MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

EDMÉIA DE PAULA E SOUZA FREITAS

"A Febre Maculosa no Brasil, uma revisão sistemática da literatura e o monitoramento da resistência aos acaricidas químicos do vetor *Amblyomma cajennense*."

GOIÂNIA

2010

EDMÉIA DE PAULA E SOUZA FREITAS

"A Febre Maculosa no Brasil, uma revisão sistemática da literatura e o monitoramento da resistência aos acaricidas químicos do vetor *Amblyomma cajennense*."

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Ciência da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata.

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando de Freitas Fernandes.

GOIÂNIA

2010

Ministério da Educação
Universidade Federal de Goiás
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Goiás

Ata de Defesa de Dissertação de Mestrado realizada por **EDMÉIA DE PAULA E SOUZA FREITAS**. Aos **quinze dias do mês de abril 2010**, às 08:00 horas, reuniu-se na Faculdade de Medicina, a Comissão Julgadora infra nomeada para proceder ao julgamento da Dissertação de Mestrado intitulada **"A Febre Maculosa no Brasil, uma Revisão da Literatura e o Monitoramento da Resistência aos Acaricidas Químicos do vetor *Amblyomma cajennense*"**, como parte de requisito necessários à obtenção do **título de Mestre**, área de concentração **Dinâmica Processo Saúde-Doença**. O Presidente da Comissão julgadora, **Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata**, iniciando aos trabalhos concedeu a palavra a candidata, para exposição em até **50** minutos do seu trabalho. A seguir, o senhor presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos Examinadores, os quais passaram a arguir a candidata durante o prazo máximo de 30 minutos, assegurando-se ao mesmo igual prazo para responder aos Senhores Examinadores. Ultimada a arguição que se desenvolveu nos termos regimentais, a Comissão, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata aprovada ou reprovada.

Banca Examinadora	**Aprovado (a)/Reprovado(a)**
Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata - Presidente	_____
Prof. Dr. Geraldo Sadoyama Leal – Membro	_____
Profa. Dra. Elaine Reed - Membro	_____
Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira – Suplente	_____
Prof. Dr. Edson Sidião de Sousa Júnior – Suplente	_____

Em face do resultado obtido, a comissão Julgadora considerou acandidata por **EDMÉIA DE PAULA E SOUZA FREITAS** ( ) Habilitada ( ) Não habilitada. Nada mais havendo a tratar, eu Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme foi por todos assinada.

Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata - Presidente	_____
Prof. Dr. Geraldo Sadoyama Leal – Membro	_____
Profa. Dra. Elaine Reed - Membro	_____
Prof. Dr. José Daniel Gonçalves Vieira – Suplente	_____
Prof. Dr. Edson Sidião de Sousa Júnior – Suplente	_____

A banca examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

_____
_____
_____
_____

_____
EDMÉIA DE PAULA E SOUZA FREITAS

Dedico as minhas amadas filhas Aline e Fernanda, estímulos permanentes para os meus ideais.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela permanente ajuda em todas as nossas necessidades.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marco Tulio Antonio Garcia-Zapata pelos ensinamentos, amizade e incentivos durante esta Dissertação.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Fernando de F. Fernandes pela constante ajuda e apoio nos experimentos; atenção e incentivo no processo de crescimento pessoal e profissional.

À Universidade Federal de Goiás (UFG), na pessoa de seu Magnífico Reitor Prof. Dr. Edward Madureira Brasil, em especial ao Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária (LAMV), da UFG, pela valorosa infraestrutura disponibilizada para a realização desta pesquisa científica.

Ao Núcleo de Pesquisa de Agentes Emergentes e Re-Emergentes NUPEREME pelo espaço e oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade Federal de Goiás (UFG). Na pessoa do Coordenador Prof. Dr. Celmo Celeno Porto pela ajuda constante durante todo o mestrado.

Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Valdecina Quirino Rodrigues e Raquel Pereira Vargas pelas constantes ajudas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo investimento na compra de materiais e equipamentos utilizados neste estudo.

À amiga querida Luanna Gonçalves de Paula pela ajuda na revisão sistemática da literatura.

Aos colegas e amigos do LAMV pela amizade e ajuda quando solicitada.

Aos professores e colegas da Pós-Graduação que de alguma forma colaboraram no meu crescimento profissional e, pela saudável convivência.

Às minhas queridas e amadas filhas Aline e Fernanda pela compreensão nos momentos em que não pude estar presente por estar dedicando à realização deste estudo, tão importante para mim.

Aos meus queridos pais Elias de Paula e Souza e Terezinha de Castro e Souza pelo apoio e incentivo.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA iii
AGRADECIMENTOS iv
LISTA DE FIGURAS ix
LISTA DE TABELAS xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS xii
LISTA DE NOMENCLATURA DE TERMOS BIOLÓGICOS xiv
LISTA DE ANEXOS xv
RESUMO xvi
ABSTRACT xviii
1 - INTRODUÇÃO 1
1 .1 - O Histórico das Rickettisioses 1
1. 2 - Relação Espaço e Doença 3
1. 3 - O Agente e a Doença 6
1.4 - A Riquétsia e os Hospedeiros 7
1.5 - O Vetor 8
1.5.1 - Posição Sistemática de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) 11
1.5.2 - Ciclo Biológico de *A. cajennense* 12
1.5.3 - Morfologia de *A. cajennense* 14
1.6 - Mecanismos de Ação dos Acaricidas Químicos Sintéticos, Manifestações Clínicas e Fisiológicas (Homem) e Variabilidade de Toxicidade 16
1.6.1 – Inseticidas Inorgânicos (Tóxicos) 16
1.6.2 - Organossintéticos 17
1.6.2.1 - Organoclorados 17
1.6.2.2 - Organofosforados e carbamatos 18
1.6.2.3 - Piretroides 21
1. 7 - Detecção de Resistência aos Acaricidas Químicos Sintéticos 22
1.8 - Resistência de Ixodídeos a Acaricidas Químicos Sintéticos 23
2 - OBJETIVOS 25
2.1 - Objetivo Geral 25

2.2 - Objetivos Específicos 25
3 - METODOLOGIA 26
3.1 - Área de Estudo Experimental 26
3.2 - Local de Estudo 26
3.3 - Delineamento do Estudo 27
3.4 - Revisão Sistemática da Literatura 27
3.4.1 - Tipo de Estudo 27
3.4.2 - Local 28
3.4.3 -Amostra 29
3.4.3.1 - Fontes de dados e seleção dos descritores 29
3.4.3.2 - Critérios de inclusão e exclusão, estratégia de busca para dados eletrônicos e metodologia da pesquisa..... 29
3.5 - Estudo Experimental 32
3.5.1 - Coleta de *A. cajennense* 32
3.5.1.2 - Obtenção das Larvas 32
3.5.1.3 - Obtenção dos Adultos 33
3.5.2 - Avaliação da Ação dos Acaricidas Químicos Sintéticos sobre *A. cajennense* ... 33
3.5.2.1 – Teste de suscetibilidade dos adultos de *A. cajennense* ao piretroide deltametrina 34
3.5.2.2 - Sensibilidade larval pela metodologia de papéis impregnados (Fernandes et al., 2007) 35
3.6 - Cálculo das Concentrações Letais (CLs) 37
3.7 - Aspectos Éticos e Legais 38
4 - RESULTADOS 39
4.1 – Artigo 1- A Febre maculosa no Brasil, uma revisão sistemática da literatura 39
4.2 - Artigo 2 - Monitoring of the resistance or susceptibility of adult specimens and larvae of *Amblyomma cajennense* (*Fabricius, 1787*) (*Acari: Ixodidae*) to chemical acaricides in Goiás, Brazil. 52
5 - CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS 77
5.1 - Conclusões 77
5.2 - Considerações Finais 78
5.3 - Perspectiva Futura 79
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 80

7- ANEXOS.....92

7.1 - Anexo 1 - Normas de publicação do periódico Cadernos de Saúde Pública.....92

7.2 - Anexo 2 - Normas para Publicação no Periódico Científico Internacional Qualis “B” Apply Exp Acarology.....100

7.3 - Anexo 3 - Ficha de descrição das coletas.....113

7.4 - Anexo 4 - Ficha de descrição das oviposturas.....114

7.5 - Delineamento da Revisão Sistemática da Literatura.....115

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Posição sistemática de A*mblyomma cajennense* na classificação taxonômica.....11

Figura 2. A*mblyomma cajennense.* Ciclo biológico. Destaque na sazonalidade deste ectoparasito (adaptado de PEREIRA; LABRUNA, 1998). 13

Figura 3. Dorso (A) e ventre (B) de macho de *Amblyomma cajennense*. Observar escudo dorsal ornamentado cobrindo todo o dorso, característica desta espécie (NEVES, 2005).. 15

Figura 4. Macho de A*mblyomma cajennense.* (A) Dorso, apresentando festões de 1 a 6 (escudo dorsal cobrindo todo o corpo), Fc, Festão central. Sm, Sulco marginal Barra: 2mm. (B) órgão de Haller, cápsula de Haller (CHO), sensilas: órgãos sensoriais cuticulares (Cph) Barra: 100 micrômetros (BARROS-BATTESTI et al., 2006). 15

Figura 5. Fêmea de *Amblyomma cajennense: (A)* Vista lateral, presença do peritrema (seta); (B) Dorso - escudo dorsal não cobre todo o corpo (seta). 16

Figura 6. Organograma das metodologias do estudo. 27

Figura 7. Fluxograma da Revisão Sistemática da Literatura..... 28

Figura 8. Diagrama de fluxo para a condução de uma RSL (com adaptações de OLSEN, 1995)..... 30

Figura 9. Formulários de aplicação dos Testes de Relevância I e II.....31

4.2. Artigo 2 - Monitoring of the resistance or susceptibility of adult specimens and larvae of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) to chemical acaricides in Goiás, Brazil.. 52

Figure 1. Mortality of the larvae of *A. cajennense* as a result of the effect of different concentrations of the following acaricides: Amitraz (A), permethrin (B), cypermethrin + PBO (C) and deltamethrin (D), respectively, observed at 24 hours of exposure. The squares represent the mean mortality percentages obtained with the different concentrations and the trend line is derived from the log-probit analysis. Y = straight line equation. R^2 = coefficient of determ.....69

Figure 2. Susceptibility of larvae of *A. cajennense* to the different concentrations of the following acaricides: amitraz (A), cypermethrin + PBO (B), permethrin (C) and deltamethrin (D), respectively, observed after 24 hours of exposure. The shape-curves are derived from probit regression analysis..... 69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Apresentação química dos organoclorados. 18

Tabela 2. Apresentação química dos acaricidas carbamatos. 19

Tabela 3. Apresentação química dos compostos organofosforados acaricidas 20

Tabela 4. Apresentação química dos compostos acaricidas piretroides. 22

Artigo 1 - A Febre maculosa no Brasil, uma revisão sistemática da literatura.....39

Tabela 1. Distribuição dos artigos encontrados de acordo com a base de dados em que foram localizados utilizando os descritores preestabelecidos..... 44

Tabela 2. Artigos incluídos e excluídos após aplicação do Teste de Relevância I e II (T.R.I e T.R.II). 44

Tabela 3. Relação dos artigos selecionados para compor a presente revisão sistemática da literatura. 45

Artigo 2 - Monitoring of the resistance or susceptibility of adult specimens and larvae of *Amblyomma cajennense* (*Fabricius, 1787*) (*Acari: Ixodidae*) to chemical acaricides in Goiás, Brazil.....52

Table 1. The toxicological effect of the pyrethroid deltamethrin used at the recommended dose for application in horses (50 ppm) on male and female specimens of *A. cajennense* 66

Table 2. Mortality of *A. cajennense* larvae due to the effect of different acaricidal bases at the doses recommended by the manufacturers for the treatment of ticks. 67

Table 3. Products that in their respective concentrations (%) recommended by the manufacturer resulted in resistance by larvae of *A. cajennense*, as indicated by CL_{50} and CL_{99}. 68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADN.....Ácido desoxirribonucleico

ANOVA.....Análises de Variância

ATPase.....Adenosina Trifosfatase

B.O.D. .....*Biological Oxygen Demand*

BHC.....Hexaclorobenzeno

CL_{50} .....Concentração capaz de matar 50% das larvas testadas

CL_{99} .....Concentração capaz de matar 99% das larvas testadas

CLs..... Concentrações Letais

cm.....Centímetro

DDT.....Dicloro-Difenil-Tricloroetano

FMB.....Febre Maculosa Brasileira

g.....Grama

GFM.....Grupo da Febre Maculosa

GT.....Grupo do Tifo

h.....Hora

IPTSP.....Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

LAMV.....Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária

LILACS..... Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde

LPT.....*Larval Packet Test*

MEDLINE..... *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*

mL.....Mililitro

$\overline{MX}$ .....Mortalidade Média Percentual

NUPEREME...Núcleo de Pesquisa de Agentes Emergentes e Re-Emergentes

Na^+.....Sódio

PPGCS.....Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

RCP.....*Polimerase chain reaction*

R^2.....Coeficiente de determinação

RMSF.....*Rocky Mountain Spotted Fever*

SAEG® .....Sistema para Análises Estatísticas

Scielo.....Scientific Eletronic Library Online

TRI.....Teste de Relevância I

TRII.....Teste de Relevância II

UFG.....Universidade Federal de Goiás

UR.....Umidade Relativa

a.....alfa

LISTA DE NOMENCLATURA DE TERMOS BIOLÓGICOS

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae)

Rhipicephalus (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)

Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)

Rickettsia rickettsii (Rickettsiales: Rickettsiaceae)

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 - Normas para Publicação em Cadernos de Saúde Pública..... 92

