



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS (UFG)
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (EVZ)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL (PPGCA)

BRUNO CÉSAR FERREIRA GONZAGA

**Óleos essenciais para controle de carrapatos: revisão das pesquisas
com testes em condição de campo e avaliação de eficácia de
combinações de carrapaticidas com (*E*)-cinamaldeído para
controle de *Rhipicephalus microplus***

GOIÂNIA

2022



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

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

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

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Bruno César Ferreira Gonzaga

3. Título do trabalho

Óleos essenciais para controle de carrapatos: revisão das pesquisas com testes em condição de campo e avaliação de eficácia de combinações de carrapaticidas com (E)-cinamaldeído para controle de *Rhipicephalus microplus*

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

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

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

- a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);
 - b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
- O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

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

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



Documento assinado eletronicamente por **Caio Márcio De Oliveira Monteiro, Professor do Magistério Superior**, em 01/11/2022, às 13:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **BRUNO CÉSAR FERREIRA GONZAGA, Discente**, em 02/11/2022, às 19:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3303043** e o código CRC **F7ACB121**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

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

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

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Bruno César Ferreira Gonzaga

3. Título do trabalho

Óleos essenciais para controle de carrapatos: revisão das pesquisas com testes em condição de campo e avaliação de eficácia de combinações de carrapaticidas com (E)-cinamaldeído para controle de *Rhipicephalus microplus*

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

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

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

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

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

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



Documento assinado eletronicamente por **Bruno Cesar Ferreira Gonzaga, Discente**, em 07/03/2024, às 03:35, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4433135** e o código CRC **47272B7C**.

Referência: Processo nº 23070.055992/2022-06

SEI nº 4433135

BRUNO CÉSAR FERREIRA GONZAGA

Óleos essenciais para controle de carrapatos: revisão das pesquisas com testes em condição de campo e avaliação de eficácia de combinações de carrapaticidas com (*E*)-cinamaldeído para controle de *Rhipicephalus microplus*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (UFG), como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

Área de concentração: Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de Alimentos

Linha de pesquisa: Saúde única e medicina veterinária preventiva

Orientador:

Professor Doutor Caio Márcio de Oliveira Monteiro

Coorientadores:

Professora Doutora Paula Barroso Cruz Marchesini

Professor Doutor Welber Daniel Zanetti Lopes

GOIÂNIA

2022

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

Gonzaga, Bruno César Ferreira

Óleos essenciais para controle de carrapatos [manuscrito] : Revisão das pesquisas com testes em condição de campo e avaliação de eficácia de combinações de carrapaticidas com (E)-cinamaldeído para controle de *Rhipicephalus microplus* / Bruno César Ferreira Gonzaga. - 2022.

xvi, 117 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Caio Márcio de Oliveira Monteiro; co orientadora Dra. Paula Barroso Cruz Marchesini; co-orientador Dr. Welber Daniel Zanetti Lopes.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2022.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, mapas, fotografias, abreviaturas, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Carrapato bovino. 2. Óleos essenciais. 3. Fenilpropanoide. 4. Canela. I. Monteiro, Caio Márcio de Oliveira, orient. II. Título.

CDU 576.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº 340 da sessão de Defesa de Tese de Bruno César Ferreira Gonzaga que confere o título de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração em Saúde Animal, Tecnologia e Segurança de Alimentos.

Aos vinte e sete dias do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e dois, a partir das 14 horas, de forma presencial, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada "Óleos essenciais para controle de carrapatos: revisão das pesquisas com testes em condição de campo e avaliação de eficácia de combinações de carrapaticidas com (E)-cinamaldeído para controle de Rhipicephalus microplus". Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor Caio Márcio de Oliveira Monteiro (IPTSP-PPGCA/EVZ/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor Doutor Éverton Kort Kamp Fernandes - IPTSP-PPGCA/EVZ/UFG, membro titular interno; Professor Doutor Wendell Marcelo de Souza Perinotto (UFRB), membro titular externo; Professora Doutora Lorena Lopes Ferreira (UFMG), membro titular externo; Professor Doutor Caio Pavão Tavares (UFMA), membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca **não fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor Caio Márcio de Oliveira Monteiro, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos vinte e sete dias do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e dois.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **Caio Márcio De Oliveira Monteiro, Professor do Magistério Superior**, em 27/10/2022, às 16:58, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lorena Lopes Ferreira, Usuário Externo**, em 28/10/2022, às 11:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Wendell Marcelo de Souza Perinotto, Usuário Externo**, em 29/10/2022, às 07:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Caio Pavão Tavares, Usuário Externo**, em 31/10/2022, às 12:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Éverton Kort Kamp Fernandes, Professor do Magistério Superior**, em 31/10/2022, às 17:46, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3277406** e o código CRC **CDD4FA00**.

Dedico esse trabalho aos animais,
alicerces da nossa existência.

AGRADECIMENTOS

À frente, agradeço à Deus pela dádiva da vida. Nem sempre eu estive com Ele, mas Ele sempre esteve comigo e é por Sua graça que reconheço cada conquista. Aos meus pais, pelo amor incondicional, apesar de mim mesmo. Eles nortearam não só o meu caminho, como também o dos meus irmãos, e a estes, pelo companheirismo durante a marcha da vida. A minha esposa, pela serenidade e amparo nos hiatos de desassossego e, principalmente, ao nosso fruto tão amado, que no auge de seus 2 anos tem demonstrado hercúlea sensatez, me acompanhando na leitura e escrita dessa tese. Mesmo tão jovem tem ensinado muito a esse papai.

Agradeço a todos aqueles que difundiram a mim qualquer conhecimento, e imputo a vocês o título de professores, seja da academia ou da vida. A Universidade Federal de Goiás, por viabilizar o projeto, e a todas as pessoas do Laboratório de Biologia, Ecologia e Controle de Carrapatos (LABEC), do Laboratório de Especialidades Veterinárias e do Laboratório de Patologia de Invertebrados pelo auxílio na condução do trabalho. Algumas dessas pessoas tornaram-se estimados amigos, assim como aqueles procedentes de outras fases acadêmicas.

Agradeço aos meus coorientadores e aos professores presentes em bancas de projeto, qualificação e defesa, pelas valorosas contribuições. E por último (assim como nas publicações de um artigo científico), não menos importante, mas indispensável, ao meu orientador que, após a aprovação na seleção de doutorado, me convidou a ser seu orientado. A oferta de um sábio vale mais que prata e ouro, é uma semente de esperança e um broto de fé. Obrigado pelos sacrifícios que fez por todos nós do LABEC, por meio de sua carreira e pelas coisas que você recusou para se comprometer ao longo do caminho. Obrigado por passar o bastão e compartilhar. Que Deus te abençoe abundantemente mais.

Essa conquista pertence aos senhores.

...“tinha inventado uma oração para que secassem e caíssem os carrapatos das vacas”...
Márquez, Gabriel García. Cem anos de solidão.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUÇÃO GERAL	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 <i>Rhipicephalus microplus</i> : origem e ciclo de vida	5
2.2 Controle de <i>Rhipicephalus microplus</i> com carrapaticidas sintéticos	6
2.3 Substâncias de origem vegetal no controle de carrapatos	7
2.4 Efeitos biológicos e mecanismos de ação dos óleos essenciais nos carrapatos.....	10
2.5 Associação dos óleos essenciais e substâncias presentes nos óleos essenciais	11
3. OBJETIVOS	15
3.1 Objetivo geral.....	15
3.2 Objetivos específicos.....	15
REFERÊNCIAS	16
CAPÍTULO 2	26
Pesquisas com óleos essenciais para controle de carrapatos: avanços além do laboratório	27
1. Introdução.....	29
2. Metodologia.....	33
3. Pesquisas com OEs e COEs em condições de campo e semi-campo para controle de carrapatos.....	34
3.1 Publicações por ano.....	34
3.2 Publicações por país	36
3.3 Publicações por espécie de carrapato	38
3.4 Publicações por compostos testados e caracterização química dos óleos essenciais	40
3.5 Método de aplicação.....	42
3.6 Desenho experimental.....	44
3.7 Estudos com aplicações de OEs e COEs em animais	46
3.7.1 Avaliação de eficácia	46
3.7.2 Avaliação de segurança clínica	51
3.8 Estudos com aplicação de OEs e COEs no ambiente.....	53
3.8.1 Avaliação de eficácia	54
3.8.2 Resíduos e toxicidade em organismos não-alvos	56
4. Considerações finais	57
Referências	59

CAPÍTULO 3	84
Combination of synthetic acaricides with (<i>E</i>)-cinnamaldehyde to control <i>Rhipicephalus microplus</i>	85
INTRODUCTION	86
MATERIAL AND METHODS.....	88
Chemicals used.....	88
Test of susceptibility against different commercial acaricides.....	88
Combination of (<i>E</i>)-cinnamaldehyde with amitraz and chlorfenvinphos on unfed larvae from a field population – strain CM.....	90
Combination of (<i>E</i>)-cinnamaldehyde with amitraz against unfed larvae and engorged females – strain GYN	91
Field test.....	92
RESULTS	93
Susceptibility to commercial acaricides.....	93
Combination of (<i>E</i>)-cinnamaldehyde with amitraz and chlorfenvinphos on unfed larvae – field population (strain CM).....	93
Combination of (<i>E</i>)-cinnamaldehyde with amitraz against unfed larvae and engorged females – strain GYN	93
Field test.....	98
DISCUSSION.....	99
REFERENCES	102
CAPÍTULO 4	111
CONSIDERAÇÕES FINAIS	111
ANEXO A. Parecer CEUA 067/21	113

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1 – Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus microplus*, dividido em duas fases: Parasitária (no animal) e Não Parasitária (no ambiente). Áreas em vermelho representam locais nos bovinos em que o número de carrapatos é encontrado em maior quantidade..... 5
- Figura 2 – Produção (por ano, por continentes) mundial de canela (*Cinnamomum* spp.) entre os anos 1961 e 2020 (toneladas). Fonte: Adaptado de Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022..... 9

CAPÍTULO 2

- Figura 1 – Interações ecológicas de plantas mediadas por óleos essenciais. Círculos em verde representam atração de dispersores de sementes e polinizadores. Círculos em vermelho representam repelência e mortalidade de predadores e patógenos. Círculo em roxo representa fatores de estresse abiótico, como períodos de seca..... 32
- Figura 2 - Metodologia de busca dos estudos com óleos essenciais (OEs) e compostos encontrados nos óleos essenciais (COEs) para controle de carrapatos em condições de campo e semi-campo (n=28) publicados no período de 1991 a 2021..... 34
- Figura 3 - Número de publicações por década (1991-2021), usando óleos essenciais e compostos encontrados em óleos essenciais (COEs) para controle de carrapatos em condições de campo e semi-campo. 35
- Figura 4 - Distribuição geográfica dos 28 estudos de campo e semi-campo utilizando óleos essenciais (OEs) ou compostos encontrados em óleos essenciais (COEs) para controle de carrapatos entre 1991-2021. Círculos coloridos, com tamanhos proporcionais ao número de estudos, representam diferentes espécies de carrapatos. Abreviação dos gêneros dos carrapatos: *Amblyomma* (A.); *Ixodes* (I.); *Hyalomma* (H.); *Haemaphysalis* (Ha.); *Rhipicephalus* (R.) Fonte: adaptado da plataforma Bing, 2022..... 37
- Figura 5 - Estudos em campo e semi-campo (n=28) utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos no período de 1991-2021. **a** – Percentual de estudos com óleos OEs e COEs; **b** – Percentual de estudos que realizaram ou não, caracterização química dos OEs; **c** – Percentual das estratégias de aplicação dos OEs e COEs; **d** – Percentual de espécies animais utilizadas nos estudos com OEs/COEs; **e** – Percentual dos métodos de aplicação de OEs/COEs nos animais e ambiente. 42
- Figura 6 – Métodos / estratégias de aplicação de carrapaticidas, sobre o hospedeiro e no ambiente, para controle de carrapatos verificados nos estudos incluídos na revisão..... 43
- Figura 7 – Direcionamentos para estudos futuros com a utilização de óleos essenciais (OEs) e compostos encontrados em óleos essenciais (COEs), em condições de campo e semi-campo, para controle de carrapatos..... 58

CAPÍTULO 3

- Fig. 1** Population distributions of *Rhipicephalus microplus* (**a**: Brazil; **b**: state of Minas Gerais = MG), used in the susceptibility test to commercial acaricides 90
- Fig. 2** Mean (\pm SD) mortality (%) of unfed *Rhipicephalus microplus* larvae, from a population collected on a farm in Carmo da Mata (strain CM), Minas Gerais, Brazil, treated with various concentrations of amitraz (**a**) and chlorfenvinphos (**b**), associated or not with (*E*)-cinnamaldehyde (= Cin). Means within a panel capped with different letters are significantly different (Student Newman Keuls tests: $P < 0.05$). 95
- Fig. 3** Mean (\pm SD) mortality (%) of unfed *Rhipicephalus microplus* larvae (strain Gyn), treated with various concentrations of amitraz, combined or not with (*E*)-cinnamaldehyde (Cin). Means capped with different letters are significantly different (Student Newman Keuls test: $P < 0.05$). 96
- Fig. 4** Simmental cattle showing signs of (*E*)-cinnamaldehyde toxicity, approximately 20 min after application 98

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 – Dados gerais (tratamentos e eficácia) compilados de 13 artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de <i>Rhipicephalus microplus</i> em estudos de campo e semi-campo, com bovinos de 1991-2021.....	47
Tabela 2 – Dados gerais (tratamentos e eficácia) compilados de sete artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos em estudos com cães, coelhos, ovinos e caprinos de 1991-2021.....	49
Tabela 3 – Avaliações de segurança clínica compiladas de 28 artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos em estudos de 1991-2021 com animais que foram tratados.....	52
Tabela 4 – Tratamentos e eficácia compilados de 28 artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos em estudos no ambiente de 1991-2021.	55

CAPÍTULO 3

Table 1 Commercial acaricides used on populations of <i>Rhipicephalus microplus</i>	89
Table 2 Mean (\pm SD) efficiency (%) of commercial acaricides on populations of <i>Rhipicephalus microplus</i> from various places throughout Brazil (including MG), or only from the state of Minas Gerais.....	94
Table 3 Mean (\pm SD; n = 10) weight (mg) of females before oviposition and of egg mass of engorged females, larval hatch (%) and percent control of <i>Rhipicephalus microplus</i> , treated with amitraz and (<i>E</i>)-cinnamaldehyde (separate or combined) under laboratory conditions...	97

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AChE – Enzima acetilcolinesterase
AIT – Adult immersion test
B.O.D. - Biochemical oxygen demand
CarE – Enzima carboxilesterase
CEOs – Compounds present in essential oil
CL₃₀ – Concentração letal 30%
CL₅₀ – Concentração letal 50%
CM – Carmo da Mata
COEs – Compostos presentes nos óleos essenciais
D 1ml/L – Deltametrina 1 ml/L
DMSO - Dimethyl sulfoxide
EO – Essential oil
EPI – Egg production index
ER – Estimate reproduction
GST – Enzima glutationa S-transferase
Gyn – Goiânia
LPT – Larval packet test
OE – Óleos essenciais
PBO – Piperonyl butoxide
RH - Relative humidity
TE 5% - Timol eucaliptol 5%
US \$ - Dólar americano
Vol – volume
%C – Percent control
(*E*) – trans
°C – graus Celsius

RESUMO

O carrapato *Rhipicephalus microplus* foi originalmente encontrado infestando ruminantes no sul da Ásia e transportado em gado zebu para outras localidades do mundo. Esse artrópode causa danos diretos nos hospedeiros, sendo o maior causador de perdas econômicas na pecuária mundial. No Brasil, com 224,6 milhões de bovinos, estimativas apontam perdas de mais de 3 bilhões de dólares anualmente. O controle desse parasito é realizado quase que exclusivamente com carrapaticidas sintéticos. Porém, o uso constante, e às vezes incorreto e indiscriminado destes produtos pode acelerar a seleção de carrapatos resistentes. Pesquisas para desenvolvimento de tecnologias para o controle dos carrapatos têm sido realizadas, como a utilização de vacinas, agentes de controle biológicos e óleos essenciais (OEs). O OE de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e seu derivado (*E*)-cinamaldeído possuem atividades carrapaticidas. Alguns OEs e compostos presentes em OEs (COEs) apresentaram bons resultados carrapaticidas, inclusive com a associação entre eles e produtos sintéticos em estudos *in vitro* e *in vivo*, porém esses estudos são escassos. O presente estudo revisou a literatura com OEs e COEs para controle de carrapatos em campo e semi-campo entre os anos 1991 e 2021 e investigou o efeito da combinação de (*E*)-cinamaldeído e amitraz no laboratório e a campo, para controle de *R. microplus*. Foram selecionados 28 estudos na revisão, dos quais 53,6% foram realizados no Brasil, 71% com aplicação dos OEs e COEs nos animais e 29% no ambiente. Nesses estudos, o método de aplicação por aspersão foi o mais utilizado (75%). A espécie bovina foi a mais estudada (70%) e o carrapato *R. microplus* o mais pesquisado (46,4%). A partir dessa revisão em campo e semi-campo, percebemos o número ainda limitado de artigos avaliando a utilização dos OEs e COEs, sendo necessários mais estudos nessas condições para avaliar o real potencial dessas substâncias para o controle de carrapatos. Nesse sentido, alguns aspectos precisam ser priorizados: a caracterização dos OEs, a padronização das metodologias utilizadas nos testes de avaliação de eficácia, a utilização de OEs e COEs combinados com acaricidas sintéticos (buscando interações sinérgicas), o desenvolvimento de formulações e a avaliação da segurança da aplicação para os animais, humanos e ambiente. Foram realizados testes *in vitro* com 116 populações de carrapatos de todas as regiões do Brasil, com 14 produtos sintéticos, e escolhidos aqueles com 50-80% de eficácia possuindo somente um ingrediente ativo. Posteriormente, foram testados os produtos à base de amitraz e clorfenvinfós em combinações binárias com o (*E*)-cinamaldeído em uma cepa de carrapato, denominada cepa CM, que demonstrou melhor resultado para o amitraz. A melhor associação de (*E*)-cinamaldeído e amitraz foi utilizada em estudos farmacotécnicos para desenvolvimento e caracterização das formulações, avaliando a eficácia *in vitro* e *in vivo* para controle de infestações de *R. microplus* e segurança clínica para os bovinos. A abordagem da combinação desse COE e do produto sintético melhorou a eficácia do último (atingindo 86%) em fêmeas ingurgitadas (*in vitro*), porém no estudo de campo com aplicação sobre os animais, o (*E*)-cinamaldeído causou intoxicação nos bovinos. Pesquisas futuras, buscando diminuir a toxicidade de formulações com (*E*)-cinamaldeído merecem ser investigadas.

Palavras-chave: Canela, carrapato bovino, fenilpropanoide, óleos essenciais

ABSTRACT

The *Rhipicephalus microplus* tick was originally found infesting ruminants in South Asia and transported on zebu cattle to other locations in the world. This arthropod causes direct damage to the hosts, being the biggest cause of economic losses in livestock worldwide. In Brazil, with 224.6 million cattle, estimates point to losses of more than 3 billion dollars annually. The control of this parasite is carried out almost exclusively with synthetic acaricides. However, the constant and sometimes incorrect and indiscriminate use of these products can accelerate the selection of resistant ticks. Research to develop technologies to control ticks has been carried out, such as the use of vaccines, biological control agents and essential oils (EOs). Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) EO and its derivative (*E*)-cinnamaldehyde have acaricidal activities. Some EOs and compounds present in EOs (CEOs) showed good acaricide results, including the association between them and synthetic products *in vitro* and *in vivo* studies, but these studies are scarce. The present study reviewed the literature with EOs and CEOs for field and semi-field tick control between the years 1991 and 2021 and investigated the effect of the combination of (*E*)-cinnamaldehyde and amitraz in the laboratory and in the field to control *R. microplus*. Twenty-eight studies were selected in the review, of which 53.6% were carried out in Brazil, 71% with the application of EOs and CEOs in animals and 29% in the environment. In these studies, the spray application method was the most used (75%). The bovine species was the most studied (70%) and the tick *R. microplus* the most researched (46.4%). From this field and semi-field review, we realized the still limited number of articles evaluating the use of EOs and CEOs, and further studies under these conditions are needed to assess the real potential of these substances for tick control. In this sense, some aspects need to be prioritized: the characterization of the EOs, the standardization of the methodologies used in the efficacy evaluation tests, the use of EOs and CEOs combined with synthetic acaricides (looking for synergistic interactions), the development of formulations and the evaluation of the application safety for animals, humans and environment. *In vitro* tests were carried out with 116 populations of ticks from all regions of Brazil, with 14 synthetic products, and those with 50-80% efficacy was chosen, having only one active ingredient. Subsequently, the products based on amitraz and chlorfenvinphos were tested in binary combinations with (*E*)-cinnamaldehyde in a tick strain, called CM strain, which showed better results for amitraz. The best association of (*E*)-cinnamaldehyde and amitraz was used in pharmacotechnical studies for the development and characterization of formulations, evaluating the *in vitro* and *in vivo* efficacy to control *R. microplus* infestations and clinical safety for cattle. The approach of combining this CEO and the synthetic product improved the effectiveness of the latter (reaching 86%) in engorged females (*in vitro*), but in the field study with application on animals, (*E*)-cinnamaldehyde caused intoxication in cattle. Future research, seeking to reduce the toxicity of formulations with (*E*)-cinnamaldehyde, deserves to be investigated.

Keywords: Cattle tick, cinnamon, essential oil, phenylpropanoid

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os carrapatos ixodídeos são ectoparasitos pertencentes ao subfilo Chelicerata, subclasse Acari, superordem Parasitiformes e ordem Ixodida, sendo classificados em quatro famílias: Ixodidae (722 espécies), Argasidae (208 espécies), Nuttalliellidae (uma espécie) e uma família extinta, presente no registro fóssil, denominada Deinocrotonidae^{1,2}. Os carrapatos são artrópodes hematófagos obrigatórios que atuam como transmissores de patógenos aos animais e aos seres humanos e, por isso, apresentam grande importância para saúde animal e saúde pública³.

Entre os mais importantes, destaca-se *Rhipicephalus microplus*, que foi descrito inicialmente infestando ruminantes no sul da Ásia^{4,5} e, com o transporte de gado desse continente para outras localidades no mundo, como Austrália e Américas Central e do Sul⁶, acabou colonizando outras regiões. Esse processo ocorreu principalmente entre os séculos XVII e XVIII, em que bovinos zebuínos foram levados da Índia para as Américas, onde houve cruzamentos com bovinos de origem ibérica⁷. Por meio de análises genéticas, o complexo *R. microplus* foi dividido em cinco táxons, localizados em países subtropicais e tropicais (entre os paralelos 32°N e 32°S)⁸, são eles; *Rhipicephalus annulatus* (Irã, Iraque, Israel e Romênia), *R. microplus* clado A ou stricto sensu (Américas Central e do Sul, África e sudeste asiático), *R. microplus* clado B (China e norte da Índia), *R. microplus* clado C (Índia, Malásia, Bangladesh, Mianmar e Paquistão) e *Rhipicephalus australis* (Austrália, Indonésia e Nova Caledônia)⁹⁻¹³.

A espécie *R. microplus* causa danos diretos nos hospedeiros em que parasita pelo hábito de hematofagia, sendo o carrapato que causa as maiores perdas econômicas na pecuária em todo o mundo¹⁴. Além dos prejuízos diretos relacionados a hematofagia, *R. microplus* também atua como vetor de patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e *Anaplasma marginale*, agentes etiológicos causadores da babesiose e anaplasmosose bovina (complexo tristeza parasitária bovina)^{15,16}.

No Brasil, estimativas de 2014 apontavam que as perdas econômicas anuais devido ao parasitismo de *R. microplus* na pecuária bovina eram de 3,24 bilhões de dólares, decorrentes da diminuição da produção leiteira, perda de peso¹⁷, morte dos animais, além da redução do valor do couro em 20 a 30% e gastos com o manejo e tratamento dos bovinos¹⁸. Dados de 2021 apontavam o Brasil com um rebanho aproximado de 224,6 milhões de bovinos¹⁹, representando o maior rebanho comercial do mundo^{20,21} e com produção anual de mais de 35 bilhões de litros de leite¹⁹.

Baseado na metodologia proposta por Grisi et al. (2014) e considerando o rebanho bovino brasileiro de 2021¹⁹, com os valores das médias do mês de abril de 2022 para o dólar²², para o litro de leite²³ e para o quilo de carne²⁴, as perdas econômicas anuais superam 8,1 bilhões de dólares, um aumento de 151% em sete anos.

Para pecuária bovina se manter nessa posição de destaque e com essa produtividade, foi necessário no Brasil a adoção de medidas de manejo e controle de *R. microplus*, que é realizado quase que exclusivamente com o uso de carrapaticidas sintéticos. Contudo, o uso contínuo e as vezes inapropriado desses produtos no decorrer de décadas resultou na seleção de indivíduos resistentes²⁵⁻³⁰. Existem, em 2022, registros de populações resistentes a quase todas as classes de acaricidas disponíveis no mercado, além de populações de *R. microplus* multiresistentes²⁵⁻³⁰.

Pesquisas para o desenvolvimento de novas tecnologias para controle de carrapatos têm sido desenvolvidas a partir da utilização de vacinas^{16,18,31,32}, de agentes de controle biológico³³ e de óleos essenciais (OEs)³⁴⁻⁴¹. Elas ocorrem devido ao cenário de resistência de *R. microplus* aos carrapaticidas e a demanda do mercado consumidor por produtos provenientes de uma produção sustentável, alinhadas aos conceitos de sustentabilidade e de Saúde Única, que sejam livres de resíduos e que tenham menor impacto ao meio ambiente.

O estudo de biopesticidas tem crescido ano a ano, com perspectiva de representar 20% de todo mercado de pesticidas até o ano 2025⁴². O uso de OEs de plantas commodities, como *Cinnamomum zeylanicum* e *Thymus vulgaris* é liderado pelos Estados Unidos⁴². A Índia, por sua vez, tem o maior número de produtores orgânicos e o maior volume de pesquisas, enquanto o Brasil encontra dificuldade no registro desses biopesticidas em função da parte regulatória envolvendo os Ministérios da Saúde, do Meio Ambiente e da Agricultura⁴².

Os OEs são sintetizados por meio das vias metabólicas secundárias das plantas aromáticas e apresentam cerca de 20 a 60 compostos (COEs) na sua composição química, que apresentam importante papel na defesa contra predadores e patógenos⁴³. Além desse papel, os COEs podem apresentar diferentes mecanismos de ação contra artrópodes, inibindo nesses a reprodução, a alimentação e a síntese de quitina, o que os tornam interessantes, isolados ou em combinações, contra artrópodes resistentes⁴⁴. A maior parte desses compostos são classificadas em terpenoides (mono e sesquiterpenos) e fenilpropanoides, e essa classificação se dá de acordo com a via metabólica na espécie botânica⁴³. Os OEs com atividade acaricida geralmente são extraídos de plantas nativas de regiões tropicais e subtropicais¹⁸.

A canela (*C. zeylanicum*) contém OEs e compostos, como o cinamaldeído, o trans-cinamaldeído, o eugenol, o linalol, o cinamato e o ácido cinâmico⁴⁵. Representando os maiores constituintes do OE da casca da canela, o fenilpropanoide cinamaldeído e sua forma trans (*E*) são responsáveis pela fragrância e pelas atividades biológicas como: efeito antioxidante, redutor de colesterol e lipídio, anti-inflamatório, antifúngico, antimicrobiano, nematicida, larvicida e inseticida⁴⁵. O OE da canela também possui propriedades acaricidas/carrapaticidas^{3,46-49}. A combinação de OEs e seus compostos com pesticidas sintéticos tem apresentado interações sinérgicas para controle de carrapatos^{50,51}, como o monoterpene timol sobre as espécies de carrapatos *R. annulatus* (associado a deltametrina e eucaliptol)⁵⁰ e *R. microplus* (associado a cipermetrina)⁵¹.

Mesmo com algumas pesquisas avaliando a utilização de OEs ou seus compostos em estudos de campo, investigações avaliando interações sinérgicas (carrapaticidas sintéticos + OEs ou COEs) e avaliações de segurança clínica em animais ainda são escassas³. Por isso, são necessários para o avanço dessa linha de pesquisa, estudos de campo avaliando a segurança dos produtos, bem como a eficácia dos OEs e COEs em combinações com carrapaticidas sintéticos para controle das infestações de *R. microplus* em bovinos⁵¹.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Rhipicephalus microplus*: origem e ciclo de vida

O carrapato *R. microplus* foi introduzido nas Américas por intermédio das expedições europeias, juntamente com a importação de bovinos, seus principais hospedeiros^{1,53}. Essas importações, com origem na Índia ou na África, ocorreram entre os séculos XVI e XVII^{1,53}. É um parasito monoxeno (somente um hospedeiro), com o ciclo de vida dividido em duas fases, fase não parasitária (no ambiente) e fase parasitária (no animal) (Figura 1)¹.

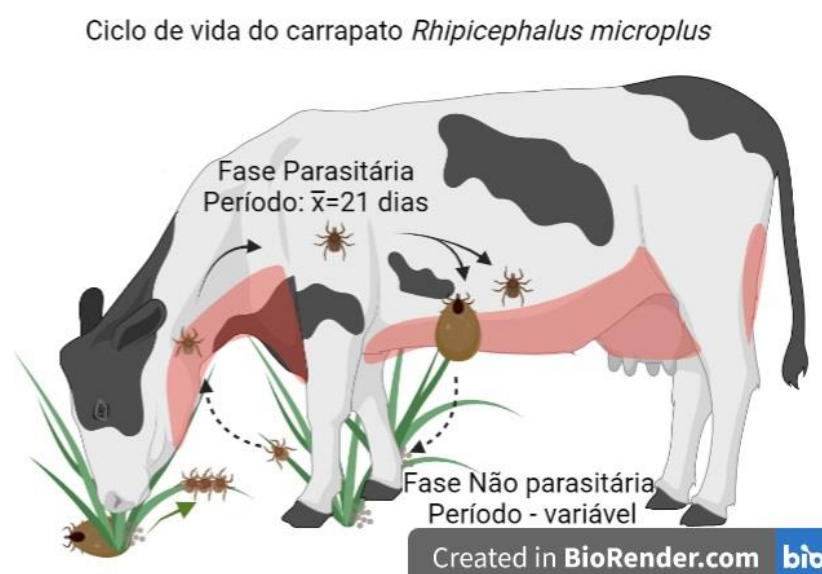


Figura 1 – Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus microplus*, dividido em duas fases: Parasitária (no animal) e Não Parasitária (no ambiente). Áreas em vermelho representam locais nos bovinos em que o número de carrapatos é encontrado em maior quantidade.

A fase não parasitária tem duração variável em função das condições climáticas⁵⁴. Essa fase inicia-se no solo, após o desprendimento da fêmea ingurgitada do animal e, no solo, ela procura abrigo em local fresco e sombreado para realização da postura dos ovos. A postura de aproximadamente 3.000 ovos e a eclosão das larvas ocorre no período aproximado de 60 dias nos meses mais quentes e úmidos, podendo dobrar esse período nos meses mais frios e secos⁵⁵. Até cinco gerações anuais em regiões tropicais já foram observadas^{56,57}, devido a fatores como insolação, temperatura máxima do ambiente, pluviosidade e déficit de saturação da atmosfera⁵⁶. Dentre eles, o principal fator é a temperatura; pois o calor é responsável por acelerar a fase não

parasitária, e o frio pode, inclusive, interromper os estágios dessa fase ou, caso a fêmea ingurgitada permaneça viva, iniciar a postura somente quando a temperatura se elevar a 20°C⁵⁸.

O período de pré-oviposição no solo inicia-se em aproximadamente quatro dias no verão e 10 dias no inverno, e a duração desse estágio, assim como o período de incubação, são minimizados em condições de temperatura mais elevada. A umidade baixa prejudica o período de embriogênese e a luz solar direta sob os ovos diminui a taxa de eclosão⁵⁸. A quantidade de ovos tem relação direta com a quantidade de sangue ingerido pela fêmea e, quanto maior for a quantidade, menor a perda de umidade e mais viável eles se tornam. Ao eclodirem, as larvas se deslocam e se mantêm juntas no ápice das folhas da vegetação, à espera do hospedeiro, no período de temperatura mais amena (início da manhã ou final da tarde)⁵⁸.

A fase parasitária, por sua vez, tem duração aproximada de 21 dias⁵⁴, iniciando-se quando a larva se prende ao animal e inicia o repasto sanguíneo⁵⁵. Após o processo de alimentação ocorre a troca de cutícula, passando ao estágio de ninfa, que também vai se alimentar e após nova ecdise, passará a fase adulta⁵⁸. Na fase parasitária os estágios de larvas, ninfas e adultos são mais ativos⁵⁴, e é no estágio adulto que ocorre a cópula dos carrapatos sobre os bovinos, quando as fêmeas começam o processo de ingurgitamento (aumentando cerca de 200 vezes o seu peso), despreendendo-se dos seus hospedeiros nas primeiras horas da manhã e caindo sobre o solo⁵⁵.

2.2 Controle de *Rhipicephalus microplus* com carrapaticidas sintéticos

Ao parasitar os bovinos, *R. microplus* é capaz de transmitir agentes patogênicos causadores de doenças, reduzir nos animais a produção de leite e o ganho de peso, além de danificar o couro, impactando economicamente a atividade pecuária^{14,15}. O controle desse carrapato iniciou-se com o uso do grupo sintético arsenical²⁷, porém o uso contínuo desse produto fez com que alguns indivíduos das populações fossem selecionados (habilidade de sobreviver e se multiplicar), fenômeno conhecido como resistência¹⁴. A resistência aos arsenicais contribuiu para a introdução de novos grupos sintéticos, como os organoclorados, organofosforados, carbamatos, amidínicos, piretroides, lactonas macrocíclicas, neonicotinoides, reguladores de crescimento, fenilpirazóis e mais recentemente as isoxazolinás. Apesar do desenvolvimento de carrapaticidas com ingredientes ativos de diferentes classes químicas, a resistência já foi relatada para quase todas elas⁵⁹.

Mesmo diante desse cenário desafiador, o controle é realizado quase que exclusivamente com o uso de acaricidas sintéticos sobre o hospedeiro. Após instalada a resistência,

as alternativas para contorná-la são discutíveis e com possibilidade de graves efeitos colaterais, como o aumento da concentração do produto, da frequência dos tratamentos, da associação entre os grupos químicos e da troca do grupo químico⁵⁵. A resposta ao aumento da concentração e da frequência de uso desses carrapaticidas menos eficientes é a ampliação do processo de resistência e maiores são os danos ao meio ambiente e as espécies não-alvos⁶⁰. Para otimizar o controle, torna-se necessário conhecer a biologia e a interação desse carrapato com o meio ambiente e hospedeiro, no intuito de realizar o controle no período desfavorável de sobrevivência deste na pastagem (fase não parasitária)⁶¹.

Além disso, utilizar o teste de sensibilidade aos carrapaticidas (teste de imersão de adultos), que consiste em coletar nos animais (estes sem contato, durante o tempo de ação, com produtos que possam interferir no resultado) fêmeas ingurgitadas e avaliar se elas são afetadas negativamente pelos grupos químicos disponíveis⁵⁵. Todas essas medidas aumentam o sucesso do tratamento, associado ao banho carrapaticida realizado de forma adequada (dose, associação entre grupos químicos, volume por animal, homogeneização da calda, horário e equipamento de aplicação, pressão, segurança do aplicador), assim como o intervalo e número de aplicações⁶². O processo de resistência colaborou para o surgimento de novas tecnologias de controle, como o uso de vacinas^{31,32}, de controle biológico³³ e de produtos botânicos^{34,35}.

2.3 Substâncias de origem vegetal no controle de carrapatos

Existem relatos que desde 400 aC as plantas eram utilizadas para o controle de pragas, sendo que algumas dessas foram utilizadas como modelo para o desenvolvimento de acaricidas sintéticos⁶³. A utilização de produtos botânicos, como os OEs, tem recebido especial atenção por representarem uma alternativa de controle com eficácia documentada em insetos e ácaros^{64,65}. Os OEs foram extraídos pela primeira vez pelos árabes, na Idade Média, por vapor ou hidrodestilação de partes das plantas aromáticas. A qualidade, quantidade e composição dos OEs variam com o tipo de solo, com características da planta (idade, órgão e ciclo vegetativo) e com o clima⁶⁶.

Os OEs são metabólitos secundários dessas plantas e, para elas, conferem proteção: por sua ação contra vírus, fungos, bactérias, insetos e herbívoros predadores; e perpetuação da espécie: por atraírem polinizadores e dispersores de sementes. Os OEs são lipossolúveis, voláteis e apresentam em sua composição uma mistura de 20 a 60 componentes, que são em sua maioria quimiotipados por cromatografia gasosa e analisados por espectrometria de massas⁶⁶. Devido aos

seus diferentes mecanismos de ação ou pela sinergia entre eles, esses componentes constituem uma opção no controle de populações resistentes aos carrapaticidas sintéticos, além de possuírem capacidade de rápida biodegradação de seus resíduos e possibilidade de baixa toxicidade para organismos não-alvos⁶³.

