

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
Tese será disponibilizado somente a
partir de 04/12/22.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**NANOTECNOLOGIA APLICADA À ELABORAÇÃO DE
CARRAPATICIDAS SINTÉTICOS ASSOCIADOS A
COMPOSTOS VEGETAIS PARA O CONTROLE
DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

**Amanda Figueiredo
Médica Veterinária**

2020

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**NANOTECNOLOGIA APLICADA À ELABORAÇÃO DE
CARRAPATICIDAS SINTÉTICOS ASSOCIADOS A
COMPOSTOS VEGETAIS PARA O CONTROLE
DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

Amanda Figueiredo

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina de Souza Chagas

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (área de Medicina Veterinária Preventiva).

2020

F475n Figueiredo, Amanda
Nanotecnologia aplicada à elaboração de carrapaticidas sintéticos associados a compostos vegetais para o controle de Rhipicephalus (Boophilus) microplus / Amanda Figueiredo. -- Jaboticabal, 2020
125 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Ana Carolina de Souza Chagas
Coorientadora: Leonardo Fernandes Fraceto

1. Carrapato. 2. Resistência à drogas. 3. Compostos bioativos. 4. Nanopartículas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: NANOTECNOLOGIA APLICADA À ELABORAÇÃO DE CARRAPATICIDAS
SINTÉTICOS ASSOCIADOS A COMPOSTOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DE
Rhipicephalus (Boophilus) microplus

AUTORA: AMANDA FIGUEIREDO

ORIENTADORA: ANA CAROLINA DE SOUZA CHAGAS

COORIENTADOR: LEONARDO FERNANDES FRACETO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA
VETERINÁRIA, área: Medicina Veterinária Preventiva pela Comissão Examinadora:

Ana Carolina Chagas

Pesquisadora Dra. ANA CAROLINA DE SOUZA CHAGAS (Participação Virtual)
EMBRAPA / São Carlos/SP

Ana Carolina Chagas PI

Dr. JHONES LUIZ DE OLIVEIRA (Participação Virtual)
Unesp - ICT Sorocaba

Ana Carolina Chagas PI

Profa. Dra. DARCI MORAES BARROS-BATTESTI (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV-UNESP / Câmpus de Jaboticabal

Ana Carolina Chagas PI

Dr. WILLIAN GIQUELIN MACIEL (Participação Virtual)
CPPAR / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Ana Carolina Chagas PI

Pesquisador Dr. ALESSANDRO PELEGRINE MINHO (Participação Virtual)
Departamento Sanidade Animal/Embrapa Pecuária Sudeste-CPPSE / São Carlos/SP

Jaboticabal, 03 de dezembro de 2020

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

AMANDA FIGUEIREDO – nascida em 09 de abril de 1989 em Londrina-PR. Médica Veterinária graduada pela Universidade Estadual do Norte do Paraná – UENP, Campus Luiz Meneghel, Bandeirantes-PR, em julho de 2014. Durante a graduação, foi aluna de Iniciação Científica pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (modalidades PIBIC e PIBIC voluntário), sob a orientação da Profa. Dra. Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto, com a monografia intitulada: “Aplicação de *Cymbopogon winterianus* Jowitt e *Azadirachta indica* A. Juss no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*”. A titulação de Mestre foi obtida pelo Programa de Pós-Graduação (PPG) em Medicina Veterinária (área de Medicina Veterinária Preventiva) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Jaboticabal-SP, em fevereiro de 2017, sob a orientação da Profa. Dra. Ana Carolina de Souza Chagas, mediante a dissertação: “Avaliação dos efeitos de princípios fitoterápicos e homeopáticos no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e comparação de técnicas para estimativa de eclosão de larvas *in vitro*”. Durante o mestrado foi bolsista CNPq e a partir dos estudos desenvolvidos, três artigos foram publicados: “*In vivo* study of a homeopathic medicine against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in dairy cow”, “First report of the effect of *Ocotea elegans* essential oil on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*”; e “Comparative study of hatching estimation methods of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* eggs”. Em março de 2017 ingressou no curso Doutorado pelo mesmo PPG e sob a mesma orientação, recebeu auxílio da empresa Ipanema Ltda., posteriormente do CNPq, até a aprovação da bolsa FAPESP. A pesquisa desenvolvida durante esse período gerou a tese de doutorado aqui apresentada, a qual segue as linhas de pesquisa da graduação e do mestrado, buscando alternativas para o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos.

EPÍGRAFE

Há na vida momentos privilegiados nos quais parece que o Universo se ilumina, que a nossa vida nos revela sua significação, que nós queremos o destino mesmo que nos coube como se nós próprios o tivéssemos escolhido. Depois o Universo volta a fechar-se, tornamo-nos novamente solitários e miseráveis, já não caminhamos senão tateando por um caminho obscuro onde tudo se torna obstáculo a nossos passos. A sabedoria consiste em conservar a lembrança desses momentos fugitivos, em saber fazê-los reviver e fazer deles a trama da nossa existência cotidiana e, por assim dizer, a morada habitual do nosso espírito.

Louis Lavelle

DEDICATÓRIA

Ao Pai Celestial
e aos *meus pais*,
pelo eterno amor por mim,
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Pai Celestial, por me proporcionar força e coragem para ir à luta de cada dia, iluminar a minha inteligência e vontade de vencer. Sou grata por ter me permitido chegar até aqui. À Nossa Mãe Santíssima, por me conceder infinitas graças. À Sta. Teresinha do Menino Jesus e à Sto. Padre Pio que, além de serem minhas maiores fontes de inspiração de vida, já me deram sinais concretos de que intercedem por mim.

Aos meus pais, Sidnei Figueiredo e Maria do Carmo Figueiredo, que sempre estiveram ao meu lado proporcionando crescimento, suporte espiritual e incentivo. Sou grata por todos os esforços, principalmente nesse último ano do doutorado. Aos meus irmãos (Lucas Figueiredo e Francisco Figueiredo Netto) e cunhadas (Evelin Paiva Figueiredo e Gisele Durigon Figueiredo), pelo carinho, torcida e apoio para a finalização desse curso; E aos meus sobrinhos (Vicente Durigon Figueiredo e Mário Durigon Figueiredo) que, a cada sorriso, trazem mais alegria para as nossas vidas.

A todos os meus familiares, em especial à minha avó materna Maria Correia dos Santos que, aos seus 93 anos de idade, reza o terço todos os dias e sempre me inclui em suas orações. Às minhas tias Belinha dos Santos, Clarice dos Santos e Olga Watanabe (do coração) a quem devo gratidão, pelo carinho e por sempre terem me ajudado muito, e à minha prima Mirian dos Santos Calmezini, pelo companheirismo.

Às minhas queridas amigas Kacieli Villa e Tauana Fernandes Francisco, pelo imenso carinho, pelas vibrações positivas e por terem compreendido os motivos da minha ausência nesses últimos anos de estudo. À minha querida amiga Nayara Ferraro Correa (*in memoriam*), que partiu há poucos dias, por ter me proporcionado momentos tão doces na infância, e a quem fiquei devendo uma visita. Espero reencontrá-la um dia com a mesma alegria de sempre.

Aos meus queridos amigos Lucas Alves da Silva, Ana Cristina Santos Lopes, Caroline Barbosa Lima, Elka Machado Ferreira, com os quais sempre pude contar com palavras de apoio, orações, incentivo, conselhos e presença constante em minha vida, apesar da distância.

Aos meus amigos Claudiney Victor Bastos e sua esposa Sandra, pelo carinho, acolhida e, sobretudo, orações.

Aos meus queridos amigos de faculdade Barbara Cristina Boelman Verburg, Tainá Rodrigues dos Santos e Angélica Laís Sarmento, pelo carinho, compreensão da minha distância e torcida pela conclusão desse curso. Em especial, ao Fausto de Almeida Marinho Neto que me acolheu e ajudou muito durante o período em que morei em Jaboticabal para a realização de etapas desse curso na Universidade.

Às queridas amigas que conheci em Jaboticabal, Karina Kamachi Kobashigawa (que sempre me acolheu com muito carinho, pela disposição em me ajudar e fazer tudo o que estava ao seu alcance para me ver bem) e à Paloma do Espírito Santo Silva (que, apesar da distância, sempre me acolheu com o mesmo carinho, me ajudou muito e, inclusive, permitiu que eu adotasse a sua mãe).

À Maria Teresa Moretti (mãe da Paloma), que se tornou uma grande amiga com quem sempre pude contar em São Carlos. Sou grata pelo carinho, pela disposição em me ajudar, por ter me proporcionado ótimos momentos em sua companhia e conversas construtivas, além de ter me incentivado muito na conclusão desse curso.

Ao meu querido professor Mauro Pacífico, por sempre ter me motivado, principalmente quando eu mais precisei. Ao meu querido amigo Gilberto Teixeira Matado, com quem sempre pude contar em tudo. Sou muito grata.

À minha orientadora da graduação e amiga Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto, por todo incentivo e apoio oferecido sempre. Sem ela eu não teria iniciado esta jornada.

Ao meu querido professor e amigo Gilson Pereira de Oliveira, pelo carinho, disposição e prontidão em me ajudar em tudo.

Ao meu querido amigo Tiago Maretti Gonçalves, com quem sempre pude contar, o qual esteve ao meu lado quando eu mais precisei, me motivando, me dando suporte, aconselhando, muitas vezes me fazendo acreditar em mim mesma e tornando minha vida mais leve com a sua alegria contagiante.