ANEXO 2 - Normas para Publicação no *Experimental and Applied Acarology*.. 100

ANEXO 3 - Ficha de descrição das coletas..... 113

ANEXO 4 - Ficha de descrição das oviposturas..... 114

ANEXO 5 – Delineamento da Revisão Sistemática da Literatura..... 115

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma doença infecciosa febril aguda, de gravidade variável, podendo cursar desde formas assintomáticas até formas graves, com elevada taxa de letalidade. A ausência de sinais patognomônicos nesta antropozoonose, que muitas vezes leva ao seu diagnóstico tardio, suscita o ataque do elo mais fraco de sua cadeia epidemiológica seu vetor. No Brasil, o principal vetor da *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da Febre Maculosa da Região Neotropical é o ixodídeo *Amblyomma cajennense.* Neste trabalho foi feita uma revisão sistemática da literatura abordando a temática da epidemiologia da FMB no Brasil. Com finalidade de subsidiar o controle do vetor monitorou-se a resistência do mesmo aos principais produtos acaricidas utilizados em seu controle. A revisão sistemática da literatura foi feita utilizando artigos científicos que abordam a temática da FMB no Brasil, pesquisando nas bases de dados Biblioteca Cochrane, LILACS, MEDLINE e SciELO. Utilizando como descritores *Amblyomma cajennense*; Febre Maculosa; *Rickettsia rickettsii*. Participaram da revisão artigos publicados na língua inglesa e portuguesa do Brasil que apresentaram os descritores. Na parte experimental para avaliar a suscetibilidade e resistência dos acaricidas químicos sintéticos, foram obtidas larvas de teleóginas de *A. cajennense.* Estas foram coletadas de cavalos naturalmente infestados e livres de resíduos acaricidas há pelo menos 45 dias, em fazendas pertencentes a cinco municípios do Estado (Caldas Novas, Hidrolândia, Goiás, Terezópolis e Goiânia). As larvas foram expostas a diferentes concentrações das 12 formulações acaricidas comerciais, pelo método de "*Larval Packet Test*" (*LPT*). Para verificar o possível desenvolvimento de resistência de adultos de *A. cajennense* ao piretroide deltametrina, principal base carrapaticida comercializada em Goiás para o controle de carrapatos na região. Machos e fêmeas, adultos, de *A. cajennense* em jejum foram coletados em folhas de arbustos em uma trilha ecológica, no município de Caldas Novas, Goiás, Brasil. Estes foram submetidos a diferentes concentrações de deltametrina, através de imersão e posterior contato com papel filtro impregnado. Os grupos controles foram submetidos apenas à água destilada. Os bioensaios foram realizados em quadruplicata, a 27ºC, UR > 80% e 12h de luz. Através da Revisão

Sistemática da Literatura verificou-se que não há registros ou mesmo estudos sistemáticos da Febre Maculosa no Brasil; até o momento o número de casos relatados na literatura são inferiores aos que a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde tem divulgado. Os dados levantados pela revisão sugerem que novas investigações e estudos sejam feitos, pois a distribuição desta doença pode ser mais ampla do que se supõe. Foi observado, nos bioensaios, que a mortalidade média percentual ($\overline{MX}$) de 72,6% dos adultos após 24 h de exposição à dosagem de deltametrina prescrita pelo fabricante, caracterizando o "status de resistência" à deltametrina. Os machos mostraram-se mais suscetíveis que as fêmeas ao piretroide. $\overline{MX}$ de 82%, 89%, 89.6% e 90% das larvas foram obtidas, respectivamente, por deltametrina; cipermetrina + butóxido de piperolina; amitraz e permetrina, caracterizando o "status de provável resistência" larval a estes acaricidas. As associações de cipermetrina com citronelal e com butóxico de piperolina não interferiram significativamente na capacidade letal desse piretroide para larvas do vetor. Mortalidade significativa não foi evidenciada nos grupos controles (p = *0,05*). Os resultados suscitam a realização de estudos para o desenvolvimento de medidas alternativas de controle integradas, mais eficientes e de menor impacto ambiental, para o controle deste vetor.

Palavras-Chaves: *Amblyomma cajennense*, Febre maculosa, acaricidas químicos.

ABSTRACT

Brazilian Spotted Fever (BSF) is an acute, infectious, febrile disease of varying severity, its course ranging from asymptomatic cases to severe clinical forms with a high lethality rate. The absence of pathognomonic signs in this anthropozoonosis often results in late diagnosis, thereby serving as a stimulus for investigators to focus their attention on the weakest link of its epidemiological chain, the vector. In Brazil, the principal vector of *Rickettsia rickettsii*, the etiological agent of spotted fever in the New World, is the ixodid tick *Amblyomma cajennense.* In the present study, a systematic literature review was performed to search for publications on the epidemiology of BSF in the country. With the objective of improving control of the vector, its resistance to the principal acaricides applied against this tick was monitored. The systematic literature review was performed by searching for scientific papers dealing with BSF in the Cochrane Library, LILACS, MEDLINE and SciELO databases, using the keywords *Amblyomma cajennense*, Brazilian spotted fever and *Rickettsia rickettsii*. The search included articles published in English and Brazilian Portuguese that contained these keywords. To evaluate susceptibility and resistance to the synthetic acaricides, larvae had to be obtained from engorged female specimens of *A. cajennense* collected from naturally infested horses that had been free of acaricidal residue for at least 45 days, on farms belonging to five municipalities of the state of Goiás (Caldas Novas, Hidrolândia, Goiás, Terezópolis and Goiânia). The larvae were exposed to different concentrations of 12 commercially available acaricidal formulations using the larval packet test (LPT). The possible development of resistance of adult specimens of *A. cajennense* to the pyrethroid deltamethrin, the principal acaricide on the market in Goiás for the control of ticks in the region, was also evaluated. Unfed adult male and female specimens of *A. Cajennense* were collected on leaves of bushes along a nature trail in the municipality of Caldas Novas, Goiás, Brazil. They were immersed in different concentrations of deltamethrin and then placed in contact with filter paper impregnated with the substance. The control groups were exposed to distilled water alone. The bioassays were performed in quadruplicate at a temperature of 27^{o}C, relative air humidity >80% and 12-hour light/dark cycles. From the systematic literature review, it was found that

there are no records or even systematic studies of BSF in Brazil up to the present moment and the number of cases reported in the literature is lower than the figures published by the health surveillance authorities of the Ministry of Health. The data collected in this review should serve to stimulate investigators to design new studies and carry out further work, since the distribution of this disease may be more widespread than is currently supposed. Results from the bioassays showed a mean percentage of mortality ($\overline{MX}$) of 72.6% of the adult specimens after 24 hours of exposure to the dose of deltamethrin prescribed by the manufacturer, characterizing a "*status of resistance*" to deltamethrin. The males were found to be more susceptible to this pyrethroid compared to the females. $\overline{MX}$ of 82%, 89%, 89.6% and 90% of the larvae were obtained, respectively, with deltamethrin, cypermethrin + piperonyl butoxide, amitraz and permethrin, characterizing a "*status of probable resistance*" of the larvae to these acaricides. The combination of cypermethrin with citronellal and with piperonyl butoxide did not significantly affect the lethal capacity of this pyrethroid against the larvae of this vector. Significant mortality was not found in the control groups (p = *0.05*). These results encourage new studies to be conducted to develop alternative methods of integrated control of this vector that would be more effective and have less harm on the environment.

Keywords: *Amblyomma cajennense*, Brazilian spotted fever, chemical acaricides.

1- INTRODUÇÃO

1.1- O Histórico das Rickettisioses

As riquetsioses são doenças causadas por bactérias da família *Rickettsiaceae*, constituída pelos gêneros *Rickettsia, Orientia, Coxiella, Bartonella (Rochalimaea* pela nomenclatura anterior), *Ehrlichia* e *Anaplasma*.

O estudo da epidemiologia dessas doenças torna se importante para o conhecimento dos focos naturais das zoonoses, estabelecendo assim, os fatores de riscos existentes em determinados ecossistemas, a circulação de agentes entre os animais domésticos e silvestres, a importância do diagnóstico dessas doenças nestes animais sudsidiando as ações dos serviços de Saúde Pública no país. As doenças transmitidas por carrapatos vêm sendo um importante problema de saúde pública no mundo. O interesse mundial pelas infecções humanas causadas pelo gênero Rickettsia é crescente devido ao fato de que a sua incidência e distribuição são maiores do que os estimados preliminarmente (GALVÃO et al., 2003).

Os casos de Riquetsioses são encontrados em todos os continentes, com exceção da Antártida. Casos humanos de infecção causadas por riquétsias, do gênero *Rickettsia*, cuja associação a artrópodes vetores como pulgas, piolhos, carrapatos e ainda ácaros, ampliam a sua distribuição em todo o mundo. O caráter altamente epidêmico é o que determina a gravidade da doença, levando a uma alta taxa de letalidade (DIAS; MARTINS, 1939).

Desde a década de 20, o Brasil apresenta histórico de doença riquetsial, sendo a Febre Maculosa Brasileira (FMB) a mais severa das riquetsioses descritas. Esta antropozoonose é considerada a mais prevalente doença riquetsial no Brasil (LEMOS et al., 2001).

As riquetsioses são bastante lembradas por terem causado a morte de pesquisadores no início de sua investigação. A epidemia do tifo exantemático, que pertence ao grupo das riquetsioses, não poupou diversos cientistas, dentre eles, o brasileiro Henrique da Rocha Lima, convidado durante a 1ª Grande Guerra (1914-1918) pela Alemanha para esclarecer sobre a epidemia. Este pesquisador sobreviveu à doença após um grande período de convalescença, tendo se tornado famoso internacionalmente pela descorberta da causa do tifo exantemático, doença transmitida pelo piolho do corpo que atingia combatentes e prisioneiros de guerra na Europa (MONTEIRO, 1932).

Os pesquisadores Stanislaus Von Prowazek's autraliano, e o norte-americano Howard Talor Ricketts, não tiveram a mesma sorte que o brasileiro. Ambos foram mortos por infecção de tifo exantemático, sendo Prowazek's o responsável pela descoberta do patógeno do tifo exantemático e adquiriu a doença enquanto trabalhava com Rocha Lima em um hospital de prisioneiros na Alemanha, em 1915. Ricketts foi o primeiro a estabelecer a identidade do organismo causador da "Rocky Mountain Spotted Fever" (RMSF), outra riquetsiose, e as características epidemiológicas incluindo o papel do carrapato como vetor. Por essa razão, os microorganismos foram nominados, em homenagem aos cientistas, *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia rickettsii*, respectivamente. Charles Nicolle's em 1909 foi o pioneiro no desenvolvimento da vacina. Este foi o responsável pela descoberta de que o tifo clássico epidêmico era transmitido pelo piolho do corpo o que contribuiu na distinção entre o tifo murino, transmitido pela pulga do rato. Nicolle's isolou o agente causador da doença e desenvolveu uma vacina, a qual, infelizmente se mostrou ineficaz. Ganhou em 1928 o Prêmio Nobel de Medicina (FALCÃO, 1966).

No Brasil a Febre maculosa causou a morte de pesquisadores, em 1935 o pesquisador José Lemos Monteiro da Silva e seu auxiliar Édson Dias, do Instituto

Butantã foram infectados no laboratório quando trituravam carrapatos infectados para a produção de vacina contra a doença, falecendo alguns dias depois de internados no Hospital de Isolamento, hoje Hospital Emílio Ribas (FALCÃO, 1966).

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) representa um sério risco epidemiológico devido às altas taxas de letalidade apresentadas. É uma doença rara, porém em ascensão, com o número de pessoas diagnosticadas aumentando desde 1996, quando se tornou obrigatória a sua notificação na região de Campinas, São Paulo, e a nível nacional, no ano de 2002. Estima-se que a maior parte dos casos não é diagnosticada e que os dados disponíveis são provavelmente inferiores a real incidência. Esta antropozoonose continua sendo um importante problema de Saúde Pública, por estar estreitamente relacionada ao meio ambiente humano (GALVÃO, 1988).

1.2 - Relação Espaço e Doença

Do final do século XVIII a primeira metade do século XIX, na Europa encontramos os pilares da Medicina Social alicerçados nos modelos da Medicina Urbana Francesa, Medicina de Estado Alemã e da Medicina da Força de Trabalho Inglesa (ALMEIDA FILHO; ROUQUAYROL, 1992) surgidas com o intuito de minimizar as consequências trazidas pela Revolução Industrial à população da Europa, com a rápida expansão desordenada de grandes massas nos centros urbanos em condições bastante precárias de vida e de saúde. Chadwik, principal representante e autor da reforma sanitária da época, concluiu que essa intervenção não deveria afetar o modo de produção vigente, e sim, discipliná-lo de modo a coibir seus efeitos nocivos sobre as condições de saúde do proletariado. Chadwick, então, interpreta a doença como resultante de inadequações na estrutura urbana que

poderiam ser corrigidas através de uma legislação sanitária bem organizada (RINGEN, 1970).

John Snow estabeleceu pela primeira vez, os princípios da investigação epidemiológica ao analizar, separadamente, as características de tempo, lugar e pessoa, isolando um a um os fatores intervenientes e comparando as características de locais e pessoas afetados pelas epidemias de cólera ocorridas em Londres (SNOW, 1967).

Com o surgimento da Microbiologia, no final do século XIX, que parecia ter a capacidade de ampliar os determinantes da doença, porém a mesma acabou restringindo-se em descrever a Teoria dos germes e o ciclo das infecções, mascarando a natureza simultaneamente biológica e social da doença, proposto pela ala liberal da teoria do Anticontágio no advento da Medicina Social (GALVÃO, 1988).

Pavlovsky, parasitologista russo, na década de 30, desenvolve a teoria dos focos naturais das doenças transmissíveis. Este pesquisador percebeu que extensas áreas do território da então União Soviética estavam sendo devastadas e exploradas, emergindo, como consequência, graves problemas de saúde pública, tais como a eclosão da leishmaniose na Ásia Central e as encefalites por arbovírus na Sibéria. Estabeleceu-se, a partir daí, o conceito, ainda que de cunho ecologista, de que o espaço era o cenário no qual circulava o agente infeccioso, a patobiocenose, este cenário era classificado em natural, ou intocado pela ação humana, e antropopúrgico, alterado pela ação humana (PAVLOVSKY, 1965).

