



JOSÉ HENRIQUE SILVA RODRIGUES

**ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS RINS DE RATOS
WISTAR SUBMETIDOS AO TESTE DE TOXICIDADE
DÉRMICA COM DOSE REPETIDA DE ACETILCARVACROL**

**LAVRAS - MG
2023**

JOSÉ HENRIQUE SILVA RODRIGUES

**ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS RINS DE RATOS
WISTAR SUBMETIDOS AO TESTE DE TOXICIDADE
DÉRMICA COM DOSE REPETIDA DE ACETILCARVACROL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte
das exigências do Curso de Ciências
Biológicas, para a obtenção do título de
Licenciado.

Prof. Dr. Rafael Neodini Remédio

Orientador

**LAVRAS - MG
2023**

JOSÉ HENRIQUE SILVA RODRIGUES

**ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DOS RINS DE RATOS
WISTAR SUBMETIDOS AO TESTE DE TOXICIDADE
DÉRMICA COM DOSE REPETIDA DE ACETILCARVACROL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal de Lavras, como parte
das exigências do Curso de Ciências
Biológicas, para a obtenção do título de
Licenciado.

APROVADO em 14 de julho de 2023

Dr. Rafael Neodini Remédio - DME/UFLA

Dr.(a) Camila Souza de Oliveira Guimarães - DME/UFLA

Dr.(a) Cristina Delarete Drummond - DME/UFLA

Prof. Dr. Rafael Neodini Remédio

Orientador

**LAVRAS - MG
2023**

RESUMO

O uso indiscriminado de acaricidas convencionais vem desenvolvendo ao longo dos anos diversas problemáticas relacionadas ao meio ambiente, à economia, bem como à saúde humana e animal. Nesse sentido, óleos vegetais e seus compostos surgem como alternativa para driblar os impactos negativos causados pelos produtos sintéticos. O acetilcarvacrol é um composto semi-sintético derivado da acetilação do carvacrol com ação repelente e acaricida contra várias espécies de carrapatos, além de aplicações farmacológicas e terapêuticas. Assim, o presente estudo busca avaliar as possíveis alterações morfológicas nos rins de ratos Wistar, por meio do teste de toxicidade dérmica com doses repetidas, de forma a identificar a aplicabilidade, segurança e eficácia do produto. Para isso, foram utilizadas 20 fêmeas de ratos da linhagem Wistar divididas aleatoriamente em 4 grupos (n = 5 fêmeas/grupo). Com a ajuda de uma pipeta volumétrica de Pasteur, foi realizada a administração do acetilcarvacrol, diluído em DMSO a 5%, na superfície tricotomizada (volume de 2,5mL de solução por animal/dia), durante um período de 21 dias. O grupo Tratamento I foi exposto a 26 µL/mL de acetilcarvacrol, valor equivalente à concentração letal para 90% de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (CL₉₀); os ratos do grupo Tratamento II foram tratados com o produto na concentração referente a 2xCL₉₀ (52µL/mL); os animais do grupo Tratamento III, por sua vez, foram submetidos ao produto na concentração de 4xCL₉₀ (104µL/mL). Após eutanásia, as amostras de rim foram coletadas para processamento histológico em parafina e analisadas de forma qualitativa. Os resultados demonstraram que o grupo que recebeu o Tratamento III esteve mais susceptível a determinadas alterações, como aumento do espaço de Bowman e a vascularização ao redor dos túbulos contorcidos. Em suma, mais análises devem ser feitas, especialmente em outros órgãos e avaliando outros parâmetros, para que se ateste de fato a aplicabilidade e segurança do produto.

Palavras-chave: Morfologia. Histologia. Patologia. Microscopia. Controle de carrapatos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
3.1 Acetilcarvacrol.....	15
3.2 Animais.....	15
3.3 Delineamento experimental.....	15
3.3.1 Toxicidade dérmica com dose repetida.....	15
3.4 Material biológico.....	16
3.4.1 Avaliação morfológica.....	16
4. RESULTADOS.....	18
5. DISCUSSÃO.....	22
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

1. INTRODUÇÃO

Carrapatos são ectoparasitos hematófagos que constituem grande parte dos casos de infestação em vertebrados. Para garantir o controle das populações desses organismos, na tentativa de preservar a saúde humana e a integridade animal, regulando os danos causados na relação parasito-hospedeiro, utilizam-se variados compostos convencionais com potencial acaricida, onde, seu uso indiscriminado leva a condições de resistência, assim como favorece efeitos negativos ao meio ambiente.

Como alternativa de driblar essa situação, produtos naturais que demonstram certo nível de repelência e potencial carrapaticida vem ganhando espaço no meio científico por se apresentarem como uma opção menos agressiva e na maioria das vezes, mais eficientes do que os próprios produtos disponíveis no mercado. Um desses compostos é o acetilcarvacrol, extrato fenólico, obtido a partir da acetilação do carvacrol, presente em plantas a exemplo do orégano. Tal extrato, já possui ação comprovada contra carrapatos, sendo necessários testes que confirmem sua segurança para aplicação em vertebrados.

Os testes de toxicidade oral e dérmica, são excelentes parâmetros para avaliação bioquímica e histopatológica de órgãos responsáveis pela metabolização e excreção de toxinas, um dos órgãos que participa ativamente da manutenção da homeostase e contribui para eliminação de substâncias indesejadas do corpo é o rim. Em aspectos fisiológicos, o rim, filtra, reabsorve e secreta, tanto íons quanto biomoléculas, necessárias para o bom funcionamento do indivíduo, sendo que, alterações em suas estruturas podem determinar certo sinal de toxicidade, traçando, desse modo, metodologias para avaliação da segurança e eficácia de um determinado produto.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação do acetilcarvacrol nos rins de ratos Wistar fêmeas submetidas ao teste de toxicidade dérmica com dose repetida, por meio de análise histopatológica. Verificando os danos morfológicos causados pelo acetilcarvacrol, pode-se concluir afinal, os cuidados necessários para uma melhor aplicação, além de verificar a alternativa para com os acaricidas convencionais, contribuindo para estratégias de controle desses ectoparasitos que minimizem os efeitos ambientais, preservem a saúde humana e o bem-estar animal.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

Espécies da ordem Ixodida são popularmente conhecidas como carrapatos. As famílias pertencentes a esse grupo se diferenciam dos outros artrópodes pelos segmentos fusionados do corpo e a ausência do par de antenas (SONENSHINE, 1991). Evolutivamente, por terem se adaptado facilmente às pressões seletivas de diferentes ambientes, devido ao tamanho e formato do corpo, apresentam indivíduos claramente cosmopolitas, com diferentes hipóteses para sua dispersão (BEATI; KLOMPEN, 2017).

Os carrapatos estão compreendidos na subclasse Acari, superordem Parasitiformes e ordem Ixodida, podendo ser divididos em três famílias, a depender de suas características morfofisiológicas: Argasidae, cujos integrantes são também conhecidos como carrapatos moles, Ixodidae, composta pelos chamados carrapatos duros, e Nuttalliellidae, com apenas uma espécie descrita (GUGLIELMONE et al., 2010; DANTAS-TORRES et al., 2019).

Possuem um ciclo de vida baseado em quatro estágios: ovo, larva, ninfa e adulto, sendo obrigatoriamente hematófago em pelo menos um desses. Para realizar a muda, o carrapato pode ou não abandonar seu hospedeiro. Os carrapatos que apresentam ciclo de vida monoxeno ou dioxeno concluem a troca de fase em no máximo um ou dois indivíduos parasitados respectivamente; em outros casos, as mudanças inerentes aos seus estágios podem também ocorrer no solo (APANASKEVICH; OLIVER, 2014). As quelíceras do animal perfuram a epiderme e secretam substâncias de adesão e imunossupressão, visando a fixação no indivíduo parasitado e a evasão imune de células inflamatórias, dando importância para a eficiência e eficácia da saliva do parasito no processo de infestação (KOTÁL et al., 2015).

A especialização para hematofagia permitiu que estes artrópodes se tornassem ectoparasitos de grande parte dos vertebrados terrestres, como anfíbios, répteis, aves e mamíferos, dessa forma adquirindo papel crucial na transmissão vetorial de doenças. Os carrapatos também assumem importância médico-veterinária e econômica associados às consequências desse parasitismo, tendo em vista que além de um contexto de saúde relacionados a suas causalidades, um viés econômico é administrado por práticas de controle agropecuário através de carrapaticidas (ESTRADA-PENÃ, 2015).

Simultaneamente, a prática clínica aborda casos relacionados a esses parasitos com frequência, devido ao dano e à diversidade de lesões causadas de maneira espoliativa no hospedeiro. Tais danos estão intrinsecamente ligados a reações alérgicas, paralisias e toxinas produzidas pela própria saliva do animal (HOOGSTRAAL, 1983).

Os carrapatos possuem uma dinâmica única no contexto vetorial, sendo responsáveis por veicular agentes etiológicos como *Flavivirus*, bactérias dos gêneros *Rickettsia* e *Borrelia*,

além de protozoários do gênero *Babesia*, que, entre outros, causam doenças de caráter zoonótico (BOULANGER et al., 2019; DANTAS-TORRES; OTRANTO; CHOMEL, 2019).

O carrapato mais amplamente distribuído e com grande prevalência no que diz respeito às zoonoses pertence à espécie *Rhipicephalus sanguineus*, sendo conhecido como carrapato marrom do cão, com alta taxa de concentração em regiões tropicais (WALKER, KEIRANS; HORAK, 2000). Essa espécie tem preferência por canídeos e assim como outras do mesmo grupo, se constitui vetor de grande variedade de patógenos, que são transmitidos durante a alimentação, já que estes ectoparasitos necessitam de sangue para concluir seu ciclo de vida, tanto para geração dos ovos, quanto para a espermatogênese (CHANDRA et al., 2019; GRAY et al., 2013; SANCHES et al., 2012).

É responsável por transmitir endoparasitos como os causadores da babesiose canina (*Babesia canis*), da erliquiose (*Ehrlichia canis*), além da bactéria *Rickettsia rickettsii*, causadora da febre maculosa (BUSTAMENTE; VARELA, 1947). Além disso, alguns estudos vêm demonstrando que carrapatos da espécie *R. sanguineus* podem vir a se apresentar como potenciais vetores para *Leishmania infantum*, protozoário responsável pela leishmaniose visceral; entretanto, outras análises e métodos de estudos, com ênfase em modelos experimentais, devem ser elaborados para comprovar, de fato, esta informação (COUTINHO, et al., 2005; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2006).

