

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a),  
o texto completo desta dissertação  
será disponibilizado somente a partir  
de 21/11/2019.

**PATRÍCIA LUIZA DE FREITAS PROENÇA**

**SISTEMA NANOCARREADOR DE ZEINA PARA COMPOSTOS BIOATIVOS  
(ÓLEO DE MENTA, CIPERMETRINA, CLORPIRIFÓS E AMITRAZ) VISANDO  
CONTROLE DO CARRAPATO BOVINO**

Sorocaba

2018

**PATRÍCIA LUIZA DE FREITAS PROENÇA**

**SISTEMA NANOCARREADOR DE ZEINA PARA COMPOSTOS BIOATIVOS  
(ÓLEO DE MENTA, CIPERMETRINA, CLORPIRIFÓS E AMITRAZ) VISANDO  
CONTROLE DO CARRAPATO BOVINO**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" na Área de Concentração Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto

Sorocaba

2018

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da Unesp  
Instituto de Ciência e Tecnologia – Câmpus de Sorocaba

Proença, Patrícia Luiza de Freitas.

Sistema nanocarreador de zeína para compostos bioativos (óleo de menta, cipermetrina, clorpirifós e amitraz) visando controle do carrapato bovino / Patrícia Luiza de Freitas Proença, 2018.

79 f.: il.

Orientador: Leonardo Fernandes Fraceto.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba), 2018.

1. Nanopartículas. 2. Carrapato bovino. 3. Nanotecnologia. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Ciência e Tecnologia (Câmpus de Sorocaba). II. Título.

Bibliotecário responsável: Bruna B. Guimarães – CRB 8/8855

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Sistema nanocarreador de zeína para compostos bioativos (óleo de menta, cipermetrina, clorpirifós e amitraz) visando controle do carrapato bovino

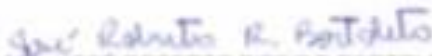
AUTORA: PATRÍCIA LUIZA DE FREITAS PROENÇA

ORIENTADOR: LEONARDO FERNANDES FRACETO


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS AMBIENTAIS, área: Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental pela Comissão Examinadora.



Prof. Dr. LEONARDO FERNANDES FRACETO  
Engenharia Ambiental / UNESP - ICT Sorocaba



Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO RIBEIRO BORTOLETO  
Curso de Engenharia de Controle e Automação / Instituto de Ciência e Tecnologia de Sorocaba



Prof. Dr. NATHALIE FERREIRA SILVA DE MELO  
Imunologia e Biologia Molecular / Instituto e Centro de Pesquisas São Leopoldo Mandic

Sorocaba, 21 de maio de 2018

## **DEDICATÓRIA**

A minha parceira Dra. Estefânia  
e ao meu Orientador Prof. Dr. Leonardo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir esta caminhada;

Aos meus pais por toda compreensão e apoio nesta caminhada;

A minha filha pela compreensão, incentivo, apoio e ajuda, sempre incondicional;

Ao meu marido Murilo, por todo incentivo e apoio oferecido, sem isso eu não teria começado esta jornada;

A Neise, pelo incentivo e por me fazer acreditar;

Ao Professor Dr. Leonardo pela oportunidade concedida, pelo incentivo e por acreditar em mim. Pela orientação e conhecimento transmitido.

A minha parceira de jornada e amiga Estefânia, por todos os ensinamentos, toda a ajuda e toda paciência dispensada nessa jornada;

Ao Jhones por sempre estar disposto a ajudar e ensinar;

Aos amigos de laboratório Angélica, Mônica, Cíntia, Nathalie, Grillo e Anderson, pela companhia, pela ajuda e principalmente por proporcionarem um ambiente descontraído e de muitas risadas;

A Suzan, Sandra e Letícia, por iniciarem minha jornada nesta instituição, por todo ensinamento e companheirismo;

A Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP) e ao programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, por proporcionarem educação de qualidade;

E a todos que direta ou indiretamente fizeram e fazem parte desta caminhada.

**“Siga seus caminhos misteriosos para que consigas fazer seu milagre, pois o esforço se transformará em bálsamo para seu corpo e sua alma.”**

**(Anônimo)**



## RESUMO

O *Rhipicephalus microplus*, popularmente conhecido como carrapato do boi, é um dos ectoparasitas de maior importância a pecuária mundial, pois além dos transtornos causados aos animais, geram prejuízos que, somente no Brasil são da ordem de 3 bilhões de dólares anuais, sendo, portanto, umas das doenças parasitárias de maior impacto econômico. Há diferentes famílias de carrapaticidas (grupos químicos) atualmente no mercado com formas de ação e maneiras de aplicação diferentes. O uso excessivo e indiscriminado de químicos para o controle dos carrapatos trouxe preocupações permanentes para o produtor, como o desenvolvimento de resistência aos carrapaticidas e para a sociedade a preocupação com a contaminação da carne, leite e ambiente com resíduos químicos. Com o objetivo de diminuir o uso desses produtos químicos e seus resíduos no meio ambiente, novas tecnologias e novos produtos têm sido desenvolvidos. Isso inclui o estudo de óleos essenciais que são muito menos agressivos ao meio ambiente, bem como o uso da nanotecnologia, que pode ser capaz de potencializar o efeito dos carrapaticidas sintéticos, resultando na utilização de menores quantidades. Aliado a isto, o desenvolvimento de nanopartículas diminuem os impactos causados por estes produtos e aumentam a sua eficácia pois superam as limitações de ambos. Neste estudo foram preparadas e caracterizadas nanopartículas de zeína contendo óleo de menta e nanopartículas de zeína com óleo de menta e duas combinações de carrapaticidas químicos (cipermetrina e clorpirifós) e (amitraz e clorpirifós). As propriedades físico-químicas das formulações, como, pH, diâmetro hidrodinâmico, polidispersão, potencial zeta e eficiência de encapsulação foram analisadas em função do tempo (0-60 dias). A eficiência de encapsulação obtida foi bastante satisfatória, ficando em torno de 99,9 % para todos os ativos. As nanopartículas de zeína preparadas neste estudo apresentaram um tamanho médio inicial compreendido entre 207 e 283 nm, um índice de polidispersão de 0,168 a 0,256 e potencial zeta de -16 a +60 mV. Análises de DSC e FTIR evidenciam interações entre os componentes das nanopartículas e os ativos e as micrografias feitas por AFM mostram que as nanopartículas se apresentam esféricas. As nanoformulações com óleo de menta e as combinações de ativos químicos permaneceram viáveis pelo tempo de armazenamento de 60 dias, o que demonstra que a zeína pode ser uma boa alternativa para o carreamento destas combinações de ativos.

**Palavras-chave:** nanopartículas, zeína, amitraz, cipermetrina, clorpirifós, óleo de menta.

## ABSTRACT

The *Rhipicephalus microplus*, popularly known as the ox tick, is one of the ectoparasites with most importance in the world cattle breeding. Aside from the disorders caused to the animals, it is considered one of the parasitic diseases with the greatest economic impact. There are various acaricidal families on the market (chemical groups) with different forms of action and ways of application. The excessive and indiscriminate use of chemicals for tick control develops concerns to the producer, such as the development of resistance to ticks to ticks and to society with the chemical residues in meat and milk as well as the environment. In order to reduce the use of these chemicals and their residues in the environment, new technologies and new products have been developed. This includes the study of essential oils that are far less aggressive to the environment and the use of nanotechnologies that improve performance by using much smaller amounts of these chemicals. Allied to this, the development of nanoparticles diminishes the impacts caused by these products and increase their effectiveness as they overcome the limitations of both. In this study zein nanoparticles containing mint oil and zein nanoparticles with peppermint oil and two combinations of chemical acaricides (cypermethrin and chlorpyrifos) and (amitraz and chlorpyrifos) were prepared and characterized. The physico-chemical properties of the colloidal suspensions, such as diameter, polydispersity, zeta potential, pH and encapsulation efficiency were evaluated as a function of time (0-60 days). The efficiency of encapsulation achieved was quite satisfactory, being around 99.9% for all assets. The zein nanoparticles prepared in this study had a mean initial size between 207 and 283 nm, a polydispersity index of 0.168 to 0.256 and zeta potential of -16 to +60 mV. Nanoformulations with peppermint oil and combinations of chemical actives remained viable for storage time over than 60 days. DSC and FTIR analyzes showed the interactions between nanoparticle and active components and AFM showed that nanoparticles are spherical. Nanoformulations with peppermint oil and combinations of chemical actives remained viable for a storage time of 60 days, which demonstrates that zein may be a good alternative for carrying these combinations of actives.

**Key words:** nanoparticles, zein, amitraz, cypermethrin, chlorpyrifos, mint oil

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1.</b> Ciclo de vida do carrapato .....	19
<b>FIGURA 2.</b> Fórmula estrutural do amitraz.....	25
<b>FIGURA 3.</b> Estrutura química da cipermetrina.....	26
<b>FIGURA 4.</b> Estrutura química do clorpirifós .....	27
<b>FIGURA 5.</b> Efeito da aplicação da nanotecnologia na medicina veterinária .....	30
<b>FIGURA 6.</b> Curva analítica obtida para: Óleo de Menta; B) Cipermetrina, C) Clorpirifós e D) Amitraz. Valores representam a média de três curvas analíticas realizados. ....	42
<b>FIGURA 7.</b> Caracterização do diâmetro hidrodinâmico em função do tempo de armazenamento para nanopartículas de zeína controle (NPZ), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta (NP_OM), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP_OM+CPM+CPF) e nanopartículas de zeína óleo de menta, amitraz e clorpirifós (NP_OM+AMZ+CPF). Os valores representam média de três determinações. Foi considerado significância de $p < 0,05$ (ANOVA).....	49
<b>FIGURA 8.</b> Caracterização do índice de polidispersão das nanopartículas de zeína em função do tempo de armazenamento para nanopartículas de zeína controle (NPZ), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta (NP_OM), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP_OM+CPM+CPF) e nanopartículas de zeína óleo de menta, amitraz e clorpirifós (NP_OM+AMZ+CPF). Variação significativa entre os grupos em função do tempo: a - comparação com o tempo zero, b – comparação com 7 dias, c – comparação com 15 dias, d – comparação com 30 dias. Os valores representam média de três determinações. Foi considerado significância de $p < 0,05$ (ANOVA).....	50
<b>FIGURA 9.</b> Caracterização de diâmetro médio pela técnica de NTA para nanopartículas de zeína em função do tempo de armazenamento para nanopartículas de zeína controle (NPZ), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta (NP_OM), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP_OM+CPM+CPF) e nanopartículas de zeína óleo de menta, amitraz e clorpirifós (NP_OM+AMZ+CPF). Variação significativa entre os grupos em função do tempo: a - comparação com o tempo zero, b – comparação com 7 dias, c – comparação com 15 dias, d – comparação com 30 dias. Os valores representam média de três determinações. Foi considerado significância de $p < 0,05$ (ANOVA).....	52
<b>FIGURA 10.</b> Caracterização da concentração de nanopartículas de zeína em função do tempo de armazenamento para nanopartículas de zeína controle (NPZ), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta (NP_OM), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP_OM+CPM+CPF) e nanopartículas de zeína óleo de menta, amitraz e clorpirifós (NP_OM+AMZ+CPF). Variação significativa entre os grupos em função do tempo: a - comparação com o tempo zero, b – comparação com 7 dias, c – comparação com 15 dias, d – comparação com 30 dias. Os valores representam média de três determinações. Foi considerado significância de $p < 0,05$ (ANOVA).....	53
<b>FIGURA 11.</b> Caracterização do potencial zeta das nanopartículas de zeína em função do tempo de armazenamento para nanopartículas de zeína controle (NPZ), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta (NP_OM), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP_OM+CPM+CPF) e nanopartículas de zeína óleo de menta,	

amitraz e clorpirifós (NP\_OM+AMZ+CPF). Variação significativa entre os grupos em função do tempo: a - comparação com o tempo zero, b – comparação com 7 dias, c – comparação com 15 dias, d – comparação com 30 dias. Os valores representam média de três determinações. Foi considerado significância de  $p < 0,05$  (ANOVA).....54