As alterações do espaço, ou paisagem, determinam modificações ecológicas na patobiocenose, alterando a circulação do agente infeccioso (GALVÃO, 1988).

Os sucessos da moderna tecnologia microbiológica como as drogas antimicrobianas, vacinas, inseticidas, dentre outros, durante e logo após a 2ª Guerra Mundial, abriram a era dos pacotes tecnológicos para o controle das doenças, não levando em consideração que muitas vezes uma mesma doença pode assumir características diferentes conforme o local e população acometidos. Com isso surgiram as teorias "ecológico-geográficas", que buscavam na própria variabilidade da natureza a explicação para as variabilidades das doenças, iniciando o movimento chamado de "Geografia Médica" (SILVA, 1985).

As variantes ecológico-geográficas, também falharam por prescindirem de uma visão antropológica e social. Assim sendo, elas conseguem analisar no máximo a questão das paisagens modificadas pelo homem, não conseguindo entrar no problema das paisagens organizadas (GALVÃO, 1996).

A partir da constatação que a Epidemiologia é uma só, no estudo dos determinantes da ocorrência e distribuição das doenças, o que deve variar são os processos explicativos empregados em cada estudo. Dentro deste enfoque, a introdução de concepção de espaço se aplica como categoria de análise do processo saúde-doença. A grande questão passa a ser a compreensão da doença nos espaços ocupados e transformados pelo homem. Ainda que os primeiros investigadores dentro da linha da teoria dos focos naturais de Pavlovsky buscassem identificar padrões paisagísticos que permitissem antever as doenças existentes, a aceleração da intervenção humana no espaço natural se faz de maneira tão rápida, criando novos e mutáveis padrões de organização espacial, que o tratamento dado por Pavlovsky ao espaço se tornou rapidamente obsoleto, uma vez que o espaço natural praticamente passou a não mais existir (SILVA, 1985).

A teoria dos focos naturais de Pavlovsky deixa implícito que há um conjunto de relações no interior da paisagem responsáveis pela ocorrência da doença, e à luz dos conceitos geográficos de George e Dollfus, permite a elaboração de um conceito operacional de espaço extremamente rico para a análise epidemiológica, incorporando os determinantes naturais e sociais numa visão de totalidade, permitindo, dessa forma, a análise do espaço e de suas transformações como ponto central da análise (SILVA, 1997).

1.3- O Agente e a Doença

Sabe-se que as riquetsioses são causadas por parasitas intracelulares obrigatórios com características de bactérias gram-negativas (HACKSTADT el al., 1992).

As riquétsias são bactérias que se especializaram em nichos ecológicos muito restritos e, seu ciclo natural, depende apenas de um hospedeiro, geralmente um artrópode (BACELLAR, 1996).

Estes parasitas pertencem às a-proteobactérias, descritos inicialmente como pequenos bastonetes e bacilos (0,3 x 1,5µm), que retêm a fucsina básica quando corado pelo método Gimenez (GIMENEZ, 1964) e que são fracamente corados pelo método ou coloração de Gram. Podem estar agrupados em pares, em cadeias, ou isolados. Com exceção da *R. prowazekii*, causadora de tifo, não apresentam flagelos, residindo em glândulas salivares e ovários do artrópode hospedeiro (BILLINGS et al., 1998).

1.4 - A Riquétsia e os Hospedeiros

Vários grupos de mamíferos são incriminados na participação do ciclo da FMB como hospedeiros de riquétsias, tais como: os cães, gatos, cavalos, capivaras, marsupiais, roedores silvestres, morcegos e outros (DIAS; MARTINS, 1939).

A transmissão de potógenos do carrapato para o hospedeiro se dá através da saliva do carrapato, que exerce importância fundamental no sítio de inoculação, ao minimizar as reações imunológicas do hospedeiro contra o patógeno inoculado (LABRUNA et al., 2004).

No Brasil o gênero *Amblyomma* é um dos principais vetores que transmitem a FMB aos seus hospedeiros. O parasitismo em humanos está associado a altas infestações desse carrapato aos hospedeiros primários (LABRUNA et al., 2002).

O *A. cajennense* além de parasitar humanos e animais domésticos também pode ser encontrado em muitos vertebrados silvestres com: roedores, edentados e outras espécies de pequenos mamíferos (ROJAS et al.,1999). São apresentados como hospedeiros primários os equinos, as antas e capivaras (LABRUNA et al., 2002).

Os pássaros migradores também participam da circulação de riquétsias, por transportarem os ectoparasitas infectados a grandes distâncias, causando focos pontuais de infecção em zonas não endêmicas, podendo estabelecer novos focos se os ixodídeos se adaptarem à nova área geográfica (BURGDORFER, 1975; REHACEK; TARASEVICH, 1991; NICE, 1994).

Entre os animais domésticos, o cão é considerado de grande importância na epidemiologia da FM (BURGDORFER, 1975). Por desempenhar um papel fundamental na manutenção e dispersão dos vetores infectados, e por estar

envolvido na transmissão peridomiciliar de doenças riquetsiais ao transportar para dentro do domicílio carrapatos infectados (MACDADE; NEWHOSE, 1986).

Além da existência de hospedeiros mamíferos, a atividade humana tem um importante papel no surgimento e expansão das riquetsioses. Com o reflorestamento feito com arbustos e a prática agrícola de criar pequenos bosques intercalados com monoculturas de gramíneas favorece a proliferação de artrópodes devido à formação de microclimas, a qual gera um habitat apropriado para os mamíferos hospedeiros dos estádios intermediários. No estado de Virgínia, EUA, com o aumento de áreas reflorestadas com espécies arbóreas de folhas caducas, observou-se um aumento de casos de febre maculosa das Montanhas Rochosas, pois estas árvores produziam mais umidade do que as pináceas, favorecendo o aumento dos ixodídeos e dos hospedeiros (ATWOOD et al., 1965; SONENSHINE et al., 1972).

1.5 - O Vetor

A maioria das espécies de riquétsias patogênicas ao homem, assim como as riquétsias não patogênicas, tem como vetores e reservatorios naturais artrópodes hematófagos restritos da família Ixodidae. Com exceção da *R. akari*, transmitida por ácaros e *R. felis*, transmitida por pulgas, as demais espécies são transmitidas por carrapatos (OLIVER, 1984).

A maior parte dos carrapatos ocupa ninchos ecológicos abertos, estando sujeitos aos fatores ambientais e as condições climáticas. Este fato no decorer da evolução foi o que contribuiu para o desenvolvimento de uma incrível capacidade de adaptação às condições desfavoráveis como a falta de alimento, as mudanças climáticas, a procura por hospedeiro e o reconhecimento de períodos sazonais

propícios para o início de postura e ecdise (fotoperiodismo). Sua longevidade e elevada taxa de reprodução são fatores que contribuem para a densidade populacional elevada em determinadas áreas geográficas, garantindo assim sua sobrevivência (FRIEDHOFF, 1990).

Os carrapatos têm uma especificidade mais ou menos restritas com os seus hospedeiros (KATZ et al., 1994). A especificidade parasitária depende não só das espécies envolvidas, como também do seu estádio de desenvolvimento. Nos estádios larvais e ninfais a área geográfica de dispersão por si só é restrita e a capacidade de picar é determinada pelas dimensões do aparelho bucal (KAUFMAN, 1989). Os adultos de algumas espécies de carrapatos têm a característica de se dispersarem à procura do hospedeiro, enquanto que outras espécies ficam próximas à área onde ocorreu a muda, subindo na vegetação a espera do hospedeiro para se fixar nele (LANE; STABBS, 1990; BELAN; BULL, 1991).

A família Ixodidae engloba a maioria das espécies de carrapatos do Brasil, dentre eles, os gêneros *Boophilus*, *Anocentor* e *Rhipicephalus*, cada um representado por uma única espécie. As espécies dos gêneros *Ixodes* e *Haemaphysalis* estão restritas a aves e mamíferos silvestres, não havendo registros de parasitismo humano no Brasil. O gênero *Amblyomma*, o mais numeroso do Brasil (33 espécies), é o de maior importância médica, já que inclui as principais espécies que parasitam humanos neste país. Dentre elas, destacam-se *Amblyomma cajennense*, *A. aureolatum* e *A. cooperi*, que estão incriminadas na manutenção enzoótica e na transmissão da febre maculosa para humanos (DIAS; MARTINS, 1939; LEMOS et al., 2001).

A antropofília relativa dos ixodídeos e sua prevalência em uma determinada área desempenham um papel determinante na transmissão de agentes patogênicos.

Alguns autores consideram ser muito comum que a presença de carrapatos na fase de ninfa, não seja notada, não só devido às dimensões reduzidas dos estádios intermediários, mas também porque a picada é indolor, sendo este fato de grande importância para a transmissão efetiva dos agentes infecciosos ao homem. Estudos efetuados com *R. rickettsii* e *R. conorii* demostraram que para haver transmissão do agente etiológico, é necessário em média 4 horas de parasitismo pelo artrópode. Assim os estágios imaturos passam despercebidos durante mais tempo, devido a sua pequena dimensão (RICKETTS, 1909; MCDADE; NEWHOUSE, 1986).

A transmissão por via mecânica também pode ocorrer, por maceração de um ixodídeo infectado e a contaminação das mucosas com este material. Esta probabilidade aumenta proporcionalmente ao tempo em que o ixodídeo permanece parasitando o hospedeiro, seja ele animal ou humano (COMER, 1991).

O ixodídeo pode se infectar com riquétsias por diferentes mecanismos tais como, ingerindo estas durante o repasto sanguíneo num hospedeiro vertebrado infectado e riquetsêmico ou adquirindo estas por via transovariana ou transestadial (BURGDORFER, 1975; REHACEK, 1989; REHACEK, 1991). A coinfecção de ixodídeos por via alimentar, também foi evidenciada, colocando carrapatos infectados se alimentando simultaneamente com outros não infectados sobre um mesmo hospedeiro saudável (PRICE, 1954). Comprovou-se que a infecção primária de um ixodídeo por via alimentar depende da quantidade de riquétsias que ingere juntamente com o sangue. Quando ingeridas em quantidades suficientes as riquétsias ultrapassam a barreira intestinal e penetram na hemocelé, onde são fagocitadas pelos hemócitos (BURGDORFER, 1970; BURGDORFER, 1975; BURGDORFER; BRINTON, 1975).

1.5.1 - Posição Sistemática de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae).

Amblyomma cajennense é classificado no filo Artropoda, classe Arachinda, ordem Acari, subordem Ixodides, família Ixodidae, gênero *Amblyomma*, espécie *Amblyomma cajennense* (Figura 1). A ordem Acari compreende artrópodes que apresentam características como corpo fundido, dorso achatado ventralmente, peças bucais situadas no gnatossoma ou falsa cabeça e os estigmas ou aberturas traqueais são geralmente abdominais. Estes incluem os carrapatos (ixodídeos), os ácaros das sarnas, dos grãos e do pó domiciliar e também os "micuins" (larvas de *A. cajennense*) e "piolhinhos" de ninhos de aves (COSTA; BOTELHO 2005).

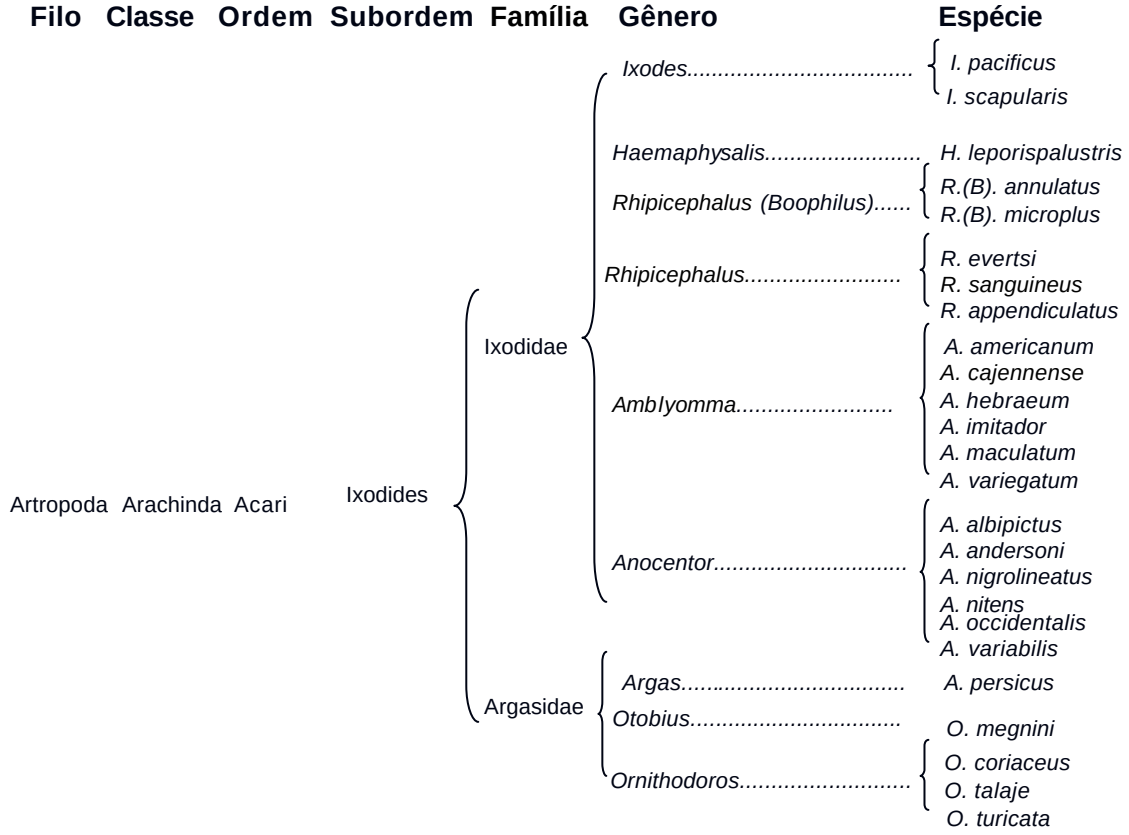


Figura 1. Posição sistemática de *Amblyomma cajennense* na classificação taxonômica. (com adaptações de NEVES, 2005).

