPELENTE E ACARICIDA DE ÁCIDOS DERIVADOS DO ÓLEO DE COCO CONTRA <i>Amblyomma sculptum</i>	 27
RESUMO	28
ABSTRACT	29
2.1 Local de realização dos experimentos	31
2.2 Obtenção dos carrapatos.....	31
2.3 Obtenção e diluição dos compostos	31
2.4 Triagem das substâncias	32
2.5 Teste de repelência	33

2.7 Análise estatística	35
3. RESULTADOS	35
3.1 Triagem das substâncias	35
3.2 Teste de repelência	36
3.3 Teste de pacote de larvas	37
4. DISCUSSÃO	39
5. CONCLUSÕES	42
REFERÊNCIAS	43
 CAPÍTULO 3	 46
CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
ANEXO	48

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Bioensaio de repelência de ninfas de *Amblyomma sculptum* (A) Bancada de ensaio *in vitro* mostrando a distribuição das placas de Petri que serviram de arena. (B) Detalhe da arena (placa de Petri) montada, o lado esquerdo da arena contém papel filtro tratado com a substância teste e o lado direito contém papel filtro com solvente (etanol). Para controles, ambos os lados contêm papel filtro não tratado. E o outro controle contêm lado esquerdo tratado com etanol e lado direito com papel filtro sem tratamento 34
- FIGURA 2 - Teste de pacote de larvas: (A) Larvas não alimentadas sendo colocadas no centro de papel filtro com dimensão 6 cm x 6 cm; (B) Papel filtro fechado nas laterais com cliques binder; (C) Papel filtro sendo tratado com 90 µL da solução testada em cada lado; (D) Contagem do número de larvas vivas e mortas com a utilização de bomba de vácuo... 35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Repelentes naturais e sintéticos já comercializados ou em desenvolvimento.....	7
TABELA 2 - Espécies de plantas recentemente testadas quanto ao seu potencial acaricida em espécies de carrapato	10
TABELA 3 - Espécies de plantas recentemente testadas quanto ao seu potencial repelente em espécies de carrapatos.....	12
TABELA 4 - Percentual médio de repelência de ninfas de <i>Amblyomma sculptum</i> avaliadas frente a compostos de coco (na concentração de 10%, exceto o ácido graxo livre em formulação de lavanda, que foi usado sem diluição) em ensaio de placa de Petri modificado (Média $\pm$ erro padrão)	36
TABELA 5 - Percentual médio de repelência de ninfas não alimentadas de <i>Amblyomma sculptum</i> por compostos de óleo de coco (na concentração de 10%) em ensaio de placa de Petri modificado, no intervalo de tempo de um minuto a 168h.....	37
TABELA 6 - Atividade carrapaticida (%) de diferentes concentrações de compostos derivados de óleo de coco, em solução etanólica, sobre larvas não alimentadas de <i>Amblyomma sculptum</i> , sob condições de laboratório (27°C e UR>80 $\pm$ 5%). (Média $\pm$ desvio padrão).....	38

RESUMO

Amblyomma sculptum pode parasitar diversos mamíferos, incluindo humanos, e é o principal vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii* no Brasil, agente etiológico da febre maculosa brasileira. Diversos estudos vêm sendo realizados com produtos de origem vegetal para controle de carrapatos. Além disso, o uso de repelentes é uma importante ferramenta para evitar infestações. O presente estudo teve como objetivo avaliar a repelência de ninfas não alimentadas de *A. sculptum* frente a substâncias derivadas de óleo de coco (éster metílico de ácido dodecanóico- C₁₂; éster metílico de ácido decanóico- C₁₀; e ácido graxo livre de coco em formulação de óleo de lavanda) e óleo de catnip (*Nepeta cataria*); por meio de bioensaios de placa de Petri modificado e, avaliar a atividade carrapaticida dessas substâncias por meio do teste de pacote de larvas. Para o teste de placa de Petri, um semicírculo de papel filtro contendo a substância a ser testada na concentração de 10% diluída em etanol e outro semicírculo contendo o solvente (etanol), foram posicionadas dentro da placa; seis ninfas não alimentadas foram colocadas no centro de cada placa e sua localização foi avaliada aos 1, 3, 5, 10, 15 e 30 minutos e às 24, 48, 72, 96 e 168 horas após o início do teste. Para o teste de pacote de larvas as substâncias foram utilizadas em cinco concentrações (2,5; 5; 10; 15 e 20 mg/mL) sobre larvas não alimentadas de *A. sculptum* para avaliação de mortalidade após 24 horas do tratamento. Como resultado, todas as substâncias apresentaram repelência, sendo que o ácido graxo livre de óleo de coco conferiu repelência por 7 dias, enquanto o óleo de *N. cataria* e o éster metílico de C₁₀ apresentaram repelência por 4 e 3 dias, respectivamente. A concentração do éster metílico de C₁₂, efetiva contra mais de 93% das larvas testadas, foi de 15 mg/mL e a concentração, dessa mesma substância, de 20mg/mL conferiu 100% de mortalidade. Assim, nossos resultados indicam que compostos derivados do óleo de coco possuem efeito repelente e carrapaticida sobre fases imaturas de *A. sculptum* e podem ser formulados para proteger humanos e outros animais de infestação, bem como contra patógenos transmitidos por essa espécie de carrapato.

Palavras-chave: ácidos graxos, bioensaios *in vitro*, carrapato-estrela, fitoterapia, repelência

ABSTRACT

Amblyomma sculptum can parasitize several mammals, including humans, and is the main vector of the *Rickettsia rickettsii* bacterium in Brazil, the etiological agent of Brazilian spotted fever. Several studies have been carried out with products of plant origin to control ticks. In addition, the use of repellents is an important tool to prevent infestations. The present study aimed to evaluate the repellency of unfed nymphs of *A. sculptum* against substances derived from coconut oil (C12 dodecanoic acid methyl ester; C10 decanoic acid methyl ester; and coconut free fatty acid in lavender oil formulation) and catnip oil (*Nepeta cataria*); through modified Petri dish bioassays and, to evaluate the tick activity of these substances by means of the larval packet test. For the Petri dish test, a semicircle of filter paper containing the substance to be tested at a concentration of 10% diluted in ethanol and another semicircle containing the solvent (ethanol), were placed inside the dish; six non-fed nymphs were placed in the center of each plate and their location was assessed at 1, 3, 5, 10, 15 and 30 minutes and at 24, 48, 72, 96 and 168 hours after the start of the test. For the larval packet test, the substances were used in five concentrations (2.5; 5; 10; 15 and 20 mg / mL) on non-fed larvae of *A. sculptum* to assess mortality after 24 hours of treatment. As a result, all substances showed repellency, with the fatty acid free of coconut oil conferring repellency for 7 days, while *N. cataria* oil and C10 methyl ester showed repellency for 4 and 3 days, respectively. The concentration of the C12 methyl ester, effective against more than 93% of the tested larvae, was 15 mg / mL and the concentration, of that same substance, of 20mg / mL conferred 100% mortality. Thus, our results indicate that compounds derived from coconut oil have a repellent and tick effect on immature stages of *A. sculptum* and can be formulated to protect humans and other animals from infestation, as well as against pathogens transmitted by this species of tick.

Keywords: fatty acids, *in vitro* bioassays, star tick, herbal medicine, repellency

CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO GERAL

De importância em saúde pública e veterinária no Brasil, os carrapatos do complexo *Amblyomma cajennense* são reconhecidos como espécies de maior distribuição entre os estados brasileiros¹. *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 é uma das seis espécies de carrapato que compõem esse complexo^{2,3} e apresenta baixa especificidade em estágios imaturos, sendo capaz de parasitar diversos mamíferos, principalmente capivaras, cavalos, antas e acidentalmente humanos⁴.

Este carrapato é o principal vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii* no país, agente etiológico da febre maculosa brasileira, reconhecida pela alta letalidade em humanos⁵. Isso porque, a alta letalidade está relacionada a falta de um diagnóstico rápido e de um tratamento eficaz imediato, que é muito dificultado devido aos sintomas inespecíficos, e em alguns casos até mesmo inexistentes da doença, podendo chegar a 80% de óbitos dos casos não tratados adequadamente⁶. Em cavalos, além de danos físicos ao couro, o carrapato pode ocasionar anemia quando há alta taxa de infestação⁴. Os estágios imaturos desses ixodídeos podem ocasionar lesões nos locais de fixação em humanos, podendo causar reações alérgicas devido a inoculação de saliva durante a alimentação. Ao contrário dos estágios adultos, o tamanho reduzido de larvas e ninfas dificulta sua localização e retirada do corpo⁷.

O método de controle mais utilizado atualmente desse carrapato, parasitando equinos, baseia-se na pulverização de acaricidas químicos⁸. No entanto, além das desvantagens de mercado, como preço e disponibilidade, o uso desses produtos pode levar à resistência e toxicidade ambiental e animal. Para humanos há poucos estudos direcionados à repelência de carrapatos, portanto, mais pesquisas são necessárias para encontrar alternativas para o seu controle, como repelentes^{9,10}. No caso dos carrapatos, um repelente pode ser definido como uma substância que induz o movimento do artrópode para longe de sua fonte e evita sua aproximação e fixação no hospedeiro¹¹. Diversas plantas, moléculas sintéticas e substâncias de hospedeiros resistentes ao parasitismo por carrapatos podem atuar como repelentes¹²⁻¹⁴.

O repelente sintético N, N-diethyl-3-metilbenzamida (DEET) é considerado padrão ouro de repelentes¹⁵ e repele uma variedade de espécies de carrapatos^{14,16-18}. Porém seu uso já foi associado a efeitos neurológicos adversos e má formação genética em recém-nascidos^{19,20}. Por isso, diversos produtos de origem natural, como os óleos essenciais de plantas, têm sido descritos como possível alternativa aos compostos sintéticos

comercializados e até mesmo aliados ao uso destes compostos para minimizar sua utilização, como forma de reduzir os impactos negativos na saúde humana e no meio ambiente^{21,22}.

Nesse sentido, a utilização de derivados do óleo de coco para repelência de diversos artrópodes como *Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans*, *Cimex letularius* e *Aedes aegypti* já foi relatada²², sendo também observado por Zhu et al²² que os ácidos graxos do coco desencadearam forte repelência frente às duas espécies de carrapatos avaliadas, *Amblyomma americanum* e *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato. Os ácidos graxos apresentaram repelência superior a 95% em ensaio de papel filtro e superior a 80% em bioensaio de placa de Petri por até sete dias contra *R. sanguineus* s. l., ou seja, estes compostos possuem um alto efeito residual²² e podem ser promissores para controle de outras espécies de ixodídeos. Os ácidos graxos de cadeia média, principais componentes do óleo de coco, apresentam boa disponibilidade e custo de mercado satisfatório²³.

Em avaliação realizada para verificar a repelência de derivados de óleo de coco contra moscas *S. calcitrans*, Zhu et al.²² utilizaram o óleo de catnip como controle positivo por ser considerado um dos mais fortes repelentes, contra esses artrópodes, identificados até agora²⁴. Contra carrapatos, há relato de ação repelente contra *Rhipicephalus appendiculatus*²⁵.

Dessa forma, a presente proposta tem como intuito avaliar o potencial repelente e carrapaticida *in vitro* de ácidos graxos derivados de óleo de coco e óleo de catnip (*Nepeta cataria*) contra ninfas e larvas não alimentadas de *A. sculptum*, visto que estas substâncias apresentaram potencial repelente contra *A. americanum* e *R. sanguineus* s.l., e poderiam ser aplicadas em futura estratégia de controle.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Amblyomma sculptum*

2.1.1 Taxonomia e distribuição

Recentemente, após estudo de compatibilidade reprodutiva de cruzamentos e análises filogenéticas de carrapatos colhidos em diferentes países, desde o Sul dos Estados Unidos até o Sul da América do Sul, constataram consistentemente que *A. cajennense* é monofilética e separada em seis unidades genéticas que acompanham essas regiões². Nesse sentido, após observações de congruência entre os achados morfológicos, moleculares e biológicos, a taxonomia da espécie *Amblyomma cajennense* foi redefinida^{2,3,26}, passando a ser considerado como um complexo de seis espécies, *Amblyomma cajennense* sensu lato, composto por *Amblyomma cajennense* sensu stricto (s.str.) Fabricius, 1787, *Amblyomma interandinum* Beati, Nava e Cáceres, 2014, *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, *Amblyomma patinoi* Labruna, Nava e Beati, 2014, *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 e *Amblyomma tonelliae* Nava, Beati e Labruna, 2014^{2,3}.

Esse complexo ocorre nas Américas, com ampla distribuição no Brasil onde a espécie predominante é *A. sculptum*, distribuída nas regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste, e em parte da região Sul do país^{3,27}. Compreende biomas inteiros de Cerrado e Pantanal, parte da Caatinga e algumas áreas do bioma da Mata Atlântica²⁷. Nos estados de São Paulo e Minas Gerais, os registros de *A. sculptum* no bioma da Mata Atlântica são em áreas onde a vegetação foi degradada²⁷. Os fatores abióticos dessas áreas podem estar relacionados a esses registros, pois reproduzem as condições do bioma Cerrado, onde há a prevalência de *A. sculptum* tanto em áreas naturais quanto em áreas degradadas²⁷.

2.1.2 Importância, hospedeiros e ciclo de vida

Durante sua fixação e repasto sanguíneo, os carrapatos podem causar danos diretos ao seu hospedeiro como alergia e irritação, e danos indiretos, pela transmissão de agentes patogênicos. *Amblyomma sculptum* apresenta importância veterinária e em saúde pública no Brasil⁴, onde a maioria dos casos de febre maculosa é relacionada ao ciclo de transmissão de *Rickettsia rickettsii* por esse ixodídeo²⁸, além de ter sido relatado como possível transmissor de *Theileria equi* para equinos em regiões no Nordeste, Sudeste e Sul do país devido a presença de *A. sculptum* associada com animais positivos para *T. equi*²⁹⁻³⁴. Porém o papel desta espécie na transmissão de *T. equi* ainda é controverso, visto que em alguns estudos, não houve infecção de ninfas que se alimentaram em cavalos infectados

naturalmente ou artificialmente com o protozoário²⁹. Em contrapartida já foi relatado que *A. cajennense*, transmitiu *T. equi* para equino não infectado no Texas, porém os ixodídeos dessa região foram reclassificados como *A. mixtum*³⁵. Por isso, até o momento não se pode afirmar a capacidade do *A. sculptum* em ser vetor competente deste patógeno.

A. sculptum é um ixodídeo heteroxeno, possui baixa especificidade parasitária em seus estágios imaturos, de larvas e ninfas, podendo parasitar uma variedade de espécies domésticas e silvestres incluindo aves, répteis e mamíferos como ruminantes, canídeos, equídeos, suínos, antas, búfalos, capivaras, cotias, gambás, galinhas e perus⁴. Podendo ainda parasitar humanos, e os tamanhos reduzidos desses estágios imaturos, dificultam a localização e retirada do ixodídeo do corpo⁷. Vale ressaltar que todos os estágios parasitários, principalmente a fase adulta, tem preferência em parasitar antas, equinos e capivaras³⁶.