**FIGURA 12.** Caracterização do pH das nanopartículas zeína em função do tempo de armazenamento para nanopartículas de zeína controle (NPZ), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta (NP\_OM), nanopartículas de zeína contendo óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP\_OM+CPM+CPF) e nanopartículas de zeína óleo de menta, amitraz e clorpirifós (NP\_OM+AMZ+CPF). Variação significativa entre os grupos em função do tempo: a - comparação com o tempo zero, b – comparação com 7 dias, c – comparação com 15 dias, d – comparação com 30 dias. Os valores representam média de três determinações. Foi considerado significância de  $p < 0,05$  (ANOVA).....56

**FIGURA 13.** Caracterização da eficiência de encapsulação das nanopartículas: (A) zeína contendo óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP\_OM+CPM+CPF) e (B) nanopartículas de zeína óleo de menta, amitraz e clorpirifós (NP\_OM+AMZ+CPF) em função do tempo de armazenamento. Foi considerado significância de  $p < 0,05$  (ANOVA).....58

**FIGURA 14.** Espectros de infravermelho para: zeína pura; pluronic F-68 (PLU); óleo de menta (OM); clorpirifós (CPF); cipermetrina (CPM); nanopartículas de zeína (NPZ); nanopartículas carregadas com óleo de menta (NP\_OM); nanopartículas carregadas com óleo de menta, Cipermetrina E clorpirifós (NP\_OM\_CPM\_CPF). ..... 62

**FIGURA 15.** Espectros de infravermelho para: zeína pura; pluronic F-68 (PLU); óleo de menta (OM); clorpirifós (CPF); amitraz (AMZ); nanopartículas de zeína (NPZ); nanopartículas carregadas com óleo de menta (NP\_OM); nanopartículas carregadas com óleo de menta, Cipermetrina E clorpirifós (NP\_OM\_AMZ\_CPF).....63

**FIGURA 16.** Termogramas de Calorimetria Diferencial Exploratória para: zeína pura, pluronic F-68 (PLU), clorpirifós (CPF), nanopartículas de zeína (NPZ), nanopartículas carregadas com óleo de menta (NP\_OM) e nanopartículas carregadas com óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP\_OM\_CPM\_CPF) ..... 65

**FIGURA 17.** Termogramas de Calorimetria Diferencial Exploratória para: zeína pura, pluronic F-68 (PLU), amitraz (AMZ), clorpirifós (CPF), nanopartículas de zeína (NPZ), nanopartículas carregadas com óleo de menta (NP\_OM) e nanopartículas carregadas com óleo de menta, clorpirifós e amitraz (NP\_OM\_AMZ\_CPF)... .....66

**FIGURA 18.** Micrografias das nanopartículas de zeína contendo óleo de menta (NP\_OM), óleo de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP\_OM\_CPM\_CPF) e óleo de menta, amitraz e clorpirifós (NP\_OM\_AMZ\_CPF) ... .....68

**LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1.</b> Principais espécies de carrapatos comumente encontradas no Brasil.....	21
<b>TABELA 2.</b> Condições cromatográficas dos compostos utilizados.....	35
<b>TABELA 3.</b> Coeficiente de correlação (r) das curvas de calibração dos compostos obtidos em três dias consecutivos. ....	44
<b>TABELA 4.</b> Valores do desvio padrão relativo (DPR) das concentrações dos compostos determinados para a avaliação da precisão.....	44
<b>TABELA 5.</b> Valores da concentração de óleo de menta determinados por CLAE para avaliação da exatidão do método analítico.....	45
<b>TABELA 6.</b> Valores da concentração de cipermetrina determinados por CLAE para avaliação da exatidão do método analítico.....	46
<b>TABELA 7.</b> Valores da concentração de clorpirifós determinados por CLAE para avaliação da exatidão do método analítico.....	46
<b>TABELA 8.</b> Valores da concentração de amitraz determinados por CLAE para avaliação da exatidão do método analítico.....	47
<b>TABELA 9.</b> Valores de limite de detecção e quantificação obtidos para os compostos através da regressão das curvas analíticas (n=9). ....	48

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AMZ: Amitraz

CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência

CPF: Clorpirifós

CPM: Cipermetrina

DLS: Dynamic Light Scattering

FTIR: Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

LD: Limite de Detecção

LQ: Limite de Quantificação

NTA: Nanoparticle tracking analysis ou Rastreamento de Nanoprtculas

NM: Nanomateriais;

NP: Nanoprtculas de zeína

OM: leo de menta

PLU: Pluronic F-68

PDI: ndice de polidisperso;

pH: Potencial hidrogênionico;

ZP: Potencial zeta.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
1.1. <i>Carrapato do boi e sua importância econômica</i> .....	22
1.1.1. Formas de combate .....	24
1.1.2. Amitraz .....	24
1.1.3. Cipermetrina .....	25
1.1.4. Clorpirifós .....	26
1.2. <i>Insecticidas Botânicos</i> .....	27
1.3. <i>Nanotecnologia Aplicada a Veterinária</i> .....	29
1.3.1. Nanopartículas de zeína.....	32
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
2.1. <i>Objetivos gerais</i> .....	33
2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	33
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
3.1. <i>Materiais</i> .....	34
3.2. <i>Métodos</i> .....	35
3.2.1. Metodologia Analítica para quantificação dos ativos .....	35
3.2.2. Construção das curvas analíticas .....	36
3.2.3. Seletividade .....	36
3.2.4. Linearidade.....	36
3.2.5. Precisão.....	37
3.2.6. Limite de detecção e quantificação.....	37
3.2.7. Exatidão.....	38
3.3. <i>Preparo dos sistemas carreadores</i> .....	38
3.3.1. Preparo das nanopartículas.....	38
3.4. <i>Estabilidade físico-química</i> .....	39
3.4.1. Diâmetro hidrodinâmico e polidispersão .....	39
3.4.2. Potencial Zeta.....	40
3.4.3. Análise de estabilidade química dos componentes .....	40
3.4.4. Eficiência de encapsulação .....	40
3.5 Caracterização por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) .....	40
3.6 Caracterização por calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	41
3.7 Análise morfológica por microscopia de força atômica (AFM) .....	41
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
3.1 <i>Desenvolvimento da metodologia analítica para quantificação dos ativos</i> ... 41	
3.1.1 Curvas Analíticas.....	41
3.2 <i>Caracterização e estudo da estabilidade físico-química das nanopartículas.</i>	

3.2.1	Diâmetro hidrodinâmico e índice polidispersão .....	48
3.2.2	Concentração e tamanho das nanopartículas (Rastreamento de Nanopartículas) .....	51
3.2.3	Potencial zeta .....	54
3.2.4	Avaliação da estabilidade .....	55
3.2.5	Eficiência de encapsulação .....	57
3.3	<i>Espectroscopia na região do infravermelho</i> .....	60
3.4	<i>Análise de Calorimetria Exploratória Diferencial</i> .....	64
3.5	<i>Microscopia de Força Atômica</i> .....	67
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>68</b>
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>70</b>



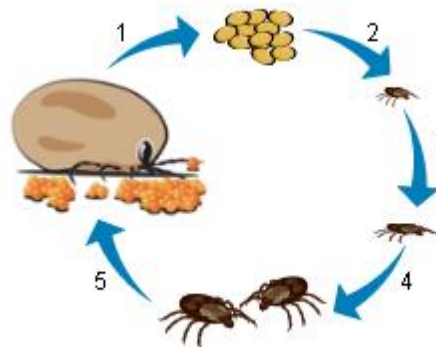
## 1. INTRODUÇÃO

Um dos ectoparasitas que causam mais danos para a economia e para a saúde pública e animal é o carrapato. Esses parasitas externos pertencem à Classe Arachnida, Ordem Acari e Subordem (família) Ixodidae e Argasidae, e são cosmopolitas, sendo encontrados em mais de 907 espécies (SOCOLOVSCHI et al., 2009; GARGILI et al., 2017). No Brasil há 69 espécies, 46 pertencentes a família Ixodidae e 23 a família Argasidae (ACOSTA et al., 2016).

Os carrapatos são artrópodes hematófagos, invertebrados que se alimentam obrigatoriamente de sangue em todas as fases parasitárias de seu ciclo e possuem enorme potencial parasitário fazendo com que diversos tipos de vertebrados sejam incluídos no rol de hospedeiros, como por exemplo roedores, logomorfos (coelhos e lebres), répteis e aves. Possuem alto grau de especificidade, porém já se encontram carrapatos parasitando hospedeiros alternativos, inclusive o homem (SOCOLOVSCHI et al., 2009).

De uma forma geral o ciclo do carrapato é composto pelas fases de ovo, larva, ninfa e adultos (Figura 1). Com exceção dos ovos, todos os estágios precisam se alimentar em um hospedeiro para dar continuidade ao ciclo. Os carrapatos são classificados de acordo com o número de hospedeiros que utilizam para completar seu ciclo de vida: monoxenos, que realizam todo o seu ciclo em um único hospedeiro; dioxenos, os estágios de larva e ninfa se alimentam no mesmo hospedeiro e o carrapato adulto em outro; e os trioxenos, que são aqueles que necessitam de três hospedeiros para completar o seu ciclo, descendo ao solo após o repasto (alimentação), para então realizar a ecdise, isto é, a mudança para a fase seguinte. Neste todas as ecdises são realizadas no solo (RAJPUT et al., 2006; NEVES, 2016).

**FIGURA 1.** Ciclo de vida do carrapato. 1- Fêmeas ingurgitadas descem ao solo para fazerem a oviposição; 2- O ovo eclode liberando a larva; 3 e 4- A larva sobe no animal para se alimentar e sofrer mudanças morfológicas até a fase adulta, passando pelo estágio de ninfa; 5- Acasalamento sobre o animal e início do ingurgitamento pelas fêmeas.