1.5.2 - Ciclo Biológico de *A. cajennense*

O *A. cajennense* é conhecido na fase adulta como “carrapato-estrela”, devido o seu escudo dorsal. Também é conhecido como “roduleiro”. Suas ninfas são conhecidas como “vermelinhos” e suas larvas, como “micuins” (NEVES, 2005). Estes são encontrados comumente parasitando humanos, causando grande irritação e prurido, sobretudo ao frequentarem beiras de rios, frequentados por equinos e capivaras infestadas, estes ultimos são, hospedeiros usuais do *A. cajennense.*

Esta espécie tem um ciclo trioxeno, necessitando de três hospedeiros para completarem seu ciclo. As teleóginas, que são fêmeas ingurgitadas, repletas de sangue, depois de fecundadas, desprendem-se do hospedeiro, caindo no solo onde estão prontas para realizar a ovipostura única em torno de 5.000 a 10.000 ovos. Após ovipor, elas morrem. Após o período de incubação de 30 dias à temperatura de 25ºC, ocorre a eclosão dos ovos e nascimento das ninfas hexápodes, que possuem três pares de patas, também chamadas de larvas. Elas sobem pelas gramíneas, arbustos e árvores, à espera dos hospedeiros. Após sugar o sangue do hospedeiro por um período que varia de 3 a 6 dias, desprendem-se deste e no solo ocorre a ecdise de 18 a 26 dias, transformando-se no estágio seguinte que é a ninfa octópode, que possui quatro pares de patas. As ninfas fixam-se em um novo hospedeiro e em 6 dias ingurgitam-se de sangue, desprendem-se do hospedeiro e no solo, sofrem nova ecdise, o que leva mais 23 a 25 dias, transformando-se no carrapato adulto (NEVES, 2005). *A. cajennense* completa apenas uma geração por ano, com os três estágios parasitários marcadamente distribuídos ao longo do ano (LABRUNA et al., 2002). As larvas predominam nos meses de março a julho, as

ninfas de julho a novembro e os adultos nos meses quentes e chuvosos, de novembro a março (Figura 2) (PEREIRA; LABRUNA, 1998).

Os cavalos que se encontram em ambiente rural são considerados os hospedeiros com maior afinidade parasitária, porém a nível silvestre o hospedeiro mais comumente encontrado por infestação deste carrapato, são as capivaras. Todavia este ixodídeo, que possui baixa especificidade parasitária, parasita animais domésticos, como vacas, cães, galinhas, perus, porcos, cabras, carneiros e, animais silvestres como gambás, ratos, coelhos, lebres, pacas, cotias, tatus, tamanduás e aves em geral (OYAFUSO et al., 2002, MARTINS et al., 2006).

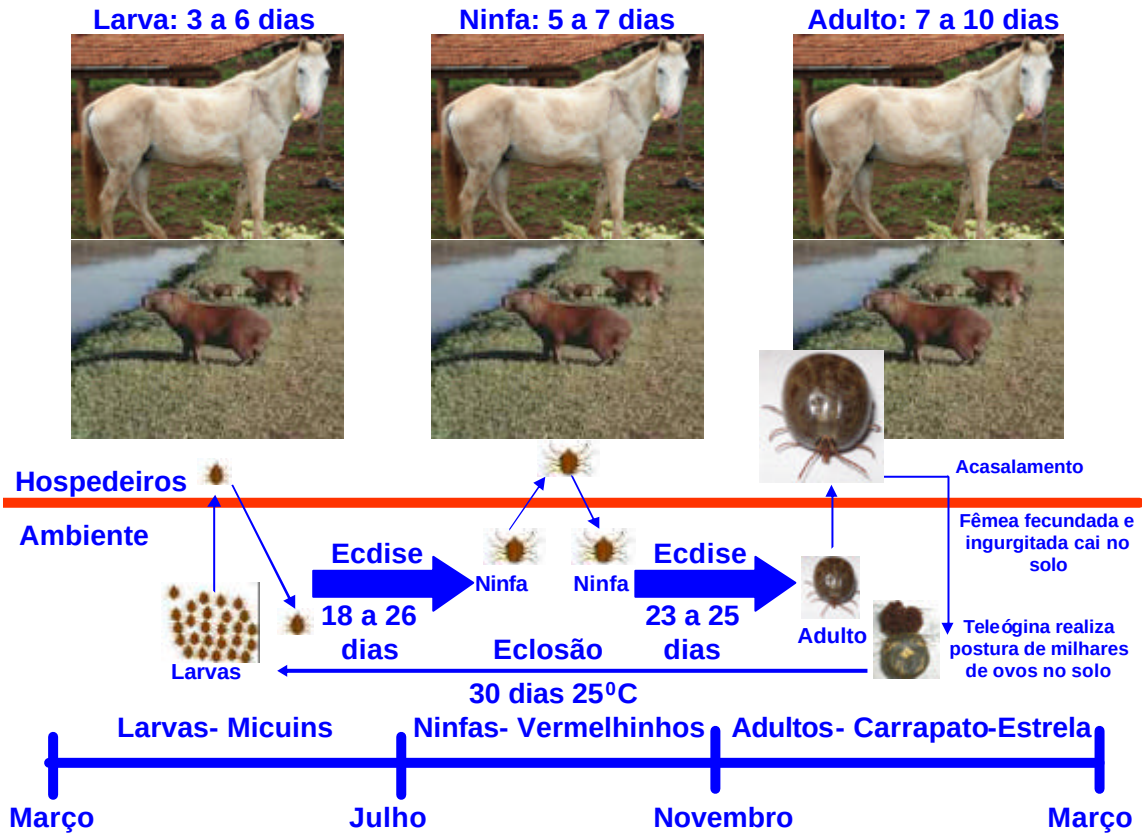


Figura 2. *Amblyomma cajennense*. Ciclo biológico. Destaque na sazonalidade deste ectoparasito (adaptado de PEREIRA; LABRUNA, 1998).

O homem é intensamente atacado pelas larvas e ninfas desta espécie. As picadas são inicialmente indolores, depois vem a reação alérgica intensa. O seu tamanho dificulta a observação, porém, os adultos são relativamente grandes, o que facilita a sua localização e sintomatologicamente suas picadas são extremamente doloridas (CAMARGO-NEVES et al., 2004).

1.5.3 - Morfologia de *A. cajennense*

Os machos apresentam um escudo ornamentado, sulco marginal completo e distinto, limitando posteriormente os festões. As coxas do primeiro par de patas apresentam dois espinhos diferentes do quarto par de patas um espinho longo (Figuras 3A e B). O escudo dorsal é castanho com faixas esbranquiçadas ou acobreadas e que dão á região anterior o aspecto de um pseudo-escudo (Figura 4A) (FLECHTMANN, 1973). Nos tarsos do primeiro par de patas localizam-se sensilas quimioreceptoras e o órgão de Haller, que possui células olfatórias receptoras no qual detectam a umidade e odores estimulantes ao ácaro, tais como o cariomônio, CO_2 e feromônios (Figura 4B) (NEVES, 2005).

As fêmeas apresentam um escudo dorsal subtriangular, sem vestígios de depressões laterais, de coloração castanho-escura e com manchas esbranquiçadas ou acobreadas, contínuas na parte médio-posterior. As coxas do primeiro par de patas apresentam dois espinhos subiguais e as do quarto par de patas um espinho. Atrás do quarto par de patas observa-se o estigma respiratório, abrindo-se em peritrema (Figura 5A) (FLECHTMANN, 1973).

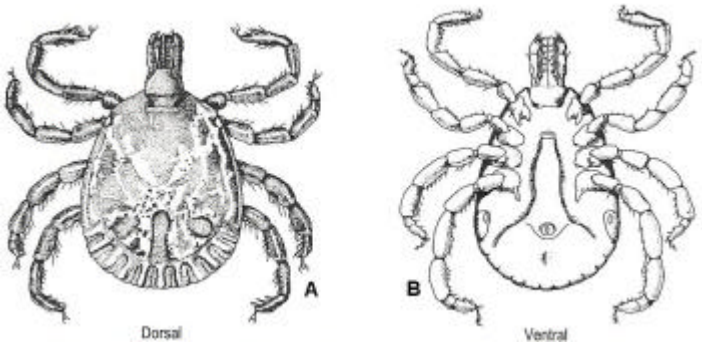


Figura 3. Dorso (A) e ventre (B) de macho de *Amblyomma cajennense*. Observar escudo dorsal ornamentado cobrindo todo o dorso, característica desta espécie (NEVES, 2005).

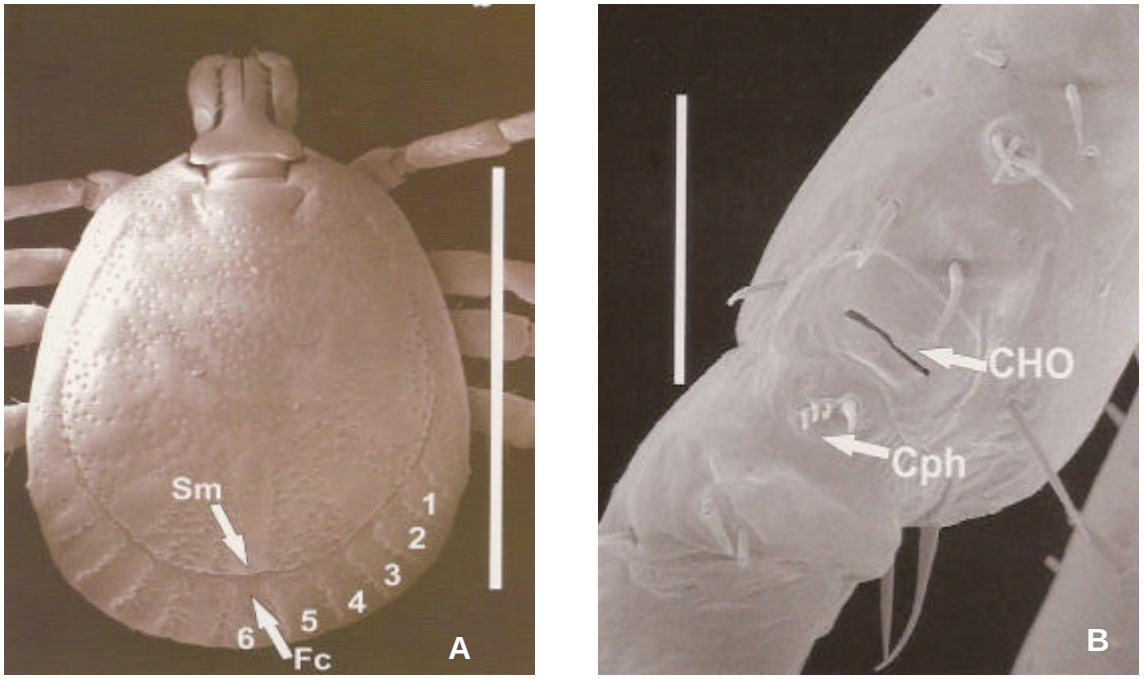


Figura 4. Macho de *Amblyomma cajennense.* Dorso (A), apresentando festões de 1 a 6 (escudo dorsal cobrindo todo o corpo), Fc, Festão central. Sm, sulco marginal Barra: 2mm. (B) Órgão de Haller, cápsula de Haller (CHO), sensilas: órgãos sensoriais cuticulares (Cph) Barra: 100 micrômetros (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

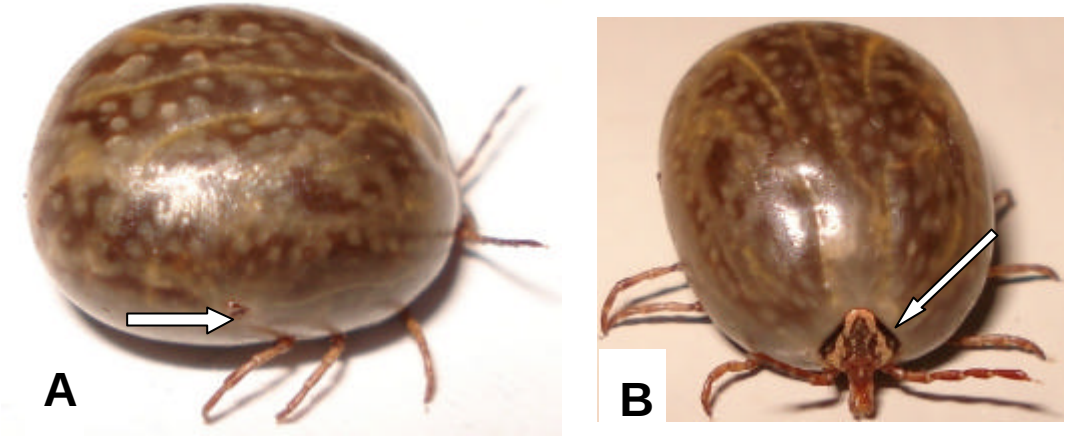


Figura 5. Fêmea de *Amblyomma cajennense:* (A) Vista lateral, presença do peritrema (seta). (B) Dorso - escudo dorsal não cobre todo o corpo (seta).

1.6 - Mecanismos de Ação dos Acaricidas Químicos Sintéticos, Manifestações Clínicas e Fisiológicas (Homem) e Variabilidade de Toxicidade.

1.6.1 - Inseticidas inorgânicos (Tóxicos)

Os inseticidas inorgânicos mais utilizados foram os arseniatos de cálcio e chumbo (verde Paris), cupratos (calda bordalesa), enxofre em pó, vários sulfatos, cal, fluorsilicato de bário, aminosselenossulfito de potássio (criolite) e óleos minerais. Os arseniatos são extremamente tóxicos ao homem, animais superiores e ambiente como um todo, estando portanto atualmente em desuso (VIEIRA; FERNANDES, 1999; VIEGAS JÚNIOR, 2003).