Aos meus colegas e companheiros da Embrapa Rodrigo Giglioti, Isabella Barbosa dos Santos, Yousmel Alemán Gainza, Marei Borsch von Haehling, Naiana Barbosa Dinato, Louyse Gabrielli Lopes, Luciana Aparecida Giraldele, João Henrique Barbosa Toscano, Alessandra da Silva Nucci, Leonardo Aparecido Lima dos Santos,

Gustavo Avelar Sousa, Luís Adriano Anholetto e Rafaela Regina Fantatto, que muito me ajudaram no decorrer desse curso.

À todos os servidores da Embrapa Pecuária Sudeste – CPPSE, em especial ao Gilberto César Agostinho, Verônica Schinaider do Amaral, Dra. Teresa Cristina Alves, Eduardo Luiz de Oliveira, Leni Rosendo Pinto, Benedito Aparecido da Silva, José Cosme Machado, Jose Carlos Didoné, Márcio Dias Rabelo, Ane Lisye Fiala Garcia Silvestre, Dra. Cíntia Hiromi Okino, Dr. Waldomiro Barioni Júnior, Natal Sylvestre, Dra. Márcia Cristina de Sena Oliveira, Silvia Helena Piccirillo Sanchez, Dr. Alexandre Berndt, Rafael Rosendo, Valdemir Rosendo, Dr. João Oiano Neto, Dr. Gilberto Batista de Souza, Juliana Gonçalves Costa, Dra. Flavia Aline Bressani Donatoni, Dr. Sérgio Novita Esteves, Dr. Wilson Malagó Júnior, Dr. Alessandro Pelegrine Minho, pela colaboração, disposição em me ajudar e por toda atenção à mim dispensada.

Ao Diego Faria Cola e à Patrícia Luiza de Freitas Proença, pela parceria, colaboração, e por estarem sempre dispostos a me ensinar e ajudar.

Em especial, à Dra. Ana Carolina de Souza Chagas, pela oportunidade concedida, por ter acreditado no meu potencial para a realização desse curso, pela orientação, conhecimento transmitido, pela consideração, carinho, paciência e, principalmente, por ter me proporcionado crescimento pessoal. Sem ela eu definitivamente não teria chegado até aqui.

Ao Dr. Leonardo Fernandes Fraceto, pela coorientação e colaboração no projeto desenvolvido. Cabe aqui ressaltar que, diante da indisponibilidade de bolsas de estudo pela Universidade, o Dr. Leonardo e a Dra. Ana Carolina buscaram uma alternativa junto à Empresa Ipanema Ltda. que financiou parte desses estudos. Sou muito grata.

À Embrapa Pecuária Sul – CPPSul e à Dra. Cláudia Cristina Gulias Gomes, pela gentileza em ceder larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* para parte da realização deste trabalho.

À Embrapa Gado de Leite e, em especial, à Dra. Marcia Cristina de Azevedo Prata, pela gentileza de realizar Testes de Sensibilidade de Carrapatos a Carrapaticidas, colaborando com esse estudo.

À Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Campus de Jaboticabal e Campus de Sorocaba, pela infraestrutura disponibilizada para a

realização das diversas etapas desse curso de doutorado, bem como aos seus servidores, pelo atendimento e serviços prestados.

À Empresa Pecuária Sudeste – CPPSE, por ter disponibilizado toda a infraestrutura necessária para a realização da parte experimental deste estudo.

À Empresa Ipanema Ltda., pela concessão de dez meses de bolsa de estudos, o que foi um grande suporte até serem disponibilizadas por um órgão de fomento.

Ao Conselho de Desenvolvimento Nacional Científico – CNPq, pela concessão de seis meses de bolsa de estudos (Processo nº: 169777/2017-0).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão de trinta e dois meses de bolsa de estudos (Processo nº: 2017/13249-8), além dos recursos da reserva técnica, o que viabilizou parte considerável dos experimentos e a minha ida aos Estados Unidos para a apresentação de um trabalho referente a estes estudos.

Aos membros da banca, Dra. Darci Moraes Barros-Battesti, Dr. Willian Giquelin Maciel, Dr. Jhones Luiz de Oliveira e Dr. Alessandro Pelegrine Minho, que prontamente aceitaram o convite e se dispuseram a colaborar e contribuir para o resultado final desta tese de doutorado.

Por último, mas não menos importante, agradeço a todos os brasileiros que pagam seus impostos, permitindo, dessa forma, o investimento em estudos como este.

Muito obrigada!

Sumário

Certificado do Comitê de Ética	iv
RESUMO.....	v
Palavras-chave.....	vi
ABSTRACT	vii
Keywords.....	viii
Lista de Abreviaturas.....	ix
Lista de Tabelas	xi
Lista de Figuras.....	xii
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais.....	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	2
2.1 <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> e consequências de seu parasitismo	2
2.2 Controle do carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>	7
2.2.1 Cipermetrina	7
2.2.2 Clorpirifós.....	9
2.2.3 Compostos vegetais (citrál, mentol e limoneno).....	10
2.3 Período de carência	12
2.4 Resíduos carrapaticidas.....	14
2.5 Resistência de <i>Rhipicephalus microplus</i> frente aos carrapaticidas.....	14
2.6 Associação de princípios ativos	15
2.7 Nanotecnologia e nanocarreadores	17
2.7.1 Nanocarreadores lipídicos	19
2.7.2 Nanopartículas de zeína	23
REFERÊNCIAS	25
CAPÍTULO 2 - Uso de nanocarreadores lipídicos no desenvolvimento de nanoformulações para controle de larvas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> ..	41
Resumo.....	41
Palavras-chave	42
1. Introdução	42
2. Material e Métodos.....	44
2.1 Local e condições experimentais	44
2.2 Reagentes.....	44
2.3 Preparo de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) e de Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN)	44
2.4 Quantificação dos princípios ativos e Determinação da Eficiência de	

encapsulação	46
2.5 Caracterização das nanopartículas	47
2.5.1 Medidas de Diâmetro, Polidispersão e Potencial Zeta por	47
2.5.2 Medidas de Distribuição de Tamanho e Concentração das partículas por	47
2.5.3 Estabilidade lipídica (pH)	48
2.6 Diluições para o teste <i>in vitro</i> sobre <i>Rhipicephalus microplus</i>	48
2.6.1 Nanoformulações	48
2.6.2 Controle positivo	48
2.7 Teste de Pacote de larvas (TPL).....	49
2.8 Análises estatísticas.....	50
3. Resultados	50
3.1 Caracterização e estabilidade das formulações de nanopartículas lipídicas ...	50
3.2 Teste de Pacote de Larvas (TPL)	57
4. Discussão.....	58
Conclusões	63
Agradecimentos	64
Referências.....	64
CAPÍTULO 3 - Nanopartículas de zeína em formulações carrapaticidas para controle de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	72
Resumo.....	72
Palavras-chave	73
1. Introdução	73
2. Material e Métodos.....	74
2.1 Local e condições experimentais	74
2.2 Reagentes.....	74
2.3 Preparo das Nanopartículas de Zeína (NZ)	75
2.4 Quantificação dos princípios ativos e Determinação da Eficiência de encapsulação	76
2.5 Caracterização das nanopartículas.....	77
2.5.1 Medidas de Diâmetro, Polidispersão e Potencial Zeta por	77
2.5.2 Medidas de Distribuição de Tamanho e Concentração das partículas por	77
S	77
2.5.3 Estabilidade lipídica (pH)	78
2.6 Diluições para os testes <i>in vitro</i> sobre <i>Rhipicephalus microplus</i>	78
2.6.1 Nanoformulações de zeína	78
2.6.2 Controle positivo	78

2.7 Testes <i>in vitro</i> com as nanoformulações sobre <i>Rhipicephalus microplus</i>	79
2.7.1 Teste de Pacote de Larvas (TPL)	79
2.7.2 Atividade residual verificada por TPL.....	79
2.7.3 Teste de Imersão de Adultos (TIA)	80
2.8 Análises estatísticas.....	80
3. Resultados	81
3.1 Caracterização e estabilidade das formulações de nanopartículas de zeína... 81	
3.2 Teste de Pacote de Larvas (TPL)	85
3.3 Atividade residual verificada por Teste de Pacote de Larvas (TPL).....	87
3.4 Teste de Imersão de Adultos (TIA)	88
4. Discussão	89
Conclusões	93
Agradecimentos	93
Referências.....	93
CAPÍTULO 4 - Considerações finais	100

Certificado do Comitê de Ética



Pecuária Sudeste

CERTIFICADO

PRT N° 01/2019

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado: **Desenvolvimento de métodos alternativos para controle de ectoparasitos de interesse veterinário**, registrado com o nº 01/2019 sob a responsabilidade do pesquisador científico Alessandro Pelegrine Minho, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE.