Por se tratar de um ixodídeo heteroxeno, *A. sculptum*, necessita buscar o hospedeiro nos estágios de larva, ninfa e adulto para realizar o repasto sanguíneo, se desprendendo ao solo, após o ingurgitamento, onde ocorre a mudança de estágio, ecdise ou ovipostura^{37,10}. As fêmeas ingurgitadas, denominadas teleóginas, caem no solo e fazem a oviposição e em torno de 20 dias pós postura dos ovos ocorre a eclosão das larvas, dando continuidade ao ciclo de vida desses artrópodes^{8,38}. As larvas permanecem à espera do hospedeiro nas pontas das folhas de arbustos e gramíneas (geotropismo negativo), em estratégia de emboscada. Uma vez no ápice, estendem seu primeiro par de patas para detectar a presença do hospedeiro por estímulos como voláteis, sombreamento e vibração do ambiente, fixando-se ao animal para realizar o repasto sanguíneo, que dura aproximadamente de três a seis dias. Após finalizar o período de alimentação e ficarem ingurgitadas, as larvas se desprendem do hospedeiro retornando ao solo à procura de um microambiente favorável para realizar a ecdise em ninfa^{8,38}.

As ninfas por sua vez, podem realizar a busca ativa, percorrendo curtas distâncias até o hospedeiro, ou realizar a emboscada, permanecendo também nas pontas das vegetações³⁹. As ninfas permanecem no hospedeiro até o ingurgitamento por cinco a sete dias e caem ao solo a procura de um ambiente favorável para a muda em adultos. Os adultos, quando aptos a se alimentarem, apresentam comportamento semelhante ao descrito para ninfas, podendo realizar busca ativa ou de emboscada, fazendo o repasto sanguíneo por sete a 10 dias e realizam a cópula sobre o hospedeiro. Quando teleóginas, se desprendem do hospedeiro para a oviposição dando continuidade ao ciclo^{8,38}. A duração média do ciclo de vida desses artrópodes é de 93 a 95 dias em laboratório⁴⁰, e em vida livre varia de acordo com a disponibilidade de hospedeiro, vegetação e condições climáticas, podendo chegar há um ano

impulsionado por uma diapausa comportamental das larvas ^{41,42}. Larvas e ninfas ocorrem principalmente no período seco do ano, de abril até setembro e os adultos, ocorrem principalmente em períodos mais quentes e úmidos, de outubro a março ⁴²⁻⁴⁴.

2.1.3 Controle

Embora, até o momento não há relatos de resistência de *A. sculptum* a nenhum composto químico disponível no mercado, o controle desses carrapatos ainda é um desafio, já que hospedeiros selvagens, como a capivara, são responsáveis por manter altos índices populacionais desse carrapato, principalmente em áreas de risco para febre maculosa ^{45,28}. Para equinos, poucos carrapaticidas são recomendados e os produtos que estão disponíveis geralmente contêm cipermetrina, permetrina, piretrinas ou butóxido de piperonila. Sendo a eficácia desses produtos alterada pelas horas, poeira, sujeira e umidade e o controle ambiental de carrapatos por meio de acaricidas é provavelmente ineficaz a longo prazo, oneroso e geralmente tóxico para as espécies selvagens ⁴⁶.

O controle estratégico de *A. sculptum*, por meio de banhos carrapaticidas em equinos demonstra-se efetivo quando realizado em períodos de predominância de larvas e ninfas e a cada sete dias, que é o período aproximado de alimentação desses estágios, chegando a aproximadamente 60% de redução da carga parasitária após o programa de controle ⁴⁷. Em estudo realizado em 2019, utilizando o método de controle integrado de carrapatos, com equinos tratados com acaricidas à base de deltametrina, em fazenda com presença de capivaras, observou-se em dois anos, diminuição de todos os estágios, sendo que níveis médios de infestação estimados para ninfas nesses locais foram próximos a zero ⁴⁸.

Quando se reporta aos estudos de prevenção à transmissão de patógenos para humanos por artrópodes hematófagos, o uso de repelentes tem sido descrito como uma das formas mais eficazes ⁴⁹. Dentre eles, destaca-se o DEET, que tem sido considerado padrão ouro de repelentes por muitas décadas, eficaz contra uma variedade de espécies de insetos rastejantes e voadores além de pulgas e carrapatos ^{49,50}.

A efetividade desse composto contra *A. sculptum* já foi demonstrada, apresentando 90% de repelência em todas as concentrações testadas e 95% de repelência por mais de cinco horas na maior concentração. Neste caso, a concentração do composto efetiva contra 50% das ninfas testadas (CE50) foi de 0,006 mg.cm⁻² e a CE99 foi de 0,036 mg.cm⁻² ¹⁸. Sendo estas concentrações mais baixas do que as observadas anteriormente em outras espécies de carrapatos como *A. americanum* ^{51,52} e *Ixodes scapularis* ^{53,54}. Recentemente,

Ferreira et al.⁵⁵ usando bioensaio de placa de Petri, constataram que adultos de *A. sculptum* são mais sensíveis ao DEET do que carrapatos *R. sanguineus s.l.*

No entanto, embora o uso de repelentes a base de DEET não apresente uma preocupação significativa para a saúde humana quando usado conforme as instruções^{56,57}, seu uso já foi associado a efeitos neurológicos adversos e má formação genética em recém-nascidos^{19,20}. Por isso, produtos derivados de plantas, como os óleos essenciais, têm sido descritos a fim de serem usados mutuamente com compostos sintéticos comercializados ou até mesmo como uma possível alternativa a eles^{21,22}.

2.2 Repelentes

O uso de repelentes e de roupas de proteção, são descritos como as medidas mais simples e eficazes na prevenção de picadas de carrapatos⁵⁸. Repelentes de artrópodes são substâncias químicas que induzem movimentos de um artrópode para longe de sua fonte, evitando assim, sua aproximação e fixação no hospedeiro¹¹. Essa reação pode ser devido ao olfato ou quimiorrecepção tátil, onde a maioria dos ensaios de repelência para carrapatos não discriminam entre repelência devido ao olfato e quimiorrecepção tátil⁵³.

Uma grande variedade de plantas e moléculas sintéticas além de substâncias produzidas por hospedeiros de carrapatos podem atuar como repelentes¹²⁻¹⁴. O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) (2017) recomenda o uso de repelentes contendo aproximadamente 20% de DEET, picaridina (ácido 1-piperidinocarboxílico) ou IR3535 (3-[N- butil- N- acetil] ácido -aminopropiônico, éster etílico) na pele exposta, juntamente com o uso de produtos contendo permetrina para tratar roupas e equipamentos, bem como roupas disponíveis comercialmente pré-tratadas com permetrina, icaridina ou compostos relacionados^{59,60}.

Pages et al.⁶¹ realizaram um levantamento dos repelentes sintéticos e naturais mais importantes já comercializados ou em processo de desenvolvimento atual, de uso humano contra carrapatos, sendo que se pode destacar o DEET por ser utilizado desde 1953, a permetrina desde 1979 e o 2-undecanona BioUD ® desde 2007 (Tabela 1).

TABELA 1: Repelentes naturais e sintéticos já comercializados ou em desenvolvimento

Moléculas	Desenvolvimento	Concentração	Desvantagens	Vantagens	Observações
Repelentes sintéticos registrados nas agências dos Estados Unidos, Canadá e Europa					
DEET	1953	10–50%	Oleoso, altera plásticos, irritante para os olhos	Toxicologia bem conhecida; barato, repelente de amplo espectro	DEET 33% = polímero de liberação lenta = Ultrathon®
IR3535 ou EBAAP	1975 (Merck)	20-35%	Baixa repelência em baixas concentrações	Seguro, bom histórico	Seria o melhor em carrapatos; estrutura relacionada à beta-alanina
Produtos derivados de plantas mais eficazes comercializados					
Picaridina ou KBR3023 (derivado de piperidina) BAYREPEL®	1980 (Bayer)	20-30%	Não é tão eficiente em carrapatos	Amplo espectro, não altera plásticos, baixo odor	N/A
<i>p</i> -mentano-3,8-diol (Quwenling) Citriondiol®	N/A	20-30%	Contém citral (irritante para a pele), irritante para os olhos	N/A	Eucalipto: <i>Corymbia citriodora</i>
Permetrina (piretrinóides)	1979	0,50%	Mais tóxico que repelente, não deve ser aplicado na pele	N/A	Repelente de roupas, repelente de revestimento de polímero
Composto repelente de carrapatos mais estudado derivado de plantas					
Carvacrol	N/A	N/A	N/A	N/A	Óleo de toranja e cedro do Alasca
1-alfa-terpineol	N/A	N/A	N/A	N/A	<i>Cleome monophylla</i> , <i>Tanacetum vulgare</i>
2-undecanona BioUD®	2007	7,75%	N/A	N/A	<i>Lycopersicon hirsutum</i> , tomate selvagem
Nootkatone	N/A	0,0458 (peso/volume)	N/A	N/A	<i>Chamaecyparis nootkatensis</i> - cedro amarelo do Alasca
Ácido dodecanóico (DDA), Contrazeck®	N/A	10%	N/A	N/A	Óleo de coco e palmiste

N/A: não se aplica

Fonte: Adaptado de Pages et al.⁶¹

2.3 Fitoterapia

Com o intuito de reduzir os impactos negativos na saúde humana, animal e no meio ambiente, diversos produtos de base botânica, como os óleos essenciais de plantas, têm sido descritos como possível alternativa aos compostos sintéticos comercializados^{21,22,12,62-65}, pois possuem complexas propriedades acaricidas e repelentes contra carrapatos^{12,66}. Recentemente foram avaliadas 119 espécies de plantas pertencentes a 47 famílias, quanto a sua ação repelente e acaricida. Os óleos essenciais e extratos obtidos de várias partes de plantas apresentaram efeitos promissores contra carrapatos, com ação tóxica, repelente ou como inibidores da reprodução⁶⁷.

Embora os produtos de base botânica sejam considerados mais seguros em comparação com acaricidas sintéticos⁶⁸⁻⁷⁰, ainda são poucos os estudos voltados para taxa de dosagem, ação residual, vida útil e efeitos colaterais de acaricidas e repelentes botânicos⁶⁷ que são indispensáveis para a viabilização da utilização e aplicação em grande escala, pois, é sabido que alguns produtos derivados de plantas são potencialmente perigosos para humanos e animais^{71,72}, podendo ainda, ter efeitos negativos em organismos não-alvo ou benéficos⁷³⁻⁷⁷.

Atualmente, já existem pesticidas comerciais, em alguns países, a base de óleos essenciais ou de suas moléculas isoladas para controle de diferentes organismos, incluindo insetos e carrapatos⁷⁸⁻⁸⁰. O derivado de *Corymbia citriodora*, Citriodiol®, com 64% de p-mentano-3, 8-diol (PMD)⁸¹; o derivado de *Lycopersicon hirsutum* subsp. glabratum CH Mull (tomate selvagem), BioUD®, composto por 7,75% 2-undecanona; e com 5% de geraniol, o TT-4302 (Guardian®Wilderness; Tyratech, Inc. Morrisville, NC, EUA)^{17,82}, são alguns desses exemplos. E a perspectiva de mercado é de crescimento, estimando-se uma representatividade de 20% do mercado mundial de pesticidas nos próximos anos⁸³.

2.3.1 Ação acaricida contra carrapatos

Os metabólitos secundários produzidos por algumas plantas, como mecanismo de defesa contra condições de estresse biótico e abiótico⁸⁴ podem inibir a alimentação ou a síntese de quitina dos carrapatos, como também, diminuir o crescimento, o desenvolvimento ou a reprodução, afetando seu comportamento sem efeitos adversos em espécies não-alvo⁸⁵⁻⁸⁸. Além disso, alguns extratos de plantas ou fitoquímicos específicos apresentam alta eficácia contra artrópodes resistentes a outros produtos sintéticos por apresentarem mecanismos de ação distintos⁸⁹. Diversos produtos botânicos de diferentes espécies de plantas já foram avaliados quanto à sua atividade acaricida contra carrapatos, e muitos deles vêm apresentando resultados promissores para o controle desses ixodídeos⁶⁷ (Tabela 2).

2.3.2 Ação repelente contra carrapatos

A ação repelente de vários compostos vegetais e óleos essenciais de plantas já foram relatadas contra *R. microplus*, *R. sanguineus* s.l. e *Dermacentor nitens*, por exemplo (Tabela 3)⁶⁷, sendo que a repelência pode variar em função da idade dos carrapatos, duração do teste, metodologia e concentração da substância utilizada^{90,91}. No entanto, todos os óleos essenciais (OE) testados recentemente, mostraram ação repelente eficaz, independentemente da espécie e do estágio de desenvolvimento dos carrapatos. Foi observado que em testes de curto prazo onde o efeito repelente é registrado nos primeiros 15 minutos após a aplicação, concentrações acima de 1% geralmente causam mais de 70% de repelência, com concentração efetiva contra 50% variando mais comumente entre 0,1–0,3 mg / cm², dependendo do OE. A aplicação de OE em concentrações superiores a 10% costuma causar 100% de repelência e quanto mais longo o período de observação (superior a 1 hora), maiores são as doses ou concentrações necessárias para atingir a repelência necessária⁹².

Zhu et al.^{24,93} demonstraram que os óleos essenciais derivados de *Nepeta cataria*, uma espécie de planta da família Lamiaceae, popularmente conhecida como catnip, exibem forte repelência contra as moscas *Stomoxys calcitrans* e *Musca domestica*. Zhu et al.⁹⁴ também relataram que a oviposição de fêmeas e o crescimento estável de larvas de *S. calcitrans*, foram inibidos em substratos de desenvolvimento tratados com óleo de catnip encapsulado. Contra carrapatos, há relato de ação repelente contra *Rhipicephalus appendiculatu*²⁵.

