

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 10/04/2025.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ACARICIDA DOS ÉSTERES DO ÁCIDO
RICINOLÉICO DO ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis*) CONTRA
Rhipicephalus linnaei E DO IMPACTO MORFOHISTOLÓGICO SOBRE
ÓRGÃOS DO HOSPEDEIRO A ELES EXPOSTOS

BRUNA JÉSSYCA NASCIMENTO HORN

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA CELULAR, MOLECULAR E MICROBIOLOGIA)

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ACARICIDA DOS ÉSTERES DO ÁCIDO
RICINOLÉICO DO ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis*) CONTRA
Rhipicephalus linnaei E DO IMPACTO MORFOHISTOLÓGICO SOBRE
ÓRGÃOS DO HOSPEDEIRO A ELES EXPOSTOS**

BRUNA JÉSSYCA NASCIMENTO HORN

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia).

Orientador: Dra. Maria Izabel Souza Camargo

H813a

Horn, Bruna Jéssyca Nascimento

Avaliação do potencial acaricida dos ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) contra *Rhipicephalus linnaei* e do impacto morfohistológico sobre órgãos do hospedeiro a eles expostos / Bruna Jéssyca Nascimento Horn. -- Rio Claro, 2024
89 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Maria Izabel Souza Camargo

1. carrapato-do-cão. 2. bioativos. 3. toxicidade. 4. morfohistologia.
5. glicogênio. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).


Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO


TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ACARICIDA DOS ÉSTERES DO ÁCIDO RICINOLÉICO DO ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis*) CONTRA CARRAPATOS *Rhipicephalus linnaei* DO IMPACTO MORFOHISTOLÓGICO SOBRE ÓRGÃOS DO HOSPEDEIRO A ELES EXPOSTOS

AUTORA: BRUNA JÉSSYCA NASCIMENTO HORN
ORIENTADORA: MARIA IZABEL SOUZA CAMARGO


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Biológicas (Biologia Celular, Molecular e Microbiologia), área: Estrutura, Função e Produção de Biomoléculas pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **MARIA IZABEL SOUZA CAMARGO**
Data: 13/04/2024 18:13:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. MARIA IZABEL SOUZA CAMARGO (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Geral e Aplicada / Unesp - IB Rio Claro

Documento assinado digitalmente
 **RENATA DA SILVA MATOS**
Data: 14/04/2024 11:55:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. RENATA DA SILVA MATOS (Participação Presencial)
Embrapa Pecuária Sudeste

Documento assinado digitalmente
 **JOSE RIBAMAR LIMA DE SOUZA**
Data: 13/04/2024 10:49:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. JOSÉ RIBAMAR LIMA DE SOUZA (Participação Virtual)
Centro de Ciências Biológicas e das Naturezas / Universidade Federal do Acre

Rio Claro, 10 de abril de 2024

Título alterado para: "AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ACARICIDA DOS ÉSTERES DO ÁCIDO RICINOLÉICO DO ÓLEO DE MAMONA (*Ricinus communis*) CONTRA *Rhipicephalus linnaei* E DO IMPACTO MORFOHISTOLÓGICO SOBRE ÓRGÃOS DO HOSPEDEIRO A ELES EXPOSTOS"

**Dedico esse trabalho à minha avó,
Maria Barbary.**

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à minha família, minha mãe, meu irmão e, principalmente à minha avó, que partiu deste plano, mas que dedicou sua vida a guiar meus passos e me criou com valores preciosos, entre os quais se destacam força e determinação.

Ao meu esposo Lucas, por compartilhar comigo cada momento, me dando todo o apoio, acolhimento e amor nesta etapa.

A minha eterna professora, Prof^a. Dra. Rusleyd Maria Magalhães de Abreu, que guiou meus primeiros passos na academia e me apoiou de maneiras infinitas. Professora, nunca haverá palavras suficientes para agradecer tudo o que fizeste por mim.

Ao meu grupo de pesquisa BCSTM (Brazilian Central of Studies on Ticks Morphology) onde cada dia partilhado foi uma fonte de aprendizado, crescimento pessoal e profissional, e momentos inesquecíveis de uma grande amizade. Marina, Milena, Gerson, Alemán, Davy, Duda, e principalmente a minha amiga Odaiza, que acompanhou cada momento dessa jornada e sempre me apoiou. Desejo todo o sucesso do mundo para cada um de vocês!