São Carlos, 18 de junho de 2019

Dra. Márcia Cristina de Sena Oliveira
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Embrapa Pecuária Sudeste

Reunião de 18/06/2019

Finalidade	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/07/2019 a 31/03/2022
Espécie/linhagem/raça	<i>Bos taurus</i> raça <i>Holandesa</i>
N° de animais	34
Peso/Idade	200-300 kg
Sexo	Machos
Origem	Embrapa Pecuária Sudeste

**NANOTECNOLOGIA APLICADA À ELABORAÇÃO DE CARRAPATICIDAS
SINTÉTICOS ASSOCIADOS A COMPOSTOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DE
*Rhipicephalus (Boophilus) microplus***

RESUMO – *Rhipicephalus microplus* causa quedas na produção e consequentes prejuízos econômicos à pecuária. A resistência aos acaricidas e o risco da presença de resíduos nos alimentos de origem animal têm impulsionado a busca por novas alternativas de controle. Vários compostos vegetais possuem potencial acaricida/repelente, porém, possuem limitações em sua aplicação. Nanocarreadores podem proteger esses compostos, aumentar sua solubilidade aquosa e biodisponibilidade, além de reduzir possíveis efeitos tóxicos. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi desenvolver formulações carrapaticidas a partir de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS), Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN) e Nanopartículas de Zeína (NZ), associados à cipermetrina, clorpirifós e um composto vegetal (cital, mentol ou limoneno), caracterizar esses sistemas nanocarreadores e verificar sua atuação contra larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*. Nove formulações foram desenvolvidas e caracterizadas por Dynamic Light Scattering (DLS) e Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). As formulações 1 (NLS+cip+clo+cital), 2 (NLS+cip+clo+mentol), 3 (NLS+cip+clo+limoneno), 4 (CLN+cip+clo+cital), 5 (CLN+cip+clo+mentol) e 6 (CLN+cip+clo+limoneno) obtiveram médias de diâmetro de 286 a 304 nm; polidispersão de 0,16 a 0,18; potencial zeta de -15,8 a -20 mV, concentração de $3,37 \pm 0,24 \times 10^{13}$ a $5,44 \pm 0,18 \times 10^{13}$ partículas/mL; e Eficiência de Encapsulação (EE) > 98,01% para todos os princípios ativos, enquanto, para os mesmos parâmetros, as formulações de zeína NZ-1 (NZ+cip+clo+cital), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno) obtiveram, respectivamente, valores médios de: 282,18 a 290,64 nm; 0,24 a 0,25; -3,35 a -6,10 mV; e concentração de $2,73 \pm 2,67 \times 10^{13}$ a $3,20 \pm 3,03 \times 10^{13}$ partículas/mL e EE > 96%. Todas as formulações foram avaliadas quanto ao seu potencial acaricida e comparadas com controles positivo (Colosso®) e negativos (água destilada; e nanopartículas sem princípio ativo). Na avaliação das formulações de nanocarreadores lipídicos, pelo Teste de Pacote de Larvas (TPL), os controles negativos não ocasionaram mortalidade das larvas, enquanto o controle positivo, avaliado na concentração de $0,512 \text{ mg.mL}^{-1}$, causou 100% de mortalidade. As formulações de NLS 1, 2, 3 e de CLN 4, 5 e 6 foram avaliadas de $0,004$ a $0,466 \text{ mg.mL}^{-1}$. Na concentração de $0,007 \text{ mg.mL}^{-1}$ atingiram 90,4, 75,9, 93,8, 100, 95,1, 72,7 % de mortalidade. Com exceção da 4, para a qual não foi possível determinar concentrações letais (CL), as formulações 1, 2, 3, 5 e 6 resultaram em CL_{50} e CL_{90} de: 0,0033 e 0,0072; 0,0054 e 0,0092; 0,0040 e 0,0081; 0,0023 e 0,0054; 0,0055 e 0,0094 mg.mL^{-1} , respectivamente. Em relação às nanoformulações de zeína avaliadas pelo TPL, os controles negativos também não ocasionaram mortalidade das larvas, entretanto, o controle positivo (avaliado de $0,004$ a $0,512 \text{ mg.mL}^{-1}$), resultou em mortalidade de larvas > 71,9% na concentração de $0,064 \text{ mg.mL}^{-1}$, enquanto as formulações de zeína (avaliadas de $0,004$ a $0,466 \text{ mg.mL}^{-1}$) ocasionaram mortalidade > 80 % na concentração de $0,029 \text{ mg.mL}^{-1}$. Essas formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+cital), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno) ainda resultaram em altas taxas de mortalidade de larvas em menores concentrações, com CL_{50} e CL_{90} de: 0,0136 e 0,0352; 0,0115 e 0,0386; 0,0117 e 0,0301 mg.mL^{-1} , respectivamente, e 0,0319 e 0,1028 mg.mL^{-1} ,

respectivamente, para o controle positivo). As formulações de zeína foram também avaliadas pelo Teste de Imersão de Adultos (TIA) e as formulações NZ-1, NZ-2 e NZ-3 obtiveram, respectivamente: 50,2, 40,5 e 60,1% de eficácia sobre fêmeas ingurgitadas na concentração de $0,466 \text{ mg.mL}^{-1}$, enquanto o controle positivo resultou em 39,4% de eficácia a $0,512 \text{ mg.mL}^{-1}$. As formulações de zeína ainda apresentaram uma alta atividade residual, embora menor do que a do controle positivo. Esse estudo demonstrou que foi possível encapsular os princípios ativos priorizados e caracterizar os sistemas carreadores. Todas as nanoformulações foram capazes de proteger os princípios ativos contra a degradação em solução, o que é uma característica de estabilidade visada para produtos carrapaticidas comerciais. Dessa forma, nanoformulações podem ser uma alternativa para o desenvolvimento de novos biocarrapaticidas com menor quantidade de princípios ativos, visando-se promover um controle parasitário mais seguro, com menor risco de presença de resíduos nos alimentos de origem animal e no ambiente.

Palavras-chave: carrapato bovino, resistência, cipermetrina, clorpirifós, fitoterapia, sistemas nanocarreadores, segurança alimentar

**NANOTECHNOLOGY APPLIED TO DEVELOPMENT OF SYNTHETIC
ACARICIDES ASSOCIATED WITH PLANTS COMPOUNDS FOR THE
Rhipicephalus (Boophilus) microplus CONTROL**

ABSTRACT – *Rhipicephalus microplus* causes declines in cattle production and consequent damage to livestock. The resistance of ticks and the risk of the presence of residues in food of animal origin have driven the search for new control alternatives. Several plant compounds have an acaricidal/repellent potential, however, they have limitations in their application. Nanocarriers can protect these compounds, increase their aqueous solubility and bioavailability, and reduce possible toxic effects. Thus, the objective of this study was to develop acaricide formulations from Solid Lipid Nanoparticles (NLS), Nanostructured Lipid Carriers (CLN) and Zein Nanoparticles (NZ), associated with cypermethrin (cip), chlorpyrifos (clo) and a plant compound (citral, menthol or limonene), characterize these nanocarrier systems and verify their performance against larvae and engorged females of *R. microplus*. Nine formulations were developed and characterized by Dynamic Light Scattering (DLS) and Nanoparticle Tracking Analysis (NTA). The formulations 1 (NLS+cip+clo+citral), 2 (NLS+cip+clo+menthol), 3 (NLS+cip+clo+limonene), 4 (CLN+cip+clo+citral), 5 (CLN+cip+clo+menthol) and 6 (CLN+cip+clo+limonene) obtained mean diameters from 286 to 304 nm; polydispersion from 0.16 to 0.18; zeta potential from -15.8 to -20 mV, concentration from $3.37 \pm 0.24 \times 10^{13}$ to $5.44 \pm 0.18 \times 10^{13}$ particles/mL; and Encapsulation Efficiency (EE) > 98.01% for all active ingredients, while, for the same parameters, zein formulations NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+menthol) and NZ-3 (NZ+cip+clo+limonene) obtained, respectively, mean values of: 282.18 to 290.64 nm; 0.24 to 0.25; -3.35 to -6.10 mV; concentration of $2.73 \pm 2.67 \times 10^{13}$ to $3.20 \pm 3.03 \times 10^{13}$ particles/mL and EE > 96%. All formulations were evaluated for their acaricidal potential and compared with positive (Colosso[®]) and negative (distilled water; and nanoparticles without active ingredient) controls. In the evaluation of lipid nanocarrier formulations, by the Larval Pack Test (TPL), the negative controls did not cause mortality of the larvae, while the positive control, evaluated at the concentration of 0.512 mg.mL^{-1} , caused 100% mortality. The formulations of NLS 1, 2, 3 and CLN 4, 5 and 6 were evaluated from 0.004 to 0.466 mg.mL^{-1} . At the concentration of 0.007 mg.mL^{-1} they reached 90.4, 75.9, 93.8, 100, 95.1, 72.7% of mortality. With the exception of 4, for which it was not possible to determine lethal concentrations (CL), formulations 1, 2, 3, 5 and 6 resulted in CL₅₀ and CL₉₀ of: 0.0033 and 0.0072; 0.0054 and 0.0092; 0.0040 and 0.0081; 0.0023 and 0.0054; 0.0055 and 0.0094 mg.mL^{-1} , respectively. Regarding the zein nanoformulations evaluated by the TPL, the negative controls also did not cause mortality of the larvae, however, the positive control (evaluated from 0.004 to 0.512 mg.mL^{-1}), resulted in larval mortality > 71.9% in the concentration 0.064 mg.mL^{-1} , while zein formulations (evaluated from 0.004 to 0.466 mg.mL^{-1}) caused mortality > 80% in the concentration of 0.029 mg.mL^{-1} . These formulations NZ-1 (NZ + cip + clo + citral), NZ-2 (NZ + cip + clo + menthol) and NZ-3 (NZ + cip + clo + limonene) still resulted in high larval mortality rates in lower concentrations, with LC₅₀ and LC₉₀ of: 0.0136 and 0.0352; 0.0115 and 0.0386; 0.0117 and $0.0301 \text{ mg.mL}^{-1}$, respectively, and 0.0319 and $0.1028 \text{ mg.mL}^{-1}$, respectively, for the positive control). The zein formulations were also evaluated by the Adult Immersion

Test (TIA) and the formulations NZ-1, NZ-2 and NZ-3 obtained, respectively: 50.2, 40.5 and 60.1% efficacy on engorged females at a concentration of 0.466 mg.mL^{-1} , while the positive control resulted in 39.4% efficacy at $0.512 \text{ mg. mL}^{-1}$. The zein formulations still showed a high residual activity, although less than that of the positive control. This study demonstrated that it was possible to encapsulate the prioritized active ingredients and characterize the carrier systems. All nanoformulations were able to protect the active ingredients against degradation in solution, which is a characteristic of stability aimed at commercial tick products. Thus, nanoformulations can be an alternative for the development of new biocarpathicides with less active ingredients, aiming to promote safer parasitic control, with less risk of the presence of residues in food of animal origin and in the environment.