TABELA 2: Espécies de plantas recentemente testadas quanto ao seu potencial acaricida em espécies de carrapato

Família	Espécies de plantas	Produtos	Espécies de carrapatos	Resumo de efeitos / resultados	Referências
Acanthaceae	<i>Andrographis echiioides</i>	Peth, AcOEt, MeOH e Aq Ext	<i>Rhipicephalus microplus</i>	O extrato metanólico apresentou a melhor atividade de larvas (LC ₅₀ = 0,11 mg / mL)	Mathivanan et al. (2018)
Amaryllidaceae	<i>Allium sativum</i>	Aq Ext	<i>Rhipicephalus</i> spp.	Eficácia de 83 e 98% quando aplicado em bovinos a 25% (250 mg / mL) e 50% (500 mg / mL), respectivamente	Mgocheki (2017)
Anacardiaceae	<i>Schinopsis brasiliensis</i>	EtOH Ext	<i>Dermacentor nitens</i>	Eficácia de 76,75 e 78,73% em fêmeas ingurgitadas a 100 e 150 mg / mL no teste de imersão de adultos, respectivamente	Vasconcelos et al. (2018)
	<i>Schinus molle</i>	EO	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato	Concentração de 2% (20 mg / mL) causou 99,31% de mortalidade das larvas. 29,62% de inibição da oviposição e 22,61% de eficiência reprodutiva a 20% (200 mg / mL). 29,62% de inibição da oviposição e 22,61% de eficiência reprodutiva a 20% (200 mg / mL)	Rey-Valeirón et al. (2018)
			<i>Rhipicephalus microplus</i>	Mortalidade de larvas de 100% a 5% (50 mg / mL) de concentração	Rey-Valeirón et al. (2017)
	<i>Sclerocarya birrea</i>	Aq e Aq / EtOH Ext	<i>Rhipicephalus turanicus</i>	0,0 e 13,8% de mortalidade de adultos em teste de toxicidade de contato de 20% (200 mg / mL)	Fouche et al. (2019)
		Ace e EtOH Ext		0,0 e 25,6% de mortalidade de adultos em teste de toxicidade de contato de 20% (200 mg / mL)	Fouche et al. (2017)
		<i>Rhipicephalus microplus</i>	30,7 e 20,8% de mortalidade de larvas no teste larval de 1% (10 mg / mL)	Wellington et al. (2017)	
Annonaceae	<i>Cananga odorata</i>	EO	<i>Ixodes ricinus</i>	Mortalidade ninfa 100% e LC ₅₀ =0,185µL/cm² após 4,5h exposição concentração de 0,4 µL/cm²	Elmhalli et al. (2018)

Extrato (Ext), Óleo essencial (EO), Látex (Lx), Fração (Fn), Flavonóides (Fd), Concentração letal (LC), Concentração efetiva (EC), Concentração suficiente para inibir 90% da eclosão (CI 90), Éter de petróleo (Peth), Metanol (MeOH), Etanol (EtOH), Aquoso (Aq), Acetona (Ace), acetato de etilo (AcOEt), Hexano (Hx), clorofórmio (Chl)

TABELA 2: Espécies de plantas recentemente testadas quanto ao seu potencial acaricida em espécies de carrapato (continuação)

Família	Espécies de plantas	Produtos	Espécies de carrapatos	Resumo de efeitos / resultados	Referências
Apiaceae	<i>Cuminum cyminum</i>	EO	<i>Rhipicephalus microplus</i>	100% de eficácia em fêmeas ingurgitadas e parâmetros reprodutivos a 100 mg / mL no teste de imersão de adultos	Villarreal et al. (2017)
Apocynaceae	<i>Nerium adelfa</i>	MeOH Ext	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato, <i>Dermacentor nitens</i>	Número médio de ovos incubados de <i>R. sanguineus</i> e <i>D. nitens</i> = 1,7 e 0,7, respectivamente	Pinto et al. (2018)
Apocynaceae	<i>Aloe rupestris</i>	Ace e EtOH Ext	<i>Rhipicephalus microplus</i>	23,1 e 1,8% de mortalidade de larvas no teste larval de 1% (10 mg/mL)	Wellington et al (2017)
Asteraceae	<i>Acmella oleracea</i>	EtOH Ext	<i>Amblyomma cajennense</i>	3.1, 6.2 e 12.5 mg/mL causaram um efeito citotóxico no sistema reprodutor de fêmeas no teste de imersão em adultos	Anholeto et al. (2018)
				6,2, 12,5 e 25 mg / mL causaram um efeito citotóxico no sistema reprodutor masculino em teste de imersão em adultos	Anholeto et al. (2017)
	<i>Ageratum conyzoides</i>		<i>Rhipicephalus. microplus</i>	LC ₉₀ = inibição de 8,91% e 90,7% da oviposição e oócitos malformados de fêmeas ingurgitadas no teste de imersão em adultos	Ajith et al. (2019)

Extrato (Ext), Concentração letal (LC), Concentração suficiente para inibir 90% da eclosão (CI 90), Metanol (MeOH), Etanol (EtOH), Acetona (Ace)

Fonte: Adaptado de Nwanad et al. ⁶⁷

TABELA 3: Espécies de plantas recentemente testadas quanto ao seu potencial repelente em espécies de carrapatos

Família	Espécies de plantas	Produtos	Espécies de carrapatos	Resumo de efeitos / resultados	Referências
Apiaceae	<i>Ammi majus</i>	EO	<i>Ixodes ricinus</i>	Atividade repelente de 68,3% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i>	El-Seedi et al. (2017)
	<i>Ammi visnaga</i>			Atividade repelente de 62,4% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i>	El-Seedi et al. (2017)
	<i>Foeniculum vulgare</i>		<i>Ixodes ricinus</i>	Atividade repelente de 70,6% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i>	El-Seedi et al. (2017)
Apocynaceae	<i>Nerium oleander</i>	EO	<i>Ixodes ricinus</i>	Atividade repelente de 60,0% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i>	El-Seedi et al. (2017)
Arecaceae	<i>Cocos nucifera</i>	EO	<i>Amblyomma americanum</i> , <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato	Repelência > 95% quando a concentração estava acima de 0,625% (0,05 mg / cm ²); Repelência entre 84 e 88% da atividade para carrapato marrom	Zhu et al. (2018)
Asteraceae	<i>Anthemis melampodina</i>	EO	<i>Amblyomma. americanum</i>	80% de repelência a 2,5% (25 mg / mL) de concentração	Yusufoglu et al. (2018)
				96,67% de repelência a 2,5% (25 mg / mL) de concentração	Yusufoglu et al. (2018)
	<i>Anthemis scorbicularis</i>			96,67% de repelência a 2,5% (25 mg / mL) de concentração	
	<i>Anthemis scorbicularis</i>				
	<i>Artemisia herba alba</i>		<i>Ixodes ricinus</i>	Atividade repelente de 84,2% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i>	El-Seedi et al. (2017)
	<i>Calendula officinalis</i>	EO	<i>Ixodes ricinus</i>	Atividade repelente de 82,0% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i> . 61,1% na concentração de 6,5 µg / cm ² sob condição de campo	El-Seedi et al. (2017)
	<i>Conyza dioscoridis</i>			Atividade repelente de 94,0% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i> . 61,1% na concentração de 6,5 µg / cm ² sob condição de campo	El-Seedi et al. (2017)
	<i>Matricaria recutita</i>		<i>Ixodes ricinus</i>	Atividade repelente de 40,0% a 1 mg / mL no estudo <i>in vitro</i>	El-Seedi et al. (2017)

Óleo essencial (EO)

TABELA 3: Espécies de plantas recentemente testadas quanto ao seu potencial repelente em espécies de carrapatos (continuação)

Asteracea	<i>Tagetes minuta</i>	EO	<i>Rhipicephalus appendiculatus</i> outras espécies de carrapatos	Atividade repelente acima de 75 e 60% contra adultos de <i>R. appendiculatus</i> e outros carrapatos, respectivamente, em condição de semicampo	Wanzala et al. (2018)
	<i>Tagetes patula</i>	EO e EtOH Ext	<i>Rhipicephalus microplus</i>	99,1 e 100% eficazes em repelir as larvas a 25 mg / mL, respectivamente. Os extratos etanólicos mostraram 98,37% de larvicida (LC ₅₀ = 3,798 mg / mL) e 99,2% de eficácia em fêmeas ingurgitadas (LC ₅₀ = 18,60 mg / mL) na concentração de 100 e 200 mg / mL, respectivamente	Politi et al. (2019)

Extrato (Ext), Óleo essencial (EO), Etanol (EtOH), Concentração letal (LC)

Fonte: Adaptado de Nwanad et al.⁶⁷

2.4 Derivados de óleo de coco

O óleo de coco (*Cocos nucifera*) é composto por 99,9% de ácidos graxos, sendo que 91,9% desses ácidos são saturados, 6,4% são monoinsaturados e 1,5 % são ácidos graxos poliinsaturados⁹⁵. O ácido graxo predominante é o ácido láurico ou dodecanóico (C₁₂), representando cerca de 56% do total⁹⁶. Em análise feita recentemente por Zhu et al.²² os ácidos graxos de cadeia média (C₈ a C₁₂) representaram aproximadamente 70% do perfil de ácidos graxos total, sendo o ácido láurico (C₁₂) responsável por 53% do total desses ácidos.

Os ácidos graxos de cadeia média do óleo de coco virgem apresentam boa disponibilidade natural, pois também podem ser obtidos de outros óleos vegetais e gorduras animais e por isso podem apresentar um custo de mercado satisfatório²³.

Estudos acerca de óleo de coco virgem levaram a relatórios sobre diversas atividades biológicas, como propriedades antimicrobiana, analgésica, antipirética e antiinflamatória *in vivo*⁹⁷⁻⁹⁹. Sua aplicação tópica é efetiva para o tratamento de infecções cutâneas e de doenças da pele com disfunção da barreira de permeabilidade como dermatite atópica e xerose moderada¹⁰⁰⁻¹⁰².

O ácido láurico (C₁₂) é eficaz na inibição do crescimento de patógenos, por ser precursor de monolaurina e tem atividade antifúngica contra biofilme contendo *Candida albicans*¹⁰³. Está associado também com a inibição do crescimento de algumas bactérias em humanos¹⁰⁴, e atualmente é aprovado pela União Europeia para ser usado como biocida e substância ativa na formulação de repelentes para uso humano contra carrapatos (Regulamento de Produtos Biocidas da UE nº 528 / 2012).

Estudos comparativos da repelência de diferentes formulações de ácido dodecanóico (C₁₂) contra carrapatos *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae), demonstraram forte repelência contra ninfas desta espécie (100-81% de proteção) *in vitro* e nas investigações de repelência em humanos mostraram que a formulação mais eficaz à base de 10% desse ácido (~ 1,67 mg / cm² aplicado diretamente na pele) evitou fortemente a fixação de ninfas e adultos por pelo menos 6 horas¹⁰⁵.

A eficácia acaricida de ácido láurico (C₁₂) foi observada contra adultos, ninfas e larvas *in vivo* de *Rhipicephalus microplus*, sendo superior a 95% *in vitro* no teste de imersão de adultos a 40 mg/mL. No teste de determinação de dose (1%) foi observada eficácia de 86% em gado naturalmente infestado por *R. microplus*. Em teste de confirmação de dose, a eficácia do ácido láurico a 1% foi de 53,4% realizado em rebanho com presença desta espécie de carrapato resistente a todos os grupos químicos de acaricidas. A administração tópica nesses animais, não resultou em sinais clínicos dermatológicos, hematológicos ou de intoxicação sistêmica e anomalias bioquímicas, sendo o ácido láurico, considerado seguro para o gado¹⁰⁶.

Já em estudo contra o carrapato da paralisia australiana, *Ixodes holocyclus* (Acari: Ixodidae) o óleo de coco (óleo corporal de coco, Pharma Care Laboratories Pty. Ltd) exibiu uma repelência relativamente alta (70–95%) na concentração de 15–30% preparadas em dissolução em etanol, embora a repelência tenha sido significativamente menor após 1 h com a concentração de 30% ($P = 0,005$). Nesse estudo os tecidos tratados com etanol produziram 0% de repelência¹⁰⁷.

Em 2018 Zhu et al.²² demonstraram que os ácidos graxos de cadeia média (C₈ a C₁₂) derivados de óleo de coco repelem uma ampla gama de artrópodes hematófagos incluindo moscas (*Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans*), percevejo (*Cimex letularius*), mosquito (*Aedes aegypti*) e carrapatos (*Amblyomma americanum* e *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato). Contra *A. americanum*, foi observado repelência superior a 95% em concentrações acima de 0,625% (0,05 mg/cm²) em ensaio de papel filtro. Em bioensaio de placa de Petri foi observado alto efeito residual apresentando repelência superior a 80% por até sete dias contra *R. sanguineus* s.l.²². Em outro estudo com ácido graxo de coco e seus derivados de éster metílico, pesquisadores relataram forte atividade antialimentação contra moscas *S. calcitrans* e repelência espacial ativa além de forte toxicidade. A aplicação tópica em animais, de ácido graxo de coco pulverizável (formulação de 16%) foi também tóxico para outras moscas coexistentes como moscas-dos-chifres (*H. irritans*)¹⁰⁸.

No entanto, até o momento não foram relatadas avaliações de repelência de *A. sculptum* frente a substâncias derivadas de óleo de coco. Dessa forma, evidencia-se a importância de abranger e aprofundar os estudos com derivados de óleo de coco, a fim de identificar compostos botânicos com efeito repelente e/ou carrapaticida contra esses artrópodes, para contribuir com o desenvolvimento de produtos fitoterápicos e assim disponibilizar um método alternativo de controle de transmissão de *R. rickettsii* para humanos.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia de compostos derivados de óleo de coco para o controle de estágios imaturos de *Amblyomma sculptum*.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar *in vitro* a atividade repelente de ácido graxo de coco, ácido láurico ou dodecanóico (C₁₂), ácido cáprico ou decanóico (C₁₀), éster metílico de C₁₂, éster metílico de C₁₀, óleo de catnip (*Nepeta cataria*) e ácido graxo livre de coco em formulação de óleo de lavanda, contra ninfas não alimentadas de *A. sculptum*.
- Avaliar *in vitro* a atividade repelente e longevidade de repelência de éster metílico de C₁₂, éster metílico de C₁₀, óleo de catnip e ácido graxo livre de coco em formulação de óleo de lavanda contra ninfas não alimentadas de *A. sculptum*.
- Avaliar *in vitro* a atividade carrapaticida de éster metílico de C₁₂, éster metílico de C₁₀, óleo de catnip e ácido graxo livre de coco em formulação de óleo de lavanda sobre larvas não alimentadas de *A. sculptum*.