Os inseticidas inorgânicos podem provocar no homem e animais intoxicados, lesões renais e irritação da cavidade oral e da via gastrointestinal. Em geral, a intoxicação está relacionada à forma do metal, à via de exposição e o modo de excreção. Uma das exceções a este princípio é o chumbo, que se concentra nos ossos, mas não apresenta toxidez neste tecido. Há evidências que o arsênio, o

cromo e o níquel possam causar câncer em seres humanos. Cádmio e o berílio presentes nestes compostos também são considerados prováveis agentes carcinogênicos (CRAIG; STITZEL, 1996).

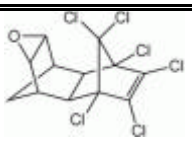
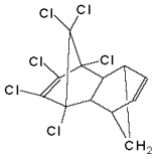
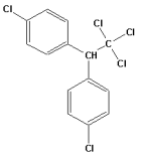
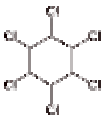
1.6.2 - Organossintéticos

1.6.2.1 - Organoclorados

Os organoclorados são compostos químicos sintéticos à base de carbono, com radicais de cloro. São derivados do clorobenzeno, do ciclodieno ou do ciclo-hexano. Estes foram muito utilizados na agricultura, como inseticidas, porém seu emprego tem sido progressivamente restringido e até mesmo proibido (SEIZI, 2003).

Os organoclorados como, DDT, BHC, Aldrin, Dieldrin são pesticidas com alto poder residual no meio ambiente e cadeia alimentar, tendo a capacidade de se acumular no ambiente por quatro a trinta anos, três a dez anos, um a seis anos e dois a trinta e nove anos, respectivamente, proporcionando desastroso impacto ambiental (GERRITSE, 1988; NEVES, 2005) (Tabela 1). Organoclorados povocam sérias lesões hepáticas e renais, nos intoxicados, devido a sua lipossolubilidade que combinam facilmente com o tecido adiposo e neural. Estes produtos lesionam o cérebro, a medula óssea, o córtex da supra-renal, os músculos cardiacos, e o DNA. A atividade estrogênica foi constatada por ação do DDT, estimula a produção de testosterona propiciando a puberdade precoce, atividade imunossupressora e as alterações na conduta dos indivíduos (GUERRA; SAMPAIO, 1991). Casos de câncer em órgãos do aparelho digestivo, pulmão e rim foram registrados em pessoas contaminadas com BHC (OLIVEIRA; ADEODATO, 1997).

Tabela 1- Apresentação química dos organoclorados

Nome químico	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Fórmula Estrutural
Dieldrin	**$C_{12}H_8Cl_6O$**	**380,93**	
Aldrin	**$C_{12}H_8Cl_6$**	**364,91**	
DDT	**$C_{14}H_9Cl_5$**	**354,5**	
BHC	**$C_6H_6Cl_6$**	**290,83**	

1.6.2.2 - Organofosforados e carbamatos

Organofosforados são compostos orgânicos derivados do ácido fosfórico, ou do ácido ditiofosfórico, ou do ácido tiofosfórico. Carbamatos são pesticidas derivados do ácido carbâmico (SEIZI, 2003). Os organofosforados (Malathion, Paration e Diazinon) e carbamatos (Aldicarbe e Carbaril) são inseticidas de alto poder residual nos ecossistemas e não possuem rápida ação inseticida (Tabela 2 e 3) (SEIZI, 2003).

O mecanismo de ação dos organofosforados (Malathion, Diclorvos (DDVP), Diazinon) e carbamatos (Carbaril, Aldicarbe, Carbofuram) baseia-se na forte ligação à enzima acetilcolinesterase, impedindo que esta degrade a acetilcolina. O acúmulo

de acetilcolina nas sinapses provoca uma hiperatividade nervosa e consequente colapso do sistema nervoso dos insetos (SEIZI, 2003).

Diversas intoxicações de organofosforados e carbamatos têm sido diagnosticadas no Brasil e no mundo, tanto em seres humanos ou em animais domésticos. Estas intoxicações em geral são graves, com elevados índices de letalidade, podendo chegar a 20% dos pacientes humanos (TSAO et al., 1990; NOUIRA et al., 1994; MORAES, 1999). A alta mortalidade tem sido relacionada ao diagnóstico tardio e à conduta inadequada (ZWIENER; GINSBURG, 1988; TSAO et al., 1990; SINGH et al., 1995). Os médicos tendem a administrar doses insuficientes do antídoto, a atropina (ZWIENER; GINSBURG, 1988). As doses preconizadas de atropina são cinco a dez vezes maior do que as utilizadas com outras finalidades terapêuticas (MILBY, 1971; MORAES, 1999). A abordagem médica inicial deve ser rápida e adequada, pois a rapidez no diagnóstico e precocidade do tratamento é determinante na evolução dos casos (SINGH et al., 1995).

Tabela 2- Apresentação química dos acaricidas carbamatos

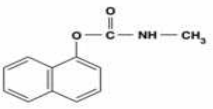
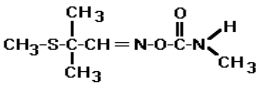
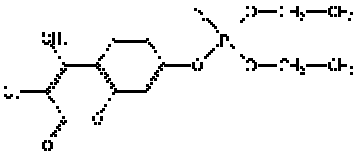
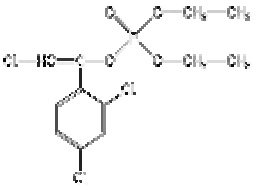
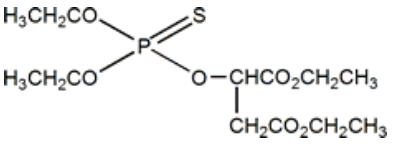
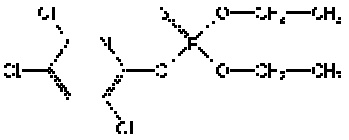
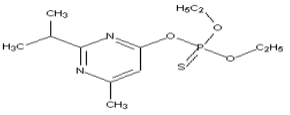
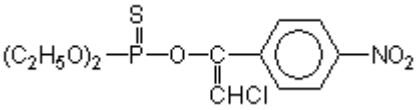
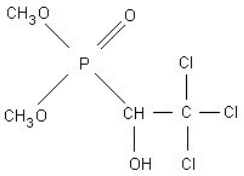
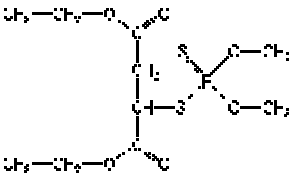
Nome químico	**Fórmula molecular**	**Massa molecular (g/mol)**	**Fórmula Estrutural**
Carbaril	$C_{12}H_{11}NO_2$	201,22	
Aldicarbe	$C_7H_{14}N_2O_2S$	190,29	

Tabela 3- Apresentação química dos compostos organofosforados acaricidas

Nome químico	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Fórmula Estrutural
Cumafós	$C_{14}H_{16}ClO_5PS$	362,77	
Clorfenvinfos	$C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$	359,56	
Malation	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	330,36	
Clorpirifos	$C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$	327,5	
Diazinon	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$	304,34	
Paration	$C_{10}H_{14}NO_5PS$	291,27	
Triclorfone	$C_4H_8Cl_3O_4P$	257,4	
Diclorvós	$C_4H_7Cl_2O_4P$	220,98	

1.6.2.3 - Piretroides

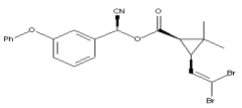
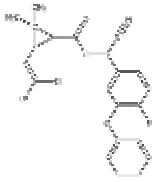
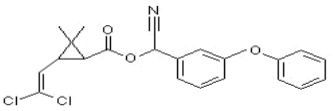
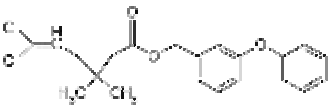
Outro grupo de inseticida muito utilizado no controle de diversos insetos são os piretroides, aplicados como pesticidas agrícolas, inseticidas domissanitários, ou inseticidas de uso médico ou veterinário. São compostos sintéticos que apresentam estruturas semelhantes à piretrina, substância natural existente nas flores do gênero *Chrysanthemum* (VIEGAS JÚNIOR, 2003).

Os piretroides sintéticos são os que apresentam uma menor toxicidade para os mamíferos, pois a biotransformação desses compostos é muito rápida. Contudo seus mecanismos de ação na transmissão de impulsos nervosos em insetos são muito semelhantes àqueles observados em mamíferos, aves e peixes. Por isso, muitos inseticidas neurotóxicos são tóxicos também a esses organismos não-alvo, incluindo os seres humanos, quando não respeitado a suas dosagens (BARRIONUEVO; LANÇAS, 2001).

O mecanismo de ação dos piretroides (Deltametrina, Cipermetrina e Permetrina) (Tabela 4) está relacionado à ligação de proteínas associadas ao canal de sódio, impedindo o seu fechamento. Como consequência, o neurônio não consegue voltar à condição de repouso e, portanto, ocorre um bloqueio na transmissão de impulsos nervosos, conhecido como efeito "*knock down*" caracterizado por rápida e reversível paralisia dos insetos (SEIZI, 2003).

A cipermetrina, veiculada por contato e ingestão, atua nos canais de Na^+ da membrana dos axônios, diminuindo e retardando a condutância de Na^+ para o interior da célula, suprimindo assim, o refluxo de potássio. Também pode inibir a adenosina trifosfatase (ATPase), o que afeta a condução de cátions na membrana axonal. O resultado final é uma diminuição do potencial de ação e a geração de impulsos nervosos repetitivos (SEIZI, 2003).

Tabela 4- Apresentação química dos compostos acaricidas piretroides

Nome químico	Fórmula molecular	Massa molecular (g/mol)	Fórmula Estrutural
Deltametrina	$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$	505,2	
Ciflutrina	$C_{22}H_{18}Cl_2NO_3$	453.3	
Cipermetrina	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	416,30	
Permetrina	$C_{21}H_{20}Cl_2O_3$	391,3	

1.7 - Detecção de Resistência aos Acaricidas Químicos Sintéticos

A utilização indiscriminada de acaricidas químicos sintéticos em dosagens diferentes das recomendadas, ou em administração errônea, favorece o desenvolvimento de resistência pelos insetos a estes produtos (FURLONG; MARTINS, 2000).

Acaricidas como deltametrina e cipermetrina, com formulações para uso exclusivo em bovinos, equinos ou domiciliares, estão sendo administrados em cães sem prévio estudo científico. Esta administração sob formas e dosagens variadas, resulta em ineficiência do acaricida, desenvolvimento de alelos resistentes nessa população de carrapatos, prejuízos econômicos aos criadores, intoxicação dos

animais e impacto ambiental pelo efeito residual destes na natureza (FERNANDES et al., 2001).

Pode-se determinar a resistência em carrapatos, através de diferentes testes biológicos em campo ou laboratório. Um dos testes é conhecido como *LPT*- "*Larval Packet Test*" e baseia-se na utilização do carrapaticida em diferentes concentrações e no índice de sobrevivência de larvas expostas a estas concentrações. (FAO, 2004, FERNANDES, et al., 2001; FERNANDES; FREITAS, 2007).

Guerrero et al. (2002) avaliaram a resistência, aos piretroides, de cepas mexicanas do carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini 1887) (Acari: Ixodidae), através de técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). A resistência estava associada à substituição de dois aminoácidos em uma proteína do canal de Na^+. As mutações, com a substituição de fenilalanina para isoleucina e ácido aspártico para asparagina, demonstram o motivo desta linhagem de carrapato ser resistente aos piretroides.

1.8 - Resistência de Ixodídeos a Acaricidas Químicos Sintéticos

Grande soma de recursos têm sido consumidos no emprego de acaricidas químicos que constituem a principal forma de combate aos ixodídeos, no entanto, o desenvolvimento de resistência a esses produtos tem progredido muito rapidamente. No Brasil, embora informações sobre a resistência de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae), conhecido como carrapato dos cães, a acaricidas sejam ainda escassas, os primeiros estudos foram realizados em Goiás por FERNANDES et al., (1997; 1998; 2001); FERNANDES, (2000) e FERNANDES; FREITAS (2001), conforme citado na revisão de Guimarães et al. (2002). Estes estudos demonstraram dentre outros fatores, baixa eficiência e resistência a alguns

piretroides em ensaios com larvas deste carrapato (FERNANDES, 2000), e ineficácia de fenthion a 15% em ensaios de campo com cães, sobre diferentes estádios deste carrapato (FERNANDES; FREITAS, 2001).

Resistência de *R. sanguineus* aos acaricidas arseniciais (GLADNEY; DAWKINS, 1976), organofosforados (BARROS et al., 2001), carbamatos (POLYAKOV; SMIRNOVA, 1976) e organoclorados (BELOT; MISHRA, 1979) tem sido constatada também no Exterior. Baixa eficiência de cumafós sobre fêmeas adultas foi observada (CONRADO; MUJICA, 1998) na Venezuela, enquanto que no Panamá, *R. sanguineus* mostrou-se resistente a este produto, assim como à permetrina, DDT e amitraz (MILLER et al., 2001).

Pinheiro (1987) e Pinheiro et al. (1989) ao realizar testes *in vivo* e *in vitro* verificou que *A. cajennense* foi suscetível a três produtos a base de piretroides, porém as concentrações observadas são superiores as utilizadas para *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*.

Atualmente, no Brasil o controle do ixodídeo *A. cajennense* tem sido feito indiscriminadamente, através do uso de produtos carrapaticidas encontrados no comércio, à base de organofosforados, carbamatos, amidinas e mais recentemente de piretroides sintéticos, em concentrações recomendadas para o controle do carrapato de bovinos. As concentrações dos diferentes piretroides utilizadas no controle de *R*. (*Boophilus*) *microplus* não têm mostrado boa eficiência no controle do *A. cajennense*, demonstrando que este ixodídeo exige concentrações mais elevadas e intervalos entre banhos estratégicos, para se obter sucesso no seu controle. Pesquisadores recomendaram que fosse utilizado no controle químico de *A. cajennense* doses 1,8 vezes maiores do que as recomendadas para controle de *R.* (*Boophilus*) *microplus* (BARROS-BATTESTI et al., 2006; MARTINS et al., 2006).