Fonte: Adaptado de RAJPUT et al., 2006; NEVES, 2016.

O processo de alimentação e ingurgitamento (inchaço devido a ingestão de sangue) acontecem sobre o animal (FURLONG, 2005) e é durante esses processos que ocorre a transmissão dos agentes patogênicos ao hospedeiro. É também através desses processos que o carrapato se torna infectado, somando-se a esses a transmissão transovariana, venérea e transestadial, assim denominado quando a infecção acontece num estágio e a transmissão ao hospedeiro ocorre em outro estágio (LIMA et al., 2017)

Quando a fêmea pica o hospedeiro, ocorre ruptura de capilares e vasos linfáticos e consequente digestão de tecidos formando no local uma lesão. Para driblar a ativação da coagulação sanguínea e do sistema imune, é inoculado junto a saliva substâncias farmacologicamente ativas que neutralizam estes mecanismos e permitem que o carrapato permaneça por longas horas se alimentando (CVEJÍĆ et al., 2017). A alimentação se dá por sucção alternada e após a ingestão do sangue, a parte sólida (células vermelhas, brancas e plaquetas) é separada do plasma e este é devolvido ao animal em forma de saliva e o ao final do ingurgitamento um grande volume de saliva é injetado (ŠIMO; ŽITŇAN; PARK, 2012).

Estima-se que a transmissão de agentes patogênicos ocorra dentro de 24 a 48 h após fixação. No entanto, evidências mais recentes sugerem que uma transmissão possa ocorrer a partir de 3 h após a picada (CVEJÍĆ et al., 2017).

Se a retirada do carrapato for realizada de forma incorreta pode-se facilitar ainda mais a contaminação do hospedeiro, pois o esmagamento promove refluxo do conteúdo estomacal (LIMA et al., 2017).

Além da fácil contaminação e transmissão de patógenos a outros carrapatos e ao hospedeiro, eles exibem outras características que os fazem serem vetores extraordinários, como o hematofagismo em todos os estágios, fixação profunda e forte que dificulta a remoção e aumenta a dispersão, grande capacidade de sobrevivência no ambiente, grande adaptação ao ambiente tropical e poucos inimigos naturais (MASSARD e FONSECA, 2004).

Devido as lesões causadas pela picada, mas principalmente pela transmissão de variadas doenças que afetam aos homens (zoonoses) e aos animais é que esses ectoparasitas têm grande importância médico veterinária. São considerados o segundo maior grupo de transmissores de patógenos ao homem, perdendo apenas para os culicídeos (mosquitos e pernilongos) (FONSECA, 2000). Em relação a transmissão de patógenos em geral (zoonoses e não zoonoses) dentre os artrópodes eles são os maiores transmissores, afetando o homem, animais de estimação, pecuária e vida selvagem (BENELLI et al., 2017).

A Tabela 1 traz as espécies de carrapatos encontradas no Brasil que apresentam potencial para parasitar o homem. Os autores classificam esta capacidade em cruzes com intervalo de

1 cruz a 4 cruces, sendo 1 cruz menor capacidade de parasitismo e 4 cruces maior capacidade de parasitismo (MASSARD e FONSECA, 2004).

**TABELA 1.** Principais espécies de carrapatos comumente encontradas no Brasil.

Principais espécies de carrapatos comumente encontradas no Brasil, com potencial para parasitismo em seres humanos				
Carrapatos	Principais hospedeiros	Possibilidade de Hospedeiros alternativos (mamíferos e aves)		
		Adultos	Ninfas	larvas
<i>Amblyomma cajennense</i>	Equídeos/Bovinos	++	+++	++++
<i>A. aureolatum</i>	Carnívoros	+	++	+++
<i>A. ovale</i>	Carnívoros	+	++	+++
<i>Amblyomma ssp</i>	Animais silvestres	++	++	+++
<i>Ixodes ssp</i>	Animais silvestres	++	+++	+++
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Carnívoros	+	+	++
<i>Anocentor nitens</i>	Equídeos/Bovinos	+	+	+
<i>Boophilus microplus</i>	Bovinos/Equídeos	+	+	+

**Fonte:** MASSARD e FONSECA, 2004

(BUTLER; CARLSON; NELSON, 2017) apontam que 74,7% das clínicas nos Estados Unidos, em estados de alta incidência de carrapatos, trataram de pacientes humanos portadores de alguma doença transmitida por este artrópode. Ainda em relação aos Estados Unidos, 300 mil novos casos somente da doença de Lyme, são relatados por ano ao Centro de Prevenção de Controle de Doenças (BRETT et al., 2014; BUTLER et al., 2016).

A doença de Lyme é a principal zoonose transmitida pela picada do carrapato que ocorre nos Estados Unidos. No Brasil existe uma variante da doença de Lyme, chamada de Síndrome Baggio-Yoshinar. Ambas iniciam com lesões na pele, evoluindo com complicações sistêmicas, como autoimunidade (YOSHINARI et al., 2010).

Outra doença importante, porém, de baixa incidência no Brasil é a febre maculosa. Apesar da baixa incidência possui uma taxa de mortalidade de 20-30% se não diagnosticada e tratada nos primeiros 3 dias. Esta infecção causa vasculite, uma inflamação causada pela formação de lesões na camada interna dos vasos (FIOL et al., 2010).

O rol de agentes infecciosos transmitidos por carrapatos esta em constante atualização, pois podem transmitir vários tipos de patógenos (protozoários, bactérias, vírus, espiroquetas, riquetsias e filárias) (WILSON, 2002).

A lista de doenças transmitidas ao homem é grande e ocorrem nas mais diferentes regiões do mundo e são alguns exemplos: a febre maculosa das montanhas rochosas, anaplasmoze, babesiose, doença da floresta Kyassanur, febre de carrapatos no Colorado, febre

hemorrágica do Congo, ehrlichiose, encefalite de Powassan, febre de LASSA, doença de erupção cutânea associada ao carrapato do sul, febre recidivante, febre OMSK, tularemia, paralisia de carrapatos entre outras (WILSON, 2002; MASSARD e FONSECA, 2004; BRETT et al., 2014).

Animais de estimação e animais de importância econômica, como gado bovino, caprinos, equinos, entre outros, também sofrem bastante prejuízo pela ação deste artrópode. Existem diversas espécies de carrapatos que são parasitas de animais domésticos. O *Rhipicephalus sanguineus*, comumente encontrado em cães de áreas urbanas, na década de 30 já se encontrava amplamente distribuído em todo território brasileiro (LABRUNA et al., 2001).

Outros ectoparasitas como, piolhos, bernes e moscas-dos-chifres, também causam ônus na pecuária. Assim como os carrapatos esses ectoparasitas também causam intensa irritação nos animais o que leva a perturbação da alimentação e repouso desses animais, reduzindo sua qualidade de vida e conseqüente redução da lucratividade (AZEVEDO; ALVES; SALES, 2008).

Piolhos também são ectoparasitas de importância médico veterinária que trazem prejuízos a pecuária. É o ectoparasita de maior prevalência em caprinos, sendo encontradas várias espécies de piolhos e poucas de carrapatos. Uma infestação por piolhos (pediculose) pode ser disseminada em todo o rebanho provocada por apenas um animal contaminado. Piolhos podem ser transmissores de doenças, porém seu efeito mais importante é a coceira intensa e o aparecimento de lesões, que provocam irritação e inquietação, levando ao cansaço e má alimentação (FONSECA; FERREIRA; AHID, 2009).

Por fim, ruminantes são hospedeiros importantes de ectoparasitas, que podem afetar diretamente a produtividade, causando prejuízos aos criadores de bovinos, ovinos e caprinos que são parasitados por diferentes ectoparasitas e diversas espécies (FONSECA; FERREIRA; AHID, 2009).

### **1.1. Carrapato do boi e sua importância econômica**

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, popularmente conhecido como carrapato do boi, é considerado o ectoparasita hematófago mais importante em bovinos no mundo (GRISI et al., 2014). Possui ciclo de vida monoxeno, com 2 fases: vida livre (pastagens) e vida parasitária (AZEVEDO; ALVES; SALES, 2008).

O carrapato do boi teve sua nomenclatura alterada após estudos de filogenética molecular, quando então as espécies de *Boophilus*, incluindo o *Boophilus microplus* foram incluídas no gênero *Rhipicephalus* (MURRELL; BARKER, 2003).

Os transtornos causados por este parasita estão entre os mais importantes problemas em todo o mundo. Somente no Brasil, causam prejuízos da ordem de 3,4 bilhões de dólares (levantamento realizado em 2011), sendo, portanto, umas das doenças parasitárias de maior impacto econômico (GRISI et al., 2014).

De acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), é abatido trimestralmente no Brasil mais de sete milhões de cabeça de gado, sendo que no terceiro trimestre de 2017 este valor foi de 7,98 milhões. A quantidade de leite cru adquirido pelas indústrias foi de 6,16 bilhões de litros e 8,74 milhões de peças de couro inteiras foram curtidas somente em estabelecimentos que curtem o mínimo de 5 mil peças inteiras anuais (IBGE, 2017).

Estima-se que 80% do rebanho bovino apresenta risco de presença de ectoparasitas diversos e doenças relativas à sua infestação (SUAREZ et al., 2016). A qualidade da engorda dos animais está diretamente ligada com a ação de parasitas, pois sua presença debilita o gado, comprometendo seu crescimento e reduzindo o peso dos animais no momento do abate (GRISI et al., 2014). Os prejuízos ocasionados por esse parasita na pecuária brasileira são acarretados pela diminuição na produção de leite, diminuição do peso do animal o que ocasiona menor produção de carne e também perda por danos no couro do animal, ocasionados pela fixação do carrapato (SANTOS et al., 2009).

Os danos são causados majoritariamente pelas teleóginas, fêmeas adultas prenhes, já que as larvas e os machos são pequenos (AZEVEDO; ALVES; SALES, 2008). Elas são capazes de sugar de 2 a 3 mL de sangue por dia (GOMES et al., 2014).

Infestações maciças de carrapatos podem levar o animal a óbito, principalmente por ser maior a chance de transmissão de doenças parasitárias como exemplo: a Tristeza Parasitária Bovina (babesiose e/ou anaplasmose), uma doença infecciosa causada pela associação dos protozoários *Babesia* sp. e da riquetsia *Anaplasma* sp., que parasitam hemácias (AZEVEDO; ALVES; SALES, 2008; COSTA et al., 2016). Essa doença pode causar retardo no crescimento de animais jovens, esterilidade, aborto e redução significativa na produção de leite, fazendo com que esses animais venham a óbito ou necessitem serem sacrificados (AZEVEDO; ALVES; SALES, 2008).

A falta de controle dos carrapatos é um fator importante na disseminação dessas doenças (SUAREZ et al., 2016). Um efeito negativo direto da infestação por carrapatos pode ser exemplificado pela observação da redução em 23 % da produção de leite/dia em vacas com infestação média de 105 carrapatos ao dia e redução de 20-30% do peso ao ano em bovinos com infestação média de 40 carrapatos (MANJUNATHACHAR et al., 2014).