Tendo em vista sua capacidade de transmitir grande variedade de patógenos, bem como os danos diretos que causam aos hospedeiros, o controle de tais ixodídeos tem se intensificado, visto o aumento da prevalência de infecções e a necessidade de novas alternativas para diminuição das populações desses ectoparasitos (COLWELL; DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2011). Além disso, fatores como alterações climáticas, dinâmicas de urbanização, desmatamento e poluição contribuem para uma interação mais intensa entre esses vetores e seus hospedeiros (SUTHERST, 2004; OMS, 2020).

Existem diversos métodos de prevenção e controle para artrópodes, incluindo os carrapatos, em que são utilizados produtos de classes específicas, bem como alternativas não químicas que contribuem com a redução do número de indivíduos durante a infestação. Entretanto, muitas dessas metodologias vêm sendo alvos de frequentes problemáticas, pois além de questões voltadas ao meio ambiente, como poluição atmosférica, toxicidade humana e animal, por exemplo, podem favorecer a seleção de linhagens resistentes, perdendo assim sua eficácia ao longo do tempo (SUTHERST, 2004; FOIL et. al., 2004). Do ponto de vista econômico, o mercado disponibiliza uma gama de produtos com registro acaricida para tentar driblar essas questões; entretanto, existe a necessidade de um diálogo maior sobre os

mecanismos de ação de tais acaricidas, sua aplicação e manejo ambiental pós-exposição (DANTAS-TORRES; CHOMEL; OTRANTO, 2012). Em animais de companhia, são comumente utilizados piretróides moduladores de canais de cálcio, organofosforados inibidores de colinesterase, lactonas macrocíclicas ativadoras de canais de cloreto, fenilpirazóis atuantes em GABA e triazapentadienos agonistas octopaminérgicos, utilizados em sprays, por impregnação em coleiras, em banhos com xampus, ou por aplicação tópica, sendo que alguns destes produtos ocasionam reações tóxicas bastante consideráveis em seres humanos e animais e devem ser utilizados com cautela seguindo as orientações do fabricante (OTRANTO; WALL, 2008). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2016), para o controle de *R. sanguineus* por meio de acaricidas, os produtos mais utilizados são o amitraz, o carbaril, o fipronil e a permetrina, classificados também como moderadamente perigosos.

Em termos de biodisponibilidade, os acaricidas dependem da absorção por determinadas estruturas do carrapato, seja pela cutícula, pelo trato digestivo ou ainda pelos espiráculos traqueais. Neste sentido, os mecanismos e vias de distribuição são aspectos importantes na variação da atividade e eficácia do composto, considerando o metabolismo vinculado aos sítios de ação do produto e a excreção realizada pelo animal. A maioria das classes afetam as junções neuromusculares, o crescimento do artrópode, a respiração e o intestino (IRAC, 2019).

Os compostos químicos sintéticos, quando não manejados corretamente, podem trazer grandes malefícios à saúde humana e animal. O amitraz, por exemplo, apresenta grande toxicidade a organismos aquáticos, além de causar vermelhidão em contato com a pele, levar à queda da pressão, bradicardia e diminuição da temperatura corporal quando ingerido (ILO, 2019). O carbaril, assim como os outros, com irregularidades na liberação e no descarte, pode ser danoso a aves e abelhas, bem como causar dor, rubor e problemas digestivos em humanos (ILO, 2019). O fipronil, por sua vez, está relacionado a danos no sistema nervoso (ILO, 2019), enquanto a permetrina motiva episódios de tosse, sensação de queimadura, diarreia e vômito (ILO, 2019).

Além de produtos de cunho químico, outras alternativas podem ser escolhidas na profilaxia ou terapêutica contra carrapatos, sendo a vacinação um importante ponto de discussão, visto a inibição da capacidade imunossupressora do parasito frente à infestação (WIKEL, 1999). A genômica, também contribui nos processos de desaceleração de doenças transmitidas por tais artrópodes, com técnicas moleculares de alta precisão. Outros métodos incluem a modelagem matemática, a utilização de bactérias endossimbiontes e o controle

biológico (OTRANTO; WALL, 2008). Ademais, a utilização das propriedades bioquímicas de determinadas espécies vegetais vem sendo aplicada para evitar os possíveis efeitos e danos de acaricidas sintéticos em saúde única (ROSADO-AGUILAR, 2017).

Fitoquímicos para controle do gênero *Rhipicephalus* podem ser obtidos a partir de diversas famílias de plantas medicinais, de onde são extraídos metabólitos com potencial acaricida. Principalmente, no que diz respeito a espécie *R. sanguineus*, a família Asteraceae demonstra atividade antiparasitária nas larvas pelo extrato hexânico de *Calea serrata* (RIBEIRO et al., 2008), pelos terpenos - limoneno, β -ocimeno, dihidrotagetona e tagetona de *Tagetes minuta* (GARCIA et al., 2012) nas formas larvárias e adultas e também por extratos etanólicos de órgãos aéreos de *Tagetes patula* em estágios larvais dos mesmos carrapatos (POLITI et al., 2012).

Um princípio ativo vegetal bastante utilizado e com indicações carrapaticidas é o timol, um monoterpene insolúvel em água com fórmula molecular $C_{10}H_{14}O$, encontrado nas famílias vegetais Lamiaceae e Apiaceae. Na saúde humana, este composto demonstrou-se um excelente anti-inflamatório, antioxidante e anti-hiperlipidêmico (WECHSLER et al., 2014; MEERAN et al., 2017; LUNA et al., 2018). Um experimento dirigido por Monteiro et al. (2009) mostrou que o timol, na concentração de 5%, ocasionou mortalidade do número total de ninfas de carrapatos *R. sanguineus*. No entanto, o mesmo resultado não foi observado para indivíduos adultos, o que sugere que parasitos mais imaturos sejam mais suscetíveis ao produto.

O isômero do timol é o carvacrol, outro produto natural com ação acaricida e potencial fitofarmacológico, presente nas famílias Lamiaceae, sendo componente majoritário no óleo de *Origanum bilgeri* (KOC et al., 2013), e Verbenaceae, compondo os produtos extraídos de *Lippia gracilis* (CRUZ et al., 2013), por exemplo. O carvacrol apresentou um excelente potencial antimicrobiano (GHOLAMI-AHANGARAN et al., 2020; BURT et al., 2007), anticarcinogênico (BANSAL et al., 2022) e antioxidante (CICALÃO et al., 2021). Estudos recentes também demonstraram o efeito hepatoprotetor do carvacrol em lesões de ratos diabéticos e neuroprotetor em caso de isquemia e reperfusão induzida (ZHAO et al., 2021; GUAN et al., 2019).

No controle de carrapatos *R. sanguineus*, de acordo com Lima de Souza et al. (2019), o carvacrol ocasionou alterações significativas nos ovários de fêmeas semi-ingurgitadas, impedindo o desenvolvimento dos ovócitos em concentrações elevadas. Em comparação com o eugenol e o E-cinamaldeído, a toxicidade do carvacrol revelou-se a mais alta para larvas e

ninfas (SENRA et al, 2013). Um estudo apresentado por Lima et al. (2019), verificou as potencialidades do encapsulamento do carvacrol na parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, inferindo que a liberação controlada do produto poderia reforçar sua ação de repelência para carrapatos *R. microplus*, aumentando a proteção contra agentes externos e o tempo que o produto ficaria disponível no local.

Para uma maior estabilidade no ambiente, evitando possíveis problemáticas relacionadas a oxidação do composto, pesquisas relatam que a acetilação do carvacrol (substituição da hidroxila pelo éster) tem surtido efeito no que diz respeito a manutenção das suas propriedades, ampliação do potencial acaricida, bem como a diminuição da toxicidade em vertebrados (CACCIATORE et al., 2016; SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER., 2016; RAMÍREZ et al., 2016; ANDRE et al., 2016).

A ação repelente do acetilcarvacrol, bem como as prováveis alterações por ele provocadas nas glândulas salivares de *R. sanguineus*, foi testada por König et al. (2021). Neste trabalho, os autores identificaram lesões nos ácinos tipo I, II e III, como fragmentação do núcleo, processo extenso de vacuolização e fusão de grânulos secretores.

Mesmo em baixas concentrações, ao contrário do carvacrol, o composto acetilado foi responsável por causar grandes danos na morfologia dos ovários de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, alterando, desse modo, sua capacidade reprodutiva, visto que características como a existência de irregularidades no córion, presença de vacúolos no citoplasma das células, lesões no oviduto e variações na formação de grânulos de vitelo foram observadas. Isso demonstra a aplicabilidade do composto como carrapaticida, dificultando, possivelmente, a manutenção de processos bioquímicos essenciais para as próximas gerações de carrapatos (KONIG et al., 2020).

No trabalho realizado por Oliveira et al. (2020), a cutícula de carrapatos *R. sanguineus* também sofreu modificações após exposição ao acetilcarvacrol, demonstrando redução da camada acelular nos grupos tratados quando comparados ao grupo controle. O experimento indicou, ainda, que as células apresentaram alto grau de vacuolização, além de um extenso processo de divisão que resultou em várias camadas epiteliais.

Apesar de uma extensa gama de efeitos positivos, a toxicidade de produtos sintéticos e naturais deve ser avaliada em vertebrados e estar alinhada com as descobertas de seus respectivos potenciais de aplicação, pois muitos desses produtos têm contato direto, se não imediato, com seres humanos e animais (RAMSEY et al., 2020).

Tal toxicidade pode afetar de maneira geral o indivíduo, e seus níveis podem ser medidos por alterações morfológicas em órgãos de regulação metabólica e reprodutiva, como

fígado, tireoide, rins e ovários (BHARDWAJ; SARAF, 2015; PERAZELLA, 2009; DEL PINO et al., 2015).

Os rins são estruturas presentes nos mamíferos em geral, que tem por funções principais a filtração do sangue, a reabsorção de água, eletrólitos e outras substâncias, e a excreção de toxinas e metabólitos em excesso, tornando-se uma ótima referência para avaliação de parâmetros relacionados à toxicidade. Além disso, este órgão tem importância na regulação da pressão arterial, controle do pH sanguíneo e no equilíbrio hidroeletrolítico (SILVERTHORN, 2017).