Keywords: bovine tick, resistance, cypermethrin, chlorpyrifos, phytotherapy, nanocarrier systems, food security

Lista de Abreviaturas

AChE: Acetilcolinesterase

ACh: Acetilcolina

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATPase: Adenosinatrifosfatases

BHC: Benzeno hexaclorado

CEPEA: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada-Esalq/Usp

CEUA: Comitê de Ética no Uso dos Animais

Cip: Cipermetrina

CL: Concentração Letal

CLAE: Cromatografia líquida de alta eficiência

CLN: Carreadores Lipídicos Nanoestruturados

Clo: Clorpirifós

CNA: Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil

CPPSE: Centro de Pesquisa Pecuária Sudeste

CT: concentração

DDT: Dicloro difenil tricloroetano

DL: Dose letal

DLS: Dynamic Light Scattering (Espectroscopia de correlação de fótons)

E: eclosão

EE: Eficiência de encapsulação

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)

FDA: Food and Drug Administration

Form.: formulação

FS: Fator de sinergismo

GABA: Ácido gama-aminobutírico

IPD: índice de polidispersão

LD: Limite de Detecção

LMR: Limite Máximo de Resíduos

Log P: logaritmo P (coeficiente de partição)

LQ: Limite de Quantificação

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MD: médias de diâmetro

MET: Microscopia Eletrônica de Transmissão

NLS: Nanopartículas Lipídicas Sólidas

NTA: Nanoparticle Tracking Analysis (Análise de Rastreamento de Nanopartículas)

NZ: Nanopartícula de Zeína

OCDE: Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development

P: partição

PF: peso das fêmeas ingurgitadas

PIB: Produto Interno Bruto

PO: peso dos ovos

PVA: Poli álcool vinílico

PZ: potencial zeta

(r): Coeficiente de correlação de Pearson

R. microplus: *Rhipicephalus microplus*

Ref: Referência

sCMOS: Scientific Complementary metal - oxide - semiconductor

spp: Espécies

TIA: Teste de imersão de adultos

TPL: Teste de Pacote de Larvas

UR: umidade relativa

UV-vis: ultravioleta visível

Lista de Tabelas

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Exemplos de carrapaticidas comerciais do tipo pulverização, sua composição e período de carência para leite, de uso comum sobre vacas em lactação no Brasil.....	13
--	----

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Composição e concentração dos princípios ativos nas formulações de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) e de Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN) ao final do preparo (para caracterização e avaliação de estabilidade), em comparação com o produto comercial.	45
Tabela 2. Condições analíticas utilizadas para quantificação dos princípios ativos por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).	46
Tabela 3. Composição e concentração dos princípios ativos nas formulações de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) e de Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN) após a diluição para o teste sobre larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , em comparação com o produto comercial.	49
Tabela 4. Médias de eficácia das formulações de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) e de Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN) em relação à mortalidade (%) das larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> pelo Teste de Pacote de Larvas (TPL).	57

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Composição e concentração dos princípios ativos nas formulações de Nanopartículas de Zeína (NZ) ao final do preparo (para caracterização e avaliação de estabilidade), em comparação com o produto comercial.	75
Tabela 2. Condições analíticas utilizadas para quantificação dos princípios ativos por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).	76
Tabela 3. Composição e concentração dos princípios ativos nas formulações de Nanopartículas de Zeína (NZ) após a diluição para os testes sobre <i>Rhipicephalus microplus</i> , em comparação com o produto comercial.	79
Tabela 4. Médias de eficácia das formulações de Nanopartículas de Zeína (NZ) e do controle positivo em relação às mortalidades de larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> em 24 horas pelo Teste de Pacote de Larvas (TPL).....	86
Tabela 5. Médias de peso das fêmeas ingurgitadas (PF), peso dos ovos (PO), % de eclosão das larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> , Índice de Eficiência Reprodutiva (IER) e Eficácia das formulações de Nanopartículas de Zeína (NZ) e do controle positivo pelo Teste de Imersão de Adultos (TIA).	88

Lista de Figuras

CAPÍTULO 1

Figura 1. <i>Rhipicephalus microplus</i> parasitando região caudal (membros posteriores e inserção posterior do úbere) de um bovino, espécie pela qual tem predileção. Fonte: Autor.	3
Figura 2. Fêmea e macho adultos (vista dorsal) de <i>Rhipicephalus microplus</i> . Fonte: Autor.	4
Figura 3. Representação do ciclo de vida do carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i> . Fonte: Autor.	4
Figura 4. Fêmea de <i>Rhipicephalus microplus</i> realizando ovipostura. Nesse período, apresenta coloração amarelada. Fonte: Autor.	5
Figura 5. Larvas de <i>Rhipicephalus microplus</i> na vegetação. Fonte: Autor.	6
Figura 6. Bovino infestado por <i>Rhipicephalus microplus</i> . A) Região de pescoço; B) pavilhão auricular. O local de inserção dos parasitas geralmente apresenta lesões de pele e alopecia. Fonte: Autor.	6
Figura 7. Fórmula estrutural da cipermetrina. Fonte: Anvisa (2020).	8
Figura 8. Fórmula estrutural do clorpirifós. Fonte: Anvisa (2020).	9
Figura 9. Fórmula estrutural do citral. Fonte: Sigma Aldrich (2020).	10
Figura 10. Fórmula estrutural do mentol. Fonte: Sigma Aldrich (2020).	11
Figura 11. Fórmula estrutural do limoneno. Fonte: Sigma Aldrich (2020).	11
Figura 12. Micrografias de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) com aumento de 27800 vezes, obtidas por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET). A) NLS contendo ivermectina; B) NLS contendo metopreno. Fonte: Adaptado de Cola et al. (2016).	20
Figura 13. Micrografias de Carreadores lipídicos nanoestruturados (CLN) com aumento de 27800 vezes, obtidas por MET. A) CLN contendo ivermectina; B) CLN contendo metopreno. Fonte: Adaptado de Cola et al. (2016).	21
Figura 14. Micrografias de Nanopartículas de zeína (NZ) obtidas por MET. A) Citral encapsulado em NZ com núcleo único; B) Citral encapsulado em NZ com múltiplos núcleos. Fonte: Adaptado de Su (2012).	24

CAPÍTULO 2

Figura 1. Médias de diâmetro das partículas. A) NLS, formulações 1 (NLS+cip+clo+citral), 2 (NLS+cip+clo+mentol) e 3 (NLS+cip+clo+limoneno); B) CLN, formulações 4 (CLN+cip+clo+citral), 5 (CLN+cip+clo+mentol) e 6 (CLN+cip+clo+limoneno). NLS = Nanopartículas Lipídicas Sólidas; CLN = Carreadores Lipídicos Nanoestruturados; cip = cipermetrina (1,875 mg.mL ⁻¹); clo = clorpirifós (3,125 mg.mL ⁻¹); citral, mentol, limoneno (0,125 mg.mL ⁻¹).	51
Figura 2. Polidispersão média das partículas. A) NLS, formulações 1 (NLS+cip+clo+citral), 2 (NLS+cip+clo+mentol) e 3 (NLS+cip+clo+limoneno); B) CLN, formulações 4 (CLN+cip+clo+citral), 5 (CLN+cip+clo+mentol) e 6 (CLN+cip+clo+limoneno). NLS = Nanopartículas Lipídicas Sólidas; CLN = Carreadores Lipídicos Nanoestruturados; cip = cipermetrina (1,875 mg.mL ⁻¹); clo = clorpirifós (3,125 mg.mL ⁻¹); citral, mentol, limoneno (0,125 mg.mL ⁻¹).	52

- Figura 3. Médias de Potencial Zeta das partículas. A) NLS, formulações 1 (NLS+cip+clo+citral), 2 (NLS+cip+clo+mentol) e 3 (NLS+cip+clo+limoneno); B) CLN, formulações 4 (CLN+cip+clo+citral), 5 (CLN+cip+clo+mentol) e 6 (CLN+cip+clo+limoneno). NLS = Nanopartículas Lipídicas Sólidas; CLN = Carreadores Lipídicos Nanoestruturados; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).53
- Figura 4. Médias de distribuição de tamanho das partículas. A) NLS, formulações 1 (NLS+cip+clo+citral), 2 (NLS+cip+clo+mentol) e 3 (NLS+cip+clo+limoneno); B) CLN, formulações 4 (CLN+cip+clo+citral), 5 (CLN+cip+clo+mentol) e 6 (CLN+cip+clo+limoneno). NLS = Nanopartículas Lipídicas Sólidas; CLN = Carreadores Lipídicos Nanoestruturados; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).54
- Figura 5. Concentração média das partículas. A) NLS, formulações 1 (NLS+cip+clo+citral), 2 (NLS+cip+clo+mentol) e 3 (NLS+cip+clo+limoneno); B) CLN, formulações 4 (CLN+cip+clo+citral), 5 (CLN+cip+clo+mentol) e 6 (CLN+cip+clo+limoneno). NLS = Nanopartículas Lipídicas Sólidas; CLN = Carreadores Lipídicos Nanoestruturados; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).55
- Figura 6. Valores médios de pH. A) NLS, formulações 1 (NLS+cip+clo+citral), 2 (NLS+cip+clo+mentol) e 3 (NLS+cip+clo+limoneno); B) CLN, formulações 4 (CLN+cip+clo+citral), 5 (CLN+cip+clo+mentol) e 6 (CLN+cip+clo+limoneno). NLS = Nanopartículas Lipídicas Sólidas; CLN = Carreadores Lipídicos Nanoestruturados; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).56