Os componentes dos OEs são divididos de acordo com sua origem biossintética em dois grupos, o menos frequente é representado pelos derivados fenilpropânicos (compostos aromáticos e alifáticos) e o principal representado pelos terpenos e terpenoides, que são combinações de várias unidades de base de cinco carbonos⁶⁶. A imersão, o contato físico com as superfícies tratadas e o vapor dos OEs afeta a sobrevivência ou causa repelência nos ectoparasitos artrópodes, controlando-os⁶⁴. A eficácia dos OEs foi comprovada para controle de ácaros, moscas, piolhos, pulgas e carrapatos⁶⁴.

Testes *in vitro* foram realizados em carrapatos que causam impacto econômico e que representam importância médico-veterinária. Espécies que causam impacto econômico na veterinária, como *R. microplus*, tiveram fêmeas ingurgitadas afetadas pelos OEs de *Cuminum cyminum*, de *Cordia verbenacea* e de *Alpinia zerumbet*, assim como as suas larvas com a utilização de OEs de *Arisaema anurans*, de *Bursera graveolens* e de *Hesperozygis myrtoides*, com 100% de mortalidade nos respectivos estágios⁵². Adultos de *Hyalomma anatolicum* foram totalmente controlados com OE de *Azadirachta indica*, enquanto pouco mais de 50% de adultos de *R. annulatus* foram controlados com OE de *Leucas aspera*⁴⁴. A espécie *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.), foi afetada pelo OE de *Schinus molle* (2% de concentração), com 99% de mortalidade das larvas, bem como foram observadas alterações morfológicas e histoquímicas com OE de *A. indica* (20-60% de concentração) e 84 a 88% de repelência com OE de *Cocos nucifera*. Esse último OE também causou repelência em carrapatos da espécie *Amblyomma americanum* (acima de 95% para concentrações superiores a 0,625%), da mesma forma que o OE de *Anthemis melampodina* (80% para concentração de 2%) e *Origanum onites* (acima de 66% para concentração de 0,103 mg/cm²)⁵².

O OE de canela (*C. zeylanicum*) e seu composto (*E*)-cinamaldeído (derivado fenilpropânico), na concentração de 2,5 µL/mL, causou percentual de mortalidade de 100 e 95%, respectivamente, contra larvas de *R. microplus* no teste de pacote larval⁶⁷. O teste de imersão de adultos, realizado em fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, demonstrou 88,9 e 73,4% de mortalidade na mesma concentração, para o OE de canela e o (*E*)-cinamaldeído, respectivamente⁶⁷. Em testes

de pacote larval modificado, o (*E*)-cinamaldeído em concentrações acima de 2,5 µl/ml causou mortalidades acima de 98,5% em larvas de *R. microplus* e *D. nitens*⁶⁸. Em *A. sculptum*, entretanto, essa mesma concentração causou mortalidade de 81,6% em larvas e não causou mortalidade em ninfas, sendo nesse estágio encontrado mortalidade de 64% na concentração de 20 µl/ml⁶⁹. Em larvas de *R. sanguineus*, por sua vez, o (*E*)-cinamaldeído na concentração de 2,5 µl/ml causou 100% de mortalidade⁶⁹.

O OE de canela e seu composto são utilizados nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, com uso estimado no ano de 2005 entre 100 e 1.000 toneladas por ano⁷⁰. Entre os anos 2005 e 2020, a produção anual de canela aumentou 26,5%, passando para 222.122 toneladas no mundo, produzida quase que exclusivamente no continente asiático (98,2%) e com as Américas responsáveis por apenas 138 toneladas⁷¹ (Figura 2). Apesar da baixa representatividade da canela nas Américas, é importante ressaltar que o território brasileiro detém 55% de todas as espécies de plantas terrestres endêmicas, com 10% de todas as espécies de plantas conhecidas pela ciência, e com grandes áreas desse país que nunca foram visitadas por um botânico, o que pode aumentar ainda mais essa proporção e favorecer o país na produção de outros OEs⁷². Apesar de serem considerados mais seguros quando comparados aos carrapaticidas sintéticos, os OEs e seus componentes podem ser tóxicos aos animais e humanos, além de outras espécies não-alvos⁷³.

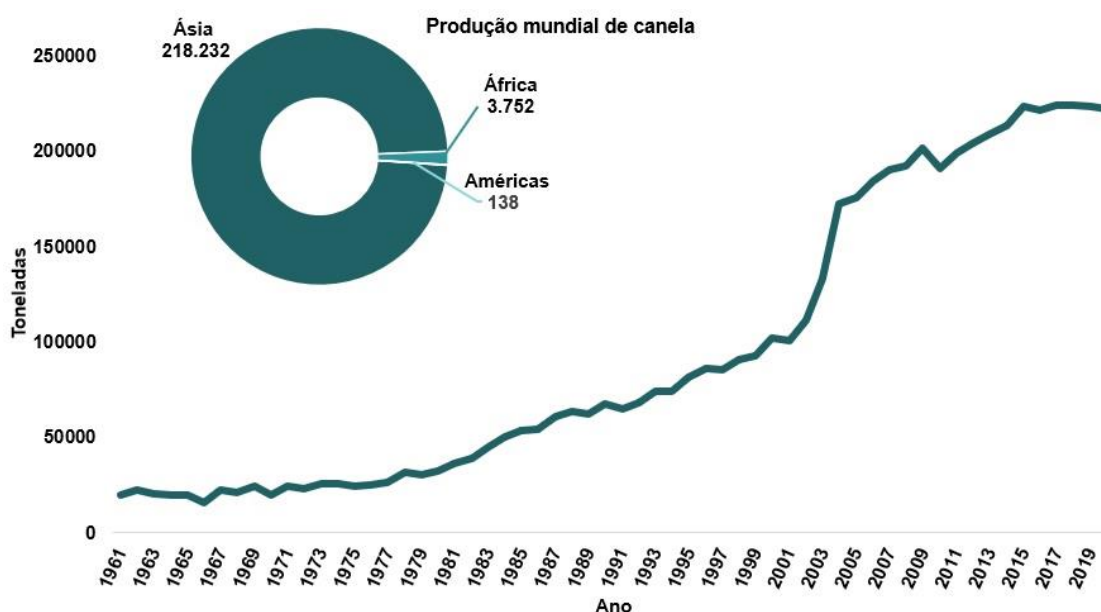


Figura 2 – Produção (por ano, por continentes) mundial de canela (*Cinnamomum* spp.) entre os anos 1961 e 2020 (toneladas). Fonte: Adaptado de Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022

2.4 Efeitos biológicos e mecanismos de ação dos óleos essenciais nos carrapatos

Dentre os 20 a 60 componentes presentes nos OEs, apenas dois ou três apresentam concentrações mais altas (até 70%) e definem suas propriedades biológicas acaricidas e o efeito repelente⁶⁶. Os OEs e seus compostos atuam de maneiras diversas nos artrópodes, afetando neles a glândula salivar (impedindo a alimentação), influenciando os hormônios reguladores do crescimento, inibindo a formação de quitina, reduzindo a função reprodutiva (interrupção do acasalamento, má formação de oócitos e inibindo a oviposição), causando a mortalidade em algum estágio (ovo, larva, ninfa ou adulto), sendo que os estágios larvais podem apresentar maior susceptibilidade possivelmente pela fina espessura da cutícula^{44,52,73}. Devido ao grande número de constituintes, os OEs podem ter diversos alvos e ações, desde danos a membrana plasmática, citoplasma e núcleo (que ocorre em bactérias, vírus e fungos) a neurotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade (que ocorre em insetos). O efeito dos OEs pode ser devido a um componente majoritário ou a sinergia entre os diversos constituintes, com os constituintes em menor proporção modulando a atividade dos componentes principais⁶⁶.

O OE de *Satureja montana* (41,5% de carvacrol) afetou os oócitos em estágios iniciais de fêmeas de *R. microplus*, o que prejudicou a sobrevivência dos ovos ou o desenvolvimento de larvas⁷⁴. Queiroz et al. (2020) observaram esse mesmo efeito com o composto 1,8-cineol e OE de *Ricinus communis* em ovários de *R. microplus*³⁴, assim como König et al. (2019), que também observou o mesmo em estudo com o acetato de carvacrol⁷⁴. O timol, substância encontrada nos OEs de plantas do gênero *Thymus* e *Lippia*, ocasionou alterações morfológicas no singânglio de fêmeas (causando picnose nos núcleos), órgão de Gené, além de dilatar os ácinos tipo I de glândulas salivares de *R. sanguineus* s.l.^{76,77}. O OE de *Lippia sidoides* e *Lippia gracilis* interferiram na vitelogênese, afetando o desenvolvimento embrionário de fêmeas de *R. microplus*⁷⁸. O OE de *Cymbopogon citratus* encolheu o intestino médio de larvas, ninfas e adultos de *Haemaphysalis longicornis*, causou o bloqueio das aerópilas do espiráculo por secreções líquidas e alterações cuticulares, assim como distúrbios sensitivos e rupturas cuticulares na forma de rachaduras³⁷. O (*E*)-cinamaldeído e o α -bisabolol (presente no OE de camomila e candeia) interagiu sob o perfil lipídico do corpo gorduroso e ovos de *R. microplus*, e não demonstraram resistência cruzada com os acaricidas comerciais nas populações testadas^{79,80}.

O mecanismo de ação dos OEs sobre os carrapatos não é totalmente conhecido, mas existem dados indicando que eles possuem atividade sobre as enzimas acetilcolinesterase

(AChE)⁸¹⁻⁸⁴, butirilcolinesterase⁸¹, glutathione S-transferase (GST) e carboxilesterase (CarE)⁸⁴, além da atuação sobre os receptores octopaminérgicos⁸⁵. Entre os monoterpenos, os compostos presentes nos OEs como timol, carvacrol, citral, eucaliptol e R-(-)-carvona inibiram a AChE em *R. microplus*⁸⁶. O mesmo efeito de inibição da AChE foi relatado para timol, eucaliptol e a combinação entre timol+eucaliptol em *R. annulatus*, exercendo ainda ação de estresse oxidativo, causando a peroxidação lipídica⁸⁷. Os OEs de *S. montana*, *Myristica fragrans* e *Cymbopogon flexuosus* também inibiram a AChE em *R. sanguineus*⁸⁸.

O estragol, constituinte majoritário de OE de *Ocimum basilicum* (80%), é capaz de promover a penetração de outras drogas através da pele e membranas e apresentar efeitos inibitórios sobre a AChE em *Hyalomma scupense*, assim como os OEs de *Cupressus sempervirens* e *Mentha pulegium*^{89,90}. Em *H. longicornis*, a resposta molecular foi mais exacerbada com OE de *C. citratus* em comparação ao seu constituinte citronelal, embora ambos tenham demonstrado efeito neurotóxico (estresse oxidativo ligado aos canais de cálcio) e citotóxico (apoptose)⁹¹, com alterações no intestino médio, tegumento e órgão de Haller⁹². Alterações citotóxicas também foram responsáveis pelos danos no sistema reprodutivo em *R. microplus* com o uso de OE de *S. montana*⁷⁴. Terpenoides oxigenados, como a pulegona, são capazes de atuar como agonista dos receptores octopaminérgicos, enquanto o álcool piperonílico, o 1,4-cineol, o carvacrol e o isoeugenol atuam nesses receptores como moduladores, aumentando a atividade do ligante endógeno dos receptores de tiramina, mas sem efeito significativo por conta própria⁹³.

2.5 Associação dos óleos essenciais e substâncias presentes nos óleos essenciais

O desenvolvimento de resistência aos acaricidas neurotóxicos sintéticos e a restrição da utilização de algumas bases como organoclorados, organofosforados e piretroides em virtude da toxicidade ao meio ambiente e a saúde humana têm aumentado a busca por soluções alternativas, como a utilização de OEs. A composição química dos OEs pode determinar sua eficácia acaricida sobre os vários estágios dos parasitas⁶⁴. Além disso, há evidências que os OEs possuem melhor atividade acaricida quando comparado aos seus constituintes isolados, sugerindo o sinergismo entre os componentes ali presentes^{78,94}.

Estudos avaliando a eficácia carrapaticida da associação de OEs e substâncias presentes nos OEs foram realizados por diversos pesquisadores^{48,95-97}, demonstrando que o genótipo de cada planta interfere na expressão fenotípica (constituição química dos OEs), influenciando a atividade

acaricida^{98,99}. No estudo *in vitro* de Jyoti et al. (2019) foi relatado efeito sinérgico e/ou aditivo entre os OEs de canela, de capim-limão e de cravo (1:1:1) ou entre dois deles (1:1), avaliado pelo ganho na redução da dose individual, contra larvas de *R. microplus*, nas concentrações de 1% (cravo + capim limão) e 0,5% (demais associações). Além disso, perceberam que, quando avaliados de forma isolada, o OE de canela (64,4% cinamaldeído) apresentou o melhor efeito acaricida, com a menor concentração letal 50 (CL₅₀) = 0,086%⁴⁸.

A inibição da oviposição de fêmeas de *R. microplus* foi mais acentuada (52,8%) na associação (1:1) com 2,5% dos OEs de *Laurus nobilis* e *Copaifera officinalis* do que cada um dos óleos separadamente, com o triplo de inibição quando comparado ao óleo de *L. nobilis* (16,6%) e aproximadamente o dobro quando comparado ao *C. officinalis* (33,3%), indicando que esses OEs agem sinérgicamente¹⁰⁰. Efeito antagônico, porém, foi percebido por Shezryna et al. (2020), que ao associarem (1:1) o OE de *Citrus hystrix* ao OE de *C. citratus* (0,5 a 40%), perceberam que o OE de *C. hystrix* reduziu o efeito de *C. citratus* sobre larvas de *R. microplus*. O fator de sinergismo (CL₅₀ OE isolado / CL₅₀ associação) após 24 horas foi de 7,9 para *C. citratus* e 0,8 para *C. hystrix*, sendo que os valores maiores que um indicavam sinergismo e menores indicavam antagonismo¹⁰¹.

Os OEs de três espécies de orégano foram avaliados (*O. onites*, *O. majorana* e *O. minutiflorum*) contra larvas de *R. annulatus*, em concentrações de 0,312 a 10%, e a associação dos três OEs (1:1:1) mostrou atividades tóxicas e repelentes mais altas do que o óleo isoladamente ou combinações de quaisquer dois óleos (1:1), demonstrando a menor CL₅₀ (4 µL/mL) e sugerindo efeitos sinérgicos com baixas doses¹⁰². A associação (1:1) com 2,5 mg/mL de OEs de *Cupressus sempervirens* e *M. pulegium* apresentou efeito acaricida e repelente contra larvas e adultos de *H. scupense* maior do que o uso individual, e com inibição da enzima AChE. A mortalidade para adultos de *H. scupense* foi de 51,4% para a associação dos OEs, 29,9% para *C. sempervirens* e 18,0% para *M. pulegium*⁹⁰.

Comparado ao uso individual de cada composto, concentrações de timol (20,0 mg/mL), carvacrol (15,0 mg/mL) e eugenol (15,0 mg/mL) foram reduzidas (5,0 mg/mL) para se alcançar uma taxa de mortalidade aproximada de 95% contra larvas e ninfas de *Amblyomma sculptum*, demonstrando o efeito sinérgico das combinações binárias (1:1)⁹⁵. Já contra larvas de *R. microplus*, houve 100% de mortalidade (6,25 mg/mL) para as associações (1:1) de timol + eugenol, timol + carvacrol e carvacrol + eugenol¹⁰³.

Um percentual de mortalidade acima de 95% foi encontrado em larvas e ninfas de *R. sanguineus* s.l., não alimentadas e ingurgitadas, com a utilização da associação binária (1:1) de timol + eugenol (5.0 mg/mL). Além disso, essa associação permitiu diminuir em 66% a concentração de cada composto isolado (de 15 mg/mL para 5 mg/mL) e em até 33,5% o custo total (de US\$ 5,97 do composto isolado para US\$ 1,97 da associação)⁹⁶. Utilizando a CL₅₀ contra larvas de *A. sculptum* e *Dermacentor nitens*, a combinação (1:1) de timol e carvacrol teve efeito sinérgico, porém quando associados individualmente ao (*E*)-cinamaldeído (1:1), foi percebido efeito antagônico¹⁰⁴.

Utilizando a CL₃₀ contra ninfas e adultos de *H. longicornis*, a associação binária (1:1) de benzoato de benzila + (*E*)-cinamaldeído demonstrou maiores taxa de sinergia (3,42) e mortalidade (100%), quando comparado as associações binárias (1:1), terciárias (1:1:1) e quaternária (1:1:1:1) dos compostos benzoato de benzila, (*E*)-cinamaldeído, eugenol e linalol, todos presentes nos OEs de *Cinnamomum cassia* e *C. zeylanicum*. Além disso, essa associação indicou provável efeito mínimo para invertebrados não-alvos, como *Tenebrio molitor*, por meio de avaliações ecotoxicológicas. Apesar de apresentar os mesmos resultados de mortalidade que a associação binária de benzoato de benzila + (*E*)-cinamaldeído, as taxas de sinergia foram menores para as associações de benzoato de benzila + eugenol (3,18) e benzoato de benzila + eugenol + (*E*)-cinamaldeído (3,11)⁹⁷.

Embora não claramente compreendido, compostos naturais e bactericidas/acaricidas/inseticidas sintéticos podem exibir associações sinérgicas. Estudo de Rosário et al. (2019) demonstrou o sinergismo entre o antibiótico sintético doxicilina e o OE de *Ageratum conyzoides* contra o agente *Ehrlichia canis*, uma bactéria transmitida aos cães pelo carrapato *R. sanguineus*¹⁰⁵. Em um estudo *in vitro* com timol + cipermetrina (1300 µg/mL + 3700 µg/mL), Tavares et al. (2022) perceberam que substância timol potencializou a penetração cuticular do piretroide cipermetrina. O sinergismo pode estar associado ao aumento da concentração de cipermetrina nos tecidos de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, e o percentual de controle foi acima de 90% nas populações susceptíveis e resistentes ao piretroide⁵¹. Em estudos de campo, o sinergismo foi relatado por Arafa et al. (2021) com a associação da substância timol com o OE de eucalipto e o piretroide deltametrina (TE 5% - D 1mL/L) com 95% de eficácia em bovinos parasitados com o carrapato *R. annulatus*¹⁰⁶.

Em outros estudos de campo, como no estudo de Klafke et al. (2021), um produto comercial (6,25%) a base de OE de alecrim 10%, geraniol 5% e OE de hortelã-pimenta 2% teve 70% de eficácia em bovinos parasitados com larvas, ninfas e adultos de *R. microplus*¹⁰⁷. Esse mesmo produto, quando aplicado no ambiente (86,6 mL de ingrediente ativo /parcela), conseguiu suprimir 90% das ninfas de *Amblyomma americanum* e *Ixodes scapularis*¹⁰⁸. Amer e Amer (2020) obtiveram 100% de eficácia na prevenção da infestação por fêmeas de *R. sanguineus* em cães, ao administrar via oral um produto comercial a base de alicina + OE de *Allium sativum* + OE de *Brassica napus* (0,05 + 2,5 + 8%)¹⁰⁹.

Apesar do (*E*)-cinamaldeído (2,5 µL/mL) causar mortalidade acima de 95% em larvas^{67,68} e 73,4% em fêmeas de *R. microplus*⁶⁷, e demonstrar sinergismo com outros COEs contra *H. longicornis*⁹⁷, ainda não existem estudos com esse composto em combinações binárias com produtos sintéticos contra o carrapato *R. microplus*.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Fazer uma revisão de literatura dos estudos com óleos essenciais e compostos presentes nos óleos essenciais para controle de carrapatos em campo e semi-campo e avaliar o efeito da associação de carrapaticidas sintéticos com (*E*)-cinamaldeído para controle de *Rhipicephalus microplus*.

3.2 Objetivos específicos

- Desenvolver uma revisão sistemática reunindo os estudos publicados nos últimos 30 anos, com óleos essenciais para controle de carrapatos, com ênfase para os estudos a campo e semi-campo.
- Avaliar a suscetibilidade de populações de *R. microplus* a carrapaticidas comerciais (amidínicos, organofosforados e piretroides sintéticos e suas associações) e selecionar aqueles com eficácia de controle entre 50 e 80%.
- Avaliar os efeitos de combinações binárias dos acaricidas comerciais selecionados com o (*E*)-cinamaldeído no controle de larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* em laboratório em diferentes cepas de carrapato, selecionar aquele com resultado acima de 90% e testá-lo em condições de campo.
- Avaliar se a combinação binária do acaricida comercial selecionado com o (*E*)-cinamaldeído apresenta segurança para saúde de bovinos em estudo de campo.

REFERÊNCIAS

1. Nava S, Vanzal JM, González-Acuña D, Martins TF, Guglielmone AA. Ticks of the Southern Cone of America. 2017. 362 p.
2. Peñalver E, Arillo A, Delclòs X, Peris D, Grimaldi DA, Anderson SR, et al. Parasitized feathered dinosaurs as revealed by Cretaceous amber assemblages. *Nat Commun* [Internet]. 2017;8(1):1–13. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-01550-z>
3. Salman M, Abbas RZ, Israr M, Abbas A, Mehmood K, Khan MK, et al. Repellent and acaricidal activity of essential oils and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle. *Vet Parasitol* [Internet]. 2020;283:1–10. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109178>
4. Nuñez JL, Muñoz-Cobeñas ME, Moltedo HL. Introduction. In: *Boophilus microplus* - The Common Cattle Tick. Springer, Berlin, Heidelberg; 1985. p. 1–2.
5. Wharton RH, Utech KBW, Sutherst RW. Tick resistant cattle for the control of *Boophilus microplus*. In: Proceedings of the 3rd International Congress of Acarology. Prague; 1971. p. 697–8.
6. Hoogstraal H. The Epidemiology of Tick-Borne Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in Asia, Europe, and Africa. *J Med Entomol*. 1979;15(4):307–417.
7. Sanders JO. History and Development of Zebu Cattle in the United States. *J Anim Sci*. 1980;50(6):1188–200.
8. Garcia, M.V., Rodrigues, V.S., Koller, W.W., Andreotti, R., 2019. Biologia e importância do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, in: Carrapatos Na Cadeia Produtiva de Bovinos. Embrapa, Brasília, DF, pp. 17-27.
9. Labruna MB, Naranjo V, Mangold AJ, Thompson C, Estrada-Peña A, Guglielmone AA, et al. Allopatric speciation in ticks: Genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *BMC Evol Biol*. 2009;9(1):1–12.
10. Estrada-Peña A, Venzal JM, Nava S, Mangold A, Guglielmone AA, Labruna MB, et al. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. *J Med Entomol*. 2012;49(4):794–802.
11. Burger TD, Shao R, Barker SC. Phylogenetic analysis of mitochondrial genome sequences indicates that the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, contains a cryptic species. *Mol Phylogenet Evol* [Internet]. 2014;76(1):241–53. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympbev.2014.03.017>
12. Low VL, Tay ST, Kho KL, Koh FX, Tan TK, Lim YAL, et al. Molecular characterization of the tick *Rhipicephalus microplus* in Malaysia: New insights into the cryptic diversity and

- distinct genetic assemblages throughout the world. *Parasites and Vectors* [Internet]. 2015;8(1):1–10. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-015-0956-5>
13. Roy BC, Estrada-Peña A, Krücken J, Rehman A, Nijhof AM. Morphological and phylogenetic analyses of *Rhipicephalus microplus* ticks from Bangladesh, Pakistan and Myanmar. *Ticks Tick Borne Dis* [Internet]. 2018;9(5):1069–79. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.035>
 14. Abbas RZ, Zaman MA, Colwell DD, Gilleard J, Iqbal Z. Acaricide resistance in cattle ticks and approaches to its management: The state of play. *Vet Parasitol* [Internet]. 2014;203(1–2):6–20. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.03.006>
 15. Costa FB, Martins TF, Muñoz-Leal S, de Azevedo Serpa MC, Ogrzewalska M, Luz HR, et al. Retrospective and new records of ticks (Acari: Argasidae, Ixodidae) from the state of Maranhão, an Amazon-Cerrado transition area of Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Reports* [Internet]. 2020;21:100413. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100413>
 16. Parizi LF, Githaka NW, Logullo C, Konnai S, Masuda A, Ohashi K, et al. The quest for a universal vaccine against ticks: Cross-immunity insights. *Vet J*. 2012;194(2):158–65.
 17. Grisi L, Leite RC, Martins JR de S, de Barros ATM, Andreotti R, Cançado PHD, et al. Reavaliação do potencial impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2014;23(2):150–6.
 18. Kiss T, Cadar D, Spînu M. Tick prevention at a crossroad: New and renewed solutions. *Vet Parasitol* [Internet]. 2012;187(3–4):357–66. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.02.010>
 19. Brasil. Principais resultados - 2021 [Internet]. Pesquisa de Pecuária Municipal. IBGE; 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=destaques>
 20. USDA. Livestock and poultry: world markets and trade. United States Dep Agric Foreign Agric Serv [Internet]. 2020;15. Disponível em: http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.PDF
 21. Saraiva A. Pesquisa da Pecuária Municipal. Agência IBGE notícias [Internet]. 2019;1–5. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/25483-rebanho-bovino-reduz-em-2018-em-ano-de-crescimento-do-abate-e-exportacao>
 22. Brasil. Cotações e boletins: Cotação de moedas - Dólar dos EUA [Internet]. Banco Central do Brasil. 2022 [Acessado 8 Jun 2022]. p. 1–2. Disponível em: <https://www.bcb.gov.br/estabilidadefinanceira/historicocotacoes>
 23. ESALQ/USP. Leite ao Produtor CEPEA/Esalq (R\$/Litro) Preço Médio Brasil [Internet]. CEPEA. 2022 [Acessado 8 Jun 2022]. p. 1–2. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/leite.aspx>

24. ESALQ/USP. Indicador do Boi Gordo CEPEA / B3 Série de Preços [Internet]. CEPEA. 2022 [Acessado 8 Jun 2022]. p. 1–2. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/indicador/boi-gordo.aspx>
25. Furlong J, Martins JR, Prata MCA. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? *A Hora Veterinária*. 2007;159:1–7.
26. Reck J, Klafke GM, Webster A, Dall’Agnol B, Scheffer R, Souza UA, et al. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: A field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet Parasitol* [Internet]. 2014;201(1–2):128–36. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.012>
27. Koller WW, De Oliveira L, Higa S, Pinheiro N, Leandra Z, Oshiro M, et al. Resistência dos carrapatos aos acaricidas. In: *Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos*. 2014. p. 147–58.
28. Higa L de OS, Garcia, M.V., Barros, J. C., Koller, W.W. Andreotti, R. Acaricide Resistance Status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: A Literature Overview. *Med Chem (Los Angeles)*. 2015;5(7):326–33.
29. Klafke G, Webster A, Agnol BD, Pradel E, Silva J, Canal LH de La, et al. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2017;8(1):73–80.
30. Valsoni LM, Freitas MG de, Echeverria JT, Borges DGL, Tutija J, Borges F de A. Resistance to all chemical groups of acaricides in a single isolate of *Rhipicephalus microplus* in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Int J Acarol* [Internet]. 2020;46(4):276–80. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01647954.2020.1765867>
31. Blecha IMZ, Csordas BG, Aguirre A de AR, Cunha RC, Garcia MV, Andreotti R. Analysis of Bm86 conserved epitopes: Is a global vaccine against cattle tick *Rhipicephalus microplus* possible? *Rev Bras Parasitol Vet*. 2018;27(3):267–79.
32. Ali A, Fernando Parizi L, Garcia Guizzo M, Tirloni L, Seixas A, Silva Vaz I da, et al. Immunoprotective potential of a *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* metalloprotease. *Vet Parasitol* [Internet]. 2015;207(1–2):107–14. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.11.007>
33. Fiorotti J, Gôlo PS, Marciano AF, Camargo MG, Angelo IC, Bittencourt VREP. Disclosing hemolymph collection and inoculation of *Metarhizium* blastospores into *Rhipicephalus microplus* ticks towards invertebrate pathology studies. *J Vis Exp*. 2019;2019(148):1–7.
34. Queiroz VT, Campos NC, Nunes ET, Costa A V., Coelho JD, Trivilin LO, et al. 1,8-cineole and castor oil in sodium lauryl ether sulphate disrupt reproduction and ovarian tissue of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Med Vet Entomol*. 2020;34(3):316–26.
35. Nogueira JAP, Figueiredo A, Duarte JL, de Almeida FB, Santos MG, Nascimento LM, et al. Repellency effect of *Pilocarpus spicatus* A. St.-Hil essential oil and nanoemulsion against

- Rhipicephalus microplus* larvae. Exp Parasitol [Internet]. 2020;215(May):107919. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2020.107919>
36. Minho AP, Domingues LF, Gainza YA, Figueiredo A, Boligon AA, Domingues R, et al. *In vitro* screening of plant extract on *Haemonchus contortus* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. J Essent Oil Res [Internet]. 2020;32(3):269–78. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1746414>
 37. Agwunobi DO, Pei T, Wang K, Yu Z, Liu J. Effects of the essential oil from *Cymbopogon citratus* on mortality and morphology of the tick *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). Exp Appl Acarol [Internet]. 2020;81(1):37–50. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00485-3>
 38. Medeiros JP, Bortollucci WC, Silva ES, Oliveira HLM, Campo CFAA, Gonçalves JE, et al. Biocidal potential of *Eugenia pyriformis* essential oil in the control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in the free-living cycle. Pesqui Vet Bras. 2019;39(11):879–88.
 39. Vasconcelos VO, Costa EGL, Moreira VR, Morais-Costa F, Duarte ER. Efficacy of plants extracts from the Cerrado against adult female of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). Exp Appl Acarol [Internet]. 2018;75(4):419–27. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0276-5>
 40. Figueiredo A, Nascimento LM, Lopes LG, Giglioti R, Albuquerque RDDG, Santos MG, et al. First report of the effect of *Ocotea elegans* essential oil on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Vet Parasitol [Internet]. 2018;252(February):131–6. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.02.018>
 41. Campos RN de S, Lima CBN, Oliveira AP, Araújo APA, Blank AF, Alves PB, et al. Acaricidal properties of vetiver essential oil from *Chrysopogon zizanioides* (Poaceae) against the tick species *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). Vet Parasitol [Internet]. 2015;212(3–4):324–30. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.022>
 42. Isman MB. A renaissance for botanical insecticides? Pest Manag Sci. 2015;71(12):1587–90.
 43. Pavela R, Benelli G. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. Trends Plant Sci [Internet]. 2016;21(12):1000–7. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
 44. Rosado-Aguilar JA, Arjona-Cambranes K, Torres-Acosta JFJ, Rodríguez-Vivas RI, Bolio-González ME, Ortega-Pacheco A, et al. Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. Vet Parasitol. 2017;238:66–76.
 45. Rao PV, Gan SH. Cinnamon: A multifaceted medicinal plant. Evidence-based Complement Altern Med. 2014;2014.

46. Santos DS dos, Boito JP, Santos RCV, Quattrin PM, Ourique AF, dos Reis JH, et al. Nanostructured cinnamon oil has the potential to control *Rhipicephalus microplus* ticks on cattle. *Exp Appl Acarol*. 2017;73(1):129–38.
47. Lazcano Díaz E, Padilla Camberos E, Castillo Herrera GA, Estarrón Espinosa M, Espinosa Andrews H, Paniagua Buelnas NA, et al. Development of essential oil-based phytoformulations to control the cattle tick *Rhipicephalus microplus* using a mixture design approach. *Exp Parasitol* [Internet]. 2019;201(April):26–33. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.008>
48. Jyoti, Singh NK, Singh H, Mehta N, Rath SS. *In vitro* assessment of synergistic combinations of essential oils against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Exp Parasitol* [Internet]. 2019;201(April):42–8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.04.007>
49. Lee SJ, Kim HK, Kim GH. Toxicity and effects of essential oils and their components on *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Exp Appl Acarol* [Internet]. 2019;78(1):65–78. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00363-7>
50. Arafa WM, Aboelhadid SM, Moawad A, Shokeir KM, Ahmed O, Pérez de León AA. Control of *Rhipicephalus annulatus* resistant to deltamethrin by spraying infested cattle with synergistic eucalyptus essential oil-thymol-deltamethrin combination. *Vet Parasitol*. 2021;290:1–8.
51. Tavares CP, Sousa IC, Gomes MN, Miró V, Virkel G, Lifschitz A, et al. Combination of cypermethrin and thymol for control of *Rhipicephalus microplus* : Efficacy evaluation and description of an action mechanism. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022;13:1–8.
52. Nwanade CF, Wang M, Wang T, Yu Z, Liu J. Botanical acaricides and repellents in tick control: current status and future directions [Internet]. Vol. 81, *Experimental and Applied Acarology*. 2020. 1–35 p. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00489-z>
53. Barré N, Uilenberg G. Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. *Rev Sci Tech*. 2010;29(1):149–60.
54. Apanaskevich DA, Oliver Jr JH. Life cycles and natural history of ticks. In: Sonenshine DE, Roe RM, editors. *Biology of Ticks*. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 2014. p. 59–74.
55. Furlong J. Carrapato : problemas e soluções. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; 2005. 65 p.
56. Nicaretta JE, Zapa DMB, Couto LFM, Heller LM, Cavalcante AS de A, Cruvinel LB, et al. *Rhipicephalus microplus* seasonal dynamic in a Cerrado biome, Brazil: An update data considering the global warming. *Vet Parasitol*. 2021;296:1–10.
57. Cruz BC, Mendes AF de L, Maciel WG, dos Santos IB, Gomes LVC, Felippelli G, et al. Biological parameters for *Rhipicephalus microplus* in the field and laboratory and estimation

- of its annual number of generations in a tropical region. *Parasitol Res.* 2020;119(8):2421–30.
58. Verissimo CJ. Controle de carrapatos nas pastagens. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia; 2015. 106 p.
 59. Agwunobi DO, Yu Z, Liu J. A retrospective review on ixodid tick resistance against synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and mitigation. *Pestic Biochem Physiol* [Internet]. 2021;173:1–17. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104776>
 60. Popp J, Pető K, Nagy J. Pesticide productivity and food security. A review. *Agron Sustain Dev.* 2013;33(1):243–55.
 61. Monteiro CM de O, Prata MC de A. Controle biológico do carrapato dos bovinos *Rhipicephalus microplus* com a utilização de nematóides entomopatogênicos: conquistas e desafios. In: Controle de carrapatos nas pastagens [Internet]. 2015. p. 46–68. Disponível em: www.iz.sp.gov.br
 62. Prata MC de A, Furlong J, Martins JR de S. Carrapato e vermes: inimigos do gado e do produtor. Circular Técnica 95. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; 2008. 1–6 p.
 63. Benelli G, Pavela R, Canale A, Mehlhorn H. Tick repellents and acaricides of botanical origin: a green roadmap to control tick-borne diseases? *Parasitol Res* [Internet]. 2016;115(7):2545–60. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-016-5095-1>
 64. Ellse L, Wall R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: A review. *Med Vet Entomol.* 2014;28(3):233–43.
 65. George DR, Finn RD, Graham KM, Sparagano OA. Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. *Parasites and Vectors.* 2014;7(1):1–12.
 66. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(2):446–75.
 67. Marchesini P, Oliveira DR de, Gomes GA, Rodrigues THS, Maturano R, Fidelis QC, et al. Acaricidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eremanthus erythropappus*, major compounds and cinnamyl acetate in *Rhipicephalus microplus*. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2021;30(3):1–14.
 68. Senra TDOS, Zeringóta V, Monteiro CMDO, Calmon F, Maturano R, Gomes GA, et al. Assessment of the acaricidal activity of carvacrol, (*E*)-cinnamaldehyde, trans-anethole, and linalool on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res.* 2013;112(4):1461–6.
 69. Senra TDOS, Calmon F, Zeringóta V, Monteiro CMO, Maturano R, Matos RDS, et al. Investigation of activity of monoterpenes and phenylpropanoids against immature stages of

- Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res. 2013;112(10):3471–6.
70. Bickers D, Calow P, Greim H, Hanifin JM, Rogers AE, Saurat JH, et al. A toxicologic and dermatologic assessment of cinnamyl alcohol, cinnamaldehyde and cinnamic acid when used as fragrance ingredients. Food Chem Toxicol. 2005;43(6):799–836.
 71. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Crops and livestock products. FAOSTAT [Internet]. 2022; Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>
 72. BFG (The Brazil Flora Group). Flora do Brasil 2020. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro; 2021. 1–28 p.
 73. Nwanade CF, Yu Z, Liu J. Botanical acaricides induced morphophysiological changes of reproductive and salivary glands in tick: A mini-review. Res Vet Sci [Internet]. 2020;132:285–91. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.07.008>
 74. Reis AC, König IFM, Rezende DA de CS, Gonçalves RRP, Lunguinho A da S, Ribeiro JCS, et al. Cytotoxic effects of *Satureja montana* L. essential oil on oocytes of engorged *Rhipicephalus microplus* female ticks (Acari: Ixodidae). Microsc Res Tech. 2021;84(7):1375–88.
 75. König IFM, Gonçalves RRP, Oliveira MVS, Silva CM, Thomasi SS, Peconick AP, et al. Sublethal concentrations of acetyl carvacrol strongly impact oocyte development of engorged female cattle ticks *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). Ticks Tick Borne Dis [Internet]. 2019;10(4):766–74. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.03.010>
 76. Matos RS, Daemon E, Monteiro CMO, Sampieri BR, Marchesini PBC, Delmonte C, et al. Thymol action on cells and tissues of the synganglia and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato females (Acari: Ixodidae). Ticks Tick Borne Dis [Internet]. 2019;10(2):314–20. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.11.003>
 77. Matos RS, de Oliveira PR, Coelho L, de Paula LGF, Zeringota V, Carvalho Silva B, et al. Thymol: Effects on reproductive biology and Gene's organ morphology in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato engorged females (Acari: Ixodidae). Ticks Tick Borne Dis [Internet]. 2020;11(1):101308. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101308>
 78. Penha T, Costa ACC, Lima A da S, Camargo-Mathias MI, Blank AF, Abreu-Silva AL, et al. Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). Vet Parasitol. 2021;299:1–8.
 79. Marchesini P, Lemos AS de O, Bitencourt R de OB, Fiorotti J, Angelo I da C, Fabri RL, et al. Assessment of lipid profile in fat body and eggs of *Rhipicephalus microplus* engorged females exposed to (*E*)-cinnamaldehyde and α -bisabolol, potential acaricide compounds. Vet Parasitol. 2021;300:1–9