Além dos prejuízos pela perda de mercadoria, existem também gastos elevados com aquisição de carrapaticidas, mão de obra e equipamentos de suporte para a aplicação dos mesmos no rebanho (ANDREOTTI, 2010). Considerando uma escala mundial, o custo de oportunidade devido à queda de produtividade dos rebanhos com presença de ectoparasitas em conjunto com os custos de prevenção já superavam a marca de sete bilhões de dólares há dez anos (SUAREZ et al., 2016).

### **1.1.1. Formas de combate**

O método de controle mais comum para o carrapato é o uso de produtos químicos. Existem no mercado diferentes famílias de carrapaticidas (grupos químicos) com formas de ação e maneiras de aplicação diferentes (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007; PATARROYO et al., 2009).

A via de ação pode se dar por “contato”, onde o princípio ativo é aplicado por meio de pulverização, imersão ou “pour on”. Já os carrapaticidas “sistêmicos”, são aplicados no dorso do animal ou por meio de injeções, sendo que o princípio ativo é metabolizado e distribuído pela circulação sanguínea, (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007; PATARROYO et al., 2009).

Existem diversas famílias de carrapaticidas que são utilizadas no combate ao carrapato. Alguns dos princípios ativos estarão indicados entre parenteses logo após o seu grupo químico. Os organofosforados (clorpirifós, diazinon, diclorvós), arsênicos, formamidinas (amitraz), benzoilfeniluréia (fluazuron), lactonas macrocíclicas (avermectinas) e piretróides (cipermetrina, deltametrina, permetrina) são exemplos de carrapaticidas (PATARROYO et al., 2009; ADENUBI et al., 2016).

### **1.1.2. Amitraz**

O amitraz, N´-(2,4-dimetilfenil)-N-[[2,4-dimetilfenil] imino] metil]-N-metilmetanimidamida (Figura 2), pertencente ao grupo das formamidinas é um pó leve e cristalino, de cor creme, estável em pH elevado e instável na presença de calor, luminosidade e ácidos, possui baixa solubilidade em água (1 mg/L), porém solúvel na grande maioria dos solventes orgânicos (MELO; DE OLIVEIRA; LAGO, 2002).

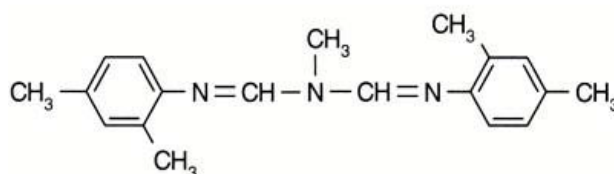
O amitraz foi inicialmente sintetizado na Inglaterra em 1969, é um pesticida empregado mundialmente para o controle de pragas, como inseticida e acaricida, em animais e culturas de frutas, hortaliças e vegetais. No Brasil, é comumente utilizado em veterinária em animais de

pequeno e grande porte como carrapaticida e acaricida (ANDRADE et al., 2007; DEL PINO et al., 2017).

As formamidinas são um grupo de carrapaticida com ação neurotóxica que provocam inibição da enzima monoaminoxidase, responsável pelo metabolismo das aminas neurotransmissoras presentes no sistema nervoso de insetos susceptíveis, demonstrando boa eficácia em artrópodes (MELO; DE OLIVEIRA; LAGO, 2002).

Em animais de pequeno porte é frequente a intoxicação por este pesticida, ocasionada principalmente por erro de diluição e administração do produto e isto pode ser agravado por doenças pré-existentes no animal (ANDRADE et al., 2007). Também existem casos de envenenamento humano e os sintomas mais frequentes são a falta de apetite, falta de coordenação motora, hiper-reatividade a estímulos externos, agressividade, entre outros (DEL PINO et al., 2017).

**FIGURA 2.** Fórmula estrutural do amitraz.

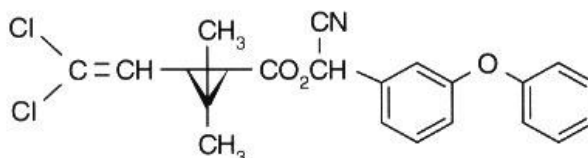


Fonte: ANVISA, 2017.

### 1.1.3. Cipermetrina

A cipermetrina [(RS) - $\alpha$ -ciano-3-fenoxibenzil (1RS) -cis-trans-3- (2,2-diclorovinil) - 2,2- dimetil ciclopropano carboxilato de etilo (Figura3) é uma substância sintética (grupo dos piretróides), análogo a piretrina, um pesticida natural, extraído da flor de crisântemo (KHAZRI et al., 2016). Apresenta-se na forma de um líquido viscoso marrom com baixa solubilidade em água e estável a luz quando nesta condição e sensível quando em solução (ORGOVÁNYI et al., 2005). Este pesticida é amplamente empregado no controle de ectoparasitas que infestam bovinos, ovinos, aves e animais domésticos (KHAZRI et al., 2016).

**FIGURA 3.** Estrutura química da cipermetrina.



Fonte: ANVISA, 2017.

Existem dois tipos de estruturas piretróides, tipo I e II e a cipermetrina pertence a classe II. Os compostos têm seu mecanismo de ação baseado na alteração da permeabilidade dos canais de sódio voltagem-dependente das células nervosas. Os piretróides do tipo I causam prolongamento da abertura do canal de sódio, resultando em maior influxo de sódio na célula e gerando repetidos potenciais de ação. Já os piretróides do tipo II atrasam o fechamento do canal resultando em inúmeras despolarizações com amplitudes menores e consequentemente levando a sintomas de intoxicação por hiperexcitabilidade (LEE et al., 2015).

A cipermetrina foi sintetizada em 1974 e se comporta como uma neurotoxina de ação rápida em insetos (SHARMA et al., 2012; SINGH et al., 2014). Dependendo da formulação, os produtos que contem cipermetrina são classificados como toxicidade química II (toxicidade moderada) ou III (altamente tóxico) (POLAT et al., 2002; BASER et al., 2003). Esse composto apresenta baixa toxicidade para mamíferos e pássaros, porém é altamente tóxico para peixes e invertebrados aquáticos. A elevada toxicidade para estes animais é devido a diferença na velocidade de metabolização e eliminação quando comparado com os mamíferos e pássaros (SANCHES-BAYO, 2012).

#### 1.1.4. Clorpirifós

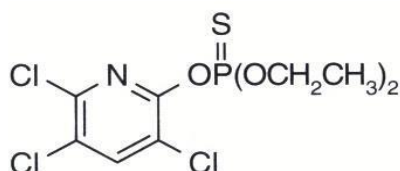
O clorpirifós (O, O-dietil O-3,5,6-tricloropiridina-2-il fosforotioato) (Figura 4) é um dos principais pesticidas comercializados da classe dos organofosforados (VENTURA et al., 2016). É empregado para controlar vários tipos de insetos e pragas, na agricultura e na veterinária (KHALID; HASHMI; KHAN, 2016; WANG et al., 2016).



A toxicidade dos organofosforados é devido a inibição das hidrolases de ácidos carboxílicos nas sinapses que empregam a acetilcolina como neurotransmissor. Dentre essas hidrolases, encontra-se a acetilcolinesterase, presente em todas as sinapses colinérgicas. Entretanto, a ação tóxica do clorpirifós é dependente de ativação hepática via citocromo P450 gerando como produto o clorpirifós-oxon, cujo qual, é capaz de inibir as colinesterases resultando em acúmulo de acetilcolina nas sinapses colinérgicas (LEE et al., 2015).

Esse pesticida é classificado como moderadamente perigoso (classe II) e apresenta baixa solubilidade aquosa (1,4mg/L) e alta sorção no solo. Sua meia vida no solo é de 60 a 120 dias, podendo variar, e o acúmulo em corpos d'água pode ocasionar danos para humanos e organismos aquáticos (ZHANG et al., 2016).

**FIGURA 4.** Estrutura química do clorpirifós.



Fonte: ANVISA, 2017.

## 1.2. Inseticidas Botânicos

Os produtos químicos são atualmente os carrapaticidas mais utilizados no combate ao carrapato bovino, pois oferecem um controle relativamente rápido. Entretanto, o uso excessivo destes compostos leva a intoxicação de pecuaristas e/ou aplicadores e animais, além de gerar resíduos nos alimentos (carne e leite), contaminação ambiental (devido as águas residuais de banhos de imersão e aspersão) e desenvolvimento de resistência dos carrapatos (FURLONG; MARTINS; PRATA, 2007; GROMBONI; NOGUEIRA, 2009; ABBAS et al., 2014). Desta forma, o uso intensivo destes produtos vem resultando em problemas econômicos, sociais e ambientais.

Diversos países vem sofrendo altos prejuízos com a resistência do carrapato a diversos carrapaticidas, pois a pecuária tem um importante papel econômico, como na África (VUDRIKO et al., 2018) na Índia (MANJUNATHACHAR et al., 2014) e também no Brasil (MENDES et al., 2011; KLAFKE et al., 2017). Vários estudos relatam populações de carrapatos bovinos resistentes a uma gama grande de carrapaticidas químicos como a cipermetrina

(MENDES et al., 2011; SHARMA et al., 2012), a ivermectina (SINGH et al., 2015), ao clorpirifós (MENDES et al., 2011), ao amitraz (LOVIS et al., 2013; PETERMANN et al., 2016), ao fipronil (CASTRO-JANER et al., 2010).

Diante dessas premissas têm-se buscado alternativas que sejam eficientes no controle destes ectoparasitas, retardem o desenvolvimento de resistência e que ao mesmo tempo reduzam os impactos ambientais, isto é, ambientalmente seguras e causem menos toxicidade aos organismos não-alvo. Dentre as alternativas mais seguras, os pesticidas botânicos têm ganhado bastante atenção pela comunidade científica nos últimos anos (CAMPOS et al., 2012; ADENUBI et al., 2016).

Para se defenderem de patógenos e predadores, as plantas possuem tanto mecanismos físicos (formação de pelos) quanto químicos, como a formação de compostos químicos, com atividades artropocidas (ADENUBI et al., 2016).

Dentre os mecanismos químicos podemos destacar as vias metabólicas secundárias que originam alguns compostos, os quais possuem funções importante nos vegetais, agindo na preservação da integridade das plantas (ROSADO-AGUILAR et al., 2017). Dentre esses metabólitos secundários, podemos destacar os óleos essenciais, que são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis de baixo peso molecular, formados principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanóides (REHMAN; ALI; KHAN, 2014). A atividade biológica dos óleos essenciais é geralmente atribuída a um componente majoritário, entretanto, por se tratar de misturas complexas, a atividade do componente principal pode ser potencializadas por outros componentes presentes em menor concentração (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010).

Existem atualmente mais de 200 espécies de plantas catalogadas mundialmente que exibem propriedades repelentes e/ou carrapaticidas. Muitos compostos ativos como, azadiractina, carvacrol, linalol, geraniol e citronelal já foram isolados e podem ser utilizados como carrapaticida propriamente dito ou como componente de alguma formulação (ADENUBI et al., 2016).