CAPÍTULO 3

- Figura 1. Diâmetro médio das NZ e das formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno) obtido por DLS. NZ = Nanopartículas de zeína; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).81
- Figura 2. Polidispersão média das NZ e das formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno). NZ = Nanopartículas de zeína; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).82
- Figura 3. Potencial Zeta médio das NZ e das formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno). NZ = Nanopartículas de zeína; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).83
- Figura 4. Distribuição de tamanho médio das NZ e das formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno). NZ = Nanopartículas de zeína; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).83
- Figura 5. Concentração média das NZ e das formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno). NZ = Nanopartículas de zeína; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).84

Figura 6. Valores médios de pH das NZ e das formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno). NZ = Nanopartículas de zeína; cip = cipermetrina ($1,875 \text{ mg.mL}^{-1}$); clo = clorpirifós ($3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$); citral, mentol, limoneno ($0,125 \text{ mg.mL}^{-1}$).....85

Figura 7. Atividade residual das formulações e do controle positivo, a partir das médias de mortalidade de larvas de *Rhipicephalus microplus*, obtidas por TPL realizado em 1, 2, 3, 7, 14, 42 e 49 dias após o primeiro tratamento dos papéis filtro, indicando a persistência de atividade no decorrer do tempo. NZ = Nanopartículas de zeína; cip = cipermetrina; clo = clorpirifós. Formulações NZ-1 (NZ+cip+clo+citral), NZ-2 (NZ+cip+clo+mentol) e NZ-3 (NZ+cip+clo+limoneno) avaliadas a $0,466 \text{ mg.mL}^{-1}$ ($0,125$, $1,875$ e $3,125 \text{ mg.mL}^{-1}$ de composto vegetal, cip e clo, respectivamente); Colosso® avaliado a $0,512 \text{ mg.mL}^{-1}$ ($0,012$, $0,187$ e $0,312 \text{ mg.mL}^{-1}$ de citronelal, cip e clo, respectivamente).87

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. Introdução

De acordo com OCDE-FAO (2020), o Brasil está entre os países que continuarão dominando a produção pecuária nos próximos anos. Do ponto de vista global, há perspectivas de que as produções de leite e carne sejam intensificadas, resultando em forte crescimento para o setor da bovinocultura. A agroindústria tem demonstrado sinais de recuperação da economia desde o segundo semestre de 2017 e o PIB do agronegócio tem se expandido, incluindo o do setor pecuário (Cepea-CNA, 2018; 2020).

Apesar de todos os esforços, entretanto, a pecuária enfrenta dificuldades que impedem um maior desenvolvimento. O parasitismo pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) é considerado um entrave, pois são inúmeros os prejuízos acarretados por esse parasita, incluindo a queda nos desempenhos de produção e a transmissão de hemoparasitas que podem causar Tristeza Parasitária Bovina, doença que ocasiona altas taxas de mortalidade nos rebanhos (Guglielmone et al., 2006; Raynal et al., 2013; Grisi et al., 2014).

O principal método empregado no controle de carrapatos é a utilização de carrapaticidas comerciais, entretanto, devido ao seu uso indiscriminado e falta de orientação técnica, observou-se um aumento dos relatos científicos acerca da resistência de *R. microplus* (Furtado et al., 2013; Raynal et al., 2013; Cruz et al., 2015; Higa et al., 2016). O risco da presença de resíduos de medicamentos nos produtos de origem animal e no meio ambiente é também um fator preocupante, uma vez que pode comprometer a saúde humana e o equilíbrio ambiental (Schwarzenbach et al., 2010; Furtado et al., 2013).

A população tem voltado sua preocupação para a segurança de alimentos, optando por aqueles livres de resíduos tóxicos, o que demonstra a necessidade da busca por alternativas eficientes que garantam o controle de *R. microplus* e sobretudo a segurança dos alimentos de origem animal. Nesse sentido, há décadas têm se pesquisado novas moléculas provenientes de plantas para o controle parasitário (Habeeb, 2010; Chagas et al., 2014; 2016; Figueiredo et al., 2018; Medeiros et al.,

2019; Vinturelle et al., 2021).

A nanotecnologia tende a contribuir para o desenvolvimento de novos sistemas, visando melhorar a estabilidade físico química de compostos vegetais e prevenir a rápida degradação desses compostos. Além disso, pode promover a liberação de um composto ativo para o organismo alvo, liberação controlada das moléculas no local de ação e minimizar efeitos tóxicos indesejáveis em organismos não-alvo (Ghormade et al., 2011; Gogos et al., 2012; Perlatti et al., 2013; Durán e Marcato, 2013).

Nanoformulações a base de compostos com ação repelente podem ser uma opção para controlar *R. microplus* em propriedades leiteiras (Chagas e Rabelo, 2012; Nogueira et al., 2020), sobretudo se associadas a princípios ativos registrados para uso em vacas em lactação. Sistemas nanocarreadores são capazes de transportar moléculas bioativas de forma prolongada, aumentar a eficiência e garantir a liberação do princípio ativo por longo período de tempo, contribuindo para a redução de impactos ambientais (Mogul et al., 1996).

Dessa forma, o objetivo desse estudo foi desenvolver nanoformulações carrapaticidas a partir de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS), Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN) e Nanopartículas de Zeína (NZ), associadas à cipermetrina, clorpirifós e um composto vegetal (cital, mentol ou limoneno), caracterizar e verificar a eficácia dessas nanoformulações contra larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*.

REFERÊNCIAS

Afonso BS, Azevedo AG, Gonçalves C, Amado IR, Ferreira EC, Pastrana LM, Cerqueira MA (2020). Bio-Based nanoparticles as a carrier of β -carotene: production, characterisation and *in vitro* gastrointestinal digestion. **Molecules** 25:4497-4514.

Agnolin CA, Olivo CJ, Parra CLC (2014) Efeito do óleo de capim limão (*Cymbopogon flexuosus* Stapf) no controle do carrapato dos bovinos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** 16:77-82.

Aguirre AAR, Lobo FP, Cunha RC, Garcia MV, Andreotti R (2016) Design of the ATAQ peptide and its evaluation as an immunogen to develop a *Rhipicephalus* vaccine. **Veterinary Parasitology** 221:30-38.

Ahmed MT, Loutfy N, El Shieke E (2002) Residue levels of DDE and PCBs in blood serum of women in Port Said in Egypt. **Journal of Hazardous Materials** 89:41-48.

Altun S, Ozdemir S, Arslan H (2017) Histopathological effects, responses of oxidative stress, inflammation, apoptosis biomarkers and alteration of gene expressions related to apoptosis, oxidative stress, and reproductive system in chlorpyrifos-exposed common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Environmental Pollution** 230:432-443.

Andreotti R (2010) **Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 36 p. (Documento Técnico).

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Índice monográfico das substâncias cipermetrina e clorpirifós**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/C10%2B%2BCipermetrina.pdf/37400888-3f11-44ed-b53f-dea1abacb865?version=1.3>; e em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/C20%2B%2Bclorpirif%25C3%25B3s.pdf/f8ddca3d-4e17-4cea-a3d2-d8c5babe36ae> Acesso em: 22 set. 2020.

Attama AA, Momoh MA, Builders PF (2012) Lipid nanoparticulate drug delivery systems: a revolution in dosage form design and development. In: Sezer, AD (Ed.). **Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems**. 1. ed. Rijeka, Croatia: Intech. 5, p. 107–140. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-novel-drug-carrier-systems/lipid-nanoparticulate-drug-delivery-systems-a-revolution-in-dosage-form-design-and-development>. Acesso em: 16 out. 2020.

Avinash B, Venu R, Raj MA, Rao KS, Srilatha Ch, Prasad TNVKV (2017) *In vitro* evaluation of acaricidal activity of novel green silver nanoparticles against deltamethrin resistance *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology** 237:130-136.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008) Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology** 46:446-475.

Bizzo HR, Hovell AMC, Rezende CM (2009) Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova** 32:588-594.

Bruni N, Stella B, Giraudo L, Pepa CD, Gastaldi D, Dosio F (2017) Nanostructured delivery systems with improved leishmanicidal activity: a critical review. **International Journal of Nanomedicine** 12: 5289-5311.

Camargo MG, Nogueira MRS, Marciano AF, Perinotto WMS, Coutinho-Rodrigues CJB, Scott FB, Angelo IC, Prata MCA, Bittencourt VREP (2016) *Metarhizium anisopliae* for controlling *Rhipicephalus microplus* ticks under field conditions. **Veterinary Parasitology** 223:38-42.

Campos EVR, Oliveira JL, Fraceto LF (2014) Applications of controlled release systems for fungicides, herbicides, acaricides, nutrients, and plant growth hormones: a review. **Advanced Science, Engineering and Medicine** 6:1-15.

Catto JB, Andreotti R, Koller WW (2010) **Atualização sobre o controle estratégico do carrapato-do-boi**. Campo Grande: Embrapa CNPGC, 6 p. (Comunicado Técnico, 123).

CEPEA-CNA – Centro de estudos avançados em economia aplicada, Esalq/Usp, Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (2018). **Boletim Cepea do Agronegócio brasileiro**. Piracicaba: CEPEA-CNA (Boletim, 8). Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Relatorio%20PIBAGRO%20Brasil_MAR%C3%87O_CEPEA.pdf>. Acesso em: 23 abr. 2018.

CEPEA-CNA – Centro de estudos avançados em economia aplicada, Esalq/Usp; Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil (2020). **PIB do Agronegócio**. CEPEA-CNA (06 de julho de 2020). Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_CNA_PIB_jan_abr_JUL2020.pdf>. Acesso em: 28 set. 2020.

