

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

**TESE**

**Bioprospecção de Compostos Naturais Voláteis Frente a Larvas  
de *Cochliomyia hominivorax***

**Monique Taveira Medeiros**

**2024**



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

**Bioprospecção de Compostos Naturais Voláteis Frente a Larvas de *Cochliomyia*  
*hominivorax***

**MONIQUE TAVEIRA MEDEIROS**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Dra. Katherina Coumendouros**  
*e Coorientação do*  
**Dr. Diefrey Ribeiro Campos**

Tese submetida como requisito parcial para  
obtenção do grau de **Doutora em Ciências**, no  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias

Seropédica, RJ  
Agosto de 2024

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

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

M488b Medeiros, Monique, 1986-  
Bioprospecção de Compostos Naturais Voláteis Frente  
a Larvas de *Cochliomyia hominivorax* / Monique  
Medeiros. - Seropédica, 2024.  
73 f.

Orientadora: Katherina Coumendouros.  
Coorientador: Diefrey Ribeiro .  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro, PPGCV, 2024.

1. óleo essencial. 2. química verde. 3. bicheira. 4.  
controle. I. Coumendouros, Katherina, 1966-, orient.  
II. Ribeiro , Diefrey , 1988-, coorient. III  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. PPGCV.  
IV. Título.



ATA N° 6572/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.071741/2024-83

Seropédica-RJ, 20 de dezembro de 2024.

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

MONIQUE TAVEIRA MEDEIROS

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutora** em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 19/12/2024

(Assinado digitalmente em 20/12/2024 20:31)  
KATHERINA COUMENDOUROS  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)  
Matrícula: ####563#6

(Assinado digitalmente em 20/12/2024 20:07)  
THAIS RIBEIRO CORREIA AZEVEDO  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)  
Matrícula: ####298#9

(Assinado digitalmente em 23/12/2024 10:42)  
YARA PELUSO CID  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DCFar (12.28.01.00.00.47)  
Matrícula: ####004#7

(Assinado digitalmente em 24/12/2024 08:46)  
ISABELLA VILHENA FREIRE MARTINS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ####.####.547-##

(Assinado digitalmente em 20/12/2024 23:31)  
LIVIO MARTINS COSTA JUNIOR  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ####.####.563-##

(Assinado digitalmente em 20/12/2024 15:37)  
DIEFREY RIBEIRO CAMPOS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ####.####.737-##

Há uns anos uma pessoa me disse que eu chegaria aqui.  
À ela, que acreditou, me amparou, estendeu sua mão nos meus dias mais difíceis e em  
momento nenhum me deixou desistir, eu dedico este trabalho.

Minha amada tia, Maria Aparecida Taveira Pereira.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha professora e orientadora, Drª. Katherina Coumendouros, pela oportunidade de continuar aprendendo e poder chegar até aqui.

Ao meu querido professor, Drº. Fabio Barbour Scott, eu agradeço pelo acolhimento, pela confiança e por toda ajuda dedicada a mim durante esses anos.

Ao meu co-orientador, Drº Diefrey Ribeiro Campos, meu amigo, eu agradeço por todos esses anos em que segurou a minha mão. Agradeço pelo amparo, pela paciência, pelo tempo e pela dedicação. Durante toda a trajetória, sua ajuda e aproximação me fizeram admirá-lo ainda mais como profissional e como ser humano. Obrigada para sempre, meu amigo.

À minha amiga, Drª Gabriela Ferreira de Oliveira, eu agradeço por estar ao meu lado em mais essa etapa. Todo o aprendizado e todas as conquistas desde que comecei como sua estagiária no ano de 2013, me fazem olhar para trás com muito carinho e muita gratidão por todos os momentos.

Agradeço à minha amiga Jéssica D'Ávila de Assis por toda sua ajuda, companhia, e organização na colônia de *Cochliomyia hominivorax*. Sou grata pelo tempo que passamos naquela salinha e cada história que fizemos aquelas moscas testemunharem. Obrigada, amiga.

Agradeço ao Eduardo Fellipe Melo Santos Soares, pela competência e responsabilidade.

Agradeço a toda equipe do Setor de Delineamento e Análises Farmacêuticas do LQEPV, em especial à professora Drª Yara Peluso Cid, Thais Paes, Taynara Monsores e Silva e Mathias Pittizer da Silva.

Agradeço a professora Drª. Thais Ribeiro Correia Azevedo que sempre me incentivou e dedicou o seu tempo para me ajudar.

Ao Bruno de Toledo Gomes eu agradeço por ter o privilégio de conviver, crescer, evoluir e caminhar ao lado. Eu agradeço por seu amor, respeito e incentivo para realizar meus sonhos e seguir adiante.

À minha mãe, Lêda Taveira Medeiros, eu agradeço por ser a minha maior incentivadora. Sua confiança e o seu amor me fortalecem, amparam e me encorajam. Obrigada por estar ao meu lado.

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

Agradeço FAPUR (Fundação de Apoio à Pesquisa da Universidade Rural) pelo apoio financeiro.

Ter a certeza de estar no caminho certo, no momento certo e no lugar certo. O privilégio desse sentimento me faz agradecer todos os dias.

Agradeço aos meus mentores espirituais que me protegem e me guiaram até aqui.

## **BIOGRAFIA**

Monique Taveira Medeiros nasceu na cidade de Barra do Piraí, RJ, no dia 26 de janeiro de 1986, filha de Lêda Taveira Medeiros e Cláudio Luiz Medeiros (*in memorian*). Em 2006 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Severino Sombra - Vassouras, RJ, onde cursou até o sétimo período até o ano de 2009. Em 2010, participou de processo seletivo de transferência externa e ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Durante a graduação, estagiou no laboratório de Imunologia da UFRRJ em 2011, foi monitora da disciplina de Virologia Veterinária nos anos 2012 e 2013 e estagiária do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária nos anos de 2013 a 2014. Graduou-se em Medicina Veterinária em agosto de 2014. Em março de 2015 ingressou no Curso de Pós-Graduação – Residência em Área Profissional da Saúde, Programa de Residência em Medicina Veterinária – Diagnóstico em Parasitologia Animal. Em fevereiro de 2017 concluiu o Programa de Residência e em março do mesmo ano ingressou no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em nível de mestrado. Em fevereiro de 2019 concluiu o mestrado, e em março do mesmo ano foi admitida em nível de doutorado.

## RESUMO

MEDEIROS, Monique Taveira. **Bioprospecção de Compostos Naturais Voláteis Frente a Larvas de *Cochliomyia hominivorax***. 2024. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in vitro* o potencial inseticida de 15 diferentes OEs e os constituintes majoritários anetol, carvacrol e timol frente a larvas de *Cochliomyia hominivorax*. Neste estudo foram utilizadas larvas de terceiro estágio da mosca *C. hominivorax* mantidas em uma colônia laboratorial. Foram avaliados a atividade inseticida dos OEs de: *Citrus bergamia*, *C. paradisi*, *Cinnamomum cassia*, *Copaifera reticulata*, *Cymbopogon flexuosus*, *C. winterianus*, *Eugenia caryophyllus*, *Illicium verum*, *Juniperus virginiana*, *Lavandula hybrida*, *Origanum vulgare*, *Pelargonium graveolans*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia sclarea* e *Thymus vulgaris*, dos constituintes majoritários: anetol, carvacrol e timol e o efeito associativo da combinação binária desses três constituintes majoritários. A avaliação da atividade biológica foi realizada a partir do contato da L3 com o papel filtro impregnado a diferentes concentrações do OE. A primeira etapa foi determinar a atividade inseticida dos 15 OEs expondo a larvas a uma faixa de concentração que variou de 2000 – 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Para os OEs que apresentaram percentual de mortalidade de 100% foram determinadas as concentrações letais (CL) 50 e 90, assim como seus constituintes majoritários. Os dados foram tabulados e foi realizado o cálculo do percentual de mortalidade médio para os tempos de 24 e 48 horas após a exposição. Em seguida a CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> foram calculadas utilizando o programa RStudio Team®. Para o efeito associativo foram associados na proporção de 1:1 os constituintes majoritários e o efeito obtido foi calculado no programa CompuSyn versão 1.0, com o nível de significância estatística de  $p < 0,05$  e intervalo de confiança (IC 95%). Na primeira etapa, o percentual de mortalidade foi igual a 100% para os OEs de *I. verum*, *O. vulgare* e *T. vulgaris*. Apresentaram percentual de mortalidade variando de 30 a 60% os OEs de *C. bergamia*, *C. paradisi*, *C. cassia*, *C. flexuosus*, *E. caryophyllus* e *R. officinalis*. Os demais apresentaram percentual de mortalidade inferior a 30%. A CL<sub>50</sub> foram de 417,9 e 559,4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e a CL<sub>90</sub> foi de 913,9 e 1028,1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para o OE de *I. verum* e o anetol, respectivamente, nas avaliações após 48 horas. Para o OE de *O. vulgare* a CL<sub>50</sub> foram de 540,9 e 253,71  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e a CL<sub>90</sub> foram de 1819,3 e 1193,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para as avaliações após 24 e 48 horas. Para o carvacrol CL<sub>50</sub> foram de 970,5 e 931,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e a CL<sub>90</sub> foram de 1700,2 e 1591,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para as avaliações após 24 e 48 horas. Para o OE de *T. vulgaris* a CL<sub>50</sub> foram de 407,1 e 314,8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e a CL<sub>90</sub> foram de 1149,4 e 589,7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para as avaliações após 24 e 48 horas. Para o timol CL<sub>50</sub> foram de 255,7 e 102,3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e a CL<sub>90</sub> 1008,6 e 690,1 foram de  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para as avaliações após 24 e 48 horas. Na análise do efeito associativo das combinações binárias dos constituintes majoritários, foi possível comprovar um efeito antagônico do anetol com o carvacrol e o timol e um efeito sinérgico do carvacrol com o timol. Com base nos resultados expostos, é possível concluir que OEs podem ser uma alternativa para o controle de larvas de *C. hominivorax*, especialmente, os OEs de *I. verum*, *O. vulgare* e *T. vulgaris*, assim como, seus constituintes majoritários.

**Palavras-chave:** óleo essencial, química verde, bicheira, controle

## ABSTRACT

MEDEIROS, Monique Taveira. **Bioprospecting of Volatile Natural Compounds Against *Cochliomyia hominivorax* Larvae.** 2024. 67p. Thesis (Doctorate in Veterinary Sciences). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

The objective of this work was to evaluate the in vitro insecticidal potential of 15 different EOs and the main constituents of anethole, carvacrol and thymol against *Cochliomyia hominivorax* larvae. In this study, L3 of the *C. hominivorax* fly maintained in a laboratory colony were used. The insecticidal activity of EOs of: *Citrus bergamia*, *C. paradisi*, *Cinnamomum cassia*, *Copaifera reticulata*, *Cymbopogon flexuosus*, *C. winterianus*, *Eugenia caryophyllus*, *Illicium verum*, *Juniperus virginiana*, *Lavandula hybrida*, *Origanum vulgare*, *Pelargonium graveolans*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia sclarea* and *Thymus vulgaris* and the major constituents: anethole, carvacrol and thymol and the associative effect of the binary combination of the three major constituents. The evaluation of biological activity was carried out by contacting L3 with filter paper impregnated with different concentrations of EO. The first step was to determine the insecticidal activity of the 15 EOs by exposing the larvae to a concentration range that varied from 2000 – 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . For the EOs that presented a mortality rate of 100%, lethal concentrations (LC) 50 and 90 were determined, as well as their majority constituents. The data were tabulated, and the average mortality percentage was calculated for 24 and 48 hours after exposure. Next, LC50 and LC90 were calculated using the RStudio Team® program and the associative effect was calculated using the CompuSyn version 1.0 program, with a statistical significance level of  $p < 0.05$  and confidence interval (95% CI). In the first stage, the mortality percentage was equal to 100% for the EOs of *I. verum*, *O. vulgare* and *T. vulgaris*. The EOs of *C. bergamia*, *C. paradisi*, *C. cassia*, *C. flexuosus*, *E. caryophyllus* and *R. officinalis* presented a mortality rate ranging from 30 to 60%. The others had a mortality rate of less than 30%. The LC<sub>50</sub> was 417.9 and 559.4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  and the LC<sub>90</sub> was 913.9 and 1028.1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  for *I. verum* EO and anethole, respectively, in the evaluations after 48 hours. For the EO of *O. vulgare*, the LC<sub>50</sub> were 540.9 and 253.71  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  and the LC<sub>90</sub> were 1819.3 and 1193.9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  for evaluations after 24 and 48 hours. For carvacrol, the LC<sub>50</sub> was 970.5 and 931.9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  and the LC<sub>90</sub> was 1700.2 and 1591.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  for evaluations after 24 and 48 hours. For the EO of *T. vulgaris*, the LC<sub>50</sub> were 407.1 and 314.8  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  and the LC<sub>90</sub> were 1149.4 and 589.7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  for evaluations after 24 and 48 hours. For thymol, LC<sub>50</sub> were 255.7 and 102.3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  and LC<sub>90</sub> were 1008.6 and 690.1  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  for evaluations after 24 and 48 hours. In the analysis of the associative effect of binary combinations of the majority constituents, it was possible to prove an antagonistic effect of anethole with carvacrol and thymol and a synergistic effect of carvacrol with thymol. Based on the results presented, it is possible to conclude that EOs can be an alternative for the control of *C. hominivorax* larvae, especially the EOs of *I. verum*, *O. vulgare* and *T. vulgaris*, as well as their majority constituents.

Keywords: essential oil, green chemistry, screwworm, control

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Concentrações dos óleos essenciais de <i>Illicium verum</i> , <i>Origanum vulgare</i> e <i>Thymus vulgaris</i> e seus respectivos constituintes majoritários anetol, carvacrol e timol para determinação das concentrações letais 50 e 90 frente a larvas de terceiro instar de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....	21
<b>Tabela 2</b> Composição química resumida, após análise de cromatografia gasosa, com os constituintes majoritários dos óleos essenciais avaliados neste estudo quanto a atividade larvicida <i>in vitro</i> frente a <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....	24
<b>Tabela 3</b> Percentual de mortalidade médio dos óleos essenciais avaliados na primeira etapa para determinação da atividade inseticida frente a larvas de terceiro instar de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....	27
<b>Tabela 4</b> Percentual de mortalidade médio e concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de <i>Illicium veurm</i> e seu constituinte majoritário anetol frente a larvas de terceiro estágio de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....	31
<b>Tabela 5</b> Percentual de mortalidade médio e concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i> e seu constituinte majoritário carvacrol frente a larvas de terceiro estágio de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....	32
<b>Tabela 6</b> Percentual de mortalidade médio e concentração letal 50 e 90 do óleo essencial <i>Thymus vulgaris</i> e seu constituinte majoritário timol frente a larvas de terceiro estágio de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....	33
<b>Tabela 7</b> Efeito associativo das combinações binárias de anetol, carvacrol e timol frente a larvas de terceiro instar de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....	36

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> Lista de plantas que tiveram a eficácia do seu óleo essencial testado <i>in vitro</i> frente a larvas de diferentes espécies da família Calliphoridae. (continua) .....	16
<b>Quadro 2</b> Lista das principais informações acerca dos óleos essenciais utilizados no estudo. ....	19



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Percentual de mortalidade nas diferentes concentrações (em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para o anetol (A), carvacrol (C), timol (T) e suas combinações binárias após 24 horas de exposição das larvas de terceiro instar de *Cochliomyia hominivorax*..... 35
- Figura 2** Percentual de mortalidade nas diferentes concentrações (em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para o anetol (A), carvacrol (C), timol (T) e suas combinações binárias após 48 horas de exposição das larvas de terceiro instar de *Cochliomyia hominivorax*..... 35

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	3
<b>2.1 Taxonomia, Morfologia e Biologia <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....</b>	3
<b>2.2 Epidemiologia .....</b>	5
<b>2.3 Contexto no Conceito de “Uma Só Saúde” .....</b>	6
<b>2.3.1 Classificação das miíases.....</b>	6
<b>2.3.2 Miíases em animais.....</b>	7
<b>2.3.3 Miíases em humanos.....</b>	8
<b>2.3.4 Papel ecológico de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....</b>	8
<b>2.4.3 Impacto ambiental do uso de inseticidas .....</b>	9
<b>2.4 Controle .....</b>	9
<b>2.4.1 Controle químico .....</b>	10
<b>2.4.2 Resistência parasitária .....</b>	12
<b>2.5 Uso de Subprodutos Vegetais no Controle de Artrópode de Importância em Saúde</b>	13
<b>2.6 Óleos essenciais no Controle de Califórideos .....</b>	15
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	18
<b>3.1 Origem do Material Biológico .....</b>	18
<b>3.2 Obtenção dos Óleos Essenciais .....</b>	18
<b>3.4 Delineamento Experimental .....</b>	20
<b>3.4.1 Teste de determinação da atividade inseticida .....</b>	20
<b>3.4.2 Determinação das concentrações letais 50 e 90.....</b>	20
<b>3.4.3 Avaliação do Efeito Associativo do Anetol, Carvacrol e Timol.....</b>	20
<b>3.5 Preparo das Diluições.....</b>	21
<b>3.6 Avaliação da Atividade Larvicida.....</b>	22
<b>3.7 Análise dos Dados .....</b>	22
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	24
<b>4.1 Composição Química dos Óleos Essenciais .....</b>	24
<b>4.2 Atividade Inseticida de Diferentes Óleos Essenciais Frente à Larvas de <i>Cochliomyia hominivorax</i> .....</b>	27
<b>4.3 Determinação da Concentração Letal .....</b>	30
<b>4.4 Determinação do Efeito Associativo .....</b>	34
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	38

<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	39
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	41



## 1 INTRODUÇÃO

A mosca *Cochliomyia hominivorax* é uma mosca comumente conhecida como “mosca da bicheira”, “mosca varejeira” ou no inglês com o termo “screwworms ou new world blowflies”. Este inseto possui um ciclo de vida holometábolo e suas larvas são biontófagas, ou seja, são adaptadas a se alimentar de tecidos vivos de vertebrados, sobretudo mamíferos. O parasitismo dessas larvas no tecido do hospedeiro causa um quadro clínico importante chamado de miíase, que no caso desta espécie é do tipo cutânea ulcerativa.

Possui sua distribuição por todo o continente americano, do sul dos Estados Unidos, até o extremo sul da América do Sul, com exceção do Chile. Desde a década de 90 foram gradativamente erradicadas, com a técnica do inseto estéril da América do Norte e Central e, apesar de surtos esporádicos, não ocorrem nesses países atualmente.

Sua importância em saúde se deve a proporção e gravidade que suas lesões podem tomar. Para animais de companhia e seres humanos causam lesões extensas e dolorosas. No entanto, o maior impacto devido ao parasitismo por esse díptero se dá na pecuária, sobretudo na criação de bovinos. Já que podem causar grande mortalidade de neonatos devido a infestação de umbigos mal curados. Além disso, feridas causadas por traumas, cirurgias ou parasitismo por outros artrópodes (como por exemplo *Rhipicephalus microplus* e *Dermatobia hominis*) podem ser porta de entrada para o acometimento cutâneo que pode levar ao desenvolvimento de feridas extensas que levam a redução da produtividade e descarte do couro. Atualmente, estima-se que milhões de dólares são gastos por ano para o controle e prevenção do parasitismo por larvas deste díptero.

No Brasil, o uso de ectoparasiticidas é a principal ferramenta para controle e diversas classes de inseticidas já foram descritas apresentando eficácia frente a infestação por larvas de *C. hominivorax*. Dentre elas pode-se destacar: os organofosforados, piretróides, fenilpirazoles, lactonas macrocíclicas, neonicotinóides e as isoxazolinas. Apesar de ainda eficazes, populações que expressam genes relacionados a resistência parasitária, principalmente a organofosforados e piretróides, já estão sendo descritos em diversas populações na América, o que pode se tornar um problema futuro para o controle das larvas desta mosca.

Além do surgimento de populações resistentes, uma outra preocupação mundial é no impacto ambiental causado pelo uso ostensivo de ectoparasiticidas nos diferentes ecossistemas e seu impacto na saúde humana e de animais.

Com base nesses dois pilares, pesquisas vêm sendo desenvolvidas nos últimos anos na tentativa de encontrar novos produtos para serem usados em populações resistentes de parasitos e que, ao mesmo tempo, sejam menos nocivos para o ambiente. Neste contexto, subprodutos vegetais, como extratos e óleos essenciais, estão sendo estudados na tentativa de mitigar esses efeitos.