Agradeço à minha orientadora, Prof. Dra. Maria Izabel Souza Camargo, pela oportunidade e paciência, e por me inspirar com todo o seu comprometimento e dedicação com a pesquisa. Tenho orgulho de ser sua orientanda. Você é incrível, professora!

Agradeço aos meus amigos e também pesquisadores que, desde a graduação, sempre me apoiaram e vibraram com as minhas conquistas. Felipe, Lucas, Izadora, Taynara e Marcos, que sorte eu tenho de ter vocês na minha vida!

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Agradeço também a todos que, mesmo não mencionados, contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho. Muito obrigada!

Resumo

A espécie de carrapato *Rhipicephalus linnaei* (anteriormente denominada *R. sanguineus* l.s.), também conhecida como "carrapato do cão", é relevante na medicina veterinária devido à sua capacidade de transmitir doenças aos seus hospedeiros. Atualmente, o controle desse ectoparasita é realizado por meio da aplicação de acaricidas químicos sintéticos, prática essa que, apesar de eficiente, traz prejuízos, como a resistência dos carrapatos que deixam de responder com eficiência às bases químicas, bem como traz riscos aos organismos não alvos, incluindo-se o homem e outros animais. Nesse cenário, a necessidade de se encontrar novas estratégias de controle é urgente e, nessa direção, o uso de acaricidas químicos que tenham bases naturais (bioativos), como os ésteres derivados do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*), têm se mostrado ser uma perspectiva eficiente no controle desses ectoparasitas. Resultados até agora encontrados já mostraram que os mesmos causam alterações significativas em fêmeas de carrapatos *Rhipicephalus linnaei* a eles expostas, incluindo mudanças na morfofisiologia dos órgãos, o que traz como consequência impactos na reprodução e alimentação desses ectoparasitas. Apesar da eficiência dessas bases químicas sintéticas ou naturais, no controle dos ectoparasitas, há ainda uma lacuna a ser preenchida no tocante ao modo de ação das mesmas quando o foco é o hospedeiro. Assim, no presente estudo buscou-se: a) avaliar o potencial acaricida destes ésteres contra carrapatos *R. linnaei*, através de bioensaios em laboratório, infestando coelhas hospedeiras que foram alimentadas com ração Bandeirante® enriquecida com ésteres por 60 dias; b) detectar a ocorrência de alterações nas enzimas hepáticas TGO, TGP E FAL, bem como alterações morfohistológicas e histoquímicas no fígado e no baço de coelhas que receberam duas doses de Nexgard® e de coelhas que se alimentaram de ração Bandeirante® enriquecida com ésteres por 60 dias; c) comparar morfohistológica e histoquimicamente o tecido hepático de coelhas hospedeiras que foram alimentadas com ração Bandeirante® enriquecida com ésteres, e que foram tanto infestadas quanto não infestadas por carrapatos. Quanto a eficácia no controle dos ectoparasitas por meio da exposição aos ésteres, os resultados revelaram que, no nono dia após a infestação nos hospedeiros e período esse em que os mesmos se alimentarem da ração Bandeirante® enriquecida com ésteres, a mortalidade média dos carrapatos atingiu 84%. Clinicamente, verificou-se que nas coelhas hospedeiras os ésteres derivados do óleo de mamona não provocaram alterações nos parâmetros enzimáticos hepáticos, ao contrário do observado quando coelhas hospedeiras foram expostas (via oral) ao medicamento Nexgard® (afoxolaner), além de terem sido observadas alterações morfohistológicas no fígado das

mesmas, tais como esteatose e vacuolização citoplasmática e tecidual. Nas coelhas expostas aos ésteres apenas, não houve alterações hepáticas, enquanto que naquelas expostas aos ésteres e simultaneamente infestadas com carrapatos, estas foram observadas e incluíram: esteatose, hipertrofia e atrofia dos hepatócitos, presença de núcleos picnóticos e desorganização tecidual. Assim, de acordo com os resultados obtidos, ficou claro que os ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) são eficientes no controle de carrapatos e não provocam toxicidade nos hospedeiros a eles submetidos.

Palavras-chaves: carrapato-do-cão, bioativos, toxicidade, morfohistologia, glicogênio, proteínas.