80. Marchesini P, Novato TP, Cardoso SJ, de Azevedo Prata MC, do Nascimento RM, Klafke G, et al. Acaricidal activity of (*E*)-cinnamaldehyde and α -bisabolol on populations of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) with different resistance profiles. *Vet Parasitol.* 2020;286(August).
81. Costa-Júnior LM, Miller RJ, Alves PB, Blank AF, Li AY, Pérez AA, et al. Acaricidal efficacies of *Lippia gracilis* essential oil and its phytochemicals against organophosphate-resistant and susceptible strains of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. *Vet Parasitol* [Internet]. 2016;228:60–4. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.028>
82. Kobenan KC, Bini KKN, Kouakou M, Kouadio IS, Zengin G, Ochou GEC, et al. Chemical Composition and Spectrum of Insecticidal Activity of the Essential Oils of *Ocimum gratissimum* L. and *Cymbopogon citratus* Stapf on the Main Insects of the Cotton Entomofauna in Côte d'Ivoire. *Chem Biodivers.* 2021;18(11).
83. Keerthiraj M, Mandal A, Dutta TK, Saha S, Dutta A, Singh A, et al. Nematicidal and Molecular Docking Investigation of Essential Oils from *Pogostemon cablin* Ecotypes against *Meloidogyne incognita*. *Chem Biodivers.* 2021;18(9).
84. Gao Q, Song L, Sun J, Cao HQ, Wang L, Lin H, et al. Repellent action and contact toxicity mechanisms of the essential oil extracted from Chinese chive against *Plutella xylostella* larvae. *Arch Insect Biochem Physiol.* 2019;100(1):1–10.
85. Kostyukovsky M, Rafaeli A, Gileadi C, Demchenko N, Shaaya E. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: Possible mode of action against insect pests. *Pest Manag Sci.* 2002;58(11):1101–6.
86. Cardoso A dos S, Santos EGG, Lima A da S, Temeyer KB, Pérez de León AA, Costa LM, et al. Terpenes on *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: Acaricidal activity and acetylcholinesterase inhibition. *Vet Parasitol* [Internet]. 2020;280:1–5. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109090>
87. Arafa WM, Aboelhadid SM, Moawad A, Shokeir KM, Ahmed O. Toxicity, repellency and anti-cholinesterase activities of thymol-eucalyptus combinations against phenotypically resistant *Rhipicephalus annulatus* ticks. *Exp Appl Acarol* [Internet]. 2020;81(2):265–77. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00506-1>
88. Rezende DA de CS, Cardoso M das G, König IFM, Lunguinho A da S, Ferreira VRF, Brandão RM, et al. Repellent Effect on *Rhipicephalus sanguineus* and Inhibition of Acetylcholinesterase by Volatile Oils. *Rev Bras Farmacogn* [Internet]. 2021;31(4):470–6. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s43450-021-00198-7>
89. Alimi D, Hajri A, Jallouli S, Sebai H. Acaricidal and anthelmintic efficacy of *Ocimum basilicum* essential oil and its major constituents estragole and linalool, with insights on acetylcholinesterase inhibition. *Vet Parasitol* [Internet]. 2022;309:1–9. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109743>

90. Alimi D, Hajri A, Jallouli S, Sebai H. Phytochemistry, anti-tick, repellency and anti-cholinesterase activities of *Cupressus sempervirens* L. and *Mentha pulegium* L. combinations against *Hyalomma scupense* (Acari: Ixodidae). *Vet Parasitol* [Internet]. 2022;303:1–8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109665>
91. Agwunobi DO, Zhang M, Zhang X, Wang T, Yu Z, Liu J. Transcriptome profile of *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) exposed to *Cymbopogon citratus* essential oil and citronellal suggest a cytotoxic mode of action involving mitochondrial Ca²⁺ overload and depolarization. *Pestic Biochem Physiol*. 2021;179(September):1–17.
92. Agwunobi DO, Hu Y, Yu Z, Liu J. *Cymbopogon citratus* essential oil-induced ultrastructural & morphological changes in the midgut, cuticle & Haller's organ of the tick *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae). *Syst Appl Acarol*. 2020;25(11):2047–62.
93. Gross AD, Temeyer KB, Day TA, Pérez de León AA, Kimber MJ, Coats JR. Interaction of plant essential oil terpenoids with the southern cattle tick tyramine receptor: A potential biopesticide target. *Chem Biol Interact*. 2017;263:1–6.
94. Ndungu M, Lwande W, Hassanali A, Moreka L, Chhabra SC. *Cleome monophylla* essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellents. *Entomol Exp Appl*. 1995;76:217–22.
95. Vale L, de Paula LGF, Vieira MS, Alves S das GA, Junior NR de M, Gomes MDF, et al. Binary combinations of thymol, carvacrol and eugenol for *Amblyomma sculptum* control: Evaluation of *in vitro* synergism and effectiveness under semi-field conditions. *Ticks Tick Borne Dis*. 2021;12(6):1–8.
96. Coelho L, de Paula LGF, Alves S das GA, Sampaio ALN, Bezerra GP, Vilela FMP, et al. Combination of thymol and eugenol for the control of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato: Evaluation of synergism on immature stages and formulation development. *Vet Parasitol* [Internet]. 2020;277:1–8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108989>
97. Nwanade CF, Wang M, Li H, Masoudi A, Yu Z, Liu J. Individual and synergistic toxicity of cinnamon essential oil constituents against *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) and their potential effects on non-target organisms. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2022;178:1–9. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114614>
98. Soares AM dos S, Penha TA, de Araújo SA, Cruz EMO, Blank AF, Costa-Junior LM. Assessment of different *Lippia sidoides* genotypes regarding their acaricidal activity against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2016;25(4):401–6.
99. Chagas AC de S, Oliveira MC de S, Giglioti R, Santana RCM, Bizzo HR, Gama PE, et al. Efficacy of 11 Brazilian essential oils on lethality of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Ticks Tick Borne Dis* [Internet]. 2016;7(3):427–32. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2016.01.001>
100. Vinturelle R, Mattos C, Meloni J, Lamberti HD, Nogueira J, da Silva Vaz Júnior I, et al. Evaluation of essential oils as an ecological alternative in the search for control

- Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Vet Parasitol Reg Stud Reports. 2021;23(December 2019):1–7.
101. Shezryna S, Anisah N, Saleh I, Syamsa RA. Acaricidal activity of the essential oils from *Citrus hystrix* (Rutaceae) and *Cymbopogon citratus* (Poaceae) on the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* larvae (acari: Ixodidae). Trop Biomed. 2020;37(2):433–42.
 102. Aboelhadid SM, Abdel H, Hesham T. Synergistic larvicidal and repellent effects of essential oils of three *Origanum* species on *Rhipicephalus annulatus* tick. Exp Appl Acarol [Internet]. 2022;1–15. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-022-00737-4>
 103. Novato TLP, Marchesini P, Muniz N, Prata MC de A, Furlong J, Vilela FMP, et al. Evaluation of synergism and development of a formulation with thymol, carvacrol and eugenol for *Rhipicephalus microplus* control. Exp Parasitol [Internet]. 2019;207(August):1–4. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2019.107774>
 104. Novato TPL, Araújo LX, de Monteiro CMO, Maturano R, Senra T de OS, da Silva Matos R, et al. Evaluation of the combined effect of thymol, carvacrol and (E)-cinnamaldehyde on *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. Vet Parasitol [Internet]. 2015;212(3–4):331–5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.08.021>
 105. Rosário CJRM do, Rocha CQ da, Aguiar DM, Lima CAA, Silveira DPB, Leite JAC, et al. Anti-Ehrlichia properties of the essential oil of *Ageratum conyzoides* L. and its interaction with doxycycline. AMB Express [Internet]. 2019;9(58):1–9. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0780-y>
 106. Arafa WM, Aboelhadid SM, Moawad A, Shokeir KM, Ahmed O, Pérez de León AA. Control of *Rhipicephalus annulatus* resistant to deltamethrin by spraying infested cattle with synergistic eucalyptus essential oil-thymol-deltamethrin combination. Vet Parasitol. 2021;290:1–8.
 107. Klafke GM, Thomas DB, Miller RJ, Pérez de León AA. Efficacy of a water-based botanical acaricide formulation applied in portable spray box against the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae), infesting cattle. Ticks Tick Borne Dis. 2021;12(4).
 108. Schulze TL, Jordan RA. Synthetic pyrethroid, natural product, and entomopathogenic fungal acaricide product formulations for sustained early season suppression of host-seeking *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma americanum* nymphs. J Med Entomol. 2021;58(2):814–20.
 109. Amer AM, Amer MM. Efficacy and safety of natural essential oils mixture on tick infestation in dogs. Adv Anim Vet Sci. 2020;8(4):398–407.

CAPÍTULO 2

PESQUISAS COM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA CONTROLE DE CARRAPATOS: AVANÇOS ALÉM DO LABORATÓRIO

Pesquisas com óleos essenciais para controle de carrapatos: avanços além do laboratório

Bruno César Ferreira Gonzaga^{a,b}, Mayara Macêdo Barrozo^a, Ana Lúcia Coutinho^a, Lainny Jordana Martins Pereira e Sousa^a, Francisca Letícia Vale^a, Laís Marreto^c, Paula Marchesini^a, Lorena Lopes Ferreira^d, Lívio Martins Costa-Júnior^e, Welber Daniel Zanetti Lopes^{a,f}, Caio Monteiro^{a,f}

a - Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás - Rodovia Goiânia - Nova Veneza, km 8, Campus Samambaia - Goiânia – GO 74690-900 - Brasil. E-mail: mayaramacedob@gmail.com, luciacoutinho13@gmail.com, leticiadetecta@gmail.com, lainnyjordana@gmail.com, paulabarrosocruz@hotmail.com

b - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás - Campus Colemar Natal e Silva - Rua 235, s/n - Setor Leste Universitário, Goiânia – GO 74605-050 - Brasil. E-mail: brunogonzaga@ufg.br

c - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás - Praça Universitária, nº 1166, Setor Universitário, Goiânia – GO 74605-220 - Brasil. E-mail: lais.marreto@gmail.com

d – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva - Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais - Av. Antônio Carlos, nº 6627, campus Pampulha da UFMG, Belo Horizonte – MG 31270-901 - Brasil. E-mail: loren4_lopes@hotmail.com

e – Centro de pesquisas do CCBS, Universidade Federal do Maranhão, Avenida dos Portugueses, nº 1966, São Luís- MA 65080-805 - Brasil. E-mail: livio.martins@ufma.br

f - Departamento de Biociências e Tecnologia, Instituto de Patologia Tropical e de Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás – Avenida Esperança, s/n, Campus Samambaia, Goiânia – GO 74.690-900 - Brasil. E-mail: wdzlopes@hotmail.com, caiosat@gmail.com

Resumo

O controle de carrapatos enfrenta, ainda em 2022, grandes desafios devido a seleção de carrapatos resistentes aos carrapaticidas, somado a necessidade de desenvolvimento de novas tecnologias de controle “eco-friendly” que estejam alinhadas aos conceitos de Saúde Única e Sustentabilidade. Nesse sentido, os óleos essenciais (OEs) de plantas e compostos encontrados nesses OEs (COEs) são apontados como alternativas em potencial para o desenvolvimento de novos carrapaticidas. Nesse artigo, realizamos uma revisão inédita de estudos com OEs e COEs para controle de carrapatos, em condições de campo e semi-campo. Inicialmente, foi realizado um levantamento dos artigos utilizando as bases de dados: Scopus, Web of Science e Pub Med. Após aplicação dos critérios de elegibilidade, foram selecionados 28 estudos, sendo avaliados os seguintes parâmetros: quantidade de publicações por ano, país de realização da pesquisa; espécies de carrapatos; tipos de compostos testados e caracterização química dos OEs; método de aplicação; volume aplicado e número de animais utilizados; resultados de eficácia; segurança clínica para animais; efeito sobre organismos não-alvos e avaliação de resíduos no ambiente. O número de estudos tem crescido ao longo dos anos e o Brasil destaca-se como país com maior número de publicações (53,6%). Em relação a estratégia de aplicação, 71% dos estudos foram com aplicação dos OEs/COEs sobre os animais e 29% com aplicação no ambiente. As duas espécies de carrapatos mais estudadas foram *Rhipicephalus microplus* (46,4%) e *Ixodes scapularis* (21,4%). Mais da metade dos estudos com OEs e COEs tiveram resultados de eficácia acima de 70% no controle de carrapatos em condições de campo e semi-campo, possibilitando a redução do número de carrapatos sobre o hospedeiro ou no ambiente. A maioria (95%) dos OEs/COEs não causaram reações adversas aos animais. Somente um estudo avaliou a toxicidade em espécies não-alvos presentes no ambiente e um estudo realizou avaliação de resíduos. OEs e COEs podem representar uma alternativa para o desenvolvimento de tecnologias para controle de carrapatos, contudo, ainda existem desafios que

precisam ser vencidos. Como direcionamentos futuros, recomendamos: (1) todos estudos com OEs devem realizar a caracterização química da amostra; (2) buscar a padronização dos testes com uso de metodologia bem estabelecidas na literatura, legislações específicas de cada país e guias internacionais; (3) estudos com OEs e COEs combinados com potenciais sinergistas; (4) estudos de desenvolvimento de formulações; (5) estudos avaliando não só eficácia, mas também, segurança para animais, humanos, organismos não alvos e ambiente.

Palavras-chave: Biopesticidas, eco-friendly, Ixodidae, produtos botânicos, tick control.

1. Introdução

Em animais de produção como os bovinos, os carrapatos ocasionam perdas econômicas relacionadas a diminuição do peso corporal, do ganho de peso vivo, da produção de leite e da qualidade do couro dos animais, além de ocasionar prejuízos pela transmissão de agentes patogênicos (complexo da tristeza parasitária bovina), mortalidade de bovinos e dos custos associados ao seu controle (Jonsson, 2006; Grisi et al., 2014). A redução de produtividade nos rebanhos impacta diretamente na produção de alimentos, que é um desafio devido ao aumento da população mundial, que em 2050 deve alcançar a marca de nove bilhões de pessoas (Godfray et al., 2010; King et al., 2017).

Em animais de companhia, os carrapatos são responsáveis por causarem espoliação sanguínea e atuarem como vetores de agente patogênicos (i.e. *Anaplasma platys*, *Babesia vogelli*, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, *Mycoplasma haemocanis*, *Cercopithifilaria bainaie*), podendo ocasionar a mortalidade desses animais (Shaw et al., 2001; Dantas-Torres, 2010; Tutija et al., 2020). O aumento da população humana consequentemente irá propiciar um crescimento do número de animais de estimação, já que um terço das famílias possuem um cão

(Growth from Knowledge, 2016). Os carrapatos também assumem grande importância em saúde pública, e os casos de doenças ocasionadas por agentes patogênicos veiculados por carrapatos a humanos como, por exemplo, anaplasmose, erliquiose, doença de Lyme, febre maculosa e tularemia tem aumentado consideravelmente. Esses fatos evidenciam a necessidade do desenvolvimento de tecnologias para o controle desses artrópodes (Jones et al., 2018; Skotarczak, 2018; Madison-Antenucci et al., 2020).

O controle desses ectoparasitos é realizado principalmente com carrapaticidas sintéticos, compostos por moléculas pertencentes a classe dos organofosforados, amidínicos, piretroides, fenilpirazóis, lactonas macrocíclicas, reguladores de crescimento e isoxazolinas (Adenubi et al., 2018; Salman et al., 2020). Contudo, o uso contínuo desses carrapaticidas tem resultado na seleção de carrapatos resistentes aos princípios ativos utilizados. O registro de populações resistentes e multiresistentes aos carrapaticidas tem ocorrido em diferentes regiões do mundo (Miller et al., 2001; Furlong et al., 2007; Reck et al., 2014; Ziapour et al., 2016; Klafke et al., 2017; Rodriguez-Vivas et al., 2017b; Vudriko et al., 2017; Ziapour et al., 2017; Aboelhadid et al., 2018; El-Ashram et al., 2019; Godara et al., 2019; Jyoti et al., 2019; Arafa et al., 2020; Valsoni et al., 2020; Agwunobi et al., 2021) e para diversas espécies de carrapatos, evidenciando ser um problema global.

Somado ao problema de resistência, cabe destacar que cada vez mais existe uma demanda do mercado consumidor por tecnologias para controle de pragas que sejam eco-friendly e que estejam alinhadas aos conceitos de “Saúde Única” e “Sustentabilidade”. Tais aspectos reforçam a necessidade de desenvolvimentos de novas tecnologias para controle destes ectoparasitos, de forma mais segura aos seres humanos, aos animais e ao ambiente (Saúde Única) e que sejam economicamente viáveis (Sustentabilidade) (Chagas, 2004; Isman, 2008; Borges et al., 2011; Adenubi et al., 2018).

Óleos essenciais (OEs) têm demonstrado potencial para o desenvolvimento de novos biopesticidas (Pavela and Benelli, 2016). Os OEs são produtos naturais resultantes do metabolismo secundário de plantas aromáticas, contendo uma mistura de cerca de 20 a 60 compostos voláteis, lipossolúveis e de odor marcante (Bakkali et al., 2008). Nas plantas, os OEs possuem a função de atrair polinizadores e dispersores de sementes, repelir e combater parasitos, patógenos e predadores, e auxiliar contra os fatores de estresse abiótico (Figura 1) (Yap et al., 2014; Pavela and Benelli, 2016; Aljaafari et al., 2021).

Os compostos encontrados em OEs (COEs) podem ser divididos principalmente em dois grupos de acordo com a sua biossíntese: um representado pelos terpenos e terpenoides (como os monoterpenos e sesquiterpenos) e outro representado pelos compostos aromáticos e alifáticos, como os fenilpropanoides (Bakkali et al., 2008; Asbahani et al., 2015).

Na década de 1990 foram publicados os primeiros estudos a respeito do uso de OEs sobre carrapatos (Ndungu et al., 1995; Brown et al., 1998; Lwande et al., 1998; Prates et al., 1998). Desde então, uma série de trabalhos foram publicados demonstrando a atividade carrapaticida (Gomes et al., 2012; Lage et al., 2013; Gomes et al., 2014; Lage et al., 2015; Delmonte et al., 2017; Ferreira et al., 2018). Outros trabalhos demonstraram efeitos biológicos (Matos et al., 2019; Matos et al., 2020; Penha et al., 2021), mecanismos de ação (Santos et al., 2021; Tavares et al., 2022) e desenvolvimento de formulações (Arafa et al., 2021). Por fim, foram publicados artigos de revisão sobre o assunto (Ellse and Wall, 2014; Adenubi et al., 2016; Rosado-Aguilar et al., 2017; Adenubi et al., 2018; Benelli and Pavela, 2018; Nwanade et al., 2020a, 2020b).

Contudo, embora muitos estudos tenham sido produzidos, a presença de carrapaticidas no mercado contendo OEs ou COEs ainda é limitada. Isso provavelmente está relacionado aos poucos estudos de desenvolvimento de formulações, toxicidade, custo e cadeia de produção e avaliação da eficácia em condições de campo e semi-campo.

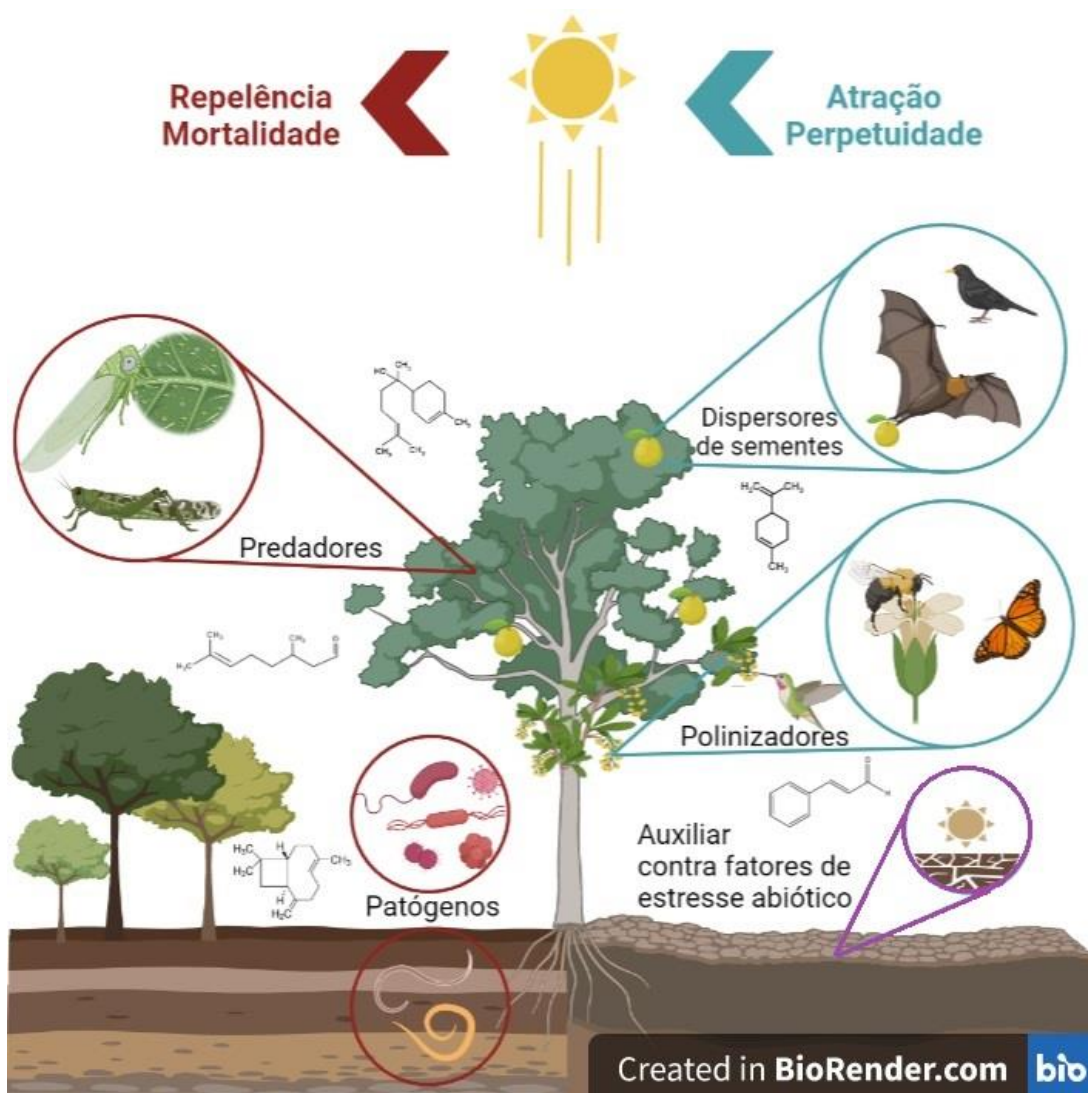


Figura 1 – Interações ecológicas de plantas mediadas por óleos essenciais. Círculos em verde representam atração de dispersores de sementes e polinizadores. Círculos em vermelho representam repelência e mortalidade de predadores e patógenos. Círculo em roxo representa fatores de estresse abiótico, como períodos de seca.

Nesse artigo, apresentamos pela primeira vez um trabalho que revisa toda a literatura de estudos com OEs e COEs (1991-2021) para controle de carrapatos em condições de campo e semi-campo. A realização desta revisão permitirá uma análise crítica do real estado da arte dessa linha de pesquisa, bem como definir prioridades e direcionamentos para estudos futuros.

2. Metodologia

Para realização desta revisão de literatura, foi formado um banco de dados com artigos publicados nos últimos 30 anos (1991 - 2021), a partir de artigos encontrados nas seguintes bases de dados: Scopus, Web of Science e Pub Med. Essas bases foram escolhidas por serem os maiores bancos de dados de citações usados em todo o mundo. A busca foi realizada utilizando as seguintes palavras-chave: “essential oil” combinadas com “tick”, “*Ixodes*”, “*Argas*”, “*Rhipicephalus*”, “*Boophilus*”, “*Amblyomma*”, “*Hyalomma*”, “*Dermacentor*”, “*Haemaphysalis*” e “*Ornithodoros*”. As palavras “essential oil” e “tick” foram pesquisadas no singular e no plural (Figura 2).

Como critérios de inclusão, foram considerados os artigos que utilizavam OEs ou COEs em estudos de campo e semi-campo para controle de carrapatos. Como critérios de exclusão, foram desconsiderados artigos com estudos somente em condições de laboratório, estudos avaliando atividade repelente, artigos com extratos vegetais, artigos duplicados, artigos de revisão, livros, capítulos de livros e resumos em eventos. Além da experiência dos autores, foi realizado o processo de busca manual por verificação na lista de referências bibliográficas dos estudos incluídos na revisão a fim de identificar e adicionar artigos elegíveis que não foram recuperados pela estratégia de busca inicial. Ao final da busca e aplicação dos critérios de inclusão e exclusão foram selecionados 28 artigos para elaboração da revisão (Figura 2).

Os dados de cada artigo foram compilados em uma planilha do programa Microsoft Excel®, sendo avaliados os seguintes parâmetros: (1) ano de publicação; (2) país da realização do estudo; (3) tipo de ensaio; (4) número de animais; (5) espécie do hospedeiro; (6) espécie de carrapato; (7) espécie da planta utilizada para extração do OEs/COEs; (8) caracterização química dos OEs; (9) concentração dos OEs/COEs; (10) volume aplicado por animal ou parcela; (11) resultados relacionados ao efeito acaricida/eficácia do produto sobre os carrapatos; (12) avaliação de segurança clínica; (13) tamanho da parcela; (14) avaliação em espécies não-alvos e (15)

avaliação de resíduos. O mapa com os locais onde foram realizados os estudos foi produzido com a utilização do software Microsoft Excel®.

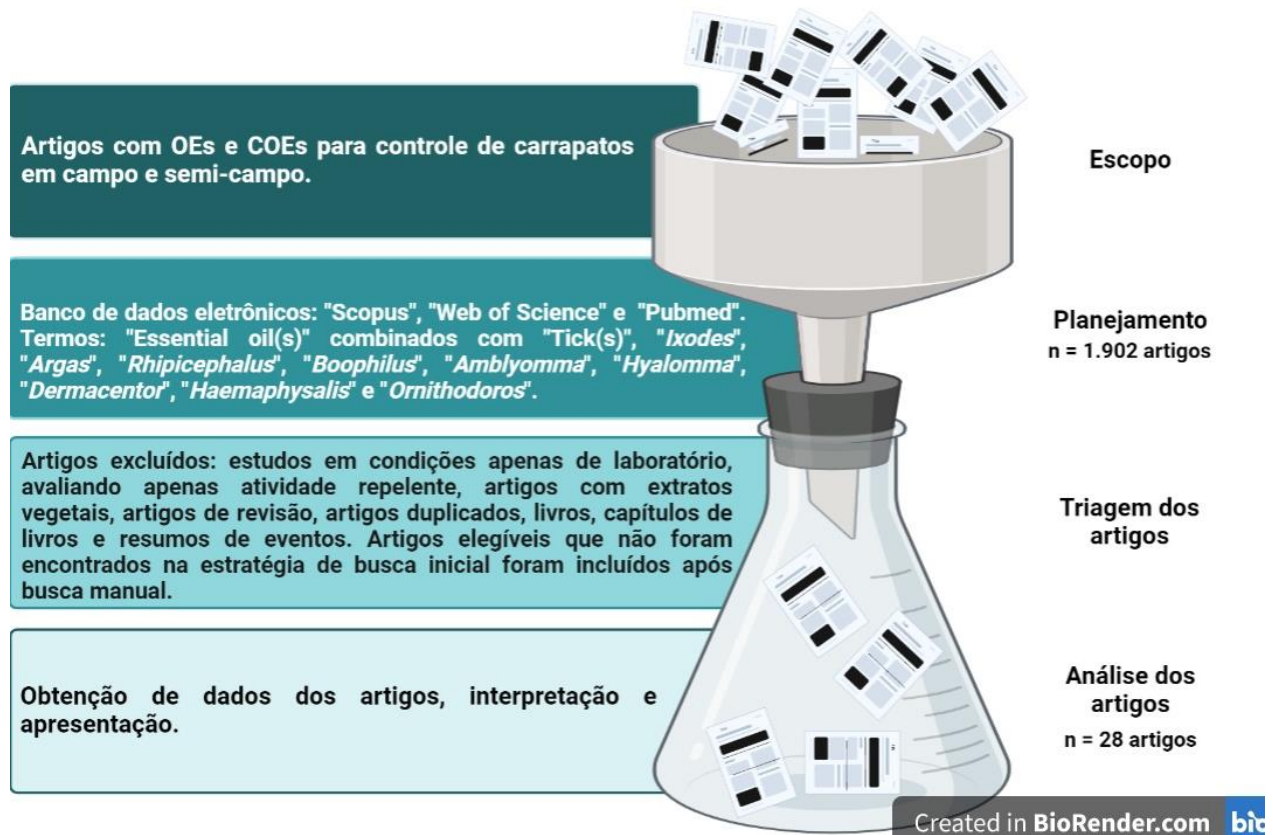


Figura 2 - Metodologia de busca dos estudos com óleos essenciais (OEs) e compostos encontrados nos óleos essenciais (COEs) para controle de carrapatos em condições de campo e semi-campo (n=28) publicados no período de 1991 a 2021.

3. Pesquisas com OEs e COEs em condições de campo e semi-campo para controle de carrapatos

3.1 Publicações por ano

Entre os anos 1991 e 2000, foram encontrados somente dois artigos (7,1%), enquanto na década seguinte (2001 a 2010) foram encontrados seis artigos (21,4%). A maioria (15 publicações - 53,6%) dos artigos foi publicada entre os anos de 2011 e 2020, indicando um aumento

no número de estudos e no interesse sobre essa área de pesquisa. É importante destacar que somente no primeiro ano da década atual (2021), foram encontradas cinco publicações, indicando que essa tendência no aumento de estudos irá permanecer ao longo dos próximos anos (Figura 3).

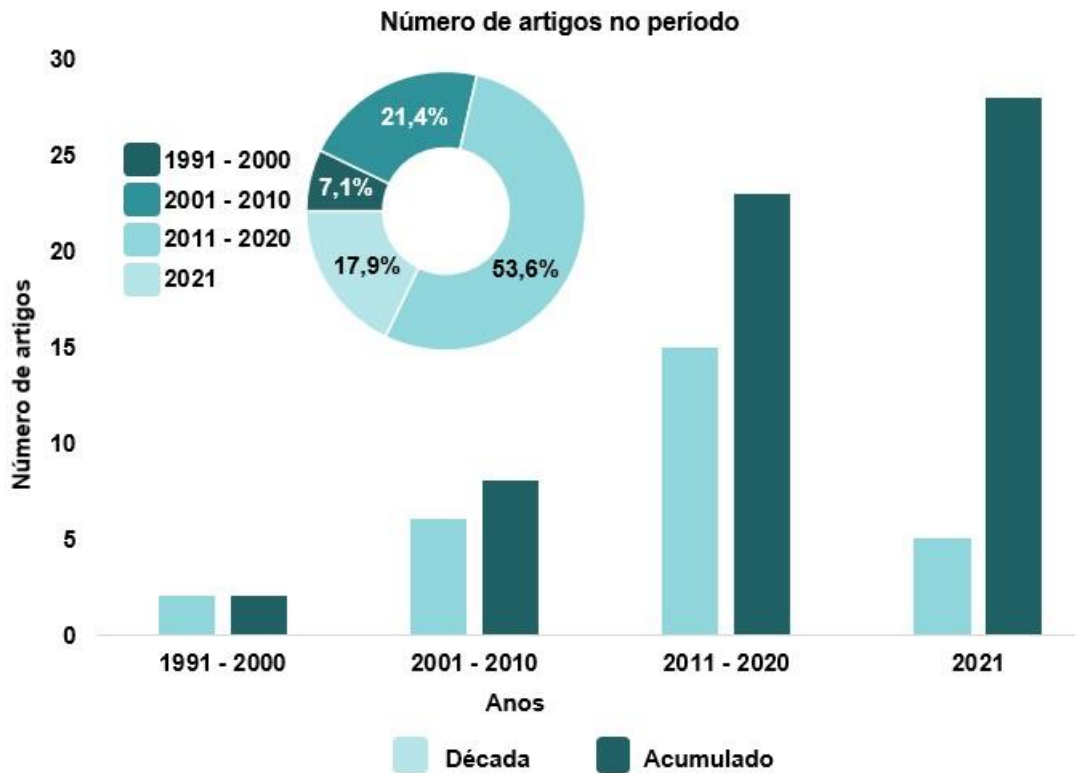


Figura 3 - Número de publicações por década (1991-2021), usando óleos essenciais e compostos encontrados em óleos essenciais (COEs) para controle de carrapatos em condições de campo e semi-campo.

Esse crescimento no número de publicações, com o passar das décadas, provavelmente está relacionado a alguns fatores: (1) aumento no registro de publicações de carrapatos resistentes aos carrapaticidas; (2) mudanças climáticas e maior desafio no controle de carrapatos; (3) necessidade de novas tecnologias de controle destes ectoparasitos alinhadas aos conceitos de Saúde Única e Sustentabilidade.

Existe um aumento no número de publicações evidenciando registros de populações de carrapatos resistentes a carrapaticidas comerciais (1), incluindo registro de populações de diferentes espécies (Agwunobi et al., 2021) como *Rhipicephalus microplus* (Furlong et al., 2007; Rodríguez-Vivas et al., 2007; Reck et al., 2014; Higa et al., 2015, Petermann et al., 2016, Klafke et al., 2017, Vudriko et al., 2017; Cavalcante et al., 2021, Kumar et al., 2022), *R. sanguineus s. l.* (Miller et al., 2001; Becker et al., 2019), *R. annulatus* (Arafa et al., 2021), *R. australis* (Heath and Levot, 2015), *Hyalomma anatolicum* (Jyoti et al., 2019), *R. appendiculatus*, *R. bursa*, *R. decoloratus*, *R. evertsi*, *Amblyomma mixtum* e *A. hebraeum* (Dzemo et al., 2022).

Em paralelo, as alterações antrópicas no ecossistema e/ou o aquecimento global em algumas regiões (2), têm acelerado o desenvolvimento de certas espécies de carrapatos, durante a fase não parasitária, fato que resulta no aumento de gerações, propiciando maiores desafios de controle e transmissão de agentes patogênicos, além de acelerar a seleção de carrapatos resistentes. (Sekeyová et al., 2013; Grandi et al., 2020; Marques et al., 2020; Gilbert, 2021; Nicaretta et al., 2021). Por fim, algumas das moléculas que compõem os carrapaticidas comerciais podem causar intoxicação aos animais e aos humanos (3), deixando resíduos em alimentos (carne e leite), além de ocasionar contaminação ambiental (solo e água) e resultar em efeito tóxico a organismos não-alvos (Monteiro and Prata, 2015; Adenubi et al., 2018; Nwanade et al., 2020a; Salman et al., 2020).