Óleos essenciais são substâncias voláteis, produzidas pelo metabolismo secundário de plantas, que possuem diversas atividades biológicas, como: antioxidantes, cicatrizantes, antineoplásicas, analgésicas, bactericidas, fungicida, nematodicidas, inseticidas e acaricidas. Inicialmente seu uso foi empregado no desenvolvimento de formas alternativas de controle de artrópodes que são considerados problemas para o armazenamento de grãos e, recentemente, seu uso tem sido explorado para o controle de artrópodes de importância para saúde, como mosquitos, moscas, pulgas e carapatos.

São escassos os trabalhos publicados que demonstram a ação desses óleos essenciais frente a califorídeos. A maior parte dos trabalhos publicados são frente a espécies capazes de atuarem como causadores de miíases secundárias, como os gêneros *Calliphora*, *Chrysomyia* e *Lucilia*.

Por este motivo, os objetivos deste trabalho foram:

- avaliar a atividade inseticida de 15 diferentes OEs frente a larvas de terceiro instar de *C. hominivorax*;
- determinar a concentração letal 50 e 90 dos óleos essenciais de *Illicium verum*, *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* assim como de seus constituintes majoritários o anetol, carvacrol e timol, respectivamente frente a larvas de terceiro instar de *C. hominivorax*.
- determinar o efeito associativo do anetol, carvacrol e timol frente a larvas de terceiro instar de *C. hominivorax*.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Taxonomia, Morfologia e Biologia *Cochliomyia hominivorax*

O primeiro registro desta mosca foi em 1858 pelo médico e entomologista francês Jean Charles Coquerrel, após coleta de larvas em feridas da narina e do seio frontal de um homem detido na prisão da Ilha do Diabo, em Caiena, na Guiana Francesa. Neste momento o inseto recebeu o nome científico de *Lucilia hominivorax* (Coquerrel, 1858). No entanto, até o ano de 1930, seu relato passou despercebido pela comunidade científica e mortes causadas por larvas de dípteros que acometiam lesões cutâneas de seres humanos foram atribuídas a outra espécie deste díptero, *Cochliomyia macellaria*. Tal erro foi corrigido por Cushing e Patton, que notaram a diferença a partir de características morfológicas, e denominaram a nova espécie de *Cochliomyia americana*. Em seguida, foi percebido que se tratava da mesma espécie descrita por Coquerrel e esta passou a ser denominada de *Cochliomyia hominivorax* (Cushing; Patton, 1933).

A classificação taxonômica corresponde a Domínio: Eukarya, Reino Animalia, Filo Arthropoda Classe Insecta, Ordem Diptera, Subordem Brachycera, Família Calliphoridae, Subfamília Chrysomyinae, Tribo Chrysomyini, Gênero *Cochliomyia* (Francesconi; Lupi, 2012).

As moscas adultas podem medir de 8 a 10 mm de comprimento. Na cabeça, apresentam olhos grandes e de coloração avermelhada, sendo os machos holópticos e as fêmeas dicópticas. Na região de parafrontalha, possuem cerdas escuras e um par de antenas divididas em três segmentos: pedicelo, escalo e flagelo. No último segmento antenal está presente a arista, que é bipectinada, e o aparelho bucal, que é do tipo lambedor sugador. O tórax é de coloração metálica, onde estão inserido três pares de patas. Na região do mesonoto estão presentes três linhas negras longitudinais. As asas mesotorácicas são bem desenvolvidas, hialinas, com basicosta com cerdas de cor preta. Apresenta a nervura alar (M1+2) desviada abruptamente para frente, formando o cotovelo sem fechar a célula apical. As asas metatorácicas são pequenas e vestigiais, formando os halteres ou balancins. O abdome também é de coloração metálica com poucas cerdas e sem pilosidade prateada na parte ventral (Freitas *et al.*, 1978).

Os ovos são cilíndricos, brancos e brilhantes, medindo aproximadamente 1,04 mm de comprimento e 0,26 mm de diâmetro, sendo arredondados na extremidade posterior e

achatados na extremidade anterior. São fixados por uma substância gelatinosa expelida pelo aparelho ovipositor, formando uma massa que lhes dá a aparência de telhado (Mastrangelo; Bezerra; Fernandes, 2014; Mastrangelo; Welch, 2012)

As formas larvares possuem um aspecto vermiforme, ou seja, são ápodes e acéfalas. O corpo é cilíndrico, com 12 segmentos corporais. A extremidade anterior é cônica e existe um alargamento progressivo para a região posterior, a qual é truncada obliquamente. A cutícula é recoberta por espinhos ao longo de faixas transversais do corpo, que no final da larva possuem formato de “V”. Apresentam espiráculo circular, com peritrema incompleto. Os estigmas respiratórios se apresentam com formato de dedos separados. O número de estigmas respiratórios é correspondente ao instar larvar. Os troncos traqueais são densamente quitinizados e se prolongam até o terceiro ou quarto segmentos da larva. As pupas são em forma de barril e de cor castanha escura. Têm aproximadamente 10,2 mm e 4,3 mm de comprimento e largura (Freitas *et al.*, 1978; Mendonça *et al.*, 2014).

Esses dípteros possuem o ciclo de vida do tipo holometábolo, ou seja, apresentam metamorfose completa. Os indivíduos adultos emergem do pupário a partir da expansão do ptilíneo, que rompe uma de suas extremidades. Os adultos recém emergidos abrem as asas e permanecem próximo ao local de emergência durante algumas horas para sua quitinização. Estão aptos para se reproduzir alguns dias após a emergência do pupário. Uma fêmea realiza a cópula apenas com um macho durante toda a sua vida. Estes indivíduos se alimentam de açúcares vegetais, sendo que a fêmea pode se alimentar, ocasionalmente, de exsudato da ferida de seus hospedeiros e possuir uma longevidade de 30 a 60 dias (Name *et al.*, 2012; Rodríguez-Hidalgo *et al.*, 2019).

Após a fertilização, são atraídas pelo cheiro do exsudato de feridas de animais de sangue quente, especialmente mamíferos, em que realizam a postura de uma massa de ovos que possui em média 300 ovos. Em toda a sua vida, uma única fêmea pode dar origem a até 3000 ovos. Apesar de não ser o mais comum, também podem realizar postura próximo a aberturas corporais que apresentem umidade suficiente para manter as larvas viáveis (Hammack, 1984; Rubink, 1987).

Após aproximadamente 24 horas da postura dos ovos, ocorre a eclosão das larvas de primeiro instar que irão se desenvolver no material onde foi realizada a postura. Essas larvas passam por duas ecdises, para o segundo (L2) e terceiro (L3) instar larvar respectivamente, em um período de 24 horas a até 5 dias. As larvas de *C. hominivorax* são biontófagas, ou seja, se alimentam do tecido vivo do vertebrado onde foi realizada a

postura, causando miíases primárias, podendo levar a grande lesão tecidual. O período de desenvolvimento total das larvas é de cinco a quatorze dias, dependendo das condições ambientais (Hammack, 1984; Mastrangelo; Bezerra; Fernandes, 2014; Mastrangelo; Welch, 2012).

As L3, após se alimentarem e terminarem o seu desenvolvimento, deixam a ferida e procuram locais secos e protegidos para formarem as pupas. Algumas larvas penetram no solo e tendem a pupar em pequenos buracos escavados na tentativa de fugir de predadores e garantir a emergência de moscas adultas. O período de pupa pode durar de cinco a 14 dias, contudo, em locais com temperaturas mais baixas, esse ciclo pode se estender por mais tempo (Freitas *et al.*, 1978; Hammack, 1984; Rodríguez-Hidalgo *et al.*, 2019).

## 2.2 Epidemiologia

A disseminação deste díptero ocorreu por meio do comércio de animais infestados nas Américas. Atualmente, só existem relatos de infestação por larvas desta mosca no continente americano. Sua área de abrangência vai do sul dos Estados Unidos até a Argentina, incluindo as ilhas do Caribe, estando presente portanto em todas as áreas subtropicais e tropicais e em todos os biomas que compreendem a essa área (Hall; Wall, 1995; King; Bradley, 1935).

Na década de 50, mais precisamente em 1957, foi iniciado o programa de manejo integrado para a erradicação de *C. hominivorax*, por meio do uso da técnica do inseto estéril (SIT – do inglês “Sterile Insect Technique”), no estado da Flórida, Estados Unidos. A completa erradicação no sudoeste deste país foi conseguida no ano de 1982. O programa foi ampliado para o México com a erradicação em 2001 e na América Central em 2004 (Mastrangelo; Welch, 2012).

Anos após a erradicação de *C. hominivorax* nos EUA, em 2016, novos casos de miíases foram reportados em cervídeos selvagens no arquipélago de Florida Keys. Neste período, diversos novos casos foram registrados em animais selvagens e domésticos (cães, gatos e suínos). Contudo, foi novamente iniciado um novo programa de erradicação nas regiões vizinhas, erradicando novamente este díptero em 2017 (Skoda; Phillips; Welch, 2018).

Na década de 1990 relatos de animais e humanos acometidos por *C. hominivorax* surgiram na Líbia, país do norte do continente africano (El-Azazy, 1990, 1992). Não se

sabe ao certo como a introdução desse inseto ocorreu, mas acredita-se tenha sido trazida de uma área endêmica pelo transporte de animais vivos para o país. Em seguida, foi instituído no país medidas de erradicação por meio de SIT (Lindquist, Abusowa; Hall, 1992)

No contexto nacional, o Brasil apresenta registros do parasitismo por larvas deste inseto em praticamente todos os seus estados, com exceção de Alagoas (Costa-Júnior *et al.*, 2019). Vários fatores estão relacionados com o aumento da prevalência de miíases causadas por este díptero, dentre eles: mudanças climáticas, desmatamento constante, aumento da produção e concentração de animais em pequenas áreas. Sua prevalência é maior nos meses com maiores temperaturas e umidade, que coincide com o período de setembro a março (Barros; Bricarello, 2020). Desde 2013, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) inclui infestações por larvas de *C. hominivorax* (Brasil, 2013)

No que diz respeito a hospedeiros, as larvas de *C. hominivorax* podem parasitar qualquer vertebrado de sangue quente. Dentre as espécies domésticas, já existem relatos descrevendo o parasitismo em bovinos (Costa-Júnior *et al.*, 2019), caprinos (Suassuna; Bezerra *et al.*, 2010), ovinos (Barros *et al.*, 2024), cães (Cramer-Ribeiro *et al.*, 2003; Muñoz; Caceres; León, 2020), gatos (Mendes-De-Almeida *et al.*, 2007; Pezzi *et al.*, 2019), cavalos, coelhos (Jenkins, 2001) e porcos (Altuna *et al.*, 2021; Siqueira *et al.*, 2020). Humanos também podem ser acometidos por larvas deste díptero, podendo muitas vezes estar relacionado a casos de negligência (Batista-Da-Silva; Moya-Borja; Queiroz, 2011; Martins; Barbosa; Gama, 2021). Apesar de relatos de aves acometidas por esta espécie, os relatos são escassos, com um relato de um avestruz. Portanto, para aves essas moscas não parecem ter um papel importante como causador de enfermidades parasitárias (Almeida *et al.*, 2008).

## 2.3 Contexto no Conceito de “Uma Só Saúde”

### 2.3.1 Classificação das miíases

O termo miíase vem do latim: *myia* = moscas; *ase* = doença, portanto, se refere às enfermidades parasitárias ocasionadas pela infestação por larvas de dípteros em vertebrados vivos, podendo acometer a pele, cavidades ou órgãos, e durante esse período se alimentar de tecidos, líquidos intersticiais ou alimento não digerido do hospedeiro (Francesconi; Lupi, 2012; Guimarães; Papavero; Prado, 1982; Zumpt, 1965).

Quanto a sua localização anatômica / clínica, as miíases podem ser classificadas em: cutânea - furuncular ou ulcerada; cavitária - acomete boca, narinas, olhos e orelhas; e orgânica - acomete cavidade de órgãos como estômago ou intestino. Quanto à ecologia das larvas, estas podem ser consideradas biontófagas, ou seja, se alimentam de tecido vivo do hospedeiro, e necrobiontófagas, que se alimentam de tecido em decomposição. Também podem ser classificados quanto a sua etiologia em: específicas (ou primárias); semi-específicas (ou secundárias) e pseudomiíases (ou accidental). Miíases causadas por *C. hominivorax* são do tipo específica, cutânea ulcerativa e com larvas biontófagas (Guimarães; Papavero; Prado, 1982).

### **2.3.2 Miíases em animais**

O parasitismo causado pelas larvas deste díptero em animais é responsável por um grande impacto econômico, devido à perda de animais e seus subprodutos (carne, couro, leite) e ao gasto com medicações para o controle de sua infestação. É estimado que na América do Sul exista um impacto econômico de 3,6 bilhões de dólares devido ao seu parasitismo (Tandonnet *et al.*, 2023; Vargas-Terán *et al.*, 2021), enquanto no Brasil, a perda econômica associado à produção de bovinos é de aproximadamente 0,3 milhões de dólares (Grisi *et al.*, 2014).

As fêmeas são atraídas pelo odor do exsudato de feridas para realizar sua postura. Desta forma, essas moscas precisam de feridas pré-existentes para estabelecer sua infestação (Torr; Hall, 1992). Por este motivo, feridas promovidas pelo parasitismo intenso de carapatos, como por exemplo *R. microplus*, ou pela expulsão de larvas de *D. hominis* podem ser atrativas (Reck *et al.*, 2014; Ruiz-Martínez *et al.*, 1996). Feridas ocasionadas por brigas, acidentes ou manejo inadequado de feridas cirúrgicas também podem favorecer a infestação por este díptero em animais (Cramer-Ribeiro *et al.*, 2003; Pezzi *et al.*, 2019).

Na bovinocultura é onde existe maior número de relatos de parasitismo por larvas desse díptero, estando a maior parte deles localizados na região Sudeste e Centro Oeste (Costa-Júnior *et al.*, 2019). Em bezerros, o principal local de instalação são os umbigos mal curados, o que está diretamente relacionado à alta mortalidade desses animais logo após o nascimento (Benitez Usher *et al.*, 1997). Em animais adultos está relacionado com a queda de produção, ou seja, menor ganho de peso e menor produção de leite. Além de

causar extensas lesões na pele dos animais, que podem resultar em depreciação e descarte do couro (Grisi *et al.*, 2014).

Para animais de companhia, miíases são responsáveis por ocasionar feridas ulcerativas e dolorosas, que podem se tornar de complicado manejo e tratamento. Para alguns animais pode resultar em cirurgias mutilantes devido à extensão das lesões (Cramer-Ribeiro *et al.*, 2003; Mendes-De-Almeida *et al.*, 2007; Pezzi *et al.*, 2019, 2021).

### **2.3.3 Miíases em humanos**

Para a Organização Mundial da Saúde, miíase é uma zoonose grave que exige rápido tratamento após o seu diagnóstico. Em humanos, os casos de miíase por larvas de *C. hominivorax* está relacionado a situações em que existam condições favoráveis ao aumento de moscas, como más condições de higiene associado ao baixo nível socioeconômico. Pessoas que possuam algum grau de comprometimento motor, pacientes com doenças crônicas e imunossuprimidos são mais comumente acometidos (Barros; Bricarello, 2020; Batista-Da-Silva; Moya-Borja; Queiroz, 2011).

### **2.3.4 Papel ecológico de *Cochliomyia hominivorax***

É importante ressaltar que, apesar do grande impacto econômico causado por *C. hominivorax* na produção animal, para animais de companhia e para o homem, este mesmo díptero exerce importantes interações ecológicas, como parasitismo, predatismo, comensalismo e até mesmo competição, já descrita para esta mosca, possuindo papel importante para a manutenção do ecossistema (Etchevers *et al.*, 2022).

Adultos de *C. hominivorax* se alimentam de açúcares vegetais, como por exemplo, néctar de flores, sendo um importante polinizador nas regiões de sua ocorrência (Heath, 1982; Oliveira; Rech, 2018). Somado a isso, o parasitismo por larvas desta mosca, devido ao seu hábito alimentar voraz, é responsável por ocasionar controle da população de animais selvagens. Um exemplo clássico desse descontrole é o aumento de número de cervídeos no sul dos Estados Unidos após a erradicação da mosca, ocasionando deslocamento desses animais para áreas periurbanas e aumentando o número de acidentes automobilísticos envolvendo esses animais (Parker *et al.*, 2020; Skoda; Phillips; Welch, 2018).

#### **2.4.3 Impacto ambiental do uso de inseticidas**

É crescente a preocupação global devida à contaminação ambiental com produtos destinados ao controle de artrópodes, sejam eles utilizados na agricultura ou na medicina veterinária (Ilbeigi *et al.*, 2024). Os efeitos crônicos da exposição a estes produtos, em altas ou baixas doses, ainda são incertos, apesar de sabido que são prejudiciais para o ambiente, seres humanos e animais. Os inseticidas utilizados na agricultura ainda são os maiores responsáveis pela contaminação ambiental, devido à grande quantidade de produtos que são utilizados para mitigar a destruição de lavouras (Gunnarsson *et al.*, 2008). Contudo, muitos ectoparasiticidas veterinários são oriundos de defensivos agrícolas e, apesar de não existirem estudos com a real contribuição, já existem diversos trabalhos demonstrando que também desempenham importante papel na contaminação do ambiente (Koschorreck; Koch; Rönnefahrt, 2002).

Apesar de, em sua grande maioria, apresentarem alta especificidade frente a artrópodes, ainda são capazes de causar intoxicações em mamíferos. No entanto, não apresentam seletividade quando é pensado em ácaros e insetos de vida livre (não parasitos), que apresentam importante papel ecológico para a manutenção e dispersão de diferentes formas de vida (Lumaret *et al.*, 2012). Um exemplo clássico é o grande risco que populações de abelhas enfrentam depois do uso de inseticidas da classe dos neonicotinoides (Blacquiére *et al.*, 2012; Van Der Sluijs *et al.*, 2013) e do inibidor de crescimento de inseto piriproxifen (Chen *et al.*, 2016; Devillers; Devillers, 2020).

A contaminação de coleções de águas devida ao uso destes inseticidas na agricultura coloca em risco a sobrevivência de organismos aquáticos (Budd *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2024). Além disso, a mesma água é utilizada para consumo e para a irrigação de alimentos que serão destinados à alimentação de humanos e animais (Poudel *et al.*, 2020). Devido à preocupação com os efeitos desta contaminação a longo prazo, a União Europeia e as agências regulatórias dos Estados Unidos têm aumentado a fiscalização e retirado produtos com alto potencial de toxicidade do mercado, como aconteceu recentemente com a proibição do uso de organofosforados em países da Europa (Chupeau *et al.*, 2020).

### **2.4 Controle**

O controle de *C. hominivorax* é realizado na maior parte dos países das Américas com o uso de inseticidas. Populações dessa mosca foram erradicadas no final dos anos 1990 e 2000 na América do Norte e Central com o uso da técnica do inseto estéril, contudo, nos demais países o uso de antiparasitários ainda é uma realidade. Devido ao uso indiscriminado destes produtos, populações resistentes desse díptero vêm aumentando, especialmente às classes de organofosforados e piretróides. Nesse contexto, buscas por alternativas que visem diminuir a resistência parasitária e reduzir os impactos ambientais vêm sendo desenvolvidas, como por exemplo, o uso de subprodutos vegetais e uso de técnicas de biotecnologia no controle desses artrópodes (Etchevers *et al.*, 2022).

#### **2.4.1 Controle químico**

Atualmente, diversas classes de antiparasitários estão disponíveis para o controle de larvas de *C. hominivorax*. Dentre elas podemos citar: organofosforados (Assis De Carvalho, 2007), piretróides (Miller; Oehler; Kunz, 1983), fenilpirazoles (Lima *et al.*, 2004), lactonas macrocíclicas (Eddi; Nari; Caracostantogolo, 2002), neonicotinoides (Correia *et al.*, 2010; Miranda *et al.*, 2020) e isoxazolinas (Do Vale *et al.*, 2023; Oliveira *et al.*, 2019).