Abstract

The ticks' species *Rhipicephalus linnaei* (previously known as *R. sanguineus* l.s.), also known as "brown-dog tick", is relevant to veterinary medicine due to its role in transmitting diseases to hosts. Currently, these ectoparasites' control is accomplished by applying synthetic chemical acaricides, which – even though very efficient – brings prejudicial side effects, such as ticks' resistance, by no longer responding to these chemicals bases, as well as risks to non-target organisms, including humans and others animals. In this scenario, the search for new control strategies is urgent and, in this direction the use of chemical acaricides containing natural bases (bioactives), like esters derived from castor oil ricinoleic acid (*Ricinus communis*), have been shown as an efficient alternative on the control of these ectoparasites. Results found so far have demonstrated that theses bioactives cause significant alterations on ticks' females *Rhipicephalus linnaei* exposed to them, including changes to the organs' morphophysiology, which brings as consequences impacts to the reproduction and feeding of these ectoparasites. Despite the efficiency of the synthetic or natural chemical bases on the control of ectoparasites, there is a gap to be filled on the action method of these bases when the focus is the host. Therefore, in the present study we sought to: a) evaluate the acaricidal potential of these esters against *R. linnaei* ticks, through laboratory bioassays, infesting host rabbits that were fed with Bandeirante® food enriched with esters for 60 days; b) detect the occurrence of changes in the liver enzymes TGO, TGP and FAL, as well as morphohistological and histochemical changes in the liver and spleen of rabbits that received two doses of Nexgard® and of rabbits that fed on Bandeirante® feed enriched with esters for 60 days; c) compare morphohistologically and histochemically the liver tissue of host rabbits that were fed with Bandeirante® food enriched with esters, and that were both infested and not infested by ticks. Regarding the effectiveness in controlling ectoparasites through exposure to esters, the results revealed that, at the ninth day after host infestation – during which they fed on esters enriched rabbit Bandeirante® feed – the average tick mortality reached 84%. Clinically it was verified that on the host rabbits the esters derived from castor oil didn't provoke alterations on the hepatic enzyme parameters, on the contrary of what was observed when the hist rabbits were exposed (orally) to the Nexgard® (afoxolaner) medicine, widely marketed to control ticks, in addition to having observed morphohistological changes in the liver of the hosts, especially steatosis and cytoplasmic and tissue vacuolation. On the hosts exposed to esters only, there weren't morphohistological alterations, while in those exposed to esters and simultaneously infested with ticks, there were liver changes that included the presence of steatosis, hypertrophy and atrophy of hepatocytes, pyknosis and total

tissue disorganization. Thus, according to the results obtained, it was clear that ricinoleic acid esters from castor oil (*Ricinus communis*) do not cause toxicity in the hosts subjected to them, thus representing a perspective for the control of dog ticks.

Keywords: brown-dog ticks, bioactives, toxicity, morphohistology, glycogen, proteins.

Sumário

1. Introdução	9
2. Objetivos	13
3. Material e Métodos	14
3.1. Equipamentos e locais de realização dos estudos	14
3.2. Ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (<i>Ricinus communis</i>)	14
3.3. Obtenção da ração enriquecida	14
3.4. Obtenção dos carrapatos	14
3.5. Coelhas Hospedeiras	15
3.6. Exposição dos carrapatos <i>Rhipicephalus linnaei</i> aos ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (<i>Ricinus communis</i>) para verificar seu efeito acaricida	15
3.7. Análise estatística	15
3.8. Coelhas alimentadas com ração enriquecida com ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (<i>Ricinus communis</i>) e tratadas com Nexgard® para avaliação de análises clínicas, histológicas e histoquímicas do fígado e do baço	16
3.9. Obtenção das amostras de sangue	16
3.10. Análises clínicas	17
3.11. Análises Morfológicas	17
3.11.1. Obtenção das amostras de fígado e baço das coelhas	17
3.12. Histologia	17
3.13. Histoquímica	18
3.14. Avaliação dos tecidos hepáticos de coelhas alimentadas com ração enriquecida com ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (<i>Ricinus communis</i>) e infestadas	

por carrapatos <i>Rhipicephalus linnaei</i> (Capítulo 3 da Seção Resultados) para análise do tecido hepático.....	19
3.15. Fotodocumentação	19
3.16. Confeção dos esquemas	20
4. Resultados	21
CAPÍTULO 1	22
CAPÍTULO 2	29
CAPÍTULO 3	44
5. Discussão Geral.....	78
6. Conclusões	82
7. Referências	84