4. REFERÊNCIAS

1. Rodrigues V da S, Pina FTB, Barros JC, Garcia MV, Andreotti R. Carrapato-estrela (*Amblyomma sculptum*): ecologia, biologia, controle e importância Técnico Comunicado. 2015;
2. Beati L, Nava S, Burkman EJ, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Guglielmone AA, et al. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: Phylogeography and evidence for allopatric speciation. BMC Evol Biol [Internet]. 2013 Dec 9 [cited 2020 Oct 15];13(1):267. Available from: <http://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-13-267>
3. Nava S, Beati L, Labruna MB, Cáceres AG, Mangold AJ, Guglielmone AA. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). Ticks Tick Borne Dis. 2014 Apr 1;5(3):252–76.
4. Barros-Battesti DM, Onofrio VC, Labruna MB, Pinter A, Giacomini F, Battesti DM, et al. Carrapatos De Importancia Médico-veterinaria Da Regiao Neotropical: Um Guia Ilustrado Para Identificação De Espécies [Internet]. São Paulo; 2006 [cited 2020 Oct 15]. 223 p. Available from: https://www.researchgate.net/publication/236335148_Carrapatos_De_Importancia_Medico-veterinaria_Da_Regiao_Neotropical_Um_Guia_Ilustrado_Para_Identificacao_De_Especies
5. Gerardi M, Ramírez-Hernández A, Binder LC, Krawczak FS, Gregori F, Labruna MB. Comparative Susceptibility of Different Populations of *Amblyomma sculptum* to *Rickettsia rickettsii*. Front Physiol [Internet]. 2019 May 28 [cited 2020 Nov 9];10(MAY):653. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2019.00653/full>
6. Araújo RP de, Navarro MBM de A, Cardoso TA de O. Febre maculosa no Brasil: estudo da mortalidade para a vigilância epidemiológica. Cad Saúde Coletiva [Internet]. 2016 Sep [cited 2020 Nov 9];24(3):339–46. Available from: <http://sim.saude.gov.br>
7. Camargo-Neves V, Vieira A, Souza C, Labruna M, Mayo R, Souza S. Manual de Vigilância Acarológica do Estado de São Paulo, Brasil [Internet]. 2004 [cited 2020 Nov 9]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/300004914_Manual_de_Vigilancia_Acarologica_do_Estado_de_Sao_Paulo_Brasil
8. Da V, Rodrigues S, Koller WW, Valério M, Jacqueline G, Barros C, et al. Carrapatos em cavalos: *Amblyomma sculptum* e *Dermacentor nitens*.
9. Cançado PHD, Piranda EM, Mourão GM, Faccini JLH. Spatial distribution and impact of cattle-raising on ticks in the Pantanal region of Brazil by using the CO2 tick trap. Parasitol Res [Internet]. 2008 Jul [cited 2020 Nov 9];103(2):371–7. Available from:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18454288/>

10. Sonenshine DE, Roe RM. Biology of Ticks . 2^a. Vol. 1. Oxford University Press;
11. McMahon C, Kröber T, Guerin PM. *In vitro* assays for repellents and deterrents for ticks: Differing effects of products when tested with attractant or arrestment stimuli. Med Vet Entomol [Internet]. 2003 Dec [cited 2021 Feb 14];17(4):370–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14651650/>
12. Benelli G, Pavela R, Canale A, Mehlhorn H. Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases? [Internet]. Vol. 115, Parasitology Research. Springer Verlag; 2016 [cited 2021 Feb 14]. p. 2545–60. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27146901/>
13. de Oliveira Filho JG, Ferreira LL, Sarria ALF, Pickett JA, Birkett MA, Mascarin GM, et al. Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato, infestation of susceptible dog hosts is reduced by slow release of semiochemicals from a less susceptible host. Ticks Tick Borne Dis [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2021 Feb 14];8(1):139–45. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28340941/>
14. Borges LMF, de Oliveira Filho JG, Ferreira LL, Louly CCB, Pickett JA, Birkett MA. Identification of non-host semiochemicals for the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae), from tick-resistant beagles, *Canis lupus familiaris*. Ticks Tick Borne Dis [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2021 Feb 14];6(5):676–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26103925/>
15. Leal WS. The enigmatic reception of DEET - The gold standard of insect repellents [Internet]. Vol. 6, Current Opinion in Insect Science. Elsevier Inc.; 2014 [cited 2021 Feb 14]. p. 93–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25530943/>
16. Carroll JF, Solberg VB, Klun JA, Kramer M, Debboun M. Comparative activity of deet and AI3-37220 repellents against the ticks *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in laboratory bioassays. J Med Entomol [Internet]. 2004 [cited 2020 Nov 9];41(2):249–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15061285/>
17. Bissinger BW, Apperson CS, Sonenshine DE, Watson DW, Roe RM. Efficacy of the new repellent BioUD® against three species of ixodid ticks. Exp Appl Acarol [Internet]. 2009 Jul 13 [cited 2020 Nov 9];48(3):239–50. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-008-9235-x>
18. Soares SF, Braga R de S, Ferreira LL, Louly CCB, Sousa LAD de, Borges LMF. Repellent activity of DEET against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs submitted to different laboratory bioassays. Rev Bras Parasitol Veterinária [Internet]. 2010 [cited 2021 Feb 14];19(01):12–7. Available from: www.cbvpv.com.br/rbpv
19. Schaefer C, Peters PWJ. Intrauterine diethyltoluamide exposure and fetal outcome. Reprod Toxicol [Internet]. 1992 [cited 2020 Nov 3];6(2):175–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1591475/>
20. Dugas J, Nieuwenhuijsen MJ, Martinez D, Iszatt N, Nelson P, Elliott P. Use of biocides and insect repellents and risk of hypospadias. Occup Environ Med [Internet]. 2010 Mar

- 1 [cited 2020 Nov 9];67(3):196–200. Available from: <https://oem.bmj.com/content/67/3/196>
21. Ferreira TP, Cid YP, Cardilo MA, Dos Santos GCM, Avelar BR, Freitas JP, et al. *In vitro* acaricidal activity of *Ocimum gratissimum* essential oil on *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma sculptum* and *Rhipicephalus microplus* larvae. *Rev Virtual Quim.* 2019;11(5):1604–13.
22. Zhu JJ, Cermak SC, Kenar JA, Brewer G, Haynes KF, Boxler D, et al. Better than DEET Repellent Compounds Derived from Coconut Oil. *Sci Rep* [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2020 Oct 22];8(1):14053. Available from: www.nature.com/scientificreports/
23. Gervajio GC. Fatty Acids and Derivatives from Coconut Oil. In: *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* [Internet]. Wiley; 2005 [cited 2020 Nov 9]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/047167849X.bio039>
24. Zhu JJ, Zeng X-P, Berkebile D, Du H-J, Tong Y, Qian K. Efficacy and safety of catnip (*Nepeta cataria*) as a novel filth fly repellent. *Med Vet Entomol* [Internet]. 2009 Sep 1 [cited 2021 Mar 24];23(3):209–16. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2915.2009.00809.x>
25. Birkett MA, Hassanali A, Hoglund S, Pettersson J, Pickett JA. Repellent activity of catmint, *Nepeta cataria*, and iridoid nepetalactone isomers against Afro-tropical mosquitoes, ixodid ticks and red poultry mites. *Phytochemistry.* 2011 Jan 1;72(1):109–14.
26. Labruna MB, Soares JF, Martins TF, Soares HS, Cabrera RR. Cross-mating experiments with geographically different populations of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol.* 2011;54(1):41–9.
27. Martins TF, Barbieri ARM, Costa FB, Terassini FA, Camargo LMA, Peterka CRL, et al. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). *Parasites and Vectors* [Internet]. 2016 Dec 31 [cited 2020 Oct 15];9(1):186. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-016-1460-2>
28. Labruna MB. Ecology of rickettsia in South America. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2009 May 1 [cited 2020 Nov 5];1166(1):156–66. Available from: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1749-6632.2009.04516.x>
29. Ribeiro MFB, da Silveira JAG, Bastos C V. Failure of the *Amblyomma cajennense* nymph to become infected by *Theileria equi* after feeding on acute or chronically infected horses. *Exp Parasitol.* 2011 Aug 1;128(4):324–7.
30. Peckle M, Pires MS, Dos Santos TM, Roier ECR, Da Silva CB, Vilela JAR, et al. Molecular epidemiology of *Theileria equi* in horses and their association with possible tick vectors in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Parasitol Res* [Internet]. 2013 May [cited 2020 Nov 9];112(5):2017–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23474658/>
31. Kerber CE, Labruna MB, Ferreira F, de Waal DT, Knowles DP, Gennari SM.

- Prevalence of equine piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* [Internet]. 2009 [cited 2020 Nov 9];18(4):1–8. Available from: www.cbpv.com.br/rbpv
32. Campos JBV, André MR, Gonçalves LR, Freschi CR, Santos FM, de Oliveira CE, et al. Assessment of equine piroplasmids in the Nhecolândia sub-region of Brazilian Pantanal wetland using serological, parasitological, molecular, and hematological approaches. *Ticks Tick Borne Dis*. 2019 Apr 1;10(3):714–21.
 33. Costa SCL, De Souza Freitas J, Da Silva AN, Lacerda LC, Cruz RDS, Carvalho FS, et al. Frequency and factors associated with *Theileria equi*, *Babesia caballi* and *Trypanosoma evansi* in equids from Bahia (Northeast Brazil). *Rev Bras Parasitol Vet* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2020 Nov 13];28(1):47–58. Available from: www.cbpv.org.br/rbpv
 34. de Sousa KCM, Fernandes MP, Herrera HM, Freschi CR, Machado RZ, André MR. Diversity of piroplasmids among wild and domestic mammals and ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018 Feb 1;9(2):245–53.
 35. Scoles GA, Hutcheson HJ, Schlater JL, Hennager SG, Pelzel AM, Knowles DP. Piroplasmosis Associated with *Amblyomma*. *Emerg Infect Dis*. 2011;17(10).
 36. Labruna MB, Kerber CE, Ferreira F, Faccini JLH, De Waal DT, Gennari SM. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol* [Internet]. 2001 May 9 [cited 2020 Nov 9];97(1):1–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11337122/>
 37. Anderson JF, Magnarelli LA. Biology of Ticks. Vol. 22, Infectious Disease Clinics of North America. Elsevier; 2008. p. 195–215.
 38. Pereira M, Labruna M, Szabó M, Klafke G. *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: biologia, controle e resistência - Marcelo de Campos Pereira, Marcelo Bahia Labruna, Matias Pablo Juan Szabó, Guilherme Marcondes Klafke - Google Livros. São Paulo; 2008.
 39. Ramos V do N, Osava CF, Piovezan U, Szabó MPJ. Ambush behavior of the tick *Amblyomma sculptum* (*Amblyomma cajennense* complex) (Acari: Ixodidae) in the Brazilian Pantanal. *Ticks Tick Borne Dis*. 2017 Jun 1;8(4):506–10.
 40. Sanavria A, Prata M. Methodology for colonization of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) at laboratory. *Rev Bras Parasitol Vet* [Internet]. 1996 [cited 2020 Nov 5];87–90. Available from: http://www.ufrj.br/rbpv/521996/c5287_90.pdf
 41. Labruna MB, Amaku M, Metzner JA, Pinter A, Ferreira F. Larval Behavioral Diapause Regulates Life Cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. *J Med Entomol* [Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2020 Nov 5];40(2):170–8. Available from: <https://academic.oup.com/jme/article-lookup/doi/10.1603/0022-2585-40.2.170>
 42. Guedes E, Leite R. Dinâmica sazonal de estádios de vida livre de *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* (acari: ixodidae) numa área endêmica para febre maculosa, na região de coronel pacheco, minas gerais [Internet]. [cited 2020 Nov 6].

Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=397841469016>

43. Labruna MB, Kasai N, Ferreira F, Faccini JLH, Gennari SM. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol* [Internet]. 2002 Apr 19 [cited 2020 Nov 6];105(1):65–77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11879967/>
44. Oliveira PR, Borges LMF, Leite RC, Freitas CMV. Seasonal dynamics of the Cayenne tick, *Amblyomma cajennense* on horses in Brazil. *Med Vet Entomol* [Internet]. 2003 Dec [cited 2020 Nov 6];17(4):412–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14651655/>
45. Krawczak FS, Nieri-Bastos FA, Nunes FP, Soares JF, Moraes-Filho J, Labruna MB. Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2014 Jan 5 [cited 2020 Oct 28];7(1):7. Available from: <http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-7>
46. Karasek I, Butler C, Baynes R, Werners A. A review on the treatment and control of ectoparasite infestations in equids. *J Vet Pharmacol Ther* [Internet]. 2020 Sep 3 [cited 2020 Oct 22];43(5):421–8. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jvp.12874>
47. Cunha AP Da, Bello ACPDP, Leite RC, Bastianetto E, Ribeiro ACCL, De Freitas CM V., et al. Controle estratégico de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (acari: xodidae) em equinos, Minas Gerais, Brasil - Parte I. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. 2007;16(4):221–8.
48. de Araújo SB, Sampaio PHS, Duarte FC, dos Anjos KA, Fiorini LC, de Matos Godoi FE, et al. Integrated tick control on a farm with the presence of capybaras in a Brazilian spotted fever endemic region. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2019;28(4):671–6.
49. Carroll SP, Fradin MS. Protection From Blood-Feeding Arthropods | Anesthesia Key. In: Auerbach PS, editor. *Wilderness Medicine* [Internet]. 4th ed. 2001 [cited 2020 Oct 22]. p. 754–68. Available from: <https://aneskey.com/protection-from-blood-feeding-arthropods/#bib168>
50. US2408389A - Nu, nu-diethylbenzamide as an insect repellent - Google Patents [Internet]. [cited 2020 Oct 22]. Available from: [https://patents.google.com/patent/US2408389A/en?q=N%2CN-diethylbenzamide+as+an+insect+repellent%2C+US+Patent+2408389+\(1946\)](https://patents.google.com/patent/US2408389A/en?q=N%2CN-diethylbenzamide+as+an+insect+repellent%2C+US+Patent+2408389+(1946)).
51. Schreck CE, Fish' And D, Mcgovern4 TP. Activity Of Repellents Applied To Skin For Protection Against *Amblyomma Americanum* And *Ixodes Scapularis* Ticks (Acari: Ixodidae). Vol. 11, *Journal of the American Mosquito Control Association*. 1995.
52. Solberg VB, Klein TA, McPherson KR, Bradford BA, Burge JR, Wirtz RA. Field evaluation of deet and a piperidine repellent (AI3-37220) against *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* [Internet]. 1995 [cited 2021 Feb 14];32(6):870–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8551512/>
53. Carroll JF, Klun JA, Debboun M. Repellency of deet and SS220 applied to skin

- involves olfactory sensing by two species of ticks. *Med Vet Entomol* [Internet]. 2005 Mar 1 [cited 2021 Feb 14];19(1):101–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.0269-283X.2005.00559.x>
54. Carroll JF, Cantrell CL, Klun JA, Kramer M. Repellency of two terpenoid compounds isolated from *Callicarpa americana* (Lamiaceae) against *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* ticks. *Exp Appl Acarol* [Internet]. 2007 Mar [cited 2021 Feb 14];41(3):215–24. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17380408/>
 55. Ferreira LL, Oliveira Filho JG de, Mascarin GM, León AAP de, Borges LMF. *In vitro* repellency of DEET and β -citronellol against the ticks *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and *Amblyomma sculptum*. *Vet Parasitol* [Internet]. 2017 May 30 [cited 2020 Nov 9];239:42–5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28495195/>
 56. Wylie BJ, Hauptman M, Woolf AD, Goldman RH. Insect Repellants during Pregnancy in the Era of the Zika Virus. In: *Obstetrics and Gynecology* [Internet]. Lippincott Williams and Wilkins; 2016 [cited 2020 Oct 21]. p. 1111–5. Available from: </pmc/articles/PMC5737756/?report=abstract>
 57. José F, Paumgarten R, Fernandes I, Ii D. Repelentes de mosquitos, eficácia para prevenção de doenças e segurança do uso na gravidez Mosquito repellents, effectiveness in preventing diseases and safety during pregnancy. [cited 2020 Oct 21]; Available from: <http://www.visaemdebate.incqs.fiocruz.br/>
 58. Bhate C, Schwartz RA. Lyme disease: Part II. Management and prevention [Internet]. Vol. 64, *Journal of the American Academy of Dermatology*. J Am Acad Dermatol; 2011 [cited 2021 Feb 14]. p. 639–53. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21414494/>
 59. BANKS SD, MURRAY N, WILDER-SMITH A, LOGAN JG. Insecticide-treated clothes for the control of vector-borne diseases: a review on effectiveness and safety. *Med Vet Entomol* [Internet]. 2014 Aug 1 [cited 2021 Feb 14];28(S1):14–25. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/mve.12068>
 60. Abdel-Ghaffar F, Al-Quraishy S, Mehlhorn H. Length of tick repellency depends on formulation of the repellent compound (icaridin = Saltidin®): tests on *Ixodes persulcatus* and *Ixodes ricinus* placed on hands and clothes. *Parasitol Res* [Internet]. 2015 Aug 28 [cited 2021 Feb 14];114(8):3041–5. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-015-4506-z>
 61. Pages F, Dautel H, Duvallet G, Kahl O, De Gentile L, Boulanger N. Tick repellents for human use: Prevention of tick bites and tick-borne diseases [Internet]. Vol. 14, *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. Vector Borne Zoonotic Dis; 2014 [cited 2021 Feb 14]. p. 85–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24410143/>
 62. Adenubi OT, Fasina FO, McGaw LJ, Eloff JN, Naidoo V. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. Vol. 105, *South African Journal of Botany*. Elsevier B.V.; 2016. p. 178–93.
 63. Adenubi OT, Ahmed AS, Fasina FO, McGaw LJ, Eloff JN, Naidoo V. Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review and meta-analysis. Vol. 123, *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V.; 2018. p. 779–

806.