Os organofosforados foram amplamente utilizados na agricultura para o controle de pragas, até que na década de 1950 seu uso foi aplicado na medicina veterinária para o controle de artrópode e, para algumas moléculas específicas, também de helmintos. Essas moléculas agem no sistema nervoso de artrópodes, atuando como inibidores irreversíveis da enzima acetilcolinesterase, interrompendo a transmissão do impulso nervoso e levando o parasito à morte (Gupta, 2006). São utilizados na forma de banhos de aspersão, imersão ou a partir de formulações tópicas em “spray”, aerossóis ou “pour on” no tratamento de miíases, sobretudo com indicações para grandes animais (Akre, 2016). É a mais antiga classe de antiparasitários utilizada para o controle de miíases, sobretudo em animais de produção, principalmente bovinos (Cortinas; Jones, 2006). No entanto, é crescente o número de relatos de desenvolvimento de resistência parasitária a este grupo (Carvalho *et al.*, 2009a). Somado a isso, devido ao seu alto efeito residual e potencial tóxico, está causando danos direto à saúde (De Silva; Samarawickrema; Wickremasinghe, 2006).

Os piretróides são os primeiros produtos sintéticos produzidos a partir de produtos naturais. Oriundos das piretrinas, que foram originadas de extratos da planta *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Asteraceae), possuíam excelente atividade inseticida

e foram a base para a produção dos piretróides sintéticos (Ensley, 2018a). Com ação acaricida e inseticida, estão disponíveis no mercado com indicação para o tratamento de miíases nas formulações de concentrados emulsionáveis e “pour on” (Akre, 2016; Anadón; Martínez-Larrañaga; Martínez, 2009). No controle de miíases causadas por larvas de *C. hominivorax*, são utilizados principalmente na forma de concentrados emulsionáveis para aspersão ou imersão. Usualmente são associados a organofosforados na composição dos produtos, para aumentar sua eficácia e mitigar a resistência já demonstrada às duas classes de ectoparasiticidas (De Carvalho *et al.*, 2010).

O fipronil é o principal representante dos fenilpirazoles no mercado mundial (Gupta; Anadón, 2018). Está presente nas formulações tópicas (aerossol, “pour on” e “spot on”) (Lima *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2017), injetável (Montes *et al.*, 2016) e comprimido (Dos Santos *et al.*, 2022). No entanto, somente sua formulação em aerossol possui indicação para o tratamento de miíases. Seu mecanismo de ação é por bloqueio inibitório sobre o receptor GABA, causando paralisia e morte do artrópode (Gupta; Anadón, 2018). Sua eficácia frente a larvas de *C. hominivorax* já foi comprovada em testes *in vivo* (Lima *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2017).

As lactonas macrocíclicas são um grupo de antiparasitários com amplo espectro de ação, por possuírem eficácia contra artrópodes (ácaros e insetos) e helmintos (nematoídes) (Mckellar; Gokbulut, 2012). Estão divididas em dois grandes grupos, as avermectinas e milbemicinas (Nolan; Lok, 2012). Atuam de maneira inibitória sobre os receptores GABA, causando paralisia do parasito e consequentemente sua morte (Martin; Robertson; Wolstenholme, 2002). Atualmente estão presentes nas formulações tópicas (“spot on” e “pour on”), injetável e oral para o tratamento de miíases. As lactonas que possuem eficácia comprovada frente a larvas de *C. hominivorax* em ensaios *in vivo* são: ivermectina (Anziani *et al.*, 2000; Gealh *et al.*, 2009; Moya-Borja *et al.*, 1997), doramectina (Moya-Borja *et al.*, 1993; Muniz *et al.*, 1995) e abamectina (Anziani; Guglielmone; Aguirre, 1996).

Os neonicotinoides pertencem a uma classe de ectoparasiticidas que se destacam devido a sua excelente atividade inseticida (Ensley, 2018b). Estão presentes nas formulações tópicas (“spot on”) e orais (McCoy; Broce; Dryden, 2008; Murphy; Ball; Gross, 2009; Varloud; Fourie, 2015). Possuem mecanismo de ação atuando como agonistas da acetilcolina, se ligando constantemente aos receptores nicotínicos pós-sinápticos e promovendo hiperexcitabilidade do sistema nervoso central e morte dos insetos (Ensley, 2018b). Exemplos de neonicotinoides utilizados na medicina veterinária

no controle de artrópodes são: nitempiram, imidacloprid e dinotefuran. No entanto, no controle de larvas de *C. hominivorax*, somente existem trabalhos científicos com o nitempiram administrado por via oral (Correia *et al.*, 2010; Gealh *et al.*, 2009; Han *et al.*, 2018).

A classe das isoxazolinas é a mais recente de ectoparasiticidas presente no mercado mundial. Podem ser administrados por via tópica (“spot on” ou “pour on”), injetável ou oral. São potentes inibidores do sistema nervoso de artrópodes, atuando diretamente nos receptores do tipo GABA (Zhou; Hohman; Hsu, 2022). Exemplos de moléculas pertencentes a essa classe que possuem eficácia *in vivo* frente a larvas de *C. hominivorax* são: fluralaner (Da Costa *et al.*, 2023), afoxolaner (Cutolo *et al.*, 2021; Han *et al.*, 2018), sarolaner (Oliveira *et al.*, 2019) e lotilaner (Do Vale *et al.*, 2023).

#### **2.4.2 Resistência parasitária**

A resistência parasitária pode ser caracterizada como a capacidade de um determinado parasito a sobreviver a doses terapêuticas de um antiparasitário. A capacidade de “resistir” é herdada, pois indivíduos que sobrevivem a tratamentos podem transferir essa capacidade para seus descendentes. Os genes que estão associados à resistência, normalmente, são raros e são selecionados ao longo do tempo. Normalmente, todo parasito vai desenvolver resistência a um produto antiparasitário a longo prazo, o grande problema é a pressão de seleção como tratamentos errados que aceleram esse mecanismo, reduzindo o processo que duraria décadas para poucos anos (Nolan, 1985; Sangster, 2001).

Diversos parasitos de interesse veterinário já desenvolveram resistência parasitária a diferentes classes de antiparasitários: nematoides (Fleming *et al.*, 2006; Scott; Bishop; Pomroy, 2015), carrapatos (Guerrero; Lovis; Martins, 2012; KUMAR, 2019), pulgas (Rust, 2016), mosquitos (Hardy, 2020; Liu, 2015) e moscas (Acevedo; Zapater; Toloza, 2009; Li; Lohmeyer; Miller, 2009; Reissert-Oppermann *et al.*, 2019)

Atualmente, são conhecidos três mecanismos adaptativos de insetos para o desenvolvimento de resistência aos inseticidas, que seriam (Hemingway, 2000; Hemingway *et al.*, 2004):

1. capacidade de reduzir a penetração do inseticida através da cutícula;
2. aumento da expressão/produção de enzimas de detoxificação de toxinas; e
3. redução na sensibilidade do receptor no sistema nervoso.

Aumento na produção de enzimas de detoxificação é o mecanismo mais eficiente e que é mais comumente utilizado por insetos resistentes, fazendo com que as concentrações de inseticidas rapidamente se reduzam no corpo do artrópode. Dentre essas enzimas, as esterases estão relacionadas a este processo e já foram identificadas em diversas ordens de insetos que apresentam resistência, sobretudo a organofosforados (Oakeshott *et al.*, 2005). Para *C. hominivorax*, já foram identificadas mutação nos genes responsáveis pela produção de carboxiesterases E3, responsável pela detoxificação de piretroides e organofosforados (Carvalho *et al.*, 2009; de Carvalho *et al.*, 2010).

Na tentativa de reduzir a seleção desses insetos, é recomendado o manejo integrado com o controle químico de, por exemplo, técnicas de biotecnologia, uso de produtos naturais ou controle biológico (Sangster, 2001).

## **2.5 Uso de Subprodutos Vegetais no Controle de Artrópode de Importância em Saúde**

Atualmente, o uso de inseticidas e acaricidas para promover o controle de artrópodes que causam problemas na agricultura ou veterinária tem favorecido a contaminação de recursos com seus resíduos. A maior parte das pesquisas publicadas atualmente aponta para os efeitos agudos da exposição destes produtos, no entanto, pouco se sabe sobre a exposição crônica (Lopes; Albuquerque, 2018).

Na tentativa de tornar o planeta um ambiente sustentável, surgiu o conceito de química verde, que é definido como um ramo da ciência que busca alternativas para reduzir a degradação do ambiente. Uma das formas desta modalidade atingir seu objetivo é no estímulo a pesquisa de produtos que sejam menos tóxicos e danosos ao meio ambiente e à saúde de homens e animais (Li; Anastas, 2012).

Plantas e seus subprodutos são utilizados há muitos anos para o tratamento de enfermidades em humanos e animais. Algumas destas propriedades já são conhecidas e comprovadas cientificamente, enquanto outras estão firmadas apenas na crença e sabedoria popular. Neste contexto, temos o surgimento da etnoveterinária, que é a ciência que estuda a aplicação de conhecimentos populares sobre plantas medicinais no tratamento de enfermidades em animais (Gonçalves; Barberini; Furtado, 2022). Nos últimos anos têm aumentado a pesquisa para comprovação da capacidade terapêutica de plantas e seus subprodutos em diversas áreas de conhecimento. No que diz respeito ao

controle parasitário, seria uma opção que iria agredir menos o ambiente e ser uma futura alternativa para populações resistentes de parasitos (Šrbac *et al.*, 2023).

Dentro dos subprodutos vegetais que atualmente apresentam aplicabilidade no controle de artrópodes de importância para animais, podemos destacar os extratos vegetais e os óleos essenciais (Antonio *et al.*, 2015; Ritter *et al.*, 2012).

Extratos vegetais podem ser definidos como um grupo de substâncias extraídas de uma planta, ou parte dela, com o auxílio de um líquido extrator. O líquido utilizado pode variar de acordo com a sua polaridade e dependendo do tipo de substância que se quer extrair (Sofowora, 1996). Para artrópodes de importância para animais o uso de extratos vegetais já demonstrou ser eficaz frente a indivíduos das ordens Ixodida (Gardulf; Wohlfart; Gustafson, 2004; Politi *et al.*, 2012), Phthiraptera (Bagavan *et al.*, 2011; Cestari *et al.*, 2004), Siphonaptera (Banuls *et al.*, 2023; Ribeiro *et al.*, 2008), Hemiptera (Coelho; Paula; Espíndola, 2006) e Diptera (Ridha *et al.*, 2024; Tian *et al.*, 2024).

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, são uma mistura de substâncias que possuem complexidade variável. São lipossolúveis, são líquidos, incolores, em temperatura ambiente podem ser voláteis, e em sua maioria possuem densidade menor do que a da água (Sell, 2020). Diversas classes químicas podem fazer parte da composição de óleos essenciais (álcoois, ésteres, cetonas, lactonas), no entanto, duas estão presentes em maior proporção na sua composição: os terpenos e os fenilpropanoides (Manion; Widder, 2017). Terpenos são compostos orgânicos formados por uma ou duas cadeias isoprénicas (C5). Podem ser classificados como monoterpenos quando apresentam duas unidades isoprénicas (C10) ou sesquiterpenos quando apresentam três unidades isoprénicas (C15). Já os fenilpropanoides são originados a partir da junção do aminoácido fenilalanina e uma cadeia radical de três carbonos (Hanif *et al.*, 2019).

Essas substâncias apresentam diferentes atividades biológicas e aplicações dentro da medicina e da veterinária, como: antioxidantes, quimioterápicos, bactericidas, fungicidas, anti-inflamatórios, inseticidas, acaricidas e repelente de artrópodes (Hanif *et al.*, 2019; Manion; Widder, 2017; Sell, 2020).

Pesquisas para o uso de óleos essenciais no controle de artrópodes como uma possível substituição ou redução considerável no uso de inseticidas / acaricidas sintéticos vêm crescendo em todo mundo (Benelli; Pavela, 2018; Ellse; Wall, 2014; Tavares *et al.*, 2018). Isso ocorre principalmente devido ao fato de serem produtos biodegradáveis e permanecerem menos tempo contaminando ambientes (Ferraz *et al.*, 2022).

Apesar do mecanismo de ação dos óleos essenciais não serem completamente elucidados, podem atuar causando danos variados em diferentes sítios dos artrópodes, como por exemplo, inibição do citocromo P450, dos receptores GABA, inibição da acetilcolinesterase (AchE) e modulação do sistema octopaminérgico (Benelli; Pavela, 2018; Chaaban *et al.*, 2017).

Na medicina veterinária, para o controle de artrópodes, óleos essenciais têm se demonstrado possuir atividade inseticida e acaricida em testes *in vitro* frente a diferentes grupos de ectoparasitos (Benelli; Pavela, 2018). No entanto, o baixo efeito residual desses compostos pode limitar seu uso para o controle de forma preventiva para infestações (Ellse; Wall, 2014). Apesar disso, pesquisas para o desenvolvimento de formulações que usam óleos essenciais ou seus constituintes isolados para controle de ectoparasitos de animais têm sido desenvolvidas para corrigir suas limitações, no entanto, tudo em caráter *in vitro* (Oliveira *et al.*, 2022; Tadee *et al.*, 2024).

## 2.6 Óleos essenciais no Controle de Califorídeos

O uso de óleos essenciais tem demonstrado ser promissor no controle de diversos dípteros de importância em saúde. A maioria dos trabalhos publicados na literatura mundial é utilizando esses subprodutos vegetais contra insetos da subordem Nematocera sendo a família Culicidae, com os gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* sendo os mais relatados (Hillary; Ceasar; Ignacimuthu, 2024; Kaushik *et al.*, 2023; Mishra, 2024).

Dentre os dípteros pertencentes à subordem Brachycera, o maior número de trabalhos publicados com o uso de óleos essenciais é frente a parasitos da família Muscidae, principalmente para a espécie *Musca domestica* (Cook, 2020; Pavela, 2008). Dentre os califorídeos, foi possível identificar que 37 óleos essenciais já foram avaliados até o momento frente a larvas de diferentes gêneros e espécies desta família (Tabela 1). Existem relatos de dois óleos essenciais, *Cymbopogon winterianus* e *Baccharis dracunculifolia* frente a larvas de *C. hominivorax* (Bricarello *et al.*, 2021a; Seugling *et al.*, 2019). Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos demonstrando a atividade do anetol, carvacrol e timol frente a califorídeos.

**Quadro 1.** Lista de plantas que demonstraram atividade inseticida do seu óleo essencial testado *in vitro* frente a larvas de diferentes espécies da família Calliphoridae. (continua)

<b>Planta</b> <b>Espécie</b>	<b>Família</b>	<b>Família Calliphoridae</b> <b>Espécie</b>	<b>Referência</b>
<i>Aloysia citrodora</i>	Verbenaceae	<i>Calliphora vomitoria</i>	(Farina <i>et al.</i> , 2021)
<i>Bursera graveolens</i>	Burseraceae	<i>C. vomitoria</i>	(Farina <i>et al.</i> , 2021)
<i>Lippia sidoides</i>	Verbenaceae	<i>Chrysomya megacephala</i>	(Santos <i>et al.</i> , 2023)
<i>Allium sativum</i>	Amaryllidaceae	<i>C. vomitoria</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2020)
<i>Artemisia annua</i>	Asteraceae	<i>C. vomitoria</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2017)
<i>Artemisia dracunculus</i>	Asteraceae	<i>C. vomitoria</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2017)
<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Asteraceae	<i>C. hominivorax</i> e <i>C. macellaria</i>	(Chaabani <i>et al.</i> , 2018; Seugling <i>et al.</i> , 2019)
<i>Chrysopogon zizanioides</i>	Poaceae	<i>Lucilia sericata</i>	(Khater <i>et al.</i> , 2018)
<i>Cinnamomum camphora</i>	Lauraceae	<i>L. sericata</i>	(Khater <i>et al.</i> , 2018)
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Lauraceae	<i>Chrysomya albiceps</i>	(Khater <i>et al.</i> , 2018; Mikhaiel; Amin, 2013)
<i>Citrus hystrix</i>	Rutaceae	<i>C. megacephala</i> , <i>C. rufifacies</i> e <i>L. cuprina</i>	(Suwannayod <i>et al.</i> , 2018)
<i>Clinopodium nubigenum</i>	Lamiaceae	<i>L. sericata</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2019)
<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	<i>L. cuprina</i>	(Chaabani <i>et al.</i> , 2019a)
<i>Cymbopogon citratus</i>	Poaceae	<i>C. megacephala</i> , <i>C. putoria</i> e <i>L. cuprina</i>	(Zeneida <i>et al.</i> , 2015)
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Poaceae	<i>C. hominivorax</i>	(Bricarello <i>et al.</i> , 2021a, 2021b)
<i>Lactuca sativa</i>	Asteraceae	<i>L. sericata</i>	(Khater <i>et al.</i> , 2011)
<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	<i>C. megacephala</i>	(Maddheshiya; Singh, 2022; Rahul; Deep Mala; Krishna Pal, 2020)
<i>Laurus nobilis</i>	Lauraceae	<i>C. vomitoria</i>	(Maddheshiya; Singh, 2022; Rahul; Deep Mala; Krishna Pal, 2020)
<i>Lavandula angustifolia</i>	Lamiaceae	<i>L. sericata</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2019; Khater <i>et al.</i> , 2018b; Santos <i>et al.</i> , 2023; Shalaby <i>et al.</i> , 2016)

**Quadro 1. Continuação.**

<i>Lavandula dentata</i>	Lamiaceae	<i>C. albiceps</i>	(Khater <i>et al.</i> , 2011)_
<i>Matricaria chamomilla</i>	Asteraceae	<i>L. sericata</i>	(Khater <i>et al.</i> , 2011)
<i>Mentha longifolia</i>	Lamiaceae	<i>L. cuprina</i>	(Khater, 2021)
<i>Myristica fragrans</i>	Myristicaceae	<i>C. albiceps</i>	(Cossetin <i>et al.</i> , 2021)
<i>Origanum majorana</i>	Lamiaceae	<i>C. albiceps</i>	(Mikhaiel; Amin, 2013)
<i>Origanum vulgare</i>	Lamiaceae	<i>C. vomitoria</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2021)
<i>Pelargonium graveolens</i>	Geraniaceae	<i>L. cuprina</i>	(Saraiva <i>et al.</i> , 2020)
<i>Peumus boldus</i>	Monimiaceae	<i>C. megacephala</i>	(Viana <i>et al.</i> , 2020)
<i>Pimpinella anisum</i>	Apiaceae	<i>L. sericata</i>	(Khater <i>et al.</i> , 2011)
<i>Piper gaudichaudianum</i>	Piperaceae	<i>L. cuprina</i>	(Chaabani <i>et al.</i> , 2018)
<i>Piper nigrum</i>	Piperaceae	<i>C. vomitoria</i>	(Farina <i>et al.</i> , 2022)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Lamiaceae	<i>C. vomitória, L. sericata,</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2020; Khater, 2021)
<i>Salvia officinalis</i>	Lamiaceae	<i>C. vomitoria</i>	(Bedini <i>et al.</i> , 2020)
<i>Simmondsia chinensis</i>	Simmondsiaceae	<i>C. albiceps</i>	(Mikhaiel; Amin, 2013)
<i>Syzygium aromaticum</i>	Myrtaceae	<i>C. albiceps e L. cuprina</i>	(Khater, 2021; Mikhaiel; Amin, 2013)
<i>Tagetes minuta</i>	Asteraceae	<i>C. macellaria e L. cuprina</i>	(Chaabani <i>et al.</i> , 2017, 2019b)
<i>Thymus vulgaris</i>	Lamiaceae	<i>C. albiceps</i>	(Mikhaiel; Amin, 2013)
<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	<i>C. albiceps</i>	(Mikhaiel; Amin, 2013)

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Origem do Material Biológico

As larvas de terceiro instar de *C. hominivorax* em sua fase de pré-pupa foram oriundas da colônia laboratorial mantida nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Com aprovação na Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/IV/UFRRJ) com número de protocolo 8634020223.

Para a realização dos testes *in vitro*, aproximadamente  $5 \pm 2$  dias antes do desafio, as moscas adultas eram estimuladas para a oviposição, disponibilizando dentro da gaiola de adultos um meio de postura que consistia em 20 g de carne moída bovina, 10 mL de sangue bovino e uma tira de papel filtro Whatmann nº 1 dispostos em placa de petri (90 x 15 mm). O meio larval permanecia nas gaiolas por um período de 8 a 12 horas até a recuperação das posturas.