Chagas ACS, Passos WM, Prates HT, Leite RC, Furlong J, Fortes ICP (2002) Acaricide effect of *Eucalyptus* spp essential oils and concentrated emulsion on *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** 39:247-253.

Chagas ACS (2008) Metodologias *in vitro* para avaliação de fitoterápicos sobre parasitas e resultados de testes a campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, **Anais...** Curitiba: CBPV, 13 p.

Chagas ACS, Rabelo MD (2012) **Método para detecção de substâncias com atividade repelente sobre larvas do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: revisão e recomendações**. São Carlos: CPPSE, 27 p. (Embrapa-CPPSE. Documento Técnico, 106).

Chagas ACS, Domingues LF, Fantatto RR, Giglioti R, Oliveira MCS, Oliveira DH, Mano RA, Jacob RG (2014) *In vitro* and *in vivo* acaricide action of juvenoid analogs produced from the chemical modification of *Cymbopogon* spp. and *Corymbia citriodora* essential oil on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology** 205:277-284.

Chagas ACS (2015) Medicinal plant extracts and nematode control. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources** 10:1-8.

Chagas ACS, Oliveira MCS, Giglioti R, Santana RCM, Bizzo HR, Gama PE, Chaves FCM (2016) Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Ticks and Tick-borne Diseases** 7:427-432.

Chen HD, Yada R (2011) Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. **Trends in Food Science & Technology** 22:585-594.

Chen H, Zhong Q (2015) A novel method of preparing stable zein nanoparticle dispersions for encapsulation of peppermint oil. **Food Hydrocolloids** 43:593-602.

Cola DF, Pasquoto T, Guilger M, Lima R, Silva CMG, Fraceto LF (2016) Sistemas carreadores lipídicos nanoestruturados para ivermectina e metopreno visando controle de parasitas. **Química Nova** 39:1034-1043.

Colborn T, Vomsaal FS, Soto AM (1993) Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. **Environmental Health Perspectives** 101:378-384.

Corrêa RR, Lopes WDZ, Teixeira WFP, Cruz BC, Gomes LVC, Felippelli G, Maciel WG, Fávero FC, Buzzulini C, Bichuette MA, Soares VE, Da Costa AJ (2015) A comparison of three different methodologies for evaluating *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* susceptibility to topical spray compounds. **Veterinary Parasitology** 207:115-124.

Cruz EMO, Costa-Junior LM, Pinto JAO, Santos DA, Araujo SA, Arrigoni-Blank MF, Bacci L, Alves PB, Cavalcanti SCH, Blank AF (2013) Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology** 195:198-202.

Cruz AA, Molento MB (2015) Nanotechnology: meeting the future of Veterinary Parasitology Research. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 35:842-843.

Cruz BC, Lopes WD, Maciel WG, Felippelli G, Fávero FC, Teixeira WF, Carvalho RS, Ruivo MA, Colli MH, Sakamoto CA, Da Costa AJ, De Oliveira GP (2015) Susceptibility of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to ivermectin (200, 500 and 630 µg/kg) in field studies in Brazil. **Veterinary Parasitology** 207:309-317.

Cuq B, Gontard N, Guilbert S (1998) Proteins as Agricultural Polymers for Packaging Production. **Cereal Chemistry** 75:1-9.

Dai L, Li R, Wei Y, Sun C, Mao L, Gao Y (2018) Fabrication of zein and rhamnolipid complex nanoparticles to enhance the stability and *in vitro* release of curcumin. **Food Hydrocoll** 77:617-628.

Dieter MP, Goehl TJ, Jameson CW, Elwell MR, Hildebrandt PK, Yuan JH (1993) Comparison of the toxicity of citral in F344 rats and B6C3F1 mice when administrated by microencapsulation in feed or by corn-oil gavage. **Food and Chemical Toxicology** 31:463-474.

Dimer FA, Friedrich RB, Beck RCR, Guterres SS, Pohlmann AR (2013) Impactos da nanotecnologia na saúde: produção de medicamentos. **Química Nova** 36:1520-1526.

Donsì F, Voudouris P, Veen SJ, Velikov KP (2017) Zein-based colloidal particles for encapsulation and delivery of epigallocatechin gallate. **Food Hydrocolloids** 63:508-517.

Durán N, Marcato PD (2013) Nanobiotechnology perspectives. Role of nanotechnology in the food industry: a review. **International Journal of Food Science and Technology** 48:1127-1134.

Estrada-Peña A, García Z, Sánchez HF (2006) The distribution and ecological preferences of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Mexico. **Experimental and Applied Acarology** 38:307-316.

Fazolin M, Estrela JLV, Monteiro AFM, Silva IM, Gomes LP, Silva MSF (2016) Combining the essential oil of *Piper aduncum* L. with commercial insecticides. **Semina: Ciências Agrárias** 37:3903-3914.

Fernández-Salas A, Alonso-Díaz MA, Alonso-Morales RA, Lezama-Gutiérrez L, Rodríguez-Rodríguez JC, Cervantes-Chávez JA (2017) Acaricidal activity of *Metarhizium anisopliae* isolated from paddocks in the Mexican tropics against two populations of the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. **Medical and Veterinary Entomology** 31:36-43.

Ferrarini SR, Duarte MO, Rosa RG, Rolim V, Eifler-Lima VL, Von Poser G, Ribeiro VLS (2008) Acaricidal activity of limonene, limonene oxide and b-amino alcohol derivatives on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology** 157:149-153.

Figueiredo A, Nascimento LM, Lopes LG, Giglioti R, Albuquerque RDGG, Santos MG, Falcão DQ, Nogueira JAP, Rocha L, Chagas ACS (2018) First report of the effect of *Ocotea elegans* essential oil on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Veterinary Parasitology** 252:131-136.

Florio JC (2011) Mecanismo de ação e relação dose-resposta. In: Spinosa HS, Gorniak SI, Bernardi MM (5 Ed.) **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 17-26.

Foil LD, Coleman P, Eisler M, Fragoso-Sanchez H, Garcia-Vazquez Z, Guerrero FD, Jonsson NN, Langstaff IG, Li AY, Machila N, Miller RJ, Morton J, Pruett JH, Torr S (2004) Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. **Veterinary Parasitology** 125:163-181.

Furlong J (2005) **Carrapatos: Problemas e soluções**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 65 p. (Documento Técnico).

Furtado FN, Silva VAR, Pereira JRG, Kisue A, Coêlho FAZ, Coêlho MDG (2013) Avaliação *in vitro* do potencial acaricida do óleo essencial de *Tagetes minuta* frente à *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887). **Revista Biociências** 19:104-110.

George JE, Pound JM, Davey RB (2008) Acaricides for controlling ticks on cattle and the problem of acaricide resistance. In: Bowman AS, Nuttall PA (Eds). **Ticks: biology, disease and control**. Cambridge: University Press, p. 415-416.

Ghormade V, Deshpande MV, Paknikar KM (2011) Perspectives for nanobiotechnology enabled protection and nutrition of plants. **Biotechnology Advances** 29:792-803.

Gogos A, Knauer K, Bucheli TD (2012) Nanomaterials in Plant Protection and Fertilization: Current State, Foreseen Applications, and Research Priorities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 60:9781-9792.

Gomes H, Moraes J, Githaka N, Martins R, Isezaki M, Silva Vaz Jr I, Logullo C, Konnai S, Ohashi K (2015) Vaccination with cyclin-dependent kinase tick antigen confers protection against *Ixodes* infestation. **Veterinary Parasitology** 211:266-273.

Gonzales JC (1995) **O controle do carrapato do boi**. 2. ed. Porto Alegre: Edição do Autor. 235 p.

Goulart S, De Queiroz M, Neves AA, De Queiros JH (2008) Low-temperature clean-up method for the determination of pyrethroids in milk using gas chromatography with electron capture detection. **Talanta** 75:1320-1323.

Grisi L, Leite RC, Martins JRS, Barros ATM, Andreotti R, Cançado PHD, Perez De León AA, Pereira JB, Villela HS (2014) Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 23:150-156.

Guerrero FD, Davey RB, Miller RJ (2001) Use of an allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology** 38:44-50.

Guimarães JH, Tucci EC, Barros-Battesti DM (2001) **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Plêiade. 213 p.

Guglielmone AA, Gimeno E, Idiart J, Fisher WF, Volpogni MM, Quaino O, Anziani OS, Flores SG, Warnke O (1999) Skin lesions and cattle hide damage from *Haematobia irritans* infestations. **Medical and Veterinary Entomology** 13:324-329.

Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM (2006) Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology** 40:83-100.

Guglielmone AA, Szabó MPJ, Martins JRS, Estrada-Peña A (2006) **Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal**. In: Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH (Eds.) Carrapatos de Importância médico veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies, Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p. 115-138.

Gunning RV, Moores GD, Devonshire AL (1999) Esterases inhibitors synergise the toxicity of pyrethroids in Australian *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science** 63:50-62.

Habeeb SM (2010) Ethno-veterinary and medical knowledge of crude plant extracts and its methods of application (traditional and modern) for tick control. **World Applied Sciences Journal** 11:1047-1054.

Hadavi M, Hasannia S, Faghihi S, Mashayekhi F, Homazadeh H, Mostofi SB (2018) Zein nanoparticle as a novel BMP6 derived peptide carrier for enhanced osteogenic differentiation of C2C12 cells. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology** 46:559-567.

Haider M, Abdin SM, Kamal L, Orive G (2020) Nanostructured Lipid Carriers for Delivery of Chemotherapeutics: A Review. **Pharmaceutics** 12:288.