Dentre os óleos essenciais estudados com efeito carrapaticida está o óleo de menta, extraído de uma planta popularmente conhecida no Brasil como Hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) (DE SOUZA CHAGAS et al., 2016). A *M. piperita*, (família Lamiaceae) vem da região do Mediterrâneo e é cultivada como um híbrido de *Mentha aquatica L.* e *Mentha spicata L.* em todo o mundo. Ela mostra efeitos anti-séptico, antibacteriano, fungicida, antiespasmódico e estimulantes (CARVALHO et al., 2012).

São usadas as folhas e o caule na extração do óleo essencial e os principais componentes são mentol, acetato de metila, pulegone e mentone (concentração acima de 10%)(DE SOUZA CHAGAS et al., 2016). Segundo trabalho realizado por De Souza Chagas et al. (2016) o óleo de menta apresentou 43% de eficiência no teste de imersão de fêmeas ingurgitadas (prontas para a oviposição) e 89% de eficiência no teste de imersão de larvas. Estes dois testes são os mais utilizados para a avaliar a sensibilidade dos carrapatos aos carrapaticidas.

Uma das principais vantagens no emprego de inseticidas botânicos é que sua persistência no ambiente é baixa, sendo influenciada pela umidade do meio, pela presença de enzimas desintoxicantes e pela menor probabilidade de desenvolver resistência, bem como, baixo poder residual (AGUIAR-MENEZES, 2005). Porém a baixa persistência destes compostos acaba se tornando uma limitação, pois, muitas vezes são necessárias mais aplicações para atingir o efeito desejado. Uma alternativa a fim de diminuir a degradação destes compostos por fatores ambientais é a incorporação destes em sistemas nanoestruturados (DE OLIVEIRA et al., 2014).

Diante da necessidade de retardar o desenvolvimento de resistência dos carrapatos aos compostos químicos existentes no mercado e as necessidades de desenvolvimento de produtos que sejam menos tóxicos ao meio ambiente, neste trabalho propomos a associação de carrapaticidas sintéticos comumente usados no controle destes ectoparasitas com ativos botânicos (óleo de menta) a fim de controlar essa praga de maneira mais eficaz e empregando menores quantidades destes compostos.

### **1.3. Nanotecnologia Aplicada a Veterinária**

Os nanomateriais apresentam propriedades físicas, químicas, mecânicas e biológicas diferentes quando comparados com os mesmos materiais em escalas maiores. Essa modificação no comportamento dos materiais abre novas perspectivas para a aplicação da nanotecnologia nas mais variadas áreas. Desta forma, os investimentos em nanotecnologia tem sido estimulado em muitos países, inclusive no Brasil, através de iniciativas privadas e governamentais (DA SILVA SANT'ANNA; DE MENEZES ALENCAR; FERREIRA, ).

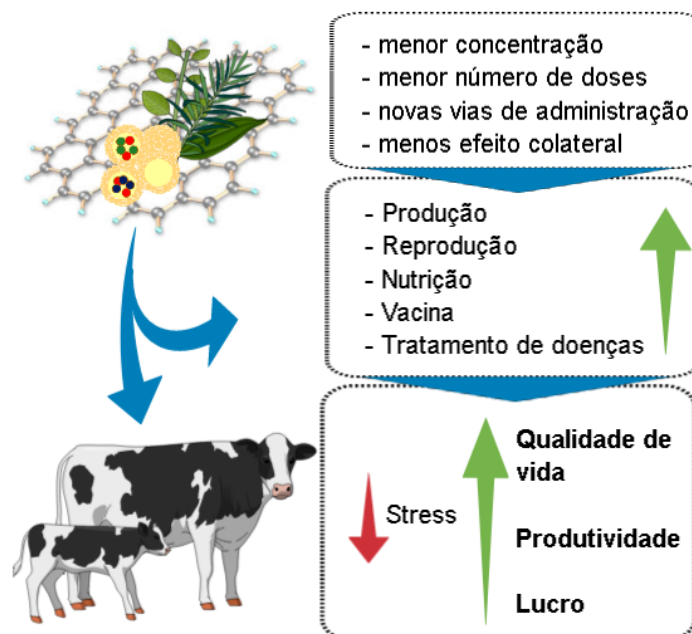
A nanotecnologia tem potencial para afetar significativamente as práticas e métodos da medicina veterinária, pois a saúde animal é uma questão cada vez mais importante, tanto no contexto doméstico, quanto na pecuária. Segundo Brandão (2011), a combinação, entre sistemas nanoestruturados e compostos bioativos, possibilita a redução da concentração e/ou o número de doses de fármacos utilizadas durante um tratamento, possibilita também o uso de novas vias de administração, com possível diminuição de efeito colateral. Essas duas

características, por si só, já trazem um grande benefício ao animal, a redução do estresse e melhora qualidade de vida.

Apesar de a nanotecnologia estar em amplo desenvolvimento, muita pesquisa ainda se faz necessária para tornar essa prática uma tecnologia comum dentro da medicina veterinária. Os carreadores de compostos bioativos, como as nanopartículas já estão permitindo que os veterinários revisem a terapêutica em doenças desafiantes usando uma abordagem diferente, aumentando seu armamento farmacêutico. A aplicação da nanotecnologia à medicina veterinária proporciona a oportunidade de melhorar a administração de medicamentos, vitaminas, minerais e vacinas por métodos adequados para aplicação em massa, em sistemas de produção de animais e o uso de testes para diagnósticos rápidos e sensíveis no local para muitas doenças veterinárias. Isso oferece potencial para melhorar o manejo e a produtividade do rebanho (UNDERWOOD; VAN EPS, 2012).

A figura 5 esquematiza o efeito que a aplicação da nanotecnologia pode ter na medicina veterinária. Em resumo a utilização da nanotecnologia pode melhorar a qualidade de vida dos animais, principalmente pela diminuição do estresse e conseqüentemente uma melhora na lucratividade, em relação aos animais de importância econômica.

**Figura 5.** Efeito da aplicação da nanotecnologia na medicina veterinária.



A aplicação da nanotecnologia, como o desenvolvimento de sistemas nanocarreadores, ajuda a superar as limitações dos inseticidas naturais utilizados para o controle de doenças em

animais, como por exemplo, fotosensibilidade, termosensibilidade e degradação por microorganismos. Quando estes sistemas são utilizados com produtos sintéticos, além de superar as limitações supracitadas, também podem ajudar a superar os problemas e efeitos colaterais causados no meio ambiente e à saúde do animal (ROY; BAJPAI; BAJPAI, 2009; IRACHE et al., 2011).

As formulações de nanopartículas, tem por objetivo: a) aumentar a solubilidade e estabilidade dos compostos, b) liberá-los de uma maneira sustentada, c) protege-los de degradação prematura. Desta forma, estas formulações permitem que o composto ativo alcance um maior tempo de permanência no ambiente em concentrações efetivas para o alvo. Além disso, ocorre uma diminuição na exposição do ambiente e para organismos não-alvo (DE OLIVEIRA et al., 2014).

Além das vantagens listadas acima, os sistemas de nanocarreadores podem ser desenhados para ultrapassarem ou não barreiras, como a membrana celular e a barreira hematoencefálica, podendo entregar o fármaco no local desejado ou impedindo a entrada de um fármaco indesejado num local específico (ZAMBONI et al., 2012).

Nanopartículas de metais, óxidos metálicos e carbono, obtidas através de rotas eco-sustentáveis, se mostraram altamente eficazes contra pragas, artrópodes e vetores de importância econômica. Porém a grande maioria desses trabalhos, concentraram seus esforços no combate aos mosquitos enquanto que apenas alguns deles testaram nanopartículas em outras pragas (BENELLI et al., 2017).

Na literatura encontramos trabalhos que utilizaram sistemas nanoestruturados para carrear compostos de interesse veterinário: cipermetrina e permetrina (YAO et al., 2014a; COLA; SILVA; FRACETO, 2015; DA SILVA LIMA et al., 2017), salicilanilidas (SOTO-CASTRO; EVANGELISTA-LARA; GUADARRAMA, 2006), avermectina (DENG et al., 2016), antígeno SBm7462 em vacina (SALES-JUNIOR et al., 2005), entre outros.

Apesar das vantagens do uso de sistemas nanoestruturados na medicina veterinária há necessidade do emprego de materiais de fontes renováveis e que não levem ao surgimento de resíduos perigosos (NATH; BANERJEE, 2013). Desta forma, a produção de nanomateriais deve ser baseada na química/ nanotecnologia verde através do emprego solventes seguros e polímero biodegradáveis, biocompatíveis e de baixa toxicidade, como é o caso da zeína (LUO; WANG, 2014).

### 1.3.1. Nanopartículas de zeína

A zeína é uma proteína do milho que representa cerca de 50% das proteínas totais encontradas neste grão, mais especificamente “zeína” é o nome de uma proteína do endosperma, a qual confere sua dureza (SHUKLA; CHERYAN, 2001). A zeína pertence à classe das prolaminas, que ocorrem especificamente em cereais (a exemplo da hordeína na cevada e gliadina no trigo) (PALIWAL; PALAKURTHI, 2014). A zeína compreende uma mistura de vários polipeptídeos e foi identificada em quatro classes principais:  $\alpha$ -zeína,  $\beta$ -zeína,  $\gamma$ -zeína e  $\delta$ -zeína, sendo a  $\alpha$ -zeína a maior representante deste grupo com cerca de 70-85%. Esta classificação é realizada com base na solubilidade, peso molecular e estrutura de cada fração (GIRIJA ASWATHY et al., 2012; ZHANG et al., 2015).

A alta quantidade de aminoácidos não polares, os quais correspondem a cerca de 70% (glutamina-20%, leucina-20%, alanina-14%, prolina-9%), faz com que a zeína não seja solúvel em água pura ou álcool, mas sim em soluções de álcool 80-90% e acetona. A zeína é uma proteína anfifílica, devido a presença de resíduos hidrofílicos e hidrofóbicos distribuídos em sua estrutura, porém se comporta como uma proteína hidrofóbica (SOUSA et al., 2013).

A formação de partículas coloidais, ocorre facilmente, pela alteração da capacidade de solubilização do solvente primário através da diluição em um não solvente, um processo conhecido como precipitação anti-solvente ou dispersão líquido-líquido (PATEL; VELIKOV, 2014). Neste método, a zeína é primeiro dissolvida em uma solução hidroetanólica e em seguida a solução é injetada em uma solução aquosa, a qual pode conter um tensoativo, e desta forma ocorre uma separação de fases e consequentemente formação de partículas por precipitação (ZHANG; LUO; WANG, 2010).