Em sua composição macroscópica, cada rim possui uma margem lateral convexa e outra margem medial côncava, dando a ele a aparência e o formato de um grão de feijão. O rim é envolto por uma cápsula fibrosa de tecido conjuntivo denso e recebe sua vascularização e inervação através do hilo renal, estando dividido em córtex e medula. Num corte coronal, podemos observar as colunas, as pirâmides e a pelve renal, que recolhe a urina em direção ao ureter (MOORE, 2018).

A unidade morfofuncional do rim é o néfron. Um único néfron é composto pelo glomérulo com sua rede de capilares, envolto por uma cápsula glomerular (ou de Bowman), formando o corpúsculo renal, e ainda, por túbulos contorcidos (proximais e distais), porções descendentes e ascendentes da alça de Henle, além de um ducto coletor (GRAAF, 2003).

Em condições normais, a cápsula de Bowman possui dois folhetos, um parietal (mais externo) formado por células epiteliais simples pavimentosas e um visceral (mais interno), constituído pelos podócitos. O espaço entre os dois folhetos é denominado de espaço urinário e recebe o filtrado glomerular rico em íons cloreto, glicose, ureia e fosfato. O túbulo contorcido proximal, onde ocorre a maior parte da reabsorção, é constituído por células cúbicas simples, com presença de borda em escova, além de deter um citoplasma bastante acidófilo em razão da quantidade de mitocôndrias presentes. O túbulo contorcido distal apresenta estrutura morfológica bastante análoga ao proximal, com a diferença de apresentar menor número de microvilosidades no seu ápice (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017; ROSS; ROMRELL, 1993).

Os parâmetros de avaliação de toxicidade podem variar de acordo com o modelo experimental utilizado, seu peso, tamanho corporal, sexo, padrões hematológicos e bioquímicos, tal qual variações histopatológicas presentes no material biológico e até mesmo o teste utilizado como padrão de medida. Supõe-se que a atuação de algumas vias metabólicas e o status imune do organismo quando expostos a compostos presentes em óleos essenciais podem corroborar para aumentar sua toxicidade (TAGHIZADEH et al., 2017).

Ratos da linhagem Wistar podem ser considerados excelentes modelos biológicos para estudos relacionados à toxicologia. Os trabalhos que utilizam esses animais constituem grande parte das observações com relação a testes de toxicidade aguda e de dose repetida, independentemente da via de administração. Sendo assim, pesquisas que envolvem metodologias com esses vertebrados são bastante eficazes na consolidação de novas propostas terapêuticas e de profilaxia (LAKSHMANAN et al., 2016; GUEX et al., 2020; OGUNLADE et al., 2022).

A partir do contato com qualquer droga ou composto químico que apresente toxicidade, como os pesticidas convencionais, os rins passam a atuar na tentativa de eliminar substâncias e componentes que comprometam a homeostase, sendo possível observar, nesses casos, níveis elevados de creatinina, ureia e ácido úrico. Nas observações microscópicas, o rim pode apresentar determinadas alterações celulares que representam lesão tecidual, como degenerações, morte celular, hemorragia, além de obstrução do fluxo sanguíneo (EL-DEMERDASH; EL-SAYED; ABDEL-DAIM, 2021).

Konig et al. (2022) propuseram que o acetilcarvacrol, em contato com hemácias humanas, não apresenta toxicidade significativa quando comparado ao seu semelhante não acetilado e ao fipronil. A pesquisa revelou que, na maioria dos eritrócitos, o processo de hemólise pelo composto semi sintético diminuiu consideravelmente, evidenciando possível segurança de aplicabilidade do produto em vertebrados para o controle de ixodídeos como *R. sanguineus* e *R. microplus*.

O acetilcarvacrol apresentou ainda, resultados neurofarmacológicos positivos em modelos experimentais para o tratamento de epilepsia, quando este foi utilizado com proposta de atuação como anticonvulsivante no tratamento de convulsões induzidas por pilocarpina, picrotoxina e pentilenotetrazol. Mudanças no hipocampo de camundongos, bem como aumento dos níveis de sódio, potássio, ATPase e ácido delta-aminolevulínico desidratase foram observadas (PIRES et al., 2014).

Foi verificado, também, em experimentos *in vitro*, que o acetilcarvacrol ocasionou a diminuição de ovos e de indivíduos adultos de *Schistosoma mansoni*, e que apesar do mesmo efeito redutor na quantidade de ovos ter sido observado em práticas laboratoriais com camundongos na fase aguda da doença, o mecanismo atribuído a essa redução ainda é desconhecido e necessita de investigação (SILVA et al., 2021).

André et al. (2020) demonstraram a eficácia do nanoencapsulamento do acetilcarvacrol em comparação ao seu similar não encapsulado em determinados órgãos de ovinos, assim como sua atividade anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais parasitando

esses mesmos animais. Com base na contagem de ovos por grama de fezes, foi possível verificar a diminuição de tais formas evolutivas e através da análise histopatológica notou-se mudanças nos padrões dos tecidos hepático, renal e do baço. Avaliando ainda, o potencial antioxidante do produto em experimentos *in vitro* e *in vivo*, onde o mesmo foi responsável pela diminuição da peroxidação lipídica, teor de nitrito, além da redução dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona peroxidase (GPx) (PIRES et al., 2013).

De acordo com Oliveira et al. (2014), as alterações encontradas pelo derivado acetilado do carvacrol, administrado por via oral ou intraperitoneal em camundongos, não possuem valores estatísticos significativos com relação à toxicidade do princípio ativo, tendo em vista parâmetros hematológicos e bioquímicos. No entanto, análises histopatológicas são necessárias para aumentar o crivo de julgamento nesse caso, identificando possíveis danos celulares/estruturais.

A aplicabilidade do acetilcarvacrol e seu uso terapêutico e protetivo são questões que vêm sendo amplamente discutidas e testadas por diversos autores, levando em consideração a avaliação de diversos parâmetros de análise de toxicidade e potencial farmacológico.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Acetilcarvacrol

O processo de acetilação do carvacrol (5-isopropil-2-metilfenol; Merck, Darmstadt, Alemanha; 99% de pureza) foi realizado de acordo com os procedimentos propostos por König et al. (2019). Desse modo, 5mL de carvacrol foram incorporados a um balão volumétrico composto de 25mL de solução de hidróxido de sódio a 10%, em temperatura ambiente. Posteriormente, 5,5mL de anidrido acético foram unidos ao frasco sob refrigeração. A mistura permaneceu 15 minutos em agitação e o óleo foi separado para caracterização de acordo com seu ponto de fusão e por espectroscopia de infravermelho, em espectrômetro IR affinity-1 Shimadzu, operando em faixa espectral de 4000-400cm⁻¹. A existência de uma banda intensa a 1753cm⁻¹ foi considerada como método de comprovação da estrutura do éster carbonílico (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2016).

3.2 Animais

O experimento foi realizado de acordo com os procedimentos aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) (Protocolo 002/2021 de 26/04/2021). Desta forma, 20 ratos fêmeas da linhagem Wistar com aproximadamente 9 semanas de idade e peso variando entre 200-300g, provenientes do Biotério Central da UFLA, foram mantidos em temperatura ambiente (22 ± 3°C, umidade relativa 50-60%), com luz artificial e fotoperíodo de 12/12h (claro/escuro), recebendo água e ração *ad libitum*. De acordo com os protocolos estabelecidos pela OCDE (1981, 1995) os animais foram retidos em grupos de 5 indivíduos, em caixas de polipropileno (40x34x17cm), para aclimação às condições laboratoriais, durante 5 dias.

3.3 Delineamento experimental

3.3.1 Toxicidade dérmica com dose repetida

O princípio do método de toxicidade de um produto com doses repetidas busca avaliar as consequências que determinado modelo experimental sofre ao ser exposto a uma certa substância, detectando possíveis alterações na sua morfofisiologia. Tais análises toxicológicas demonstram o perfil da substância administrada. Assim, pode-se observar características particulares de órgãos-alvo mediante suas alterações, bem como, os desvios que sejam plausíveis para contribuir com a quebra da homeostase e a ruptura do padrão celular do indivíduo.

Os métodos experimentais utilizados no presente estudo basearam-se no Guideline 410 da OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) (OCDE, 1981) e no experimento elaborado por Cunha et al. (2017).

Um dia antes do início do experimento, os animais passaram pelo processo de tricotomia em aproximadamente 10-20% do dorso. Os ratos foram, então, divididos aleatoriamente, em 4 grupos ($n = 5$ fêmeas/grupo). Com a ajuda de uma pipeta volumétrica de Pasteur, foi realizada a administração do acetilcarvacrol, diluído em DMSO a 5%, na superfície tricotomizada (volume de 2,5mL de solução por animal), durante um período de 21 dias. O produto se manteve em contato com a pele, que foi coberta por uma gaze porosa e fita não irritante, durante todo o tempo necessário para conclusão do experimento. A substância foi rigorosamente administrada uma única vez no dia, seguindo o mesmo horário todos os dias. Os mesmos procedimentos foram realizados para os indivíduos do grupo controle.

Konig et al. (2020) determinaram, para carrapatos *Rhipicephalus sanguineus*, que a exposição à concentração 26 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de acetilcarvacrol é estatisticamente responsável pela ocorrência de 90% de mortalidade nestes animais (CL_{90}). No presente trabalho, o valor descrito na literatura serviu como base para a administração dos tratamentos. O grupo Controle foi tratado apenas com 2,5mL de DMSO a 5%/dia; o Tratamento I recebeu em 2,5mL o equivalente a $1 \times \text{CL}_{90}$ (26 $\mu\text{L}/\text{mL}$) de acetilcarvacrol; os ratos do grupo Tratamento II foram tratados com 2,5mL do produto, na concentração referente a $2 \times \text{CL}_{90}$ (52 $\mu\text{L}/\text{mL}$); os animais do grupo Tratamento III, por sua vez, foram submetidos a uma aplicação 2,5 mL do produto na concentração de $4 \times \text{CL}_{90}$ (104 $\mu\text{L}/\text{mL}$).