64. Pavela R, Canale A, Mehlhorn H, Benelli G. Application of ethnobotanical repellents and acaricides in prevention, control and management of livestock ticks: A review [Internet]. Vol. 109, Research in Veterinary Science. Elsevier B.V.; 2016 [cited 2021 Feb 14]. p. 1–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27892855/>
65. Benelli G, Pavela R. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks—A systematic review [Internet]. Vol. 179, Acta Tropica. Elsevier B.V.; 2018 [cited 2021 Feb 14]. p. 47–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29287758/>
66. Bissinger BW, Roe RM. Tick repellents: Past, present, and future. Pesticide Biochemistry and Physiology. 2010.
67. Nwanade CF, Wang M, Wang T, Yu Z, Liu J. Botanical acaricides and repellents in tick control: current status and future directions. Vol. 81, Experimental and Applied Acarology. Springer; 2020.
68. Fouche G, Sakong BM, Adenubi OT, Dzoyem JP, Naidoo V, Leboho T, et al. Investigation of the acaricidal activity of the acetone and ethanol extracts of 12 South African plants against the adult ticks of *Rhipicephalus turanicus*. Onderstepoort J Vet Res [Internet]. 2017 Nov 23 [cited 2021 Feb 14];84(1). Available from: </pmc/articles/PMC6238707/>
69. Fouche G, Adenubi OT, Leboho T, McGaw LJ, Naidoo V, Wellington KW, et al. Acaricidal activity of the aqueous and hydroethanolic extracts of 15 South African plants against *Rhipicephalus turanicus* and their toxicity on human liver and kidney cells. Onderstepoort J Vet Res [Internet]. 2019 [cited 2021 Feb 14];86(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31368326/>
70. Politi FAS, Fantatto RR, da Silva AA, Moro IJ, Sampieri BR, Camargo-Mathias MI, et al. Evaluation of *Tagetes patula* (Asteraceae) as an ecological alternative in the search for natural control of the cattle tick *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Acari: Ixodidae). Exp Appl Acarol [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2021 Feb 14];77(4):601–18. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31076974/>
71. Wanzala W. Potential of Traditional Knowledge of Plants in the Management of Arthropods in Livestock Industry with Focus on (Acari) Ticks. Vol. 2017, Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. Hindawi Limited; 2017.
72. Mossa ATH, Mohafrash SMM, Chandrasekaran N. Safety of natural insecticides: Toxic effects on experimental animals. Vol. 2018, BioMed Research International. Hindawi Limited; 2018.
73. Sharma H. Botanical Pesticides: Environmental Impact. 2012.
74. Bernardes RC, Barbosa WF, Martins GF, Lima MAP. The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological hazard to stingless bee *Partamona helleri* (Friese, 1900) queens. Chemosphere. 2018 Jun 1;201:550–6.
75. Tschoeke PH, Oliveira EE, Dalcin MS, Silveira-Tschoeke MCAC, Sarmiento RA,

- Santos GR. Botanical and synthetic pesticides alter the flower visitation rates of pollinator bees in Neotropical melon fields. *Environ Pollut*. 2019 Aug 1;251:591–9.
76. dos Santos MC, Teodoro AV, Menezes MS, Pinto-Zevallos DM, de Fátima Arrigoni-Blank M, Cruz Oliveira EM, et al. Bioactivity of essential oil from *Lippia gracilis* Schauer against two major coconut pest mites and toxicity to a non-target predator. *Crop Prot*. 2019 Nov 1;125:104913.
 77. Pino-Otín MR, Ballesteros D, Navarro E, González-Coloma A, Val J, Mainar AM. Ecotoxicity of a novel biopesticide from *Artemisia absinthium* on non-target aquatic organisms. *Chemosphere*. 2019 Feb 1;216:131–46.
 78. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - A review. Vol. 46, *Food and Chemical Toxicology*. Pergamon; 2008. p. 446–75.
 79. Singh D, Siddiqui MS, Sharma S. Reproduction Retardant and Fumigant Properties in Essential Oils Against Rice Weevil (Coleoptera: Curculionidae) in Stored Wheat. *J Econ Entomol* [Internet]. 1989 Jun 1 [cited 2021 Feb 14];82(3):727–32. Available from: <http://academic.oup.com/jee/article/82/3/727/2215174/Reproduction-Retardant-and-Fumigant-Properties-in>
 80. Singh D, Singh AK. Repellent and insecticidal properties of essential oils against housefly, *Musca domestica* L. *Int J Trop Insect Sci* [Internet]. 1991 Aug [cited 2021 Feb 14];12(04):487–91. Available from: <https://www.cambridge.org/core/journals/international-journal-of-tropical-insect-science/article/abs/repellent-and-insecticidal-properties-of-essential-oils-against-housefly-musca-domestica-l/B3E07480183D5008C1BA2E33C41DEB1F>
 81. Barasa SS, Ndiege IO, Lwande W, Hassanali A. Repellent Activities of Stereoisomers of *p* -Menthane-3,8-diols Against *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol* [Internet]. 2002 Sep 1 [cited 2021 Feb 14];39(5):736–41. Available from: <https://academic.oup.com/jme/article-lookup/doi/10.1603/0022-2585-39.5.736>
 82. Bissinger BW, Kennedy MK, Carroll SP. Sustained efficacy of the novel topical repellent TT-4302 against mosquitoes and ticks. *Med Vet Entomol* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2021 Feb 14];30(1):107–11. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/mve.12151>
 83. Singh D. *Advances in Plant Biopesticides* [Internet]. Singh D, editor. *Advances in Plant Biopesticides*. New Delhi: Springer India; 2014 [cited 2021 Feb 14]. 1–401 p. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-81-322-2006-0>
 84. Arceo-Medina GN, Rosado-Aguilar JA, Rodríguez-Vivas RI, Borges-Argaez R. Synergistic action of fatty acids, sulphides and stilbene against acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* ticks. *Vet Parasitol*. 2016 Sep 15;228:121–5.
 85. Jean Raphaël K. The acaricidal effect of the essential oil of *Ageratum houstonianum* Mill. flowers on ticks (*Rhipicephalus lunulatus*) in Cameroon [Internet]. 2004 [cited 2021 Feb 14]. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/267992924>
 86. Ribeiro VLS, Toigo E, Bordignon SAL, Gonçalves K, von Poser G. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle

- tick *Boophilus microplus*. Vet Parasitol. 2007 Jun 20;147(1–2):199–203.
87. Ribeiro VLS, Avancini C, Gonçalves K, Toigo E, von Poser G. Acaricidal activity of *Calea serrata* (Asteraceae) on *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus sanguineus*. Vet Parasitol. 2008 Feb 14;151(2–4):351–4.
 88. Silva WC, Martins JR de S, Cesio MV, Azevedo JL, Heinzen H, Barros NM de. Acaricidal activity of *Palicourea marcgravii*, a species from the Amazon forest, on cattle tick *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*. Vet Parasitol. 2011 Jun 30;179(1–3):189–94.
 89. Kim S Il, Yi JH, Tak JH, Ahn YJ. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Vet Parasitol. 2004 Apr 15;120(4):297–304.
 90. Bissinger BW, Apperson CS, Watson DW, Arellano C, Sonenshine DE, Roe RM. Novel field assays and the comparative repellency of BioUD®, DEET and permethrin against *Amblyomma americanum*. Med Vet Entomol [Internet]. 2011 Jun 1 [cited 2020 Dec 7];25(2):217–26. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2915.2010.00923.x>
 91. Adenubi OT, McGaw LJ, Eloff JN, Naidoo V. *In vitro* bioassays used in evaluating plant extracts for tick repellent and acaricidal properties: A critical review. Vol. 254, Veterinary Parasitology. Elsevier B.V.; 2018. p. 160–71.
 92. Benelli G, Pavela R. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks-A systematic review. 2017 [cited 2021 Jan 13]; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.12.025>
 93. Zhu JJ, Li AY, Pritchard S, Tangtrakulwanich K, Baxendale FP, Brewer G. Contact and fumigant toxicity of a botanical-based feeding deterrent of the stable fly, *Stomoxys calcitrans* (Diptera: Muscidae). J Agric Food Chem [Internet]. 2011 Sep 28 [cited 2021 Mar 30];59(18):10394–400. Available from: <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
 94. Zhu JJ, Wienhold BJ, Wehrle J, Davis D, Chen H, Taylor D, et al. Efficacy and longevity of newly developed catnip oil microcapsules against stable fly oviposition and larval growth. Med Vet Entomol. 2014;28(2):222–7.
 95. Composition of foods integrated dataset (CoFID) [Internet]. [cited 2021 Feb 14]. Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/composition-of-foods-integrated-dataset-cofid>
 96. Bawalan D, Chapman K. Virgin Coconut Oil- Production manual for micro- and village-scale processing. 2006.
 97. Nevin KG, Rajamohan T. Effect of Topical Application of Virgin Coconut Oil on Skin Components and Antioxidant Status during Dermal Wound Healing in Young Rats. Skin Pharmacol Physiol [Internet]. 2010 Sep [cited 2020 Oct 22];23(6):290–7. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/313516>
 98. Intahphuak S, Khonsung P, Panthong A. Anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities of virgin coconut oil. Pharm Biol [Internet]. 2010 Feb [cited 2020 Oct

- 22];48(2):151–7. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/13880200903062614>
99. Rohman A, Irnawati, Erwanto Y, Lukitaningsih E, Rafi M, Fadzilah NA, et al. Virgin Coconut Oil: Extraction, Physicochemical Properties, Biological Activities and Its Authentication Analysis [Internet]. Food Reviews International. Taylor and Francis Inc.; 2019 [cited 2020 Oct 22]. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129.2019.1687515>
 100. Verallo-Rowell VM, Dillague KM, Syah-Tjundawan BS. Novel Antibacterial and Emollient Effects of Coconut and Virgin Olive Oils in Adult Atopic Dermatitis. Dermatitis [Internet]. 2008 Nov [cited 2020 Oct 22];19(6):308–15. Available from: <http://journals.lww.com/01206501-200811000-00003>
 101. Verallo-Rowell V. A Randomized Double-Blind Controlled Trial Comparing Extra Virgin Coconut Oil with Mineral Oil as a Moisturizer for Mild to Moderate Xerosis. 2004 [cited 2020 Oct 22]; Available from: <https://www.researchgate.net/publication/8009961>
 102. Varma SR, Sivaprakasam TO, Arumugam I, Dilip N, Raghuraman M, Pavan KB, et al. *In vitro* anti-inflammatory and skin protective properties of Virgin coconut oil. J Tradit Complement Med. 2019 Jan 1;9(1):5–14.
 103. Seleem D, Chen E, Benso B, Pardi V, Murata RM. *In vitro* evaluation of antifungal activity of monolaurin against *Candida albicans* biofilms. PeerJ [Internet]. 2016 Jun 22 [cited 2020 Oct 22];2016(6):e2148. Available from: <https://peerj.com/articles/2148>
 104. Silva EL, Carneiro G, De Araújo LA, Vaz Trindade MDJ, Yoshida MI, Oréface RL, et al. Solid lipid nanoparticles loaded with retinoic acid and lauric acid as an alternative for topical treatment of acne vulgaris. J Nanosci Nanotechnol. 2015 Jan 1;15(1):792–9
 105. Schwantes U, Dautel H, Jung G. Prevention of infectious tick-borne diseases in humans: Comparative studies of the repellency of different dodecanoic acid-formulations against *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae). 2008 [cited 2021 Feb 14]; Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/1/1/8>
 106. dos Santos LB, Favero FC, Conde MH, Freitas MG, Santos-Zanuncio VS, Carollo CA, et al. Clinical safety of lauric acid for cattle and its *in vitro* and *in vivo* efficacy against *Rhipicephalus microplus*. Vet Parasitol [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2020 Oct 22];280:109095. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401720300753>
 107. Sukkanon C, Chareonviriyaphap T, Doggett SL. Topical and spatial repellent bioassays against the Australian paralysis tick, *Ixodes holocyclus* (Acari: Ixodidae). Austral Entomol. 2019 Nov 1;58(4):866–74.
 108. Roh GH, Zhou X, Wang Y, Cermak SC, Kenar JA, Lehmann A, et al. Spatial repellency, antifeedant activity and toxicity of three medium chain fatty acids and their methyl esters of coconut fatty acid against stable flies. Pest Manag Sci. 2020;76(1):405–14.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE REPELENTE E ACARICIDA DE ÁCIDOS DERIVADOS DO ÓLEO DE COCO CONTRA *Amblyomma sculptum*

RESUMO

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a atividade repelente e acaricida de compostos derivados do óleo de coco contra ninfas e larvas não alimentadas de *Amblyomma sculptum*. Sete substâncias, sendo seis derivadas de óleo de coco (ácido graxo de coco; ácido láurico (C₁₂); ácido cáprico (C₁₀); éster metílico C₁₂; éster metílico C₁₀ e ácido graxo livre de coco em óleo de lavanda) e óleo de catnip (*Nepeta cataria*), foram triadas usando um bioensaio de placa de Petri, diluídas a 10% em hexano para avaliar a repelência. Óleo de catnip, éster metílico C₁₀ e C₁₂ e ácido graxo livre na formulação de óleo de lavanda mostraram repelência significativa ($P < 0,05$) em quase todos os tempos avaliados, com uma média de 77,8 a 100% de repelência. Esses compostos foram selecionados para avaliar a repelência por até 7 dias contra ninfas não alimentadas e toxicidade contra larvas não alimentadas. Para avaliar a repelência, um bioensaio de placa de Petri modificado foi usado e uma concentração de 10% de cada composto em etanol foi testado. Para o teste acaricida, cinco concentrações (2,5; 5; 10; 15 e 20 mg / mL) foram avaliadas por meio do teste de pacote larval. Todas as quatro substâncias testadas foram repelentes, com ácido graxo livre mostrando repelência por até 7 dias, enquanto o óleo de catnip e o éster metílico de C₁₀ foram repelentes por 4 e 3 dias, respectivamente. Todos os compostos de coco apresentaram atividade acaricida, porém o éster metílico de C₁₂ se destacou. Na concentração de 15 mg / mL, foi eficaz contra mais de 93% das larvas testadas e na concentração de 20 mg / mL conferiu 100% de mortalidade. O óleo de catnip não causou mortalidade de larvas de *A. sculptum* em todas as concentrações testadas.