3.2 Publicações por país

As pesquisas com OEs e COEs em condições de campo e semi-campo foram realizadas em oito países pertencentes aos continentes Americano (América do Norte e América do Sul), Africano e Asiático, e a maior parte das publicações são de estudos realizados nos seguintes países: Brasil (50%), Estados Unidos (25%) e Egito (7,1%) (Figura 4). Possivelmente, a maior representatividade do Brasil está relacionada ao impacto dos carrapatos na produção e saúde animal

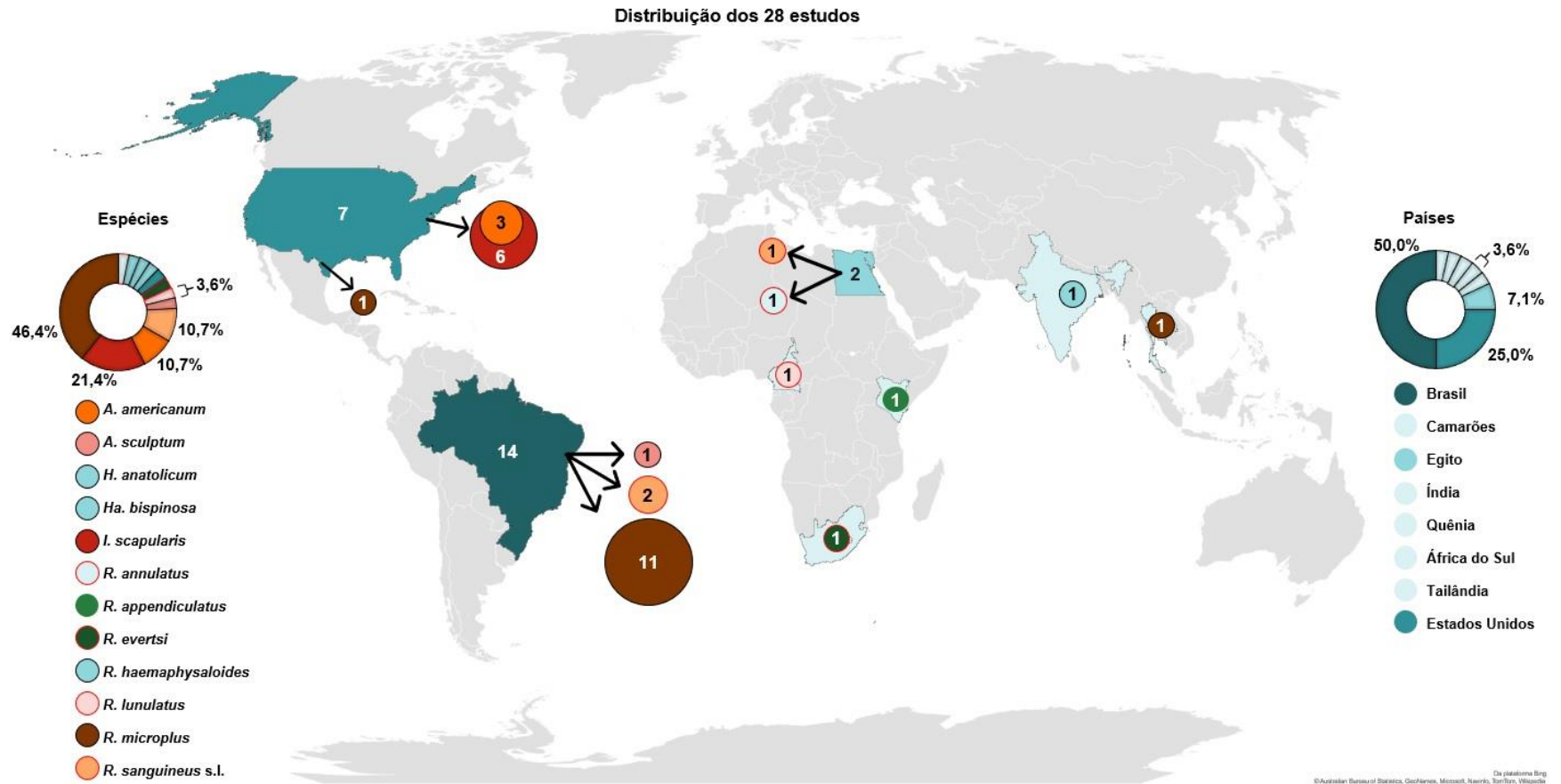


Figura 4 - Distribuição geográfica dos 28 estudos de campo e semi-campo utilizando óleos essenciais (OEs) ou compostos encontrados em óleos essenciais (COEs) para controle de carrapatos entre 1991-2021. Círculos coloridos, com tamanhos proporcionais ao número de estudos, representam diferentes espécies de carrapatos. Abreviação dos gêneros dos carrapatos: *Amblyomma* (A.); *Ixodes* (I.); *Hyalomma* (H.); *Haemaphysalis* (Ha.); *Rhipicephalus* (R.) Fonte: adaptado da plataforma Bing, 2022.

para economia do país e por possuir uma vasta biodiversidade vegetal encontrada nos seus diferentes biomas, fato que resulta em uma grande diversidade de matéria prima para ser utilizada nos estudos.

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com aproximadamente 224,6 milhões de animais (Brasil, 2021; USDA, 2020) e é o terceiro maior produtor de leite (Rocha et al., 2020), com uma produção anual de mais de 35 bilhões de litros (Brasil, 2020). Um dos principais entraves para bovinocultura no país é o carrapato *R. microplus*, que é considerado o parasito que ocasiona maior impacto a pecuária, resultando em perdas anuais de 3,24 bilhões de dólares (Grisi et al., 2014). Além disso, possui a segunda maior população de cães do mundo (estimado em 58,1 milhões de animais) e detém o sexto maior faturamento do mercado pet mundial (Abinpet, 2013; Abinpet, 2022); nesse sentido, existe uma grande demanda por tecnologias para controle de *R. sanguineus* sensu lato (s.l.), que é considerado um dos principais ectoparasitos de cães (Dantas-Torres, 2008; Dantas-Torres, 2010). Em relação a biodiversidade vegetal, o Brasil possui a maior quantidade de espécies descritas no mundo (55% das espécies de plantas terrestres endêmicas), indicando que o país detém a maior diversidade de plantas (BFG - The Brazil Flora Group, 2021) e, conseqüentemente, grande biodiversidade de matéria prima para estudos sobre atividades de compostos botânicos sobre carrapatos.

3.3 Publicações por espécie de carrapato

Rhipicephalus microplus (46,4%) foi a espécie de carrapato mais estudada, seguida por *Ixodes scapularis* (21,4%), *A. americanum* e *R. sanguineus* s.l. (10,7% cada). Também foram realizadas pesquisas com *R. lunulatus*; *R. evertsi*; *R. appendiculatus*; *R. annulatus*; *A. sculptum*; *Hyalomma anatolicum*, *Haemaphysalis bispinosa* e *R. haemaphysaloides* (3,6% = um estudo com

cada espécie). Todos os estudos realizados tiveram como alvo carrapatos de importância econômica ou de saúde pública (Figura 4).

R. microplus foi o ectoparasito mais estudado, provavelmente devido a sua ampla distribuição geográfica e a grande importância econômica que esse carrapato apresenta para pecuária bovina mundial, a ponto de centralizar a atenção de empresas farmacêuticas, órgãos governamentais e instituições de pesquisa (Martins et al., 2006). Os prejuízos anuais no Brasil e México foram estimados em US \$ 3,24 bilhões e US \$ 573,61 milhões respectivamente (Grisi et al., 2014; Rodriguez-Vivas et al., 2017a). Somado a isso, cabe destacar que a maior parte dos produtos carrapaticidas disponíveis no mercado apresentam baixa eficácia no controle desse carrapato, devido ao aumento de registros de populações resistentes, principalmente populações multirresistentes, em países da América Central, América do Sul e Ásia (Fernández-Salas et al., 2011; Cuore and Salori, 2014; Reck et al., 2014; Klafke et al., 2017; Fular et al., 2018; Rodriguez-Vivas et al., 2018; Vilela et al., 2020; Marchesini et al., 2020; Agwunobi et al., 2021).

I. scapularis foi a segunda espécie mais estudada (21,4%), seguida de *A. americanum* (10,7%). Essas espécies possuem grande importância em saúde pública nos Estados Unidos por serem vetores de agentes causadores de doenças em humanos (Spach et al., 1993). *I. scapularis* é o vetor dos agentes causadores de doenças como Lyme (*Borrelia burgdorferi*), anaplasmoze e babesiose humana (*Anaplasma phagocytophilum* e *Babesia microti*, respectivamente). *A. americanum* é o vetor dos agentes causadores de doenças como *Ehrlichia chaffeensis* (erliquiose monocítica humana) e *Ehrlichia ewingii* (erliquiose granulocítica humana), *Borrelia lonestari* (rash) e *Francisella tularensis* (tularemia) (Piesman and Eisen, 2008; Pfäffle et al., 2013; Madison-Antenucci et al., 2020).

Rhipicephalus sanguineus s.l. teve equivalência em números de estudos com o *A. americanum* (10,7%). Esse carrapato possui grande importância em saúde animal por atuar como

vetor de uma série de agentes patogênicos para os cães (seus hospedeiros preferenciais), como *Ehrlichia canis*, *Babesia vogeli*, *Mycoplasma haemocanis*, *Hepatozoon canis* e *Dipetalonema* (= *Acanthocheilonema*) *dracunculoides* (Dantas-Torres, 2008), *Cercopithifilaria baina* (Tutija et al., 2020). Além disso, *R. sanguineus* s.l. também apresenta importância em saúde pública, podendo parasitar humanos e atuar como vetor de *Rickettsia conorii* (Matsumoto et al. 2005; Dantas-Torres et al., 2006) e *Rickettsia rickettsii* (Demma et al. 2005; Guglielmone et al., 2006), agentes etiológicos de febre botonosa e febre maculosa, respectivamente (Louly et al., 2006; Dantas-Torres, 2008; Dantas-Torres, 2010; Dantas-Torres e Otranto, 2015). Ressalta-se que a resistência de *R. sanguineus* s.l. também já foi descrita a piretroides, amidínicos, organofosforados, fenilpirazóis e lactonas macrocíclicas (Miller et al., 2001; Rodriguez-Vivas et al., 2017b; Becker et al., 2019).

3.4 Publicações por compostos testados e caracterização química dos óleos essenciais

A maioria dos estudos de campo e semi-campo utilizou OEs (64%), seguido de pesquisas com COEs (18%) e OEs e COEs no mesmo estudo (18%) (Figura 5a). A avaliação da composição química foi realizada em 83% dos estudos que utilizaram OEs, entretanto, em alguns casos (22%), a caracterização não foi realizada no próprio estudo, mas sim em um estudo anterior realizado pelo mesmo grupo. Em 17% desses estudos não foram realizadas a caracterização química dos OEs (Figura 5b). Nessa análise não foram considerados os estudos com produtos comerciais contendo OEs.

A caracterização química dos OEs é um aspecto fundamental, pois os OEs de uma mesma espécie vegetal podem apresentar composição e atividade carrapaticida variada de acordo com o genótipo, local de coleta, época do ano, ano de colheita, parte da planta utilizada para extração do OE, método de extração e condições de armazenamento (Cruz et al., 2013; George et

al., 2014; Silva Lima et al., 2018). É fundamental saber quais são os compostos majoritários presentes nos OEs para correlacionar essas informações com a atividade carrapaticida. Foi demonstrado que OEs de uma mesma espécie de planta apresentaram diferenças nas atividades carrapaticidas devido a variações na composição química (Peixoto et al., 2015; Soares et al., 2016; Silva Lima et al., 2018; Diniz et al., 2021).

Entre as vantagens do uso de OEs, podemos citar o fato de apresentarem menor toxicidade para vertebrados quando comparados aos compostos majoritários testados isoladamente (Safford et al., 1990). Outra vantagem é que as misturas de moléculas encontradas nos OEs podem resultar em efeito sinérgico devido a presença de compostos com diferentes mecanismos de ação (Yap et al., 2014; Pavela and Benelli, 2016). Contudo, os OEs também possuem desvantagens quando comparados com os COEs, uma vez que os OEs apresentam variação na composição química, fato que pode ser considerado um entrave para fins comerciais devido à falta de padronização com conseqüente dificuldades de um controle de qualidade e obtenção de matéria prima em larga escala. No entanto, uma forma de contornar esse obstáculo seria trabalhar com marcadores de atividade, com quantidades pré-determinadas de um composto-chave que possa garantir a atividade carrapaticida (Miresmailli and Isman, 2014).

Encontrar um marcador de atividade carrapaticida nem sempre é um trabalho simples (Castro et al., 2018). Nesse sentido, trabalhar com os COEs tem como vantagem o fato de facilitar a padronização e obtenção do ingrediente ativo em larga escala para o desenvolvimento das formulações. Porém, a utilização de COEs isolados pode elevar a toxicidade da formulação para animais, como já demonstrado com a utilização do (*E*)-cinamaldeído, composto majoritário encontrado no OE de canela (Safford et al., 1990; Gonzaga et al., 2022 prelo).

3.5 Método de aplicação

Dos 28 estudos de campo e semi-campo com o uso de OE e COEs para controle de carrapatos, em 71% dos estudos a aplicação das formulações foi realizada nos animais (bovinos, coelhos, cães, ovinos e caprinos), enquanto em 29% dos estudos a aplicação das formulações com OEs/COEs foi feita no ambiente (naturalmente ou experimentalmente infestados) (Figura 5c). Nos estudos com aplicação nos animais, os bovinos foram os animais mais estudados (70% - Figura 5d). Sobre a forma de aplicação, foram relatadas: pulverização (75%); pour on (10,7%), gota sobre o local de fixação (3,6%), espuma de sabão (3,6%) e líquido por via oral (3,6%). Dois trabalhos não descreveram a forma de aplicação (Figura 5e).

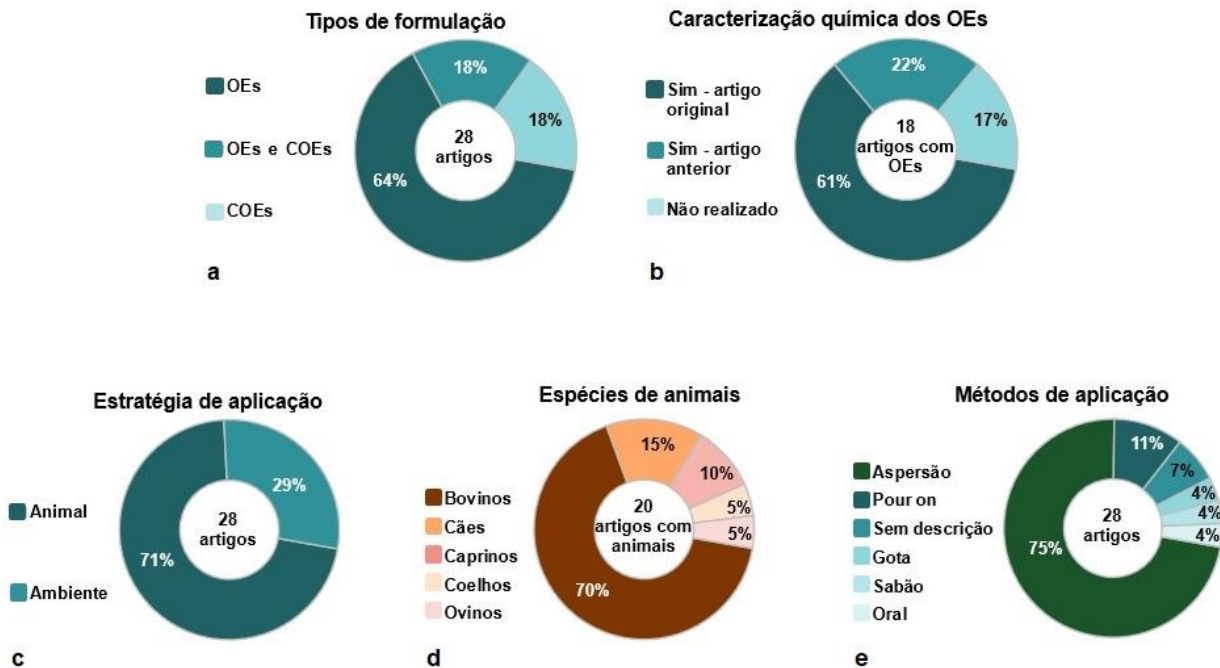


Figura 5 - Estudos em campo e semi-campo (n=28) utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos no período de 1991-2021. **a** – Percentual de estudos com óleos OEs e COEs; **b** – Percentual de estudos que realizaram ou não, caracterização química dos OEs; **c** – Percentual das estratégias de aplicação dos OES e COEs; **d** – Percentual de espécies animais utilizadas nos estudos com OEs/COEs; **e** – Percentual dos métodos de aplicação de OEs/COEs nos animais e ambiente.

O controle de carrapatos de importância em saúde animal, como por exemplo *R. microplus* em bovinos e *R. sanguineus* s. l. em cães, é feito primordialmente com a aplicação de carrapaticidas diretamente sobre os hospedeiros (Figura 6). Isso ocorre devido a facilidade de acesso/manejo dos animais de produção e companhia, permitindo a utilização de menor volume de carrapaticida, somado ao custo relativamente menor de controle, quando comparado ao custo para tratar o ambiente (Furlong, 2005; Furlong et al., 2007; Dantas-Torres, 2008; Verissimo, 2013; Andreotti et al., 2016).



Figura 6 – Métodos / estratégias de aplicação de carrapaticidas, sobre o hospedeiro e no ambiente, para controle de carrapatos verificados nos estudos incluídos na revisão.

Os estudos com aplicação no ambiente (29%) foram realizados sempre com aplicação de equipamentos de pulverização e tiveram como alvo carrapatos de importância em saúde pública, que geralmente tem animais silvestres como hospedeiros (Figura 6). Esse fato dificulta o acesso para aplicação de carrapaticidas nesses animais, sendo necessária a adoção de medidas diferentes, como aplicação de carrapaticidas no ambiente. Em áreas endêmicas e de risco para febre maculosa no Brasil, por exemplo, as populações de *A. sculptum* geralmente são mantidas devido a presença de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), e o acesso a esses animais para aplicação de carrapaticidas é laborioso e o fato dos animais entrarem constantemente na água, pode ocasionar impacto ambiental (Perez, 2013; Pinter, 2013; Donalisio et al., 2020). A mesma dificuldade ocorre nos Estados Unidos para o controle de *I. scapularis*, em que as populações são mantidas por animais silvestres, como *Peromyscus leucopus* (camundongo de patas brancas), *Odocoileus virginianus* (veado de cauda branca), outros roedores e aves (Pfäffle et al., 2013).

3.6 Desenho experimental

Foi observado uma variação entre o número de animais por grupo utilizado nos experimentos, volume de formulação aplicada sobre os animais e as formas de aplicação. Nas publicações com bovinos, utilizando carrapaticidas de pulverização, em 50% dos estudos foram aplicados ao menos três litros de calda por animal e em 70% dos estudos foram utilizados, ao menos, cinco animais por grupo.

Martins e González (2007) utilizaram apenas dois litros de solução em animais com peso de 350 kg, já Boito et al. (2016) e Santos et al. (2017) utilizaram apenas 400 mL e 50 mL, respectivamente, em bovinos adultos, porém Santos et al. (2017) realizaram a aplicação somente no pescoço, pernas e regiões inguinal e ventral destes animais. É recomendado que bovinos adultos sejam tratados com quatro a cinco litros de solução carrapaticida, molhando todo o corpo do

animal, quando utilizado o método de aspersão (Prata et al, 2008; Andreotti et al., 2019). O ideal, para que houvesse maior precisão nos dados de segurança dos OEs e dos COEs, seria que o volume de aplicação por animal adulto replicasse o que é recomendado para o tratamento com carrapaticidas comerciais (1 L para cada 100 kg animal), mesmo que o custo representasse um fator limitante. Houve trabalhos em que os autores não relataram a forma ou o volume de aplicação, a categoria bovina (jovem, adulto) e tampouco o peso dos animais, impedindo avaliar se o volume aplicado por animal estava adequado.

A recomendação estabelecida, em 2006, pela World Association for the Advancement of Veterinary (WAAVP), era para que se utilizasse um mínimo de três bovinos por grupo em estudos de eficácia carrapaticida (Holdsworth et al., 2006). O ideal seria a utilização de um maior número de animais, fato que resulta em uma maior confiabilidade nos dados. No Brasil, por exemplo, para testes de eficácia e registro de carrapaticidas a legislação recomenda o uso de 10 animais por grupo (Brasil, 1997). Além disso, a nova diretriz da World Association for the Advancement of Veterinary (WAAVP) passou a recomendar o mínimo de 20 animais por grupo (Holdsworth et al., 2022).

Nas publicações com cães, 66% dos estudos utilizaram cinco animais por grupo e no restante dos estudos foi observado 10 animais. Nessa espécie animal, a WAAVP recomenda desde 2007 um número suficiente que permita uma boa análise estatística, geralmente com o mínimo de seis por grupo (Marchiondo et al., 2013).

Contudo, os custos de estudos com um número maior de animais representam um desafio para realização de pesquisas em condições de campo e semi-campo. Assim, tornam-se necessários esforços para encontrar caminhos para resolução desse desafio. Nesse sentido, além do aumento de recursos destinados a realização desse tipo de pesquisa, também é importante o

desenvolvimento de testes em modelos animais, testes preditivos, modelagem computacional e alternativas de validação das formulações desenvolvidas com OEs e COEs (Karlberg et al., 2013).

3.7 Estudos com aplicações de OEs e COEs em animais

3.7.1 Avaliação de eficácia

Nos estudos com bovinos, é possível observar uma grande variação nos resultados de eficácia carrapaticida, com valores entre zero e 100%. As informações sobre cada um dos estudos podem ser encontradas na Tabela 1. Resultados de eficácia superior a 95% foram encontrados em estudos com formulações pour on, como 99,98% de eficácia utilizando o OE de *Tagetes minuta* (Andreotti et al., 2013). Eficácia igual ou acima de 95% também foram encontradas em aplicações com formulações por aspersão, como por exemplo, no estudo utilizando nanocápsulas de OE de canela (100%) (Santos et al., 2017), e no estudo utilizando uma combinação de OE de eucalipto + timol + deltametrina (95%) (Arafa et al., 2021).

Contudo, no estudo realizado por Santos et al. (2017) a eficácia foi avaliada por meio de contagem de carrapatos somente em uma pequena faixa corporal do bovino onde a formulação foi aplicada, enquanto no estudo conduzido por Arafa et al. (2021) a eficácia foi avaliada pela contagem de carrapatos antes e após o tratamento, sem ter um grupo controle que não recebeu tratamento durante todo experimento. O ideal seria a realização de experimentos de campo com aplicação da formulação em todo o corpo do animal e manutenção de um grupo controle sem tratamento, permitindo realizar o cálculo de eficácia por meio da comparação entre a média da contagem de carrapatos nos animais não tratados (controle) e tratados conforme recomendados pelos guias WAAVP (Holdsworth et al., 2006; Holdsworth et al., 2022).

Tabela 1 – Dados gerais (tratamentos e eficácia) compilados de 13 artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de *Rhipicephalus microplus* em estudos de campo e semi-campo, com bovinos de 1991-2021.

Carrapato (estágio)	OEs / COEs	Concentração	Volume e forma de aplicação	Nº de animais por grupo	Principais resultados	Referência
<i>R. microplus</i> (A)	<i>C. citratus</i> e <i>C. nardus</i> (Aspersão)	...	Fêmeas semi-ingurgitadas morreram após a aplicação do OE e as fêmeas ingurgitadas não fizeram oviposição.	Chungsamarnyart e Jiwaginda (1992)
<i>R. microplus</i> (A)	<i>C. winterianus</i> Jowitt	10 e 100%	40 mL (pour on); 2 L (Aspersão)	15	O OE na forma pour on ou spray reduziu o número de carrapatos de forma significativa, quando comparados aos grupos controle.	Martins e González (2007)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	<i>C. nardus</i>	4%	3 L (Aspersão)	5	A eficácia média foi de 30,9%.	Agnolin et al. (2010a)
<i>R. microplus</i> (N, A)	<i>C. nardus</i>	3 e 4%	3 L (Aspersão)	5	O OE resultou em eficácia média 22,5 e 39,1% nas concentrações de 3 e 4%, respectivamente.	Agnolin et al. (2010b)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	<i>Co. citriodora</i>	3,5%	4 L (Aspersão)	6	O OE resultou em 96,4% de eficácia 21 dias pós-tratamento.	Olivo et al. (2013)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	<i>T. minuta</i>	20%	50 mL (Pour on)	6	O OE apresentou eficácia média de 99,98%.	Andreotti et al. (2013)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	<i>C. winterianus</i>	8,6%	4 L (Aspersão)	6	O OE apresentou eficácia média de 91,3%, 21 dias pós-tratamento.	Agnolin et al. (2014)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	<i>Co. citriodora</i> e <i>Co. citriodora</i> formulado	1,5 e 1,5%	6	O tratamento com OE (original e formulado) não reduziu significativamente o número de fêmeas ingurgitadas em relação ao grupo controle.	Chagas et al. (2014)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	<i>M. alternifolia</i>	0,75% (nano encapsulado e 5% (não formulado)	400 mL (Aspersão)	5	O OE não formulado teve maior efeito sobre adultos (76,6% de mortalidade), enquanto o OE nano encapsulado teve maior efeito sobre a biologia reprodutiva das fêmeas ingurgitadas (34,5% de eficácia)	Boito et al. (2016)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	<i>Cinnamomum</i> sp.	0,5% (nanocapsulas); 0,5% (nanoemulsão) e 5% (não formulado)	50 mL (Aspersão)	4	A eficácia foi de 90,5%; 100% e 63,5%, nos tratamentos com o OE não formulado, nanocapsulas e nanoemulsão, respectivamente. O OE não formulado e em nanocapsulas, afetou a biologia reprodutiva das fêmeas ingurgitadas.	Santos et al. (2017)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	Eugenol	5%	10 mL / 100 kg (Pour on)	6	O tratamento com o eugenol resultou em eficácia média de 13,97%.	Valente et al. (2017)
<i>R. annulatus</i> (L, N, A)	Timol e <i>globulus</i> combinados com deltametrina	5%	... (Aspersão)	5	30 dias após tratamento a eficácia foi de: 21,67% para Deltametrina, 88,33% para Timol + Deltametrina e 95% para Timol + <i>E. globulus</i> + Deltametrina.	Arafa et al. (2021)
<i>R. microplus</i> (L, N, A)	Essentria® IC-3 (Óleo de alecrim 10%, geraniol 5% e óleo de hortelã-pimenta 2%)	6,25%	7,5 L (Aspersão)	4	Considerando a redução de carrapatos sobre os animais e a alteração na biologia reprodutiva, a eficácia média após 21 dias foi de 70%.	Klafke et al. (2021)

Abreviações dos gêneros de carrapatos: *Rhipicephalus* (*R.*). Abreviações dos estágios dos carrapatos: Larva (L); Ninf (N); Adulto (A)

Abreviações dos gêneros do gênero das plantas: *Cymbopogon* (*C.*), *Corymbia* (*Co.*), *Tagetes* (*T.*), *Melaleuca* (*M.*), *Eucalyptus* (*E.*)

... – Informação não mencionada

Experimentos por aspersão conduzidos com bovinos foram conduzidos dessa maneira por alguns autores: Agnolin et al. (2014) trabalharam com 8,6% de OE de *Cymbopogon winteranius* e Klafke et al. (2021) com 6,25% de um produto comercial a base de geraniol e OEs de alecrim e hortelã-pimenta. Esses pesquisadores relataram resultados de eficácia superior a 70%, entretanto, com concentrações mais elevadas. A utilização de formulações carrapaticidas, com modificação de dose ou concentração dos ingredientes ativos, é uma das estratégias para contornar os mecanismos de resistência dos carrapatos (Rodriguez-Vivas et al., 2018), contudo, em relação aos OEs e COEs, o aumento da concentração pode impactar a viabilidade das formulações devido ao custo elevado, devido a necessidade de grande volume de solução carrapaticida para banhar um bovino completamente, além da possibilidade de ocasionar a intoxicação dos animais. Contudo, ao reduzir as concentrações testadas, pode resultar na ineficácia das formulações. Resultados com baixa eficácia foram encontrados no estudo de Chagas et al. (2014), que utilizaram o OE de *Corymbia citriodora* (pulverização), com 0% de eficácia, e no estudo de Valente et al. (2017), que utilizaram o eugenol (pour on), composto encontrado no OE do cravo, com eficácia de 13%.

Nos estudos com cães, 100% de eficácia foi relatada em 66% dos trabalhos, sobre todos os estágios dos carrapatos avaliados, ao utilizarem OE de *Tagetes minuta* por aspersão (Silva et al., 2016) e uso oral de um produto comercial contendo uma mistura de OEs de alho, colza e rosa mosqueta, que além de tratar também atuou de forma preventiva para novas infestações (Amer e Amer, 2020). Monteiro et al. (2021) utilizaram uma nanoemulsão contendo timol e eugenol (5 mg/mL) que foi pulverizada nos cães e observaram que a formulação reduziu o número de larvas sobre os cães e reduziu 85% dos descendentes de fêmeas ingurgitadas recuperadas dos animais (Tabela 2).

Nos artigos em que pequenos ruminantes, apesar de apresentarem eficácia acima de 76%, os estudos utilizaram diferentes formas de administração, o que torna difícil a avaliação dos

Tabela 2 – Dados gerais (tratamentos e eficácia) compilados de sete artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos em estudos com cães, coelhos, ovinos e caprinos de 1991-2021.

Carrapato (estágio)	Hospedeiro	OEs / COEs	Concentração	Volume e forma de aplicação	Nº de animais por grupo	Principais resultados	Referência
<i>R. appendiculatus</i> (L, N, A)	Coelhos	<i>O. suave</i>	2, 5 e 10%	5 mL por pavilhão auricular ...	2	O OE na concentração de: 2,5% eliminou 95% das larvas; 5% eliminou 100% das larvas e 87,33% das ninfas; 10% eliminou 100% de larvas e ninfas e 74,46% dos adultos.	Mwangi et al. (1995)
<i>H. anatolicum</i> ; <i>Ha. bispinosa</i> ; <i>R. haemaphysaloides</i> (L, N, A)	Caprinos	<i>C. citratus</i> e <i>C. nardus</i>	25, 33 e 50%	... (Aspersão)	6	Houve 100% de eficácia para todas as concentrações do OE de capim-limão. Para OE de citronela, a eficácia foi de 100% nas concentrações de 50% e 33%.	John et al. (2009)
<i>R. evertsi</i> (N, A)	Ovelhas	<i>Th. trilobata</i> alpha-Pinene (21.6%), alpha-phellandrene (21.0%), limonene (12.8%) and germacrene D (7.5%)	5 mg/mL e 10 mg/mL	2 gotas na área de fixação	1	A eficácia do OE foi de 100%, sobre ninfas, 60 minutos após a aplicação.	Peebles et al. (2011)
<i>R. lunulatus</i> (L, N, A)	Caprinos	<i>Ch. ambrosioides</i>	0,06 , 0,09 e 0,12 µL/g	Sabão (Espuma)	10	O percentual de mortalidades (cumulativo) após o 8º dia, foi de 76,12, 90,27 e 96,29%, nas concentrações de 0,06, 0,09 e 0,12 uL/g, respectivamente.	Kouam et al. (2015)
<i>R. sanguineus</i> sensu lato (L, N, A)	Cães	<i>T. minuta</i>	20%	20 uL (Aspersão)	5	O OE resultou em 100% de eficácia, uma vez que não ocorreu ingurgitamento das larvas, ninfas e adultos.	Silva et al. (2016)
<i>R. sanguineus</i> sensu lato (A)	Cães	Lacecca® (Alicina + <i>A. sativum</i> + <i>B. napus</i>)	0,05 + 2,5 + 8%.	0,25 mL/kg por 3 dias (oral spray)	10	O OE resultou em 100% de eficácia na prevenção de infestação por <i>R. sanguineus</i> .	Amer e Amer (2020)
<i>R. sanguineus</i> sensu lato (L, N, A)	Cães	Timol + eugenol	5+ 5mg/mL (0,50% (p/p)	10 mL / kg (Aspersão)	5	A nanoemulsão apresentou estabilidade física, reduziu o nº de larvas sobre os animais e afetou os parâmetros reprodutivos de fêmeas ingurgitadas (85% de percentual de controle).	Monteiro et al. (2021)

Abreviações dos gêneros de carrapatos: *Rhipicephalus* (*R.*); *Hyalomma* (*H.*); *Haemaphysalis* (*Ha.*)

Abreviações dos estágios dos carrapatos: Larva (L); Nífa (N); Adulto (A)

Abreviações dos gêneros do gênero das plantas: *Cymbopogon* (*C.*), *Ocimum* (*O.*), *Thelechitonia* (*Th.*), *Tagetes* (*T.*), *Chenopodium* (*Ch.*), *Allium* (*A.*), *Brassica* (*B.*)

... – Informação não mencionada

resultados (Tabela 2). Foram descritos sabão em caprinos com OE de *Chenopodium ambrosioides* (Kouam et al., 2015), gotas nos locais da infestação em ovinos com OE de *Thelechitonía trilobata* (Peebles et al., 2011) e apenas um estudo usou a forma de aspersão de OEs de *Cymbopogon citratus* e *C. nardus*, porém não descreveu a quantidade usada por animal (John et al., 2009). Além de serem formas de administração diferentes, é impraticável a utilização de gotas no local de fixação do carrapato como rotina de manejo. Em alguns estudos foi demonstrado que a eficácia acaricida foi proporcional a concentração dos produtos aplicada aos animais (Mwangi et al., 1995; John et al., 2009; Agnolin et al., 2010; Kouam et al., 2015).

A utilização de formulações com concentrações menores de OEs e COEs, com a utilização de nanotecnologia, como: 0,75% de OE de *Melaleuca alternifolia* nanoencapsulado (Boito et al., 2016), 0,5% de OE de *Cinnamomum* sp. nanoencapsulado e em nanoemulsão (Santos et al., 2017) e 0,5% de timol + eugenol em nanoemulsão (Monteiro et al., 2021), geraram resultados de eficácia de 34,5; 65,5 e 100; 85%, respectivamente.

Outra possibilidade para melhorar a eficácia é o desenvolvimento de formulações com a combinação de OEs e COEs com carrapaticidas sintéticos, buscando encontrar um efeito sinérgico. Em 2022, no mercado brasileiro, existem formulações que possuem piretroides e organofosforados associados a terpenos (citronelal e geraniol) ou a butóxido de piperonila (SINDAN, 2022), molécula sinérgica sintetizada a partir do safrol, fenilpropanoide encontrados no OE de pimenta. (Scott et al., 2008). Arafa et al. (2021) mostraram que uma combinação de timol + OE de eucalipto + deltametrina resultou em eficácia de 95% em condições de campo. Em alguns estudos os pesquisadores relataram que os estágios mais imaturos foram mais susceptíveis as formulações com os OEs e COEs do que os carrapatos adultos (Mwangi et al., 1995; Peebles et al., 2011; Monteiro et al., 2021). Possivelmente isso está relacionado ao aparecimento da camada externa da cutícula dos carrapatos (a partir do estágio de ninfa), além da composição dessa camada

por cera, diferenciando a composição da cutícula entre larvas e fêmeas (Balashov, 1972; Hackman and Filshie, 1982).

3.7.2 Avaliação de segurança clínica

A avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos pode ser valiosa para determinar o efeito tóxico das drogas, pois fornece informações sobre a reação do organismo em relação a lesões e estresse (Bojarski and Witeska, 2020). A realização isolada de hemograma foi feita no estudo com OE de *Cymbopogon nardus* (Agnolin et al., 2010a), enquanto a avaliação bioquímica foi realizada nos estudos com OE de *Cymbopogon winteranius* (Martins e González, 2007) e com OE de *Eucalyptus globulus* + timol + deltametrina (Arafa et al., 2021), todos em bovinos. A análise de hemograma e bioquímica foi realizada nos estudos em cães tratados com um produto comercial a base de alicina e OEs de *Allium sativum* e *Brassica napus* (Amer e Amer, 2020) e no estudo com aplicação de uma formulação contendo terpeno timol combinado com o fenilpropanoide eugenol (Monteiro et al., 2021). Não houve alteração dos dados de hemograma e bioquímica dos animais tratados com o OEs e COEs.

A avaliação clínica foi realizada em nove estudos, e não foi percebida nenhuma alteração entre grupos tratado e controle (Tabela 3). Não houve descrição, na avaliação clínica, de quais parâmetros foram observados nos estudos de John et al. (2009), Valente et al. (2017), Amer e Amer (2020), Arafa et al. (2021) e Klafke et al. (2021). Kouam et al. (2015) relataram que os caprinos foram avaliados clinicamente por alteração comportamental. Valores de frequências cardíacas e respiratórias, e a temperatura do globo ocular foram avaliadas nos estudos de Olivo et al. (2013) e Agnolin et al. (2014). Temperatura retal, hidratação, frequências cardíacas e respiratória, além de coloração de mucosa e condição física geral foram avaliados por Monteiro et al. (2021).

Tabela 3 – Avaliações de segurança clínica compiladas de 28 artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos em estudos de 1991-2021 com animais que foram tratados.