1. INTRODUÇÃO

Carrapatos são artrópodes pertencentes à Ordem Ixodida, contando com aproximadamente 956 espécies distribuídas em quatro famílias (DANTAS-TORRES et al., 2019). São ectoparasitas, hematófagos obrigatórios, alimentando-se do sangue de uma variedade de hospedeiros vertebrados, que abrange desde animais domésticos até animais selvagens e os próprios seres humanos, estes últimos de forma acidental (OLIVEIRA et al., 2021). A espécie *Rhipicephalus linnaei*, anteriormente denominada de linhagem tropical de *R. sanguineus* (ŠLAPETA et al., 2022; ALMAZÁN et al., 2023), é popularmente conhecida como carrapato-marrom-do-cão, desempenhando um papel crucial como vetor de patógenos que afetam negativamente os cães, seus hospedeiros preferenciais. Entre esses agentes patogênicos, incluem-se bactérias como a *Erlichia canis*, responsável pela transmissão da erliquiose monocítica canina (EMC), e protozoários como *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis* (HUGGINS et al., 2022; CHABER et al., 2022, SODELLI et al., 2023), os quais também são causadores de doenças graves. Essas enfermidades afetam um número significativo de cães em áreas onde o ectoparasita é amplamente distribuído (FONSÊCA et al., 2022; NEAVE et al., 2022).

Controlar as infestações por carrapatos tem representado, atualmente, um desafio que vem sendo enfrentado por meio da utilização de agentes químicos sintéticos, que prevalecem no mercado veterinário. Entre os acaricidas disponíveis, podem ser citados o afoxolaner (Nexgard®), um medicamento mastigável eficaz contra carrapatos, pulgas e ácaros. Sua ação nos receptores de ácido γ -aminobutírico (GABA) e nos receptores de glutamato resulta na morte do artrópode após 48 horas (CUTOLO et al., 2021). Sua eficácia contra *R. linnaei* foi comprovada, agindo rapidamente e permanecendo ativo como acaricida por cerca de um mês, sendo recomendada sua reaplicação nos cães a cada 30 dias. Porém, mesmo sendo eficazes para o controle de carrapatos, a maioria dos estudos sobre produtos acaricidas se concentra na compreensão de seu funcionamento no organismo do ectoparasita, deixando em segundo plano a compreensão de como esses produtos químicos afetam os sistemas dos hospedeiros e de outros organismos não alvos (BURGIO; MEYER; ARMSTRONG, 2016; BEUGNET; LIEBENBERG; HALOS, 2015; TINKRUEJEEN et al., 2019).

Vale ressaltar que na literatura já existem registros de que a utilização desses produtos químicos sintéticos pode causar prejuízos consideráveis aos organismos de forma geral, bem como ao meio ambiente, o que leva a se buscar alternativas mais seguras para o combate aos

ectoparasitas (ARNOSTI et al., 2011a, 2011b; BIEGELMEYER et al., 2012; CAMARGO et al., 2014). As infestações por carrapatos em animais que são considerados de importância econômica (bois, cavalos, cães, estes últimos por serem eleitos como “pets”) podem resultar em danos teciduais e patológicos nos hospedeiros devido à espoliação do sangue e dos próprios tecidos no processo de alimentação dos mesmos, causando perdas de sangue que levam o animal a se tornar anêmico e inclusive afetando, no caso dos bovinos, por exemplo, a qualidade de produtos derivados, como a carne, o leite e o próprio couro (SILVA, 2023). Para além destes danos, existe uma preocupação em orientar os usuários desses produtos químicos sintéticos quanto a correta aplicação dos mesmos, segundo as indicações dos fabricantes e dos órgãos regulatórios, além de utilizar os equipamentos adequados para a aplicação, práticas consideradas fundamentais para se evitar a seleção de cepas de carrapatos resistentes aos ingredientes ativos dos acaricidas convencionais BURROW et al., 2019; NASIRIAN, 2022; EIDEN et al., 2017; CAMARGO-MATHIAS, 2018).

Na busca por se encontrar alternativas de controle de carrapatos que não tragam tantos prejuízos aos organismos não alvos e nem ao próprio meio ambiente, é que pesquisas recentes vêm apresentando resultados que mostram que o emprego de bioativos provenientes de várias partes de plantas/animais reconhecidos pelo uso popular na medicina tradicional em diversas regiões do Brasil e do mundo pode ser uma alternativa viável. Exemplos desses resultados incluem os estudos com os bioativos extraídos de plantas como da *Azadirachta indica* (neem) (DENARDI et al., 2010, 2011, 2012; REMEDIO et al., 2014, 2015, 2016), carvacrol (LIMA DE SOUZA et al., 2019, 2022), timol (MATOS et al., 2019, 2020) e óleo de andiroba (ROMA et al., 2013a, 2013b, 2015), em trabalho que foi compilado por Camargo-Mathias et al. em 2018.