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

- Verificar a ascensão da Febre maculosa no Brasil (FMB), por Revisão Sistemática da Literatura.

- Monitorar a eficiência de acaricidas químicos sintéticos para o controle do *Amblyomma cajennense,* principal vetor da FMB.

2.2 - Objetivos Específicos

- Reconhecer os aspectos epidemiológicos e de controle do *A. cajennense* na aquisição da Febre Maculosa Brasileira, por meio de uma revisão sistemática da literatura

- Investigar o possível desenvolvimento de resistência por adultos de *A. cajennense* ao piretroide deltametrina, principal acaricida comercializado para o controle deste vetor.

- Avaliar a suscetibilidade de larvas de *A. cajennense,* aos acaricidas químicos sintéticos mais utilizados em Goiânia.

3 - METODOLOGIA

O presente estudo conta com duas etapas metodológicas:

1- Revisão sistemática da literatura sobre a epidemiologia da Febre Maculosa no Brasil;

2- Experimental, monitoramento de acaricidas químicos comercializados em Goiânia sobre adultos e larvas do *Amblyomma cajennense,* o principal vetor da Febre Maculosa no Brasil.

3.1- Área de Estudo Experimental

Cinco municípios do Estado de Goiás, áreas de ecoturismo (trilhas) de Caldas Novas, fazendas de Hidrolândia, Goiás, Terezópolis e Goiânia e o Centro de Zoonozes de Goiânia.

3.2 - Local de Estudo

Revisão Sistemática da Literatura: NUPEREME - Núcleo de Pesquisa de Agentes Emergentes e Re-Emergentes/Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/Universidade Federal de Goiás.

Salas de informática: Faculdade de Medicina e Faculdade de Engenharia da Universidade Federal de Goiás.

Experimental: LAMV- Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária/UFG.

3.3- Delineamento do Estudo

O organograma demostrando as diversas metodologias utilizadas foi elaborado para melhor compreensão do presente estudo (Figura 6).

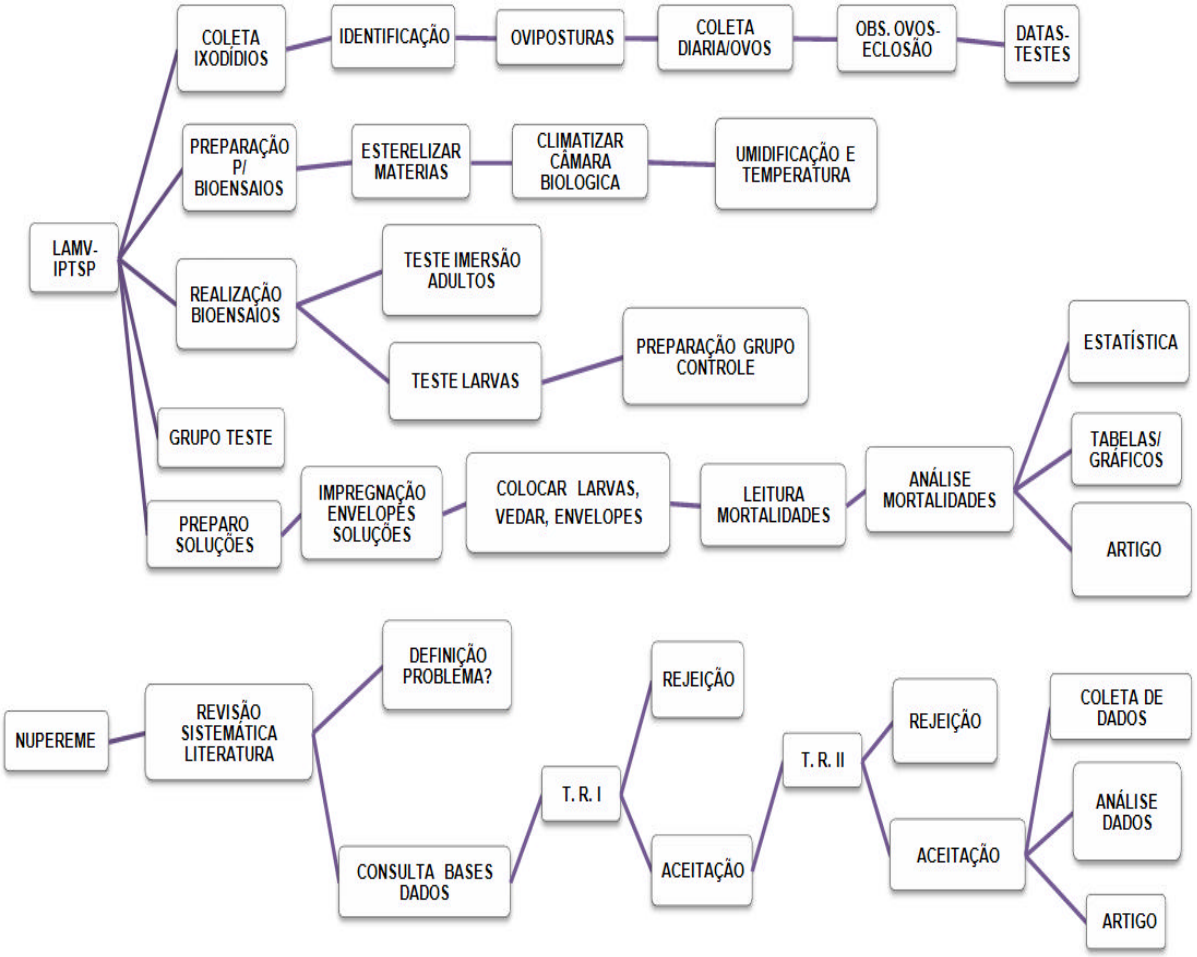


Figura- 6. Organograma das metodologias do estudo.

3.4 - Revisão Sistemática da Literatura

3.4.1 - Tipo de estudo

Classifica-se o presente estudo como revisão sistemática da literatura do tipo descritivo simples com base em fontes de dados documentais.

A revisão sistemática é uma forma de pesquisa que emprega como fonte de dados a literatura acerca de um tema, utilizando métodos sistematizados para

elaborar uma síntese das evidências relacionadas a uma estratégia específica (Figura 7).

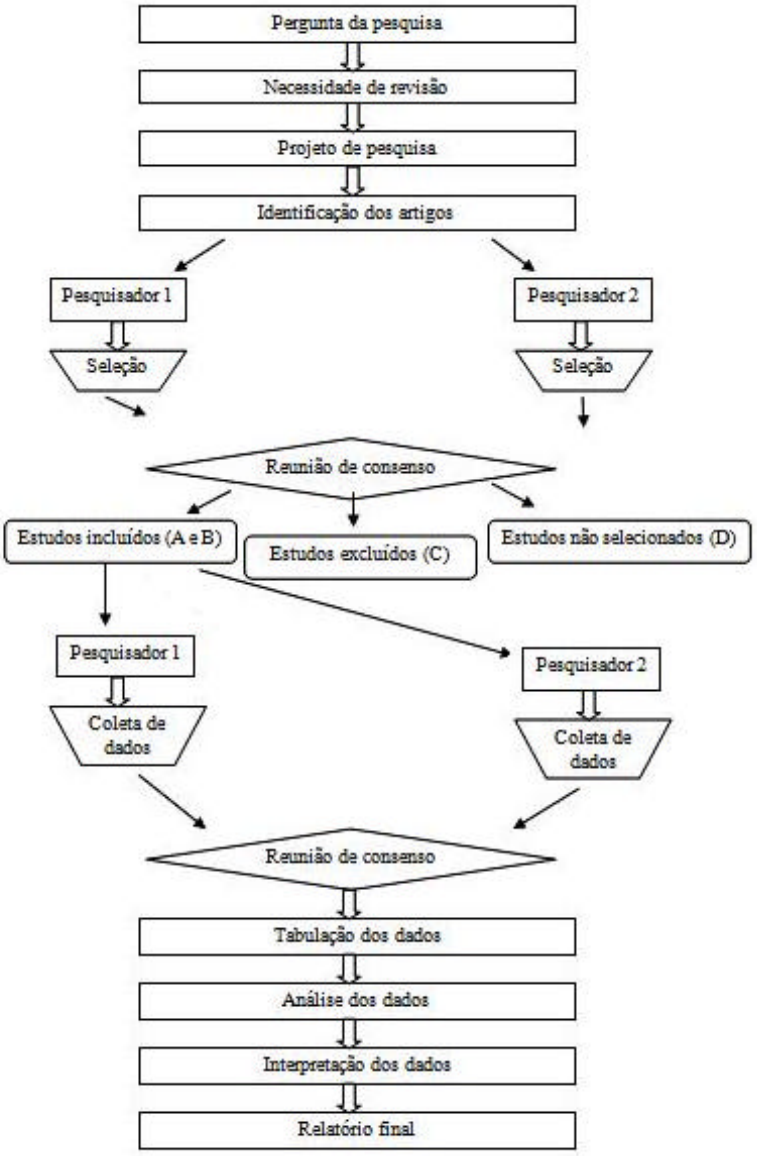


Figura 7- Fluxograma da Revisão Sistemática da Literatura (com adaptações de OLSEN,1995).

3.4.2 - Local

Este estudo foi realizado no período de agosto a novembro de 2009, em Goiânia, estado de Goiás, nas salas de informática da Faculdade de Medicina e da Faculdade de Engenharia da Universidade Federal de Goiás, nas quais foram feitas a coleta de dados por via eletrônica (on- line). A análise, interpretação e discussão

dos dados foram realizadas no Núcleo de Pesquisa de Agentes Emergentes e Re-Emergentes-NUPEREME, Universidade Federal de Goiás.

3.4.3 - Amostra

3.4.3.1 - Fontes de dados e seleção dos descritores

A busca de dados foi mediada por dois pesquisadores, que optaram por localizar informações prioritariamente na Biblioteca Virtual em Saúde utilizando a seguintes redes: Brasil, temáticas: Saúde Pública, Veterinária, nas seguintas bases de dados: Biblioteca Cochrane, LILACS, MEDLINE e SCIELO. Após consenso, em 18 de agosto de 2009, os pesquisadores escolheram os descritores: *Amblyomma cajennense* (AC); Febre Maculosa (FM); *Rickettsia rickettsi* (RR) e analisaram sua existência e validade pesquisando-os separadamente por meio do DeCS - Terminologia em saúde e veterinária, em seguida, associando-os entre si, o que resultou em um vasto volume de informações.

3.4.3.2 - Critérios de inclusão e exclusão, estratégia de busca para dados eletrônicos e metodologia da pesquisa

Foram incluídos neste estudo os artigos publicados na língua inglesa e português do Brasil que apresentaram os descritores associados (AC, FM, RR; AC+FM, AC+RR, FM+RR, AC+FM+RR). Portanto, foram excluídos da revisão todos os artigos que não atenderam a esses critérios. Como pode ser visualizado na Figura 8, primeiramente, os descritores foram divididos entre os pesquisadores, para que fosse feita uma investigação individual, iniciando-se as buscas por resumos de cada estudo encontrado, já obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos nos testes de relevância I e II demostrados na Figura 9. Na segunda etapa do estudo, os pesquisadores reuniram-se para uma análise mais aprofundada dos artigos selecionados com o intuito de excluir da pesquisa aqueles

que se repetissem em mais de uma fonte de dados empregada. Após essa fase, realizou-se a leitura de cada artigo na integra selecionado com a finalidade de avaliar a sua proximidade com os objetivos da pesquisa. Aqueles que apresentaram relação com os objetivos do estudo foram mantidos e os considerados fora deste escopo foram descartados. Na Metodologia a terceira etapa, o corpo documental foi submetido a uma análise mais criteriosa a fim de extrair dos artigos sua temática principal e sua vinculação mais direcionada aos objetivos propostos. Foram selecionados alguns artigos em seu formato integral, o que propiciou maior riqueza de informações, possibilitando sua análise e discussão.

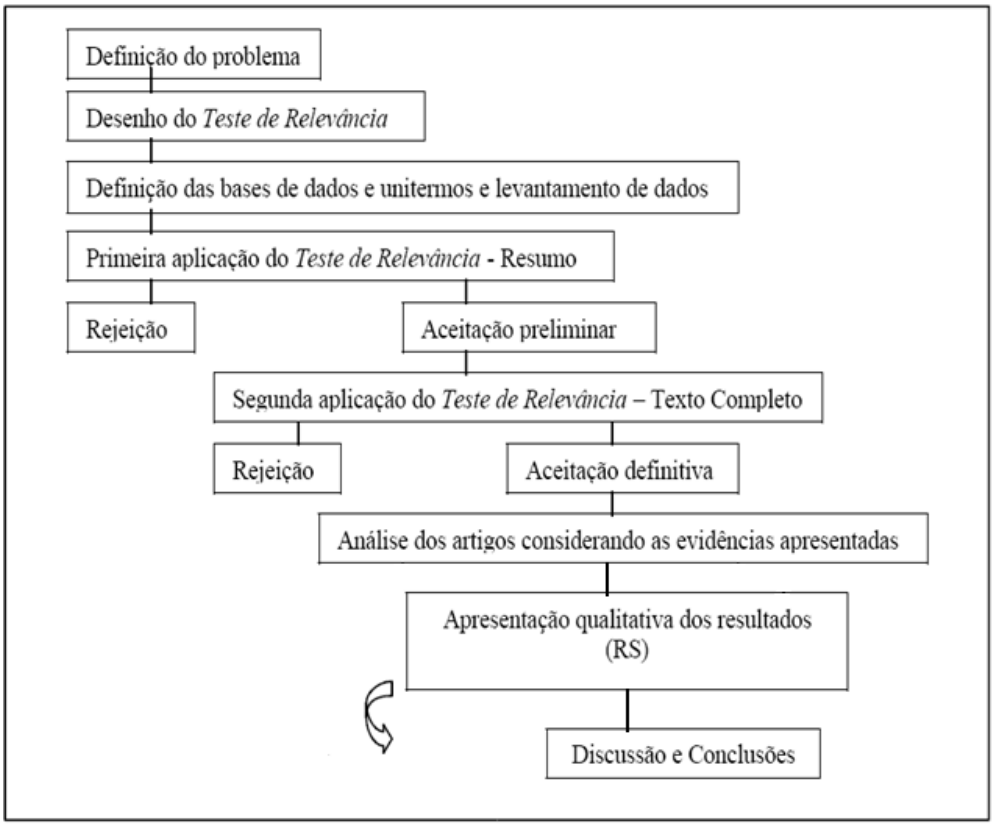


Figura 8 – Diagrama de fluxo para a condução de uma RSL (com adaptações de OLSEN, 1995).