No decorrer do experimento, os animais passaram por observações diárias, sempre no mesmo horário, que permitiram medir sinais de toxicidade nos órgãos, irritabilidade e morbimortalidade. A partir da finalização deste, com taxa de mortalidade nula, o animais foram mantidos sob jejum de 12 horas e posteriormente anestesiados com solução de xilazina (10mg/kg) e cetamina (90 mg/kg) diluídas em solução de cloreto de sódio 0,9%, por via intraperitoneal. Em seguida, estes foram eutanasiados por punção cardíaca e dissecados para coleta das amostras de rim. Logo após a coleta dos materiais biológicos, os resíduos e a carcaça desses animais foram alocadas em saco plástico branco para descarte de acordo com o Plano de Gestão de Resíduos da UFLA.

3.4 Material biológico

3.4.1 Avaliação morfológica

As amostras de rim foram clivadas, fixadas em solução de formaldeído a 4% por 72 horas e desidratadas em série gradativa de álcool etílico (70, 80, 90 e 95%, por 20 minutos cada). Em seguida, foram embebidas e incluídas em parafina. Os blocos passaram pelo processo de microtomia em um micrótomo Lupetec MRP09, na espessura de 3-4 μ m, sendo, posteriormente, alocados em lâminas de vidro e corados com a técnica de hematoxilina-eosina. Por meio dessa metodologia, consegue-se obter uma visão morfológica geral do tecido a ser observado. As lâminas histológicas foram preparadas em Entellan® (JUNQUEIRA, 1983). O material obtido foi analisado de forma qualitativa e fotografado em fotomicroscópio Leica DM500 equipado com câmera ICC50W nos aumentos de 40x, correspondentes às imagens com escala de 200 μ m e 400x, correspondentes às imagens com escala de 50 μ m.

4. RESULTADOS

- Grupo controle (DMSO 5%/dia)

Os indivíduos pertencentes ao grupo controle demonstraram características morfológicas típicas. Os corpúsculos renais apresentaram arquitetura padrão, com cápsula de Bowman dentro da normalidade. As células de revestimento parietal da cápsula estavam organizadas em epitélio simples pavimentoso, com núcleos bem achatados de coloração azulada, indicando coloração pela hematoxilina. No interior do corpúsculo, os capilares glomerulares estavam dispostos seguindo sua morfologia regular, entrelaçados entre si. Foi observada a presença de núcleos basofílicos no entorno dos vasos, indicando o invólucro de podócitos do folheto visceral da cápsula de Bowman. Os túbulos contorcidos proximais estavam atrelados ao tecido cortical, principalmente nas imediações do corpúsculo, com células epiteliais colunares, núcleos arredondados e citoplasma acidófilo, além de lúmen escasso e borda estriada. Os túbulos contorcidos distais apresentaram morfologia distinta dos túbulos proximais com lúmen bastante aparente, reação acidófila menos presente e com borda em escova menos aparente no ápice das células que, por sua vez, apresentaram formato mais cúbico. Os ductos coletores explorados estavam com vascularização visível ao seu redor, apresentando como revestimento células cúbicas em um epitélio simples; ao se aproximarem das papilas renais, adquiriram um padrão de células mais altas, diferenciando-se em componentes cilíndricos. Os resultados podem ser observados na Figura 1.

- Tratamento I (26 µL/mL)

Os indivíduos submetidos ao tratamento de menor concentração demonstraram poucas reações ao princípio ativo no tecido renal. A região cortical desses indivíduos se apresentou com número elevado de hemácias e o citoplasma dos túbulos contorcidos foi corado mais intensamente pela eosina em três indivíduos. Os elementos medulares não apresentaram nenhum tipo de alteração. Os resultados podem ser observados na Figura 2 (A-B).

- Tratamento II (52µL/mL)

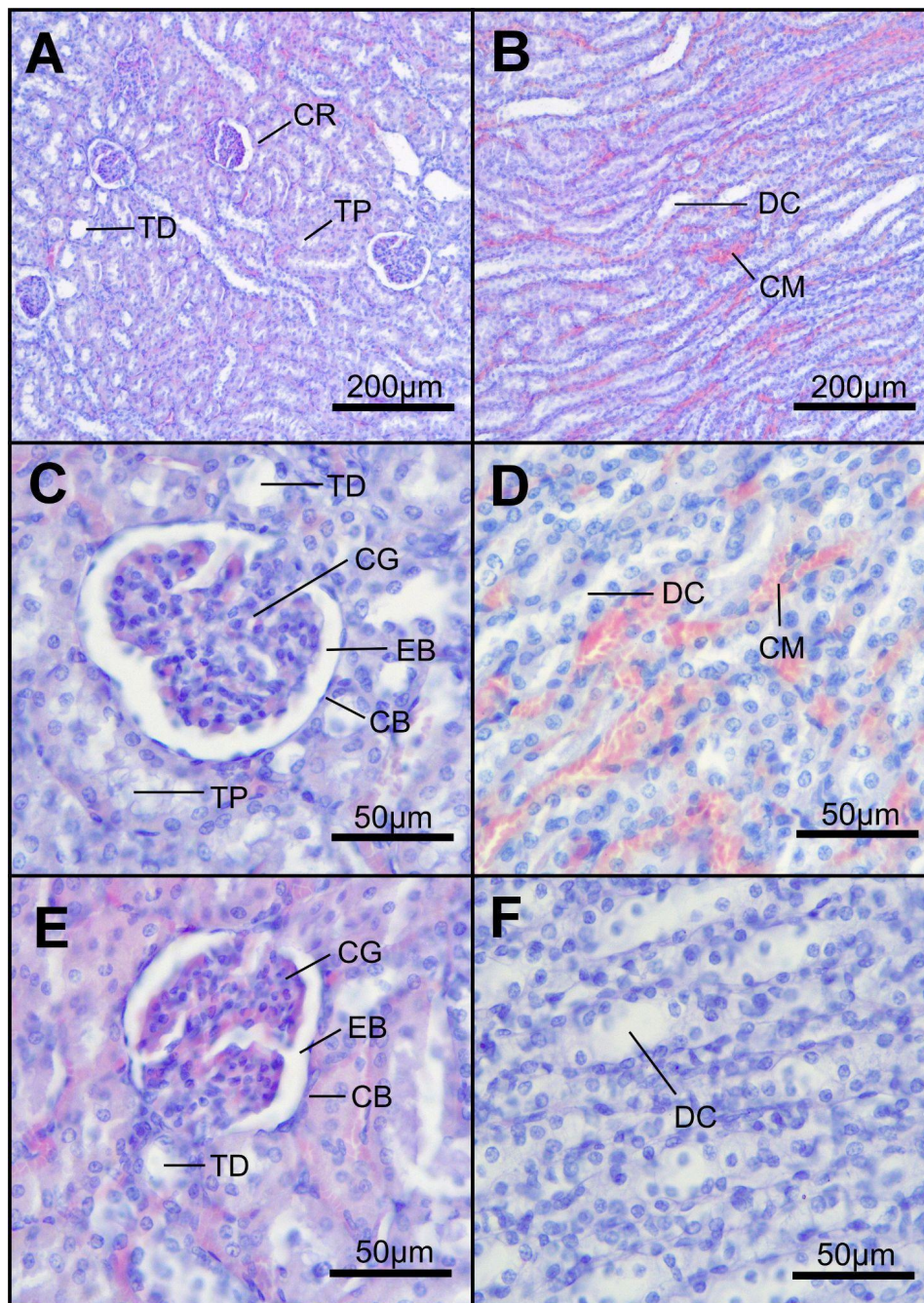
A maioria dos indivíduos do tratamento II não apresentou alteração significativa após exposição ao produto. A porção cortical permaneceu inalterada, com túbulos em diâmetro normais e componentes glomerulares semelhantes ao do grupo controle. Os ductos coletores não sofreram nenhum tipo de aumento. Em um único indivíduo, foram observados indícios de

atrofia glomerular, em que os capilares glomerulares se apresentaram bastante reduzidos, diferentemente do padrão estrutural normal. Os resultados podem ser observados na Figura 2 (C).

- **Tratamento III (104 μ L/mL)**

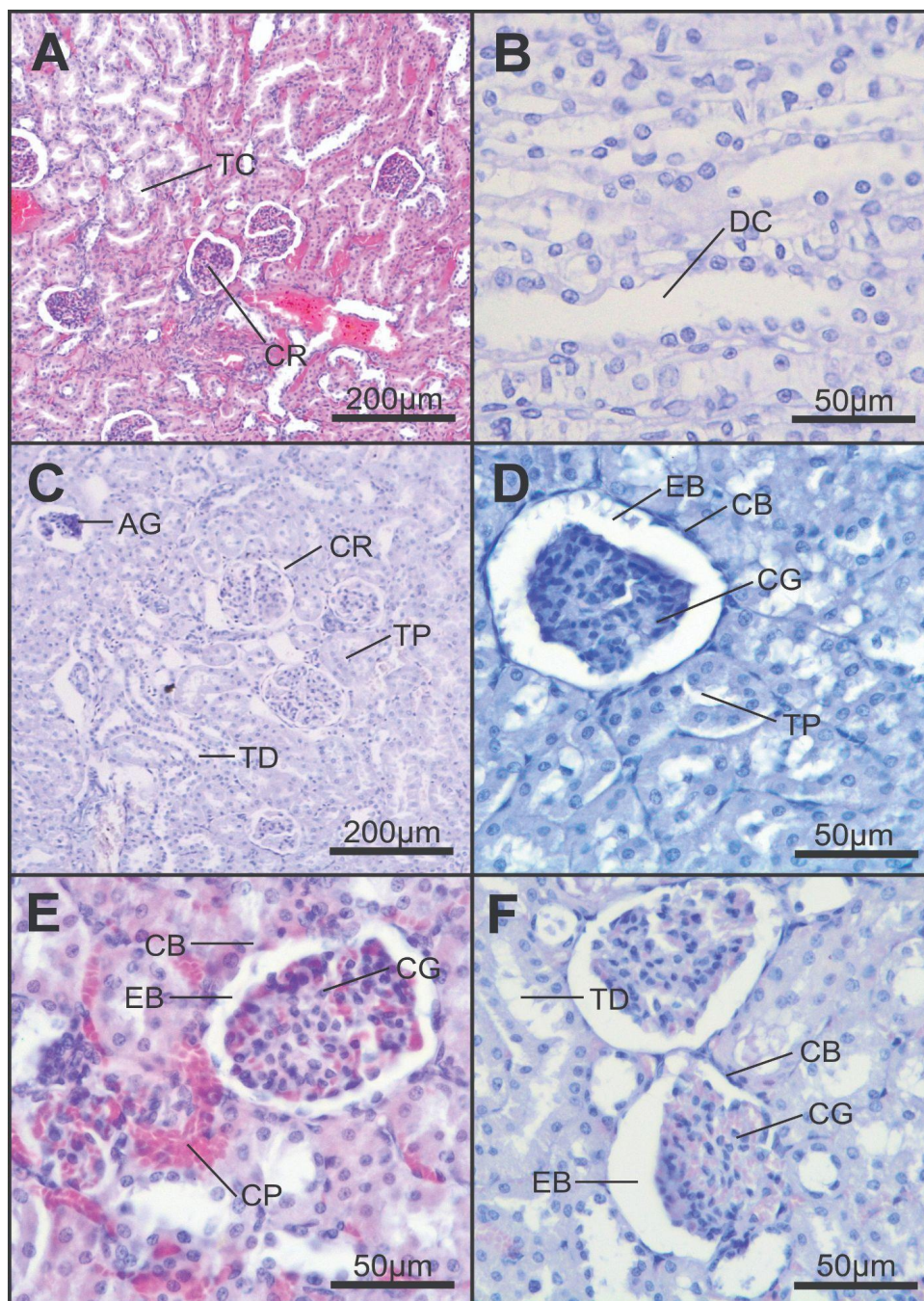
No tratamento III, dois indivíduos apresentaram arquitetura dentro dos parâmetros de normalidade. Entretanto, nos outros integrantes do grupo, algumas alterações leves foram observadas. Um dos espécimes avaliados apresentou aumento moderado do volume de sangue na região cortical. Em outros dois indivíduos, foi possível observar ainda uma espessura consideravelmente maior dos espaços de Bowman. Os resultados podem ser observados na Figura 2 (D-F).