Após esse período, as massas de ovos eram retiradas das gaiolas e incubadas em meio larval descrito por (Mastrangelo; Bezerra; Fernandes, (2014), em que se acompanhava o desenvolvimento diariamente, por um período de cinco a sete dias, até que as larvas atingissem o terceiro instar e deixassem o meio larval para pupar. Durante esse tempo, adicionava-se diariamente meio larval, a fim de garantir que as larvas se desenvolvessem em todos os estágios larvais para os testes *in vitro*.

#### 3.2 Obtenção dos Óleos Essenciais

Os óleos essenciais (OEs) utilizados no presente estudo foram adquiridos comercialmente e os dados referentes à descrição das espécies, parte das plantas e empresa de onde foram adquiridos estão descritos na Tabela 2.

O armazenamento dos OEs foi feito mantendo-os em frascos de vidro com coloração âmbar, protegidos com batoque e tampa de rosca e acondicionados em *freezer* em temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , a fim de retardar a degradação dos compostos químicos presentes nos mesmos.

**Quadro 2** Lista das principais informações acerca dos óleos essenciais utilizados no estudo.

Nome Científico	Nome Popular	Parte da Planta	Empresa
<i>Salvia sclarea</i>	Sálvia	Flores e folhas	
<i>Citrus bergamia</i>	Bergamota	Casca do fruto	
<i>Citrus paradisi</i>	Grapefruit	Casca do fruto	
<i>Juniperus virginiana</i>	Cedro	Madeira	
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	Flores e folhas	
<i>Copaifera reticulata</i>	Copaíba	Folhas	ViaAroma, Porto
<i>Lavandula hybrida grossa</i>	Lavandin	Flores	Alegre, RS
<i>Illicium verum</i>	Anis Estrelado	Frutos	
<i>Pelargonium roseum</i>	Gerânio Rosa	Flores	
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronela	Grama	
<i>Cymbopogon flexuosus</i>	Capim-limão	Grama	
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomilho Branco	Folhas e flores	Ferquima
<i>Origanum vulgare</i>	Orégano	Folhas	Industria e
<i>Eugenia caryophyllus</i>	Cravo	Botões	Comércio Ltda.,
<i>Cinnamomum cassia</i>	Canela	Folhas, casca e talo	São Paulo, Brasil

A caracterização química dos OEs foi realizada por cromatografia gasosa (CG) no Laboratório de Plantas Aromáticas e Medicinais da UFRRJ (LABPAM / UFRRJ), equipado com detector por ionização de chama (FID) e injector split / split-less, idealizado para separar e detectar os constituintes dos OEs avaliados neste estudo.

Os constituintes presentes na composição química de cada OE foram separados em uma coluna capilar de sílica fundida HP- (30 m x 0,25 mm d.i., espessura do filme 0,25 m, Agilent J & W); as temperaturas do forno, injetor e detector foram programadas conforme descrito por Adams (2007); o gás carreador foi o He (1 mL / min); o volume injetado foi de 1  $\mu$ L 1:20.

A percentagem dos compostos de cada um deles foi calculada a partir da área relativa de cada pico analisado por CG/FID. Os OEs também foram analisados em um CG/MS QP-2010 Plus (Shimadzu, JPN). O fluxo de gás de arraste, a coluna capilar e as condições de temperatura para a análise de GC/MS foram os mesmos descritos para GC/FID (ADAM *et al.*, 2007). As condições de operação do espectrômetro de massa foram a tensão de ionização a 70 eV e a faixa de massa 40-400 m / z e 0,5 scan / s. O índice de retenção de compostos foi calculado com base na co-injeção de amostras com uma mistura de hidrocarbonetos C8-C20 (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963). Os constituintes foram identificados por comparação de seus espectros de massa com a biblioteca NIST (2008) e com aqueles relatados por (Adam *et al.*, 2007).

Os constituintes majoritários utilizados neste estudo foram: trans-anetol (código de referência: W208604), carvacrol 98% (código de referência: W224502) e timol 98,5%

(código de referência: T0501), obtidos da Sigma-Aldrich® e mantido em frascos de vidro âmbar, protegidos com batoque e tampa de rosca, e acondicionados em geladeira em temperatura de 4°C de acordo com as orientações do fabricante.

### **3.4 Delineamento Experimental**

O delineamento experimental deste estudo foi dividido em duas etapas distintas: a primeira foi a determinação da atividade inseticida; e a segunda, para os que apresentassem mais do que 90% de mortalidade, a determinação da CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> para os OEs e seus constituintes majoritários.

#### **3.4.1 Teste de determinação da atividade inseticida**

Nesta etapa foram utilizados quinze OEs que estão descritos na Quadro 2. Essa etapa foi realizada como teste de preliminar “screening” para determinar quais OEs teriam atividade larvicida. A faixa de concentração utilizada foi a padrão nos ensaios para testes *in vitro* com larvas de terceiro instar de *C. hominivorax* do LQEPV/UFRRJ (descritas no item 3.5). Todos os testes foram realizados em seis repetições, com controle negativo, placebo e controle positivo. Em cada repetição foram incubadas dez larvas de terceiro instar de *C. hominivorax*, totalizando 60 larvas para cada grupo.

#### **3.4.2 Determinação das concentrações letais 50 e 90.**

Nesta etapa foram selecionados os três OEs que demonstraram o maior potencial inseticida, ou seja, apresentaram 100% de mortalidade em uma ou mais concentrações avaliadas na primeira etapa. Conjuntamente, foram selecionados os seus constituintes majoritários. Foram realizados testes *in vitro* com o ajuste da faixa de concentração para determinação da concentração letal (CL) 50 e CL90 pela análise de Probit.

#### **3.4.3 Avaliação do Efeito Associativo do Anetol, Carvacrol e Timol**

Para a determinação do efeito associativo (sinergismo, adição ou antagonismo) foram escolhidas as concentrações de 500, 1000 e 5000 µg/mL que corresponderam as concentrações de 10, 20 e 100 µg/cm<sup>2</sup> após a impregnação. As concentrações foram

escolhidas pois foram inferiores a menor concentração letal 50 encontrada para os constituintes majoritários e as associações foram realizadas na proporção de 1:1.

O teste para determinação do percentual de mortalidade foi semelhante ao descrito acima, após a impregnação do papel filtro com as diferentes concentrações foi esperado um período de 1 hora para evaporação da acetona, em seguida eram expostas 10 larvas de terceiro instar de *C. hominivorax* e o material incubado em câmara climatizadas a uma temperatura de  $28 \pm 1$  °C e umidade relativa de  $75 \pm 10\%$  por um período de 24 e 48 horas. Essa avaliação foi realizada em dez repetições e em dois dias distintos, totalizando 20 repetições no total, ou seja, 200 indivíduos desafiados.

### 3.5 Preparo das Diluições

Para o preparo das diferentes concentrações dos OEs, o diluente escolhido foi a acetona pura para análise (99,5%). No preparo das concentrações do teste de “screening” foi realizada uma diluição direta utilizando as concentrações de 100.000; 75.000; 50.000; 25.000 e 10.000  $\mu\text{g/mL}$  que após a impregnação corresponderam, respectivamente, às concentrações de 2.000; 1.500; 1.000; 500 e 200  $\mu\text{g/cm}^2$ .

Para os testes definitivos, dos OEs, foi efetuada a diluição direta também em acetona a partir dos OEs e constituintes majoritários selecionados na primeira etapa, a fim de obter a nova faixa de concentração ajustada para determinação das concentrações letais (Tabela 1).

**Tabela 1** Concentrações dos óleos essenciais de *Illicium verum*, *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* e seus respectivos constituintes majoritários anetol, carvacrol e timol para determinação das concentrações letais 50 e 90 frente a larvas de terceiro instar de *Cochliomyia hominivorax*.

Óleo essencial / constituinte majoritário	Concentrações
	$\mu\text{g/mL}$
<i>Illicium verum</i>	10000; 20000; 40000; 60000; 80000; 100000
	200; 400; 800; 1200; 1600; 2000
<b>Anetol</b>	10000; 20000; 30000; 40000; 60000; 100000
	200; 400; 800; 1200; 1600; 2000
<i>Origanum vulgare</i>	1000; 5000; 20000; 30000; 40000; 50000
	20; 100; 400; 600; 800; 1000
<b>Carvacrol</b>	20000; 30000; 40000; 50000; 75000; 100000
	400; 600; 800; 1000; 1500; 2000
<i>Thymus vulgaris</i>	3500; 7500; 15000; 30000; 60000; 80000
	70; 150; 300; 600; 1200; 1600
<b>Timol</b>	1250; 2500; 5000; 20000; 30000; 80000
	25; 50; 100; 400; 600; 1600

### **3.6 Avaliação da Atividade Larvicida**

A metodologia utilizada nos ensaios foi adaptada da metodologia descrita por (Chaabán *et al.*, 2018a). Os desafios foram realizados com um número de concentrações variando de seis a dez, sempre em sextuplicata.

A partir das soluções preparadas, foi realizada a impregnação de discos de papel filtro Whatmann nº 1 de 5,5 cm de diâmetro com área correspondente a 23,76 cm<sup>2</sup>. O volume de impregnação foi de com 0,470 mL para cada solução testada. Após a impregnação, os discos de papel filtro permaneceram por um período de uma (01) hora em temperatura ambiente para total evaporação da acetona e secagem e, em seguida, foram transferidos para placas de petri descartáveis de 60 x 15 cm. Em todos os testes havia um controle negativo e um placebo (acetona pura para análise 99,5%). O controle positivo do teste foi realizado com fipronil diluído em acetona na concentração de 10000 µg/mL que correspondeu a 200 µg/cm<sup>2</sup>.

Foram utilizadas 10 larvas de terceiro instar (pré-pupa) para cada repetição realizada. Tais parasitos foram coletados diretamente da vermiculita após deixarem o meio larval, com auxílio de pinça entomológica. Após isso, as larvas eram transferidas para as placas de petri com papeis filtro impregnados com as soluções de diferentes concentrações. Em seguida, as placas de petri foram acondicionadas em câmaras climatizadas com demanda bioquímica de oxigênio (BOD) a uma temperatura de 28 ± 1 °C e umidade relativa de 75 ± 10% por um período de 24 e 48 horas.

A avaliação da mortalidade foi realizada com auxílio de um microscópio estereoscópico e levando-se em consideração as alterações morfológicas e de movimentação das larvas, ou seja, aquelas com alterações de coloração, conformação do corpo e sem movimento foram consideradas mortas.

### **3.7 Análise dos Dados**

Para determinação do percentual de mortalidade foram contabilizados os números de larvas vivas e mortas em cada repetição e aplicado a fórmula: Mortalidade (%) = 100 x (número de larvas mortas / número total de larvas incubadas)

A determinação da CL<sub>50</sub> (concentração letal em que 50% da população tratada foi morta) e da CL<sub>90</sub> (concentração letal em que 90% da população tratada foi morta) foi realizada pela análise em probit pelo programa RStudio Team<sup>®</sup> (2020), com o nível de

significância estatística de  $p < 0,05$  e intervalo de confiança (IC 95%). A precisão do ajuste de dados na faixa de concentração testada foi avaliada pelo teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com o nível de significância de heterogeneidade de  $p < 0,05$  e intervalo de confiança (IC 95%). A linearidade da faixa de concentração testada foi avaliada pelos valores de coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) obtidos da regressão linear dos dados do probit. Valores de  $R^2$  maiores que 0,90 foram considerados lineares.

Para verificar as interações entre o anetol, caarvacrol e timol foi utilizado o programa CompuSyn versão 1.0 (Chou, 2006). Os efeitos das combinações foram classificados de acordo com o índice de combinação (IC), nas categorias propostas por Novato *et al.*, (2015): sinergismo (IC<0,70); sinergismo moderado (IC 0,70–0,90); aditivo (IC 0,90–1,10); antagonismo moderado (IC 1,10-1,45) e antagonismo (IC>1,45).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Composição Química dos Óleos Essenciais

Após a análise de CG, o percentual dos constituintes majoritários dos OEs avaliados neste estudo foram descritos na Tabela 4, estando presentes somente as substâncias que apresentaram percentual de retenção maior ou igual a 10%. Nesta análise, foram encontrados OEs que apresentavam composição química simples e complexa. Alguns óleos essenciais apresentaram terpenos (mono e sesquiterpenos) e outros fenilpropanóides como constituintes majoritários.

**Tabela 2.** Composição química resumida, após análise de cromatografia gasosa, com os constituintes majoritários dos óleos essenciais avaliados neste estudo quanto a atividade larvicida *in vitro* frente a *Cohliomyia hominivorax*.

Óleo Essencial	Substância	Percentual (%)
<i>Citrus bergamia</i>	D-limoneno	23,8
	Linalol	22,0
	Acetato de linalila	34,1
<i>Citrus paradisi</i>	D-limoneno	91,9
	Cinamaldeído	91,0
<i>Cinnamomum cassia</i>	Cariofileno	37,6
	$\alpha$ -Trans-bergamoteno	11,7
<i>Copaifera reticulata</i>	$\alpha$ -Humuleno	10,0
	Neral	31,6
<i>Cymbopogon flexuosos</i>	Geraniol	8,1
	Geranal	36,6
<i>Cymbopogon winterianus</i>	Citronelal	26,8
	Citronelol	15,0
<i>Eugenia caryophyllus</i>	Geraniol	19,0
	Eugenol	86,0
<i>Illicium verum</i>	$\beta$ -cariofileno	10,0
	Anetol	80,0
<i>Juniperus virginiana</i>	Cedrol	26,0
	Thuyopseno	16,0
<i>Lavandula hybrida</i>	$\alpha$ -Cedreno	22,0
	Linalol	26,3
<i>Origanum vulgare</i>	Acetato de linalila	18,4
	Canfora	14,6
<i>Pelargonium graveolans</i>	Carvacrol	76,2
	Citronelol	44,5
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Geraniol	19,2
	Formiato de geranila	11,2
<i>Salvia sclarea</i>	$\alpha$ -Pineno	14,4
	Canfora	15,1
<i>Thymus vulgaris</i>	1,8 cineol	29,3
	Linalol	22,8
<i>Thymus vulgaris</i>	Acetato de linalila	49,8
	Timol	44,7
<i>Thymus vulgaris</i>	Ocimeno	26,2

Os constituintes majoritários do OE de *C. bergamina* (bergamota) foram os monoterpenos acetato de linalila (34,1%), d-limoneno (23,8%) e linalol (22%). Os resultados disponíveis na literatura são variáveis quanto a composição deste OE. Em algumas pesquisas existe o predomínio de d-limoneno (Costa *et al.*, 2010), outras linalol (Noshad; Alizadeh Behbahani; Nikfarjam, 2022) e outras acetato de linalila (Costa *et al.*, 2010). No entanto, sempre há as três substâncias como constituintes majoritários.

O óleo essencial de *C. paradisi* (“grapefruit”) apresentou apenas um constituinte majoritário, o monoterpeno d-limoneno (91,9%). Essa substância prevalece em outros estudos como sendo a de maior percentual de retenção para esse OE (Denkova-Kostova *et al.*, 2021; Uysal *et al.*, 2011).

*Cinnamomum cassia* (canela) apresentou o fenilpropanoide cinamaldeído em um percentual de 91% de sua composição química. Este aldeído já foi descrito como majoritário para este óleo em outros estudos e a ele pode ser atribuída a atividade biológica (Choi *et al.*, 2001; Conceição *et al.*, 2020; Da Conceição *et al.*, 2023).

*Copaifera reticulata* (copaíba) apresentou como constituintes majoritários três sesquiterpenos: cariofileno (37,6%),  $\alpha$ -trans-bergamoteno (11,7%) e  $\alpha$ -humuleno (10%). Esses constituintes são encontrados em maior concentração em várias análises do OE de *C. reticulata* (Arruda *et al.*, 2019; Bardají *et al.*, 2016; Herrero-Jáuregui *et al.*, 2011).

O gênero *Cymbopogon* se destaca por possuir plantas que possuem óleos essenciais com uma grande variedade de constituintes em sua composição (Ganjewala, 2009; Verma *et al.*, 2019). O óleo essencial de capim-limão (*C. flexuosos*) apresentou os monoterpenos: geranal (36,6%), neral (31,6%) e geraniol (8,1%), já o OE de citronela (*C. winterianus*) apresentou os monoterpenos: citronelal (26,8%), geraniol (19,0%) e citronelol (15,0%).

Os óleos essenciais de *E. caryophyllus* (cravo) e *I. verum* (anis estrelado) apresentam os fenilpropanóides eugenol (86%) e anetol (80%), respectivamente, como constituintes majoritários. Esses achados corroboram com o encontrado na literatura sobre esses OEs, que possuem essas substâncias químicas compondo o maior percentual de sua composição (Cole; Haber; Setzer, 2007; Dzamic *et al.*, 2009; Matos *et al.*, 2020).

*Juniperus virginiana* (cedro da Virginia) apresentou o sesquiterpeno cedrol (26%),  $\alpha$ -cedreno (22%) e thuyopseno (16%) como principais constituintes da composição química de seu OE. Diferentemente do descrito aqui, o OE de *J. virginiana* apresentou como constituintes majoritários monoterpenos, como  $\alpha$  e  $\beta$ -pinemo e  $\alpha$  e  $\beta$  cimeno (Hădărugă *et al.*, 2011) ou sesquiterpenos como demonstrado neste estudo.

A análise cromatográfica do OE de *L. hybrida* (lavandin) demonstrou um maior percentual dos monoterpenos linalol (26,3%), acetato de linalila (18,4%) e cânfora (14,6%). O acetato de linalila e o linalol são os constituintes majoritários de várias espécies dentro do gênero *Lavandula*, o que confere odor característico e muitas das atividades biológicas desses OEs (Aprotosoaie *et al.*, 2017; Lis-Balchin, 2002).

Os constituintes majoritários do OE de *O. vulgare* (orégano) foi o monoterpeno carvacrol (76,2%). Este resultado corrobora com outros achados na literatura onde o OE de *O. vulgare* apresenta normalmente o carvacrol como seu constituinte majoritário e a quem é atribuída a sua atividade biológica (Figiel *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2013).

O óleo essencial de gerânio rosa (*P. graveolans*) apresentou em maior quantidade na sua composição os monoterpenos alcoólicos citronelol (44,5%) e geraniol (19,2%). Essas duas moléculas são encontradas como constituintes majoritários em diferentes análises para o OE de *P. graveolans* (Dzamic *et al.*, 2014; Sharopov; Zhang; Setzer, 2014).

Para *Rosmarinus officinalis* (alecrim), os constituintes majoritários do OE foram os monoterpenos 1,8 cineol (29,3%), cânfora (15,1%) e  $\alpha$ -pineno (14,4%). Essas substâncias são encontradas em maior quantidade em análises cromatográficas do OE de alecrim, coletados em diversos locais do mundo (Szumny *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2008; Zaouali; Bouzaine; Boussaid, 2010).

O óleo essencial de *Salvia sclarea* (sálvia) apresentou como seus constituintes majoritários os monoterpenos acetato de linalila (49,8%) e linalol (22,8%). O OE de plantas do gênero *Salvia* predominantemente apresentam esses dois monoterpenos em maiores quantidades em sua composição química (Kačániová *et al.*, 2023; PITAROKILI *et al.*, 2002; Thompson *et al.*, 2003).

A análise cromatográfica para o OE de *T. vulgaris* (tomilho branco) mostrou que os monoterpenos que apresentaram maior percentual de retenção foram o timol (44,7%) e ocimeno (26,6%). Esta planta pode apresentar diferentes quimiotipos, com predominância variada de constituintes majoritários (Satyal *et al.*, 2016; Thompson *et al.*, 2003). Neste estudo, especificamente, foi identificado o quimiotipo timol/cimeno.

É importante ressaltar que a concentração dos constituintes dos OEs pode ser variável dentro de um mesmo gênero e até dentro da mesma espécie de planta. Fatores como solo, clima, métodos de secagem da planta, métodos de extração e parte da planta (folhas, flores, caules ou frutos) de onde o OE é extraído pode interferir na sua composição química (Hanif *et al.*, 2019; Manion; Widder, 2017). Também é importante

ressaltar, que conforme descrito para *T. vulgaris*, algumas plantas podem apresentar quimiotipos distintos, ou seja, os constituintes majoritários podem variar entre uma mesma espécie de acordo devido a variações genéticas ou pelos fatores mencionados acima (Tavares *et al.*, 2005; Zouari, 2013).