A zeína se tornou alvo das pesquisas e ganhou interesse comercial por várias propriedades e aspectos promissores. Por ter um núcleo principalmente hidrofóbico a zeína serve como uma ótima barreira de água e pode ser utilizada como um excelente material de revestimento (PALIWAL; PALAKURTHI, 2014). Esta proteína tem a capacidade de formar filmes biodegradáveis, resistentes, flexíveis e hidrofóbicos a um baixo custo, além de ter efeito antimicrobiano (SHUKLA; CHERYAN, 2001).

Sua propriedade hidrofóbica, resulta em uma fácil fabricação de micro / nanopartículas (PATEL; VELIKOV, 2014). A zeína apresenta também propriedades para o desenvolvimento de sistemas coloidais, em diferentes formas e estruturas, incluindo filmes, nanopartículas, micelas, géis e fibras (PALIWAL; PALAKURTHI, 2014). Além da biocompatibilidade, biodegradabilidade e pouca toxicidade, também é geralmente considerada segura pela Food and

#### **4 CONCLUSÃO**

Com base nos resultados através de método precipitação com anti-solvente, foi possível alcançar uma eficiência de encapsulação média de aproximadamente 100% para os ativos, indicando uma boa interação dos ativos com o sistema. As nanopartículas de zeína preparadas neste estudo apresentaram um tamanho médio inicial compreendido entre 207 e 283 nm, um índice de polidispersão de 0,168 a 0,256 e potencial zeta de -16 a +60 mV. As nanopartículas controle e contendo óleo de menta (OM) precipitaram antes da análise de 30 dias, o que indica instabilidade nesses sistemas, que são comprovadas pelo aumento do tamanho, índice de polidispersão, pH e diminuição do potencial zeta. Em contrapartida as nanopartículas contendo óleo de menta, clorpirifós e amitraz (NP\_OM+AMZ+CPF) e as nanopartículas contendo óleo

de menta, cipermetrina e clorpirifós (NP\_OM+CPM+CPF), mostrou variações na estabilidade ao longo do tempo, porém não chegam a causar precipitação no sistema, fazendo com que permaneçam estáveis durante o tempo de análise e armazenamento. Análises de FTIR e DSC concordam com a alta eficiência de encapsulação apontada para este sistema, pois na análise das nanopartículas não há evidências de quantidades significativas de ativos livres. As micrografias por AFM mostram que as nanopartículas possuem uma estrutura esférica.

O presente trabalho fornece importantes informações sobre o processo de preparo e caracterização de nanopartículas de zeína contendo uma mistura de inseticida botânico e pesticidas químicos visando aplicações futuras na medicina veterinária. Vale ressaltar que na literatura são encontrados poucos trabalhos que estudam o nano/microencapsulamento destes compostos e nenhum deles estuda o efeito sinérgico de substâncias sintéticas e naturais. Do ponto de vista físico-químico as nanopartículas se mostram como bons sistemas carreadores para os compostos analisados. Foi observado que o encapsulamento dessas substâncias resultou em aumento da estabilidade das nanopartículas quando comparado com os sistemas controle.



## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, R. Z.; ZAMAN, M. A.; COLWELL, D. D.; GILLEARD, J.; IQBAL, Z. Acaricide Resistance in Cattle Ticks and Approaches to Its Management: The State of Play. **Veterinary Parasitology**, v. 203, n. 1–2, p. 6–20, jun. 2014.
- ACOSTA, I. C. L.; MARTINS, T. F.; MARCILI, A.; SOARES, H. S.; KRAWCZAK, F. S.; VIEIRA, F. T.; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) from Humans, Domestic and Wild Animals in the State of Espírito Santo, Brazil, with Notes on Rickettsial Infection. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 3–4, p. 66–69, jun. 2016.
- ADENUBI, O. T.; FASINA, F. O.; MCGAW, L. J.; ELOFF, J. N.; NAIDOO, V. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. **South African Journal of Botany**, v. 105, p. 178–193, 1 jul. 2016.
- ANDRADE, S. F.; LAPOSY, C. B.; CARDOSO, C. S.; SAKAMOTO, K. P.; DA MOTTA, Y. P. Uso tópico do amitraz em concentração terapêutica em gatos. **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1027–1032, 2007.
- ANDREOTTI, R. A. E. S. **Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil**. [s.l.] Embrapa Gado de Corte, 2010.
- ARMENTA, S.; QUINTAS, G.; GARRIGUES, S.; DELAGUARDIA, M. A Validated and Fast Procedure for FTIR Determination of Cypermethrin and Chlorpyrifos. **Talanta**, v. 67, n. 3, p. 634–639, 15 set. 2005.
- AZEVEDO, D. M. M. R.; ALVES, A. A.; SALES, R. de O. Principais ecto e endoparasitas que acometem bovinos leiteiros no Brasil: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 2, n. 1, p. 43–55, 2008.
- BENELLI, G.; MAGGI, F.; ROMANO, D.; STEFANINI, C.; VASEEHARAN, B.; KUMAR, S.; HIGUCHI, A.; ALARFAJ, A. A.; MEHLHORN, H.; CANALE, A. Nanoparticles as effective acaricides against ticks—A review. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 6, p. 821–826, 1 out. 2017.
- BRETT, M. E.; HINCKLEY, A. F.; ZIELINSKI-GUTIERREZ, E. C.; MEAD, P. S. U.S. Healthcare Providers' Experience with Lyme and Other Tick-Borne Diseases. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 4, p. 404–408, jun. 2014.
- BUTLER, A. D.; CARLSON, M. L.; NELSON, C. A. Use of a Tick-Borne Disease Manual Increases Accuracy of Tick Identification among Primary Care Providers in Lyme Disease Endemic Areas. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 2, p. 262–265, fev. 2017.

BUTLER, A. D.; SEDGHI, T.; PETRINI, J. R.; AHMADI, R. Tick-borne disease preventive practices and perceptions in an endemic area. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 2, p. 331–337, 1 mar. 2016.

CAMPOS, R. N. de S.; BACCI, L.; ARAÚJO, A. P. A.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. de F.; SANTOS, G. R. de A.; RONEER, M. N. B. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*. 2012. Disponível em: <<http://ri.ufs.br:8080/handle/123456789/1596>>. Acesso em: 25 jul. 2017.

CARVALHO, C. O.; CHAGAS, A. C. S.; COTINGUIBA, F.; FURLAN, M.; BRITO, L. G.; CHAVES, F. C. M.; STEPHAN, M. P.; BIZZO, H. R.; AMARANTE, A. F. T. The anthelmintic effect of plant extracts on *Haemonchus contortus* and *Strongyloides venezuelensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3, p. 260–268, 10 fev. 2012.

CASTRO-JANER, E.; MARTINS, J. R.; MENDES, M. C.; NAMINDOME, A.; KLAFKE, G. M.; SCHUMAKER, T. T. S. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*) using in vitro larval bioassays. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 3, p. 300–306, 29 out. 2010.

CHEN, F.; WANG, Y.; XIE, X.; CHEN, M.; LI, W. TDDFT Study of UV–Vis Spectra of Permethrin, Cypermethrin and Their Beta-Cyclodextrin Inclusion Complexes: A Comparison of Dispersion Correction DFT (DFT-D3) and DFT. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 128, p. 461–467, jul. 2014.

CHEN, H.; ZHONG, Q. A Novel Method of Preparing Stable Zein Nanoparticle Dispersions for Encapsulation of Peppermint Oil. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 593–602, jan. 2015.

CHEN, S.; XU, C.; MAO, L.; LIU, F.; SUN, C.; DAI, L.; GAO, Y. Fabrication and characterization of binary composite nanoparticles between zein and shellac by anti-solvent co-precipitation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 107, p. 88–96, 1 jan. 2018.

CHENG, C. J.; JONES, O. G. Stabilizing zein nanoparticle dispersions with ι-carrageenan. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 28–35, 1 ago. 2017.

CHIMINAZZO, C.; DA SILVA, F. R. C.; CERESÉR, V. H.; QUEIROLO, M. T. C.; BITTENCOURT, H. R. Eficácia de carrapaticidas amidínicos para o controle do *Boophilus Microplus*: influência do pH da calda carrapaticida. **Veterinária em Foco**, v. 2, n. 1, p. 89–94, 2004.

COLA, D. F.; SILVA, C. M. G. da; FRACETO, L. F. Lipid Nanoparticles as Carrier Systems for Ivermectin and Methoprene Aiming Veterinary Applications. **Toxicology Letters**, v. 2 Supplement, n. 238, p. S201, 2015.

COSTA, S. C. L.; DE MAGALHÃES, V. C. S.; DE OLIVEIRA, U. V.; CARVALHO, F. S.; DE ALMEIDA, C. P.; MACHADO, R. Z.; MUNHOZ, A. D. Transplacental Transmission of Bovine Tick-Borne Pathogens: Frequency, Co-Infections and Fatal Neonatal Anaplasmosis in a Region of Enzootic Stability in the Northeast of Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 2, p. 270–275, mar. 2016.

CVEJIĆ, D.; SCHNEIDER, C.; NEETHLING, W.; HELLMANN, K.; LIEBENBERG, J.; NAVARRO, C. The Sustained Speed of Kill of Ticks ( *Rhipicephalus Sanguineus* ) and Fleas ( *Ctenocephalides Felis Felis* ) on Dogs by a Spot-on Combination of Fipronil and Permethrin (Effitix®) Compared with Oral Afoxolaner (NexGard®). **Veterinary Parasitology**, v. 243, p. 52–57, ago. 2017.

DA SILVA LIMA, A.; MACIEL, A. P.; MENDONÇA, C. de J. S.; COSTA JUNIOR, L. M. Use of Encapsulated Carvacrol with Yeast Cell Walls to Control Resistant Strains of *Rhipicephalus Microplus* (Acari: Ixodidae). **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 190–194, dez. 2017.

DA SILVA SANT'ANNA, L.; DE MENEZES ALENCAR, M. S.; FERREIRA, A. P. PATENTEAMENTO EM NANOTECNOLOGIA NO BRASIL: DESENVOLVIMENTO, POTENCIALIDADES E REFLEXÕES PARA O MEIO AMBIENTE E A SAÚDE HUMANA. [s.d.]

DAI, R. Y.; YOU, S. Y.; LU, L. M.; LIU, Q.; LI, Z. X.; WEI, L.; HUANG, X. G.; YANG, Z. Y. High Blades Spreadability of Chlorpyrifos Microcapsules Prepared with Polysiloxane Sodium Carboxylate/Sodium Carboxymethylcellulose/Gelatin via Complex Coacervation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 530, p. 13–19, out. 2017.

DAVIDOV-PARDO, G.; JOYE, I. J.; ESPINAL-RUIZ, M.; MCCLEMENTS, D. J. Effect of Maillard Conjugates on the Physical Stability of Zein Nanoparticles Prepared by Liquid Antisolvent Coprecipitation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 38, p. 8510–8518, 30 set. 2015.

DE OLIVEIRA, J. L.; CAMPOS, E. V. R.; BAKSHI, M.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, L. F. Application of Nanotechnology for the Encapsulation of Botanical Insecticides for Sustainable Agriculture: Prospects and Promises. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1550–1561, dez. 2014.