Sob essa perspectiva, o estudo com os ésteres derivados do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) tem despertado interesse. Estudos anteriores desenvolvidos tanto em campo (informação pessoal) quanto em laboratório já revelaram resultados promissores, indicando uma significativa alteração na morfologia dos órgãos de carrapatos *R. linnaei*, após a exposição a esses ésteres. Essas alterações ao atingirem sistemas imprescindíveis ao sucesso desses ectoparasitas (reprodutor, digestório, nervoso) afetaram a fisiologia de processos que resultaram na redução na taxa de ovos viáveis, por exemplo, inviabilizando a produção de novos indivíduos (ARNOSTI et al., 2011a, 2011b; SAMPIERI et al., 2012, 2013a, 2013b, 2015, CAMARGO-MATHIAS, 2018), degenerando precocemente

as glândulas salivares, inviabilizando o sucesso no processo de alimentação, além de trazerem outros prejuízos aos ectoparasitas (ARNOSTI et al., 2011a, 2011b; SAMPIERI et al., 2015), resultados esses que sinalizaram que os ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) representariam um potencial como produto para o controle de carrapatos.

Os coelhos têm sido amplamente utilizados em estudo biomédicos e por serem modelos biológicos viáveis também como modelos hospedeiros nos estudos com carrapatos (HOUEBINE, FAN, 2009; FAN et al., 2017; SEBASTIAN et al., 2023).

Nos estudos que abordam o controle de carrapatos, muito se tem focado no que os agentes químicos (sintéticos ou naturais) vem provocando nos ectoparasitas, mas pouco se tem de informação do que os mesmos causam nos organismos não alvos, incluindo-se aqui os hospedeiros. De maneira geral, em estudos toxicológicos, o fígado e o baço tem sido utilizado na avaliação dos efeitos adversos de substâncias.

O fígado é o segundo maior órgão do corpo humano, sendo responsável pelo metabolismo e homeostase do organismo, desempenhando diversas funções essenciais, entre elas, a desintoxicação. A avaliação de alterações histológicas hepáticas é capaz de fornecer informações valiosas sobre a toxicidade de determinadas substâncias e seus impactos no organismo. Além disso, o fígado é um dos principais órgãos de metabolização de xenobióticos (substâncias estranhas ao organismo) sendo considerado um biomarcador na compreensão dos efeitos tóxicos de compostos quando circulantes no organismo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; TREFTS; GANNON; WASSERMAN, 2017; SODELLI et al., 2023).

O baço, órgão linfóide (LEWIS; WILLIAMS; EISENBARTH, 2019) atua como um importante centro de atividade imunológica, onde as células imunes interagem com antígenos provenientes da circulação sanguínea e auxiliam na coordenação da resposta imune do organismo (ALBERTI; VASCONCELLOS; PETROIANU, 2021).

Assim, com base nas informações aqui postas sobre os efeitos dos ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*), o presente estudo teve como objetivo confirmar o efeito acaricida destes ésteres em laboratório, bem como avaliar morfohistologicamente (fígado e baço) e clinicamente (sangue) quando esses bioativos são fornecidos associados a ração comercial da marca Bandeirante®, para coelhas simulando modelos hospedeiros de carrapatos *R. linnaei*. Paralelamente, fez-se um estudo comparativo que avaliou os resultados obtidos entre a ação dos bioativos dos ésteres do ácido ricinoléico

do óleo de mamona (*Ricinus communis*) (químico natural) e do medicamento Nexgard® (químico sintético), com foco no controle desses ectoparasitas em bioensaios com e sem infestação de carrapatos nas coelhas hospedeiras.