#### **4.2 Atividade Inseticida de Diferentes Óleos Essenciais Frente à Larvas de *Cochiomyia hominivorax***

Nesta etapa foi avaliado o potencial inseticida dos diferentes OEs frente a larvas de terceiro instar de *C. hominivorax*. Após a realização do teste *in vitro*, não foi observada mortalidade nos grupos controle negativo (papel filtro em impregnação) e placebo (papel filtro impregnado com acetona). Apenas os OEs de *I. verum*, *O. vulgare* e *T. vulgaris* apresentaram 100% de mortalidade das larvas nas concentrações e tempos avaliados. O percentual de mortalidade foi de 53,3% após 48 horas de exposição ao papel filtro impregnado para os OEs de *C. cassia* e *E. caryophyllus*.

Para os OEs de *C. flexuosus*, *C. bergamia*, *C. paradisi* e *R. officinalis* o percentual de mortalidade foi de 46,7; 43,3; 38,4 e 36,3%, respectivamente. Os demais OEs apresentaram percentual de mortalidade inferior a 30%. Os resultados com percentual de mortalidade médio em cada concentração e tempo de avaliação podem ser observados na Tabela 5.

Não foram observadas larvas mortas nas avaliações realizadas no grupo placebo e controle negativo, portanto o percentual de mortalidade foi igual a zero. No controle positivo, fipronil 200 µg/cm<sup>2</sup>, foi observada uma mortalidade superior a 97% em todas as avaliações após 24 horas e de 100% após 48 horas



**Tabela 3** Percentual de mortalidade médio dos óleos essenciais avaliados na primeira etapa para determinação da atividade inseticida frente a larvas de terceiro instar de *Cochliomyia hominivorax*.

Concentração		<i>Citrus bergamia</i>		<i>Citrus paradisi</i>		<i>Cinnamomum cassia</i>		<i>Copaifera reticulata</i>		<i>Cymbopogon flexosus</i>	
		24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>										
Placebo	---	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Controle (-)	---	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Controle (+)	200	99	100	97	100	100	100	98	100	100	100
10000	200	0	0	0	10	0	6,7	0	10	0	20,0
25000	500	3,3	6,7	0	13,3	3,3	20,0	0	16,7	6,7	16,7
50000	100	3,3	16,0	0	33,3	6,7	36,7	6,7	20,0	6,7	33,3
75000	1500	20,3	26,7	20,0	33,3	30,0	50,0	10,0	10,0	23,3	23,3
100000	2000	43,3	43,3	23,3	38,4	23,3	53,3	6,7	10,0	46,7	46,7
Concentração		<i>Cymbopogon witerianus</i>		<i>Eugenia caryophyllus</i>		<i>Illicium verum</i>		<i>Juniperus virginiana</i>		<i>Lavandula hybrida</i>	
µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
10000	200	0	0	0	6,7	6,7	56,7	13,3	13,3	0	3,3
25000	500	0	6,7	3,3	20,0	30,0	86,7	0	0	0	0
50000	100	0	6,7	6,7	36,7	33,3	86,7	6,7	6,7	3,3	16,7
75000	1500	0	33,3	30,0	50,0	70,0	86,7	3,3	3,3	6,7	13,3
100000	2000	6,7	23,3	23,3	53,3	33,3	100,0	3,3	3,3	6,7	11,7
Concentração		<i>Origanum vulgare</i>		<i>Pelargonium graveolans</i>		<i>Rosmarinus officinalis</i>		<i>Salvia sclarea</i>		<i>Thymus vulgaris</i>	
µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h	24h	48h
10000	200	6,7	13,3	0	0	0	3,3	3,3	6,7	76,7	90,0
25000	500	23,3	40,0	0	0	0	3,3	0,0	3,3	96,7	100,0
50000	100	20,0	50,0	13,3	23,3	3,3	11,7	0,0	10,0	100,0	100,0
75000	1500	33,3	70,0	23,3	23,3	3,3	11,7	0,0	3,3	100,0	100,0
100000	2000	100,0	100,0	20	23,3	11,7	33,6	3,3	3,3	100,0	100,0

Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos avaliando a atividade do OE de *C. bergamia* e *C. paradisi* frente a *C. hominivorax* ou outros califorídeos. Neste trabalho, estes OEs apresentaram como constituintes majoritários d-limoneno e percentual de mortalidade de 43,3 e 38,4% após 48 horas de exposição frente a larvas de *C. hominivorax*, respectivamente. Estudo utilizando o OE de *C. hystrix*, que também apresentava d-limoneno como constituinte majoritário, mostrou mortalidade de 89% *C. megacephala* (86000 µg/mL), 90% *C. rufifacies* (150000 µg/mL) e 94% *L. cuprina* (150000 µg/mL) (Suwannayod *et al.*, 2018).

O óleo essencial de *C. cassia* apresentou percentual de mortalidade de 53,3% após 48 horas de exposição na concentração de 100.000 µg/mL. Estudos utilizando *C. camphora* mostram 100 % de mortalidade frente a larvas de *L. sericata* na concentração de 320.000 µg/mL após 24 horas de exposição. No entanto, além da concentração testada ser mais de três vezes superior à utilizada neste estudo, foi utilizada uma técnica de imersão, além de o constituinte majoritário de *C. camphora* ser a cânfora (Shalaby *et al.*, 2016). Todas essas variáveis podem ter resultado nas diferenças encontradas neste estudo. O óleo essencial de *C. zeylanicum* também mostrou ser capaz de promover 100% de mortalidade de larvas de *C. albiceps* após três dias exposição ao meio larval impregnado com 400.000 µg/mL (Mikhail; Amin, 2013).

Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos utilizando o OE de *C. reticulata* frente a califorídeos. Neste estudo o percentual de mortalidade foi baixo (10%) para a maior concentração avaliada (2000 µg/cm<sup>2</sup>). Este OE já demonstrou atividade inseticida frente a outros dípteros de importância em saúde, como por exemplo, mosquitos dos gêneros *Aedes* (Silva *et al.*, 2007) e *M. domestica* (Zortéa *et al.*, 2017).

O percentual de mortalidade de larvas de *C. hominivorax* quando expostas ao OE de *C. flexuosus* foi de 46,7%. Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos demonstrando a eficácia inseticida do OE desta espécie capim-limão frente a califorídeos. Contudo, o OE de *C. citratus*, uma outra espécie também conhecida como capim-limão, demonstrou ser capaz de causar interrompimento no desenvolvimento de L1 a adulto das moscas *C. megacephala*, *C. putoria* e *L. cuprina* (Zeneida *et al.*, 2015).

Apesar do baixo percentual de mortalidade apresentado para o OE de *C. winterianus* (23.3%) neste estudo, sua atividade ovicida, larvicida e repelente já foi descrita para *C. hominivorax* (Bricarello *et al.*, 2021a, 2021b). No entanto, tal estudo obteve 100% de mortalidade utilizando concentrações de 15% (150.000 µg/mL) em um produto comercial em nanoemulsão, o que pode ter sido o diferencial quando comparado

a este estudo que teve como concentração máxima 100.000 µg/mL e testou o OE de *C. winterianus* puro.

As L3 de *C. hominivorax* apresentaram 53,3% de mortalidade após 48 horas de exposição ao OE de *E. caryophyllus*, cujo constituinte majoritário é o eugenol. Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos demonstrando a atividade desse OE frente a dípteros califorídeos. No entanto, uma espécie similar, *S. aromaticum* conhecida popularmente como cravo-da-índia e com o eugenol como constituinte majoritário, demonstrou ser eficaz em inibir o ciclo biológico de *C. albiceps* (Mikhaiel; Amin, 2013) e *L. cuprina* (Khater, 2021).

O óleo essencial de *J. virginiana* demonstrou possuir baixa atividade larvicida frente a *C. hominivorax*, com mortalidade de 13,3% na concentração de 200 µg/cm<sup>2</sup>. Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos demonstrando atividade biológica deste OE frente a califorídeos, apesar disso, seu potencial inseticida já foi demonstrando para outros dípteros, como por exemplo, mosquitos (Evergetis *et al.*, 2016; Tahghighi *et al.*, 2019; Yohana *et al.*, 2022) e *M. domestica* (Klauck *et al.*, 2018).

Óleos essenciais de diferentes espécies do gênero *Lavandula* já demonstram possuir atividade inseticida (Batiha *et al.*, 2023). Os óleos essenciais das espécies *L. angustifolia* e *L. dentata* já demonstraram ser eficazes frente a moscas *L. sericata* e *C. albiceps* (Cossetin *et al.*, 2018; Khater *et al.*, 2018; Lis-Balchin, 2002; Shalaby *et al.*, 2016). Apesar de composição química semelhante, o OE de *L. hybrida* causou mortalidade de 16,7% frente a L3 de *C. hominivorax* na concentração de 100 µg/cm<sup>2</sup>.

O maior percentual de mortalidade para o OE de *P. graveolans* foi de 23,3% para a concentração de 2000 µg/cm<sup>2</sup> após 48 horas de exposição das larvas. A atividade inseticida deste OE já foi descrita para moscas da espécie *L. cuprina* demonstrando possuir atividade inseticida e repelente (Saraiva *et al.*, 2020). No entanto, com os resultados demonstrados na Tabela 5, é possível perceber que esse efeito não ocorre frente a L3 de *C. hominivorax*.

O óleo essencial de *R. officinali* já demonstrou possuir atividade inseticida frente as espécies de califorídeos *C. vomitoria* (Khater *et al.*, 2011) e *L. sericata* (Bedini *et al.*, 2020). Apesar disso, com base nos resultados desse estudo, o maior percentual de mortalidade observado frente a larvas de *C. hominivorax* foi de 33,6% após 48 horas de exposição.

Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalhos que utilizaram OE de *S. sclarea* com atividade inseticida frente a califorídeos. O maior percentual de mortalidade

descrito para esse OE neste estudo foi de 10% para a avaliação de 100  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . O óleo essencial de outra planta do gênero *Salvia* (*S. officinalis*) demonstrou possuir atividade ovicida e adulticida de *C. vomitoria* (Bedini *et al.*, 2020). Contudo, tal OE apresenta composição química completamente diferente a espécie avaliada neste estudo, fato este podendo estar relacionado com a diferente atividade biológica demonstrada.

Acima foram descritos a atividade inseticida de alguns óleos essenciais que apresentaram potencial inseticida para L3 de *C. hominivorax*. Dentre eles, os OEs de *C. bergamia*, *C. paradisi*, *C. flexuosus*, *C. cassia*, *E. caryophyllus* e *R. officinalis* apresentaram um resultado de mortalidade inferior a 60%, porém, o aumento das concentrações para além de 2000  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (100000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) poderia resultar em consequente aumento da atividade inseticida.

A metodologia deste estudo foi adaptada na descrita por Chaaban *et al.*, (2018) que escolheram para a avaliação do estágio L3 pré-pupa. A escolha deste estágio se baseia na teoria de que esse instar larvar apresentaria maior resistência a condições adversas de ambiente e a ectoparasiticidas. Os estudos acima citados, que demonstram potencial inseticida de OEs também avaliados neste trabalho e que não apresentaram a mesma atividade, pode estar ligado ao fato de que esses estudos avaliam a atividade frente a larvas de primeiro instar até o desenvolvimento de moscas adultas. Neste tipo de metodologia temos que considerar a menor suscetibilidade da L1 frente a ectoparasiticidas, assim como, os efeitos prolongados da exposição do OE, pois é avaliado sua atividade ao longo de grande parte do ciclo biológico deste inseto.

Três óleos essenciais de *I. verum*, *O. vulgare* e *T. vulgaris* pois apresentaram resultados promissores para o controle de *C. hominivorax* com atividade larvicida de 100%.

#### **4.3 Determinação da Concentração Letal**

O óleo essencial de *I. verum* apresentou percentual de mortalidade igual a 33,3% na concentração de 2000  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  na avaliação de 24 horas, e 100% na concentração de 1600  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  na avaliação de 48 horas. Para o anetol, o percentual de mortalidade foi igual a 50,3% na concentração de 2000  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  na avaliação de 24 horas, e 100% na mesma concentração na avaliação de 48 horas. Por não ter apresentado mortalidade superior a 90% nas avaliações de 24 horas não foi realizado o cálculo de concentração letal para o OE de *I. verum* e anetol nesses tempos de avaliação. A CL<sub>50</sub> foi de 417,9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  e 559,4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  para a avaliação após 48 horas de exposição para o OE de *I. verum* e anetol,

respectivamente. Os dados detalhados com percentual de mortalidade média e CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> estão demonstradas na Tabela 6.

**Tabela 4** Percentual de mortalidade médio e concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de *Illicium verum* e seu constituinte majoritário anetol frente a larvas de terceiro estágio de *Cochliomyia hominivorax*.

Óleo essencial de <i>Illicium verum</i>				Anetol			
Concentração		Mortalidade		Concentração		Mortalidade	
µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>	24h	48h	µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>	24h	48h
Cont. (-)	---	0	0	Cont. (-).	---	0	0
Placebo	---	0	0	Placebo	---	0	0
Cont. (+)	200	97	100	Cont. (+)	200	99	100
10000	200	0,0	15,0	10000	200	5,0	10,0
20000	400	5,0	40,0	20000	400	6,7	26,7
40000	800	6,7	83,3	30000	600	35,0	46,7
60000	1200	35,0	96,7	40000	800	35,0	81,7
80000	1600	35,0	100,0	60000	1200	39,3	93,3
100000	2000	33,3	100,0	100000	2000	50,3	100,0
<b>CL<sub>50</sub></b>	---	417,9		<b>CL<sub>50</sub></b>	---	559,4	
<b>Limites (mín - máx)</b>	---	344,8 - 493,9		<b>Limites (mín - máx)</b>	---	480,4 - 631,8	
<b>CL<sub>90</sub></b>	---	913,7		<b>CL<sub>90</sub></b>	---	1028,1	
<b>Limites (mín - máx)</b>	---	750,1 - 1014,0		<b>Limites (mín - máx)</b>	---	877,8 - 1240,4	
<b>Slope</b>	---	3,77±0,27		<b>Slope</b>	---	4,85±0,21	
<b>R<sup>2</sup></b>	---	0,951		<b>R<sup>2</sup></b>	---	0,898	
<b>Qui-quadrado</b>	---	3,173		<b>Qui-quadrado</b>	---	3,212	
<b>p-value</b>	---	0,471		<b>p-value</b>	---	0,477	

Cont. (-) = controle negativo; Cont. (+) = controle positivo (fipronil 200 µg/cm<sup>2</sup>) mín = mínimo; máx. = máximo; CL = concentração letal; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão

Essa é a primeira avaliação do OE de *I. verum* e do anetol frente à califorídeos. No entanto, sua atividade inseticida tem sido descrita para outros dípteros de importância em saúde (Abdel-Baki *et al.*, 2021; Aungtikun, Soonwera e Sittichok, 2021; Peng *et al.*, 2013; Zahran e Abdelgaleil, 2011). A principal desvantagem destas substâncias pensando no desenvolvimento de um produto destinado para o tratamento de miíase para animais seria a demora para matar as larvas em uma ferida, uma vez que 100% de mortalidade só foi observada após 48 horas de exposição. Este fato poderia resultar em maiores danos teciduais para o animal, uma vez que as larvas deste díptero possuem um comportamento alimentar voraz.

O óleo essencial de *O. vulgare* apresentou percentual de mortalidade de 98,3 e 100%, para a concentração de 1000 µg/cm<sup>2</sup>, nas avaliações de 24 e 48 horas respectivamente. A CL<sub>50</sub> foi de 540,9 e 253,76 µg/cm<sup>2</sup> para as mesmas tomadas de tempo. Para o carvacrol, não foi atingido 100% de mortalidade, estando esse percentual igual a 93,3 e 95% para a concentração de 2000 µg/cm<sup>2</sup>. A CL<sub>50</sub> foi de 970,5 µg/cm<sup>2</sup> e 931,9

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Os dados detalhados com percentual de mortalidade média e CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> estão demonstrados na Tabela 7.

A CL<sub>50</sub> para o OE de *O. vulgare* foi 2,1 vezes maior para avaliação com 24 horas, isso mostra concentrações menores de OE são necessárias se o tempo de exposição das larvas for de 48 horas. Quando comparado o OE e seu constituinte majoritário, a CL<sub>50</sub>, o óleo essencial foi 3,7vezes mais potente.

**Tabela 5** Percentual de mortalidade médio e concentração letal 50 e 90 do óleo essencial de *Origanum vulgare* e seu constituinte majoritário carvacrol frente a larvas de terceiro estágio de *Cochliomyia hominivorax*.

Óleo essencial de <i>Origanum vulgare</i>				Carvacrol			
Concentração		Mortalidade		Concentração		Mortalidade	
$\mu\text{g}/\text{mL}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	24h	48h	$\mu\text{g}/\text{mL}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	24h	48h
Cont. (-)	---	0	0	Cont. (-)	---	0	0
Placebo	---	0	0	Placebo	---	0	0
Cont. (+)				Cont. (+)			
1000	20	3,3	6,7	20000	400	5,0	5,0
5000	100	8,3	18,3	30000	600	5,0	5,0
20000	400	20,0	45,0	40000	800	28,3	33,3
30000	600	51,7	63,3	50000	1000	61,9	65,0
40000	800	81,7	95,0	75000	1500	83,3	86,7
50000	1000	98,3	100,0	100000	2000	93,3	95,0
<b>CL<sub>50</sub></b>		540,9	253,7	<b>CL<sub>50</sub></b>		970,5	931,9
<b>Limites (mín -</b>				<b>Limites (mín -</b>			
<b>máx)</b>		438,5 - 648,9	187,4 - 326,1	<b>máx)</b>		883,3-1069,0	849,7-1023,4
<b>CL<sub>90</sub></b>		1819,3	1193,6	<b>CL<sub>90</sub></b>		1700,2	1591,8
<b>Limites (mín -</b>		1687,5 -	863,5 -	<b>Limites (mín -</b>		1482,4-	1387,1-
<b>máx)</b>		2328,3	1923,9	<b>máx)</b>		2176,4	1923,4
<b>Slope</b>		2,09 $\pm$ 0,88	1,91 $\pm$ 0,42	<b>Slope</b>		5,26 $\pm$ 0,19	5,51 $\pm$ 0,66
<b>R<sup>2</sup></b>		0,898	0,992	<b>R<sup>2</sup></b>		0,948	0,945
<b>Qui-quadrado</b>		67,314	39,251	<b>Qui-quadrado</b>		9,397	9,265
<b>p-value</b>		1	1	<b>p-value</b>		0,906	0,901

Cont. (-) = controle negativo; Cont. (+) = controle positivo (fipronil 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) mín = mínimo; máx. = máximo; CL = concentração letal; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão

A atividade ovicida e deterrente do OE de *O. vulgare* já foi descrita frente ao califorídeo *C. vomitoria* (Bedini *et al.*, 2021) e a outros dípteros como mosquitos (Govindarajan *et al.*, 2016) e *M. domestica* (Xie *et al.*, 2019). Quando foram comparadas as CL<sub>50</sub> do OE de orégano e o carvacrol foi possível perceber concentrações menores para o OE. Isso pode ser explicado devido ao fato de que OEs são misturas complexas de diferentes substâncias em diferentes concentrações. Algumas dessas substâncias podem possuir atividade sinérgica ou aditiva (Manion; Widder, 2017), o que pode ter potencializado a atividade larvicida do OE de *O. vulgare* frente ao seu constituinte majoritário.

O óleo essencial de *T. vulgaris* apresentou 100% de mortalidade na concentração de 1600 µg/cm<sup>2</sup> na avaliação de 24 horas e 1200 µg/cm<sup>2</sup> na avaliação de 48 horas. Para o timol o maior percentual de mortalidade foi de 96,7 e 98,3% nas avaliações de 24 e 48 horas, respectivamente. A CL<sub>50</sub> foi de 407,1 µg/cm<sup>2</sup> e 255,7 µg/cm<sup>2</sup> nas avaliações de 24 horas e de 314,8 µg/cm<sup>2</sup> e 102,3 µg/cm<sup>2</sup> nas avaliações de 48 horas para o OE de *T. vulgaris* e o timol respectivamente. Os dados detalhados com percentual de mortalidade média e CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> estão demonstradas na Tabela 8.

**Tabela 6** Percentual de mortalidade médio e concentração letal 50 e 90 do óleo essencial *Thymus vulgaris* e seu constituinte majoritário timol frente a larvas de terceiro estágio de *Cochliomyia hominivorax*.