Formulário de aplicação do Teste de Relevância I		
Critérios de Inclusão	**Sim**	**Não**
1. O estudo trata de Zoonose transmitida por *Amblyomma cajennense*?		
2. E sobre a Febre Maculosa?		
3. O estudo está em língua não inglesa ou portuguesa (Brasil)?		
Critérios de Exclusão	**Sim**	**Não**
1. É revisão de literatura?		
2. É de outro País a descrição?		
3. Foi transmitido por outra espécie de *Amblyomma sp* ?		

Formulário de aplicação do Teste de Relevância II		
Critérios de Inclusão	**Sim**	**Não**
1. Relato de caso de Febre Maculosa.		
2. Trata de Informes sobre a Febre Maculosa?		
3. A doença foi relatada no Brasil?		
4. Inquérito sorológico de humanos?		
Critérios de Exclusão	**Sim**	**Não**
1. A doença não foi transmitida por *Amblyomma cajennense*?		
2. Trata-se de Inquérito sorológico de animais?		
3. Trata-se de levantamento de espécies de carrapatos?		

Figura 9 – Formulários de aplicação dos Testes de Relevância I e II.

3.5 - Estudo Experimental

3.5.1 Coleta de *A. cajennense* para oviposturas

Teleóginas de *A. cajennense* foram cuidadosamente coletadas em área rural, em equinos naturalmente infestados e livres de resíduos acaricidas há pelo menos 45 dias, em fazendas pertencentes a 5 (cinco) municípios do Estado de Goiás, (Caldas Novas, Hidrolândia, Goiás, Terezópolis e Goiânia), bem como no Centro de Zoonoses de Goiânia. Também foram coletadas nas superfícies do piso, paredes e teto de baias e em outros ambientes frequentados por equinos naturalmente infestados por este carrapato (FERNANDES, 2000, 2001).

3.5.1.2 - Obtenção das larvas

As teleóginas foram acondicionadas em recipientes descartáveis e encaminhadas ao LAMV. No laboratório elas foram lavadas com água destilada e secas em papel toalha. Em seguida foram acondicionadas em incubadoras tipo B.O.D., climatizadas a 27 ± 1 ºC e UR = 80%, fixadas pelo dorso com fita adesiva dupla-face em placas de vidro, disposta sobre a base de uma placa de Petri, para realizarem a oviposição (FAO 1995, 2004). Diariamente foi recolhida toda a oviposição em um único tubo de polietileno com tampa enroscável (3 x 9cm), para obtenção de larvas com idade uniforme. Os ovos foram observados diariamente com o acompanhamento de prégerminação, germinação e eclosão. Após a eclosão, o tubo foi vedado com fita adesiva do tipo crepe para evitar o escape de larvas (FERNANDES et al., 2007; FERNANDES; FREITAS, 2007). As datas previstas para a realização dos testes foram agendadas a partir da eclosão das larvas.

3.5.1.3 - Obtenção dos adultos

Adultos: machos e fêmeas de *A. cajennense* foram encontrados e coletados em folhas naturalmente infestadas, de vegetação arbustiva do Bioma Cerrado, do município de Caldas Novas, Estado de Goiás, Brasil.

Os carrapatos foram acondicionados, juntamente com as folhas, em frascos de vidros (17cm x 8,5cm), contendo cada um uma mecha de algodão hidrófilo estéril umedecida com água destilada, presa à tampa enroscável do frasco e, bem abaixo um pedaço de papel “dobrado em sanfona” para permitir que os ixodídeos, muito ágeis, melhor se aderissem, acomodassem ou se escondessem. Em seguida foram transportados ao LAMV.

No laboratório foram lavados com água destilada e secos em papel toalha. Com auxílio de um microscópio esteresoscópico estes foram sexados, selecionados, eliminando-se os carrapatos com malformações ou mutilações e, identificados especificamente, empregando-se chaves taxonômicas para espécies de *Amblyomma* que ocorrem no Hemisfério Oeste e Brasil, atualizadas e ilustradas (JONES et al., 1972; GUIMARÃES et al., 2002; ONOFRIO et al., 2006). Em outros frascos limpos e similares aos supracidados, contendo apenas machos ou fêmeas, os espécimens foram acondicionados no interior de incubadoras do tipo B.O.D., climatizadas 27 ± 1 °C, UR = 80% e fotoperíodo de 12:12 h, até a realização dos bioensaios com o piretroide sintético.

3.5.2 - Avaliação da Ação dos Acaricidas Químicos Sintéticos sobre *A. cajennense.*

3.5.2.1 – Teste de suscetibilidade dos adultos de *A. cajennense* ao piretroide deltametrina

Para a avaliação da sensibilidade ao acaricida, os adultos receberam um banho de imersão por cinco minutos em uma solução preparada diluíndo-se o piretroide deltametrina em água destilada, na maior concentração recomendada pelo fabricante, adaptando-se o método de DRUMMOND et al. (1973). Em seguida grupos sexados foram acondicionados em dispositivos para contenção e exposição dos ixodídeos à solução testada, que consistiu basicamente de uma placa de Petri de vidro (9 x 1,4 cm) e um papel de filtro circular (9cm de diâmetro). Uma série de envelopes destes papéis de filtro foram tratados no grupo teste com a mesma solução preparada do piretroide deltametrina em água destilada. Envelopes idênticos umidecidos apenas com água destilada, constituíram o grupo controle. Cada envelope foi tratado com 4 mL de solução ou água destilada, distribuída uniformemente por sua superfície interna, com auxílio de pipetas descartáveis. Em seguida, os envelopes foram deixados a secar por 12h à temperatura ambiente, dentro de placas de Petri de vidro, adaptando-se as metodologias previamente descritas por FERNANDES (2000, 2001) para bioensaios de susceptibilidade de larvas de ixodídeos à piretroides, contudo desprezando o uso da parafina e do tecido organza. Cada placa de Petri com o envelope foi previamente identificada delicadamente em seu lado externo com auxílio de uma caneta de tinta permanente (Sarstedt, Alemanha), preservando a face superior e demais superfícies laterais para observação continua dos espécimens durante todo o bioensaio, sem necessidade de abrir a placa de Petri.

Os frascos contendo os carrapatos, antes de serem abertos para a retirada das amostras, foram dispostos sobre um béquer de 500 mL, invertido disposto ao

centro de uma forma circular de alumínio (30,5cm x 5cm) contendo água até a metade, para evitar a fuga de ixodídeos. Com auxílio de uma pinça entomológica delicada (atraumática), cerca de 10 a 16 carrapatos foram colocados em cada placa de Petri, sobre o envelope. Os bioensaios foram realizados em uma câmara biológica especialmente construída no LAMV para testes com acaricidas, climatizada à 27±1ºC, UR = 80% e 12h de luz fotofase natural. Os dispositivos de contenção e exposição foram então acondicionados sobre a bancada nessa câmara.

A mortalidade foi observada com auxílio do estereoscópio, durante 36 horas de exposição, a cada 6 horas e, sem abrir os dispositivos. Objetivando permitir a comparação dos resultados desse trabalho com resultados de outros autores, carrapatos sem capacidade locomotora foram considerados mortos.

3.5.2.2 – Teste de sucetibilidade larval pela metodologia de papéis impregnados (FERNANDES et al., 2007)

Foram avalidados 12 formulações acaricidas diferentes, dentre as mais comercializadas em Goiás. Os bioensaios foram feitos em quadruplicata. Para cada um destes foram preparadas novas soluções estoque, em diversas concentrações de acordo com o acaricida a ser avaliado. De cada solução estoque, soluções com menores concentrações, incluindo as concentrações recomendada pelo fabricante para combate de *A. cajennense* e outros carrapatos, foram obtidas por diluição em água destilada, objetivando a avaliação dos acaricidas.

Para a verificação da sensibilidade larval utilizou-se a metodologia de papéis impregnados, "*Larval Packet Test (LPT)*", desenvolvida por FERNANDES; FREITAS, (2007), com base em metodologias anteriores (FAO, 1995; 2004; FERNANDES,

2000; 2001; FERNANDES et al., 2005; 2007), incorporando algumas modificações a fim de conferir maior praticidade e diminuir os custos, sem prejuízo da eficiência. Os bioensaios foram realizados em câmara climatizada a 27º±1ºC, UR>80%, com fotofase natural de 12 horas. Foram utilizados nos bioensaios larvas com 14 a 21 dias de idade, oriundas de tubos de polietileno (8,5 x 2,5 cm) com pool de larvas com as maiores taxas de eclosão (90 a 100%). Selecionado o tubo, para evitar a fuga de larvas, este era colocado sobre um frasco de vidro invertido (7 x 2,5 cm), disposto no centro de uma placa de Petri com água, sendo então aberto. Deste, uma amostra das larvas eram cuidadosamente içada com um pincel n° 4, umedecido com água destilada ou com a solução a ser testada, e então disposta ao centro de uma folha de papel branco (43 x 32 cm) aderida à bancada com fita adesiva. Sobre as extremidades desta folha de papel era ainda fixada uma fita adesiva dupla face, objetivando evitar a fuga de larvas. Apenas larvas ágeis, com ótima motilidade, foram selecionadas para os bioensaios.

Os bioensaios foram realizados em quaduplicata. Para cada repetição uma nova solução estoque de cada acaricida foi preparada. Em cada bioensaio foram preparados quatro envelopes de papel-filtro para cada concentração testada. Estes foram impregnados com 2mL de cada solução, uniformemente distribuídos em sua superfície interna e deixados em repouso durante 6 horas, para aderência dos cristais formados pelos acaricidas ao papel filtro. O grupo teste foi submetido a envelopes impregnados com as soluções acaricidas. O grupo controle foi submetido a: envelopes secos (sem tratamento) e, envelopes umedecidos internamente com 2mL de água destilada. Cerca de 50 ou mais larvas eram cuidadosamente içadas do papel branco sobre a bancada, com o pincel umedecido com água destilada e, colocadas ao fundo de cada envelope. Os envelopes eram então imediatamente

fechados, dobrando-se em sua abertura uma borda com cerca de 10 mm e, lacrando-se esta com um prendedor metálico. Os envelopes eram então suspensos pelos prendedores em suportes, a fim de evitar contaminação ou perda de solução por contato com a bancada. Os envelopes foram abertos e as leituras das mortalidades foram feitas ao estereoscópio após 24 horas de exposição, em atendimento às recomendações da FAO (2004).

Em atendimento aos critérios preconizados pela WHO (1970, 1998), os acaricidas que determinaram mortalidade média ($\overline{MX}$) menor que 80% das larvas de *A. cajennense* na concentração comercial recomendada foram considerados ineficientes, por caracterizar quadro ou "status de resistência", aqueles que ocasionaram $\overline{MX}$ entre 80% a 97%, configuraram um "status de provável resistência" e, por último, aqueles que determinaram $\overline{MX}$ maior ou igual a 97%, caracterizaram um "status de suscetibilidade".

3.6 - Cálculo das Concentrações Letais (CLs)

As concentrações letais (CLs), especialmente CL^{50} (Concentração capaz de matar 50% das larvas testadas) e CL^{99} (Concentração capaz de matar 99% das larvas testadas) com seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC 95%) e seus coeficientes de determinação (R^2) foram determinadas para os produtos que se mostraram ineficientes. Esses foram calculados interpolando-se os índices médios de mortalidades proporcionados pelas diferentes concentrações testadas, (FERNANDES et al., 2005; 2007; FERNANDES; FREITAS, 2007); por meio da análise de Probit, empregando o software "Sistema para Análises Estatísticas" (SAEG® software v. 9.0). Diferenças significativas (α= 5%) entre as mortalidades determinadas pelos acaricidas em suas respectivas dosagens recomendadas pelos

fabricantes foram empregadas o teste estatístico ANOVA seguido do teste estatístico *Scott-Knott*. Para tal utilizou-se o software Assistat® v. 7.4.

3.7- Aspectos Éticos e Legais

O nosso estudo não foi submetido ao Comitê de Pesquisa por não utilizar nem seres humanos, nem animais vertebrados experimentais no desenvolvimento do mesmo.

4- RESULTADOS

4.1- Artigo 1 - A Febre Maculosa no Brasil, uma revisão sistemática da literatura.

Edméia de Paula e Souza Freitas, Luanna Gonçalves de Paula, Marco Túlio Antônio Garcia Zapata

Enviado ao periódico **Caderno de Saúde Pública, do Brasil** (normas Anexos)

A Febre maculosa no Brasil, uma revisão sistemática da literatura.

Edméia de Paula e Souza Freitas[1], Luanna Gonçalves de Paula[2], Marco Túlio Antônio Garcia Zapata[3].