6. CONCLUSÕES

Assim, diante dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- Os ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) atuaram como eficiente acaricida provocando a morte de 84% de carrapatos em bioensaio realizado em laboratório.
- Comparativamente, o acaricida sintético Nexgard® elevou os níveis séricos da enzima TGO no fígado das coelhas do GT1, ao contrário do observado no grupo exposto aos ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*), comprovando a não toxicidade desses bioativos aos organismos hospedeiros (não alvos).
- A análise histológica do fígado das coelhas expostas aos ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) mostrou preservação da organização tecidual hepática, bem como da morfologia celular e nuclear dos hepatócitos ao contrário do observado quando a exposição foi ao medicamento Nexgard® que foi hepatotóxico.
- O baço em ambas as exposições ao Nexgard® e a ração enriquecida com ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) não sofreu alterações morfofisiológicas, permanecendo tanto no tecido quanto as células preservadas.
- A exposição das coelhas hospedeiras apenas à ração enriquecida com os ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) não causou hepatotoxicidade nas mesmas.
- A exposição das coelhas hospedeiras à ração enriquecida com os ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) com concomitante infestação por carrapatos *Rhipicephalus linnaei*, provocou alterações na organização do tecido hepático, bem como na estrutura celular dos hepatócitos, fato decorrente não da resposta aos bioativos presentes nos ésteres, mas sim em resposta a infestação dos carrapatos.

- Os ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) nos experimentos conduzidos em laboratório não foram hepatóxicos para as coelhas a eles expostas.
- A exposição aos ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) e infestação por carrapatos influenciou a síntese de proteínas no tecido hepático, sugerindo que o fígado iniciou uma resposta inflamatória devido à esteatose.
- A dieta enriquecida com ésteres do ácido ricinoléico do óleo de mamona (*Ricinus communis*) é uma alternativa viável para beneficiar hospedeiros infestados por carrapatos, pois mostraram potencial acaricida sem causar toxicidade ao tecido hepático.

7. REFERÊNCIAS

- ABREU, M. R. et al. Exposure of Ticks *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) to ozonated water: integument response. **Ozone Sci Eng**, v. 42, n. 6, p. 507-516, 2020.
- ALBERTI, L. R.; VASCONCELLOS, L. S.; PETROIANU, A. Cyclosporine reduces the spleen dimensions in rabbits. **Acta cirurgica brasileira**, v. 36, n. 4, e360402, 2021.
- ALMAZÁN, C. et al. Morphological and molecular identification of the brown dog tick in Mexico. **Vet Parasitol Reg Stud Relatórios**, v. 44, 100908, 2023.
- ARNOSTI, A. et al. Effects of *Ricinus communis* oil esters on salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 2, p. 569-574, 2011a.
- ARNOSTI, A. et al. Effects of ricinoleic acid esters from castor oil of *Ricinus communis* on the vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 2, p. 575-580, 2011b.
- BEUGNET, F.; LIEBENBERG, J.; HALOS, L. Comparative efficacy of two oral treatments for dogs containing either afoxolaner or fluralaner against *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and *Dermacentor reticulatus*. **Veterinary Parasitology**, v. 209, n. 1-2, p. 142-145, 2015.
- BIEGELMEYER, P. et al. Aspectos da resistência de bovinos ao carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **Arch Zootec**, v. 61, n. 237, p. 1-11, 2012.
- BURGIO, F.; MEYER, L.; ARMSTRONG, R. A comparative laboratory trial evaluating the immediate efficacy of fluralaner, afoxolaner, sarolaner and imidacloprid + permethrin against adult *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato) ticks attached to dogs. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 626, 2016.
- BURROW, H. M. et al. Towards a new phenotype for tick resistance in beef and dairy cattle: a review. **Animal Production Science**, v. 59, n. 8, p. 1401–1427, 2019.
- CAMARGO, M. G. et al. Commercial formulation of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* in a pen study. **Veterinary Parasitology**, v. 205, n. 1–2, p. 271–276, 2014.
- CAMARGO-MATHIAS, M. I. et al. Esters from castor oil: interfering with the salivary gland secretory cycle of *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae). **Emergent Life Science Research**, v. 2, p. 66–72, 2016.
- CAMARGO-MATHIAS, M. I. **Inside ticks: Morphophysiology, toxicology and therapeutic perspectives**. 1. ed. São Paulo: Editora Unesp, 2018.
- CHABER, A. L. et al. *Ehrlichia canis* rapid spread and possible enzooty in northern South Australia and distribution of its vector *Rhipicephalus linnaei*. **Aust Vet J**, v. 100, n. 11, p. 533-538, 2022.