Óleo essencial de <i>Thymus vulgaris</i>				Timol			
Concentração		Mortalidade		Concentração		Mortalidade	
µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>	24h	48h	µg/mL	µg/cm <sup>2</sup>	24h	48h
Cont. (-)	- - -	0	0	Cont. (-)	- - -	0	0
Placebo	- - -	0	0	Placebo	- - -	0	0
Cont. (+)	200	100	100	Cont. (+)	200	100	100
3500	80	1,7	16,7	1250	25	1,7	1,7
7500	150	16,7	36,7	2500	50	1,7	35
15000	300	20,0	46,7	5000	100	28,3	48,3
30000	600	75,0	91,7	20000	400	60	61,7
60000	1200	93,3	100,0	30000	600	78,3	78,3
80000	1600	100,0	100,0	80000	1600	96,7	98,3
<b>CL<sub>50</sub></b>		407,1	314,8	<b>CL<sub>50</sub></b>		255,7	102,3
<b>Limites</b>				<b>Limites</b>			
<b>(mín - máx)</b>		325,4 - 497,8	168,2 - 267,7	<b>(mín - máx)</b>		192,2 - 355,5	58,2 - 152,2
<b>CL<sub>90</sub></b>		1149,4	589,7	<b>CL<sub>90</sub></b>		1008,6	690,1
<b>Limites</b>		886,7 -	503,8 -	<b>Limites</b>		981,1 -	519,7 -
<b>(mín - máx)</b>		1697,7	1083,7	<b>(mín - máx)</b>		1721,3	1164,0
<b>Slope</b>		2,15±0,47	1,39±0,72	<b>Slope</b>		2,84±0,43	2,56±0,44
<b>R<sup>2</sup></b>		0,875	0,892	<b>R<sup>2</sup></b>		0,925	0,916
<b>Qui-quadrado</b>		6,389	5,201	<b>Qui-quadrado</b>		10,499	12,288
<b>p-value</b>		0,855	0,620	<b>p-value</b>		0,967	0,985

Cont. (-) = controle negativo; Cont. (+) = controle positivo (fipronil 200 µg/cm<sup>2</sup>) mín = mínimo; máx. = máximo; CL = concentração letal; R<sup>2</sup> = coeficiente de regressão

A atividade inseticida do OE de *T. vulgaris* já foi descrita interferindo sobre o ciclo biológico de *C. albiceps* após o tratamento do meio larval (Mikhail; Amin, 2013). O timol já teve sua atividade inseticida descrita frente a diferentes grupos de insetos (Escobar *et al.*, 2020), sua atividade frente a califorídeos foi fortemente demonstrada em estudo comparando diferentes espécies de *O. vulgare* com diferentes quimiótipos, sendo o quimiótipo timol com maior atividade frente à *C. vomitoria* (Bedini *et al.*, 2021).

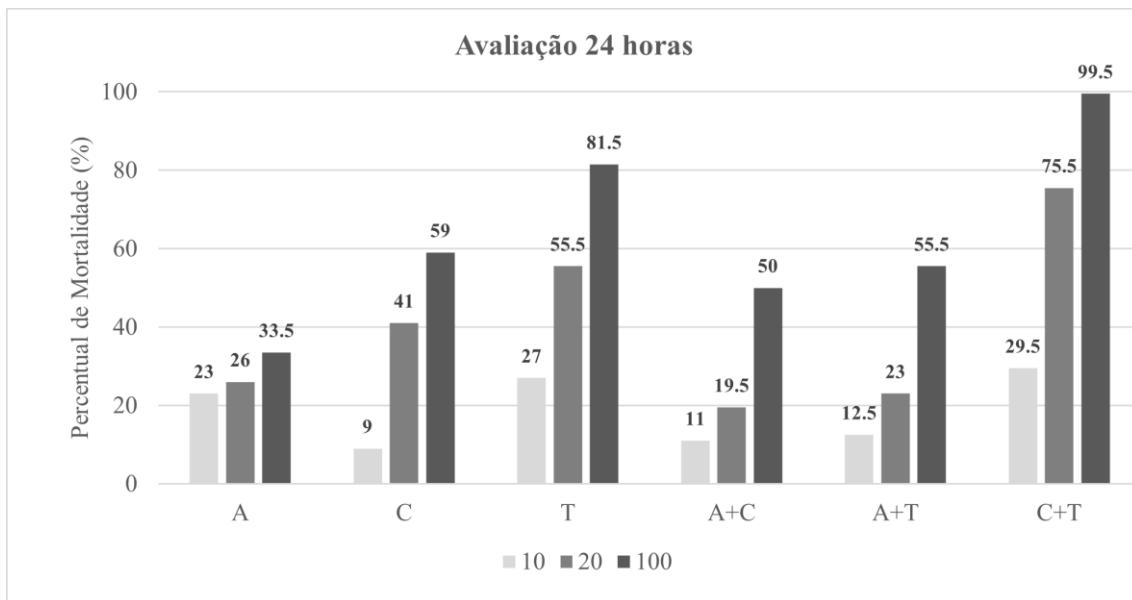
Quando comparadas as CL<sub>50</sub> dos diferentes OEs e seus constituintes majoritários na avaliação de 24 horas foi possível perceber a ordem decrescente de: carvacrol (CL<sub>50</sub> = 970,5 µg/cm<sup>2</sup>) > OE *O. vulgare* (CL<sub>50</sub> = 540,9 µg/cm<sup>2</sup>) > OE de *T. vulgaris* (CL<sub>50</sub> = 470,1

$\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > timol ( $\text{CL}_{50} = 255,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Já para a avaliação de 48 horas, quando comparadas as  $\text{CL}_{50}$  dos diferentes OEs e seus constituintes majoritários foi possível perceber a ordem decrescente de: carvacrol ( $\text{CL}_{50} = 931,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > anetol ( $\text{CL}_{50} = 559,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OE *I. verum* ( $\text{CL}_{50} = 417,9 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), > OE *T. vulgaris* ( $\text{CL}_{50} = 314,8 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > OE *O. vulgare* ( $\text{CL}_{50} = 253,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) > timol ( $\text{CL}_{50} = 102,3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Com base no exposto acima, mesmo todos apresentando atividade inseticida, é possível notar que o timol é a substância com maior atividade larvicida frente a L3 de *C. hominivorax*, enquanto o carvacrol é o que possui menor.

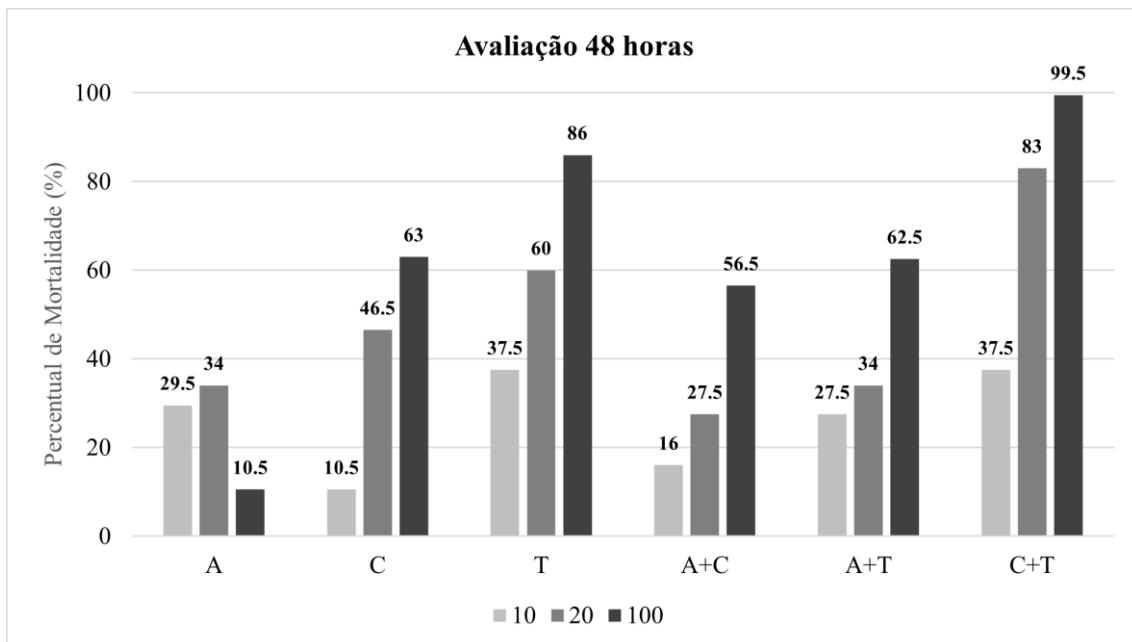
#### **4.4 Determinação do Efeito Associativo**

A associação do anetol com o carvacrol e com o timol apresentou percentuais de mortalidades menores quando comparado os resultados obtidos por estas substâncias isoladas em todas as concentrações avaliadas. O índice de combinação foi maior do que 1,45 para todas as análises realizadas combinando o anetol com o carvacrol e com o timol demonstrando antagonismo entre esses constituintes majoritários em sua atividade inseticida frente a larvas de *C. hominivorax*.

Por outro lado, a associação do timol com o carvacrol apresentou percentuais de mortalidades superiores quando comparados com as substâncias isoladas. Quando analisado o índice de combinação, foi observado um valor de 1,54 para a primeira associação ( $10 + 10 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) demonstrando um efeito antagônico, no entanto, nas concentrações subsequentes,  $20 + 20$  e  $100 + 100 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , foi calculado índices de combinações de 0,43 e 0,07 para as avaliações de 24 horas e de 0,35 e 0,07 para as avaliações de 48 horas, mostrando que o efeito sinérgico entre as substâncias aumenta à medida que as concentrações também aumentam. Os dados detalhados de mortalidade e índice de combinação estão na Figura 1 e 2 e Tabela 7.



**Figura 1** Percentual de mortalidade nas diferentes concentrações (em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para o anetol (A), carvacrol (C), timol (T) e suas combinações binárias após 24 horas de exposição das larvas de terceiro instar de *Cochliomyia hominivorax*.



**Figura 2** Percentual de mortalidade nas diferentes concentrações (em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para o anetol (A), carvacrol (C), timol (T) e suas combinações binárias após 48 horas de exposição das larvas de terceiro instar de *Cochliomyia hominivorax*.

**Tabela 7** Efeito associativo das combinações binárias de anetol, carvacrol e timol frente a larvas de terceiro instar de *Cochliomyia hominivorax*.

Tempo (h)	Substância	Concentração		Percentual de Mortalidade			IC	Efeito	
		1	2	μg/mL	μg/cm <sup>2</sup>	1	2	1+2	
24	A	C	500	10	23,0	9,0	11,0	101,50	Antagonismo
			1000	20	26,0	41,0	19,5	7,80	Antagonismo
			5000	100	33,5	59,0	50,0	1,80	Antagonismo
	A	T	500	10	23,0	27,0	12,5	42,00	Antagonismo
			1000	20	26,0	55,5	23,0	5,00	Antagonismo
			5000	100	33,5	81,5	55,5	3,80	Antagonismo
	C	T	500	10	9,0	27,0	29,5	1,54	Antagonismo
			1000	20	41,5	55,5	75,5	0,43	Sinergismo
			5000	100	59,0	81,5	99,5	0,07	Sinergismo
48	A	C	500	10	29,5	10,5	16,0	8,45	Antagonismo
			1000	20	34,0	46,5	27,5	3,59	Antagonismo
			5000	100	49,0	63,0	56,5	2,11	Antagonismo
	A	T	500	10	29,5	37,5	27,5	3,03	Antagonismo
			1000	20	34,0	60,0	34,0	3,57	Antagonismo
			5000	100	49,0	86,0	62,5	4,21	Antagonismo
	C	T	500	10	10,5	37,5	37,5	2,90	Antagonismo
			1000	20	46,5	60,0	83,0	0,35	Sinergismo
			5000	100	63,0	86,0	99,5	0,07	Sinergismo

h= horas, A = Anetol; C = Carvacrol; T = timol; IC = índice de combinação - < 0,7 sinergismo, 0,7 – 0,9 sinergismo moderado, 0,9 – 1 – aditivo; 1,1 – 1,45 moderado antagonismo, > 1,45 = antagonismo

Na literatura pesquisada não foram encontrados trabalho que avaliaram o efeito associativo de constituintes majoritários de óleos essenciais frente a califorídeos. Os resultados obtidos neste trabalho mostram um efeito antagônico quando o fenilpropanóide anetol é associado com os monoterpenos timol e carvacrol. O índice de combinação reduz à medida que as concentrações das substâncias aumentam em associação, no entanto, o efeito antagônico permanece. A mesma observação pode ser feita com o aumento do tempo de exposição (de 24 para 48 horas).

Uma explicação para este efeito antagônico pode ser a incompatibilidade de grupamentos químicos, onde poderia ocorrer uma reação química entre os componentes e o resultado seria um ativo com atividade biológica reduzida. Essa descrição já proposta por (Pavela, 2014) quando realizaram a associação do cinamaldeído, um outro fenilpropanóide, com o timol e com o carvacrol contra larvas da lagarta do algodão (*Spodoptera littoralis*).

Apesar de não ter sido observado para *C. hominivorax* o efeito sinérgico do anetol com carvacrol e com o timol já foi descrito para larvas do mosquito *C. quinquefasciatus* (Pavela, 2015) O efeito sinérgico também foi descrito para o timol associado ao anetol para larvas do besouro considerado um problema no armazenamento de grão, *Tribolium*

*castaneum* (Shahriari *et al.*, 2016). No entanto, grupos distintos de e de insetos, de diferentes classes e famílias, podem apresentar diferentes suscetibilidade a inseticidas. Por este motivo, o efeito sinérgico do timol e do carvacrol com o anetol foi observado para outras espécies e não para *C. hominivorax*. Outro ponto importante a ser observado, foi que o índice de combinação reduziu com o aumento da dose e tempo de exposição, logo, se testados em concentrações maiores, seja observado algum efeito associativo positivo (adição ou sinergismo).

O efeito sinérgico apresentado pelo timol associado ao carvacrol foi possível ser observado, para as larvas de *C. hominivorax*, a partir da segunda faixa de concentração testada. Isso mostra um possível efeito dependente da dose. O efeito sinérgico da associação de timol com o carvacrol já foi descrito para larvas dos carrapatos e *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens* (Novato *et al.*, 2015), *R. microplus* (Novato *et al.*, 2019) e foi descrito para o ácaro *Dermanyssus galinae* (Masoumi; Youssefi; Tabari, 2016). O efeito sinérgico desta associação (timol + carvacrol) também já foi descrita para larvas de outros dípteros como *C. pipiens* (Ma *et al.*, 2014; Youssefi *et al.*, 2019), *M. domestica* (Pavela, 2008) e *Drosophila melanogaster* (Sousa Silveira *et al.*, 2020), contudo, este trabalho mostra a primeira descrição do efeito desta associação sobre larvas de califorídeos.

Quando comparados com os testes de mortalidades do timol e carvacrol avaliados separadamente neste trabalho, foi obtido um percentual mortalidade de 96,7 e 98,3% para o timol na concentração de 1600  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (80000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) nas avaliações de 24 e 48 horas após a exposição. Já para o carvacrol, os percentuais de mortalidade foram de 93,3 e 95% para a concentração de 2000  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (100000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) nos mesmos tempos de avaliação mencionados acima. Quando associados, foi possível observar atividade inseticida semelhante (99,5% de mortalidade) na maior concentração avaliada 100 + 100  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (5000 + 5000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Isso mostra que quando associados é possível reduzir a concentração de timol e carvacrol utilizados em 16 e 20 vezes par obter o mesmo efeito. Essa redução traria de efeitos benéficos de reduzir a toxicidade para o hospedeiro, reduzir resíduo que eventualmente contaminaria o ambiente e reduzir o uso de insumos para a produção de uma formulação para tratamento *in vivo* de miíases em animais.

## 5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados apresentados neste estudo, foi possível concluir que:

- Dos 15 OEs avaliados, seis apresentam baixa (*C. reticulata*, *C. winterianus*, *J. virginiana*, *P. graveolans* e *S. sclarea*); seis moderada (*C. bergamia*, *C. paradisi*, *C. cassia*, *C. flexuosus*, *E. caryophylus* e *R. officinalis*); e três elevada (*I. verum*, *O. vulgare* e *T. vulgaris*) atividade frente a larvas de terceiro instar de *C. hominivorax*;
- Os constituintes majoritários anetol, carvacrol e timol demonstrado atividade larvicida frente a larvas de terceito instar de *C. hominivorax*, com destaque para a maior atividade e menor dose para o timol.
- Foi observado efeito antagônico quando o anetol foi associado com o carvacrol e com o timol e efeito sinérgico dose dependente quando associado o carvacrol com o timol frente a larvas de terceiro instar de *C. hominivorax*.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho é possível observar o potencial dos óleos essenciais como proposta para controle de infestação por larvas de *C. hominivorax* nos animais domésticos. A literatura internacional carece de publicações que embasem essa aplicação, uma vez que existem poucos trabalhos publicados frente à dípteros causadores de miíases primárias, como por exemplo *C. hominivorax*. A maior parte dos trabalhos publicados é frente a dípteros cujas larvas se desenvolvem em matéria orgânica em decomposição e atuam como agentes etiológicos de miíases secundárias.

Dentre os 15 OEs avaliados neste estudo, foi possível observar que seis apresentam baixa atividade larvicida (mortalidade inferior a 25 %): *C. reticulata*, *C. winterianus*, *J. virginiana*, *P. graveolans* e *S. sclarea*; seis moderada atividade larvicida (percentual de mortalidade de 30 a 60%): *C. bergamia*, *C. paradisi*, *C. cassia*, *C. flexuosus*, *E. caryophylus* e *R. officinalis*; e três elevada atividade larvicida (percentual de mortalidade superior a 90%): *I. verum*, *O. vulgare* e *T. vulgaris*.

A baixa ou moderada atividade desses óleos essenciais observadas neste estudo não podem ser determinantes para descartar futuras pesquisas. Outros tipos de atividades biológicas podem ser buscados e podem ser complementares para o tratamento de miíases, como por exemplo, atividade repelente frente a moscas adultas para prevenir a deposição de novas massas de ovos ou atividade cicatrizante, uma vez que larvas de *C. hominivorax* podem causar lesões extensas. Além disso, ajustes na faixa de concentração ou desenvolvimento de formas de aplicação podem aumentar a eficácia destes óleos essenciais e seus constituintes majoritários.

A elevada atividade larvicida dos OEs de *I. verum*, *O. vulgare* e *T. vulgaris* foi repetida quando avaliado os seus constituintes majoritários, portanto, a atividade biológica de inseticida pode ser atribuída ao anetol, carvacrol e timol. Dentre esses, o timol foi o que apresentou melhor desempenho (menor concentração letal em menor tempo) para matar L3 de *C. hominivorax*. Embora com resultados promissores, é importante lembrar que este trabalho se trata de uma avaliação *in vitro*. Muitas pesquisas ainda são necessárias para avaliar a aplicabilidade desses compostos em animais quanto a sua segurança clínica e comportamento dessas substâncias frente a variáveis bióticas e abióticas que podem ser submetidas após o tratamento de um animal.

Quando avaliado o efeito associativo dos constituintes majoritários que apresentaram elevada atividade larvicida, foi possível perceber que o anetol apresentou efeito antagônico com o carvacrol e com o timol nas concentrações avaliadas neste estudo. Devido ao maior tempo necessário para se obter 100% de mortalidade e a impossibilidade de associação com os outros isolados testados, essa substância mereça maior atenção em outros estudos, avaliando seu potencial frente a outras atividades biológicas e em associação com outros ativos.

Por outro lado, a associação do carvacrol e do timol mostrou ser promissora para o controle de larvas de *C. hominivorax* devido a sua capacidade de causar 100% de mortalidade em concentrações muito menores do que as observadas destas substâncias de maneira isolada neste estudo. Depois de todos os resultados apresentados neste trabalho é possível perceber que OEs podem ser promissores para o controle de larvas de *C. hominivorax*. Contudo, é importante ressaltar que OEs apresentam muitas outras atividades biológicas além da atividade inseticida, esses produtos poderiam ser explorados frente a suas atividades repelentes, na tentativa de prevenir infestações ou reinfestações causadas por larvas destes dípteros em feridas. Além disso, muitas dos componentes de OEs possuem potencial como promotores ou coadjuvantes no processo de cicatrização. Uma outra característica a ser explorado tendo em mente que a infestação por larvas deste díptero podem causar feridas extensas em mamíferos.

