

## ATIVIDADE ACARICIDA DO CARVACROL E TIMOL SOBRE NINFAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE).

Tatiane de Oliveira Souza Senra<sup>1</sup>, Fernanda Calmon<sup>1</sup>, Viviane Zeringóta Rodrigues<sup>1</sup>, Renata Matos<sup>1</sup>, Caio Márcio de Oliveira Monteiro<sup>2</sup>, Geovany Amorim Gomes<sup>3</sup>, Mario Geraldo de Carvalho<sup>3</sup>, Erik Daemon<sup>1</sup>

1 – Programa de Pós-graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil. 2 – Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. 3 – Departamento de Química – ICE da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

### RESUMO

O presente estudo foi realizado com intuito de verificar a atividade carrapaticida dos monoterpenos carvacrol e timol em diferentes concentrações, sobre ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. Para realização do experimento foi feita uma adaptação no teste de pacote de larvas e a mortalidade foi avaliada após 24 horas. As substâncias foram testadas nas concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg/ml para timol e em (µl/ml) para carvacrol; também foi estabelecido um grupo controle contendo etanol 50% utilizado para solubilizar as substâncias. Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada (27±1°C e UR>80±10%) e para cada tratamento foram feitas 10 repetições. Nos resultados obtidos as duas substâncias testadas foram letais desde a menor concentração testada, causando 100% de mortalidade em todos os grupos experimentais, diferindo apenas do grupo controle. A realização deste estudo contribui para investigação de substâncias de origem vegetal com atividade carrapaticida, com intuito de selecionar novas moléculas que possam ser utilizadas no controle de carrapatos.

**Palavras-chave:** Controle, Monoterpenos, *Rhipicephalus sanguineus*.

### INTRODUÇÃO

Carrapatos e doenças por eles transmitidas são amplamente distribuídos em todo o mundo, particularmente nas regiões tropicais e subtropicais. *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) é considerado um dos principais ectoparasitos de cães, e está entre as espécies mais importantes do ponto de vista econômico e de saúde pública e animal (GUGLIELMONE et al., 2006).

A utilização de carrapaticidas é o método predominantemente utilizado no controle de carrapatos; entretanto, o uso indiscriminado e sem critérios técnicos tem contribuído para a seleção de carrapatos resistentes, podendo levar também à intoxicação do homem e animais e contaminação do solo e recursos hídricos (BORGES et al., 2011).

Em relação à utilização de substâncias de origem vegetal no controle de carrapatos, pode-se citar o monoterpeno carvacrol como promissora substância acaricida. Cetin et al. (2009) evidenciaram a ação carrapaticida do óleo essencial da *Origanum minutiflorum* sobre larvas de *Rhipicephalus turanicus*, Pomerantzev, 1940 e atribuíram o efeito ao carvacrol, destacando a necessidade da investigação sobre a ação individual do componente isolado. O outro monoterpeno testado é o timol, que está presente em óleos de algumas plantas da família Lamiaceae. Ele tem sido apontado como alternativa promissora a ser utilizada no controle de carrapatos (DAEMON et al., 2009; MONTEIRO et al., 2009). O objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial acaricida do timol na formulação etanólica e do carvacrol sobre ninfas não ingurgitadas de *R. sanguineus*.

### MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Artrópodes Parasitos (LAP) da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. As ninfas de *R. sanguineus* utilizadas nos experimentos foram oriundas de colônia mantida através de infestações artificiais em coelhos.

O carvacrol foi obtido na empresa Sigma-Aldrich®, com grau de pureza de 99,9%; já os cristais de timol foram obtidos por intermédio da empresa Henrifarma Químicos e Farmacêuticos LTDA. O solvente utilizado para a diluição das substâncias foi o etanol 50%, sendo testadas

concentrações de 2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 g/ml ( $\mu\text{l/ml}$ ). A solubilização do timol foi segundo metodologia proposta por Scoralik et al. (2012).

As ninfas submetidas aos testes tinham entre 15 e 21 dias após a ecdise, a metodologia utilizada foi semelhante à proposta por Stone & Haydoc (1962), em que o papel filtro com dimensões de 6x6cm foi dobrado ao meio e teve suas laterais previamente vedadas por clips, formando um envelope; posteriormente foram colocadas cinco ninfas em cada pacote e, depois de vedado, cada lado externo do envelope foi umedecido homogeneamente com 90  $\mu\text{l}$  das soluções a serem testadas. Os grupos experimentais foram mantidos em câmara climatizada ( $27\pm 1^\circ\text{C}$  e UR>80%) e a avaliação da mortalidade foi feita após 24h, quando foram quantificadas ninfas vivas e mortas com a utilização de bomba a vácuo acoplada em uma mangueira de borracha com ponteira adaptada na extremidade. A mortalidade foi obtida pela seguinte fórmula: Mortalidade (%) = (total de larvas mortas/total de larvas) x 100.