Hospedeiros	OEs / COEs	Parâmetro Avaliado				Referência
		Hemograma	Bioquímica	Avaliação clínica	Avaliação dérmica	
Bovinos	<i>C. citratus</i> e <i>C. nardus</i>	Chungsamarnyart e Jiwaginda (1992)
Coelhos	<i>O. suave</i>	Sem reação adversa	Mwangi et al (1995)
Bovinos	<i>C. winterianus</i> Jowitt	...	Sem alteração	Martins e González (2007)
Caprinos	<i>C. citratus</i> e <i>C. nardus</i>	Sem reação adversa	Sem reação adversa	John et al. (2009)
Bovinos Holandes	<i>C. nardus</i>	Sem alteração	Agnolin et al. (2010a)
Bovinos Holandes	<i>C. nardus</i>	Agnolin et al. (2010b)
Ovelhas	<i>Th. trilobata</i>	Peebles et al. (2011)
Bovinos Holandes	<i>Co. citriodora</i>	Sem reação adversa	Sem reação adversa	Olivo et al. (2013)
Bovinos Holandes	<i>T. minuta</i>	Sem reação adversa	Andreotti et al. (2013)
Bovinos Holandes	<i>C. winterianus</i>	Sem reação adversa	Sem reação adversa	Agnolin et al. (2014)
Bovinos Holandes	<i>Co. citriodora</i> e <i>Co. citriodora</i> modificado	Chagas et al. (2014)
Caprinos	<i>Ch. ambrosioides</i>	Sem reação adversa	...	Kouam et al. (2015)
Cães (raças mistas)	<i>T. minuta</i>	Silva et al. (2016)
Bovinos Holandes	<i>M. alternifolia</i>	Boito et al. (2016)
Bovinos Holandes	<i>Cinnamomum</i> sp.	Santos et al. (2017)
Bovinos Holandes	Eugenol	Sem reação adversa	Sem reação adversa	Valente et al. (2017)
Cães (raças mistas)	Lacecca® (<i>A. sativum</i> , + Allicin + <i>B. napus</i>)	Sem alteração	Sem alteração	Sem reação adversa	Sem reação adversa	Amer e Amer (2020)
Bovinos Holandes	Timol e <i>globulus</i> combinados com deltametrina	...	Sem alteração	Sem reação adversa	Reação alérgica em um animal	Arafa et al. (2021)
Cães Cocker Spaniel Inglês	Timol + eugenol	Sem alteração	Sem alteração	Sem reação adversa	Sem reação adversa	Monteiro et al. (2021)
Bovinos Angus	Essentria® IC-3 (Óleo de alecrim 10%, geraniol 5% e óleo de hortelã-pimenta 2%)	Sem reação adversa	...	Klafke et al. (2021)

Abreviações dos gêneros do gênero das plantas: *Cymbopogon* (C.), *Ocimum* (O.), *Thelechitonia* (Th.), *Corymbia* (Co.), *Tagetes* (T.), *Chenopodium* (Ch.), *Melaleuca* (M.), *Allium* (A.), *Brassica* (B.), *Eucalyptus* (E.)

... – Avaliação não realizada

Avaliação clínica: Frequências cardíaca e respiratória, temperaturas retal e do globo ocular, desidratação e coloração de mucosa.

A avaliação dérmica, em casos de toxicidade, pode revelar dermatite alérgica e lesões urticariformes, além de avermelhamento e calor da pele em função da vasodilatação causada por agentes rubefacientes, como alguns OEs (Nicholson, 1995; Woolf, 1999). Dos nove estudos que relataram essa avaliação, apenas no artigo de Arafa et al. (2021) foi observada alteração dérmica em um bovino pulverizado com cristais de timol que acabaram precipitando sobre a pele do animal. Foi demonstrado que a presença de vários compostos, em conjunto, presentes nos OEs (como o eugenol), podem minimizar ou até mesmo impedir reações clínicas/dermatológicas (Allenby et al., 1984; Safford et al., 1990). Possivelmente esse fato explique o motivo de não ter sido relatado efeitos adversos nos animais aos quais foram administrados OEs, assim como no estudo de Monteiro et al. (2021) em que cães foram pulverizados com 0,5% de timol + eugenol.

Embora não tenha sido relatada reações adversas em estudos com OEs com diferentes concentrações (Mwangi et al., 1995; John et al., 2009; Kouam et al., 2015), a utilização de COEs isolados em concentrações maiores pode ocasionar reações clínicas em animais (Lahti and Maibach, 1984; Woolf, 1999). Então é importante que nos futuros estudos, além da avaliação de eficácia, também seja realizada uma avaliação mais detalhada sobre o efeito dos OEs nos animais. A padronização das avaliações hematológicas, bioquímicas, clínicas e dermatológicas permite comparar os diferentes tratamentos de maneira adequada, além de fornecer dados mais precisos para que os pesquisadores possam intervir de forma rápida e precisa em casos de intoxicação dos animais.

3.8 Estudos com aplicação de OEs e COEs no ambiente

3.8.1 Avaliação de eficácia

Os detalhes do estudo no ambiente: carrapatos (estágio), OEs/COEs, tipo de ensaio, concentração, tamanho da parcela e resultados estão expressos na Tabela 4. Os resultados de eficácia carrapaticida no ambiente superaram 90% na metade dos trabalhos avaliados (Jordan et al., 2011; Bharadwaj et al., 2012; Araújo et al., 2015; Schulze and Jordan, 2021). Contudo, em alguns estudos foram demonstrados que a eficácia caiu ao longo do período de avaliação, sendo necessário novas aplicações para manter a supressão dos carrapatos nas áreas estudadas (Dolan et al., 2009; Jordan et al., 2011; Bharadwaj et al., 2012; Schulze and Jordan, 2021). A baixa persistência e consequente diminuição da taxa de controle dos OEs/COEs pode ser devido a sua alta volatilidade (Bakkali et al., 2008; Ellse and Wall, 2014), que pode ser corrigida por meio de formulações encapsuladas (Quadros et al., 2020).

Dolan et al. (2009) observaram que a utilização de uma formulação com a concentração de 2% de nootkatone, aplicada por pulverizador de alta pressão, foi tão eficaz quanto uma formulação com 5%, aplicado com bomba costal. Esses autores também observaram que uma formulação utilizando nanotecnologia também aumentou a eficácia do nootkatone. Melhorias no processo da formulação, como a nanoemulsão utilizada por Dolan et al. (2009) e o encapsulamento em lignina utilizada por Bharadwaj et al. (2012), permitiram utilizar menores concentrações e aumentar o período de eficácia do produto contra *I. scapularis* e *A. americanum*. A concentração do produto, o intervalo entre as aplicações e o custo financeiro atribuído a eles pode ser um fator limitante quando a aplicação for realizada em grandes áreas.

Tabela 4 – Tratamentos e eficácia compilados de 28 artigos utilizando óleos essenciais (OEs) e seus compostos (COEs) para controle de carrapatos em estudos no ambiente de 1991-2021.

Carrapato (estágio)	OEs / COEs	Ensaio	Concentração	Tamanho da parcela	Principais resultados	Referência
<i>I. scapularis</i> e <i>A. americanum</i> (N, A)	Nootkatone; Nootkatone nanoemulsão e Carvacrol	Ambiente naturalmente infestado	1; 2; 5%; 3,1% (nanoemulsão) e 0,05; 5%	100 m ²	O Carvacrol e o Nootkatone a 5% foram capazes de suprimir 100% e ninfas de <i>I. scapularis</i> e <i>A. americanum</i> por 2 dias, mantendo uma eficácia superior a 65% até 21 dias após a aplicação. O Nootkatone teve eficácia superior 70 e 100%, até 21 dias de aplicação, para ambas as espécies de carrapatos, com 3,1% em nanoemulsão e 2% em pulverizador de alta pressão, respectivamente.	Dolan et al. (2009)
<i>I. scapularis</i> (L, N, A)	Eco-Exempt IC2 (10% óleo de alecrim, 5% geraniol, 2% óleo de hortelã-pimenta)	Ambiente naturalmente infestado	3,1%	10.000 m ² (L, N) e 100 m ² (A)	O produto botânico teve eficácia semelhante ao piretroide sobre ninfas (100% 2 semanas após aplicação). Em larvas o controle foi de 63,1 e 94,3%, com o uso do produto botânico e piretroides (5 semanas após a aplicação). Para adultos, o controle usando o produto botânico e o piretroide foi de 93,8% e 100%, respectivamente, na 14ª semana após a aplicação. Na primavera, foi de 72% e 100%, respectivamente, na 41ª semana após a aplicação.	Rand et al. (2010)
	Nootkatone		2%	100 m ²	A formulação de nootkatone (2%) resultou em 96,5% de controle para <i>I. scapularis</i> e 91,9% para <i>A. americanum</i> , após 42 e 35 dias, respectivamente.	
<i>I. scapularis</i> e <i>A. americanum</i> (N)	Eco Trol T&O	Ambiente naturalmente infestado	46,9 mL/L e 78,1 mL/L	100 m ²	As aplicações resultaram em 90,8 e 87,3% de controle de <i>I. scapularis</i> e <i>A. americanum</i> , respectivamente. O controle caiu para 30,4% para <i>I. scapularis</i> e 62,6% para <i>A. americanum</i> após 42 dias.	Jordan et al. (2011)
	Carvacrol		2%	100 m ²	As aplicações resultaram em 92,3% e 92,9% de controle de <i>I. scapularis</i> e <i>A. americanum</i> , respectivamente. O controle caiu para 76,7% para <i>I. scapularis</i> e 61,9% para <i>A. americanum</i> após 42 dias.	
<i>Ixodes scapularis</i> Say (N)	Nootkatone	Ambiente naturalmente infestado	0,46-0,84%	150-387 m ²	A formulação de nootkatone resultou em 100% de eficácia para ninfas de <i>I. scapularis</i> , após 3 dias, 49%, após 16 dias, chegando a 0% após o 29º dia. Com o encapsulamento em lignina, o percentual de controle foi de 100% em todo o período de observação (até 56 dias).	Bharadwaj et al. (2012)
<i>Ixodes scapularis</i> Say (L, N, A)	Eco-Exempt IC2 (10% óleo de alecrim, 5% geraniol, 2% óleo de hortelã-pimenta)	Ambiente naturalmente infestado	3,1%	100 m ²	O IC-2 foi tão eficaz quanto a bifentrina em L, N e A, além de se mostrar menos tóxicos em espécies não-alvos.	Elias et al. (2013)
<i>R. microplus</i> (L)	Cristais de Timol	Ambiente experimentalmente infestado	2,50; 5; 10; 15 e 20 mg / mL	0,05 m ²	Nas maiores concentrações (10, 15 e 20 mg/mL) o número de larvas vivas diminuiu em mais de 95%, em relação ao grupo controle.	Araújo et al. (2015)
<i>A. sculptum</i> (L)	Timol + Eugenol e Carvacrol + Eugenol	Ambiente experimentalmente infestado	5 mg / mL	0,03 m ²	A eficácia nos tratamentos com timol + eugenol e carvacrol + eugenol foram de 63 e 42%, respectivamente.	Vale et al. (2021)
<i>I. scapularis</i> e <i>A. americanum</i> (N e N, A)	Essentria® IC-3 (10% óleo de alecrim, 5% geraniol, 2% óleo de hortelã-pimenta)	Ambiente naturalmente infestado	86,6 mL de ingrediente ativo /parcela	100 m ²	As aplicações no final de abril resultaram em supressão de ninfas das duas espécies, superior a 90%, durante 3 semanas. Após uma segunda aplicação no final de maio, as ninfas de <i>I. scapularis</i> foram suprimidas por mais 3 semanas (100%), enquanto as ninfas de <i>A. americanum</i> foram suprimidas por mais 2 semanas (≥90%).	Schulze and Jordan (2021)

Abreviações dos gêneros de carrapatos: *Ixodes* (I.), *Amblyomma* (A.); *Rhipicephalus* (R.)

Abreviações dos estágios dos carrapatos: Larva (L); Ninfa (N); Adulto (A)

3.8.2 Resíduos e toxicidade em organismos não-alvos

Óleos essenciais possuem inúmeras atividades biológicas, são eficazes contra várias pragas e tem pouca ou nenhuma toxicidade contra espécies não-alvos, como os OEs de espécies como *Foeniculum vulgare* Miller, *Stevia rebaudiana* e *Cinnamomum cassia* (Pavela, 2018; Benelli et al., 2020; Nwanade et al., 2021; Nwanade et al., 2022). Nessa revisão, em apenas 25% dos estudos de campo e semi-campo realizados no ambiente foram avaliados efeitos de toxicidade em espécies não-alvos ou descrição dos resíduos no ambiente (Bharadwaj et al., 2012; Elias et al., 2013). Houve relatos de diminuição do número de artrópodes não-alvos das ordens Coleoptera, Himenoptera e classe Collembola, uma semana após a aplicação de produto a base de OEs de alecrim e hortelã pimenta + geraniol (Elias et al., 2013). Também foi relatado fitotoxicidade dos produtos à base de OEs de alecrim e hortelã pimenta + geraniol e nootkatone emulsionável. Contudo os autores mencionam que essa fitotoxicidade foi revertida dias após a aplicação (Bharadwaj et al., 2012; Elias et al., 2013).

Essas avaliações são importantes, principalmente em estudos no ambiente, pois existem evidências de ecotoxicidade de OEs de *Lippia alba*, *L. gracilis*, *L. sidoides*, *Mentha arvensis*, *M. piperita*, *Ocimum gratissimum*, *Piper aduncum* e *P. callosum*, e do hidrolato de *Artemisia absinthium* (subproduto desse OE), em organismos não-alvos em ambiente aquático, como micro crustáceos, sementes de plantas, algas e nematoides (Pino-Otín et al., 2019; Miura et al., 2021a, 2021b). Uma possibilidade para diminuir, e até mesmo evitar a fitotoxicidade, é o encapsulamento com lignina, utilizada Bharadwaj et al. (2012). Alternativas, como o uso de nanotecnologia, podem reduzir potenciais riscos aos animais e aos organismos não-alvos (Jesser et al., 2020).

4. Considerações finais

Esta revisão possibilita compreender de maneira mais assertiva os avanços conquistados nos resultados de campo e semi-campo nas pesquisas com OEs e COEs para controle de carrapatos. Ao longo de três décadas, foram produzidos estudos que evidenciaram a capacidade de OEs e COEs em reduzir infestações de carrapatos em diferentes hospedeiros e suprimir infestações de carrapatos no ambiente. Contudo, para que o uso de OEs e COEs se torne uma realidade para o controle de carrapatos, ainda é necessário ampliar o número de investigações em condições de campo e semi-campo, permitindo dimensionar o real potencial dessas substâncias, levando em considerações alguns aspectos importantes, incluindo (Figura 7):

1. Realizar a caracterização dos OEs ou descrição da fonte, lote, e grau de pureza dos COEs, uma vez esses aspectos podem influenciar nos resultados de avaliação de eficácia dos OEs e COEs em estudos em condições de semi-campo e campo;
2. Buscar ao máximo a padronização dos estudos para avaliar a eficácia dos OEs e COEs para controle de carrapatos em condições de campo e semi-campo, seguindo protocolos de estudos já bem estabelecidos na literatura, guias da WAAPV e protocolos de registro de antiparasitários vigentes nos países onde serão realizados os estudos;
3. Realizar estudos com OEs e COEs em combinações com moléculas utilizadas como ingredientes ativos de carrapaticidas disponíveis no mercado e outras moléculas promissoras, que possam apresentar interações sinérgicas, resultando em maior eficácia e maior viabilidade econômica, permitindo reduzir as concentrações dos OEs e COEs;
4. Realizar estudos farmacotécnicos de desenvolvimento de formulações, especialmente com o uso de nanotecnologia e encapsulamento, permitindo reduzir a volatilidade dos OEs ou COEs, podendo resultar em aumento de eficácia e de segurança para animais, humanos e ambiente.

5. Realizar estudos em condições de campo e semi-campo com OEs e COEs para controle de carrapatos, para avaliar não só a eficácia, mas também a segurança da aplicação para animais, humanos, organismos-não alvos e ambiente.

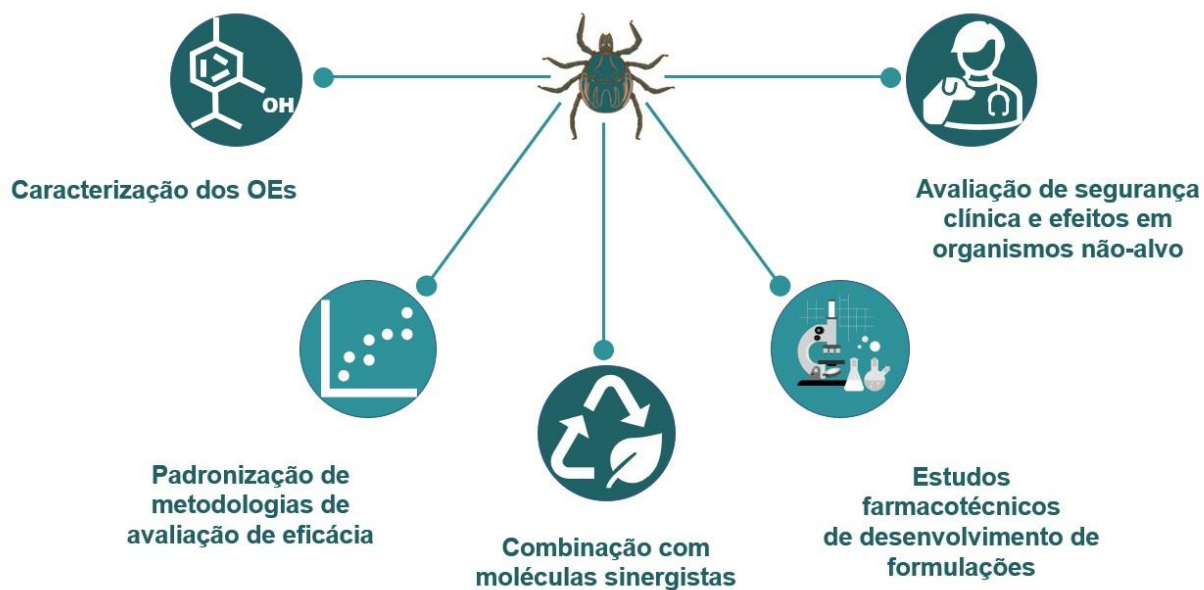


Figura 7 – Direcionamentos para estudos futuros com a utilização de óleos essenciais (OEs) e compostos encontrados em óleos essenciais (COEs), em condições de campo e semi-campo, para controle de carrapatos.

Referências

- Abinpet, 2013. População de animais de estimação no Brasil. URL <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-tematicas/insumos-agropecuarios/anos-anteriores/ibge-populacao-de-animais-de-estimacao-no-brasil-2013-abinpet-79.pdf/view>
- Abinpet, 2022. 2022 Dados de Mercado Pet Brasil. São Paulo. URL https://abinpet.org.br/wp-content/uploads/2022/08/abinpet_folder_dados_mercado_2022_draft3_web.pdf (Accessed 9.12.22).
- Aboelhadid, S.M., Arafa, W.M., Mahrous, L.N., Fahmy, M.M., Kamel, A.A., 2018. Molecular detection of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* resistance against deltamethrin in middle Egypt. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports* 13, 198–204. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.06.008>
- Adenubi, O.T., Ahmed, A.S., Fasina, F.O., McGaw, L.J., Eloff, J.N., Naidoo, V., 2018. Pesticidal plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review and meta-analysis. *Ind. Crops Prod.* 123, 779–806. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.075>
- Adenubi, O.T., Fasina, F.O., McGaw, L.J., Eloff, J.N., Naidoo, V., 2016. Plant extracts to control ticks of veterinary and medical importance: A review. *South African J. Bot.* 105, 178–193. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.010>
- Agnolin, C.A., Olivo, C.J., Leal, M.L.R., Beck, R.C.R., Meinerz, G.R., Parra, C.L.C., Machado, P.R., Foletto, V., Bem, C.M., Nicolodi, P.R.S.J., 2010a. Eficácia do óleo de citronela [*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle] no controle de ectoparasitas de bovinos. *Rev. Bras. Plantas Med.* 12, 482–487. <https://doi.org/10.1590/s1516-05722010000400012>

- Agnolin, C.A., Olivo, C.J., Parra, C.L.C., Aguirre, P.F., Bem, C.M., Zeni, D., Morel, A.F., 2014. Eficácia acaricida do óleo de citronela contra o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev. Bras. Saúde e Prod. Anim. 15, 604–612. <https://doi.org/10.1590/S1519-99402014000300007>
- Agnolin, C.A., Olivo, C.J., Sangioni, L.A., Parra, C.L.C., Diehl, M.S., Santos, J.C. dos, Aguirre, P.F., Camillo, G., Irgang, D.M., 2010b. Concentrações de óleo de citronela no controle do carrapato de bovinos. Rev. Bras. Agroecol. 5, 187–193.
- Agwunobi, D.O., Yu, Z., Liu, J., 2021. A retrospective review on ixodid tick resistance against synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and mitigation. Pestic. Biochem. Physiol. 173, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104776>
- Aljaafari, M.N., AlAli, A.O., Baqais, L., Alqubaisy, M., AlAli, M., Molouki, A., Ong-Abdullah, J., Abushelaibi, A., Lai, K.S., Lim, S.H.E., 2021. An Overview of the Potential Therapeutic Applications of Essential Oils. Molecules 26. <https://doi.org/10.3390/molecules26030628>
- Allenby, C.F., Gooowin, B.F.J., Safford, R.J., 1984. Diminution of immediate reactions to cinnamic aldehyde by eugenol. Contact Dermatitis. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1984.tb01025.x>
- Amer, A.M., Amer, M.M., 2020. Efficacy and safety of natural essential oils mixture on tick infestation in dogs. Adv. Anim. Vet. Sci. 8, 398–407. <https://doi.org/10.17582/JOURNAL.AAVS/2020/8.4.398.407>
- Andreotti, R., Garcia, M.V., Cunha, R.C., Barros, J.C., 2013. Protective action of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil in the control of *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in a cattle pen trial. Vet. Parasitol. 197, 341–345. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.045>

- Andreotti, R., Garcia, M.V., Koller, W.W., 2019. Controle estratégico dos carrapatos nos bovinos, in: Carrapatos Na Cadeia Produtiva de Bovinos. Embrapa, Brasília, DF, pp. 125–135.
- Andreotti, R., Garcia, M.V., Reis, F.A., Rodrigues, V.S., Barros, J.C., 2016. Proposta de controle de carrapatos para o Brasil Central em sistemas de produção de bovinos associados ao manejo nutricional no campo, in: Documentos 214. Embrapa Gado de Corte, Brasília, p. 34.
- Arafa, W.M., Aboelhadid, S.M., Moawad, A., Shokeir, K.M., Ahmed, O., 2020. Toxicity, repellency and anti-cholinesterase activities of thymol-eucalyptus combinations against phenotypically resistant *Rhipicephalus annulatus* ticks. Exp. Appl. Acarol. 81, 265–277. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00506-1>
- Arafa, W.M., Aboelhadid, S.M., Moawad, A., Shokeir, K.M., Ahmed, O., Pérez de León, A.A., 2021. Control of *Rhipicephalus annulatus* resistant to deltamethrin by spraying infested cattle with synergistic eucalyptus essential oil-thymol-deltamethrin combination. Vet. Parasitol. 290, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109346>
- Araújo, L.X., Novato, T.P.L., Zeringota, V., Matos, R.S., Senra, T.O.S., Maturano, R., Prata, M.C.A., Daemon, E., Monteiro, C.M.O., 2015. Acaricidal activity of thymol against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) under semi-natural conditions. Parasitol. Res. 114, 3271–3276. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4547-3>
- Asbahani, A. El, Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E.H.A., Casabianca, H., Mousadik, A. El, Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F.N.R., Elaissari, A., 2015. Essential oils: From extraction to encapsulation. Int. J. Pharm. 483, 220–243. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food Chem. Toxicol. 46, 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

- Balashov, Y.S., 1972. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - vectors of disease in man and animals, in: Miscellaneous Publication Australian Entomology. pp. 161–165.
- Becker, S., Webster, A., Doyle, R.L., Martins, J.R., Reck, J., Klafke, G.M., 2019. Resistance to deltamethrin, fipronil and ivermectin in the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* sensu stricto, Latreille (Acari: Ixodidae). Ticks Tick. Borne. Dis. 10, 1046–1050. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.05.015>
- Benelli, G., Pavela, R., 2018. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks - A systematic review. Acta Trop. 179, 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.12.025>
- Benelli, G., Pavela, R., Drenaggi, E., Desneux, N., Maggi, F., 2020. Phytol, (*E*)-nerolidol and spathulenol from *Stevia rebaudiana* leaf essential oil as effective and eco-friendly botanical insecticides against *Metopolophium dirhodum*. Ind. Crops Prod. 155, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112844>
- BFG (The Brazil Flora Group), 2021. Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. <https://doi.org/10.47871/jbrj2021001>
- Bharadwaj, A., Stafford, K.C., Behle, R.W., 2012. Efficacy and environmental persistence of nootkatone for the control of the blacklegged tick (Acari: Ixodidae) in residential landscapes. J. Med. Entomol. 49, 1035–1044. <https://doi.org/10.1603/ME11251>
- Boito, J.P., Santos, R.C., Vaucher, R.A., Raffin, R., Machado, G., Tonin, A.A., Da Silva, A.S., 2016. Evaluation of tea tree oil for controlling *Rhipicephalus microplus* in dairy cows. Vet. Parasitol. 225, 70–72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.05.031>

- Bojarski, B., Witeska, M., 2020. Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish - a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 27, 19236–19250. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08248-8>
- Borges, L.M.F., de Sousa, L.A.D., da Silva Barbosa, C., 2011. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 20, 89–96. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612011000200001>
- Brasil, 1997. Portaria nº 48, de 12 de maio de 1997.
- Brasil, 2021. Principais resultados - 2021, Pesquisa de Pecuária Municipal. IBGE.
- Brown, H.A., Minott, D.A., Ingram, C.W., Williams, L.A.D., 1998. Biological activities of the extracts and constituents of Pimento, *Pimenta dioica* L. against the southern cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Sci. its Appl.* 18, 9–16. <https://doi.org/10.1017/s1742758400007402>
- Castro, K.N. de C., Canuto, K.M., Brito, E. de S., Costa-Júnior, L.M., De Andrade, I.M., Magalhães, J.A., Barros, D.M.A., 2018. In vitro efficacy of essential oils with different concentrations of 1,8-cineole against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 27, 203–210. <https://doi.org/10.1590/s1984-296120180015>
- Cavalcante, A.S. de A., Ferreira, L.L., Couto, L.F.M., Zapa, D.M.B., Heller, L.M., Nicaretta, J.E., Cruvinel, L.B., Junior, R.D.M., Soares, V.E., de Souza, G.R.L., Monteiro, C.M. de O., Lopes, W.D.Z., 2021. An update on amitraz efficacy against *Rhipicephalus microplus* after 15 years of disuse. *Parasitol. Res.* 120, 1103–1108. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07063-5>
- Chagas, A.C.S., 2004. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 13, 156–160.

- Chagas, A.C.S., Domingues, L.F., Fantatto, R.R., Giglioti, R., Oliveira, M.C.S., Oliveira, D.H., Mano, R.A., Jacob, R.G., 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*. *Vet. Parasitol.* 205, 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.06.030>
- Chungsamarnyart, N., Jiwajinda, S., 1992. Acaricidal Activity of Volatile oil from Lemon and Citronella Grasses on Tropical Cattle Ticks. *Nat. Sci. Suppl.* 26, 46–51.
- Costa-Junior, L.M., Rembeck, K., de Melo Mendonça, F.L., Azevedo, S.C., Passos, L.M.F., Ribeiro, M.F.B., 2012. Occurrence of ectoparasites on dogs in rural regions of the state of Minas Gerais, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 21, 237–242. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612012000300011>
- Cruz, E.M. de O., Costa-Junior, L.M., Pinto, J.A.O., Santos, D. de A., Araujo, S.A. de, Arrigoni-Blank, M. de F., Bacci, L., Alves, P.B., Cavalcanti, S.C. de H., Blank, A.F., 2013. Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Vet. Parasitol.* 195, 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.046>
- Cuore, U., Solari, M.A., 2014. Poblaciones multirresistentes de garrapatas. *Vet.* 50, 4–13.
- Dantas-Torres, F., Figueredo, L.A., Brandão-Filho, S.P., 2006. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 39, 64–67. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822006000100012>
- Dantas-Torres, F., 2008. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Vet. Parasitol.* 152, 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.030>

- Dantas-Torres, F., 2010. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. Parasit. Vectors 3, 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60563-1](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60563-1)
- Dantas-Torres, F., Otranto, D., 2015. Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. Vet. Parasitol. 208, 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.014>
- Delmonte, C., Cruz, P.B., Zeringóta, V., de Mello, V., Ferreira, F., Amaral, M. da P.H., Daemon, E., 2017. Evaluation of the acaricidal activity of thymol incorporated in two formulations for topical use against immature stages of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Parasitol. Res. 116, 2957–2964. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5604-x>
- Demma, L.J., Traeger, M.S., Nicholson, William L. Paddock, C.D., Blau, D.M., Eremeeva, M.E., Dasch, G.A., Levin, M.L., Singleton, J., Zaki, S.R., Cheek, J.E., Swerdlow, David L. McQuiston, J.H., 2005. Rocky Mountain Spotted Fever From an Unexpected Tick Vector in Arizona. N. Engl. J. Med. 353, 587–94. <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000186289.63000.63>
- Diniz, J.A., Marchesini, P., Zeringóta, V., Matos, R. da S., Novato, T.P.L., Melo, D., Vale, L., Lopes, W.D.Z., Gomes, G.A., Monteiro, C., 2021. Chemical composition of essential oils of different *Siparuna guianensis* chemotypes and their acaricidal activity against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae): influence of α -bisabolol. Int. J. Acarol. 48, 1–7. <https://doi.org/10.1080/01647954.2021.2009910>
- Do Vale, T.L., Sousa, I.C., Tavares, C.P., Silva, N.C., Luz, H.R., Gomes, M.N., Sargison, N., Costa-Junior, L.M., 2021. Practices employed by veterinary practitioners for controlling canine gastrointestinal helminths and ectoparasites. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 30, 1–12. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021079>

- Dolan, M.C., Jordan, R.A., Schulze, T.L., Schulze, C.J., Manning, M.C., Ruffolo, D., Schmidt, J.P., Piesman, J., Karchesy, J.J., 2009. Ability of two natural products, nootkatone and carvacrol, to suppress *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in a Lyme disease endemic area of New Jersey. *J. Econ. Entomol.* 102, 2316–2324. <https://doi.org/10.1603/029.102.0638>
- Donalisio, M.R., Souza, C.E., Angerami, R.N., Samy, A.M., 2020. Mapping Brazilian spotted fever: Linking etiological agent, vectors, and hosts. *Acta Trop.* 207, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105496>
- Dzemo, W.D., Thekiso, O., Vudriko, P., 2022. Development of acaricide resistance in tick populations of cattle: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon* 8, e08718. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08718>
- Elias, S.P., Lubelczyk, C.B., Rand, P.W., Staples, J.K., Amand, T.W.S., Stubbs, C.S., Lacombe, E.H., Smith, L.B., Smith, R.P., 2013. Effect of a botanical acaricide on *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and nontarget arthropods. *J. Med. Entomol.* 50, 126–136. <https://doi.org/10.1603/ME12124>
- Ellse, L., Wall, R., 2014. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: A review. *Med. Vet. Entomol.* 28, 233–243. <https://doi.org/10.1111/mve.12033>
- El-Ashram, S., Aboelhadid, S.M., Kamel, A.A., Mahrous, L.N., Fahmy, M.M., 2019. First report of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* in Egypt resistant to ivermectin. *Insects* 10, 1–7. <https://doi.org/10.3390/insects10110404>
- Fernández-Salas, A., Rodríguez-Vivas, R.I., Alonso-Díaz, M.A., 2012. First report of a *Rhipicephalus microplus* tick population multi-resistant to acaricides and ivermectin in the Mexican tropics. *Vet. Parasitol.* 183, 338–342. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.028>

- Ferreira, F.M., Delmonte, C.C., Novato, T.L.P., Monteiro, C.M.O., Daemon, E., Vilela, F.M.P., Amaral, M.P.H., 2018. Acaricidal activity of essential oil of *Syzygium aromaticum*, hydrolate and eugenol formulated or free on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus*. *Med. Vet. Entomol.* 32, 41–47. <https://doi.org/10.1111/mve.12259>
- Fular, A., Sharma, A.K., Kumar, S., Nagar, G., Chigure, G., Ray, D.D., Ghosh, S., 2018. Establishment of a multi-acaricide resistant reference tick strain (IVRI-V) of *Rhipicephalus microplus*. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 9, 1184–1191. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.04.014>
- Furlong, J., 2005. Carrapato: problemas e soluções. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.
- Furlong, J., Martins, J.R., Prata, M.C.A., 2007. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? *A Hora Veterinária* 159, 1–7.
- George, D.R., Finn, R.D., Graham, K.M., Sparagano, O.A., 2014. Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. *Parasites and Vectors* 7, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-28>
- Gilbert, L., 2021. The Impacts of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Disease Risk. *Annu. Rev. Entomol.* 66, 273–288. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-052720-094533>
- Godara, R., Katoch, R., Rafiqi, S.I., Yadav, A., Nazim, K., Sharma, R., Singh, N.K., Katoch, M., 2019. Synthetic pyrethroid resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks from north-western Himalayas, India. *Trop. Anim. Health Prod.* 51, 1203–1208. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01810-8>
- Godfray, H.C.J., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M., Toulmin, C., 2010. Food security: The challenge of feeding 9 billion people. *Science.* 327, 812–818. <https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.02.030>

- Gomes, G.A., Monteiro, C.M.D.O., Senra, T.D.O.S., Zeringota, V., Calmon, F., Matos, R.D.S., Daemon, E., Gois, R.W.D.S., Santiago, G.M.P., De Carvalho, M.G., 2012. Chemical composition and acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on larvae of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) and larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 111, 2423–2430. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3101-9>
- Gomes, G.A., Monteiro, C.M.O., Julião, L. de S., Maturano, R., Senra, T.O.S., Zeringóta, V., Calmon, F., Matos, R. da S., Daemon, E., Carvalho, M.G. de, 2014. Acaricidal activity of essential oil from *Lippia sidoides* on unengorged larvae and nymphs of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *Exp. Parasitol.* 137, 41–45. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.12.003>
- Grandi, G., Chitimia-Dobler, L., Choklikitumnuey, P., Strube, C., Springer, A., Albiñ, A., Jaenson, T.G.T., Omazic, A., 2020. First records of adult *Hyalomma marginatum* and *H. rufipes* ticks (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 11, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101403>
- Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R. de S., de Barros, A.T.M., Andreotti, R., Cançado, P.H.D., de León, A.A.P., Pereira, J.B., Villela, H.S., 2014. Reavaliação do potencial impacto econômico de parasitos de bovinos no Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 23, 150–156. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014042>
- Growth from Knowledge, 2016. Man's best friend: Global pet ownership and feeding trends [WWW Document]. Growth from Knowl. URL [https://www.gfk.com/insights/mans-best-friend-global-pet-ownership-and-feeding-trends#:~:text=On average, one third \(33, no pets in their household. \(Accessed 7.29.21\).](https://www.gfk.com/insights/mans-best-friend-global-pet-ownership-and-feeding-trends#:~:text=On average, one third (33, no pets in their household. (Accessed 7.29.21).)