- CUTOLO, A. A. et al. Efficacy of afoxolaner (NexGard®) on the treatment of myiasis caused by the New World screwworm fly *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) in naturally infested dogs. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 24, 100569, 2021.
- CUNHA, E. L. R. et al. Histopathological changes in the liver and thyroid of mice (*Mus musculus*) caused by the acaricides: fipronil and thymol. **Journal of Histology and Histopathology**, v. 4, n. 9, 2017.
- DANTAS-TORRES, F. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: the butterfly effect. **Int J Parasitol Parasites Wildl**, v. 4, n. 3, p. 452-461, 2015.
- DANTAS-TORRES F. et al. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. **Ticks Tick Borne Dis**, v. 10, n. 6, 101252, 2019.
- DENARDI, S. E. et al. *Azadirachta indica* A. Juss (neem) induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. **Experimental Parasitology**, v. 126, n. 4, p. 462–470, 2010.
- DENARDI, S. E. et al. Inhibitory action of neem aqueous extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on the vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks. **Microscopy Research and Technique**, v. 74, n. 10, p. 889, 99, 2011.
- DENARDI, S. et al. Ultrastructural Analysis of the Oocytes of Female (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) Ticks Subjected to the Action of A. Juss (Neem). **Ultrastructural Pathology**, v. 36, n. 1, p. 56-67, 2012.
- EIDEN, A. L. et al. Determination of metabolic resistance mechanisms in pyrethroid-resistant and fipronil-tolerant brown dog ticks. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 31, n. 3, p. 243–251, 2017.
- FAN, J. et al. Principles and Applications of Rabbit Models for Atherosclerosis Research. **Journal of atherosclerosis and thrombosis**, 25, n. 3, p. 213-220, 2018.
- FONSÊCA, A. D. V. et al. Occurrence of tick-borne pathogens in dogs in a coastal region of the state of Ceará, northeastern Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**, v. 31, n. 1, e021321, 2022.
- GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 3rd ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; 2017.
- HABEEB, S. M. et al. Histopathological, Biochemical and Hematological Values in Rabbits Infested by the Camel Tick *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae). **Middle-East J. Sci. Res**, v. 22, n. 4, p. 537-544, 2014.
- HOUDEBINE, L. M.; FAN, J. **Rabbit Biotechnology**. Dordrecht: Springer, 2009.

HUGGINS, L. G. et al. Field trial investigating the efficacy of a long-acting imidacloprid 10% flumethrin 4.5% polymer matrix collar (Seresto®, Elanco) compared to monthly topical fipronil for the chemoprevention of canine tick-borne pathogens in Cambodia. **Curr Res Parasitol Vector Borne Dis**, v. 2, p. 100095, 2022.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, v. 123, 1983.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. 14. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2023.

KLAFKE, G. et al. Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Ticks Tick Borne Dis.**, v. 8, n. 1, p. 73–80, 2017.

LEWIS, S. M.; WILLIAMS, A.; EISENBARTH, S. C. Structure and function of the immune system in the spleen. **Science immunology**, v. 4, n. 33, eaau6085, 2019.

LIMA DE SOUZA, J. R. et al. Effects of carvacrol on oocyte development in semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato females ticks (Acari: Ixodidae). **Micron**, v. 116, p. 66–72, 2019.

LIMA DE SOUZA, J. R. et al. The bioactive compound carvacrol as a potential acaricide: An assessment of its effects on the integument of female *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato ticks. **Microscopy Research and Technique**, v. 85, n. 5, p. 1784-1790, 2022.

MATOS, R. S. et al. Thymol action on cells and tissues of the synganglia and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato females (Acari: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 2, p. 314-320, 2019.

MATOS, R. S. et al. Thymol: Effects on reproductive biology and Gene's organ morphology in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato engorged females (Acari: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, n. 1, 101308, 2020.

NASIRIAN, H. Detailed new insights about tick infestations in domestic ruminant groups: a global systematic review and meta-analysis. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 46, n. 2, p. 526-601, 2022.

NEAVE M. J. et al. Comparative genomic analysis of the first *Ehrlichia canis* detections in Australia. **Ticks Tick Borne Dis**. v. 13, n. 3, 101909, 2022.

OLIVEIRA P. R. et al. Cytotoxicity of fipronil on mice liver cells. **Microsc Res Tech**, v. 75, n. 1, p. 28-35, 2012.

OLIVEIRA, P. R. et al. Exposure of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) to hexane extract of *Acmella oleracea* (Jambu): semi-engorged and engorged ticks. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 12, n. 4, 101705, 2021.

SEBASTIAN, P. S. et al. Preliminary Study on Artificial versus Animal-Based Feeding Systems for *Amblyomma* Ticks (Acari: Ixodidae). **Microorganisms**, v. 11, n. 5, p. 1107, 2023.

PEARSE, A. G. E., **Histochemistry theoretical and applied**. 3. ed. Livingstone: Churchill, 1985.