A análise estatística foi realizada utilizando o software Biostat versão 5.0. Os valores percentuais foram transformados em  $\sqrt{\text{arco seno } x}$  e analisados por ANOVA e teste de Tukey ( $p<0,05$ ). No caso de distribuição não paramétrica, os valores foram comparados através dos testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis e Student Newman-Keuls ( $p<0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos testes realizados com ninfas não ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, nos grupos tratados com os monoterpenos carvacrol e timol a mortalidade atingiu 100% em todas as concentrações testadas (2,5; 5,0; 10,0; 15,0 e 20,0 mg/ml) ( $\mu\text{l/ml}$ ) sendo constatadas diferenças significativas ( $p<0,05$ ) apenas entre os grupos tratados e o controle (Tabela 1).

Com relação à eficiência do carvacrol existem estudos que demonstraram que óleos essenciais ricos nesse monoterpeno possuem atividade sobre carrapatos. Cetin et al. (2009) relataram que o óleo de *Origanum minutiflorum* teve atividade sobre *Rhipicephalus turanicus* Pomerantsev, 1936, sendo o carvacrol o constituinte majoritário.

Daemon et al.(2009), solubilizando o timol em banho maria, comprovaram sua eficiência acaricida contra larvas de *R. sanguineus*; no entanto, a mortalidade das larvas não ingurgitadas não ultrapassou 37% na maior concentração testada (20,0 mg/ml) e com as larvas ingurgitadas atingiu letalidade superior a 90% a partir de 15,0 mg/ml. Ao contrário, o presente trabalho utilizando a metodologia de solubilização hidroetanólica proposta por Scoralik et al. (2012) demonstrou maior eficiência acaricida, causando 100% de mortalidade em todas as concentrações testadas.

Alta mortalidade com utilização do timol pode estar relacionada à metodologia de solubilização, uma vez que para larvas não ingurgitadas a metodologia foi menos eficiente do que a solubilização etanólica (DAEMON et al. 2012).

O conjunto de resultados obtidos neste estudo indica que os monoterpenos carvacrol e timol possuem atividade deletéria sobre ninfas não ingurgitadas de *R. sanguineus*. Assim, existe a necessidade de novas pesquisas envolvendo outros estágios de desenvolvimento desses carrapatos, além de testes em condições naturais.

Tabela 1 – Mortalidade média de ninfa não ingurgitada de *Rhipicephalus sanguineus* tratadas com diferentes concentrações de timol e carvacrol em condições de laboratório ( $27\pm 1^\circ\text{C}$  e UR>80 $\pm$ 10%).

	Timol	Carvacrol
Controle	2,0 <sup>a</sup> $\pm$ 6,3	2,0 <sup>a</sup> $\pm$ 6,3
2,5 $\mu\text{l/ml}$	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0
5,0 $\mu\text{l/ml}$	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0
10,0 $\mu\text{l/ml}$	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0
15,0 $\mu\text{l/ml}$	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0
20,0 $\mu\text{l/ml}$	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0	100,0 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% ( $p>0,05$ ).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORGES, L. M. F.; SOUSA, L. A. D. & BARBOSA, C. S. 2011. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, **20** (2): 89-96.

CETIN, H.; CILEK, J. E.; AYDIN, L. & YANIKOGLU, A. 2009. Acaricidal effects of the essential oil of *Origanum minutiflorum* (Lamiaceae) against *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, **160**: 359-361

DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O.; CLEMENTE, M. A. & ARCOVERDE, A. 2009. Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, **105**: 495-497.

DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O. ; MATURANO, R.; SENRA, T. O. S.; CALMON, F.; FAZA, A.; AZEVEDO, P. M. C.; GEORGOPOULOS, S. L. & OLIVEIRA, L. F. C. 2012. Spectroscopic evaluation of thymol dissolved by different methods and influence on acaricidal activity against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, DOI: 10.1007/s00436-012-3033-4.

GUGLIELMONE, A. A.; SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, J. R. S. & ESTRADA-PEÑA, A. 2006. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. *In*: Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. (D. M. Barros-Battesti; M. Arzua & G. H. Bechara, eds.) Vox/ICTTD-3/ Butantan, São Paulo, p.115-138.

MONTEIRO, C. M. O.; DAEMON, E.; CLEMENTE, M. A.; ROSA, L. S. & MATURANO, R. 2009. Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, **105**: 1093-1097.

SCORALIK, M.; DAEMON, E.; MONTEIRO, C. M. O. & MATURANO, R. 2012. Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol. **Parasitology Research**, **110**(2): 645-648.

STONE, B. F. & HAYDOCK, K. P. 1962. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Can.). **Bulletin of Entomological Research**, **53**: 563-578.