- Guglielmo, A.A., Beati, L., Barros-Battesti, D.M., Labruna, M.B., Nava, S., Venzal, J.M., Mangold, A.J., Szabó, M.P.J., Martins, J.R., González-Acuña, D., Estrada-Peña, A., 2006. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp. Appl. Acarol.* 40, 83–100. <https://doi.org/10.1007/s10493-006-9027-0>
- Hackman, R.H., Filshie, B.K., 1982. The Tick Cuticle, in: Obenchain, F.D., Galun, R. (Eds.), *Physiology of Ticks*. Pergamon Press, Oxford, p. 509. <https://doi.org/10.1016/c2013-0-03261-6>
- Heath, A.C.G., Levot, G.W., 2015. Parasiticide resistance in flies, lice and ticks in New Zealand and Australia: mechanisms, prevalence and prevention. *N. Z. Vet. J.* 63, 199–210. <https://doi.org/10.1080/00480169.2014.960500>
- Higa, L. de O.S., Garcia, M.V., Barros, J.C., Koller, W.W., Andreotti, R., 2015. Acaricide Resistance Status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: A Literature Overview. *Med. Chem. (Los. Angeles)*. 5, 326–333. <https://doi.org/10.4172/2161-0444.1000281>
- Holdsworth, P.A., Kemp, D., Green, P., Peter, R.J., De Bruin, C., Jonsson, N.N., Letonja, T., Rehbein, S., Vercruyse, J., 2006. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks (Ixodidae) on ruminants. *Vet. Parasitol.* 136, 29–43. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.011>
- Holdsworth, P., Rehbein, S., Jonsson, N.N., Peter, R., Vercruyse, J., Fourie, J., 2022. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition: Guideline for evaluating the efficacy of parasiticides against ectoparasites of ruminants. *Vet. Parasitol.* 302, 109613. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109613>

- Isman, M.B., 2008. Perspective Botanical insecticides: for richer, for poorer. *Pest Manag. Sci.* 64, 8–11. <https://doi.org/10.1002/ps>
- Jesser, E., Yeguerman, C., Gili, V., Santillan, G., Murray, A.P., Domini, C., Werdin-González, J.O., 2020. Optimization and Characterization of Essential Oil Nanoemulsions Using Ultrasound for New Ecofriendly Insecticides. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 8, 7981–7992. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c02224>
- John, M.S., Maske, D.K., Jayraw, A.K., 2009. Efficacy of herbal essential oils against tick parasitism in goats. *J. Vet. Parasitol.* 23, 203–204.
- Jones, E.H., Hinckley, A.F., Hook, S.A., Meek, J.I., Backenson, B., Kugeler, K.J., Feldman, K.A., 2018. Pet ownership increases human risk of encountering ticks. *Zoonoses Public Health* 65, 74–79. <https://doi.org/10.1111/zph.12369>
- Jonsson, N.N., 2006. The productivity effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation on cattle, with particular reference to *Bos indicus* cattle and their crosses. *Vet. Parasitol.* 137, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.010>
- Jordan, R.A., Dolan, M.C., Piesman, J., Schulze, T.L., 2011. Suppression of host-seeking *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) nymphs after dual applications of plant-derived acaricides in New Jersey. *J. Econ. Entomol.* 104, 659–664. <https://doi.org/10.1603/EC10340>
- Jyoti, Singh, N.K., Singh, H., Rath, S.S., 2019. Modified larval packet test based detection of amitraz resistance in *Hyalomma anatolicum* Koch (Acari: Ixodidae) from Punjab districts of India. *Int. J. Acarol.* 45, 391–394. <https://doi.org/10.1080/01647954.2019.1667432>

- Karlberg, A.T., Börje, A., Duus Johansen, J., Lidén, C., Rastogi, S., Roberts, D., Uter, W., White, I.R., 2013. Activation of non-sensitizing or low-sensitizing fragrance substances into potent sensitizers - Prehaptens and prohaptens. *Contact Dermatitis* 69, 323–334. <https://doi.org/10.1111/cod.12127>
- King, T., Cole, M., Farber, J.M., Eisenbrand, G., Zabaras, D., Fox, E.M., Hill, J.P., 2017. Food safety for food security: Relationship between global megatrends and developments in food safety. *Trends Food Sci. Technol.* 68, 160–175. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.014>
- Klafke, G., Webster, A., Agnol, B.D., Pradel, E., Silva, J., Canal, L.H. de La, Becker, M., Osório, M.F., Mansson, M., Barreto, R., Scheffer, R., Souza, U.A., Corassini, V.B., Santos, J. dos, Reck, J., Martins, J.R., 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 8, 73–80.
- Klafke, G.M., Thomas, D.B., Miller, R.J., Pérez de León, A.A., 2021. Efficacy of a water-based botanical acaricide formulation applied in portable spray box against the southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae), infesting cattle. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 12. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101721>
- Kouam, M.K., Payne, V.K., Miégoué, E., Tendonkeng, F., Lemoufouet, J., Kana, J.R., Boukila, B., Pamo, E.T., MNM, B., 2015. Evaluation of In Vivo Acaricidal Effect of Soap Containing Essential Oil of *Chenopodium ambrosioides* Leaves on *Rhipicephalus lunulatus* in the Western Highland of Cameroon. *J. Pathog.* 1–5. <https://doi.org/10.1155/2015/516869>
- Kumar, R., Sharma, A.K., Kumar, Sachin, Nagar, G., Ranjan, R., Kumar, Suman, Kumar, N., 2022. Resistance of *Rhipicephalus microplus* ticks against synthetic pyrethroids from different places of Rewa district of Madhya Pradesh, India. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 1–10. <https://doi.org/10.1007/s42690-022-00767-w>

- Lage, T.C.de A., Montanari, R.M., Fernandes, S.A., de Oliveira Monteiro, C.M., de Oliveira Souza Senra, T., Zeringota, V., Calmon, F., da Silva Matos, R., Daemon, E., 2013. Activity of essential oil of *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Parasitol. Res. 112, 863–869. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3209-y>
- Lage, T.C. de A., Montanari, R.M., Fernandes, S.A., de Oliveira Monteiro, C.M., de Oliveira Souza Senra, T., Zeringota, V., da Silva Matos, R., Daemon, E., 2015. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (1836) and its constituents nerolidol and limonene on larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Exp. Parasitol. 148, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2014.10.011>
- Lahti, A., Maibach, H.I., 1984. An animal model for nonimmunologic contact urticaria. Toxicol. Appl. Pharmacol. 76, 219–224. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(84\)90002-4](https://doi.org/10.1016/0041-008X(84)90002-4)
- Lew-Tabor, A.E., Rodriguez Valle, M., 2016. A review of reverse vaccinology approaches for the development of vaccines against ticks and tick borne diseases. Ticks Tick. Borne. Dis. 7, 573–585. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.12.012>
- Louly, C.C.B., Fonseca, I.N., Oliveira, V.F. de, Borges, L.M.F., 2006. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. Ciência Anim. Bras. 7, 103–106.
- Lwande, W., Ndakala, A.J., Hassanali, A., Moreka, L., Nyandat, E., Ndungu, M., Amiani, H., Gitu, P.M., Malonza, M.M., Punyua, D.K., 1998. *Gynandropsis gynandra* essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) repellents. Phytochemistry 50, 401–405. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00507-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00507-X)

- Madison-Antenucci, S., Kramer, L.D., Gebhardt, L.L., Kauffman, E., 2020. Emerging Tick-Borne Diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 33, 1–34.
- Marchesini, P., Novato, T.P., Cardoso, S.J., de Azevedo Prata, M.C., do Nascimento, R.M., Klafke, G., Costa-Júnior, L.M., Maturano, R., Lopes, W.D.Z., Bittencourt, V.R.E.P., Monteiro, C., 2020. Acaricidal activity of (*E*)-cinnamaldehyde and α -bisabolol on populations of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) with different resistance profiles. *Vet. Parasitol.* 286. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109226>
- Marchiondo, A.A., Holdsworth, P.A., Fourie, L.J., Rugg, D., Hellmann, K., Snyder, D.E., Dryden, M.W., 2013. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition: Guidelines for evaluating the efficacy of parasiticides for the treatment, prevention and control of flea and tick infestations on dogs and cats. *Vet. Parasitol.* 194, 84–97. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.02.003>
- Marques R, Krüger RF, Peterson AT, de Melo LF, Vicenzi N, Jiménez-García D. Climate change implications for the distribution of the babesiosis and anaplasmosis tick vector, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Vet Res.* 2020;51(1):81. Published 2020 Jun 17. doi:10.1186/s13567-020-00802-z
- Martins, J., Furlong, J., Leite, R.C., 2006. Controle de carrapatos, in: Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um Guia Ilustrado Para Identificação de Espécies. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, pp. 145–154.
- Martins, R.M., González, F.H.D., 2007. Uso del aceite de citronela de Java (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) (Panicoidideae) como acaricida frente a la garrapata *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Plantas Med.* 9, 1–8.

- Matos, R.S., Daemon, E., de Oliveira Monteiro, C.M., Sampieri, B.R., Marchesini, P.B.C., Delmonte, C., Camargo-Mathias, M.I., 2019. Thymol action on cells and tissues of the synganglia and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato females (Acari: Ixodidae). *Ticks Tick. Borne. Dis.* 10, 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.11.003>
- Matos, R.S., de Oliveira, P.R., Coelho, L., de Paula, L.G.F., Zeringota, V., Carvalho Silva, B., Monteiro, C., Daemon, E., Camargo-Mathias, M.I., 2020. Thymol: Effects on reproductive biology and Gene's organ morphology in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato engorged females (Acari: Ixodidae). *Ticks Tick. Borne. Dis.* 11, 101308. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101308>
- Matsumoto, K., Brouqui, P., Raoult, D., Parola, P., 2005. Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conori*. *Vector-borne zoonotic Dis.* 5, 363–72.
- Miller, R.J., George, J.E., Guerrero, F., Carpenter, L., Welch, J.B., 2001. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center, Panama. *J. Med. Entomol.* 38, 298–302. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.2.298>
- Miresmailli, S., Isman, M.B., 2014. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. *Trends Plant Sci.* 19, 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.10.002>
- Miura, P.T., Jonsson, C.M., de Queiroz, S.C.N., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Reyes, F.G.R., 2021a. Ecological risk assessment of *Piper aduncum* essential oil in non-target organisms. *Acta Amaz.* 51, 71–78. <https://doi.org/10.1590/1809-4392202002691>
- Miura, P.T., Queiroz, S.C.N., Jonsson, C.M., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Reyes, F.G., 2021b. Study of the chemical composition and ecotoxicological evaluation of essential oils in *Daphnia*

magna with potential use in aquaculture. *Aquac. Res.* 52, 3415–3424. <https://doi.org/10.1111/are.15186>

Monteiro, C., Ferreira, L.L., de Paula, L.G.F., de Oliveira Filho, J.G., de Oliveira Silva, F., Muniz, E.R., Menezes, K.M.F., de Camargo, F.R., de Oliveira Nonato, R., Martins, D.B., Marreto, R.N., Borges, L.M.F., 2021. Thymol and eugenol microemulsion for *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato control: Formulation development, field efficacy, and safety on dogs. *Vet. Parasitol.* 296, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109501>

Monteiro, C.M. de O., Prata, M.C. de A., 2015. Controle biológico do carrapato dos bovinos *Rhipicephalus microplus* com a utilização de nematóides entomopatogênicos: conquistas e desafios, in: *Controle de Carrapatos Nas Pastagens*. pp. 46–68.

Mwangi, E.N., Hassanali, A., Essuman, S., Myandat, E., Moreka, L., Kimondo, M., 1995. Repellent and acaricidal properties of *Ocimum suave* against *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. *Exp. Appl. Acarol.* 19, 11–18. <https://doi.org/10.1007/BF00051933>

Ndungu, M., Lwande, W., Hassanali, A., Moreka, L., Chhabra, S.C., 1995. *Cleome monophylla* essential oil and its constituents as tick (*Rhipicephalus appendiculatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*) repellents. *Entomol. Exp. Appl.* 76, 217–222.

Nicaretta, J.E., Zapa, D.M.B., Couto, L.F.M., Heller, L.M., Cavalcante, A.S. de A., Cruvinel, L.B., Melo Júnior, R.D. de, Ferreira, L.L., Nascimento, R.M. do, Soares, V.E., Borges, L.M.F., Monteiro, C.M. de O., Lopes, W.D.Z., 2021. *Rhipicephalus microplus* seasonal dynamic in a Cerrado biome, Brazil: An update data considering the global warming. *Vet. Parasitol.* 296, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109506>

Nicholson, S.S., 1995. Toxicity of insecticides and skin care products of botanical origin. *Vet. Dermatol.* 6, 139–43.

- Nwanade, C.F., Wang, M., Li, H., Masoudi, A., Yu, Z., Liu, J., 2022. Individual and synergistic toxicity of Cinnamon essential oil constituents against *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae) and their potential effects on non-target organisms. *Ind. Crops Prod.* 178, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114614>
- Nwanade, C.F., Wang, M., Wang, T., Yu, Z., Liu, J., 2020a. Botanical acaricides and repellents in tick control: current status and future directions, *Experimental and Applied Acarology*. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00489-z>
- Nwanade, C.F., Wang, M., Wang, T., Zhang, X., Wang, C., Yu, Z., Liu, J., 2021. Acaricidal activity of *Cinnamomum cassia* (Chinese cinnamon) against the tick *Haemaphysalis longicornis* is linked to its content of (*E*)-cinnamaldehyde. *Parasites and Vectors* 14, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04830-2>
- Nwanade, C.F., Yu, Z., Liu, J., 2020b. Botanical acaricides induced morphophysiological changes of reproductive and salivary glands in tick: A mini-review. *Res. Vet. Sci.* 132, 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.07.008>
- Olivo, C.J., Agnolin, C.A., Parra, C.L.C., Vogel, F.S.F., Richards, N.S.P. dos S., de Pellegrini, L.G., Webe, A., Pivoto, F., Araujo, L., 2013. Efeito do óleo de eucalipto (*Corymbia citriodora*) no controle do carrapato bovino. *Cienc. Rural* 43, 331–337. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013000200023>
- Pavela, R., 2018. Essential oils from *Foeniculum vulgare* Miller as a safe environmental insecticide against the aphid *Myzus persicae* Sulzer. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 10904–10910. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1398-3>
- Pavela, R., Benelli, G., 2016. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and Constraints. *Trends Plant Sci.* 21, 1000–1007.

- Peebles, J., Gwebu, E., Oyedeji, O., Nanyonga, S., Kunene, N., Jackson, D., Setzer, W., Oyedeji, A., 2011. Composition and Biological Potential of Essential Oil from *Thelechitonina trilobata* Growing in South Africa. *Nat. Prod. Commun.* 6, 1945–1948.
- Peixoto, M.G., Costa-Júnior, L.M., Blank, A.F., Lima, A. da S., Menezes, T.S.A., Santos, D. de A., Alves, P.B., Cavalcanti, S.C. de H., Bacci, L., Arrigoni-Blank, M. de F., 2015. Acaricidal activity of essential oils from *Lippia alba* genotypes and its major components carvone, limonene, and citral against *Rhipicephalus microplus*. *Vet. Parasitol.* 210, 118–122. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.03.010>
- Penha, T., Costa, A.C.C., Lima, A. da S., Camargo-Mathias, M.I., Blank, A.F., Abreu-Silva, A.L., Costa-Júnior, L.M., 2021. Effects of acaricidal essential oils from *Lippia sidoides* and *Lippia gracilis* and their main components on vitellogenesis in *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.* 299, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109584>
- Perez, C.A., 2013. Estudos e estratégias para o controle de carrapatos *Amblyomma*, vetor da Febre Maculosa Brasileira, no Campus “Luiz de Queiroz” USP/Piracicaba, SP, in: *Febre Maculosa: Dinâmica Da Doença, Hospedeiros e Vetores*. ESALQ, Piracicaba SP, pp. 74–94.
- Pfäffle, M., Littwin, N., Muders, S. V., Petney, T.N., 2013. The ecology of tick-borne diseases. *Int. J. Parasitol.* 43, 1059–1077. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.009>
- Petermann, J., Cauquil, L., Hurlin, J.C., Gaia, H., Hüe, T., 2016. Survey of cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, resistance to amitraz and deltamethrin in New Caledonia. *Vet. Parasitol.* 217, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.12.010>
- Piesman, J., Eisen, L., 2008. Prevention of tick-borne diseases. *Annu. Rev. Entomol.* 53, 323–343. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.53.103106.093429>

- Pino-Otín, M.R., Ballester, D., Navarro, E., González-Coloma, A., Val, J., Mainar, A.M., 2019. Ecotoxicity of a novel biopesticide from *Artemisia absinthium* on non-target aquatic organisms. *Chemosphere* 216, 131–146. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.09.071>
- Pinter, A., 2013. Febre maculosa brasileira - vigilância acarológica e controle, in: Febre Maculosa: Dinâmica Da Doença, Hospedeiros e Vetores. ESALQ, Piracicaba SP, pp. 63–73.
- Prata, M.C. de A., Furlong, J., Martins, J.R. de S., 2008. Carrapato e vermes: inimigos do gado e do produtor, Circular Técnica 95. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.
- Prates, H.T., Leite, R.C., Craveiro, A.A., Oliveira, A.B., 1998. Identification of Some Chemical Components of the Essential Oil from Molasses Grass (*Melinis minutiflora* Beauv.) and their Activity Against Cattle-Tick (*Boophilus microplus*). *J. Braz. Chem. Soc.* 9, 193–197.
- Quadros, D.G., Johnson, T.L., Whitney, T.R., Oliver, J.D., Chávez, A.S.O., 2020. Plant-derived natural compounds for tick pest control in livestock and wildlife: Pragmatism or Utopia? *Insects* 11, 1–25. <https://doi.org/10.3390/insects11080490>
- Rand, P.W., Lacombe, E.H., Elias, S.P., Lubelczyk, C.B., Amand, T.S., Smith, R.P., 2010. Trial of a minimal-risk botanical compound to control the vector tick of Lyme disease. *J. Med. Entomol.* 47, 695–698. <https://doi.org/10.1603/ME09283>
- Reck, J., Klafke, G.M., Webster, A., Dall’Agnol, B., Scheffer, R., Souza, U.A., Corassini, V.B., Vargas, R., dos Santos, J.S., de Souza Martins, J.R., 2014. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: A field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet. Parasitol.* 201, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.012>
- Rocha, D.T. da, Carvalho, G.R., Resende, J.C. de, 2020. Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária (No. 123), Circular Técnica. Juiz de Fora MG.

- Rodríguez-Vivas RI, Grisi L, Pérez de León AA, Silva Villela H, Torres- Acosta JFJ, Fragoso Sánchez H, Romero Salas D, Rosario Cruz R, Saldierna F, García-Carrasco D, 2017a. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico review. *Rev Mex Cienc Pec* 8(1):61–74
- Rodríguez-Vivas, R.I., Jonsson, N.N., Bhushan, C., 2018. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitol. Res.* 117, 3–29. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>
- Rodríguez-Vivas, R.I., Ojeda-Chi, M.M., Trinidad-Martinez, I., Bolio-González, M.E., 2017b. First report of amitraz and cypermethrin resistance in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato infesting dogs in Mexico. *Med. Vet. Entomol.* 31, 72–77. <https://doi.org/10.1111/mve.12207>
- Rodríguez-Vivas, R.I., Rivas, A.L., Chowell, G., Fragoso, S.H., Rosario, C.R., García, Z., Smith, S.D., Williams, J.J., Schwager, S.J., 2007. Spatial distribution of acaricide profiles (*Boophilus microplus* strains susceptible or resistant to acaricides) in southeastern Mexico. *Vet. Parasitol.* 146, 158–169. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.01.016>
- 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., 2017. Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks. *Vet. Parasitol.* 238, 66–76.
- Safford, R.J., Basketter, D.A., Allenby, C.F., Goodwin, B.F.J., 1990. Immediate contact reactions to chemicals in the fragrance mix and a study of the quenching action of eugenol. *Br. J. Dermatol.* 123, 595–606. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1990.tb01476.x>
- Salman, M., Abbas, R.Z., Israr, M., Abbas, A., Mehmood, K., Khan, M.K., Sindhu, Z. ud D., Hussain, R., Saleemi, M.K., Shah, S., 2020. Repellent and acaricidal activity of essential oils

and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle. *Vet. Parasitol.* 283, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109178>

Santos, E.G.G. dos, Bezerra, W.A.D.S., Temeyer, K.B., León, A.A.P. de, Costa-Junior, L.M., Soares, A.M.D.S., 2021. Effects of essential oils on native and recombinant acetylcholinesterases of *Rhipicephalus microplus*. *Brazilian J. Vet. Parasitol.* 30, e002221. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021024>

Santos, D.S. dos, Boito, J.P., Santos, R.C.V., Quatrin, P.M., Ourique, A.F., dos Reis, J.H., Gebert, R.R., Glombowsky, P., Klauck, V., Boligon, A.A., Baldissera, M.D., Da Silva, A.S., 2017. Nanostructured cinnamon oil has the potential to control *Rhipicephalus microplus* ticks on cattle. *Exp. Appl. Acarol.* 73, 129–138. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0171-5>

Schulze, T.L., Jordan, R.A., 2021. Synthetic pyrethroid, natural product, and entomopathogenic fungal acaricide product formulations for sustained early season suppression of host-seeking *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) and *Amblyomma americanum* nymphs. *J. Med. Entomol.* 58, 814–820. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa248>

Scott, I.M., Jensen, H.R., Philogène, B.J.R., Arnason, J.T., 2008. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochem. Rev.* 7, 65–75. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9058-5>

Sekeyová, Z., Socolovschi, C., Špitalská, E., Kocianová, E., Boldiš, V., Quevedo Diaz, M., Berthová, L., Boháčsová, M., Valáriková, J., Edouard Fournier, P., Raoult, D., 2013. Update on Rickettsioses in Slovakia. *Acta Virol.* 57, 180–199. https://doi.org/10.4149/av_2013_02_180

Shaw, S.E., Day, M.J., Birtles, R.J., Breitschwerdt, E.B., 2001. Tick-borne infectious diseases of dogs. *Trends Parasitol.* 17, 74–80. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(00\)01856-0](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(00)01856-0)

- Silva, E.M.G., Rodrigues, V. da S., Jorge, J. de O., Osava, C.F., Szabó, M.P.J., Garcia, M.V., Andreotti, R., 2016. Efficacy of *Tagetes minuta* (Asteraceae) essential oil against *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) on infested dogs and in vitro. *Exp. Appl. Acarol.* 70, 483–489. <https://doi.org/10.1007/s10493-016-0092-8>
- Silva Lima, A., Milhomem, M.N., Santos Monteiro, O., Arruda, A.C.P., de Castro, J.A.M., Fernandes, Y.M.L., Maia, J.G.S., Costa-Junior, L.M., 2018. Seasonal analysis and acaricidal activity of the thymol-type essential oil of *Ocimum gratissimum* and its major constituents against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 117, 59–65. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5662-0>
- SINDAN, 2022. Compêndio de Produtos Veterinários [WWW Document]. Sind. Nac. da Indústria Prod. para Saúde Anim. URL <https://sistemas.sindan.org.br/cpvs/> (accessed 5.9.22).
- Skotarczak, B., 2018. The role of companion animals in the environmental circulation of tick-borne bacterial pathogens. *Ann. Agric. Environ. Med.* 25, 473–480. <https://doi.org/10.26444/aaem/93381>
- Soares, A.M. dos S., Penha, T.A., de Araújo, S.A., Cruz, E.M.O., Blank, A.F., Costa-Junior, L.M., 2016. Assessment of different *Lippia sidoides* genotypes regarding their acaricidal activity against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 25, 401–406. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016087>
- Spach, D.H., Liles, W.C., Campbell, G.L., Quick, R.E., Anderson, D.E., Fritsche, T.R., 1993. Tick-Borne Diseases in the United States. *N. Engl. J. Med.* 329, 936–947.
- Tavares, C.P., Sabadin, G.A., Sousa, I.C., Gomes, M.N., Soares, A.M.S., Monteiro, C.M.O., Vaz, I.S., Costa-Junior, L.M., 2022. Effects of carvacrol and thymol on the antioxidant and

detoxifying enzymes of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). Ticks Tick. Borne. Dis. 13, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.101929>

Tutija, J.F., Soares, R.L., Echeverria, J.T., Souza, M.A.S., Silva, T.O.V., Ramos, R.A.N., Lemos, R.A.A., Ramos, C.A.N., Leal, C.R.B., 2020. Microfilaremia by *Cercopithifilaria bainae* in a dog from the central western region of Brazil: Case report. Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec. 72, 312–316. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-11177>

USDA, 2020. Livestock and poultry: world markets and trade. United States Dep. Agric. Foreign Agric. Serv. 15. [https://doi.org/10.1016/S1097-8690\(11\)70006-3](https://doi.org/10.1016/S1097-8690(11)70006-3)

Vale, L., de Paula, L.G.F., Vieira, M.S., Alves, S. das G.A., Junior, N.R. de M., Gomes, M.D.F., Teixeira, W.F.P., Rizzo, P.V., Freitas, F.M.C., Ferreira, L.L., Lopes, W.D.Z., Monteiro, C., 2021. Binary combinations of thymol, carvacrol and eugenol for *Amblyomma sculptum* control: Evaluation of in vitro synergism and effectiveness under semi-field conditions. Ticks Tick. Borne. Dis. 12, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101816>

Valente, P.P., Moreira, G.H.F.A., Serafini, M.F., Facury-Filho, E.J., Carvalho, A.Ú., Faraco, A.A.G., Castilho, R.O., Ribeiro, M.F.B., 2017. In vivo efficacy of a biotherapeutic and eugenol formulation against *Rhipicephalus microplus*. Parasitol. Res. 116, 929–938. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5366-x>

Valsoni, L.M., Freitas, M.G. de, Echeverria, J.T., Borges, D.G.L., Tutija, J., Borges, F. de A., 2020. Resistance to all chemical groups of acaricides in a single isolate of *Rhipicephalus microplus* in Mato Grosso do Sul, Brazil. Int. J. Acarol. 46, 276–280. <https://doi.org/10.1080/01647954.2020.1765867>

Verissimo, C.J., 2013. Controle de carrapatos nas pastagens. Instituto de Zootecnia, Nova Odessa.

- Vilela, V.L.R., Feitosa, T.F., Bezerra, R.A., Klafke, G.M., Riet-Correa, F., 2020. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 11, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101413>
- Vudriko, P., Umemiya-Shirafuji, R., Okwee-Acai, J., Tayebwa, D.S., Byaruhanga, J., Jirapattharasate, C., Liu, M., Adjou Moumouni, P.F., Fujisaki, K., Xuan, X., Suzuki, H., 2017. Genetic mutations in sodium channel domain II and carboxylesterase genes associated with phenotypic resistance against synthetic pyrethroids by *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* ticks in Uganda. *Pestic. Biochem. Physiol.* 143, 181–190. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.07.009>
- Woolf, A., 1999. Essential oil poisoning. *J. Toxicol. - Clin. Toxicol.* 37, 721–727. <https://doi.org/10.1081/CLT-100102450>
- Yap, P.S.X., Yiap, B.C., Ping, H.C., Lim, S.H.E., 2014. Essential Oils, A New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance. *Open Microbiol. J.* 8, 6–14. <https://doi.org/10.2174/1874285801408010006>
- Ziapour, S.P., Kheiri, S., Asgarian, F., Fazeli-Dinan, M., Yazdi, F., Mohammadpour, R.A., Aarabi, M., Enayati, A., 2016. First report of pyrethroid resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* larvae (Say, 1821) from Iran. *Acta Trop.* 156, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.001>
- Ziapour, S.P., Kheiri, S., Fazeli-Dinan, M., Sahraei-Rostami, F., Mohammadpour, R.A., Aarabi, M., Nikookar, S.H., Sarafrazi, M., Asgarian, F., Enayati, A., Hemingway, J., 2017. Pyrethroid resistance in Iranian field populations of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 136, 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.08.0>

CAPÍTULO 3

COMBINATION OF SYNTHETIC ACARICIDES WITH (*E*)-CINNAMALDEHYDE TO CONTROL *Rhipicephalus microplus*

(artigo aceito na revista Experimental and Applied Acarology)

1 **Combination of synthetic acaricides with (*E*)-cinnamaldehyde to**
2 **control *Rhipicephalus microplus***

3
4 **Bruno César Ferreira Gonzaga ^{a,b}, Nélio Roberto de Moraes ^a, Gabriel Webert Gomes ^c,**
5 **Ana Lúcia Coutinho ^a, Francisca Letícia Vale ^a, Lainny Jordana Martins Pereira e Sousa**
6 **^a, Laís Marreto ^d, Daniel de Castro Rodrigues ^{a,e}, Márcia Cristina de Azevedo Prata ^f,**
7 **Paula Marchesini ^a, Welber Daniel Zanetti Lopes ^{a,g}, Caio Monteiro ^{a,g}**

8
9 ^a Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – Escola de Veterinária e Zootecnia da
10 Universidade Federal de Goiás - Rodovia Goiânia - Nova Veneza, km 8, Campus Samambaia
11 - Goiânia – GO 74690-900 Brasil. E-mail: docamponelio@gmail.com,
12 luciacoutinho13@gmail.com, leticiaeducta@gmail.com, lainnyjordana@gmail.com,
13 paulabarrosocruz@hotmail.com

14 ^b Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás - Campus Colemar Natal e Silva -
15 Rua 235, s/n - Setor Leste Universitário, Goiânia – GO 74605-050 Brasil. E-mail:
16 brunogonzaga@ufg.br

17 ^c Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás - Rodovia Goiânia - Nova
18 Veneza, km 8, Campus Samambaia - Goiânia – GO 74690-900 Brasil. E-mail:
19 gwebert@discente.ufg.br

20 ^d Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Farmácia da
21 Universidade Federal de Goiás - Praça Universitária, nº 1166, Setor Universitário, Goiânia –
22 GO 74605-220 Brasil. E-mail: lais.marreto@gmail.com

23 ^e Avenida Doutor Chucri Zaidan, 296, 9º Andar CEP: 04583-110. São Paulo SP-Brasil E-mail:
24 daniel.rodrigues2@merck.com

25 ^f Embrapa Gado de Leite. Rua Eugênio do Nascimento, 610, Dom Bosco, Juiz de Fora, MG,
26 36038-330 – Brasil. E-mail: marcia.prata@embrapa.br

27 ^g Departamento de Imunologia, Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Instituto de Patologia
28 Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás – Avenida Esperança, s/n, Campus
29 Samambaia, Goiânia – GO 74.690-900 - Brasil. E-mail: wdzlopes@hotmail.com,
30 caiosat@gmail.com (corresponding author)

31
32
33

1 Abstract

2 This work had the objectives to (1) evaluate the susceptibility of various *Rhipicephalus*
3 *microplus* populations to commercial acaricides, and (2) select commercial acaricides (50–80%
4 effective) and evaluate the effects of binary combinations of the phenylpropanoid (*E*-
5 cinnamaldehyde with selected commercial acaricides to control *R. microplus* under laboratory
6 and field conditions. Using adult immersion tests with 116 populations and 14 commercial
7 acaricides, products showing 50–80% effectiveness (percent control) with the lowest number
8 of active ingredients were selected. Acaricides containing amitraz or chlorfenvinphos were
9 tested in combination with (*E*)-cinnamaldehyde on a field population (strain CM). We found
10 that (*E*)-cinnamaldehyde enhanced the activity of both commercial acaricides against *R.*
11 *microplus* larvae; however, the enhancement was more accentuated when using amitraz.
12 Experiments combining (*E*)-cinnamaldehyde + amitraz on unfed larvae and engorged females
13 from another population (strain Gyn) were performed, verifying (*E*)-cinnamaldehyde enhanced
14 the activity of amitraz. In the field experiment, the application of (*E*)-cinnamaldehyde appeared
15 toxic to the tick hosts (cattle). We concluded that (*E*)-cinnamaldehyde enhanced the activity of
16 amitraz against unfed larvae and engorged females of *R. microplus*; however, in the field test
17 this phenylpropanoid caused intoxication in the cattle. Studies searching for new combinations
18 of compounds from essential oils with amitraz deserve attention, as well as studies to develop
19 formulations using amitraz + (*E*)-cinnamaldehyde that will be efficient and will not have toxic
20 effects in cattle.

21

22 **Keywords:** Amitraz; cattle tick; chlorfenvinphos; essential oil; phenylpropanoid; tick
23 resistance

24

25 INTRODUCTION

26 *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* is an ectoparasite which causes the highest
27 economic losses in livestock production in the world. In addition to direct losses associated
28 with blood-sucking, *R. microplus* is also a vector of pathogens causing babesiosis and
29 anaplasmosis (Parizi et al. 2012; Costa et al. 2020). Further, there are expenses associated to
30 labor force and medications needed to treat animals (Furlong et al. 2007; Kiss et al. 2012). In
31 Brazil, the economic loss due to *R. microplus* was estimated as 3.24 billion dollars per year
32 (Grisi et al. 2014).

33 Control of *R. microplus* has been accomplished using synthetic acaricides; however, the

1 continuous utilization of such acaricides for decades has resulted in the selection of resistant
2 populations. There are already reports of resistant populations against almost all chemical
3 classes of acaricides available in the Brazilian market, in addition to reports of multi-resistant
4 populations (Reck et al. 2014; Higa 2015; Klafke et al. 2017; Valsoni et al. 2020; Cavalcante
5 et al. 2021). Resistance of *R. microplus* populations to acaricides has also been observed in
6 other world regions, which shows that this is a global problem (Rodríguez-Vivas et al. 2007;
7 Godara et al. 2019; Agwunobi et al. 2021).

8 In light of the current scenario, there is a demand for the development of new and
9 sustainable technologies to control ticks. In this context, essential oils (EOs) and compounds
10 found in these oils represent alternatives that deserve to be investigated (Rosado-Aguilar et al.
11 2017; Adenubi et al. 2018; Nwanade et al. 2020). Essential oils are mixtures produced by the
12 secondary metabolism of plants, containing an average of 20–60 volatile and hydrophobic
13 compounds. These compounds have important roles in the chemical ecology of plants,
14 performing defensive functions against herbivores and pathogens. Most of the compounds
15 found in the EOs belong to the class of terpenes (mono and sesquiterpenes) and
16 phenylpropanoids (Pavela and Benelli 2016).

17 The phenylpropanoid (*E*)-cinnamaldehyde, a major compound of cinnamon
18 (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) bark EO, has acaricidal activity against various species of
19 ticks (Senra et al. 2013a, b; Marchesini et al. 2020, 2021a,b). Cinnamon's EO and the
20 phenylpropanoid (*E*)-cinnamaldehyde are already in use in the pharmaceutical, food and
21 cosmetic industries (Bickers et al. 2005; Rao and Gan 2014), with an estimate of annual
22 production varying from 100 to 1,000 tons per year (Bickers et al. 2005). Furthermore, the
23 combination of (*E*)-cinnamaldehyde with other EO compounds has a synergistic effect on ticks
24 (Nwanade et al. 2022).

25 A combination of EOs with chemical insecticides, especially pyrethroids, has shown
26 synergistic interactions to control mosquitoes (Tong and Bloomquist 2013; O'Neal et al. 2019;
27 Sheng et al. 2020; Norris and Bloomquist 2021), moths (Fazolin et al. 2016) and ticks (Arafa
28 et al. 2021; Tavares et al. 2022). Piperonyl butoxide (PBO), derived from the botanical
29 compound safrole (found in some EOs), is used as synergist component in various commercial
30 formulations of insecticides and acaricides (Furlong et al. 2007; Scott et al. 2008).

31 There are still no studies with compounds found in EOs combined with amidines and
32 organophosphates against ticks. Therefore, this work had the objectives to (1) evaluate the
33 susceptibility of various *R. microplus* populations to commercial acaricides, and (2) select
34 commercial acaricides with effectiveness between 50 and 80% and evaluate the effects of

1 binary combinations of (*E*)-cinnamaldehyde with selected commercial acaricides to control *R.*
2 *microplus* under laboratory and field conditions.

4 MATERIAL AND METHODS

5 Chemicals used

6 Formulations of commercial acaricides used in the present work are listed in Table 1.
7 (*E*)-cinnamaldehyde was purchased from Sigma-Aldrich (purity >98%).

9 Test of susceptibility against different commercial acaricides

10 This test was performed in order to select commercial acaricides, showing an average
11 efficiency between 50 and 80%, to be used later in tests combined with (*E*)-cinnamaldehyde.
12 Random populations of ticks from samples (engorged females) provided by farmers from
13 different Brazilian regions and sent to the Laboratory of Parasitology at the Brazilian
14 Agricultural Research Corporation – EMBRAPA Dairy Cattle, during 2019 and 2020, were
15 used in the experiment. A total of 116 populations were selected to perform these tests (Fig. 1).
16 The number of acaricides tested for each population varied according to the number of ticks
17 received in the laboratory.

18 The susceptibility profile to commercial acaricides within each population sample
19 received was performed by the adult immersion test (AIT), with engorged females (Drummond
20 et al. 1973; FAO-UN 2004). Solutions, at commercial concentration, of the acaricides listed in
21 Table 1 were prepared using water, according to the product leaflet.

22 Females from each population were separated in groups (10 females per group) with
23 homogeneous weight and then, each group with 10 females was immersed for 5 min. in the
24 commercial acaricide solutions. A control group was also established, using distilled water.
25 After immersion, females were set in Petri dishes for oviposition and conditioned in a Solab
26 B.O.D. incubator at 27 ± 1 °C and $80 \pm 10\%$ RH. When oviposition period ended, egg masses
27 were weighed, transferred to a plastic syringe, and kept under the same conditions for later
28 evaluation of the larval hatch by means of visual estimate (Figueiredo et al. 2018). With the
29 values obtained for weight of females before oviposition (mg), egg mass weight (mg) and larval
30 hatch (%), the percent control was calculated according to Drummond et al. (1973).