Figura 1 – Fotomicrografias de rins de ratos Wistar do grupo controle, expostos apenas ao veículo (DMSO 5%) pelo teste de toxicidade dérmica com dose repetida. Coloração: hematoxilina-eosina.



Legendas: GC - Grupo Controle (A-F). Corpúsculo renal (CR); Túbulo contorcido proximal (TP); Túbulo contorcido distal (TD); Ducto coletor (DC); Capilares medulares (CM); Capilares glomerulares (CG); Espaço de Bowman (EB) e Cápsula de Bowman (CB). Fonte: Do Autor (2023)

Figura 2 – Fotomicrografias de rins de ratos Wistar tratados com acetilcarvacrol pelo teste de toxicidade dérmica com dose repetida. Coloração: hematoxilina-eosina



Legendas: Tratamento I (A-B), Tratamento II (C), e Tratamento III (D-F). Túbulos contorcidos (TC); Corpúsculo renal (CR); Ducto coletor (DC); Túbulo contorcido proximal (TP); Túbulo contorcido distal (TD). Atrofia glomerular (AG); Cápsula de Bowman (CB); Espaço de Bowman (EB); Capilares glomerulares (CG) e Capilares peritubulares (CP). Fonte: Do Autor (2023).

5. DISCUSSÃO

Carrapatos constituem um grande problema no contexto da saúde única no Brasil e no mundo, pelas consequências de sua ação direta no hospedeiro e da transmissão de doenças. (BOULANGER et al., 2019). A fim de controlar as infestações desses ectoparasitos, diferentes pesticidas convencionais vêm sendo aplicados, trazendo consequências nocivas ao meio ambiente, à saúde humana e animal (ALMAZAN et al., 2018).

Nessa perspectiva, o presente estudo torna-se relevante pela aplicação de técnicas histopatológicas na análise da toxicidade renal em ratos expostos a um composto com elevada eficácia contra carrapatos *Rhipicephalus sanguineus*, conforme trabalho desenvolvido por Konig et al. (2020). Assim, o presente estudo contribui também, para o cenário atual, visto que o uso de óleos e extratos de plantas vem ganhando espaço no controle de artrópodes, devido às ínfimas consequências em órgãos de metabolização e excreção nos vertebrados, além dos reduzidos efeitos ambientais causados por estes produtos (CAVANAGH; WILKINSON, 2022).

Ademais, tais extratos vegetais têm sido habitualmente utilizados na medicina tradicional para o tratamento e prevenção de diversas enfermidades, possuindo ainda grande potencial de repelência contra carrapatos, o que leva à valorização de práticas de comunidades tradicionais com evidências científicas. (SHARIFI-RAD et al., 2018; SALMAN et al., 2018). O gênero *Rhipicephalus* constitui grande parte das espécies de importância médico-veterinária, e atua como vetor de diversos tipos de microorganismos capazes de induzir quadros de infecções graves em humanos e outros animais, indicando novamente que o controle dessas populações se faz essencial na conjuntura econômica e social (CHANDRA et al., 2019).

Os rins são órgãos que participam da filtração do sangue e da eliminação de substâncias nocivas ao corpo, demonstrando-se um excelente parâmetro para a avaliação da toxicidade de determinados produtos, sintéticos ou semissintéticos (BRIDGES; ZALUPS, 2017). Os danos morfológicos renais são alterações na estrutura dos rins que podem ser causados por doenças inflamatórias, genéticas ou infecciosas, além de exposição a drogas ou toxinas (RADI, 2019). Tais danos podem incluir atrofia glomerular, degenerações, fibrose renal, e lesão tubular (FARIAS, 2019; BARNETT; CUMMINGS, 2019). Estes danos podem levar a complicações graves, como insuficiência renal, hipertensão arterial e doença renal crônica (SATARUG; VESEY; GOBE, 2017).

O acetilcarvacrol é um composto natural, advindo da acetilação do carvacrol, com efeitos comprovados contra carrapatos *R. sanguineus* e *R. microplus* (OLIVEIRA et al., 2020;

KONIG et al., 2019). A acetilação do carvacrol resulta em um composto que apresenta maior toxicidade para os carrapatos de maneira geral e menor prejuízo para humanos e animais; entretanto, mais esforços são necessários para determinar as consequências deste produto em vertebrados, de forma a sanar as dúvidas que permeiam a relação entre sua aplicação, segurança e eficácia (KONIG et al., 2022).

Tendo em vista essa lógica, os resultados encontrados neste trabalho nos indivíduos submetidos ao Tratamento I demonstraram indícios de hiperemia da região cortical renal. Alterações significativas em rins de ratos Wistar, como congestão glomerular e aumento de peso, são mais frequentes em experimentos que conduzem a aplicação de uma dosagem oral de acaricidas nestes animais (MANNA et al., 2004; FARRAG; SHALBY, 2007; SAADI et al., 2008; TOS-LUTY et al., 2003; AYED-BOUSSEMA et al., 2022; PRADO-OCHOA et al., 2014); no presente estudo, contudo, em que a avaliação da toxicidade do produto ocorreu após aplicação dérmica, infere-se que possivelmente tais achados não representam o efeito total do acetilcarvacrol na região cortical, mesmo em uma dosagem menor. Todavia, mesmo que o aumento do volume sanguíneo nessa parte do tecido encontrado no animal não tenha sido extenso o suficiente para demonstração do quadro, abre-se um alerta de que, sob teste de toxicidade oral, o achado possa evoluir para uma congestão (RAY et al., 2019).

Outra variação presente nos ratos expostos ao Tratamento I tratou-se da intensa coloração do citoplasma dos túbulos contorcidos pela eosina. A eosina é um corante ácido que reage com componentes celulares básicos, sendo o padrão usado para o exame microscópico de tecidos que foram fixados, processados, incorporados e seccionados (CARDIFF et al., 2014). A alta intensidade de coloração do tecido por eosina pode ocorrer devido ao método de montagem e preparação da lâmina, bem como, pelo acúmulo de proteínas no interior das células (KANURU; SAPRA, 2023). Como não houveram indícios de picnose, cariorexe, cariólise, ou qualquer outro indicativo de alteração nuclear ou necrose, um fator a ser levado em consideração discorre sobre a fisiologia dos túbulos contorcidos e seu papel na reabsorção, visto que tais elementos, por consequência do transporte ativo, possuem em suas células um número bastante elevado de mitocôndrias para geração de energia (BLAINE; CHONCOL; LEVI, 2014). As mitocôndrias possuem uma composição proteica, onde tais macromoléculas apresentam aparência acidófila, podendo inferir a possibilidade de que o aumento da intensidade da coloração no tratamento acima foi causado pelo alta demanda energética do epitélio dos túbulos na movimentação de íons, além de que tal organela já foi relacionada também como fonte e alvo de toxinas (POPKOV et al., 2019; FREUND; PRENNI; CURTHOYS, 2013; DOKE; SUSZTAK, 2022). Ainda que este seja um achado comum entre

as lâminas analisadas, são necessários estudos com amostragem maior de participantes para relacionar estatisticamente a alta coloração por eosina, a metodologia de preparação de lâminas e um possível acúmulo de biomoléculas reagentes a eosina no tecido, decorrente ou não do tratamento.

Entre os indivíduos submetidos ao Tratamento II, foi encontrado um glomérulo atrofiado em único espécime, entretanto, há possibilidade, de que em um estudo que contemple um valor de amostragem maior, outros, mesmo que poucos, glomérulos atrofiados, também poderiam ser encontrados. A atrofia glomerular é uma redução do endotélio glomerular, resultando na diminuição da funcionalidade geral de suas células, e consequente redução da capacidade de filtração (MORITA et al., 2015). Essa alteração pode indicar uma má formação ou modificação individual, visto que tal achado estava presente em somente um animal e em uma região específica, onde a lesão aparenta não ter causado alterações significativas no funcionamento do órgão. Adicionalmente, a análise da taxa de filtração glomerular (TFG) poderia ser indicada para descartar danos difusos (SHAHBAZ; GUPITA, 2023). Considerando a extensão reduzida da alteração no tecido analisado, não existem dados suficientes para relacionar este achado à administração do acetilcarvacrol.