He H, Chen AC, Davey RB, Ivie GW, Wagner GG, George JE (1999) Sequence analysis of the knockdown resistance-homologous regions of the para-type sodium channel gene from pyrethroid-resistance *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology** 36:539-543.

Higa LOS, Garcia MV, Barros JC, Koller WW, Andreotti R (2016) Evaluation of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to different acaricide formulations using samples from Brazilian properties. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 25:163-171.

Higa LOS, Garcia MV, Barros JC, Bonatte Junior P (2019) Controle do carrapato-doboi por meio de acaricidas. In: **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília: Embrapa. p. 137-140.

Ibrahim MA, Kainulainen P, Aflatuni A, Tiilikkala K, Holopainen JK (2001) Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agricultural and Food Science in Finland** 10:243-259.

Jin Y, Liu Z, Peng T, Fu Z (2015) The toxicity of chlorpyrifos on the early life stage of zebrafish: a survey on the endpoints at development, locomotor behavior, oxidative stress and immunotoxicity. **Fish and Shellfish Immunology** 43:405-414.

Kah M, Hofmann T (2014) Nanopesticide research: Current trends and future priorities. **Environment International** 63:224-235.

Karmaus W, Davis S, Chen Q, Kuehr J, Kruse H (2003) Atopic manifestations, breast-feeding protection and the adverse effect of DDE. **Paediatric and Perinatal Epidemiology** 17:212-220.

Kim S, Xu J (2008) Aggregate Formation of zein and its structural inversion in aqueous ethanol. **Journal of Cereal Science** 47:1-5.

Klafke GM, Sabatini GA, Albuquerque TA, Martins JR, Kemp DH, Miller RJ, Schumaker TS (2006) Larval immersion tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from estate of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology** 142:386-390.

Lai F, Wissing SA, Muller RH, Fadda AM (2006) *Artemisia arborescens* L essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: Preparation and characterization. **AAPS PharmSciTech** 7:1-9.

Lai LF, Guo HX (2011) Preparation of new 5-fluorouracil-loaded zein nanoparticles for liver targeting. **International Journal of Pharmaceutics** 404:317-323.

Langeloh A (2010) Carrapaticidas, seus resíduos e a saúde do consumidor. **Revista CFMV-DF XVI**:59-61.

Lawton JW (2002) Zein: A History of Processing and Use. **Cereal Chemistry** 79:1-18.

Li F, Chen Y, Liu S, Pan X, Liu Y, Zhao H, Yin X, Yu C, Kong W, Zhang Y (2019) The effect of size, dose, and administration route on zein nanoparticle immunogenicity in BALB/c mice. **International Journal of Nanomedicine** 2019:9917-9928.

Liu X, Sun K, Wang H, Zhang L, Wang J-Y (2005) Microspheres of corn protein, zein, for an ivermectin drug delivery system. **Biomaterials** 26:109-115.

Lopes WDZ, Teixeira WFP, Matos LVS, Felippelli G, Cruz BC, Maciel WG, Buzzulini C, Fávero FC, Soares VE, Oliveira GP, Costa AJ (2013) Effects of macrocyclic lactones on the reproductive parameters of engorged *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* females detached from experimentally infested cattle. **Experimental Parasitology** 135:72-78.

Luo Y, Teng Z, Wang Q (2012) Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 60:836-843.

Luo Y, Wang Q (2014) Zein-Based Micro- and Nano-Particles for Drug and Nutrient Delivery: A Review. **Journal of Applied Polymer Science** 131:1-12.

Mahalakshmi L, Leena MM, Moses JA, Anandharamakrishnan C (2020) Micro- and nano-encapsulation of β -carotene in zein protein: size-dependent release and absorption behavior. **Food & Function** 11:1647-1660.

Mans BJ, Neitz AWH (2004) Adaptation of ticks to a blood-feeding environment: evolution from a functional perspective. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 34:1-17.

Martin-Ortigosa S, Valenstein JS, Lin VS-Y, Trewyn BG, Wang K (2012) Gold Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticle Mediated Protein and DNA Codelivery to Plant Cells Via the Biolistic Method. **Advanced Functional Materials** 22:3576-3582.

Maruyama SR, Garcia GR, Teixeira FR, Brandão LG, Anderson JM, Ribeiro JMC, Valenzuela JG, Horackova J, Veríssimo CJ, Katiki LM, Banin TM, Zangirolamo AF, Gardinassi LG, Ferreira BR, Miranda-Santos IKF (2017) Mining a differential sialotranscriptome of *Rhipicephalus microplus* guides antigen discovery to formulate a vaccine that reduces tick infestations. **Parasites & Vectors** 10:2-16.

Martins JR, Evans DE, Cereser VH, Corrêa BL (2002) Partial strategic tick control within a herd of European breed cattle in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Experimental and Applied Acarology** 27:241-251.

Martins JR (2004) Manejo da resistência aos carrapaticidas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 13:114-115.

Maza AP, Pinto ISB, Fonseca I, Antunes GR, Monteiro CMO, Dae-Mon E, Muniz MS, Martins MF, Furlong J, Prata MCA (2013) A new approach to characterization of the resistance of populations of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) to organophosphate and pyrethroid in the state of Minas Gerais, Brazil. **Experimental Parasitology** 134:519-523.

Medeiros JP, Bortollucci WC, Silva ES, Oliveira HLM, Campo CFAA, Gonçalves JE, Junior RP, Gazim ZC (2019) Biocidal potential of *Eugenia pyriformis* essential oil in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the free-living cycle. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 39:879-888.

Mello V, Prata MCA, Silva MR, Daemon E, Silva LS, Guimarães FG, Mendonça AE, Folly E, Vilela FMP, Amaral LH, Cabral LM, Amaral MPH (2014) Acaricidal properties of the formulations based on essential oils from *Cymbopogon winterianus* and *Syzygium aromaticum* plants. **Parasitology Research** 113:4431-4437.

Miller RJ, Davey RB, George JE (1999) Characterization of pyrethroid resistance and susceptibility to coumaphos in Mexican *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology** 36:533-538.

Miranda VR (2019) **Desenvolvimento de nanopartículas de zeína contendo repelentes visando controle do mosquito *Aedes Aegypti***. 95f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Unesp, Sorocaba.

Mogul MG, Akin H, Hasirci N, Trantolo DJ, Gresser JD, Wise DL (1996) Controlled release of biologically active agents for purposes of agricultural crop management. **Resources, Conservation and Recycling** 16:289-320.

Molento MB (2009) Parasite control in the age of drug resistance. **Veterinary Parasitology** 3:188-196.

Müller RH, Maëder K, Gohla S (2000) Solid-lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery-a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** 50:161-177.

Murrell A, Campbell NJ, Barker SC (2001) A total-evidence phylogeny of ticks provides insights into the evolution of life cycles and biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 21:244-258.

Nogueira JAP, Figueiredo A, Duarte JL, Almeida FB, Santos MG, Nascimento LM, Fernandes CP, Mourão SC, Toscano JHB, Rocha LM, Chagas ACS (2020) Repellency effect of *Pilocarpus spicatus* A. St.-Hil essential oil and nanoemulsion against *Rhipicephalus microplus* larvae. **Experimental Parasitology** 215:107919.

Nolan J, Roulston WJ, Wharton RH (1977) Resistance to Synthetic Pyrethroids in a DDT-resistant Strain of *Boophilus microplus*. **Journal of Pesticide Science** 8:484-486.

Nuñez JL, Muñoz Cobenas ME, Moltedo HL (1982) ***Boophilus microplus*, la garrapata comun del ganado vacuno**. Buenos Aires: Hemisfério Sur. 19 p.

OCDE-FAO (2020) **OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029**. Disponível em: <<https://doi.org/10.1787/1112c23b-en>>. Acesso em: 28 set. 2020.

Oliveira LC, Taveira EJJ, Souza LG, Marreto RN, Lima EM, Taveira SF (2012) Aplicações das Nanopartículas Lipídicas no Tratamento de Tumores Sólidos: Revisão de Literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia** 58: 695-701.

Oliveira FP, Spada JCP, Silva TSD, Ferreira LC, Luquetti BC, Soutello RVG (2013) Resistência do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos diferentes grupos de acaricidas utilizados na região Noroeste do estado de São Paulo. **Ciências Agrárias e da Saúde** 9:54-60.

Oliveira HC, Stolf-Moreira R, Martinez CBR, Grillo R, Jesus MB, Fraceto LF (2015) Nanoencapsulation enhances the post-emergence herbicidal activity of atrazine against mustard plants. **Plos One** 10:1-12.

Oliveira JL, Campos EVR, Pereira AES, Pasquoto T, Lima R, Grillo R, Andrade DJ, Santos FAD, Fraceto LF (2018) Zein nanoparticles as eco-friendly carrier systems for botanical repellents aiming sustainable agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 66:1330-1340.

Oliveira JL, Campos EVR, Germano-Costa T, Lima R, Vechia JFD, Soares ST, Andrade DJ, Gonçalves KC, Nascimento J, Polanczyk RA, Fraceto LF (2019) Association of zein nanoparticles with botanical compounds for effective pest control systems. **Pest Management Science** 75:1855-1865.

Olivo CJ, Carvalho NM, Silva JHS, Vogel FF, Massariol P, Meinerz G, Agnolin CA, Morel AF, Viau LV (2008) Óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. **Ciência Rural** 38:406-410.

Paliwal R, Palakurthi S (2014) Zein in controlled drug delivery and tissue engineering. **Journal of Controlled Release** 189:108-22.

Pardeike J, Hommoss A, Müller RH (2009) Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **International Journal of Pharmaceutics** 366:170-184.