DE SOUZA CHAGAS, A. C.; DE SENA OLIVEIRA, M. C.; GIGLIOTI, R.; SANTANA, R. C. M.; BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; CHAVES, F. C. M. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 3, p. 427–432, 1 abr. 2016.

DEL PINO, J.; MOYANO, P.; RUIZ, M.; ANADÓN, M. J.; DÍAZ, M. J.; GARCÍA, J. M.; LABAJO-GONZÁLEZ, E.; FREJO, M. T. Amitraz Changes NE, DA and 5-HT Biosynthesis and Metabolism Mediated by Alterations in Estradiol Content in CNS of Male Rats. **Chemosphere**, v. 181, p. 518–529, ago. 2017.

DENG, Y.; ZHAO, H.; QIAN, Y.; LÜ, L.; WANG, B.; QIU, X. Hollow lignin azo colloids encapsulated avermectin with high anti-photolysis and controlled release performance. **Industrial Crops and Products**, v. 87, p. 191–197, 1 set. 2016.

FIOL, F. de S. D.; JUNQUEIRA, F. M.; ROCHA, M. C. P. da; TOLEDO, M. I. de; BARBERATO FILHO, S. A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, p. 461–466, jun. 2010.

FONSECA, Z. A.; FERREIRA, C. G.; AHID, S. M. M. Ectoparasitas de ruminantes na região semi-árida do Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 3, n. 4, p. 141–145, 2009.

FURLONG, J.; MARTINS, J. R.; PRATA, M. C. A. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar. **A Hora Veterinária**, v. 27, n. 159, p. 26–32, 2007.

GARGILI, A.; ESTRADA-PEÑA, A.; SPENGLER, J. R.; LUKASHEV, A.; NUTTALL, P. A.; BENTE, D. A. The Role of Ticks in the Maintenance and Transmission of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus: A Review of Published Field and Laboratory Studies. **Antiviral Research**, v. 144, p. 93–119, ago. 2017.

GIRIJA ASWATHY, R.; SIVAKUMAR, B.; BRAHATHEESWARAN, D.; FUKUDA, T.; YOSHIDA, Y.; MAEKAWA, T.; SAKTHI KUMAR, D. Biocompatible fluorescent zein nanoparticles for simultaneous bioimaging and drug delivery application. **Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology**, v. 3, n. 2, p. 025006, 3 abr. 2012.

GOMES, H.; MORAES, J. L. da C.; VAZ JUNIOR, I. da S.; LOGULLO, C. Antígenos de quinases dependentes de ciclinas ou peptídeos derivados para controle de diferentes espécies de carrapatos. 2014.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R. de S.; BARROS, A. T. M. de; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H. D.; LEÓN, A. A. P. de; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. 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.

GROMBONI, C.; NOGUEIRA, A. de A. Tratamento alternativo de águas residuais de banhos carrapaticidas de aspersão. **Embrapa Pecuária Sudeste-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2009.

HU, K.; MCCLEMENTS, D. J. Fabrication of Surfactant-Stabilized Zein Nanoparticles: A PH Modulated Antisolvent Precipitation Method. **Food Research International**, v. 64, p. 329–335, out. 2014.

IRACHE, J. M.; ESPARZA, I.; GAMAZO, C.; AGÜEROS, M.; ESPUELAS, S. Nanomedicine: Novel approaches in human and veterinary therapeutics. **Veterinary Parasitology**, Special Issue: Towards good management practises in parasite control. v. 180, n. 1, p. 47–71, 4 ago. 2011.

KHALID, S.; HASHMI, I.; KHAN, S. J. Bacterial assisted degradation of chlorpyrifos: The key role of environmental conditions, trace metals and organic solvents. **Journal of Environmental Management**, v. 168, p. 1–9, 1 mar. 2016.

KHAZRI, A.; SELLAMI, B.; DELLALI, M.; CORCELLAS, C.; ELJARRAT, E.; BARCELÓ, D.; BEYREM, H.; MAHMOUDI, E. Diastereomeric and Enantiomeric Selective Accumulation of Cypermethrin in the Freshwater Mussel *Unio Gibbus* and Its Effects on Biochemical Parameters. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 129, p. 83–88, maio 2016.

KIM, S.; XU, J. Aggregate Formation of Zein and Its Structural Inversion in Aqueous Ethanol. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 1, p. 1–5, jan. 2008.

KLAFKE, G.; WEBSTER, A.; DALL AGNOL, B.; PRADEL, E.; SILVA, J.; DE LA CANAL, L. H.; BECKER, M.; OSÓRIO, M. F.; MANSSON, M.; BARRETO, R.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; DOS SANTOS, J.; RECK, J.; MARTINS, J. R. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 1, p. 73–80, 1 jan. 2017.

LAI, L. F.; GUO, H. X. Preparation of new 5-fluorouracil-loaded zein nanoparticles for liver targeting. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1, p. 317–323, 14 fev. 2011.

LEE, I.; ERIKSSON, P.; FREDRIKSSON, A.; BURATOVIC, S.; VIBERG, H. Developmental neurotoxic effects of two pesticides: Behavior and neuroprotein studies on endosulfan and cypermethrin. **Toxicology**, v. 335, p. 1–10, 1 set. 2015.

LIMA, M. de C. F.; MITTESTAINER, J. C.; DA ROCHA, P. B.; DE CARVALHO, E. R.; DO PRADO VEROTTI, B.; PELLICCIARI, P. R.; VICTORIA, C.; LANGONI, H. Principais zoonoses em pequenos animais: breve revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 1, p. 84–106, 2017.

LOVIS, L.; MENDES, M. C.; PERRET, J.-L.; MARTINS, J. R.; BOUVIER, J.; BETSCHART, B.; SAGER, H. Use of the Larval Tarsal Test to determine acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Brazilian field populations. **Veterinary Parasitology**, v. 191, n. 3, p. 323–331, 31 jan. 2013.

LUO, Y.; WANG, Q. Zein-Based Micro- and Nano-Particles for Drug and Nutrient Delivery: A Review. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 16, p. n/a-n/a, 15 ago. 2014.

LUO, Y.; ZHANG, B.; WHENT, M.; YU, L. (Lucy); WANG, Q. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of  $\alpha$ -tocopherol, and its in vitro controlled release study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 85, n. 2, p. 145–152, 1 jul. 2011.

MANJUNATHACHAR, H. V.; SARAVANAN, B. C.; KESAVAN, M.; KARTHIK, K.; RATHOD, P.; GOPI, M.; TAMILMAHAN, P.; BALARAJU, B. L. Economic Importance of Ticks and Their Effective Control Strategies. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. S770–S779, set. 2014.

MARCELO B. LABRUNA; S. L. P. SOUZA; J.S.GUIMARÃES; R.C.PACHECO; PINTER, A.; GENNARI, S. M. Prevalência de carrapatos em cães de áreas rurais da região norte do Estado do Paraná. **Arq. Bras. Med**, v. 53, n. 5, p. 553–556, 2001.

MELO, M. M.; DE OLIVEIRA, N. J. F.; LAGO, L. A. Intoxicações causadas por pesticidas em cães e gatos. Parte II: amitraz, estricnina, fluoracetado de sódio e fluoracetamida, rodenticidas anticoagulantes e avermectinas. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 5, n. 3, p. 259–267, 2002.

- MENDES, M. C.; LIMA, C. K. P.; NOGUEIRA, A. H. C.; YOSHIHARA, E.; CHIEBAO, D. P.; GABRIEL, F. H. L.; UENO, T. E. H.; NAMINDOME, A.; KLAFKE, G. M. Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 178, n. 3, p. 383–388, 10 jun. 2011.
- MU, L.; FENG, S. S. Fabrication, characterization and in vitro release of paclitaxel (Taxol®) loaded poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres prepared by spray drying technique with lipid/cholesterol emulsifiers. **Journal of Controlled Release**, v. 76, n. 3, p. 239–254, 19 out. 2001.
- MURRELL, A.; BARKER, S. C. Synonymy of *Boophilus Curtice*, 1891 with *Rhipicephalus Koch*, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 56, n. 3, p. 169–172, nov. 2003.
- NATH, D.; BANERJEE, P. Green nanotechnology – A new hope for medical biology. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 3, p. 997–1014, 1 nov. 2013.
- NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. 372–378, 1 jan. 2010.
- ORGOVÁNYI, J.; OTTA, K. H.-; PÖPPL, L.; FENYVESI, É.; ZÁRAY, G. Spectrophotometric and Thermoanalytical Study of Cypermethrin/Cyclodextrin Complexes. **Microchemical Journal**, v. 79, n. 1–2, p. 77–82, jan. 2005.
- PALIWAL, R.; PALAKURTHI, S. Zein in Controlled Drug Delivery and Tissue Engineering. **Journal of Controlled Release**, v. 189, p. 108–122, set. 2014.
- PATARROYO, J. H.; VARGAS, M. I.; GONZÁLEZ, C. Z.; GUZMÁN, F.; MARTINS-FILHO, O. A.; AFONSO, L. C. C.; VALENTE, F. L.; PECONICK, A. P.; MARCIANO, A. P.; PATARROYO, A. M.; SOSSAI, S. Immune Response of Bovines Stimulated by Synthetic Vaccine SBm7462® against *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 166, n. 3–4, p. 333–339, dez. 2009.
- PATEL, A. R.; VELIKOV, K. P. Zein as a Source of Functional Colloidal Nano- and Microstructures. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 19, n. 5, p. 450–458, out. 2014.
- PEREIRA, A. E. S.; GRILLO, R.; MELLO, N. F. S.; ROSA, A. H.; FRACETO, L. F. Application of Poly(Epsilon-Caprolactone) Nanoparticles Containing Atrazine Herbicide as an Alternative Technique to Control Weeds and Reduce Damage to the Environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 268, p. 207–215, 15 mar. 2014.
- PETERMANN, J.; CAUQUIL, L.; HURLIN, J. C.; GAIA, H.; HÜE, T. Survey of Cattle Tick, *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus*, Resistance to Amitraz and Deltamethrin in New Caledonia. **Veterinary Parasitology**, v. 217, p. 64–70, fev. 2016.
- RAJPUT, Z. I.; HU, S.; CHEN, W.; ARIJO, A. G.; XIAO, C. Importance of Ticks and Their Chemical and Immunological Control in Livestock. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v. 7, n. 11, p. 912–921, nov. 2006.

REHMAN, J. U.; ALI, A.; KHAN, I. A. Plant based products: Use and development as repellents against mosquitoes: A review. **Fitoterapia**, v. 95, p. 65–74, 1 jun. 2014.

ROSADO-AGUILAR, J. A.; ARJONA-CAMBRANES, K.; TORRES-ACOSTA, J. F. J.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; BOLIO-GONZÁLEZ, M. E.; ORTEGA-PACHECO, A.; ALZINA-LÓPEZ, A.; GUTIÉRREZ-RUIZ, E. J.; GUTIÉRREZ-BLANCO, E.; AGUILAR-CABALLERO, A. J. Plant Products and Secondary Metabolites with Acaricide Activity against Ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 238, p. 66–76, abr. 2017.