Palavras-chave: óleo de coco, *Amblyomma sculptum*, repelência, bioensaio placa de Petri, bioensaio pacote de larvas

ABSTRACT

This study was carried out aiming to evaluate the repellent and acaricide activity of compounds derived from coconut oil against unfed nymphs and larvae of *Amblyomma sculptum*. Seven substances been six derived from coconut oil (coconut fatty acid; lauric acid (C₁₂); capric acid (C₁₀); C₁₂ methyl ester; C₁₀ methyl ester and coconut free fatty acid in lavender oil) and catnip oil (*Nepeta cataria*), were screened using a Petri dish bioassay, diluted at 10% in hexane to assess repellency. Catnip oil, C₁₀ and C₁₂ methyl ester, and free fatty acid in lavender oil formulation showed significant repellency ($P < 0.05$) at almost all times evaluated, with an average of 77.8 to 100% repellency. Those compounds were selected to evaluate repellence for up to 7 days against unfed nymphs and toxicity against unfed larvae. To evaluate repellence, a modified Petri dish bioassay was used and a 10% concentration of each compound in ethanol was tested. For the acaricide test five concentrations (2.5; 5; 10; 15 and 20 mg / mL) were evaluated using the larval pack test. All four substances tested were repellent, with free fatty acid showing repellency for up to 7 days, while catnip oil and C₁₀ methyl ester were repellents for 4 and 3 days, respectively. All coconut compounds had acaricide activity, however C₁₀ methyl ester stand out. At 15 mg/mL concentration it was effective against more than 93% of the tested larvae and at a concentration of 20 mg / mL conferred 100% mortality. Catnip oil caused no mortality of *A. sculptum* larvae in all concentrations tested.

Keywords: coconut oil, *Amblyomma sculptum*, repellency, petri dish bioassay, larval pack bioassay

1. INTRODUÇÃO

Amblyomma sculptum apresenta importância veterinária e em saúde pública significativa no Brasil devido à sua capacidade de causar danos diretos e indiretos para animais domésticos, de vida selvagem e humanos; sendo o principal vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii* no país, agente etiológico da febre maculosa brasileira, reconhecida pela alta letalidade em humanos (Barros-Battest et al., 2006; Gerardi et al., 2019).

O método de controle mais utilizado atualmente desta espécie de carrapato baseia-se no uso de acaricidas químicos que pode levar à resistência e toxicidade ambiental e animal, além das desvantagens de mercado, como preço e disponibilidade. Para humanos há poucos estudos direcionados à repelência de carrapatos, portanto, mais pesquisas são necessárias para encontrar alternativas para o seu controle, como repelentes. (Cançado et al., 2008; Sonenshine & Roe).

O repelente sintético N, N-dietil-3-metilbenzamida (DEET) é considerado padrão ouro de repelentes (Leal, 2014) e repele uma variedade de espécies de carrapatos, incluindo *A. sculptum* (Borges et al., 2015; Carroll et al., 2004; Soares et al., 2010a; Ferreira et al., 2017). Porém seu uso já foi associado a efeitos neurológicos adversos e má formação genética em recém-nascidos (Schaefer & Peters, 1992; Dugas et al., 2010). Diversos produtos de origem natural, como β -citronelol, *Cymbopogon nardus* e *Ocimum gratissimum*, têm apresentado resultados promissores com relação à ação repelente e/ou acaricida para serem formulados para uso humano e de outros animais como possível alternativa aos compostos sintéticos comercializados; e até mesmo aliados ao uso destes compostos para minimizar sua utilização, como forma de reduzir os impactos negativos na saúde humana e no meio ambiente (Ferreira et al., 2017; Soares et al., 2010b; Ferreira et al., 2019).

Os ácidos graxos de cadeia média, que são os principais componentes do óleo de coco, apresentam boa disponibilidade e custo de mercado satisfatório (Gervajio, 2005). Zhu et al, (2018) observaram altas taxas de repelência e de longa duração contra uma ampla gama de artrópodes hematófagos incluindo moscas (*Stomoxys calcitrans*, *Haematobia irritans*), percevejo (*Cimex letularius*), mosquito (*Aedes aegypti*) e carrapatos (*Amblyomma americanum* e *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato). Já, o óleo de catnip (*Nepeta cataria*) é considerado um dos mais fortes repelentes de moscas *Stomoxys calcitrans* (L.) e *Musca domestica* (L.), identificados até agora (Zhu et al., 2009), e seu potente efeito repelente, foi relatado contra *Rhipicephalus appendiculatus* (Birkett et al., 2011). No presente estudo avaliou-se a atividade repelente e carrapaticida in vitro de ácidos graxos de cadeia média de

óleo de coco (C₁₀ e C₁₂) e seus ésteres metílicos, ácido graxo livre e óleo de catnip (*N. cataria*) contra ninfas e larvas não alimentadas de *A. sculptum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto tem autorização da Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA/UFG) sob protocolo de número 058/20.

2.1 Local de realização dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecologia Química de Carrapatos (LEQC), no Centro de Parasitologia Veterinária (CPV), da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG), na cidade de Goiânia – GO.

2.2 Obtenção dos carrapatos

Para a obtenção das larvas e ninfas de *A. sculptum* para realização dos testes comportamentais, fêmeas ingurgitadas foram coletadas de equinos naturalmente infestados da EVZ/UFG, e mantidas no biotério do CPV através de infestações artificiais em coelhos *Oryctolagus cuniculus* Linnaeus, 1758 (mestiços - Califórnia × Nova Zelândia), de acordo com a técnica de inoculação em cápsulas (Louly et al., 2009). Os carrapatos em fase não parasitária foram mantidos em câmara climatizada ($T = 27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $UR \geq 80\%$, Eletrolab) dentro de seringas plásticas com o ápice cortado e vedadas com algodão. Também foram obtidos carrapatos em uma colônia do Laboratório de Ixodologia (LABIX) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (FAMEV / UFU). Carrapatos dessa colônia também foram alimentados em coelhos (Szabó et al., 1995) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFU (CEUA-UFU) (Prot. No 069/18). Para a realização dos testes de repelência foram utilizadas ninfas e larvas não alimentadas com idade entre 15 a 60 dias pós-muda e 15 e 21 dias pós-ecdise, respectivamente.

2.3 Obtenção e diluição dos compostos

Os compostos utilizados foram gentilmente cedidos pelo Dr. Junwei Jerry Zhu, vinculado ao Departamento de Agricultura da Universidade de Nebraska, Nebraska, Estados Unidos. A escolha das substâncias está relacionada com estudo anterior de Zhu et al. (2018), no qual observaram repelência de duas espécies de carrapatos, *A. americanum* e *R. sanguineus*, frente a compostos derivados do óleo de coco.

Foram recebidas sete substâncias, sendo elas, seis derivadas de óleo de coco: ácido graxo de coco; ácido láurico (C₁₂); ácido cáprico (C₁₀); éster metílico de C₁₂; éster metílico de C₁₀; ácido graxo livre de coco (em formulação de óleo de lavanda) e óleo de catnip (*Nepeta cataria*).

O ácido graxo de coco era um produto de base biológica, hidrolisado a partir do óleo de coco natural obtido da ACME-HARDESTY (Blue Bell, PA, EUA). Padrões de ácidos graxos sintéticos (C₁₀: 0, C₁₂: 0) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA), com pureza de 90-99%, e seus ésteres metílicos foram sintetizados conforme descrito por Zhu et al. (2018).

O ácido graxo livre de coco em formulação de óleo de lavanda, consistiu de ácido caprílico (C₈), ácido cáprico (C₁₀), ácido láurico (C₁₂), ácido mirístico (C₁₄), ácido palmístico (C₁₆), ácido esteárico (C₁₈), ácido oleico (C₁₈-1) e ácido linoléico (C₁₈-2) a uma razão de 6,85: 7,33: 52,68: 17,14: 8,44: 1,29: 6,02: 0,34 (Zhu et al., 2018). Onde, C₈-C₁₀-C₁₂ estavam em formulação de óleo de lavanda (10%), fornecido por Ondering's Lavender Farm LLC (Ohio, EUA).

As sete substâncias recebidas passaram por triagem por meio de bioensaio de placa de Petri, diluídas a 10% em hexano (Sigma-Aldrich 99%). As substâncias que apresentaram maior porcentagem média de repelência foram então, selecionadas para serem submetidas a novos testes de repelência de placa de Petri modificado e teste de pacote de larvas para avaliação da atividade acaricida.

Para o teste de repelência (placa de Petri modificado) as substâncias foram diluídas em etanol 99,5 °GL a 10%, sendo este mesmo solvente utilizado para um dos controles. Esta concentração foi a mesma utilizada recentemente por Zhu et al. (2018) e está próxima das observadas em concentrações de DEET disponíveis em formulações comerciais. Já para o teste acaricida (teste de pacote de larvas), as substâncias foram utilizadas a 2,5; 5; 10; 15; 20 mg/mL diluídas em etanol 99,5 °GL, sendo este mesmo solvente utilizado para um dos controles. O outro controle foi realizado com água destilada.

2.4 Triagem das substâncias

Todas as substâncias recebidas foram submetidas a bioensaios de placa de Petri adaptados da metodologia descrita por Bissinger et al., (2009) e Ferreira et al., (2017). Os testes foram realizados em ambiente com temperatura e umidade relativa de ar controladas (27°C, UR=70%) e em total escuridão. Foram utilizadas placas de Petri de vidro (área total = 63,6 cm²) contendo dois semicírculos de papel filtro (Whatman Qualitative Cat nº 1001 de 90

mm), sendo que um semicírculo recebeu 87 µl de substância teste (lado tratado), e o outro semicírculo recebeu o mesmo volume de solvente (lado controle - hexano). Foi realizado um ensaio de controle onde as placas de Petri receberam um semicírculo com 87 µl de hexano (lado tratado), e o outro semicírculo sem nenhum tratamento - papel com hexano *versus* papel limpo. Os papéis filtro tratados foram secos por 10 minutos, em capela de exaustão (Permutation, EJ Krieger e Cia Ltda) fechada para completa evaporação do solvente, antes de serem utilizados para os testes. Foram colocadas seis ninfas não alimentadas de *A. sculptum* em cada placa, que posteriormente foram fechadas e vedadas com termoplástico flexível (Parafilm®). A posição das ninfas de *A. sculptum* nos tempos de 1, 3, 5, 10, 15 e 30 minutos foram avaliadas, sendo replicados três vezes para cada tratamento. Os carrapatos que permaneceram, durante as avaliações, no semicírculo não tratado, foram considerados repelidos. A porcentagem média de repelência correspondeu à porcentagem de carrapatos no lado controle da placa de Petri. As substâncias de melhor desempenho foram selecionadas para serem submetidas aos testes subsequentes.

2.5 Teste de repelência

As substâncias que obtiveram resultados satisfatórios nos testes de triagem foram submetidas a novos bioensaios de placa de Petri modificado, agora com 10 repetições com seis ninfas cada, conforme descrito no tópico anterior. Neste momento foram realizadas algumas adaptações: o solvente foi modificado para etanol 99,5%, pois foi observado que com o passar do tempo os carrapatos testados com hexano morreram; e a realização de dois ensaios de controle: 1) um grupo de placas de Petri receberam um semicírculo tratado com etanol e outro semicírculo sem tratamento, e 2) um grupo de placas de Petri receberam os dois semicírculos de papel sem nenhum tratamento - papel limpo *versus* papel limpo (Figura 1). Além disso, as placas, após a montagem com os papéis, foram cobertas com tecido resistente, de malha fina e transparente (denominado volta ao mundo) e preso com elástico. Optou-se por esta adaptação para que o repelente em teste não ficasse ‘preso’ entre as placas e desta forma foi possível retratar o ambiente natural, no qual o repelente será aplicado, e sua liberação ocorreu aos poucos, permitindo a circulação do ar dentro da placa.

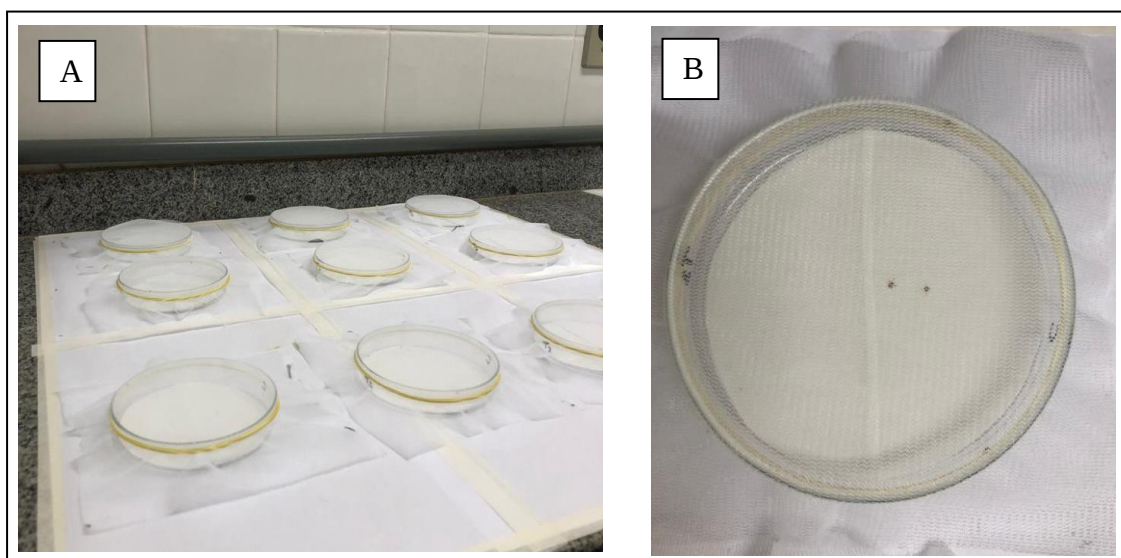


FIGURA 1- Bioensaio de repelência de ninfas de *Amblyomma sculptum* (A) Bancada de ensaio *in vitro* mostrando a distribuição das placas de Petri que serviram de arena (B) Detalhe da arena (placa de Petri) montado. O lado esquerdo da arena contém papel filtro tratado com a substância teste e o lado direito contém papel filtro com solvente (etanol). Para controles, ambos os lados contém papel filtro não tratado. E o outro controle contém lado esquerdo tratado com etanol e lado direito com papel filtro sem tratamento.

A posição das ninfas de *A. sculptum* nos tempos de 1, 3, 5, 10, 15 e 30 minutos e 24, 48, 72, 96 e 168 horas após o início de cada experimento foram avaliadas, sendo replicados 10 vezes para cada tratamento. Os carrapatos que permaneceram, durante as avaliações, no semicírculo não tratado foram considerados repelidos. A porcentagem média de repelência correspondeu à porcentagem de carrapatos no lado controle da placa de Petri.