PFISTER, K.; ARMSTRONG, R. Systemically and cutaneously distributed ectoparasiticides: a review of the efficacy against ticks and fleas on dogs. **Parasit Vectors**, v. 9, n. 1, p. 436, 2016.

REMEDIO, R. N. et al. Morphological alterations in the synganglion and integument of *Rhipicephalus sanguineus* ticks exposed to aqueous extracts of neem leaves (*Azadirachta indica* A. JUSS). **Microscopy Research and Technique**, v. 77, n. 12, p. 989–998, 2014.

REMEDIO, R. N. et al. Morphological effects of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with known azadirachtin concentrations on the oocytes of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 114, n. 2, p. 431–444, 2015.

REMEDIO, R. N. et al. Morphological alterations in salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae) exposed to neem seed oil with known azadirachtin concentration. **Micron**, v. 83, p. 19–31, 2016.

ROMA, G. C. et al. Cytotoxic Effects of Permethrin on Mouse Liver and Spleen Cells. **Microscopy Research and Technique**, n. 75, n. 2, p. 229-238, 2012.

ROMA, G. C. et al. Action of andiroba oil and permethrin on the central nervous and reproductive systems of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks females. A confocal study. **Res Vet Sci**, v. 95, n. 2, p. 529-536, 2013a.

ROMA, G. C. et al. Morphological and cytochemical changes in synganglion of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) female ticks from exposure of andiroba oil (*Carapa guianensis*). **Microscopy Research and Technique**, v. 76, n. 7, p. 687-696, 2013b.

ROMA, G. C. et al. Effects of andiroba (*Carapa guianensis*) oil in ticks: Ultrastructural analysis of the synganglion of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Acta Tropica**, v. 141, p. 7-15, 2015.

SAMPIERI, B. R. et al. Ultrastructural changes in the ovary cells of engorged *Rhipicephalus sanguineus* female ticks treated with esters of ricinoleic acid from castor oil (*Ricinus communis*). **Microscopy Research and Technique**, v. 75, n. 5, p. 683–690, 2012.

SAMPIERI, B. R. et al. Effect of ricinoleic acid esters from castor oil (*Ricinus communis*) on the oocyte yolk components of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 191, n. 3–4, p. 315–322, 2013a.

SAMPIERI, B. R. et al. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) female ticks exposed to castor oil (*Ricinus communis*): An ultrastructural overview. **Parasitology Research**, v. 112, n. 2, p. 611–619, 2013b.

SAMPIERI, B. R. et al. Ricinoleic acid esters from castor oil modifying male reproductive system of *Amblyomma cajennense* (Fabricius 1787). **Emer Life Sci Res**, v. 1, p. 26–37, 2015.

SHANMUGANATH, C. et al. Development of an efficient antitick natural formulation for the control of acaricide-resistant ticks on livestock. **Ticks And Tick- Borne Diseases**, v. 12, n. 3, p. 101655, 2021.

ŠLAPETA, J. et al. *Rhipicephalus linnaei* (Audouin, 1826) recognised as the “tropical lineage” of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato: Neotype designation, redescription, and establishment of morphological and molecular reference. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 13, n. 6, 102024, 2022.

SILVA, F. A. Avaliação da toxicidade do óleo essencial de *Lippia schaueriana* Mart. (verbenaceae), potencial acaricida: estudo morfohistológico do rim e do fígado de fêmeas de camundongos *Mus musculus* a ele expostas. 2023. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Câmpus de Rio Claro, Rio Claro, 2023.

SODELLI, L. F. et al. Liver and spleen of hosts of *Rhipicephalus linnaei* exposed to synthetic (afoxolaner) and natural acaricides (esters from castor oil). A comparative clinical morphological study. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinária**, v. 32, n. 3, e004023, 2023.

SONENSHINE, D. E.; ROE, M. R. **Biology of Ticks**. 2nd. ed. New York: Oxford University Press, 2014.

TINKRUEJEEN, G. et al. Comparative efficacy of afoxolaner and ivermectin in dogs naturally infested with *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato: a clinical field study conducted in thailand. **Vet Parasitol Reg Stud Reports**, v. 18, 100340, 2019.

TREFTS, E. GANNON, M.; WASSERMAN, D. H. The liver. **Current biology**, v. 27, n. 21, p. R1147-R1151, 2017.

VILELA, V. L. R. et al. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. **Ticks Tick Borne Dis.**, v. 11, n. 4, 101413, 2020.