Entre aqueles indivíduos submetidos ao Tratamento III, um dos espécimes avaliados apresentou aumento moderado do volume de sangue. Embora o achado não indique morfológicamente determinada lesão (BASILE, 2004), sugere-se que, por se tratar do grupo que recebeu maior concentração do produto, o fluxo de sangue possa sofrer alterações (BROWN; POLLARD, 2021) devido a presença do acetilcarvacrol. Em congruência, o aumento da permeabilidade dos capilares pode ocasionar o extravasamento de proteínas plasmáticas para o espaço intersticial renal (RIPPE; FOLKOW, 1977; GOTO et al., 2004; GAO et al., 2018), ressaltando, assim, a importância de ensaios bioquímicos que demonstrem a elevação de tais biomoléculas (FISHMAN et al., 2012). Analisando que, os capilares peritubulares e os mecanismos moleculares de fibrose renal, estão intimamente relacionados, há indícios claros que mecanismos de reparo não foram necessários para manutenção da funcionalidade do órgão (HOHENSTEIN; HUGO, 2017)

Em dois indivíduos do Tratamento III, foi possível observar o aumento da região correspondente ao espaço de Bowman. Por se tratar de um quadro encontrado com maior frequência, tal achado pode indicar a configuração de edema pelo dano direto ao glomérulo em consequência de uma resposta inflamatória (AL-HARBI et al., 2020). Em uma outra perspectiva, substâncias muito nocivas para vertebrados podem ocasionar obstrução dos

túbulos renais (KWIATKOWSKA et al., 2021), fazendo com que o espaço urinário ao redor do glomérulo sofra certa dilatação (MILLER; WIGGINS, 2009).

Grupos que recebem maior dosagem de um produto tendem a reagir de forma mais intensa e apresentam maior número de alterações (SHOURMIJ, 2022). Em seu estudo, Shourmij (2022) avaliou a segurança e eficácia do extrato hidroalcoólico de *Quercus brantii*, e relatou que as modificações do parênquima renal evoluíram de acordo com o aumento das dosagens. Nas concentrações mais elevadas, houve sangramento e presença de resíduos no glomérulo, bem como a existência de infiltrado inflamatório e variações tubulares. Comparativamente, a maior concentração de acetilcarvacrol, de 104 µL/mL (grupo TIII), também foi responsável por gerar maiores consequências ao tecido, embora de maneira menos intensa que a observada por Shourmij et al. (2022).

Aynew et al. (2022), demonstraram que não houve mudanças significativas na morfologia renal de ratos expostos a diferentes compostos de *Cymbopogon martini* em testes de toxicidade aguda e subaguda, assim como Deyno et al. (2020) para óleo essencial de *Echinops kebericho*, corroborando os resultados obtidos em ratos expostos às diferentes concentrações de acetilcarvacrol. Assim, pode-se levar em consideração que as alterações aqui encontradas não representam um sinal claro de toxicidade e, por isso, não devem ser consideradas significativas.

Alterações de perfusão renal foram responsáveis em ratos tratados com óleo essencial de cominho preto, por degenerações discretas, edema, atrofia glomerular, aumento dos túbulos contorcidos, acúmulo de sangue, assim como descamação e necrose moderadas (TABARRAEI, et al., 2019), onde a atrofia glomerular foi o único tipo de adaptação celular que se repetiu no presente trabalho gerando a possibilidade de que os mesmos mecanismos também possam ser responsabilizados aqui, por tal lesão. A segurança do acetilcarvacrol pode ainda ser atestada pela ausência da maioria destas alterações.

O potencial anti-inflamatório e antinociceptivo do acetilcarvacrol em camundongos foi demonstrado pela diminuição significativa de edemas induzidos, da mesma maneira que a migração de neutrófilos e a concentração de citocinas, pela participação das vias de glutamato e capsaicina (DAMASCENO et al, 2013). Assim, a falta de achados como estes no presente estudo demonstra-se positiva para viabilidade do produto, dado que não houve indícios de recrutamento de células inflamatórias e, muito menos, a influência destas no parênquima renal.

Neste sentido, levando em consideração que as alterações observadas correspondem a um padrão leve de toxicidade renal, o uso de acetilcarvacrol para o controle destes carrapatos

pode ser sugerido, embora a análise bioquímica e morfológica de outros órgãos seja fundamental para que se tenha certeza da segurança de aplicabilidade do produto.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As boas práticas para segurança e aplicabilidade de acaricidas não convencionais como o acetilcarvacrol devem seguir procedimentos de testagem rigorosos a fim de avaliar sua eficácia. As alterações encontradas pelo teste de toxicidade dérmica em ratos Wistar no presente trabalho demonstraram reduzido potencial em gerar lesões quando comparadas ao padrão morfológico do grupo controle, levando em consideração as pequenas variações histopatológicas individuais que, por serem ínfimas, não são sugestivas de quadros de lesões renais graves. Assim, atesta-se a prerrogativa de que o produto pode ser aplicado, inicialmente em dosagens menores, seguindo as concentrações dos Tratamentos I (26 $\mu\text{L}/\text{mL}$) e II (52 $\mu\text{L}/\text{mL}$). Para dosagens maiores, recomenda-se, aliado ao teste de toxicidade dérmica, a testagem por exposição oral ao produto em modelos biológicos bem como a conjectura de parâmetros bioquímicos em busca de um parecer assertivo.

REFERÊNCIAS

ABDEL-WAHHAB, M. A. et al. **Effectiveness of activated carbon and Egyptian montmorillonite in the protection against deoxynivalenol-induced cytotoxicity and genotoxicity in rats.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 83, p. 174–182, 2015.

ABDOU, H. M., HUSSIEN, H. M.; YOUSEF, M. I. **Deleterious effects of cypermethrin on rat liver and kidney: Protective role of sesame oil.** *Journal of Environmental Science and Health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, vol. 47, n. 4, p. 306-14, 2012.

ADOKOH, C. K. et al. **Chemical profile and in vivo toxicity evaluation of unripe *Citrus aurantifolia* essential oil.** *Toxicology Reports*, v. 6, p. 692–702, 2019.

AJIBADE, T. O. et al. **Mitigation of diazinon-induced cardiovascular and renal dysfunction by gallic acid.** *Interdisciplinary Toxicology*, v. 9, p. 66-77, 2016.

AL-HARBI, N. S. et al.. (2019). **Effect of naked and PEG-coated gold nanoparticles on histopathology and cytokines expression in rat liver and kidneys.** *Nanomedicine (London, England)*, vol. 15, n. 3, p. 289-302, 2020.

ALMAZAN, C. et al. **Immunological control of ticks and tick-borne diseases that impact cattle health and production.** *Front Biosci (Landmark Ed)*, v. 23, n.8, p. 1535-1551, 2018.

ANDRÉ, W. P. P. et al. **Anthelmintic activity of nanoencapsulated carvacryl acetate against gastrointestinal nematodes of sheep and its toxicity in rodents.** *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 30 n.2, p. 2021002, 2021.

ANDRÉ, W. P. P. et al. **Comparative efficacy and toxic effects of carvacryl acetate and carvacrol on sheep gastrointestinal nematodes and mice.** *Veterinary Parasitology*, v. 218, p. 52–58, 2016.

APANASKEVICH, D.; OLIVER, J.J. **Life cycles and natural history of ticks.** *Biology of ticks.* Oxford University Press, v. 2, p. 59–73, 2014.

AYED-BOUSSEMA, I. et al. **Evaluation of hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by fenpyroximate in subchronic-orally exposed Wistar rats.** *Biomarkers*. v. 27, n. 7, p. 648-658, 2022.

AYENEW, K.D. et al. **Acute and Subacute Toxicity Study of Essential Oil of *Cymbopogon martini* in Mice.** Journal of Toxicology, v. 17, p. 1995578, 2022.

BANSAL, A. et al. **Synthesis of Carvacrol Derivatives as Potential New Anticancer Agent against Lung Cancer.** Molecules, v. 27, p. 4597, 2022.

BARNETT, L. M. A.; CUMMINGS, B. S. **Cellular and Molecular Mechanisms of Kidney Toxicity.** Seminars in Nephrology, v.39, n. 2, p. 141–151, 2019.

BASILE, D.P. **Rarefaction of peritubular capillaries following ischemic acute renal failure: a potential factor predisposing to progressive nephropathy.** Current Opinion in Nephrology and Hypertension, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2004.

BEATI, L.; KLOMPEN, H. **Phylogeography of Ticks (Acari: Ixodida).** Annual Review of Entomology, v. 64, n. 1, p. 379-397, 2017.

BHARDWAJ, J. K.; SARAF, P. **Granulosa cell apoptosis by impairing antioxidant defense system and cellular integrity in caprine antral follicles post malathion exposure.** Environmental Toxicology, v. 31, n. 12, p. 1944–1954, 2015.

BLAINE, J.; CHONCOL, M.; LEVI, M. **Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis.** Clinical journal of the American Society of Nephrology, v. 10, n. 7, p. 1257-72, 2015.

BOULANGER, N. et al. **Ticks and tick-borne diseases.** Médecine et Maladies Infectieuses, 2019.

BRIDGES. C.C.; ZALUPS, R.K. **The aging kidney and the nephrotoxic effects of mercury.** Journal of Toxicology and Environmental Health, v. 20, n. 2, p. 55-80, 2017.

BURT, S. et al. **Inhibition of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis on agar and raw chicken by carvacrol vapour.** International Journal of Food Microbiology, v. 119, n. 3, p. 346-50, 2007.

BUSTAMANTE, M. E.; VARELA, G. **Distribucion de las rickettsias en Mexico.** Rev. Inst. Salub. Enferm., v. 8, p. 3–14.

CACCIATORE, I. et al. **Carvacrol Codrugs: A New Approach in the Antimicrobial Plan.** Plos One, v. 10, n.4, p. 0120937, 2015.

CARDIFF, R. D.; MILLER, C.H.; MUNN, R. J. **Manual hematoxylin and eosin staining of mouse tissue sections**. Cold Spring Harbor Protocols, v. 2014, n. 6, p. 655-8, 2014.

CAVANAGH, H. M.; WILKINSON, J.M. **Biological activities of lavender essential oil**. Phytotherapy Research, v. 16, n. 4, p. 301-8, 2022.