ROY, A.; BAJPAI, J.; BAJPAI, A. K. Dynamics of Controlled Release of Chlorpyrifos from Swelling and Eroding Biopolymeric Microspheres of Calcium Alginate and Starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 76, n. 2, p. 222–231, mar. 2009.

SALES-JUNIOR, P. A.; GUZMAN, F.; VARGAS, M. I.; SOSSAI, S.; PATARROYO V., A. M.; GONZÁLEZ, C. Z. L.; PATARROYO, J. H. Use of biodegradable PLGA microspheres as a slow release delivery system for the *Boophilus microplus* synthetic vaccine SBm7462. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 107, n. 3, p. 281–290, 15 set. 2005.

Sanches-Bayo, F. Insecticides Mode of Action in Relation to Their Toxicity to Non-Target Organisms. **Journal of Environmental & Analytical Toxicology**, v. s4, 2012. Disponível em: <<https://www.omicsonline.org/insecticides-mode-of-action-in-relation-to-their-toxicity-to-non-target-organisms-2161-0525.S4-002.php?aid=4254>>. Acesso em: 25 jul. 2017.

SANTOS, T. R. B. dos; PAPPEN, F. G.; FARIAS, N. A. da R.; JUNIOR, V.; SILVA, I. da. In vitro analysis of amitraz efficacy against *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) populations of southern region of Rio Grande do Sul state. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 54–57, dez. 2009.

SHARMA, A. K.; KUMAR, R.; KUMAR, S.; NAGAR, G.; SINGH, N. K.; RAWAT, S. S.; DHAKAD, M. L.; RAWAT, A. K. S.; RAY, D. D.; GHOSH, S. Deltamethrin and Cypermethrin Resistance Status of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *Microplus* Collected from Six Agro-Climatic Regions of India. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 3–4, p. 337–345, set. 2012.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v. 13, n. 3, p. 171–192, 1 maio 2001.

ŠIMO, L.; ŽITŇAN, D.; PARK, Y. Neural Control of Salivary Glands in Ixodid Ticks. **Journal of Insect Physiology**, v. 58, n. 4, p. 459–466, abr. 2012.

SINGH, N. K.; JYOTI; HAQUE, M.; SINGH, H.; RATH, S. S.; GHOSH, S. A. Comparative Study on Cypermethrin Resistance in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *Microplus* and *Hyalomma Anatolicum* from Punjab (India). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 2, p. 90–94, mar. 2014.

SINGH, N. K.; SINGH, H.; JYOTI; PRERNA, M.; RATH, S. S. First report of ivermectin resistance in field populations of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) in Punjab districts of India. **Veterinary Parasitology**, v. 214, n. 1, p. 192–194, 30 nov. 2015.

SOCOLOVSCHI, C.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group *Rickettsiae* and Ixodid ticks. **Veterinary Research**, v. 40, n. 2, p. 34, mar. 2009.

SOTO-CASTRO, D.; EVANGELISTA-LARA, A.; GUADARRAMA, P. Theoretical design of dendrimeric fractal patterns for the encapsulation of a family of drugs: salicylanilides. **Tetrahedron**, v. 62, n. 51, p. 12116–12125, 18 dez. 2006.

SOUSA, F. F. O.; LUZARDO-ÁLVAREZ, A.; BLANCO-MÉNDEZ, J.; OTERO-ESPINAR, F. J.; MARTÍN-PASTOR, M.; SÁNDEZ MACHO, I. Use of 1H NMR STD, WaterLOGSY, and Langmuir monolayer techniques for characterization of drug–zein protein complexes. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3, p. 790–798, 1 nov. 2013.

SUAREZ, M.; RUBI, J.; PÉREZ, D.; CORDOVA, V.; SALAZAR, Y.; VIELMA, A.; BARRIOS, F.; GIL, C. A.; SEGURA, N.; CARRILLO, Y.; CARTAYA, R.; PALACIOS, M.; RUBIO, E.; ESCALONA, C.; RAMIREZ, R. C.; BAKER, R. B.; MACHADO, H.; SORDO, Y.; BERMUDEZ, J.; VARGAS, M.; MONTERO, C.; CRUZ, A.; PUENTE, P.; RODRIGUEZ, J. L.; MANTILLA, E.; OLIVA, O.; SMITH, E.; CASTILLO, A.; RAMOS, B.; RAMIREZ, Y.; ABAD, Z.; MORALES, A.; GONZALEZ, E. M.; HERNANDEZ, A.; CEBALLO, Y.; CALLARD, D.; CARDOSO, A.; NAVARRO, M.; GONZALEZ, J. L.; PINA, R.; CUETO, M.; BORROTO, C.; PIMENTEL, E.; CARPIO, Y.; ESTRADA, M. P. High Impact and Effectiveness of Gavac™ Vaccine in the National Program for Control of Bovine Ticks *Rhipicephalus Microplus* in Venezuela. **Livestock Science**, v. 187, p. 48–52, maio 2016.

TORKAMANI, A. E.; SYAHARIZA, Z. A.; NORZIAH, M. H.; WAN, A. K. M.; JULIANO, P. Encapsulation of Polyphenolic Antioxidants Obtained from Momordica Charantia Fruit within Zein/Gelatin Shell Core Fibers via Coaxial Electrospinning. **Food Bioscience**, v. 21, p. 60–71, fev. 2018.

TRIVEDI, M.; MISHRA, R.; JANA, S. Structural and Physical Properties of Biofield Treated Thymol and Menthol. **Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research**, v. 03, n. 02, 2015. Disponível em: <<http://www.esciencecentral.org/journals/structural-and-physical-properties-of-biofield-treated-thymol-andmenthol-2329-9053-1000127.php?aid=58161>>. Acesso em: 13 abr. 2018.

UNDERWOOD, C.; VAN EPS, A. W. Nanomedicine and Veterinary Science: The Reality and the Practicality. **The Veterinary Journal**, v. 193, n. 1, p. 12–23, jul. 2012.

VALENTINI, S. R.; SOMMER, W. A.; MATIOLI, G. Validação de métodos analíticos. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 2, p. 26–31, 2013.

VENTURA, C.; NIETO, M. R. R.; BOURGUIGNON, N.; LUX-LANTOS, V.; RODRIGUEZ, H.; CAO, G.; RANDI, A.; COCCA, C.; NÚÑEZ, M. Pesticide chlorpyrifos acts as an endocrine disruptor in adult rats causing changes in mammary gland and hormonal balance. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 156, p. 1–9, 1 fev. 2016.



VUDRIKO, P.; OKWEE-ACAI, J.; BYARUHANGA, J.; TAYEBWA, D. S.; OMARA, R.; MUHINDO, J. B.; LAGU, C.; UMEMIYA-SHIRAFUJI, R.; XUAN, X.; SUZUKI, H. Evidence-based tick acaricide resistance intervention strategy in Uganda: Concept and feedback of farmers and stakeholders. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, n. 2, p. 254–265, 1 fev. 2018.

WANG, L.; LIU, Z.; ZHANG, J.; WU, Y.; SUN, H. Chlorpyrifos exposure in farmers and urban adults: Metabolic characteristic, exposure estimation, and potential effect of oxidative damage. **Environmental Research**, v. 149, p. 164–170, 1 ago. 2016.

WILSON, M. E. Prevention of tick-borne diseases. **Medical Clinics of North America**, Tick-Borne Disease. v. 86, n. 2, p. 219–238, 1 mar. 2002.

WULFF-PÉREZ, M.; DE VICENTE, J.; MARTÍN-RODRÍGUEZ, A.; GÁLVEZ-RUIZ, M. J. Controlling lipolysis through steric surfactants: New insights on the controlled degradation of submicron emulsions after oral and intravenous administration. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 423, n. 2, p. 161–166, 28 fev. 2012.

YAMAKI, S. B.; PEDROSO, A. G.; ATVARIS, T. D. Z. O estado vítreo dentro da perspectiva do curso de graduação em química (físico-química). **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 330–334, maio 2002.

YAO, K.; LI, J.; YAO, F.; YIN, Y. **Chitosan-Based Hydrogels: Functions and Applications**. [s.l.] CRC Press, 2011.

YAO, Q.; YOU, B.; ZHOU, S.; CHEN, M.; WANG, Y.; LI, W. Inclusion Complexes of Cypermethrin and Permethrin with Monochlorotriazinyl-Beta-Cyclodextrin: A Combined Spectroscopy, TG/DSC and DFT Study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 576–586, jan. 2014a.

YAO, Q.; YOU, B.; ZHOU, S.; CHEN, M.; WANG, Y.; LI, W. Inclusion Complexes of Cypermethrin and Permethrin with Monochlorotriazinyl-Beta-Cyclodextrin: A Combined Spectroscopy, TG/DSC and DFT Study. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 117, p. 576–586, jan. 2014b.

YOSHINARI, N. H.; MANTOVANI, E.; BONOLDI, V. L. N.; MARANGONI, R. G.; GAUDITANO, G. Brazilian lyme-like disease or baggio-yoshinari syndrome: exotic and emerging brazilian tick-borne zoonosis. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 363–369, 2010.

ZAMBONI, W. C.; TORCHILIN, V.; PATRI, A.; HRKACH, J.; STERN, S.; LEE, R.; NEL, A.; PANARO, N. J.; GRODZINSKI, P. Best Practices in Cancer Nanotechnology – Perspective from NCI Nanotechnology Alliance. **Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research**, v. 18, n. 12, p. 3229–3241, 15 jun. 2012.

ZHANG, B.; LUO, Y.; WANG, Q. Development of Silver–Zein Composites as a Promising Antimicrobial Agent. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 9, p. 2366–2375, 13 set. 2010.

ZHANG, B.; LUO, Y.; WANG, Q. Effect of acid and base treatments on structural, rheological, and antioxidant properties of  $\alpha$ -zein. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 210–220, 1 jan. 2011.

ZHANG, D.; WANG, C.; ZHANG, L.; XU, D.; LIU, B.; ZHOU, Q.; WU, Z. Structural and metabolic responses of microbial community to sewage-borne chlorpyrifos in constructed wetlands. **Journal of Environmental Sciences**, v. 44, p. 4–12, 1 jun. 2016.

ZHANG, Y.; CUI, L.; CHE, X.; ZHANG, H.; SHI, N.; LI, C.; CHEN, Y.; KONG, W. Zein-based films and their usage for controlled delivery: Origin, classes and current landscape. **Journal of Controlled Release**, v. 206, p. 206–219, 28 maio 2015.

ZHANG, Y.; NIU, Y.; LUO, Y.; GE, M.; YANG, T.; YU, L. (Lucy); WANG, Q. Fabrication, Characterization and Antimicrobial Activities of Thymol-Loaded Zein Nanoparticles Stabilized by Sodium Caseinate–Chitosan Hydrochloride Double Layers. **Food Chemistry**, v. 142, p. 269–275, jan. 2014.