2.6 Teste de pacote de larvas

O teste de pacote de larvas foi realizado de acordo com o método proposto por Stone e Haydock, (1962) adaptado por Monteiro et al., (2012). Para a avaliação da atividade carrapaticida das substâncias sobre as larvas de *A. sculptum*, aproximadamente 100 larvas não alimentadas, foram colocadas no centro do papel filtro com dimensões de 6x6 cm, em seguida foram dobrados ao meio e tiveram suas laterais fechadas por Binder clips. Após a montagem dos pacotes, 90 µl da solução a ser testada foi aplicada em cada lado externo do papel filtro, e após 10 minutos, os pacotes foram acondicionados em câmara climatizada (27°C e UR>80%). A avaliação do teste foi realizada após 24 h do tratamento, sendo que os pacotes foram abertos para a contagem do número de larvas vivas e mortas com auxílio de uma bomba a vácuo (Figura 2). O percentual de mortalidade foi obtido pela seguinte fórmula: $(n^{\circ} \text{ total de larvas mortas} \div n^{\circ} \text{ total de larvas}) \times 100$.

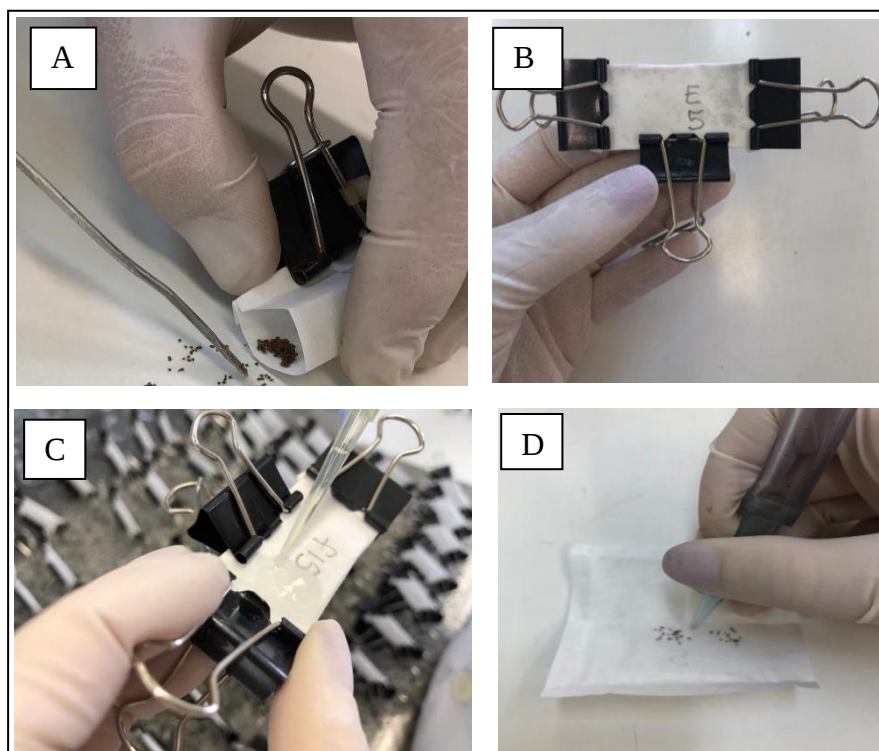


FIGURA 2- Teste de pacote de larvas: (A) Larvas não alimentadas sendo colocadas no centro de papel filtro com dimensão 6 cm x 6 cm; (B) Papel filtro fechado nas laterais com cliques binder; (C) Papel filtro sendo tratado com 90 μ L da solução testada em cada lado; (D) Contagem do número de larvas vivas e mortas com a utilização de bomba de vácuo.

2.7 Análise estatística

A comparação entre as médias dentro de cada tratamento no teste de repelência foi realizada no site <http://www.quantpsy.org/> pelo teste do qui-quadrado ($P < 0,05$). Já os valores obtidos no teste de pacote de larvas foram submetidos ao software Biostat, versão 5.0 (Ayres et al., 2007). Os dados obtidos em percentual foram convertidos em arco seno (x). Como os dados apresentaram distribuição não normal, foram comparadas com utilização do teste de Kruskal- Wallis, seguido do teste de Student-Newman-Keuls (SNK).

3. RESULTADOS

3.1 Triagem das substâncias

Dos compostos testados, o óleo de catnip obteve a melhor porcentagem média de repelência no teste de triagem, com repelência significativa ($P < 0,05$) em todos os tempos

avaliados, sendo observado no primeiro momento 94,4% de repelência média e no último momento de avaliação (30') observado 77,8% de repelência. Para o éster metílico de C₁₀ foi observada repelência significativa ($P<0,05$) de 1 a 15' de observação, sendo 100% de repelência observada nos tempos de 5 e 10 minutos (Tabela 4).

TABELA 4- Percentual médio de repelência de ninfas de *Amblyomma sculptum* avaliadas frente a compostos de coco (na concentração de 10%, exceto o ácido graxo livre em formulação de lavanda, que foi usado sem diluição) em ensaio de placa de Petri modificado. (Média $\pm$ erro padrão)

Tempo (min)	Hexano	Ácido graxo	Ácido láurico (C ₁₂)	Ácido cáprico (C ₁₀)	Éster metílico de C ₁₂	Éster metílico de C ₁₀	Óleo de catnip	Ácido graxo livre
1	38,9 $\pm$ 2,3	66,7 $\pm$ 0,0	61,1 $\pm$ 6,0	61,1 $\pm$ 2,3	77,8* $\pm$ 4,5	94,4* $\pm$ 2,3	94,4* $\pm$ 2,3	66,7 $\pm$ 3,9
3	72,2 $\pm$ 4,5	77,8* $\pm$ 2,3	50,0 $\pm$ 7,9	66,7 $\pm$ 7,9	77,8* $\pm$ 4,5	94,4* $\pm$ 2,3	94,4* $\pm$ 2,3	83,3* $\pm$ 6,8
5	77,8* $\pm$ 6,0	44,4 $\pm$ 2,3	44,4 $\pm$ 4,5	66,7 $\pm$ 3,9	55,6 $\pm$ 4,5	100* $\pm$ 0,0	94,4* $\pm$ 2,3	88,9* $\pm$ 4,5
10	66,7 $\pm$ 3,9	66,7 $\pm$ 3,9	77,8* $\pm$ 2,3	66,7 $\pm$ 3,9	83,3* $\pm$ 0,0	100* $\pm$ 0,0	88,9* $\pm$ 4,5	77,8* $\pm$ 2,3
15	44,4 $\pm$ 8,2	83,3* $\pm$ 0,0	72,2 $\pm$ 2,3	61,1 $\pm$ 2,3	83,3* $\pm$ 0,0	94,4* $\pm$ 2,3	83,3* $\pm$ 0,0	72,2 $\pm$ 4,5
30	55,6 $\pm$ 2,3	77,8* $\pm$ 6,0	50,0 $\pm$ 3,9	72,2 $\pm$ 2,3	77,8* $\pm$ 4,5	55,6 $\pm$ 6,0	77,8* $\pm$ 2,3	83,3* $\pm$ 3,9

A repelência foi considerada quando o número de carrapatos do lado não tratado da placa de Petri foi superior ao número do lado controle de acordo com o teste do qui-quadrado.

*Significativo ($P<0,05$)

Foram, então, selecionados os compostos que apresentaram repelência significativa em quase todos os tempos avaliados. Sendo os dois ésteres metílicos (de C₁₂ e C₁₀), o óleo de catnip, e por último o ácido graxo livre em formulação de lavanda respectivamente, totalizando quatro substâncias selecionadas para serem submetidas aos testes subsequentes.

3.2 Teste de repelência

A porcentagem média de repelência contra ninfas não alimentadas de *A. sculptum* de compostos derivados de óleo de coco a 10% é apresentada na Tabela 5. Nos controles de ambos os bioensaios de placa de Petri modificado os carrapatos foram distribuídos homogeneamente, sem diferença estatística significativa ($P>0,05$) entre lado tratado e lado controle. Todos os compostos foram significativamente repelentes ($P<0,05$) até 24h do início dos testes. O ácido graxo livre em formulação de lavanda foi significativamente repelente em todos os pontos de tempo com 100% de repelência às 24h. O óleo de catnip e o éster metílico de C₁₀ apresentaram repelência significativa até 96h e 72h após o início dos testes, respectivamente.

TABELA 5- Percentual médio de repelência de ninfas não alimentadas de *Amblyomma sculptum* por compostos de óleo coco (na concentração de 10%) em ensaio de placa de Petri modificado no intervalo de tempo de um minuto a 168h. (Média $\pm$ erro padrão)

Tempo	Controle (Etanol)	Controle (Papel Limpo)	Éster metílico (C ₁₂)	Éster metílico (C ₁₀)	Óleo de catnip	Ácido graxo livre
1'	60,0 $\pm$ 1,7	51,7 $\pm$ 2,8	68,3* $\pm$ 2,9	90,0* $\pm$ 1,5	88,3* $\pm$ 2,0	96,7* $\pm$ 0,9
3'	60,0 $\pm$ 3,1	53,3 $\pm$ 2,6	73,3* $\pm$ 3,1	73,3* $\pm$ 1,1	88,3* $\pm$ 2,0	83,3* $\pm$ 2,0
5'	50,0 $\pm$ 3,0	53,3 $\pm$ 2,2	76,7* $\pm$ 3,2	73,3* $\pm$ 1,8	81,7* $\pm$ 2,1	88,3* $\pm$ 1,8
10'	58,3 $\pm$ 1,5	53,3 $\pm$ 2,4	75,0* $\pm$ 2,9	81,7* $\pm$ 1,6	81,7* $\pm$ 1,9	85,0* $\pm$ 1,6
15'	55,0 $\pm$ 2,7	60,0 $\pm$ 2,1	75,0* $\pm$ 3,1	85,0* $\pm$ 1,6	86,7* $\pm$ 1,4	86,7* $\pm$ 1,4
30'	58,3 $\pm$ 2,1	51,7 $\pm$ 2,4	81,7* $\pm$ 2,9	80,0* $\pm$ 3,2	90,0* $\pm$ 1,5	91,7* $\pm$ 1,1
24h	50,8 $\pm$ 2,0	51,7 $\pm$ 2,1	75,0* $\pm$ 2,9	83,3* $\pm$ 2,3	76,7* $\pm$ 2,1	100,0* $\pm$ 0,0
48h	45,8 $\pm$ 2,3	38,3 $\pm$ 3,4	51,7 $\pm$ 3,3	63,3* $\pm$ 3,0	78,3* $\pm$ 2,5	90,0* $\pm$ 1,5
72h	62,7 $\pm$ 2,9	43,3 $\pm$ 2,7	51,7 $\pm$ 2,6	66,7* $\pm$ 3,0	78,3* $\pm$ 2,7	91,7* $\pm$ 1,5
96h	47,5 $\pm$ 4,2	55,0 $\pm$ 2,9	61,7 $\pm$ 2,0	56,7 $\pm$ 3,1	71,7* $\pm$ 2,9	93,3* $\pm$ 1,5
168h	49,2 $\pm$ 3,1	53,3 $\pm$ 2,8	65,0* $\pm$ 2,6	56,7 $\pm$ 2,7	56,7 $\pm$ 2,1	91,7* $\pm$ 1,5

A repelência foi considerada quando o número de carrapatos do lado não tratado da placa de Petri foi superior ao número do lado controle de acordo com o teste do qui-quadrado.

*Significativo ($P < 0,05$)

3.3 Teste de pacote de larvas

Nos grupos tratados com o éster metílico de C₁₂, a partir da concentração de 10 mg/mL foram observadas diferenças ($P < 0,05$) na mortalidade de larvas, em relação ao grupo controle (1,2 e 0,8%), com percentual de 43,4%, chegando a 100% na maior concentração (20 mg/mL). Para o éster metílico de C₁₀, o percentual de mortalidade na concentração de 5 mg/mL foi de 13,9% ($P < 0,05$), e na maior concentração (20mg/mL) a mortalidade foi de 82,1%.

Em relação ao ácido graxo livre em formulação de lavanda, foram observadas diferenças ($P < 0,05$) quando comparado ao grupo controle, a partir da concentração de 10 mg/mL, com 20,9% de mortalidade, enquanto na maior concentração, o percentual de mortalidade chegou a 88,7%. Em contrapartida, para o óleo de catnip, não foram observadas diferenças ($P < 0,05$) quando comparada ao grupo controle (Tabela 6).

TABELA 6- Atividade carrapaticida (%) de diferentes concentrações de compostos derivados de óleo de coco, em solução etanólica, sobre larvas não alimentadas de *Amblyomma sculptum*, sob condições de laboratório (27°C e UR>80± 5%). (Média ± desvio padrão).

Tratamentos (mg/mL)	Éster metílico (C ₁₂)	Éster metílico (C ₁₀)	Óleo de catnip	Ácido graxo livre
Controle etanol	0,8±1,1 ^a	0,8±1,1 ^a	0,8±1,1 ^a	0,8±1,1 ^a
Controle água	1,2±1,2 ^{ab}	1,2±1,2 ^a	1,2±1,2 ^a	1,2±1,2 ^{ab}
2,5	5,6±3,2 ^{bc}	1,5±1,6 ^{ab}	0,7±0,9 ^a	5,1±3,2 ^{bc}
5	3,2±2,1 ^{ab}	13,9±3,4 ^{bc}	1,5±2,4 ^a	2,9±3,3 ^{ab}
10	43,4±21,9 ^{cd}	60,8±15,0 ^{cd}	1,1±1,3 ^a	20,9±13,4 ^{cd}
15	93,6±19,9 ^d	66,1±11,4 ^d	0,9±1,1 ^a	60,0±19,7 ^{de}
20	100,0±0,0 ^d	82,1±11,2 ^d	12,3±29,35 ^a	88,7±10,4 ^e

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna apresentam diferenças ($P>0,05$) à nível de 5%.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo demonstra pela primeira vez o potencial de compostos derivados do óleo de coco para o controle de fases imaturas de *A. sculptum* em condição de laboratório. Todos os compostos apresentaram pelo menos 24h de repelência, chegando até sete dias de efeito. Além disso, três dos quatro compostos avaliados demonstraram atividade carrapaticida superior a 82% na maior concentração utilizada.

No presente estudo, os ésteres metílicos de C₁₀ e C₁₂ dos ácidos graxos de coco apresentaram atividade repelente contra ninfas não alimentadas de *A. sculptum* por até sete dias. O presente estudo corrobora os resultados de Zhu et al. (2018) que observaram que dos ácidos graxos contidos no óleo de coco hidrolisado, os ácidos graxos C₈, C₁₀ e C₁₂ exibiram os mais altos níveis de repelência contra as espécies de carrapato *A. americanum* e *R. sanguineus* s.l. por até sete dias. Além disso, Zhu et al. (2018), também observaram repelência destes compostos contra *Stomoxys calcitrans* e também contra percevejos (*Cimex letularis*), reforçando seu potencial repelente. Em testes recentes de atividade antialimentação, esses ésteres metílicos impediram a alimentação de sangue pelas moscas *S. calcitrans* (Roh et al., 2020). E com relação à repelência desta mesma espécie de mosca (*S. calcitrans*), resultados semelhantes foram encontrados anteriormente, onde os ácidos graxos C₁₀ e C₁₂ exibiram repelência superior a 90% (Zhu et al., 2018).