Por fim, estudos futuros devem ser realizados com a finalidade de determinar a atividade repelente, cicatrizante para iniciar o mo o desenvolvimento de formulações farmacêuticas que melhorem sua aplicação e eficácia residual no animal, para que consigam atuar tanto na terapêutica curativa como preventiva para infestações por larvas desse díptero.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, G. R.; ZAPATER, M.; TOLOZA, A. C. Insecticide resistance of house fly, *Musca domestica* (L.) from Argentina. **Parasitology Research**, v. 105, n. 2, p. 489–493, 2 jul. 2009.
- ADAM, F. *et al.* New benchmark for basic and neutral nitrogen compounds speciation in middle distillates using comprehensive two-dimensional gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, n. 1, p. 55–64, abr. 2007.
- AKRE, C. The Use of Pyrethroids, Carbamates, Organophosphates, and Other Pesticides in Veterinary Medicine. Em: **Chemical Analysis of antimicrobial Veterinary Drug Residues in Food**. Hoboken, NJ, USA: John Wiley;38; Sons, Inc., 2016. p. 383–426.
- ALMEIDA, M. Â. O. *et al.* Ocorrência de ectoparasitos em avestruzes (*Struthio camelus*) criadas no semi-árido baiano. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 3, p. 155–157, set. 2008.
- ALTUNA, M. *et al.* New World screwworm (*Cochliomyia hominivorax*) myiasis in feral swine of Uruguay: One Health and transboundary disease implications. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 26, 7 dez. 2021.
- ANADÓN, A.; MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R.; MARTÍNEZ, M. A. Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v. 182, n. 1, p. 7–20, out. 2009.
- ANTONIO, R. *et al.* Investigation of urban ethnoveterinary in three veterinary clinics at east zone of São Paulo city, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 183–190, set. 2015.
- ANZIANI, O. S. *et al.* Persistent activity of doramectin and ivermectin in the prevention of cutaneous myiasis in cattle experimentally infested with *Cochliomyia hominivorax*. **Veterinary Parasitology**, v. 87, n. 2–3, p. 243–247, jan. 2000.
- ANZIANI, O. S.; GUGLIELMONE, A. A.; AGUIRRE, D. H. Larvicidal Activity of Abamectin against Natural *Cochliomyia hominivorax* Larva Infestation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 791, n. 1, p. 443–444, 17 jul. 1996.
- APROTOSOIAE, A. C. *et al.* Essential oils of *Lavandula* genus: a systematic review of their chemistry. **Phytochemistry Reviews**, v. 16, n. 4, p. 761–799, 3 ago. 2017.
- ARRUDA, C. *et al.* Occurrence, chemical composition, biological activities, and analytical methods on *Copaifera* genus—A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1–20, jan. 2019.
- DE CARVALHO, R. **Isolamento e caracterização do gene da esterase relacionado a resistência a inseticidas organofosforados na mosca praga da pecuária *Cochliomyia hominivorax* (Díptera: Calliphoridae)**. Campinas, SP: Universidade Estadual de Campinas, 22 mar. 2007.
- BAGAVAN, A. *et al.* Contact and fumigant toxicity of hexane flower bud extract of *Syzygium aromaticum* and its compounds against *Pediculus humanus capitis*

(Phthiraptera: Pediculidae). **Parasitology Research**, v. 109, n. 5, p. 1329–1340, 4 nov. 2011.

BANULS, D. *et al.* A Dietary Plant Extract Formulation Helps Reduce Flea Populations in Cats: A Double-Blind Randomized Study. **Pharmaceuticals**, v. 16, n. 2, p. 195, 28 jan. 2023.

BARDAJÍ, D. K. R. *et al.* *Copaifera reticulata* oleoresin: Chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. **Anaerobe**, v. 40, p. 18–27, ago. 2016.

BARROS, G. P. DE *et al.* Does tail docking prevent *Cochliomyia hominivorax* myiasis in sheep? A six-year retrospective cohort study. **Animal Welfare**, v. 33, p. e26, 8 maio 2024.

BARROS, G. P. DE; BRICARELLO, P. A. Myiasis by *Cochliomyia hominivorax*; (Coquerel, 1858): A Neglected Zoonosis in Brazil. **Open Journal of Veterinary Medicine**, v. 10, n. 06, p. 80–91, 2020.

BATISTA-DA-SILVA, J. A.; MOYA-BORJA, G. E.; QUEIROZ, M. M. C. Factors of Susceptibility of Human Myiasis Caused by the New World Screwworm, *Cochliomyia hominivorax* in São Gonçalo, Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 14, p. 1–7, abr. 2011.

BEDINI, S. *et al.* *Allium sativum*, *Rosmarinus officinalis*, and *Salvia officinalis* Essential Oils: A Spiced Shield against Blowflies. **Insects**, v. 11, n. 3, p. 143, 25 fev. 2020.

BEDINI, S. *et al.* *Artemisia* spp. essential oils against the disease-carrying blowfly *Calliphora vomitoria*. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 80, 13 dez. 2017.

BEDINI, S. *et al.* Bioactivity of Different Chemotypes of Oregano Essential Oil against the Blowfly *Calliphora vomitoria* Vector of Foodborne Pathogens. **Insects**, v. 12, n. 1, p. 52, 11 jan. 2021.

BEDINI, S. *et al.* Toxicity and oviposition deterrence of essential oils of *Clinopodium nubigenum* and *Lavandula angustifolia* against the myiasis-inducing blowfly *Lucilia sericata*. **PLOS ONE**, v. 14, n. 2, p. e0212576, 20 fev. 2019a.

BENELLI, G.; PAVELA, R. Beyond mosquitoes—Essential oil toxicity and repellency against bloodsucking insects. **Industrial Crops and Products**, v. 117, p. 382–392, jul. 2018.

BENITEZ USHER, C. *et al.* Prophylactic use of ivermectin against cattle myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858). **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 2, p. 215–220, out. 1997.

BLACQUIÈRE, T. *et al.* Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects, and risk assessment. **Ecotoxicology**, v. 21, n. 4, p. 973–992, 18 maio 2012.

BRICARELLO, P. A. *et al.* Data of insecticide action of a nanoemulsion of Citronella essential oil on *Cochliomyia hominivorax* blowfly. **Data in Brief**, v. 38, p. 107391, out. 2021b.

BRICARELLO, P. A. *et al.* Ovicidal, larvicidal and oviposition repelling action of a nanoemulsion of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*) on *Cochliomyia*

*hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 24, n. 3, p. 724–730, ago. 2021a.

BUDD, R. *et al.* Monitoring Fipronil and Degradates in California Surface Waters, 2008-2013. **Journal of Environmental Quality**, v. 44, n. 4, p. 1233–1240, jul. 2015.

CARVALHO, R. A. *et al.* Molecular characterization of esterase E3 gene associated with organophosphorus insecticide resistance in the New World screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 23, n. s1, p. 86–91, 24 jun. 2009a.

CESTARI, I. M. *et al.* Evaluation of the potential insecticide activity of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against the head lice *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 6, p. 805–807, dez. 2004.

CHAABAN, A. *et al.* Chemical composition of *Piper gaudichaudianum* essential oil and its bioactivity against *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 30, n. 3, p. 159–166, 4 maio 2018.

CHAABAN, A. *et al.* Chemical Composition of the Essential Oil of *Tagetes minuta* and Its Activity against *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **European Journal of Medicinal Plants**, v. 18, n. 1, p. 1–10, 10 jan. 2017.

CHAABAN, A. *et al.* Effects of *Tagetes minuta* essencial oil on *Lucilia cuprina* third instar larvae. **Data in Brief**, v. 25, p. 104008, ago. 2019a.

CHAABAN, A. *et al.* Essential Oils for Myiasis Control: Potentialities for Ecofriendly Insecticides. **European Journal of Medicinal Plants**, v. 21, n. 4, p. 1–25, 21 dez. 2017.

CHAABAN, A. *et al.* Insecticide activity of *Baccharis dracunculifolia* essential oil against *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **Natural Product Research**, v. 32, n. 24, p. 2954–2958, 17 dez. 2018.

CHAABAN, A. *et al.* Insecticide activity of *Curcuma longa* (leaves) essential oil and its major compound  $\alpha$ -phellandrene against *Lucilia cuprina* larvae (Diptera: Calliphoridae): Histological and ultrastructural biomarkers assessment. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 153, p. 17–27, jan. 2019b.

CHEN, Y.-W. *et al.* The impact of pyriproxyfen on the development of honeybee (*Apis mellifera* L.) colony in field. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 3, p. 589–594, set. 2016.

CHOI, J. *et al.* Constituents of the essential oil of the *Cinnamomum* cassia stem bark and the Biological Properties. **Archives of Pharmacal Research**, v. 24, n. 5, p. 418–423, out. 2001.

CHUPEAU, Z. *et al.* Organophosphorus Flame Retardants: A Global Review of Indoor Contamination and Human Exposure in Europe and Epidemiological Evidence. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 18, p. 6713, 15 set. 2020.

COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E. DE; ESPÍNDOLA, L. S. Insecticidal activity of cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão; Jurberg

(Hemiptera: Reduviidae), under laboratory conditions. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 1, p. 133–138, fev. 2006.

COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N. Chemical composition of essential oils of seven species of Eugenia from Monteverde, Costa Rica. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 12, p. 877–886, dez. 2007.

CONCEIÇÃO, C. L. *et al.* Evaluation of Insecticidal Activity of Thyme, Oregano, and Cassia Volatile Oils on Cat Flea. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 30, n. 6, p. 774–779, 23 dez. 2020.

COOK, D. A Historical Review of Management Options Used against the Stable Fly (Diptera: Muscidae). **Insects**, v. 11, n. 5, p. 313, 15 maio 2020.

COQUEREL, C. H. Note sur les larves appartenant à une espèce nouvelle de diptère (*Lucilia hominivorax*) développées dans les sinus frontaux de l'homme à Cayenne. In: **Annales de la Société entomologique de France**. 1858. p. 171-176.

CORREIA, T. R. *et al.* Larvicidal efficacy of nitenpyram on the treatment of myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 1–2, p. 169–172, out. 2010.

CORTINAS, R.; JONES, C. J. Ectoparasites of Cattle and Small Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 22, n. 3, p. 673–693, nov. 2006.

COSSETIN, L. F. *et al.* Comparing the efficacy of nutmeg essential oil and a chemical pesticide against *Musca domestica* and *Chrysomya albiceps* for selecting a new insecticide agent against synanthropic vectors. **Experimental Parasitology**, v. 225, p. 108104, jun. 2021.

COSTA, R. *et al.* Study on the chemical composition variability of some processed bergamot (*Citrus bergamia*) essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, n. 1, p. 4–12, 6 jan. 2010.

COSTA-JÚNIOR, L. M. *et al.* A review on the occurrence of *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, 1 out. 2019.

CRAMER-RIBEIRO, B. C. *et al.* Inquiry of cases of myiasis by *Cochliomyia hominivorax* in dogs (*Canis familiaris*) of the Northern and Western zones of Rio de Janeiro city in 2000. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 1, p. 13–20, 2003.

CUSHING, E. C.; PATTON, W. S. Studies on the Higher Diptera of Medical and Veterinary Importance. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 539–551, 20 dez. 1933.

CUTOLO, A. A. *et al.* Efficacy of afoxolaner (NexGard®) on the treatment of myiasis caused by the New World screwworm fly *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in naturally infested dogs. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 24, p. 100569, abr. 2021.

DA CONCEIÇÃO, C. L. *et al.* *In vitro* evaluation of the activity of Cinnamaldehyde as an inhibitor of the biological cycle of *Ctenocephalides felis felis*. **Brazilian journal of veterinary medicine**, v. 45, p. e005123, 2023.

DA COSTA, A. J. *et al.* First report of the efficacy of a fluralaner-based pour-on product (Exzolt® 5%) against ectoparasites infesting cattle in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 336, 26 set. 2023.

DE CARVALHO, R. A. *et al.* Changes in the frequency of the G137D and W251S mutations in the carboxylesterase E3 gene of *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) populations from Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 3–4, p. 297–301, jun. 2010a.

DE SILVA, H. J.; SAMARAWICKREMA, N. A.; WICKREMASINGHE, A. R. Toxicity due to organophosphorus compounds: what about chronic exposure? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, n. 9, p. 803–806, set. 2006.

DENKOVA-KOSTOVA, R. *et al.* Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon* L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 76, n. 5–6, p. 175–185, 26 maio 2021.

DEVILLERS, J.; DEVILLERS, H. Lethal and Sublethal Effects of Pyriproxyfen on Apis and Non-Apis Bees. **Toxics**, v. 8, n. 4, p. 104, 17 nov. 2020.

DO VALE, T. L. *et al.* Efficacy of lotilaner against myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in naturally infested dogs. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 86, 6 mar. 2023.

DOS SANTOS, G. C. M. *et al.* Oral pharmacokinetic profile of fipronil and efficacy against flea and tick in dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 45, n. 1, p. 23–33, 31 jan. 2022.

DYCK, V. A.; HENDRICH, J.; ROBINSON, A. S. **Sterile Insect Technique**. Boca Raton: CRC Press, 2021.

DZAMIC, A. *et al.* Chemical composition and antifungal activity of *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 45, n. 2, p. 259–261, 8 mar. 2009.

DZAMIC, A. M. *et al.* Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of *Pelargonium graveolens* essential oil. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 2014.

EDDI, C.; NARI, A.; CARACOSTANTOGOLO, J. Use of macrocyclic lactones to control cattle parasites in South America. Em: **Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy**. UK: CAB International, 2002. p. 262–287.

ELLSE, L.; WALL, R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 28, n. 3, p. 233–243, 22 set. 2014.

ENSLEY, S. M. Neonicotinoids. Em: **Veterinary Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2018b. p. 521–524.

- ENSLEY, S. M. Pyrethrins and Pyrethroids. Em: **Veterinary Toxicology**. [s.l.] Elsevier, 2018a. p. 515–520.
- ETCHEVERS, I. *et al.* Review on ecological interactions of the *Cochliomyia hominivorax* fly and assessment of the possible impacts of its eradication in Uruguay. **Agrociencia Uruguay**, v. 26, n. 2, p. e1056, 16 set. 2022.
- FARINA, P. *et al.* Andean Plants Essential Oils: A Scented Alternative to Synthetic Insecticides for the Control of Blowflies. **Insects**, v. 12, n. 10, p. 894, 1 out. 2021.
- FARINA, P. *et al.* Chitosan and Essential Oils Combined for Beef Meat Protection against the Oviposition of *Calliphora vomitoria*, Water Loss, Lipid Peroxidation, and Colour Changes. **Foods**, v. 11, n. 24, p. 3994, 9 dez. 2022.
- FERRAZ, C. A. *et al.* Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. **Environmental Pollution**, v. 292, p. 118319, jan. 2022.
- FIGIEL, A. *et al.* Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as affected by drying method. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 2, p. 240–247, maio 2010.
- FLEMING, S. A. *et al.* Anthelmintic Resistance of Gastrointestinal Parasites in Small Ruminants. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 2, p. 435–444, 5 mar. 2006.
- FRANCESCONI, F.; LUPI, O. Myiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 1, p. 79–105, jan. 2012.
- FRESIA, P. *et al.* Historical perspective and new avenues to control the myiasis-causing fly *Cochliomyia hominivorax* in Uruguay. **Agrociencia Uruguay**, v. 25, n. 2, 18 nov. 2021.
- GANJEWALA, D. *Cymbopogon* essential oils: Chemical compositions and bioactivities. **International Journal of Essential Oil Therapeutics**, v. 3, p. 56–65, 2009.
- GARDULF, A.; WOHLFART, I.; GUSTAFSON, R. A Prospective Cross-Over Field Trial Shows Protection of Lemon Eucalyptus Extract Against Tick Bites. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 6, p. 1064–1067, 1 nov. 2004.
- GEALH, W. C. *et al.* Treatment of oral myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax*: two cases treated with ivermectin. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 47, n. 1, p. 23–26, jan. 2009.
- GONÇALVES, B. V. DA S.; BARBERINI, I. R.; FURTADO, S. K. Etnoveterinária: a fitoterapia aplicada a medicina de animais de companhia. **Revista Fitos**, v. 15, n. Supl 1, p. 102–115, 31 jan. 2022.
- GRISI, L. *et al.* Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150–156, jun. 2014.
- GUERRERO, F. D.; LOVIS, L.; MARTINS, J. R. Acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 1, p. 1–6, mar. 2012.

- GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N.; PRADO, Â. P. DO. As míases na região neotropical (identificação, biologia, bibliografia). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, n. 4, p. 239–416, 1982.
- GUNNARSSON, L. *et al.* Evolutionary Conservation of Human Drug Targets in Organisms used for Environmental Risk Assessments. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 15, p. 5807–5813, 1 ago. 2008.
- GUPTA, R. C. Classification and Uses of Organophosphates and Carbamates. **Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds**. Elsevier, 2006. p. 5–24.
- GUPTA, R. C.; ANADÓN, A. Fipronil. Em: **Veterinary Toxicology**. Elsevier, 2018. p. 533–538.
- HĂDĂRUGĂ, N. *et al.* Comparative study of *Juniperus communis* and *Juniperus virginiana* essential oils: TLC and GC analysis. **Journal of Planar Chromatography – Modern TLC**, v. 24, n. 2, p. 130–135, abr. 2011.
- HALL, M.; WALL, R. Myiasis of Humans and Domestic Animals. Em: [s.l: s.n.]. p. 257–334.
- HAN, H. S. *et al.* The comparative efficacy of afoxolaner, spinosad, milbemycin, spinosad plus milbemycin, and nitenpyram for the treatment of canine cutaneous myiasis. **Veterinary Dermatology**, v. 29, n. 4, p. 312, 6 ago. 2018.
- HANIF, M. A. *et al.* Essential Oils. Em: **Essential Oil Research**. Cham: Springer International Publishing, 2019. p. 3–17.
- HARDY, J. L. Susceptibility and Resistance of Vector Mosquitoes. Em: **The Arboviruses: Epidemiology and Ecology**. [s.l.] CRC Press, 2020. p. 87–126.
- HEATH, A. C. G. Beneficial aspects of blowflies (Diptera: Calliphoridae). **New Zealand Entomologist**, v. 7, n. 3, p. 343–348, jan. 1982.
- HEMINGWAY, J. *et al.* The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 34, n. 7, p. 653–665, jul. 2004.
- HEMINGWAY, J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 30, n. 11, p. 1009–1015, nov. 2000.
- HERRERO-JÁUREGUI, C. *et al.* Chemical Variability of *Copaifera reticulata* Oleoresin. **Chemistry & Biodiversity**, v. 8, n. 4, p. 674–685, 11 abr. 2011.
- HILLARY, V. E.; CEASAR, S. A.; IGNACIMUTHU, S. Efficacy of plant products in controlling disease vector mosquitoes, a review. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 172, n. 3, p. 195–214, 5 mar. 2024.
- ILBEIGI, K. *et al.* Assessing Environmental Risks during the Drug Development Process for Parasitic Vector-Borne Diseases: A Critical Reflection. **ACS Infectious Diseases**, v. 10, n. 4, p. 1026–1033, 12 abr. 2024.
- NOLAN, LOK, J. Macrocyclic Lactones in the Treatment and Control of Parasitism in Small Companion Animals. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 1078–1094, 1 abr. 2012.

JAQUELINE SEUGLING *et al.* Development of *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) Essential Oil Nanoemulsion and Its Biological Activity on Pre-pupae of *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, n. 6, 8 jun. 2019.

JENKINS, J. R. Skin Disorders of the Rabbit. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 4, n. 2, p. 543–563, maio 2001.

KAČÁNOVÁ, M. *et al.* Salvia sclarea Essential Oil Chemical Composition and Biological Activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5179, 8 mar. 2023.

KAUSHIK, M. *et al.* A systematic review of plant-based mosquito repellents and their activity. **Indian Journal of Natural Products and Resources**, 2023.

KHATER, H. F. *et al.* Control of the myiasis-producing fly, *Lucilia sericata*, with Egyptian essential oils. **International Journal of Dermatology**, v. 50, n. 2, p. 187–194, 28 fev. 2011.