31

1 **Table 1** Commercial acaricides used on populations of *Rhipicephalus microplus*

No.	Active ingredient (final concentration for application ¹ , µg/mL = ppm)	Commercial name	Company
1	Deltamethrin (SP ² – 25)	Butox P CE 25	MSD Animal Health
2	Amitraz (AM – 250)	Triatox	MSD Animal Health
3	Chlorfenvinphos (OP – 500)	Supokill	UCBVet Animal Health
4	Dichlorvos (OP – 1,125) + Cypermethrin (SP – 125)	Alatox	Zoetis
5	Chlorpyrifos (OP – 833) + High-Cis Cypermethrin (100)	Flytion SP	Clarion Biosciences
6	Chlorpyrifos (500) + Cypermethrin (200)	Ciclorfós	Europharma
7	Chlorpyrifos (400) + Cypermethrin (160)	Aspersin	Biogénesis Bagó
8	Dichlorvos (1,500) + Chlorpyrifos (500)	Ectobat 80	Champion
9	Chlorpyrifos (312.5) + Cypermethrin (187.5) + Citronellal (TE – 12.5)	Couro Limpo	Noxon of Brazil Quim Farm
10	Chlorpyrifos (312.5) + Cypermethrin (187.5) + Citronellal (12.5)	Colosso Pulverização	Ourofino Animal Health
11	Trichlorfon (OP – 3,880) + Coumaphos (OP – 50) + Cyfluthrin (SP – 50)	Neguvon + Asuntol Plus	Elanco
12	Chlorpyrifos (375) + Fenthion (OP – 187.5) + Cypermethrin (187.5)	Colosso FC 30	Ourofino Animal Health
13	Chlorpyrifos (312.5) + Cypermethrin (187.5) + Piperonyl butoxide (SY – 187.5)	Cyperclor Plus	Ceva Santé Animale
14	Chlorpyrifos (250) + Cypermethrin (150) + Piperonyl butoxide (10)	Máximo	Biovet

2 ¹Concentration of the active ingredient in the dilution recommended in product leaflet

3 ²SP = synthetic pyrethroid; AM = amidine; OP = organophosphate; TE = terpene; SY = synergist

4

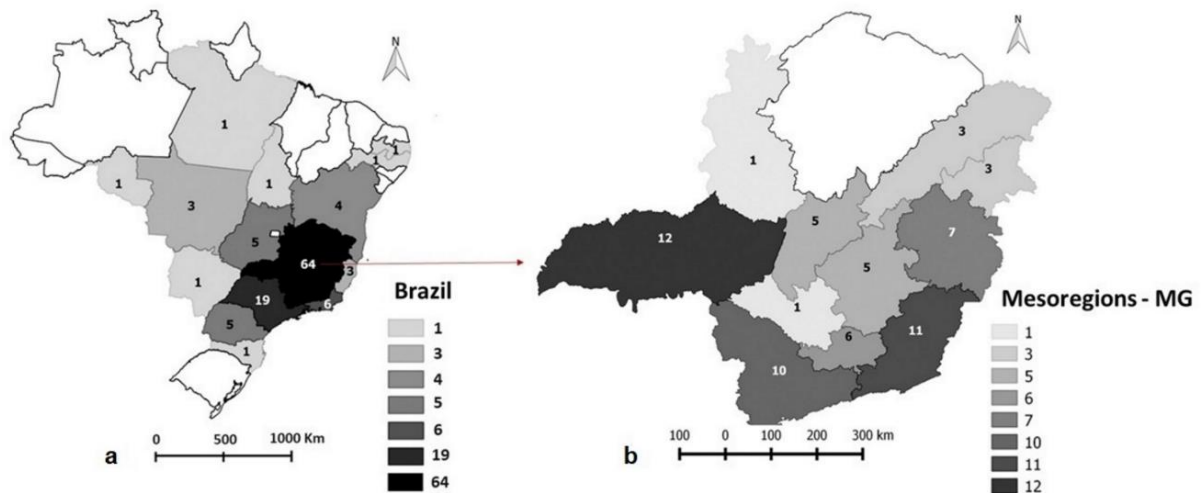


Fig. 1 Population distributions of *Rhipicephalus microplus* (a: Brazil; b: state of Minas Gerais = MG), used in the susceptibility test to commercial acaricides

Combination of (*E*)-cinnamaldehyde with amitraz and chlorfenvinphos on unfed larvae from a field population – strain CM

The experiment was done with larvae from a population collected from a farm in the county of Carmo da Mata (CM), in the state of Minas Gerais, Brazil (20°33'21"S, 44°51'45"W). This population was selected based on the results from the experiment described in the previous section, where the efficiency (percent control) was 0 and 35% for amitraz and chlorfenvinphos, respectively, indicating low susceptibility to the acaricides.

Larval packet test (LPT) was used, as proposed by Stone and Haydock (1962) and adapted by Monteiro et al. (2012), using larvae with ages from 15 to 28 days after hatching. Approximately 100 unfed larvae were set in the center of a piece of filter paper (6 × 6 cm), which was then folded through the middle line and the edges sealed with binder clips. After establishing the packets, each side of the filter paper was dampened with 90 µL of the concentrations tested, with a total of 180 µL per packet. Packets were conditioned for 24 h in a B.O.D. incubator at 27 ± 1 °C and 80 ± 10% RH. After this period, dead and live larvae were counted.

Tests using (*E*)-cinnamaldehyde combined with amitraz were completed using the following concentrations: (*E*)-cinnamaldehyde (1,000 µg/mL); amitraz (250, 125, 62.5, 31.2 and 15.6 µg/mL); binary combinations of (*E*)-cinnamaldehyde (1,000 µg/mL) + amitraz (250, 125, 62.5, 31.2 and 15.6 µg/mL). A control group with distilled water and a group with dimethyl sulfoxide (DMSO) at 3% were also established, in total 13 groups with five replicates each. The experiments were repeated twice.

1 For (*E*)-cinnamaldehyde combined with chlorfenvinphos, the following concentrations
2 were used: (*E*)-cinnamaldehyde (1,000 µg/mL); chlorfenvinphos (500, 250, 125, 62.5 and 31.2
3 µg/mL) and binary combinations of (*E*)-cinnamaldehyde (1,000 µg/mL) + chlorfenvinphos
4 (500, 250, 125, 62.5 and 31.2 µg/mL). A control group with distilled water and a group with
5 dimethyl sulfoxide (DMSO) at 3% were also established, making a total of 13 groups with five
6 replicates each. The experiments were repeated twice.

7 8 **Combination of (*E*)-cinnamaldehyde with amitraz against unfed larvae and engorged** 9 **females – strain GYN**

10 This experiment was performed using unfed larvae and engorged females from the strain
11 GYN (resistant to pyrethroid, amidine, organophosphate and phenylpyrazole), obtained through
12 artificial infestation in male calves housed individually in pens at the Animal Experimental
13 Station of the School of Veterinary and Animal Science of the Federal University of Goiás
14 (CEUA – 067/21), Brazil (16°36'03"S, 49°16'32"W). In these tests, females recently detached
15 from the animals and larvae with ages from 15 to 28 days after hatching were used.

16 Larval packet tests as described above were used, with the same concentrations of
17 amitraz and (*E*)-cinnamaldehyde. In addition, adult immersion tests (AITs) were done.

18 With engorged females following the methodology proposed by Drummond et al.
19 (1973), using groups with 10 engorged females (each female = 1 experimental unit), with
20 homogeneous weight, immersed for 5 min in the solutions tested. The following groups were
21 established: control (distilled water); amitraz (250 µg/mL); (*E*)-cinnamaldehyde (1,000 µg/mL)
22 and (*E*)-cinnamaldehyde (1,000 µg/mL) + amitraz (250 µg/mL).

23 Ethanol 30% (water/ethanol, vol/vol) was used to dilute (*E*)-cinnamaldehyde with and
24 without amitraz. After immersion, engorged females were conditioned in wells (one female per
25 well) in cell culture plates (one plate per treatment) and set for oviposition in a B.O.D. incubator
26 at 27 ± 1 °C and $80 \pm 10\%$ RH. After 15 days, egg masses were collected, weighed and set in
27 plastic syringes (10 mL) with their distal extremities cut, sealed with hydrophilic cotton and set
28 in a B.O.D. incubator at the temperature and relative humidity mentioned. After approximately
29 21 days, the percentage of larvae hatched was estimated, following the quantification method
30 described by Figueiredo et al. (2018). From these data, the egg production index (EPI) (Bennet
31 1974), estimated reproduction (ER) and percent control (%C) (Drummond et al. 1973) were
32 calculated.

1 **Field test**

2 The experiment followed the regulations of the 48th Ordinance from the Ministry of
3 Agriculture, Livestock and Supply (MAPA) for the registration of anti-parasite products (Brazil
4 1997) and was approved by the Animal Use Ethics Committee from the Federal University of
5 Goiás (protocol – 067/21). Only cattle in a good nutritional status, without recent treatment with
6 acaricides/endectocides, were included in the experiment. Additionally, only cattle with a
7 minimum of 20 *R. microplus* engorged females on the right side of the body were selected. The
8 identification of cattle was performed using the numbered ear tags fixed in the right ear.

9 In order to constitute the groups, 40 female bovines from the Simental breed, with
10 average weight of 490 kg, were divided in four groups with 10 cows each, after counting *R.*
11 *microplus* engorged females (length varying from 4.5 to 8 mm) on the right side of the cattle in
12 days -3, -2, -1 (Wharton and Utech 1970). The experimental groups were constituted at random,
13 following the criteria: after animals being listed in decreasing order by the mean number (three
14 counts) of ticks; the four animals with the highest results were set in the replicate one of each
15 group; the following four were set in replicate number 2; and so on, until constituting the 10
16 replicates per group.

17 Cows were treated with 5 L of the test solutions per animal in day 0. Bovines were
18 individually isolated with the aid of a rope to facilitate the application of the test solutions.
19 Treatments were applied using a backpack sprayer. To obtain better performance, the animals
20 were bathed according to technical criteria, considering the time and condition of the day, dose
21 of the product, homogenization of the solution and safety for the applicator (Prata et al. 2008).
22 The following treatments were applied: control (non-treated), amitraz (250 µg/mL), (*E*)-
23 cinnamaldehyde (1,000 µg/mL), and 4 - amitraz (250 µg/mL) + (*E*)-cinnamaldehyde (1,000
24 µg/mL). The emulsions were prepared using ethanol 30% (vol/vol). After treatment, all animals
25 were evaluated regarding the clinical signs of systemic intoxication (ataxia, sialorrhoea,
26 prostration / excitation, convulsion, dysphonia, diarrhea, dyspnea, jaundice, cough and head
27 and skin tremors).

28 In order to evaluate the efficiency, the ticks were counted (scheduled days for counting
29 were +3, +7, +14, +21 and +28) and the efficiency was calculated through the formula proposed
30 by the MAPA (Brazil 1997).

31

32 **Statistical analysis**

33 Data were analyzed using the software Biostat v.5.0. Mean values of larval mortality
34 and biological parameters from engorged females were analyzed by ANOVA tests, followed

1 by Tukey test to compare treatment means ($\alpha = 0.05$). However, when data did not show a
2 normal distribution, data were analyzed by non-parametric Kruskal-Wallis and Student
3 Newman Keuls tests ($\alpha = 0.05$). Percentages were arcsin \sqrt{x} transformed prior to analysis.

4 5 **RESULTS**

6 **Susceptibility to commercial acaricides**

7 Considering all populations included in the study or only populations from the state of
8 Minas Gerais (Table 2), just three acaricides (numbers 5, 6 and 12) showed efficiency (percent
9 control) $>90\%$, when compared to all other products tested. Good efficiency also was obtained
10 with acaricides 8 and 13 ($>80\%$, Table 2).

11 For combination with (*E*)-cinnamaldehyde, amitraz and chlorfenvinphos were selected,
12 as they showed efficiency of 55.9 and 75.6%, respectively, and they have only one active
13 ingredient (a.i.) in the product.

14 15 **Combination of (*E*)-cinnamaldehyde with amitraz and chlorfenvinphos on unfed larvae –** 16 **field population (strain CM)**

17 Binary combinations of (*E*)-cinnamaldehyde with all concentrations of amitraz resulted
18 in 100% mortality, significantly higher than for other treatments, where the mortality was
19 always $<40\%$. No mortality was seen in the control group (Fig. 2a).

20 With chlorfenvinphos, binary combinations of (*E*)-cinnamaldehyde with the two highest
21 concentrations of this organophosphate (250 and 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) resulted in significantly higher
22 mortality values compared to the other treatments, reaching 100% mortality in the treatment
23 with 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ chlorfenvinphos + 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (*E*)-cinnamaldehyde. No mortality was seen
24 in the control group (Fig. 2b).

25 26 **Combination of (*E*)-cinnamaldehyde with amitraz against unfed larvae and engorged** 27 **females – strain GYN**

28 29 *Larval packet test*

30 The binary combination of amitraz (15.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + (*E*)-cinnamaldehyde (1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)
31 resulted in 62% mortality, significantly higher than when these compounds were used alone
32 [(*E*)-cinnamaldehyde = 25%; amitraz = 32%] (Fig. 3). In treatments with >31.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ amitraz
33 (alone or combined), the mean mortality values observed were $>90\%$, significantly higher than

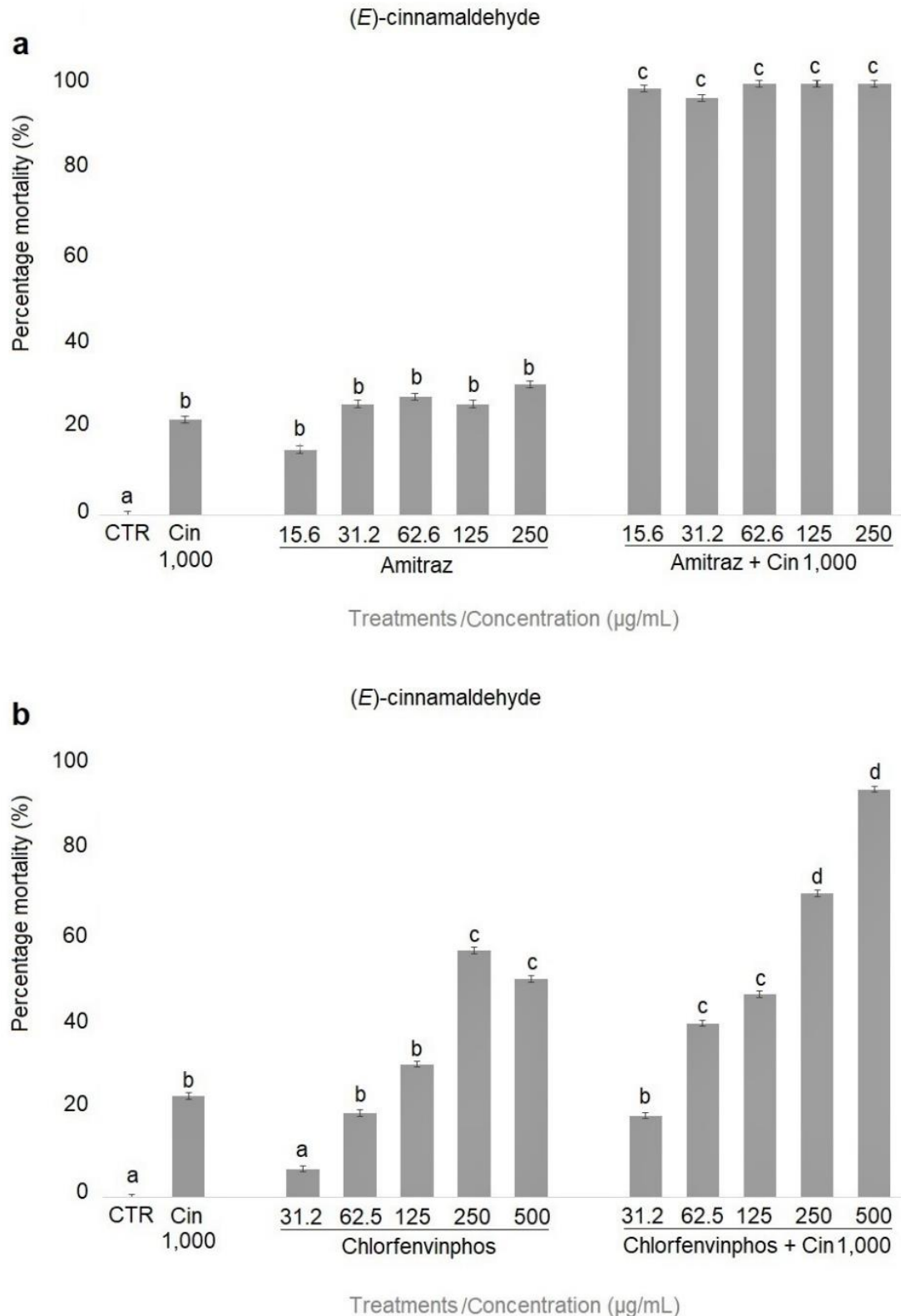
- 1 **Table 2** Mean (\pm SD) efficiency (%) of commercial acaricides on populations of *Rhipicephalus microplus* from various places throughout Brazil
 2 (including MG), or only from the state of Minas Gerais

No.	Active ingredient ¹	No. populations (2019-2020)		Efficiency (%)	
		Brazil	Minas Gerais	Brazil	Minas Gerais
1	Deltamethrin (SP)	56	32	10.8 \pm 16.0 a	9.1 \pm 9.7 a
2	Amitraz (AM)	115	62	55.9 \pm 31.5 de	58.7 \pm 30.8 cd
3	Chlorfenvinphos (OP)	108	59	75.6 \pm 24.2 f	74.4 \pm 25.8 ef
4	Dichlorvos (OP) + Cypermethrin (SP)	56	31	40.2 \pm 25.0 bc	35.1 \pm 22.8 b
5	Chlorpyrifos (OP) + High-Cis Cypermethrin	114	61	95.7 \pm 12.1 i	96.5 \pm 9.7 i
6	Chlorpyrifos + Cypermethrin	111	59	94.9 \pm 14.4 i	93.9 \pm 15.1 i
7	Chlorpyrifos + Cypermethrin	53	29	32.1 \pm 27.6 b	27.5 \pm 20.9 b
8	Dichlorvos + Chlorpyrifos	106	57	89.7 \pm 19.7 h	89.2 \pm 20.9 h
9	Chlorpyrifos + Cypermethrin + Citronellal (TE)	58	34	46.4 \pm 35.2 cd	41.4 \pm 34.1 bd
10	Chlorpyrifos + Cypermethrin + Citronellal	111	61	47.3 \pm 34.1 d	41.2 \pm 33.0 bc
11	Trichlorfon (OP) + Coumaphos (OP) + Cyfluthrin (SP)	54	31	61.3 \pm 31.4 ef	61.3 \pm 31.7 de
12	Chlorpyrifos + Fenthion (OP) + Cypermethrin	111	61	94.4 \pm 13.3 i	93.9 \pm 13.9 i
13	Chlorpyrifos + Cypermethrin + Piperonyl butoxide (SY)	116	63	84.4 \pm 26.2 h	84.9 \pm 24.7 gh
14	Chlorpyrifos + Cypermethrin + Piperonyl butoxide	110	60	74.9 \pm 30.7 g	73.3 \pm 31.3 fg

3 ¹SP = synthetic pyrethroid; AM = amidine; OP = organophosphate; TE = terpene; SY = synergist

4 Means within a column followed by different letters are significantly different (Student Newman Keuls tests: P<0.05).

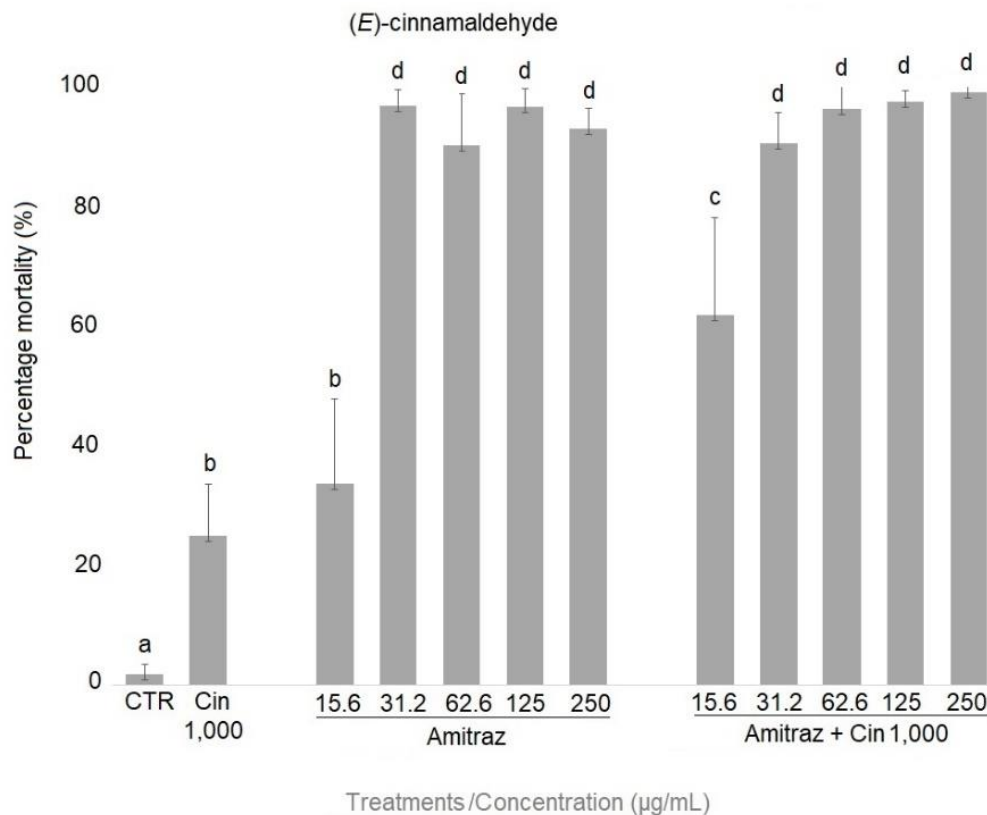
5



1

2 **Fig. 2** Mean (\pm SD) mortality (%) of unfed *Rhipicephalus microplus* larvae, from a population
 3 collected on a farm in Carmo da Mata (strain CM), Minas Gerais, Brazil, treated with various
 4 concentrations of amitraz (**a**) and chlorfenvinphos (**b**), associated or not with (*E*-
 5 cinnamaldehyde (= Cin). Means within a panel capped with different letters are significantly
 6 different (Student Newman Keuls tests: $P < 0.05$).

1 the other treatments (Fig. 3).
2



3
4 **Fig. 3** Mean (\pm SD) mortality (%) of unfed *Rhipicephalus microplus* larvae (strain Gyn), treated
5 with various concentrations of amitraz, combined or not with (*E*)-cinnamaldehyde (Cin). Means
6 capped with different letters are significantly different (Student Newman Keuls test: $P < 0.05$).
7

8 *Adult immersion test*

9 The weight of engorged females before oviposition did not show significant differences
10 among the various groups, signaling that reproductive biology alterations are correlated with
11 the effect of the treatments. Only the treatment with amitraz + (*E*)-cinnamaldehyde caused a
12 significant reduction in the egg mass (44.9 mg) compared to the control (126.1 mg). The egg
13 production index for the treatments with amitraz alone or amitraz + (*E*)-cinnamaldehyde was
14 significantly lower than for the control group (Table 3).

15 Similar result was obtained regarding the larval hatch, with a significant reduction in
16 groups treated with amitraz or amitraz + (*E*)-cinnamaldehyde. The reduction in the quantity and
17 viability of eggs resulted in percent control of 65.2, 37.7 and 86.0%, in treatments with amitraz,
18 (*E*)-cinnamaldehyde and amitraz + (*E*)-cinnamaldehyde, respectively (Table 3).
19

- 1 **Table 3** Mean (\pm SD; n = 10) weight (mg) of females before oviposition and of egg mass of engorged females, larval hatch (%) and percent control
 2 of *Rhipicephalus microplus*, treated with amitraz and (*E*)-cinnamaldehyde (separate or combined) under laboratory conditions.

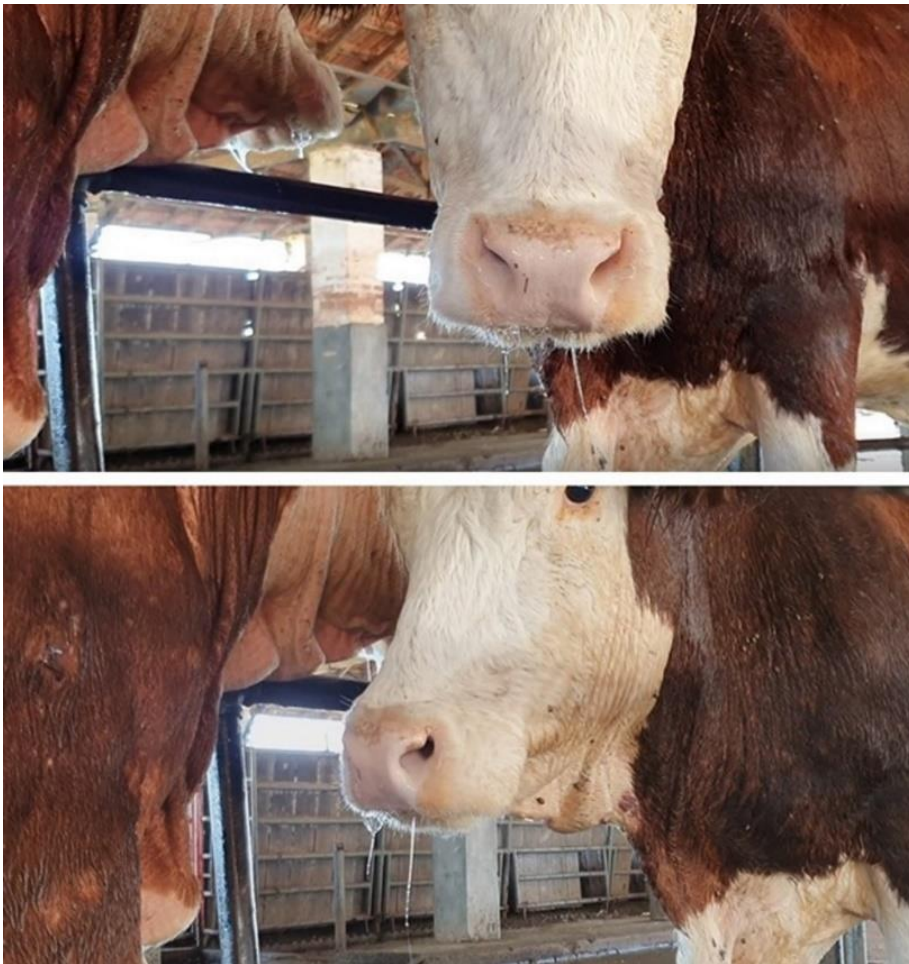
Treatment	Female weight before oviposition (mg) ¹	Egg mass weight (mg) ²	Egg production index ²	Larval hatch (%) ²	Percent control
Control	251.0 \pm 22.2 a	126.1 \pm 27.8 a	50.3 \pm 10.5 a	89.6 \pm 16.1 a	
Amitraz 250 μ g/mL	256.7 \pm 25.3 a	89.8 \pm 62.3 ab	34.2 \pm 23.8 b	44.8 \pm 28.4 bc	65.2
Cinnamaldehyde 1,000 μ g/mL	255.7 \pm 29.7 a	101.4 \pm 55.8 ab	39.0 \pm 20.8 ab	70.7 \pm 18.3 ab	37.7
Cinnamaldehyde 1,000 μ g/mL + Amitraz 250 μ g/mL	255.4 \pm 26.6 a	44.9 \pm 57.1 b	18.2 \pm 22.7 b	35.9 \pm 30.1 c	86.0

- 3 Means within a column followed by different letters are significantly different (¹Tukey test or ²Student Newman Keuls tests: P<0.05).

4

1 **Field test**

2 Approximately 20 min after treating cattle with (*E*)-cinnamaldehyde (alone), all 10
3 animals showed intense sialorrhea (Fig. 4) and muscle tremors. Immediately all cattle treated
4 were washed with pressurized water for approximately 20 min in a contention trunk. Even after
5 washing, six of the 10 animals still showed sialorrhea and muscle tremors. For this reason, each
6 one of these six animals received atropine sulfate and a solution with glucose, vitamin complex
7 and amino acids (according to the product leaflet), administrated intravenously. The recovery
8 of the clinical condition occurred near 20 min later, without the need for supplementary
9 treatment. As the animals were washed with pressurized water after the experimental treatment,
10 it was not possible to complete the counting of ticks in the previously scheduled dates.
11



12
13 **Fig. 4** Simmental cattle showing signs of (*E*)-cinnamaldehyde toxicity, approximately 20 min after
14 application

15

1 DISCUSSION

2 Due to the existence of resistant populations of *R. microplus* against the acaricides available
3 on the market (Klafke et al. 2017), the number of investigations in search of new technologies to
4 control arthropods has intensified (Kiss et al. 2012). In this sense, the pursuit of molecules which
5 may act as synergists, enhancing the activity of commercial acaricides deserves to be investigated
6 further (Arafa et al. 2021; Tavares et al. 2022). In the present study, we showed for the first time
7 the enhancement in the efficacy of commercial acaricides containing amitraz and chlorfenvinphos
8 after adding the phenylpropanoid (*E*)-cinnamaldehyde, on unfed larvae and engorged females of
9 *R. microplus*. We also demonstrated that (*E*)-cinnamaldehyde in ethanol 30%, administrated
10 topically was toxic to cattle.

11 Considering the average efficiency of commercial acaricides tested against the various *R.*
12 *microplus* populations, it was verified that only one of the products (product 5 in Table 1) showed
13 efficacy >95%, whereas products 6 and 12 had efficiency >90%. Most commercial acaricides
14 (64%; i.e., nine products) showed average efficacy <80%. According to the World Association for
15 the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP), to be considered as efficient, an acaricide
16 has to show efficiency equal to or >95% (Holdsworth et al. 2006). Our data comprehending 116 *R.*
17 *microplus* populations from all Brazilian regions reinforces the challenging scenario concerning
18 resistance against acaricides, as has already been reported in Brazil and various other parts of the
19 world (Furlong et al. 2007; Spagnol et al. 2010; Reck et al. 2014; Jyoti et al. 2016; Klafke et al.
20 2017; Rodriguez-Vivas et al. 2018).

21 In experiments combining (*E*)-cinnamaldehyde with acaricides, products 2 (a.i. amitraz)
22 and 3 (a.i. chlorfenvinphos) were selected based on the presence of only one active ingredient in
23 the product, and based on their average efficiency. Acaricide emulsions contain vehicles that are
24 important for the solubilization of hydrophobic active ingredients, such as amitraz and
25 organophosphates. As (*E*)-cinnamaldehyde also has a hydrophobic character, its addition to a
26 formulation may represent a challenge, affecting the support capacity of the system and preventing
27 the establishment of a consistent emulsion, where the precipitation of the active ingredients or
28 separation of phases may occur. In addition, a higher number of active ingredients contribute to
29 increase the possibility of incompatibility between the formulation's components (Cheng et al.
30 2020; Kolluru et al. 2021). The efficiency of acaricides such as amitraz (55%) and chlorfenvinphos
31 (75%) was also favorable, allowing to use lower concentrations of potential synergists, facilitating

1 the development of formulations that may have an efficiency >90%. In addition, chlorfenvinphos
2 has a low withdrawal period from milk, of about 12 h (SINDAN 2022).

3 In the present study, we demonstrated that (*E*)-cinnamaldehyde enhanced the acaricide
4 activity of amitraz and chlorfenvinphos on *R. microplus* larvae. Enhanced acaricide activity was
5 also observed regarding combinations of (*E*)-cinnamaldehyde and amitraz on engorged females.
6 Arafa et al. (2021) demonstrated that a combination of thymol + EO from eucalyptus +
7 deltamethrin, had a synergic effect on *Rhipicephalus annulatus*. The same effect was demonstrated
8 with cypermethrin + thymol on *R. microplus* larvae (Tavares et al. 2022). Generally, a synergic
9 effect occurs due to a combination of active ingredients with different mechanisms of action
10 (Coelho et al. 2020). Amitraz (amidine) acts on octopamine / tyramine receptors, causing a
11 disruption in the operation of the arthropod nervous system (Finetti et al. 2021). Chlorfenvinphos
12 (organophosphate) acts on the enzyme acetylcholinesterase, phosphorylates the enzyme avoiding
13 hydrolyses of acetylcholine, resulting in the accumulation of neurotransmitter in nervous synapses
14 (Fukuto 1990). Little is known about the action of cinnamaldehyde in ticks, but the impairment of
15 the cell wall in bacteria was demonstrated using this botanical compound (Wang et al. 2018).
16 Recently, it was demonstrated that (*E*)-cinnamaldehyde causes alteration in the lipid profile of *R.*
17 *microplus*, increasing the cholesterol level in the fat body of engorged females and reducing it in
18 the eggs, besides suppressing the presence of hydrocarbonates in the fat body of engorged females
19 (Marchesini et al. 2021b). The presence of thymol (compound of EO) increases the penetration rate
20 of cypermethrin inside engorged females (Tavares et al. 2022). This may also be one of the
21 mechanisms explaining the increase of activity of amitraz when combined with (*E*)-
22 cinnamaldehyde.

23 Although (*E*)-cinnamaldehyde increased the activity of amitraz on larvae of both
24 populations, in the field population (strain CM) such enhancement was stronger. As strain CM
25 showed lower susceptibility to amitraz, the stronger enhancement of the (*E*)-cinnamaldehyde may
26 be related with the action of this phenylpropanoid on the enzymes responsible for the metabolic
27 resistance to amitraz in *R. microplus*. Metabolic detoxification, in conjunction with insensibility to
28 the local target, are the main resistance mechanisms of ticks against acaricides (Guerrero et al.
29 2012). The occurrence of metabolic resistance in ticks against amitraz mediated by
30 monooxygenases by cytochrome P450 was already shown (Chevillon et al. 2007; de La Canal et
31 al. 2021). In general, it is known that monooxygenases have an important role in metabolic

1 detoxification of xenobiotics, such as insecticides/acaricides in arthropods (Li et al. 2007).
2 Glutathione s-transferases (GSTs) also have a significant role in metabolic detoxification in ticks.
3 Concerning acaricides, there is evidence that GSTs are involved in the resistance against
4 pyrethroids, organophosphates and macrocyclic lactones (Le Gall et al. 2018; Upadhaya et al. 2020;
5 Kumar et al. 2021). By means of *in silico* analysis, Marchesini et al. (2021b) demonstrated that
6 (*E*)-cinnamaldehyde may act as substrate for GST, stimulant for caspase and cytochrome P450,
7 and inhibitor for catalase.

8 Piperonyl butoxide (PBO) is used as synergist in insecticides and acaricides due to its action
9 on enzymes participating in the metabolic detoxification of xenobiotics (Scott et al. 2008; de La
10 Canal et al. 2021). PBO is synthesized from safrole, a phenylpropanoid found in EOs, similar to
11 (*E*)-cinnamaldehyde. This reinforces our hypothesis regarding the way (*E*)-cinnamaldehyde may
12 be acting in the increment of amitraz activity on *R. microplus*.

13 In the field test, the application of (*E*)-cinnamaldehyde on cattle caused intoxication to the
14 animals which exhibited intense sialorrhea and muscle tremors. Using (*E*)-cinnamaldehyde, Lahti
15 and Maibach (1984) reported non-immunological contact urticaria in dermatological tests on
16 guinea pigs. Reactions such as edema, perivascular infiltration of eosinophils and lymphocytes
17 were dosage dependent. In contrast, oral administration of (*E*)-cinnamaldehyde in confinement
18 cattle (until 1,600 mg/day), besides not causing toxicity, produced an increment of ingestion of dry
19 matter and reduced the effects of stress when offered in the beginning of the feeding period (Yang
20 et al. 2010).

21 Santos et al. (2017) administrated formulations (nano-emulsion and nano-capsules) of EOs
22 from *C. zeylanicum* (0.5%), containing 41.2% (*E*)-cinnamaldehyde and did not report intoxication
23 in the cattle. The differences between the present study and the research by Santos et al. (2017)
24 may be associated to three characteristics: volume of the formulation applied to the animals,
25 presence of eugenol, and formulation. In our study 5 L per animal was applied, whereas Santos et
26 al. (2017) used only 50 mL per animal (a 100× smaller volume) and evaluated the efficiency only
27 by reduction of ticks on the treated site. Consequently, animals received a much lower volume of
28 (*E*)-cinnamaldehyde. The EO used by Santos et al. (2017), in addition to (*E*)-cinnamaldehyde, had
29 eugenol in its composition (approximately 7%). It was demonstrated that eugenol may reduce the
30 toxicity of (*E*)-cinnamaldehyde in guinea pigs and humans (Allenby et al. 1984; Safford et al.
31 1990). Finally, the system formed with nano-capsules and nano-emulsions, used in the study

1 conducted by Santos et al. (2017), may have resulted in a slower release of (*E*)-cinnamaldehyde,
2 thus reducing its toxicity.

3 Consequently, we conclude that (*E*)-cinnamaldehyde enhanced the activity of amitraz on
4 unfed larvae and engorged females of *R. microplus*; however, in the field experiment we observed
5 that this phenylpropanoid caused intoxication in cattle. Studies searching for new combinations of
6 compounds from EOs with amitraz deserve attention, as well as studies to develop formulations
7 using amitraz + (*E*)-cinnamaldehyde that will be efficient and at the same time will have no (or
8 reduced) toxic effects in cattle or in other hosts.