Já o óleo de catnip (*Nepeta cataria*) apresentou repelência de até 96h contra *A. sculptum*. Em avaliação realizada para comparar a eficácia de DEET e derivados de óleo de coco, Zhu et al., (2018) utilizaram o óleo de catnip como controle positivo por ser considerado um dos mais fortes repelentes de moscas *S. calcitrans* identificados até agora (Zhu et al., 2009). Para *A. sculptum*, até onde se sabe, essa substância ainda não havia sido estudada. Este então, é o primeiro registro de ação do óleo de catnip em carrapatos *A. sculptum*.

A metodologia do bioensaio de placa de Petri e o solvente (hexano) utilizados nos testes de triagem pareceu influenciar na repelência, por isso foram feitas algumas modificações. Nos testes de triagem utilizando placas de Petri sobrepostas e vedadas com termoplásticos resistentes (Parafilm), o grupo controle de hexano apresentou repelência aos cinco minutos e com o passar do tempo alguns carrapatos morreram, durante e após os testes. Após as modificações, o controle com etanol não apresentou repelência significativa e não foi observado mortalidade dos carrapatos. A modificação feita no bioensaio de placa de Petri nesse estudo, deve ser uma opção a ser utilizada em futuros testes de repelência pois retrata

melhor o ambiente natural em que o composto será utilizado. A metodologia de placa de Petri proposta por Bissinger et al. (2009) é um procedimento fácil de realizar, rápido e barato (Bissinger e Roe, 2010). No entanto, pode haver uma superestimativa da repelência pela ausência de pistas do hospedeiro (Dautel, 2004). Por esse motivo, pesquisas adicionais a campo utilizando esses compostos são os próximos passos da pesquisa.

Curiosamente, o ácido graxo de coco e os ácidos cáprico (C_{10}) e láurico (C_{12}) não apresentaram boa repelência em teste de triagem realizado nesse estudo ao contrário do que foi observado para seus ésteres metílicos relatados e discutidos aqui. Zhu et al. (2018) ao encontrar resultados semelhantes contra moscas dos estábulos, atribuiu que o óleo de coco não mostrou repelência, possivelmente porque os ácidos graxos estão presentes como uma molécula maior de triglicerídeos (Marina et al., 2009), sugerindo que a falta de repelência pode ser devido à natureza volumosa da estrutura dos triglicerídeos e não a presença de frações éster, uma vez que o éster metílico de C_{12} , que também contém uma fração éster semelhante à estrutura dos triglicerídeos, é altamente repelente além de exibir toxicidade (Zhu et al., 2018).

O efeito carrapaticida sobre larvas de *A. sculptum* foi observado para o éster metílico de C_{12} e ácido graxo livre de óleo de coco (em formulação de lavanda) nas concentrações de 10, 15 e 20 mg/mL, e para o éster metílico de C_{10} nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 mg/mL no presente estudo. Dos Santos et al. (2020) observaram que nenhum destes ácidos graxos testados *in vitro* contra larvas de *Rhipicephalus microplus* (teste de imersão de larvas) exibiram eficácia. No entanto, os ácidos cáprico (C_{10}) e láurico (C_{12}) a uma concentração de 40 mg / ml exibiram mais de 95% de eficácia contra carrapatos adultos (teste de imersão em adultos) (dos Santos et al., 2020). Resultados semelhantes foram encontrados contra *S. calcitrans* ao avaliar ésteres metílicos em testes de alimentação de sangue, sendo observado que as moscas foram 'derrubadas' rapidamente e morreram cerca de 10 minutos após a queda; onde nas dosagens de 10 e 20 mg de éster metílico de C_{10} a mortalidade foi mais rápida (<5 min), em comparação com os outros ésteres. Apenas o éster metílico de C_{10} quando testado a 2 mg, foi capaz de derrubar (80%) das moscas *S. calcitrans*. As porcentagens médias de mortalidade de duas doses mais altas (10 mg e 20 mg) de três ésteres metílicos foram de 85% e 100%, respectivamente (Roh et al., 2020). Em outro estudo, o éster metílico derivado do ácido láurico também exibiu toxicidade (tempo letal para 90% <11 min) para *S. calcitrans*, enquanto o ácido láurico em si não foi tóxico (Zhu et al., 2018).

A ação repelente e acaricida contra *A. sculptum*, além do bom efeito residual, que observamos nesse estudo (7 dias), em componentes de ácidos graxos de óleo de coco

associados às evidências de eficácia contra outros artrópodes hematófagos, indicam que esses componentes são candidatos a repelentes e carrapaticidas para uso contra esses ixodídeos, já que um repelente ideal deve fornecer proteção por pelo menos 8 horas, contra um amplo espectro de artrópodes hematófagos, não ser tóxico e irritante, sem odor e não gorduroso (Fradin, 1998). Abre-se assim, novas perspectivas para que estudos sejam realizados a campo, buscando melhorar a eficácia dos componentes testados para serem futuramente desenvolvidos comercialmente, sozinhos ou em associações com outros compostos já disponíveis no mercado.

5. CONCLUSÕES

- As substâncias derivadas do óleo de coco: ácido graxo livre em formulação de óleo de lavanda, ésteres metílicos de C_{12} e C_{10} ; e o óleo de catnip (*Nepeta cataria*) apresentaram atividade repelente contra ninfas não alimentadas de *A. sculptum* na faixa de concentração avaliada (10%).
- Todos os compostos submetidos ao teste de Placa de Petri modificado apresentaram pelo menos 24h de repelência, chegando até sete dias de efeito.
- Os ésteres metílicos (C_{12} e C_{10}) e o ácido graxo livre em formulação de óleo de lavanda apresentaram atividade carrapaticida sobre larvas não alimentadas de *A. sculptum*, dependendo da concentração.

REFERÊNCIAS

- Ayres M, Ayres JM, Ayres D, Dos Santos A. BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas [Internet]. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; 2007 [cited 2020 Nov 9]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/263608962_BIOESTAT_-_aplicacoes_estatisticas_nas_areas_das_Ciencias_Bio-Medicas
- Barros-Battesti DM, Onofrio VC, Labruna MB, Pinter A, Giacomini F, Battesti DM, et al. Carrapatos De Importancia Médico-veterinaria Da Regiao Neotropical: Um Guia Ilustrado Para Identificação De Espécies [Internet]. São Paulo; 2006 [cited 2020 Oct 15]. 223 p.
- Birkett MA, Hassanali A, Hoglund S, Pettersson J, Pickett JA. Repellent activity of catmint, *Nepeta cataria*, and iridoid nepetalactone isomers against Afro-tropical mosquitoes, ixodid ticks and red poultry mites. *Phytochemistry*. 2011 Jan 1;72(1):109–14.
- Bissinger BW, Apperson CS, Sonenshine DE, Watson DW, Roe RM. Efficacy of the new repellent BioUD® against three species of ixodid ticks. *Exp Appl Acarol* [Internet]. 2009 Jul 13 [cited 2020 Nov 9];48(3):239–50. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10493-008-9235-x>
- Bissinger BW, Roe RM. Tick repellents: Past, present, and future. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2010.
- Borges LMF, de Oliveira Filho JG, Ferreira LL, Louly CCB, Pickett JA, Birkett MA. Identification of non-host semiochemicals for the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae), from tick-resistant beagles, *Canis lupus familiaris*. *Ticks Tick Borne Dis* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2021 Feb 14];6(5):676–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26103925/>
- Cançado PHD, Piranda EM, Mourão GM, Faccini JLH. Spatial distribution and impact of cattle-raising on ticks in the Pantanal region of Brazil by using the CO2 tick trap. *Parasitol Res* [Internet]. 2008 Jul [cited 2020 Nov 9];103(2):371–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18454288/>
- Carroll JF, Solberg VB, Klun JA, Kramer M, Debboun M. Comparative activity of deet and AI3-37220 repellents against the ticks *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in laboratory bioassays. *J Med Entomol* [Internet]. 2004 [cited 2020 Nov 9];41(2):249–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15061285/>
- Dautel H. Test systems for tick repellents. In: *International Journal of Medical Microbiology, Supplement*. Urban und Fischer Verlag GmbH und Co. KG; 2004. p. 182–8.
- dos Santos LB, Favero FC, Conde MH, Freitas MG, Santos-Zanuncio VS, Carollo CA, et al. Clinical safety of lauric acid for cattle and its *in vitro* and *in vivo* efficacy against *Rhipicephalus microplus*. *Vet Parasitol* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2020 Oct 22];280:109095. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401720300753>

- Dugas J, Nieuwenhuijsen MJ, Martinez D, Iszatt N, Nelson P, Elliott P. Use of biocides and insect repellents and risk of hypospadias. *Occup Environ Med* [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2020 Nov 9];67(3):196–200. Available from: <https://oem.bmj.com/content/67/3/196>
- Ferreira LL, Oliveira Filho JG de, Mascarin GM, León AAP de, Borges LMF. *In vitro* repellency of DEET and β -citronellol against the ticks *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and *Amblyomma sculptum*. *Vet Parasitol* [Internet]. 2017;239(April):42–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.04.021>
- Ferreira TP, Cid YP, Cardilo MA, Dos Santos GCM, Avelar BR, Freitas JP, et al. *In vitro* acaricidal activity of *Ocimum gratissimum* essential oil on *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma sculptum* and *Rhipicephalus microplus* larvae. *Rev Virtual Quim*. 2019;11(5):1604–13.
- Fradin MS. Mosquitoes and mosquito repellants: A clinician's guide. *Ann Intern Med*. 1998 Jun 1;128(11):931–40.
- Gerardi M, Ramírez-Hernández A, Binder LC, Krawczak FS, Gregori F, Labruna MB. Comparative Susceptibility of Different Populations of *Amblyomma sculptum* to *Rickettsia rickettsii*. *Front Physiol* [Internet]. 2019 May 28 [cited 2020 Nov 9];10(MAY):653. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2019.00653/full>
- Gervajio GC. Fatty Acids and Derivatives from Coconut Oil. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products [Internet]. Wiley; 2005 [cited 2020 Nov 9]. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/047167849X.bio039>
- Leal WS. The enigmatic reception of DEET - The gold standard of insect repellents [Internet]. Vol. 6, *Current Opinion in Insect Science*. Elsevier Inc.; 2014. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25530943/>
- Louly CCB, Soares SF, Silveira DN, Neto OJS, Silva AC, Borges LMF. Differences in the susceptibility of two breeds of dogs, English cocker spaniel and beagle, to *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Int J Acarol* [Internet]. 2009 Feb [cited 2021 Mar 17];35(1):25–32. Available from: <https://www-tandfonline.ez49.periodicos.capes.gov.br/doi/abs/10.1080/01647950802655251>
- Marina, AM, Man, YBC, Nazimah, SA & Amin, HI Chemical properties of virgin coco oil. *Geléia. Óleo. Chem. Soc.* 86 , 301 (2009).
- Monteiro CM, Maturano R, Daemon E, Catunda FEA, Calmon F, De Souza Senra T, et al. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) and *dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. *Parasitol Res* [Internet]. 2012 Sep [cited 2020 Nov 9];111(3):1295–300. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22622689/>
- Roh GH, Zhou X, Wang Y, Cermak SC, Kenar JA, Lehmann A, et al. Spatial repellency, antifeedant activity and toxicity of three medium chain fatty acids and their methyl esters of coconut fatty acid against stable flies. *Pest Manag Sci*. 2020;76(1):405–14.
- Schaefer C, Peters PWJ. Intrauterine diethyltoluamide exposure and fetal outcome. *Reprod*

- Toxicol [Internet]. 1992 [cited 2020 Nov 3];6(2):175–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1591475/>
- Soares SF, Braga R de S, Ferreira LL, Louly CCB, Sousa LAD de, Borges LMF. Repellent activity of DEET against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs submitted to different laboratory bioassays. Rev Bras Parasitol Veterinária [Internet]. 2010a [cited 2021 Feb 14];19(01):12–7. Available from: www.cbpv.com.br/rbpv
- Soares SF, Borges LMF, de Sousa Braga R, Ferreira LL, Louly CCB, Tresvenzol LMF, et al. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. Vet Parasitol. 2010b Jan 20;167(1):67–73.
- Sonenshine DE, Roe RM. Biology of Ticks. 2^a. Vol. 1. Oxford University Press;
- Stone BF, Haydock KP. A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.). Bull Entomol Res [Internet]. 1962 [cited 2020 Nov 9];53(3):563–78. Available from: [/core/journals/bulletin-of-entomological-research/article/method-for-measuring-the-acaricidesusceptibility-of-the-cattle-tick-boophilus-microplus-can/8D5B8005DA0D7CA8C1FE506562D2EBB3](https://core/journals/bulletin-of-entomological-research/article/method-for-measuring-the-acaricidesusceptibility-of-the-cattle-tick-boophilus-microplus-can/8D5B8005DA0D7CA8C1FE506562D2EBB3)
- Szabó MPJ, Morelli J, Bechara GH. Cutaneous hypersensitivity induced in dogs and guinea-pigs by extracts of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Exp Appl Acarol [Internet]. 1995 Dec [cited 2021 Apr 20];19(12):723–30. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00052083>
- Zhu JJ, Zeng X-P, Berkebile D, Du H-J, Tong Y, Qian K. Efficacy and safety of catnip (*Nepeta cataria*) as a novel filth fly repellent. Med Vet Entomol [Internet]. 2009 Sep 1 [cited 2021 Mar 24];23(3):209–16. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2915.2009.00809.x>
- Zhu JJ, Cermak SC, Kenar JA, Brewer G, Haynes KF, Boxler D, et al. Better than DEET Repellent Compounds Derived from Coconut Oil. Sci Rep [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2020 Oct 22];8(1):14053. Available from: www.nature.com/scientificreports/

CAPÍTULO 3

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou a eficácia repelente e carrapaticida de substâncias derivadas de óleo de coco sobre fases imaturas de *A. sculptum*, reforçando o potencial dessas substâncias como forma de controle para carrapatos. O presente estudo fornece ainda uma adaptação da metodologia da placa de Petri para testes de repelência *in vitro* estabelecida por Bissinger et al., sendo que com a adaptação o retrato foi mais fiel ao ambiente natural onde o repelente será utilizado.

A realização de testes a campo em locais naturalmente infestados por *A. sculptum* e o desenvolvimento de estudos de interação entre essas substâncias com o intuito de aumentar a eficácia visando sua aplicação a campo, são as perspectivas deixadas a partir dos resultados avaliados.

ANEXO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



C E R T I F I C A D O

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação da atividade repelente e carrapaticida de compostos derivados do óleo de coco contra *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888", registrada com o protocolo nº 058/20, sob a responsabilidade de Viviane Zeringóta Rodrigues Cotta e Mayara Macêdo Barrozo Santos que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Goiás (UFG), em reunião de 10/08/20.

- ☐ Finalidade: () Ensino (X) Pesquisa Científica
- ☐ Vigência da autorização (início e fim): 10/08/20 a 26/03/2021
- ☐ Espécie/linhagem/raça: coelhos
- ☐ Nº de animais autorizados: 4, sendo 2 machos e 2 fêmeas
- ☐ Peso/Idade: 2 kg
- ☐ Sexo: machos e fêmeas
- ☐ Origem (fornecedor): Casas Agropecuárias de Goiânia



Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2, 1º andar, Prédio da Agência de Inovação, Parque Tecnológico, sala da CEUA, Campus Samambaia – Goiânia-GO, Fone: (55-62) 3521-1876.
Email: ceua.ufg@gmail.com