KHATER, H. F. *et al.* Toxicity and growth inhibition potential of vetiver, cinnamon, and lavender essential oils and their blends against larvae of the sheep blowfly, *Lucilia sericata*. **International Journal of Dermatology**, v. 57, n. 4, p. 449–457, 8 abr. 2018a.

KHATER, K. Effect of two volatile oils extracted from *Syzygium aromaticum*, *Mentha longifolia*, and imidacloprid on *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae). **Parasitologists United Journal**, v. 14, n. 1, p. 46–57, 1 abr. 2021.

KING, W. V.; BRADLEY, G. H. The Screw Worm Outbreak in Florida. **Journal of Economic Entomology**, v. 28, n. 5, p. 772–777, 1 out. 1935.

KNIPLING, E. F. Possibilities of Insect Control or Eradication Through the Use of Sexually Sterile Males1. **Journal of Economic Entomology**, v. 48, n. 4, p. 459–462, 1 ago. 1955.

KOSCHORRECK, J.; KOCH, C.; RÖNNEFAHRT, I. Environmental risk assessment of veterinary medicinal products in the EU—a regulatory perspective. **Toxicology Letters**, v. 131, n. 1–2, p. 117–124, maio 2002.

KUMAR, R. Molecular markers, and their application in the monitoring of acaricide resistance in *Rhipicephalus microplus*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 78, n. 2, p. 149–172, 12 jun. 2019.

LI, A. Y.; LOHMEYER, K. H.; MILLER, J. A. Dynamics, and mechanisms of permethrin resistance in a field population of the horn fly, *Haematobia irritans irritans*. **Insect Science**, v. 16, n. 2, p. 175–184, 9 abr. 2009.

LI, C.-J.; ANASTAS, P. T. Green Chemistry: present and future. **Chemical Society Reviews**, v. 41, n. 4, p. 1413, 2012.

LIMA, W. S. *et al.* Evaluation of the prophylactic effect and curative efficacy of fipronil 1% pour on (Topline®) on post-castration scrotal myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 125, n. 3–4, p. 373–377, nov. 2004.

- LIS-BALCHIN, M. Chemical composition of essential oils from different species, hybrids, and cultivars of *Lavandula*. Em: **Lavender**. 1st Edition ed. [s.l.] CRC Press, 2002. p. 265–276.
- LIU, F. *et al.* Quantitative differentiation of toxicity contributions and predicted global risk of fipronil and its transformation products to aquatic invertebrates. **Water Research**, v. 255, p. 121461, maio 2024.
- LIU, N. Insecticide Resistance in Mosquitoes: Impact, Mechanisms, and Research Directions. **Annual Review of Entomology**, v. 60, n. 1, p. 537–559, 7 jan. 2015.
- LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. DE. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde em Debate**, v. 42, n. 117, p. 518–534, jun. 2018.
- LOPES, W. D. Z. *et al.* The effectiveness of a fixed-dose combination pour-on formulation of 1.25% fipronil and 2.5% fluazuron against economically important ectoparasites and associated pharmacokinetics in cattle. **Parasitology International**, v. 66, n. 5, p. 627–634, out. 2017.
- LUMARET, J.-P. *et al.* A Review on the Toxicity and Non-Target Effects of Macroyclic Lactones in Terrestrial and Aquatic Environments. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 1004–1060, 1 abr. 2012.
- MADDHESHIYA, R.; SINGH, K. P. Effect of *Lantana camara* essential oil on embryogenesis and postembryonic development of the blowfly, *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae) following egg treatment. **Invertebrate Reproduction & Development**, v. 66, n. 1, p. 16–22, 2 jan. 2022.
- MANION, C. R.; WIDDER, R. M. Essentials of essential oils. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 74, n. 9, p. e153–e162, 1 maio 2017.
- MARTIN, R. J.; ROBERTSON, A. P.; WOLSTENHOLME, A. J. Mode of action of the macrocyclic lactones. Em: **Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy**. UK: CAB International, 2002. p. 125–140.
- MARTINS, L. G. V.; BARBOSA, T. M.; GAMA, R. A. Myiasis in humans: Case reports in Northeastern Brazil including multispecies co-infestation by Sarcophagidae. **Parasitology International**, v. 85, p. 102436, dez. 2021.
- MASTRANGELO, T.; BEZERRA, F.; FERNANDES, T. Dietas larvais alternativas para criação massal da mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax*. **Ciência Rural**, v. 44, n. 4, p. 672–677, abr. 2014.
- MASTRANGELO, T.; WELCH, J. An Overview of the Components of AW-IPM Campaigns against the New World Screwworm. **Insects**, v. 3, n. 4, p. 930–955, 12 out. 2012.
- MATOS, L. F. *et al.* Chemical composition and insecticidal effect of essential oils from *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllus* on *Callosobruchus maculatus* in cowpea. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112088, mar. 2020.

- MCCOY, C.; BROCE, A. B.; DRYDEN, M. W. Flea blood feeding patterns in cats treated with oral nitenpyram and the topical insecticides imidacloprid, fipronil and selamectin. **Veterinary Parasitology**, v. 156, n. 3–4, p. 293–301, out. 2008.
- MCKELLAR, A. Q.; GOKBULUT, C. Pharmacokinetic Features of the Antiparasitic Macroyclic Lactones. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 888–911, 1 abr. 2012.
- MENDES-DE-ALMEIDA, F. *et al.* *Cochliomyia hominivorax* myiasis in a colony of stray cats (*Felis catus* Linnaeus, 1758) in Rio de Janeiro, RJ. **Veterinary Parasitology**, v. 146, n. 3–4, p. 376–378, maio 2007.
- MIKHAIEL, A. A.; AMIN, M. M. Laboratory Assessment for the Efficacy of Some botanical oils to Prevent Animal Wound Myiasis by Flesh Fly *Chrysomya albiceps* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, v. 6, n. 1, p. 53–67, dez. 2013.
- MILLER, J. A.; OEHLER, D. D.; KUNZ, S. E. Release of Pyrethroids from Insecticidal Ear Tags. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, n. 6, p. 1335–1340, 1 dez. 1983.
- MIRANDA, F. R. *et al.* Success of nitenpyram in the treatment of ocular myiasis in the orbital cavity of a dog - case report. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 42, 2020.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (Brasil). Instrução Normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013. Estabelece os procedimentos para a notificação obrigatória da infestação por *Cochliomyia hominivorax*. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 45, 25 set. 2013.
- MISHRA, P. A systematic review on different aspect for mosquito management. **International Journal of Mosquito Research**, v. 11, n. 2, p. 01–08, 1 jan. 2024.
- MONTES, R. H. O. *et al.* Amperometric determination of the insecticide fipronil using batch injection analysis: comparison between unmodified and carbon-nanotube-modified electrodes. **Journal of Solid-State Electrochemistry**, v. 20, n. 9, p. 2453–2459, 21 set. 2016.
- MOYA-BORJA, G. E. *et al.* Prophylactic and persistent efficacy of doramectin against *Cochliomyia hominivorax* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 49, n. 1, p. 95–105, jul. 1993.
- MOYA-BORJA, G. E. *et al.* Protective efficacy of doramectin and ivermectin against *Cochliomyia hominivorax*. **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 1, p. 101–109, set. 1997.
- MUNIZ, R. A. *et al.* Efficacy of injectable doramectin in the protection of castrated cattle against field infestations of *Cochliomyia hominivorax*. **Veterinary Parasitology**, v. 58, n. 4, p. 327–333, jul. 1995.
- MUÑOZ, A. A. F.; CACERES, A. F. B.; LEÓN, J. C. P. First report of myiasis in dogs caused by *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel 1858) in Colombia. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 19, p. 100356, jan. 2020.
- MURPHY, M.; BALL, C. A.; GROSS, S. Comparative *in vivo* adulticidal activity of a topical dinotefuran versus an imidacloprid-based formulation against cat fleas

(*Ctenocephalides felis*) on cats. **Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine**, v. 10, n. 1–2, p. 9–16, 2009.

NOLAN, J. Mechanisms of resistance to chemicals in arthropod parasites of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 155–166, ago. 1985.

NOSHAD, M.; ALIZADEH BEHBAHANI, B.; NIKFARJAM, Z. Chemical composition, antibacterial activity, and antioxidant activity of *Citrus bergamia* essential oil: Molecular docking simulations. **Food Bioscience**, v. 50, p. 102123, dez. 2022.

OAKESHOTT, J. G. *et al.* Comparing the organophosphorus and carbamate insecticide resistance mutations in cholin- and carboxyl-esterases. **Chemico-Biological Interactions**, v. 157–158, p. 269–275, dez. 2005.

OLIVEIRA, L. M. *et al.* *Ocimum gratissimum* essential oil and eugenol against *Ctenocephalides felis felis* and *Rhipicephalus sanguineus*: *In vitro* activity and residual efficacy of a eugenol-based spray formulation. **Veterinary Parasitology**, v. 309, p. 109771, set. 2022.

OLIVEIRA, P. C. DE *et al.* Efficacy of sarolaner on the treatment of myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 276, p. 108966, dez. 2019.

OLIVEIRA, P. E.; RECH, A. R. Floral biology and pollination in Brazil: history and possibilities. **Acta Botanica Brasilica**, v. 32, n. 3, p. 321–328, set. 2018.

PARKER, I. D. *et al.* Florida Key Deer Abundance and Recovery Following New World Screwworm Infestation. **Southeastern Naturalist**, v. 19, n. 2, p. 179, 28 abr. 2020.

PAVELA, R. Insecticidal properties of several essential oils on the house fly (*Musca domestica* L.). **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 2, p. 274–278, 20 fev. 2008.

PEZZI, M. *et al.* Cutaneous myiasis in cats and dogs: Cases, predisposing conditions, and risk factors. **Veterinary Medicine and Science**, v. 7, n. 2, p. 378–384, 18 mar. 2021.

PEZZI, M. *et al.* Myiasis in domestic cats: a global review. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 372, 29 dez. 2019.

PITAROKILI, D. *et al.* Composition and Antifungal Activity on Soil-Borne Pathogens of the Essential Oil of *Salvia sclarea* from Greece. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 23, p. 6688–6691, 1 nov. 2002.

POLITI, F. A. S. *et al.* Acaricidal activity of ethanolic extract from aerial parts of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) against larvae and engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 295, 17 dez. 2012.

POUDEL, S. *et al.* Pesticide Use and Its Impacts on Human Health and Environment. **Environment & Ecosystem Science**, v. 4, n. 1, p. 47–51, 5 out. 2020.

RAHUL, M.; DEEP MALA, S.; KRISHNA PAL, S. Analysis of the chemical composition (GC–MS) of *Lantana camara* (Verbenaceae) essential oil and its insecticidal effect on the post-embryonic development of *Chrysomya megacephala*

(Fabricius, 1794) (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Applied Biology & Biotechnology**, 10 jul. 2020.

RECK, J. *et al.* Does *Rhipicephalus microplus* tick infestation increase the risk for myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle? **Preventive Veterinary Medicine**, v. 113, n. 1, p. 59–62, jan. 2014.

REISSERT-OPPERMANN, S. *et al.* Insecticide resistance in stable flies (*Stomoxys calcitrans*) on dairy farms in Germany. **Parasitology Research**, v. 118, n. 9, p. 2499–2507, 30 set. 2019.

RIBEIRO, F. D. A. *et al.* Activity of neem extract on the embryonary development of *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista brasileira de parasitologia veterinaria**, v. 17 Suppl 1, p. 87–91, set. 2008.

RITTER, R. A. *et al.* Ethnoveterinary knowledge and practices at Colares island, Pará state, eastern Amazon, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 2, p. 346–352, nov. 2012.

RUÍZ-MARTÍNEZ, I. *et al.* The Role of Botfly Myiasis Due to *Dermatobia hominis* L. Jr. (Diptera: Cuterebridae) as a Predisposing Factor to New World Screwworm Myiasis (*Cochliomyia hominivorax* Coquerel) (Diptera: Calliphoridae). *a. Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 791, n. 1, p. 434–442, 17 jul. 1996.

RUST, M. Insecticide Resistance in Fleas. **Insects**, v. 7, n. 1, p. 10, 17 mar. 2016.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 1–3, p. 89–109, jul. 2001.

SANTOS, A. R. DOS *et al.* Evaluation of essential oils and diluents against *Chrysomya megacephala*, an important mechanical vector. **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 3, p. 100024, mar. 2023a.

SARAIVA, L. C. *et al.* Insecticidal and repellent activity of geranium essential oil against *Musca domestica* and *Lucilia cuprina*. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 40, n. 4, p. 1093–1098, 24 dez. 2020.

SATYAL, P. *et al.* Essential Oil Characterization of *Thymus vulgaris* from Various Geographical Locations. **Foods**, v. 5, n. 4, p. 70, 27 out. 2016.

SCOTT, I.; BISHOP, R.; POMROY, W. Anthelmintic resistance in equine helminth parasites – a growing issue for horse owners and veterinarians in New Zealand? **New Zealand Veterinary Journal**, v. 63, n. 4, p. 188–198, 4 jul. 2015.

SELL, C. Chemistry of Essential Oils. Em: **Handbook of Essential Oils**. Third edition. Boca Raton: CRC Press, [2020]: CRC Press, 2020. p. 161–189.

SHALABY, H. A. *et al.* Larvicidal activity of camphor and lavender oils against sheep blowfly, *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Parasitic Diseases**, v. 40, n. 4, p. 1475–1482, 24 dez. 2016.

SHAROPOV, F. S.; ZHANG, H.; SETZER, W. N. Composition of geranium (*Pelargonium graveolens*) essential oil from Tajikistan. **American Journal of Essential Oils and Natural Products**, v. 2, n. 2, p. 13–16, dez. 2014.

- SIQUEIRA, J. A. A. *et al.* Occurrence and anatomical distribution of myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in swine. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 22, p. 100481, dez. 2020.
- SKODA, S. R.; PHILLIPS, P. L.; WELCH, J. B. Screwworm (Diptera: Calliphoridae) in the United States: Response to and Elimination of the 2016–2017 Outbreak in Florida. **Journal of Medical Entomology**, v. 55, n. 4, p. 777–786, 28 jun. 2018.
- SOFOWORA, A. Research on Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 2, n. 3, p. 365–372, set. 1996.
- ŠTRBAC, F. *et al.* Botanical Control of Parasites in Veterinary Medicine. **International Journal of Agriculture and Biosciences**, v. 3, p. 215–222, 2023.
- SUASSUNA BEZERRA, A. D. *et al.* Ectoparasitos em Caprinos e Ovinos no Município de Mossoró, Rio Grande Do Norte. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, 1 abr. 2010.
- SUWANNAYOD, S. *et al.* Activity of Kaffir Lime (*Citrus Hystrix*) Essential Oil Against Blow Flies and House Fly. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 49, n. 1, p. 32–45, 2018.
- SZUMNY, A. *et al.* Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method. **Journal of Food Engineering**, v. 97, n. 2, p. 253–260, mar. 2010.
- TADEE, P. *et al.* Essential oil pharmaceuticals for killing ectoparasites on dogs. **Journal of veterinary science**, v. 25, n. 1, p. e5, jan. 2024.
- TANDONNET, S. *et al.* A chromosomal-scale reference genome of the New World Screwworm, *Cochliomyia hominivorax*. **DNA Research**, v. 30, n. 1, 1 fev. 2023.
- TAVARES, E. S. *et al.* Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 1, p. 1–5, mar. 2005.
- TAVARES, M. *et al.* Trends in insect repellent formulations: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 539, n. 1–2, p. 190–209, mar. 2018.
- TEIXEIRA, B. *et al.* Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, n. 11, p. 2707–2714, 30 ago. 2013.
- THOMPSON, J. D. *et al.* Qualitative and Quantitative Variation in Monoterpene Co-Occurrence and Composition in the Essential Oil of *Thymus vulgaris* Chemotypes. **Journal of Chemical Ecology**, v. 29, n. 4, p. 859–880, 2003.
- TIAN, H. *et al.* Bioactivity and Sublethal Effects of *Ageratina adenophora* (Asteraceae) on *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Entomological Science**, v. 59, n. 1, 26 fev. 2024.
- TORR, S. J.; HALL, M. J. R. Odour-baited targets to control New World screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): a preliminary study. **Bulletin of Entomological Research**, v. 82, n. 3, p. 417–423, 10 set. 1992.

- UYSAL, B. *et al.* Essential oil composition and antibacterial activity of the grapefruit (*Citrus Paradisi*. L) peel essential oils obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 7, p. 1455–1461, 27 jul. 2011.
- VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. v. 11, p. 463–471, 1963.
- VAN DER SLUIJS, J. P. *et al.* Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 5, n. 3–4, p. 293–305, set. 2013.
- VARGAS-TERÁN, M. *et al.* Impact of Screwworm Eradication Programmes Using the Sterile Insect Technique. Em: **Sterile Insect Technique**. Boca Raton: CRC Press, 2021. p. 949–978.
- VARLOUD, M.; FOURIE, J. J. Onset of efficacy and residual speed of kill over one month of a topical dinotefuran-permethrin-pyriproxyfen combination (Vectra®3D) against the adult cat flea (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 211, n. 1–2, p. 89–92, jun. 2015.
- VERMA, R. S. *et al.* Essential oil composition of the sub-aerial parts of eight species of *Cymbopogon* (Poaceae). **Industrial Crops and Products**, v. 142, p. 111839, dez. 2019.
- VIANA, T. DE S. *et al.* Evaluation of Chilean Boldo Essential Oil as a Natural Insecticide Against *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, v. 57, n. 5, p. 1364–1372, 7 set. 2020.
- WANG, W. *et al.* Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. **Food Chemistry**, v. 108, n. 3, p. 1019–1022, jun. 2008.
- ZAOUALI, Y.; BOUZAIN, T.; BOUSSAID, M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3144–3152, nov. 2010.
- ZENEIDA, T. P. *et al.* Effect of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) oil and citral on post-embryonic time of blowflies. **Journal of Entomology and Nematology**, v. 7, n. 6, p. 54–64, 31 dez. 2015.
- ZHANG, K.; YAO, L. The anxiolytic effect of *Juniperus virginiana* L. essential oil and determination of its active constituents. **Physiology & Behavior**, v. 189, p. 50–58, maio 2018.
- ZHOU, X.; HOHMAN, A. E.; HSU, W. H. Current review of isoxazoline ectoparasiticides used in veterinary medicine. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 45, n. 1, p. 1–15, 17 jan. 2022.
- ZOUARI, N. Essential Oils Chemotypes: A Less Known Side. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 02, n. 02, 2013.
- ZUMPT, F. **Myiasis in Man and Animals in the Old World a Textbook for Physicians, Veterinarians and Zoologists.** 267p., 1965.

## ANEXOS

### Anexo A. Certificado de Aprovação na CEUA/IV – UFRRJ da colônia laboratorial de *Cochliomyia hominivorax*.



**UFRRJ**  
Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro



Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Manutenção de colônia de *Cochliomyia hominivorax* em condições laboratoriais", protocolada sob o CEUA nº 8634020223 (nº 002478), sob a responsabilidade de **Thaís Ribeiro Correia Azevedo** e equipe; Jéssica Davilla de Assis; Eduardo Fellipe Melo Santos Soares; Monique Taveira Medeiros; Bruno de Toledo Gomes; Larissa de Oliveira Santos; Gabriela Ferreira de Oliveira; Hugo Rocha Sabença Dias; Ramon da Luz Bezerra; Diefrey Ribeiro Campos - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 07/02/2023.

We certify that the proposal "Maintenance of colony of *Cochliomyia hominivorax* on laboratory condition", utilizing 6 Bovines (6 males), protocol number CEUA 8634020223 (nº 002478), under the responsibility of **Thaís Ribeiro Correia Azevedo** and team; Jéssica Davilla de Assis; Eduardo Fellipe Melo Santos Soares; Monique Taveira Medeiros; Bruno de Toledo Gomes; Larissa de Oliveira Santos; Gabriela Ferreira de Oliveira; Hugo Rocha Sabença Dias; Ramon da Luz Bezerra; Diefrey Ribeiro Campos - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 02/07/2023.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 01/2023 a 01/2028 Área: Parasitologia Animal

Origem: Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da UFRRJ

Espécie: Bovinos

sexo: Machos

idade: 24 a 96 meses

Quantidade: 6

Linhagem: mestiços

Peso: 300 a 600 kg

Seropédica, 07 de fevereiro de 2023

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro

Viviane de Souza Magalhães  
Vice-Cordenadora da Comissão de Ética no Uso de  
Animais

Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do  
Rio de Janeiro