Parris N, Cooke PH, Hicks KB (2005) Encapsulation of essential oils in zein nanospherical particles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53:4788-4792.

Pascoli M, Albuquerque FP, Calzavara AK, Tinoco-Nunes B, Oliveira WHC, Gonçalves KC, Polanczyk RA, Vechia JFD, Matos STS, Andrade DJ, Oliveira HCO, Souza Neto JÁ, Lima R, Fraceto LF (2020) The potential of nanobiopesticide based on zein nanoparticles and neem oil for enhanced control of agricultural pests. **Journal of Pest Science** 93:793-806.

Peixoto MG, Costa-Júnior LM, Blank AF, Lima AS, Menezes TSA, Santos DA, Alves PB, Cavalcanti SCH, Bacci L, Arrigoni-Blank MF (2015) Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology** 210:118-22.

Pereira MC, Labruna MB, Szabó MPJ, Klafke GM (2008) ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência***. São Paulo: MedVet. p. 21-25, 65-90.

Pereira JR (2009) The efficiency of avermectins (abamectin, doramectin and ivermectin) in the control of *Boophilus microplus*, in artificially infested bovines kept in field conditions. **Veterinary Parasitology** 162:116-119.

Peres F, Moreire CJ, Rodrigues MK, Claudio L (2006) Risk perception and communication regarding pesticide use in rural work: a case study in Rio de Janeiro State, Brazil. **International Journal of Occupational and Environmental Health** 12:400-407.

Perlatti B, Bergo PLS, Silva MFGF, Fernandes JB, Forim MR (2013) Polymeric Nanoparticle-Based Insecticides: A Controlled Release Purpose for Agrochemicals. In: **Insecticides - Development of Safer and More Effective Technologies**. p. 523-550.

Picklesimer P (2005) Nanotechnologist plans to build things with bricklike corn molecules. **University of Illinois at UrbanaChampaign**. Illinois: v. 24, n. 17.

Proença VR (2018) **Sistema nanocarreador de zeína para compostos bioativos (óleo de menta, cipermetrina, clorpirifós e amitraz) visando controle do carrapato bovino**. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Unesp, Sorocaba.

Raynal JT, Silva AAB, Sousa TJ, Bahiense TC, Meyer R, Portela RW (2013) Acaricides efficiency on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* from Bahia state North-Central region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** 22:71-77.

Reck J, Klafke GM, Webster A, Dall'agnol B, Scheffer R, Souza AU, Coraqqssini BV, Vargas R, Dos Santos SJ, Martins JR (2014) First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. **Veterinary Parasitology** 201:128-136.

Rocha SFR, Ming LC (1999) ***Piper hispidinervum*: a sustainable source of safrole**. In: Janick J. (ed.). Perspectives on new crops and news uses. Alexandria: ASHS Press, p. 479-481.

Roel AR (2001) The use of plants with insecticide properties: a contribution for Sustainable Rural Development. **Interações – Revista Internacional de Desenvolvimento Local** 1:43-50.

Sartor IF, Santarém VA (2018). **Agentes empregados no controle de ectoparasitas**. In.: Spinosa HS, Gorniak SI, Bernardi MM (6 Ed.) **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 600-603.

Schwarzenbach RP, Egli P, Hofstetter TB, Gunten U, Wehrli B (2010) Global Water Pollution and Human Health. **Annual Review of Environment and Resources** 35:109-136.

Shalaby HA, Abu El Ezz NMT, Farag TK, Abou-Zeina HAA (2012) *In vitro* efficacy of a combination of ivermectin and *Nigella sativa* oil against helminth parasites. **Global Veterinaria** 9:465-473.

Shukla R, Cheryan M (2001) Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products** 13:171-192.

Sigma Aldrich: **Analytical, Biology, Chemistry & Materials** (2020). Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/c83007?lang=pt®ion=BR>; <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/lmenthol15627221651511?lang=pt®ion=BR>>;<<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/183164?lang=pt®ion=BR>>. Acesso em: 15 out. 2020.

Sousa EO, Lima AS, Lopes SG, Costa-Junior LM, Costa JGM (2020) Chemical composition and acaricidal activity of *Lantana camara* L. and *Lantana montevidensis* Briq. essential oils on the tick *Rhipicephalus microplus*. **Journal of Essential Oil Research** 32:316-322.

Souto BE, Severino P, Santana AHM, Pinho CS (2011) Nanopartículas de lipídios sólidos: Métodos clássicos de produção laboratorial. **Química Nova** 34:1762-1769.

Su C-P (2012) **Zein encapsulation of amphiphilic compounds**. 97f. Dissertação (Master's degree in Food Science and Human Nutrition) – University of Illinois, Urbana.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL (3 Ed) (2007) **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 576-577.

Trentelman JJA, Kleuskens JAGM, Crommert J, Schettters TPM (2017) A new method for *in vitro* feeding of *Rhipicephalus australis* (formerly *Rhipicephalus microplus*) larvae: a valuable tool for tick vaccine development. **Parasites & Vectors** 10:2-9.

Ueno TEH, Mendes EEB, Pomaro SHK, Lima CKP, Guilloux AGA, Mendes MC (2012) Sensitivity profile of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks of dairy cattle to acaricides in small farms in the northwestern São Paulo State, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico** 79:177-183.

Valente PP, Moreira GHFA, Serafini MF, Facury-Filho EJ, Carvalho AU, Faraco AAG, Castilho RO, Ribeiro MFB (2017) *In vivo* efficacy of a biotherapeutic and eugenol formulation against *Rhipicephalus microplus*. **Parasitology Research** 116:929-938.

Vargas MS, Céspedes NS, Sánchez HF, Martins JR, Céspedes COC (2003) *In vitro* evaluation of a field strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistant to Amitraz. **Ciência Rural** 33:737-742.

Veríssimo CJ, Silva RG, Oliveira AAD, Ribeiro WR, Rocha UF (1997) Contagens de ínstares do carrapato *Boophilus microplus* em bovinos mestiços. **Boletim de Indústria Animal** 54:21-26.

Villarino MA, Waghela SD, Wagner GG (2001) Histochemical localizations on esterases in integument of the female *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) tick. **Journal of Medical Entomology** 38:780-782.

Vinturelle R, Mattos C, Meloni J, Lamberti HD, Nogueira J, Vaz Júnior IS, Rocha L, Lione V, Folly E (2021) Evaluation of essential oils as an ecological alternative in the search for control *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports** 23: 100523.

Waknine-Grinberg JH, Even-Chen S, Avichzer J, Turjeman K, Bentura-Marciano A, Haynes RK, Weiss L, Allon N, Ovadia H, Golenser J, Barenholz Y (2013). Glucocorticosteroids in nano-sterically stabilized liposomes are efficacious for elimination of the acute symptoms of experimental cerebral malaria. **PLoS ONE** 8:e72722.

Webster A, Pradel E, Souza UA, Martins JR, Reck J, Schrank A, Klafke G (2017) Does the effect of a *Metarhizium anisopliae* isolate on *Rhipicephalus microplus* depend on the tick population evaluated? **Ticks and Tick-borne Diseases** 8:270-274.

Wissing SA, Kayser O, Müller RH (2004) Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews** 56:1257-1272.

Wong HL, Bendayon R, Rauth AM, Li Y, Wu XY (2007) Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews** 59:491-504.

Zhong QX, Tian HL, Zivanovic S (2009) Encapsulation of fish oil in solid zein particles by liquid-liquid dispersion. **Journal of Food Processing and Preservation** 33:255-270.

CAPÍTULO 4 - Considerações finais

O presente estudo demonstrou que a associação de nanocarreadores (lipídicos e proteicos) e princípios ativos com potencial carrapaticida pode ser uma alternativa para o controle das infestações por *Rhipicephalus microplus*. Apesar da consequente diminuição de partículas/mL das formulações durante o período de estocagem, as nanoformulações foram capazes de proteger os princípios ativos contra a degradação em solução, característica de estabilidade visada para formulações carrapaticidas.

As nanoformulações elaboradas com Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS), Carreadores Lipídicos Nanoestruturados (CLN) e Nanopartículas de Zeína (NZ) obtiveram resultados semelhantes aos encontrados para o produto comercial (cipermetrina + clorpirifós + citronelal), além de eficácias em menores concentrações.

Associados à cipermetrina + clorpirifós + composto vegetal (cital, mentol ou limoneno), nanocarreadores lipídicos demonstraram potencial contra as larvas, enquanto as NZ apresentaram eficácia sobre larvas e fêmeas ingurgitadas. As formulações contendo NZ evidenciaram ação superior em relação ao produto comercial, sobre os dois estádios de *R. microplus*. Demonstraram, ainda, alta atividade residual, indicando uma possível biodegradação em menor período de tempo quando comparado ao produto comercial.

Baseado nessas observações, sistemas carreadores aplicados à elaboração de novos carrapaticidas poderão ser um avanço para o setor agropecuário. Um fármaco com menor quantidade de princípios ativos, que garanta eficácia acaricida e ao mesmo tempo possua degradação mais rápida poderá revolucionar a forma de controle parasitária e impactar, de maneira positiva, a bovinocultura leiteira, caso viabilize menor descarte do leite dos animais tratados, assegurando menores perdas econômicas. As perspectivas futuras para a utilização de sistemas nanocarreadores no controle de *R. microplus* envolvem, ainda, a saúde humana e a sustentabilidade, uma vez que biocarrapaticidas elaborados a partir dessa nanotecnologia poderão ser mais seguros e resultar em menor possibilidade de presença de resíduos nos alimentos de origem animal, garantindo a segurança alimentar do consumidor, e possível contribuição para um menor impacto ambiental devido à sua melhor biodegradação no ambiente.