CHANDRA, S. et al. **The brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus sensu Roberts, 1965* across Australia: morphological and molecular identification of *R. sanguineus s.l.* tropical lineage**. Ticks and Tick-Borne Diseases, v. 11, n. 1, p. 101305, 2019.

CICALAU, G. I. P. et al. **Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Carvacrol and Magnolol, in Periodontal Disease and Diabetes Mellitus**. Molecules, v. 26, p. 6899, 2021.

COLWELL, D. D.; DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. **Vector-borne parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives**. Veterinary Parasitology, v. 182, n.1, p. 14–21, 2011.

COSTA-JÚNIOR, L. M. et al. **Acaricidal efficacies of *Lippia gracilis* essential oil and its phytochemicals against organophosphate-resistant and susceptible strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. Veterinary Parasitology, v. 228, p. 60-64.

COUTINHO, M. T. et al. **Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis**. Veterinary Parasitology, v. 128, n. 1/2, p. 149-55, 2005.

CRUZ, E. M. de O. et al. **Acaricidal activity of *Lippia gracilis* essential oil and its major constituents on the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. Veterinary Parasitology, v. 195, n. 1/2, p. 198-202, 2013.

CUNHA, E. L. R. da 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. 1, p. 9, 2017.

DAEMON, E. et al. (2009). **Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808), (Acari: Ixodidae)**. Parasitology Research, v. 105, n. 2, p. 495–497, 2009.

DAMASCENO, S. R. B. et al. **Carvacryl acetate, a derivative of carvacrol, reduces nociceptive and inflammatory response in mice.** Life Sciences, v. 94, p. 58-66, 2014.

DANTAS-TORRES, F. et al. **Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: updated species checklist and taxonomic keys.** Ticks and Tick-Borne Diseases, v. 10, n.6, p. 101252, 2019.

DANTAS-TORRES, F. **The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control.** Veterinary Parasitology, v. 152, n. 3/4, p. 173-85, 2008.

DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B.B.; OTRANTO, D. **Ticks and Tick-borne Diseases: A One Health Perspective.** Trends in Parasitology, v. 28, n. 10, p. 437-46, 2012.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. **Canine babesiosis: A Brazilian perspective.** Veterinary Parasitology, v. 141, n. 3/4, p. 197–203, 2006.

DEL PINO, J. et al. **Molecular Mechanisms of Amitraz Mammalian Toxicity: A Comprehensive Review of Existing Data.** Chemical Research in Toxicology, v. 28, n. 6, p. 1073-94, 2015.

DEYNO, S. et al. **Acute and repeated-dose toxicity of *Echinops kebericho* Mesfin essential oil.** Toxicology Reports, v. 8, p. 131-138, 2021.

DOKE, T.; SUSZTAK, K. **The multifaceted role of kidney tubule mitochondrial dysfunction in kidney disease development.** Trends in cell biology, v. 32, n. 10, p. 841-853, 2022.

EKAMBARAM, S. P. et al. **Repeated oral dose toxicity study on hydrolysable tannin rich fraction isolated from fruit pericarps of *Terminalia chebula* Retz in Wistar albino rats.** Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 92, p. 182-188, 2018.

EL-DEMERDASH, F. M.; EL-SAYED, R.A; ABDEL-DAIM, M.M. **Rosmarinus officinalis essential oil modulates renal toxicity and oxidative stress induced by potassium dichromate in rats.** Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, v. 67, p. 126791, 2021.

ESTRADA-PEÑA, A. **Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology**. Revue scientifique et technique, v. 34, n. 1, p. 53-65, 2015.

FARIAS, J. S. **Mecanismos moleculares da fibrose renal em ratos submetidos à inflamação durante o desenvolvimento: possíveis estratégias terapêuticas**. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

FARRAG, A. R.; SHALBY, S.E. **Comparative histopathological and histochemical studies on IGR, lufenuron and profenofos insecticide albino rats**. Journal of Applied Sciences Research, v. 3, p. 377–86, 2007.

FISHMAN, A. I. et al. **Nephrotoxin-induced renal cell injury involving biochemical alterations and its prevention with antioxidant**. Journal of Clinical Medicine Research, v.4, n. 2, p. 95-101, 2012.

FOIL, L. D. et al. **Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases**. Veterinary Parasitology, v. 125, n. 1/2, p. 163-181, 2004.

FREUND, D. M.; PRENNI, J. E.; CURTHOYS, N. P. **Response of the mitochondrial proteome of rat renal proximal convoluted tubules to chronic metabolic acidosis**. American Journal of Physiology-Renal Physiology, v. 304, n. 2, p. 145-155, 2013.

GARCIA, M. V. et al. **Chemical identification of *Tagetes minuta* Linnaeus (Asteraceae) essential oil and its acaricidal effect on ticks**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 21, n. 4, p. 405–411, 2012.

GHOLAMI-AHANGARAN, M.; AHMADI-DASTGERDI, A.; KARIMI-DEHKORDI, M. **Thymol and carvacrol; as antibiotic alternative in green healthy poultry production**. Plant Biotechnology Persa, v. 2, n. 1, p. 22–25, 2020.

GOTO, T. et al. **Plasma protein extravasation and vascular endothelial growth factor expression with endothelial nitric oxide synthase induction in gentamicin-induced acute renal failure in rats**. Virchows Archiv, v. 444, n. 4, p. 362-74, 2004.

GRAAFF, K. M; VAN D. **Anatomia Humana**. Disponível em: Minha Biblioteca, 6ª edição, Editora Manole, 2003.

GRAY, J. et al. **Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus***. Ticks and Tick-Borne Diseases, v. 4, n. 3, p. 171-80, 2013.

GUAN, X. **The neuroprotective effects of carvacrol on ischemia/reperfusion-induced hippocampal neuronal impairment by ferroptosis mitigation**. The Life of Science, v. 235, p. 116795, 2019.

GUEX, C. et al. **Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) extract: phytochemical characterization, acute and subacute oral toxicity studies in Wistar rats**. Drug and Chemical Toxicology, v. 45, n. 2, p. 810-821, 2022.

GUGLIELMONE, A. A. et al. **The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names**. Zootaxa, v. 2528, n. 1, 2010.

HOHENSTEIN, B.; HUGO, C. **Peritubular capillaries: an important piece of the puzzle**. Kidney International, v. 91, n. 1, p. 9–11, 2017.

HOOGSTRAAL, H. **Physiology of Ticks**. Current Themes in Tropical Science, v. 1, p. 509, 1983.

Insecticide Mode Of Action Training. IRAC MoA Workgroup, v. 1, 2019.

INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION - ILO. **Fichas Internacionais de Segurança Química (FISQ: 0098) - Amitraz**, 2019.

INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION - ILO. **Fichas Internacionais de Segurança Química (FISQ: 0121) - Carbaril**, 2019.

INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION - ILO. **Fichas Internacionais de Segurança Química (FISQ: 0312) - Permetrina**, 2019.

INTERNATIONAL LABOUR ORGANIZATION - ILO. **Fichas Internacionais de Segurança Química (FISQ: 1503) - Fipronil**, 2019.

JUNQUEIRA, J. L. **Basic Techniques of Cytology and Histology**. Livraria Editora Santos; Bookstore Santos, São Paulo, 1983.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 13^a edição. Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan, 2017.

KANURU, S.; SAPRA, A. **Eosinophilia**. StatPearls, 2023.

KOC, S. et al. **Acaricidal activity of *Origanum bilgeri* P.H. Davis (Lamiaceae) essential oil and its major component, carvacrol against adults *Rhipicephalus turanicus* (Acari: Ixodidae)**. Veterinary Parasitology, 2013. 193(1-3), 316–319.

KONIG, I. F. M. et al. **Low concentrations of acetylcarvacrol induce drastic morphological damages in ovaries of surviving *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* ticks (Acari: Ixodidae)**. Micron, v. 129, p. 102780, 2020.

KONIG, I. F. M. et al. **Repellent activity of acetylcarvacrol and its effects on salivary gland morphology in unfed *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* ticks (Acari: Ixodidae)**. Ticks and Tick-Borne Diseases, v. 12, n. 5, p. 101760, 2021.

KONIG, I. F. M. et al. **Sublethal concentrations of acetylcarvacrol strongly impact oocyte development of engorged female cattle ticks *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) (Acari: Ixodidae)**. Ticks and Tick-Borne Diseases, 2019.

KOTÁL, J. et al. **Modulation of host immunity by tick saliva**. Journal of Proteomics, v. 128, p. 58–68, 2015.

KWIATKOWSKA, E. et al. **The Mechanism of Drug Nephrotoxicity and the Methods for Preventing Kidney Damage**. International Journal of Molecular Science, v. 22, p. 6109, 2021.

LAGE, T. C. et al. **Activity of essential oil of *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)**. Parasitology Research, v. 112, n. 2, p. 863–869, 2012.

LARKSHMANAN, H. et al. **Aqueous extract of *Senecio candicans* DC induce liver and kidney damage in a sub-chronic oral toxicity study in Wistar rats**. Regul Toxicol Pharmacol, v. 79, p. 25-34, 2016.

LIMA, A. da S.; LANDULFO, G. A.; COSTA-JUNIOR, L. M. **Repellent Effects of Encapsulated Carvacrol on the *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae)**. *Journal of Medical Entomology*, v. 56, n. 3, p. 881–885, 2019.

LUNA, A. et al. **Effects of feeding thymol and isoeugenol on plasma triglycerides and cholesterol levels in Japanese quail**. *Journal of Animal and Plant Sciences*, v. 28, p. 56– 62, 2018.

MANNA, S. et al. **Single oral dose toxicity study of α -Cypermethrin in rats**. *Journal of Pharmacology*, v. 36, p. 25–8, 2004.

MEERAN, M. F. N. et al. **Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development**. *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, p. 380, 2017.

MILLER, D. L.; DOU, C.; WIGGINS, R. C. **Glomerular Capillary Hemorrhage Induced in Rats by Diagnostic Ultrasound with Gas–Body Contrast Agent Produces Intratubular Obstruction**. *Ultrasound in Medicine and Biology*, v. 35, n. 5, p. 869–877, 2009.

MONTEIRO, C. M. et al. **Acaricidal efficacy of thymol on engorged nymphs and females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae)**. *Parasitology Research*, v. 105, n. 4, p. 1093–1097, 2009.