9

10 REFERENCES

- 11 Adenubi, O.T., Ahmed, A.S., Fasina, F.O., McGaw, L.J., Eloff, J.N., Naidoo, V., 2018. Pesticidal
12 plants as a possible alternative to synthetic acaricides in tick control: A systematic review and
13 meta-analysis. *Ind. Crops Prod.* 123, 779–806. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.075>
- 14 Agwunobi, D.O., Yu, Z., Liu, J., 2021. A retrospective review on ixodid tick resistance against
15 synthetic acaricides: implications and perspectives for future resistance prevention and
16 mitigation. *Pestic. Biochem. Physiol.* 173, 1–17.
17 <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104776>
- 18 Allenby, C.F., Gooowin, B.F.J., Safford, R.J., 1984. Diminution of immediate reactions to
19 cinnamic aldehyde by eugenol. *Contact Dermat.* <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1984.tb01025.x>
- 21 Arafa, W.M., Aboelhadid, S.M., Moawad, A., Shokeir, K.M., Ahmed, O., Pérez de León, A.A.,
22 2021. Control of *Rhipicephalus annulatus* resistant to deltamethrin by spraying infested cattle
23 with synergistic eucalyptus essential oil-thymol-deltamethrin combination. *Vet. Parasitol.*
24 290, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109346>
- 25 Bennett, G.F., 1974. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae). I.
26 Influence of tick size on egg production. *Acarologia* 16, 52–61.
- 27 Bickers, D., Calow, P., Greim, H., Hanifin, J.M., Rogers, A.E., Saurat, J.H., Sipes, I.G., Smith,
28 R.L., Tagami, H., 2005. A toxicologic and dermatologic assessment of cinnamyl alcohol,
29 cinnamaldehyde and cinnamic acid when used as fragrance ingredients. *Food Chem. Toxicol.*
30 43, 799–836. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.09.013>
- 31 Brazil. Portaria nº 48, de 12 de maio de 1997. Regulamento técnico para licenciamento e/ou

- 1 renovação de licença de produtos antiparasitários de uso veterinário. Diário Oficial da União:
2 Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasil, 16 maio 1997. Available in:
3 [https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoP](https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=72818869)
4 ortalMapa&chave=72818869 (accessed 5.9.22).
- 5 Cavalcante, A.S. de A., Ferreira, L.L., Couto, L.F.M., Zapa, D.M.B., Heller, L.M., Nicaretta, J.E.,
6 Cruvinel, L.B., Junior, R.D.M., Soares, V.E., de Souza, G.R.L., Monteiro, C.M. de O., Lopes,
7 W.D.Z., 2021. An update on amitraz efficacy against *Rhipicephalus microplus* after 15 years
8 of disuse. Parasitol. Res. 120, 1103–1108. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07063-5>
- 9 Cheng, Z.H., Fan, F.F., Zhao, J.Z., Li, R., Li, S.C., Zhang, E.J., Liu, Y.K., Wang, J.Y., Zhu, X.R.,
10 Tian, Y.M., 2020. Optimization of the microemulsion formulation of curcuma oil and
11 evaluation of its acaricidal efficacy against *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari:
12 Tetranychidae). J. Asia. Pac. Entomol. 23, 1014–1022.
13 <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.08.003>
- 14 Chevillon, C., Ducornez, S., de Meeûs, T., Koffi, B.B., Huguette G., Delathière, J.M., Barré, N.,
15 2007. Accumulation of acaricide resistance mechanisms in *Rhipicephalus (Boophilus)*
16 *microplus* (Acari: Ixodidae) populations from New Caledonia Island. Vet. Parasitol. 147, 276–
17 288. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.05.003>
- 18 Coelho, L., de Paula, L.G.F., Alves, S. das G.A., Sampaio, A.L.N., Bezerra, G.P., Vilela, F.M.P.,
19 Matos, R. da S., Zeringóta, V., Borges, L.M.F., Monteiro, C., 2020. Combination of thymol
20 and eugenol for the control of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato: Evaluation of synergism
21 on immature stages and formulation development. Vet. Parasitol. 277, 1–8.
22 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108989>
- 23 Costa, F.B., Martins, T.F., Muñoz-Leal, S., de Azevedo Serpa, M.C., Ogrzewalska, M., Luz, H.R.,
24 Barros-Battesti, D.M., Mesquita, E.T.K. de C., da Costa, A.P., Nogueira, R. de M.S., Labruna,
25 M.B., 2020. Retrospective and new records of ticks (Acari: Argasidae, Ixodidae) from the
26 state of Maranhão, an Amazon-Cerrado transition area of Brazil. Vet. Parasitol. Reg. Stud.
27 Reports 21, 100413. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100413>
- 28 de La Canal, L.H., Dall’Agnol, B., Webster, A., Reck, J., Martins, J.R., Klafke, G.M., 2021.
29 Mechanisms of amitraz resistance in a *Rhipicephalus microplus* strain from southern Brazil.
30 Ticks Tick. Borne. Dis. 12, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101764>
- 31 Drummond, R.O., Ernst, S.E., Trevino, J.L., Gladney, W.J., Graham, O.H., 1973. *Boophilus*

- 1 *annulatus* and *B. microplus*: Laboratory Tests of Insecticides. J. Econ. Entomol. 66, 130–33.
2 <https://doi.org/10.1093/jee/69.1.37>
- 3 Fazolin, M., Estrela, J.L.V., Medeiros, A.F.M., Silva, I.M. da, Gomes, L.P., Silva, M.S. de F., 2016.
4 Synergistic potential of dillapiole-rich essential oil with synthetic pyrethroid insecticides
5 against fall armyworm. Ciênc. Rural 46, 382–388. [https://doi.org/10.1590/0103-](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141500)
6 [8478cr20141500](https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141500)
- 7 Figueiredo, A., Agnolon, I.C., Lopes, L.G., Giglioti, R., de Souza Chagas, A.C., 2018. Comparative
8 study of hatching estimation methods of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* eggs. Vet.
9 Parasitol. 264, 35–38. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.10.015>
- 10 Finetti, L., Roeder, T., Calò, G., Bernacchia, G., 2021. The insect type 1 tyramine receptors: From
11 structure to behavior. Insects 12, 1–14. <https://doi.org/10.3390/insects12040315>
- 12 FAO-UN (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2004. Ticks: acaricides
13 resistance: diagnosis management and prevention, in: Guidelines Resistance Management and
14 Integrated Parasite Control in Ruminants. FAO Animal Production and Health Division,
15 Rome, pp. 25–77.
- 16 Fukuto, T.R., 1990. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides.
17 Environ. Health Perspect. 87, 245–254. <https://doi.org/10.1289/ehp.9087245>
- 18 Furlong, J., Martins, J.R., Prata, M.C.A., 2007. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o
19 que comemorar? A Hora Vet. 159, 1–7
- 20 Godara, R., Katoch, R., Rafiqi, S.I., Yadav, A., Nazim, K., Sharma, R., Singh, N.K., Katoch, M.,
21 2019. Synthetic pyrethroid resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks from
22 north-western Himalayas, India. Trop. Anim. Health Prod. 51, 1203–1208.
23 <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01810-8>
- 24 Grisi, L., Leite, R.C., Martins, J.R. de S., de Barros, A.T.M., Andreotti, R., Cançado, P.H.D., de
25 León, A.A.P., Pereira, J.B., Villela, H.S., 2014. Reavaliação do potencial impacto econômico
26 de parasitos de bovinos no Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 23, 150–156.
27 <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014042>
- 28 Guerrero, F.D., Lovis, L., Martins, J.R., 2012. Mecanismos de resistência aos acaricidas em
29 *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 21, 1–6
- 30 Higa, L. de O.S., 2015. Acaricide Resistance Status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: A
31 Literature Overview. Med. Chem. (Los. Angeles). 5, 326–333.

- 1 0444.1000281
- 2 Holdsworth, P.A., Kemp, D., Green, P., Peter, R.J., de Bruin, C., Jonsson, N.N., Letonja, T.,
3 Rehbein, S., Vercruyse, J., 2006. World Association for the Advancement of Veterinary
4 Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of acaricides against ticks
5 (Ixodidae) on ruminants. *Vet. Parasitol.* 136, 29–43.
6 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.011>
- 7 Jyoti, Singh, N. K., Singh, H., Singh, N. K., Rath, S.S., 2016. Multiple mutations in the
8 acetylcholinesterase 3 gene associated with organophosphate resistance in *Rhipicephalus*
9 (*Boophilus*) *microplus* ticks from Punjab, India. *Vet. Parasitol.* 216, 108–117.
10 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.12.004>
- 11 Kiss, T., Cadar, D., Spînu, M., 2012. Tick prevention at a crossroad: New and renewed solutions.
12 *Vet. Parasitol.* 187, 357–366. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.02.010>
- 13 Klafke, G., Webster, A., Agnol, B.D., Pradel, E., Silva, J., Canal, L.H. de La, Becker, M., Osório,
14 M.F., Mansson, M., Barreto, R., Scheffer, R., Souza, U.A., Corassini, V.B., Santos, J. dos,
15 Reck, J., Martins, J.R., 2017. Multiple resistance to acaricides in field populations of
16 *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. *Ticks Tick. Borne.*
17 *Dis.* 8, 73–80.
- 18 Kolluru, L.P., Atre, P., Rizvi, S.A.A., 2021. Characterization and applications of colloidal systems
19 as versatile drug delivery carriers for parenteral formulations. *Pharmaceuticals* 14, 1–12.
20 <https://doi.org/10.3390/ph14020108>
- 21 Kumar, S., Sharma, A.K., Kumar, B., Shakya, M., Patel, J.A., Kumar, B., Bisht, N., Chigure, G.M.,
22 Singh, K., Kumar, R., Kumar, S., Srivastava, S., Rawat, P., Ghosh, S., 2021. Characterization
23 of deltamethrin, cypermethrin, coumaphos and ivermectin resistance in populations of
24 *Rhipicephalus microplus* in India and efficacy of an antitick natural formulation prepared from
25 *Ageratum conyzoides*. *Ticks Tick. Borne. Dis.* 12.
26 <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101818>
- 27 Lahti, A., Maibach, H.I., 1984. An animal model for nonimmunologic contact urticaria. *Toxicol.*
28 *Appl. Pharmacol.* 76, 219–224. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(84\)90002-4](https://doi.org/10.1016/0041-008X(84)90002-4)
- 29 Le Gall, V.L., Klafke, G.M., Torres, T.T., 2018. Detoxification mechanisms involved in ivermectin
30 resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Sci. Rep.* 8, 1–10.
31 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30907-7>

- 1 Li, X., Schuler, M.A., Berenbaum, M.R., 2007. Molecular mechanisms of metabolic resistance to
2 synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Entomol.* 52, 231–253.
3 <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.51.110104.151104>
- 4 Marchesini, P., Novato, T.P., Cardoso, S.J., Prata, M.C. de A., do Nascimento, R.M., Klafke, G.,
5 Costa-Júnior, L.M., Maturano, R., Lopes, W.D.Z., Bittencourt, V.R.E.P., Monteiro, C., 2020.
6 Acaricidal activity of (*E*)-cinnamaldehyde and α -bisabolol on populations of *Rhipicephalus*
7 *microplus* (Acari: Ixodidae) with different resistance profiles. *Vet. Parasitol.* 286.
8 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109226>
- 9 Marchesini, P., Oliveira, D.R. de, Gomes, G.A., Rodrigues, T.H.S., Maturano, R., Fidelis, Q.C.,
10 Catunda Júnior, F.E.A., Carvalho, M.G. de, Bittencourt, V.R.E.P., Monteiro, C.M.O., 2021a.
11 Acaricidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eremanthus*
12 *erythropappus*, major compounds and cinnamyl acetate in *Rhipicephalus microplus*. *Rev.*
13 *Bras. Parasitol. Vet.* 30, 1–14. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612021070>
- 14 Marchesini, P., Lemos, A.S. de O., Bitencourt, R. de O.B., Fiorotti, J., Angelo, I. da C., Fabri, R.L.,
15 Costa-Júnior, L.M., Lopes, W.D.Z., Bittencourt, V.R.E.P., Monteiro, C., 2021b. Assessment
16 of lipid profile in fat body and eggs of *Rhipicephalus microplus* engorged females exposed to
17 (*E*)-cinnamaldehyde and α -bisabolol, potential acaricide compounds. *Vet. Parasitol.* 300, 1–
18 9. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109596>
- 19 Monteiro, C.M. de, Maturano, R., Daemon, E., Catunda, F.E.A., Calmon, F., De Souza Senra, T.,
20 Faza, A., Carvalho, M.G. de, 2012. Acaricidal activity of eugenol on *Rhipicephalus microplus*
21 (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. *Parasitol. Res.* 111, 1295–
22 1300. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-2964-0>
- 23 Norris, E.J., Bloomquist, J.R., 2021. Co-toxicity factor analysis reveals numerous plant essential
24 oils are synergists of natural pyrethrin's against *Aedes aegypti* mosquitoes. *Insects* 12, 1–11.
25 <https://doi.org/10.3390/insects12020154>
- 26 Nwanade, C.F., Wang, M., Wang, T., Yu, Z., Liu, J., 2020. Botanical acaricides and repellents in
27 tick control: current status and future directions, *Exp. Appl. Acarol.*
28 <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00489-z>
- 29 Nwanade, C.F., Wang, M., Li, H., Masoudi, A., Yu, Z., Liu, J., 2022. Individual and synergistic
30 toxicity of cinnamon essential oil constituents against *Haemaphysalis longicornis* (Acari:
31 Ixodidae) and their potential effects on non-target organisms. *Ind. Crops Prod.* 178, 1–9.

- 1 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114614>
- 2 O'Neal, S.T., Johnson, E.J., Rault, L.C., Anderson, T.D., 2019. Vapor delivery of plant essential
3 oils alters pyrethroid efficacy and detoxification enzyme activity in mosquitoes. *Pestic.*
4 *Biochem. Physiol.* 157, 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.007>
- 5 Parizi, L.F., Githaka, N.W., Logullo, C., Konnai, S., Masuda, A., Ohashi, K., da Silva Vaz, I., 2012.
6 The quest for a universal vaccine against ticks: Cross-immunity insights. *Vet. J.* 194, 158–
7 165. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.05.023>
- 8 Pavela, R., Benelli, G., 2016. Essential Oils as Ecofriendly Biopesticides? Challenges and
9 Constraints. *Trends Plant Sci.* 21, 1000–1007.
- 10 Prata, M.C. de A., Furlong, J., Martins, J.R. de S., 2008. Carrapato e vermes: inimigos do gado e
11 do produtor, Circular Técnica 95. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora.
- 12 Rao, P.V., Gan, S.H., 2014. Cinnamon: A multifaceted medicinal plant. Evidence-based
13 Complement. Altern. Med. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/642942>
- 14 Reck, J., Klafke, G.M., Webster, A., Dall'Agnol, B., Scheffer, R., Souza, U.A., Corassini, V.B.,
15 Vargas, R., dos Santos, J.S., de Souza Martins, J.R., 2014. First report of fluazuron resistance
16 in *Rhipicephalus microplus*: A field tick population resistant to six classes of acaricides. *Vet.*
17 *Parasitol.* 201, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.012>
- 18 Rodríguez-Vivas, R.I., Rivas, A.L., Chowell, G., Fragoso, S.H., Rosario, C.R., García, Z., Smith,
19 S.D., Williams, J.J., Schwager, S.J., 2007. Spatial distribution of acaricide profiles (*Boophilus*
20 *microplus* strains susceptible or resistant to acaricides) in southeastern Mexico. *Vet. Parasitol.*
21 146, 158–169. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.01.016>
- 22 Rodríguez-Vivas, R.I., Jonsson, N.N., Bhushan, C., 2018. Strategies for the control of
23 *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone
24 resistance. *Parasitol. Res.* 117, 3–29. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>
- 25 Rosado-Aguilar, J.A., Arjona-Cambranes, K., Torres-Acosta, J.F.J., Rodríguez-Vivas, R.I., Bolio-
26 González, M.E., Ortega-Pacheco, A., Alzina-López, A., Gutiérrez-Ruiz, E.J., Gutiérrez-
27 Blanco, E., Aguilar-Caballero, A.J., 2017. Plant products and secondary metabolites with
28 acaricide activity against ticks. *Vet. Parasitol.* 238, 66–76.
- 29 Safford, R.J., Basketter, D.A., Allenby, C.F., Goodwin, B.F.J., 1990. Immediate contact reactions
30 to chemicals in the fragrance mix and a study of the quenching action of eugenol. *Br. J.*
31 *Dermatol.* 123, 595–606. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.1990.tb01476.x>

- 1 Santos, D.S. dos, Boito, J.P., Santos, R.C.V., Quatrin, P.M., Ourique, A.F., dos Reis, J.H., Gebert,
2 R.R., Glombowsky, P., Klauck, V., Boligon, A.A., Baldissera, M.D., Da Silva, A.S., 2017.
3 Nanostructured cinnamon oil has the potential to control *Rhipicephalus microplus* ticks on
4 cattle. *Exp. Appl. Acarol.* 73, 129–138. <https://doi.org/10.1007/s10493-017-0171-5>
- 5 Scott, I.M., Jensen, H.R., Philogène, B.J.R., Arnason, J.T., 2008. A review of Piper spp.
6 (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. *Phytochem. Rev.* 7,
7 65–75. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9058-5>
- 8 Senra, T.D.O.S., Zeringóta, V., Monteiro, C.M.D.O., Calmon, F., Maturano, R., Gomes, G.A.,
9 Faza, A., Carvalho, M.G. de, Daemon, E., 2013b. Assessment of the acaricidal activity of
10 carvacrol, (*E*)-cinnamaldehyde, trans-anethole, and linalool on larvae of *Rhipicephalus*
11 *microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 112, 1461–1466.
12 <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3289-3>
- 13 Senra, T.D.O.S., Calmon, F., Zeringóta, V., Monteiro, C.M.O., Maturano, R., Matos, R.D.S., Melo,
14 D., Gomes, G.A., Carvalho, M.G. de, Daemon, E., 2013a. Investigation of activity of
15 monoterpenes and phenylpropanoids against immature stages of *Amblyomma cajennense* and
16 *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 112, 3471–3476.
17 <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3527-8>
- 18 Sheng, Z., Jian, R., Xie, F., Chen, B., Zhang, K., Li, D., Chen, W., Huang, C., Zhang, Y., Hu, L.,
19 Zhao, D., Zheng, X., Wu, P., Hong, W.D., 2020. Screening of larvicidal activity of 53 essential
20 oils and their synergistic effect for the improvement of deltamethrin efficacy against *Aedes*
21 *albopictus*. *Ind. Crops Prod.* 145, 112131. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112131>
- 22 SINDAN, 2022. Compêndio de Produtos Veterinários [WWW Document]. Sind. Nac. da Indústria
23 Prod. para Saúde Anim. URL <https://sistemas.sindan.org.br/cpvs/> (accessed 5.9.22).
- 24 Spagnol, F.H., Paranhos, E.B., Albuquerque, G.R., 2010. Avaliação in vitro da ação de acaricidas
25 sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini, 1887 (Acari: Ixodidae) de bovinos
26 leiteiros no município de Itamaraju, Bahia, Brasil. *Ciência Anim. Bras.* 11, 731–736.
27 <https://doi.org/10.5216/cab.v11i3.8149>
- 28 Stone, B.F., Haydock, K.P., 1962. A method for measuring the acaricide-susceptibility of the cattle
29 tick *Boophilus microplus* (Can.). *Bull. Entomol. Res.* 53, 563–578.
30 <https://doi.org/10.1017/S000748530004832X>
- 31 Tavares, C.P., Sousa, I.C., Gomes, M.N., Miró, V., Virkel, G., Lifschitz, A., Costa-Junior, L.M.,

- 1 2022. Combination of cypermethrin and thymol for control of *Rhipicephalus microplus*:
2 Efficacy evaluation and description of an action mechanism. Ticks Tick. Borne. Dis. 13, 1–8.
3 <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101874>
- 4 Tong, F., Bloomquist, J.R., 2013. Plant essential oils affect the toxicities of carbaryl and permethrin
5 against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J. Med. Entomol. 50, 826–832.
6 <https://doi.org/10.1603/ME13002>
- 7 Upadhaya, D., Kumar, B., Kumar, S., Sharma, A.K., Fular, A., Bisht, N., Srivastava, S., Boruah,
8 R.R., Nagar, G., Shakya, M., Nath, T., Nandi, S.P., S, K., Ghosh, S., 2020. Characterization
9 of acaricide resistance in *Rhipicephalus microplus* populations infesting cattle in northeastern
10 India and assessment of local plant extracts for tick management. Vet. Parasitol. 277, 1–10.
11 <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.109011>
- 12 Valsoni, L.M., Freitas, M.G. de, Echeverria, J.T., Borges, D.G.L., Tutija, J., Borges, F. de A., 2020.
13 Resistance to all chemical groups of acaricides in a single isolate of *Rhipicephalus microplus*
14 in Mato Grosso do Sul, Brazil. Int. J. Acarol. 46, 276–280.
15 <https://doi.org/10.1080/01647954.2020.1765867>
- 16 Wang, Y., Zhang, Y., Shi, Y. qin, Pan, X. hua, Lu, Y. hua, Cao, P., 2018. Antibacterial effects of
17 cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) bark essential oil on *Porphyromonas gingivalis*.
18 Microb. Pathog. 116, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.009>
- 19 Wharton, R.H., Utech, K.B.W., 1970. The relation between engorgement and dropping of
20 *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. J.
21 Aust. Ent. Soc. 171–182.
- 22 Yang, W.Z., Ametaj, B.N., Benchaar, C., He, M.L., Beauchemin, K.A., 2010. Cinnamaldehyde in
23 feedlot cattle diets: Intake, growth performance, carcass characteristics, and blood
24 metabolites. J. Anim. Sci. 88, 1082–1092. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1608>

25

26 **Funding**

27 This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico
28 Tecnológico/CNPq (n° grant 317482/2021-1) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de
29 Nível Superior/CAPES - financial code 001, Brazil.

30

31

1 **Declaration of Competing Interest**

2 The authors declare no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or
3 publication of this article.

4

5 **Authors' contributions**

6 Bruno César Ferreira Gonzaga: Responsible for conducting the study (experiments and writing),
7 during the development of the doctoral Thesis; Nélio Roberto de Moraes: Participation in tests
8 under laboratory conditions; Gabriel Webert Gomes: Participation in tests under laboratory
9 conditions; Ana Lúcia Coutinho: Participation in tests under laboratory conditions; Letícia Vale:
10 Participation in tests under laboratory conditions; Lainny Jordana Pereira Sousa: Participation in
11 tests under laboratory conditions; Laís Marreto: Participation in tests under laboratory conditions;
12 Daniel de Castro Rodrigues: Participation in tests under laboratory conditions; Márcia Cristina de
13 Azevedo Prata: Embrapa's tick resistance tests; Paula Marchesini: Participation in the study design,
14 test in laboratory conditions and text review; Welber Daniel Zanetti Lopes: Participation in the
15 study design, field test and text review; Caio Monteiro: Study supervisor. Participation in the study
16 design and text review.

17

18 **Ethics approval**

19 This study received approval from the Animal Use Ethics Committee of UFG (protocol #067/21)
20 and was conducted in accordance with the ethical principles of animal experimentation stipulated
21 by Brazil's National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA).

22

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os OEs e COEs podem ser utilizados de forma isolada ou combinada aos produtos sintéticos, representando uma alternativa para desenvolvimento de tecnologias “eco-friendly”, quando comparados a esses. Este trabalho ressaltou os resultados obtidos nas pesquisas realizadas nos últimos 30 anos, demonstrando que esses produtos botânicos merecem destaque por sinalizarem uma alternativa frente ao combate dos carrapatos, pelo fato de possuírem diferentes mecanismos ou locais de ação nos artrópodes, agindo diretamente sobre esse parasito ou interferindo na sua biologia reprodutiva.

Existem entraves a serem contornados que ainda dificultam a utilização em uma escala maior. Para os OEs, a falta de padronização de seus componentes, já que existem muitas variáveis que antecedem o processo de extração do óleo e seguem até o tempo de armazenamento do produto. Para os COEs, os poucos estudos explorando o potencial de sinergia com outras moléculas. E para ambos, as poucas pesquisas *in vivo*, somadas a desuniformidade metodológica dos dados avaliados por estas.

Outrossim, a presença de resíduos e a interação com espécies não-alvos merecem destaque em pesquisas futuras, assim como novas tecnologias para minimizar a volatilidade desses produtos. Alternativas como o encapsulamento e a utilização de nanotecnologia foram utilizadas em alguns estudos citados nesse trabalho.

Em 95% dos estudos citados foi demonstrado que os produtos botânicos são seguros aos animais, sendo em apenas uma pesquisa com o composto timol relatado reação dermatológica em um bovino. No estudo avaliado nessa tese, porém, mesmo com resultado em laboratório superior a 86%, para a combinação comercial de amitraz + (*E*)-cinamaldeído (1.000 µg/mL) em larvas e fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*, no teste de campo os bovinos apresentaram intoxicação após a pulverização do composto isolado (1.000 µg/mL), sinalizando que atenção especial deve ser dada aos estudos de segurança clínica. Pesquisas futuras, buscando diminuir a toxicidade de formulações com (*E*)-cinamaldeído merecem ser investigadas.

ANEXO A. Parecer CEUA 067/21

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



Goiânia, 13 de setembro de 2021.

PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA DO PROTOCOLO N. 067/21

I - Finalidade do projeto de pesquisa: Pesquisa –Doutorado

II - Identificação:

- Data de apresentação a CEUA:** 24/08/2021
- Data de início do projeto:** 01/11/2021
- Data de término do projeto:** 31/07/2026
- Título do projeto:** Associação de *Metarhizium anisopliae sensu lato* brm2335 ou *Cordyceps javanica* brm27666 com amitraz como forma de controle de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)
- Pesquisador Coordenador no SIGAA/ Unidade:** Caio Márcio de Oliveira Monteiro (IPTSP/UFG)
- Pesquisador Responsável/ Unidade:** Caio Márcio de Oliveira Monteiro (IPTSP/UFG)
- Pesquisadores Participantes/ Unidade:** Lainny Jordana Martins Pereira e Sousa (EVZ/UFG), Welber Daniel Zanetti Lopes (IPTSP/UFG), Ana Lúcia Coutinho Teixeira (EVZ/UFG), Francisca Leticia Vale da Silva (EVZ/UFG), Mirna Secchis Vieira (EVZ/UFG), Nélío Roberto de Moraes Junior (EVZ/UFG), Laís Carneiro Naziasene Lima Marreto (PPCF/UFG), Bruno César Ferreira Gonzaga (EVZ/UFG), Mayara Macêdo Barrozo Santos (EVZ/UFG), Gabriel Webert Gomes (EVZ/UFG) e Victoria Aparecida Santos de Sousa (EVZ/UFG),
- Médico Veterinário/CRMV:** Mirna Secchis Vieira/4896
- Unidade onde será realizada a pesquisa:** Bovinos utilizados para manutenção da colônia de carrapatos - Escola de Veterinária e Zootecnia UFG
Bovinos utilizados no estudo de campo Fazenda São Bento, Rodovia GO 162, Zona rural, Região de Piçara, Município de Palmeiras de Goiás
IPTSP- análise experimental

III - Objetivos e justificativa do projeto:

“....seleção de populações de carrapatos resistentes as bases químicas disponíveis no mercado;
.....busca cada vez maior por meios de produções sustentáveis e seguros, utilizando agentes entomopatogênicos.
.....utilização do controle biológico na produção animal.
Os fungos entomopatogênicos são indicados como os agentes biológicos mais promissores para o controle de carrapatos, sendo que nas últimas três décadas, também foram os organismos mais estudados para esse fim. Poucos são os dados sobre a investigação da utilização do controle biológico em associação com o químico e quais seriam diretamente os impactos causados no carrapato *R. microplus*. Esta falta de dados

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



sobre a combinação de fungos com o amitraz, nos instiga a pesquisa, além dos dados de como seria o desenvolvimento do fungo sobre a cutícula de *R. microplus*.”

IV - Sumário do projeto:

☐ Discussão sobre a possibilidade de métodos alternativos e necessidade do número de animais:

“ a coleta de *R. microplus* de bovinos infestados naturalmente não é desejada, visto que grande parte dos pecuaristas utilizam acaricidas químicos para controle de carrapatos.

..O ideal é manter uma colônia para realização de testes com carrapatos, permitindo que os experimentos sejam realizados sempre com indivíduos da mesma população, preferencialmente, utilizando uma cepa de referência para testes carrapaticidas (Cepa sensível aos carrapaticidas) seguindo (recomendação da FAO e do MAPA, para realização de testes com agentes para controle de carrapatos). Para manutenção de colônia de carrapatos, também não existem ainda metodologias satisfatórias com alimentação artificial. Assim, é necessário a utilização de bovinos para manutenção de uma colônia, por meio de infestações artificiais. Em relação ao estudo de campo, não existem métodos alternativos. Estudos para validar métodos de controle de carrapatos em bovinos, e registro de novos antiparasitários, com a utilização de carrapaticidas, devem seguir Portaria nº 48 de 12 de maio de 1997 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Nessa Portaria, é estabelecido o número mínimo de 10 bovinos por grupo experimental. Destacamos que além das normas da Portaria 48 do MAPA, o delineamento experimental irá seguir as recomendações do Guia de Boas Práticas Clínicas Veterinárias da VICH (International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medical Products) e a Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, (Lei Arouca), que prevê o manejo humanitário dos animais. Ainda destacamos que o delineamento experimental não irá alterar as práticas comuns de manejo dos bovinos, já realizados na Fazenda parceira. Os animais serão mantidos nos mesmos pastos onde já se encontram, recebendo a mesma disponibilidade de alimento (pasto e ração) e água, e sendo tratados com carrapaticidas, quando necessário, visando manter o bem estar e produtividade.”

☐ Prevê Projeto Piloto: Não

☐ Descrição do animal utilizado (Explicitar: espécie/ linhagem/ sexo (informar número por sexo)/ peso e/ou idade etc): Bovino Cruzada, 18-36 meses (M+F), 200-500 kg

☐ Espécie animal utilizada/ número total de animais/ Número de animais por tratamento ou grupo experimental: Bovino Cruzada, 18-36 meses, 63 animais, 3 machos e 60 fêmeas, 200-500 kg

☐ Fonte de obtenção do animal: Bovinos utilizados no estudo de campo Fazenda São Bento, Rodovia GO 162, Zona rural, Região de Piçara, Município de Palmeiras de Goiás

☐ Descrição das instalações utilizadas e número de animais/área/qualidade do ambiente (ar, temperatura, umidade), alimentação/hidratação:

“Bovinos utilizados para manutenção da colônia de carrapatos: Os animais serão alimentados com feno ou silagem (volumoso) e ração própria para bovinos ad libitum. A água será tratada pela rede estadual e fornecida ad libitum.

Bovinos utilizados no estudo de campo: Durante todo o período experimental, os seis grupos de bovinos, com dez animais cada, serão mantidos em piquetes separados, em regime de pastagem formada por

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2, 1º andar, Prédio da Agência de Inovação, Parque Tecnológico, sala da CEUA, Campus Samambaia – Goiânia-GO, Fone: (55-62) 3521-1876.

Email: ceua.ufg@gmail.com

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



Brachiaria decumbens e com água e sal mineral fornecidos ad libitum, na Fazenda particular parceira (Fazenda São Bento).”

Nos dois locais a fonte de iluminação será natural durante todo o ano, com orientação Leste-Oeste, a variação de temperatura estará sujeita a sazonalidade climática anual com temperaturas médias mínimas de 19,5°C e média da máxima de 29,8°C e a umidade relativa estará sujeita a sazonalidade climática anual com variação média de mínima entre 40% máxima entre 80%.

Bovinos utilizados para manutenção da colônia de carrapatos: Galpão de experimentação de grandes animais: Baía individual com 10 m². Um animal por baía ou três animais juntos, no piquete Piquete: 0,5 ha.

Bovinos utilizados no estudo de campo 6 piquetes de 11,3 hectares, 10 animais por piquete (1 grupo experimental por piquete).

Utilização de agente infeccioso/gravidade da infecção a ser observada e análise dos riscos aos pesquisadores/alunos: Serão selecionados animais com no mínimo 20 partenóginas de *R. microplus* no lado esquerdo do corpo.

□ **Procedimentos experimentais do projeto de pesquisa:** “serão selecionados animais com no mínimo 20 partenóginas de *R. microplus* no lado esquerdo do corpo. A identificação dos bovinos será feita por meio de brincos numerados fixados na orelha esquerda. Durante todo o período experimental, os 60 bovinos, divididos em seis grupos, cada um com 10 animais, serão mantidos em piquetes separados. Água e sal mineral serão fornecidos ad libitum. Sendo cada tratamento: 1. Controle água destilada com tween 80 (0,1%); 2. Controle amitraz + água destilada com tween 80 (0,1%); 3. Tratado com *M. anisopliae* BRM2335 (concentração definida no tópico 2.3) + água destilada com tween 80 (0,1%); 4. Tratado com *Cordyceps javanica* BRM27666 (concentração definida no tópico 2.3) + água destilada com tween 80 (0,1%); 5. Tratado com *M. anisopliae* BRM2335 (concentração definida no tópico 2.3) + água destilada com tween 80 (0,1%) + amitraz (250 ppm); 6. Tratado com *Cordyceps javanica* BRM27666 (concentração definida no tópico. No dia -3, todos os bovinos serão submetidos a exames físicos e clínicos, e caso seja observado algum parâmetro fora da normalidade, o animal será medicado e retirado da pesquisa. Após essa avaliação inicial, serão realizadas contagens de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* (4,5 a 8,0 mm) no lado esquerdo dos bovinos nos dias -3, -2, -1, e a partir dessas contagens, os animais serão divididos nos grupos experimentais. A constituição dos seis grupos experimentais será do tipo blocos casualizados e obedecerá ao seguinte critério: após os animais serem listados em ordem decrescente pelo número médio (três contagens) de carrapatos: os seis animais com as contagens mais elevadas serão destinados à repetição número 1 de cada grupo; os seis seguintes à repetição número 2 e, assim, sucessivamente até a formação das 10 repetições/grupo. No dia 0, será realizado o tratamento dos animais com a aspersão de 5 litros de calda por animal. O cálculo de eficácia das formulações será realizado por meio da fórmula preconizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Portaria n°48, 12/05/1997. Após o tratamento, serão realizadas contagens do número de carrapatos nos dias +3, +7, +14, +21, +28 e +35.”

□ **Grau de invasividade:** 1

□ **Material foi obtido ou será utilizado em outros projetos (informar protocolo CEUA quando houver):** Não

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2, 1º andar, Prédio da Agência de Inovação, Parque Tecnológico, sala da CEUA, Campus Samambaia – Goiânia-GO, Fone: (55-62) 3521-1876.

Email: ceua.ufg@gmail.com

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



Métodos utilizados para minimizar o sofrimento e aumentar o bem-estar dos animais antes, durante e após a pesquisa (Pontos Finais Humanitários): “fármacos a serem utilizados são de uso comum no mercado veterinário, registrados pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), sem efeitos danosos aos animais. Os fungos entomopatogênicos não são prejudiciais aos bovinos, apresentando efeito patogênicos apenas para os artrópodes. Esses fungos já são registrados e comercializados para utilização em culturas agrícolas orgânicas devido a sua reconhecida segurança para saúde humana e animal. A probabilidade de algo danoso ocorrer é mínima, porém no caso de algo inesperado acontecer, um veterinário estará acompanhando o processo e deliberará a respeito.”

- Método de eutanásia:** não se aplica
 Destino do animal: continuarão na fazenda

V – Comentários do relator frente às orientações da CEUA:

Quanto aos documentos exigidos pela CEUA/UFG: foram devidamente entregues: termo de responsabilidade, certidão de ata do CD, projeto de pesquisa e ficha de protocolo CEUA.

Quanto aos cuidados e manejo dos animais e riscos aos pesquisadores: “Os riscos de acidentes com os animais serão mínimos, vista que os executores do projeto possuem habilidades e práticas no manejo dos mesmos e o tempo de execução é muito curto. Além disso, serão realizados esforços para seleção de animais que apresentem comportamentos dóceis. Todos os animais são de prática leiteira e costume de contenção para coleta de leite, acostumados ao manejo próximo. A aplicação do acaricida será feita por pessoas treinadas e com uso de EPIs, utilizando a concentração/dose recomendada na bula, evitando assim, intoxicação dos animais e pesquisadores.”

VI - Parecer da CEUA:

De acordo com a documentação apresentada à CEUA, o projeto foi considerado **APROVADO** pela *Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA* da Universidade Federal de Goiás.

Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar à CEUA-PRPI-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Lei nº. 11.794 de 08/10/2008, e Resolução Normativa nº. 01, de 09/07/2010 do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para conclusão em **30/07/2026**.

VII - Data da reunião: 13/09/2021.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2, 1º andar, Prédio da Agência de Inovação, Parque Tecnológico, sala da CEUA, Campus Samambaia – Goiânia-GO, Fone: (55-62) 3521-1876.

Email: ceua.ufg@gmail.com

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



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Associação de Metarhizium anisopliae sensu lato brm2335 ou Cordyceps javanica brm27666 com amitraz como forma de controle de Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae)**”, registrada com o protocolo n° 067/21, sob a responsabilidade de Caio Márcio de Oliveira Monteiro que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade Federal de Goiás (UFG), em reunião de 13/09/2021.

- Finalidade: () Ensino (x) Pesquisa Científica
- Vigência da autorização (início e fim): setembro/2021 a julho/2026
- Espécie/linhagem/raça: Bovinos cruzamento
- N° de animais autorizados: 63, 3 machos e 60 fêmeas.
- Peso/Idade: Bovino Cruzada 18-36 meses, 200-500 kg
- Sexo: machos e fêmeas
- Instalação onde serão mantidos os animais: Bovinos utilizados para manutenção da colônia de carrapatos - Escola de Veterinária e Zootecnia UFG
Bovinos utilizados no estudo de campo Fazenda São Bento, Rodovia GO 162, Zona rural, Região de Piçara, Município de Palmeiras de Goiás
- Origem (fornecedor): Fazenda São Bento, Rodovia GO 162, Zona rural, Região de Piçara, Município de Palmeiras de Goiás

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA

Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação/PRPI-UFG, Alameda Flamboyant, Qd. K, Edifício K2, 1° andar, Prédio da Agência de Inovação, Parque Tecnológico, sala da CEUA, Campus Samambaia – Goiânia-GO, Fone: (55-62) 3521-1876.

Email: ceua.ufg@gmail.com