MOORE, K. L. et al. **Anatomia Orientada para Clínica**, 8ª edição. Disponível em: Minha Biblioteca, Grupo GEN, 2018.

MORITA, M. et al. **Glomerular endothelial cell injury and focal segmental glomerulosclerosis lesion in idiopathic membranous nephropathy**. *Plos One*, v. 10, n. 4, p. 0116700, 2015.

OCDE. Organization for Economic Co-operation and Development. In: CHEMICALS, O. G. F. T. T. O. (Ed.). **Guideline 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents**. Paris: Head of Publications Service, 1995.

OCDE. Organization for Economic Co-operation and Development. In: CHEMICALS, O. G. F. T. T. O. (Ed.). **Guideline 410: Repeated Dose Dermal Toxicity**. Paris: Head of Publications Service, 1981.

OGUNLADE, B. et al. **Cysteine modulates lead acetate-induced hematobiochemical alterations, hormonal imbalance, and ovarian toxicity in adult female Wistar rats.** Drug and Chemical Toxicology, v. 45, n. 4, p. 1606-1613, 2022.

OLIVEIRA, F. R. A. M.. **Ensaio Pré-Clínico com um Derivado Semissintético do Carvacrol: Insumos para o Desenvolvimento De Novos Fitofármacos.** Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufpi.br/xmlui/handle/123456789/121>.

OLIVEIRA, M. V. S. et al. **Sublethal concentrations of acetylcarvacrol affect reproduction and integument morphology in the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae).** Experimental and Applied Acarology, v. 82, n. 2, p. 265–279, 2020.

OTRANTO, D.; WALL, R. **New strategies for the control of arthropod vectors of disease in dogs and cats.** Medical and Veterinary Entomology, v. 22, n. 4, p. 291–302, 2008.

PERAZELLA, M. A. **Renal Vulnerability to Drug Toxicity.** Clinical Journal of the American Society of Nephrology, v. 4, n. 7, p. 1275–1283, 2009.

PIRES, L.F. et al. **Neuropharmacological effects of carvacryl acetate on δ -aminolevulinic dehydratase, Na⁺, K⁺-ATPase activities and amino acids levels in mice hippocampus after seizures.** Chemico-Biological Interactions, v. 226, p. 49-57, 2015.

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

POPKOV, V. A. et al. **Mitochondria as a source and a target for uremic toxins.** International journal of molecular sciences, v. 20, n. 12, p. 3094, 2019.

POTOCNJAK, I.; DOMITROVIC, R. **Carvacrol attenuates acute kidney injury induced by cisplatin through suppression of ERK and PI3K/Akt activation.** Food and Chemical Toxicology, v. 98, p. 251–261, 2016.

- PRADO-OCHOA, M. G et al. **Assessment of acute oral and dermal toxicity of 2 ethyl-carbamates with activity against *Rhipicephalus microplus* in rats.** BioMed Research International, v. 2014, p. 956456.
- PROZIALECK, W.C. et al. **The vascular system as a target of metal toxicity.** Toxicological Sciences, v. 102, n. 2, p. 207-18, 2008.
- RAJ, J. et al. **Acute oral toxicity and histopathological study of combination of endosulfan and cypermethrin in Wistar rats.** Toxicology International. v. 20, n. 1, p. 61-7, 2013.
- RAM, C. et al. **Carvacrol preserves antioxidant status and attenuates kidney fibrosis via modulation of TGF- β 1/Smad signaling and inflammation.** Food and Function, v. 13, n. 20, p. 10587-10600, 2022.
- RAMÍREZ, C. et al. **Assessment and determination of LC50 of carvacrol and salicylic acid analogues with acaricide activity in larvae and adult ticks of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.** Parasite Epidemiological and Control, v. 1, p. 72–77, 2016.
- RAMSEY, J.T. et al. **Essential Oils and Health.** Yale Journal of Biology and Medicine, v. 93, n. 2, p. 291-305, 2020.
- RAY, S. C.; MASON, J.; O'CONNOR P. M. **Ischemic Renal Injury: Can Renal Anatomy and Associated Vascular Congestion Explain Why the Medulla and Not the Cortex Is Where the Trouble Starts?** Seminars in Nephrology, v. 39, n. 6, p. 520-529, 2019.
- REIS, A.C. et al. **Cytotoxic effects of *Satureja montana* L. essential oil on oocytes of engorged *Rhipicephalus microplus* female ticks (Acari: Ixodidae).** Microscopy Research and Technique, v. 84, n. 7, p. 1375-1388, 2021.
- RIBEIRO, V. L. et al. **Acaricidal activity of *Calea serrata* (Asteraceae) on *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus sanguineus*.** Veterinary Parasitology, v. 151, n. 2/4, p. 351–354, 2008.
- RIPPE, B.; FOLKOW, B. **Capillary Permeability to Albumin in Normotensive and Spontaneously Hypertensive Rats.** Acta Physiologica Scandinavica, v. 101, n. 1, p. 72–83, 1977.

ROSADO-AGUILAR, J. A. et al. **Plant products and secondary metabolites with acaricide activity against ticks.** *Veterinary Parasitology*, v. 238, p. 66–76, 2017.

ROSS, M. H.; ROMRELL, L. J. **Histologia - Texto e Atlas.** Médica Panamericana, São Paulo, 1993.

SAADI, L.; LEBAILI, N.; BENYOUSSI, M. **Exploration of cytotoxic effect of malathion on some rat organs structure.** *Communications in agricultural and applied biological sciences*, v. 73, n.4, p. 875-81, 2008.

SALMAN, M. et al. **Repellent and acaricidal activity of essential oils and their components against *Rhipicephalus* ticks in cattle.** *Veterinary Parasitology*, v. 283, p. 109178, 2020.

SANCHES, G. S. et al. **Copulation is necessary for the completion of a gonotrophic cycle in the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae).** *Journal of Insect Physiology*, v. 58, n. 7, p. 1020–1027, 2012.

SAOUDI, M. et al. **Antioxidant and Protective Effects of *Artemisia campestris* Essential Oil Against Chlorpyrifos-Induced Kidney and Liver Injuries in Rats.** *Frontiers in Physiology*, v. 12, p. 618582, 2021.

SAOUDI, M. et al. **Deltamethrin induced oxidative stress in kidney and brain of rats: protective effect of *Artemisia campestris* essential oil.** *Biomed. Pharm*, v. 94, p. 955–963, 2017.

SATARUG, S.; VESEY, D. A.; GOBE, G. C. **Kidney Cadmium Toxicity, Diabetes and High Blood Pressure: The Perfect Storm.** *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, v. 241, n. 1, p. 65–87, 2017.

SCORALIK, M. G. et al. **Enhancing the acaricide effect of thymol on larvae of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) by solubilization in ethanol.** *Parasitology Research*, v. 110, n. 2, p. 645–648, 2011.

SENRA, T. O. S. et al. **Investigation of activity of monoterpenes and phenylpropanoids against immature stages of *Amblyomma cajennense* and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae).** *Parasitology Research*, v. 112, n. 10, p. 3471–3476, 2013.

SHAHBAZ, H.; GUPTA, M. **Creatinine Clearance**. StatPearls, 2023

SHARIFI-RAD, M. et al. **Echinacea plants as antioxidant and antibacterial agents: From traditional medicine to biotechnological applications**. *Phytotherapy Research*, v. 32, n. 9, p. 1653-1663, 2018.

SHEARER, J. J. et al. **Pesticide use and kidney function among farmers in the Biomarkers of Exposure and Effect in Agriculture study**. *Environmental Research*, v. 199, p. 111276, 2021.

SHOURMIJ, M. et al. **Safety assessment of the *Quercus brantii* gall hydroalcoholic extract: Single and repeated oral dose toxicity studies**. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, v. 25, n. 11, p. 1389-1395, 2022.

SILVA, B. C. et al. **Efficacy of carvacryl acetate in vitro and following oral administration to mice harboring either prepatent or patent *Schistosoma mansoni* infections**. *Parasitol Res*, v. 120, n. 11, p. 3837-3844, 2021.

SILVERTHORN, D. **Fisiologia Humana: Uma Abordagem Integrada**. 7ª edição, Artmed, 2017.

SOLIMAN, M. et al. **Protective role of sesame oil against cypermethrin-induced liver and kidney damage in mice**. *Food and Chemical Toxicology*, v. 84, p. 281-289, 2015.

SOLOMONS, T.W.G., FRYHLE, C.B., SNYDER, S.A. **Organic Chemistry**, 12th edition, John Wiley, Hoboken N. J., 2016.

SONENSHINE DE. **Biology of ticks**, vol. 2. New York: Oxford University Press, 1993.

SONENSHINED E. **Biology of ticks**, vol. 1. New York: Oxford University Press, 1991.

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.

SUTHERST, R. W. **Global Change and Human Vulnerability to Vector-Borne Diseases**. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 17, n. 1, p. 136–173, 2004

TABARREI, H. et al. **Evaluation of the acute and sub-acute toxicity of the black caraway seed essential oil in Wistar rats.** Toxicology Reports, v. 6, p. 869-874, 2019.

TAGHIZADEH, M. et al. **Sub-chronic oral toxicity of *Cuminum cyminum* L.'s essential oil in female Wistar rats.** Regulatory Toxicology and Pharmacology, v. 88, p. 138-143, 2017.

TOS-LUTY, S. et al. **Dermal and oral toxicity of Malathion in rats.** Annals of Agricultural and Environmental Medicine, v. 10, p. 101–106, 2003.

WALKER, J. B.; KEIRANS, J. E.; HORAK, I. G. **The genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world.** Cambridge University Press, 2000.

WECHSLER, J. B.; HSU, C. L.; BRYCE, P. J. **IgE- mediated mast cell responses are inhibited by thymol-mediated, activation-induced cell death in skin inflammation.** Journal of Allergy and Clinical Immunology, v. 133, n. 6, p. 1735–1743, 2014.

WIKEL, S. K. **Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission.** International Journal for Parasitology, v. 29, n. 6, p. 851–859, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and guidelines to classification**, 2019 edition, 2020.

ZHAO, W. et al. **Protective effect of carvacrol on liver injury in type 2 diabetic db/db mice.** Molecular Medicine Reports, v. 24, n. 5, p. 74, 2021.