Abstract

Brazilian spotted fever (BSF) is an acute, febrile, infectious zoonosis of varying severity, the presentation of which may range from asymptomatic cases to severe forms with a high lethality rate. In Brazil, the principal reservoir of *Rickettsia rickettsii* is the *Amblyomma cajennense* tick. A systematic literature review was performed to obtain information on the distribution of the disease, which currently constitutes a public health concern. Articles published in English and Brazilian Portuguese containing the keywords: *Amblyomma cajennense*, Febre Maculosa and *Rickettsia rickettsii* were included. In Brazil, the magnitude of BSF is unknown. From this review, fewer cases were found in the literature compared to those reported by the health surveillance authorities of the Ministry of Health. The climate, fauna and flora of the Goiás state are favorable to the presence and dissemination of BSF. Further studies and investigations must be carried out on BSF, since the extent of the distribution of this disease may be more widespread than is currently supposed.

Keywords: Febre Maculosa, *Amblyomma cajennense*, *Rickettsia rickettsii.*

Introdução

Os agentes patogênicos transmitidos por carrapatos podem causar doenças como *Borreliose de Lyme, Babesiose, Rickettsiose, Erlicchiose* e algumas viroses, que constituem hoje um problema de Saúde Pública de grande importância mundial.[1]

A febre maculosa brasileira, doença zoonótica febril aguda, tem como agente etiológico a *Rickettsia ricketsii*, bactéria gram-negativa intracelular, cocobaciliar pleomórfica, visível à microscopia fotônica, sendo hoje considerada riquetsiose de maior importância médica no Brasil[1]. No homem, a febre maculosa geralmente apresenta difícil diagnóstico nos estágios iniciais, mesmo por clínicos experientes, pois podem ser confundida com outras enfermidades como leptospirose e doença meningocócicas[2].

Os sintomas iniciais são bastante comuns incluindo febre, cefaléia, mialgia e máculas, o que dificulta seu diagnóstico diferencial [2,3] .

O humano adquire a doença ao ser picado por carrapatos infectados pela bactéria, sendo que o carrapato leva no mínimo quatro horas para transmitir a *R. ricketsii*[2].

O principal vetor na região neotropical é o carrapato *Amblyomma cajennense*, sendo que em algumas regiões do estado de São Paulo a espécie carrapato *Amblyomma aureolatum* também é apontada como possível vetor[3,4,5]. Estes carrapatos, além de vetores, são também responsáveis pela manutenção do agente na natureza através da transmissão transovariana e transestadial, permitindo que uma única fêmea ingurgitada transmita o agente para toda sua progênie[6].

No Brasil, a doença foi notificada pela primeira vez no ano de 1929,[2] sendo que a maioria dos casos foi registrada na região sudeste, principalmente nos estados de São Paulo e Minas Gerais[7,8].

No Brasil, tem se observado a disseminação de agentes infecciosos e parasitários para novos hospedeiros e ambientes, estabelecendo novas relações entre hospedeiros e parasitas, e novos nichos ecológicos na cadeia de transmissão das doenças.[9] Evidenciou-se no país, inúmeros ecossistemas com grande biodiversidade de flora e fauna. A destruição desses ecossistemas em larga escala pela degradação feita pelo homem à natureza promove consequências desastrosas. O avanço da agricultura e da pecuária próximo às áreas naturais tem proporcionado um contato entre as populações humanas e de seus animais domésticos com as populações de animais silvestres nos seus habitat, bem como a realização de atividades de ecoturismo, lazer e esporte. Em decorrência dessas interações podem ocorrer casos de zoonoses, sob forma epidêmica por dispersão de animais suscetíveis e o aumento da disseminação geográfica da doença[10].

O interesse mundial pelas infecções humanas causadas pelo gênero *Rickettsia* é crescente devido ao fato de que a sua incidência e distribuição serem maiores do que se imaginava anteriormente[11].

Neste sentido, o estudo epidemiológico dessas doenças se torna importante para o melhor conhecimento dos focos naturais das zoonoses, estabelecendo assim, os fatores de riscos existentes em determinados ecossistemas, a circulação de vetores e agentes entre os animais silvestres, a importância do conhecimento das doenças nestes animais sudsidiando as ações dos serviços de Saúde Publica.

No Brasil casos da Febre Maculosa têm sido diagnosticados em alguns Estados, o que tem despertado interrese em saber se já houve relatos de casos clínicos no estado de Goiás. No presente estudo resolveu-se, através de Revisão Sistematica da Literatura, proporcionar uma visão de como está atualmente à distribuição da Febre Maculosa Brasileira, uma vez que já fora constatado que o vetor esta cada vez mais presente e próximo ao homem.

Método

O presente estudo apresenta uma revisão sistemática da literatura do tipo descritivo simples, com base em fontes de dados documentais. Foi realizado no período de agosto a novembro de 2009, em Goiânia, Estado de Goiás, nas salas de informática da Faculdade de Medicina e da Faculdade de Engenharia da Universidade Federal de Goiás nas quais foi feita a coleta de dados por via eletrônica. A análise, interpretação e discussão dos dados foram realizadas no Núcleo de Pesquisa em Parasitas Emergentes e Re-emergentes (NUPEREME), localizado no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás.

Fontes de dados e seleção dos descritores

A busca de dados foi mediada por dois pesquisadores, que optaram por localizar informações prioritariamente na Biblioteca Virtual em Saúde inserir referência utilizando a seguintes redes: Brasil, temáticas: Saúde Pública, Veterinária, nas seguintes bases de dados: Biblioteca Cochrane, LILACS, MEDLINE e SciELO. Após consenso, em 18 de agosto de 2009, os pesquisadores escolheram os descritores (*Amblyomma cajennense* – AC; Febre Maculosa – FM; *Rickettsia rickettsi* – RR;) e analisaram sua existência e validade pesquisando-os separadamente por meio do DeCS - Terminologia em saúde e veterinária, em seguida, associando-os entre si.

Critérios de inclusão e exclusão, estratégia de busca e metodologia da pesquisa

Foram incluídos neste estudo os artigos publicados na lingua inglesa e portuguesa do Brasil, que apresentaram os descritores associados: AC, FM, RR; AC+FM, AC+RR, FM+RR, AC+FM+RR. Portanto, foram excluídos todos os artigos que não atenderam a esses critérios.

Os pesquisadores fizeram à investigação individualmente com os descritores, iniciando-se as buscas por resumos de cada estudo encontrado, já obedecendo aos critérios de inclusão e exclusão previamente estabelecidos.

Na segunda etapa do estudo, os pesquisadores reuniram-se para uma análise mais aprofundada dos artigos selecionados com o intuito de excluir da pesquisa aqueles que se

repetissem em mais de uma fonte de dados empregada. Após essa fase, realizou-se a leitura de cada artigo na integra selecionado com a finalidade de avaliar a sua proximidade com os objetivos da pesquisa aqueles que apresentaram relação com os objetivos do estudo foram mantidos e os considerados fora deste escopo foram descartados.

Na Metodologia a terceira etapa, o corpo documental foi submetido a uma análise mais criteriosa a fim de extrair dos artigos sua temática principal e sua vinculação mais direcionada aos objetivos propostos. Foram selecionados artigos em seu formato integral, o que propiciou maior riqueza de informações, possibilitando sua análise e discussão.

Resultados e discussão

Na primeira etapa da busca de dados foram encontrados 1266 artigos distribuídos entre as bases de dados anteriormente referidas utilizando os descritores preestabelecidos (Tabela 1). Atendendo aos critérios de inclusão previamente estabelecidos, buscaram-se os artigos que foram descritos no Brasil, perfazendo um total de 57 (4,51%) para uma análise mais criteriosa (Tabela 2). Entre estes, observou-se que após o teste de relevâncias II onde foram excluidos todos que tratavam de levantamento da fauna de ixodideos em áreas endêmicas para Febre maculosa, inquérito sorológico de cavalos, capivaras, cachorros e demais animais, assim como outros encontrados que não relatavam a ocorrência da doença e após a retirada das repetições entre as bases consultas; ficaram 07 artigos, que descrevem os relatos de casos e artigos que informavam casos de febre maculosa ocorrida no Brasil. Por consenso entre os pesquisadores, realizou-se a leitura criteriosa dos 57 artigos e verificou-se que sete artigos mantinham relação direta com a temática proposta por esta revisão (Tabela 3).

Após a leitura de todos os estudos selecionados, conforme mencionado anteriormente, observamos como foi citado por Del Guercio et al. (1997)[12] que os dados disponíveis sobre registros sistemático da Febre maculosa são escassos no estado de São Paulo. Os autores descrevem que no período de 1957 a 1974 foram registrados 53 casos de Febre maculosa e de 1976 a 1982 outros 10 casos foram internados no Hospital Emílio Ribas. Observou-se que a maioria desses indivíduos residia na zona rural de municípios vizinhos a capital de São Paulo, tais como Mogi das Cruzes, Diadema e Santo André.

Tabela 1- Distribuição dos artigos encontrados de acordo com a base de dados em que foram localizados utilizando os descritores preestabelecidos.

Base de dados	**Distribuição dos Artigos**						**Total**
	Descritores*						
	FM	AC	RR	FM+AC	FM+RR	AC+RR	FM+AC+RR
LILACS	49	51	30	10	21	11	6	178
MEDLINE	462	108	245	11	105	18	7	956
B. Cochrane	0	0	5	0	0	0	0	5
SciELO	27	47	22	8	11	8	4	127
TOTAL	538	206	302	29	137	37	17	1266

*FM- Febre maculosa; AC- *Amblyomma cajennense*; RR- *Rickettsia rickettsii*

Tabela 2- Artigos incluídos e excluídos após aplicação do Teste de Relevância I e II (T.R.I e T.R.II).

	T. R. I		**T.R.II**	
	Excluído	Incluído	Excluído	Incluído
LILACS	159	14	12	02
MEDLINE	929	26	23	03
B. Cochrane	5	0	0	0
SciELO	116	17	15	02
TOTAL	1209	57	50	07

Tabela 3- Relação dos artigos selecionados para compor a presente revisão sistemática da literatura.

Bases Dados	Título do artigo	Nº pessoas Febre Maculosa	Local da descrição	Autores/ano
Lilacs	Brazilian spotted: description of a fatal clinical case in the State of RJ	Mulher 29 anos, óbito	Hospital Público/ RJ.	Lemos et al., 2002
Medline	Characterization of *Rickettsia rickettsii* in a Case of Fatal Brazilian Spotted Fever the City of Rio de Janeiro, Brazil.	Homem 48 anos, óbito.	Rio de Janeiro	Lamas et al., 2008
Medline	Spotted fever rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State	4 casos, 2 óbitos	Coronel Fabriciano-MG	Galvão et al., 2003
Scielo	Situação da Febre maculosa na Região Administrativa de Campinas, São Paulo,Brasil.	Registros de FM de 1985 a 2000. 47 casos, 23 óbitos	Região de Campinas	Lima et al., 2003
Medline	Investigação de surto de Febre maculosa na região de Campinas	6 casos, 2 óbitos	Louveiro-Campinas	Secretaria Estado/SP. 2004
Lilacs	Febre maculosa: isolamento de Rickettsia em amostra de biópsia de pele.	2 anos, feminina, 15dias tratamento /alta	Hospital Emílio Ribas	Melles et al., 1992
Scielo	Febre Maculosa no Município de Pedreira, SP,Brasil. Inquérito Sorologico.	Sorologia = 5,3% das amostras positivas FM	Zona rural de Pedreira	Del Guercio et al., 1997

Melles et al., (1992) [13] após coleta de amostra para diagnostico de uma criança do sexo feminino, branca, 2 anos procedente de Mongi das Cruzes, SP, incluiu também a biopsia de pele em local de mácula, além do sangue para a confirmação de FM. O que foi confirmado pela biópsia de pele. A febre maculosa pode ser confundida com outras enfermidades como a leptospirose[12,16,19].

Em 1997 Del Guercio et al.,[12] através de inquérito sorológico no município de Pedreira região de Campinas,SP, onde foram coletados 473 amostras (55% dos moradores existente no local estudado); as amostras testadas pelo método IFA 25 apresentaram título maior ou igual a 1:64 para rickettsia do grupo da febre maculosa o que representa 5,3% de amostras positivas. Estes dados indicam que esta parcela da população teve infecção rickettsial nos últimos anos.

Lima et al., (2003)[14] também confirma que não há registro sistemático de casos da Febre maculosa no estado de São Paulo, como foi relatado por Del Guercio et al., (1997)[12] e Lima et al.,(2003)[14]; que em 1985 ocorreram 3 casos de FM, onde um deles foi a óbito, no município de Pedreira, situado na região de Campinas/SP. Com a finalidade de recuperar o histórico da doença Lima et al., (2003)[14] pesquisou os registros das ocorrências da FM no municipio de Pedreira região Campinas no período de 1985 a 2000 onde recupeu todos os registros nos diversos serviços de saúde publica. Os autores comprovaram a ampliação da área de transmissão no período estudado com novos municípios com casos registrados. Observou-se também que a doença foi causa de óbito em todos os anos em que houve casos confirmados, com exceção de 1992. Contastou-se também um aumento do número de casos notificados a partir de 1995, que se intensificou nos anos seguintes. Nos cinco primeiros anos foi verificado que a maioria dos casos tinha diagnóstico clínico-epidemiológico. E a partir de 1993 começa-se a observar um aumento do número de casos com confirmação laboratorial e o aparecimento de casos que foram descartados. Foram confirmados 47 casos destes, 23 foram a óbito no período de 1985 a 2000.

Lemos et al.,(2002)[15] descreveram o caso de uma mulher de 29 anos, que vivia no municipio de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, em uma região semirural e mantinha contato com animais domésticos. Teve um diagnóstico inicial de leptospirose. A paciente evoluiu para óbito.

Galvão et al., (2003)[11] relata casos de FM que ocorreram nos meses de maio e junho de 2000, no município de Coronel Fabriciano, no estado de Minas Gerais. Com 21 casos suspeitos, apresentando febre e erupções cutâneas. Estes foram notificados. Confirmaram-se 4 casos por exames de laboratório, entre eles crianças com 12 e 15 anos cada, que vieram a óbito.

A Secretaria de estado da Saúde de São Paulo, em informes técnicos institucionais (2004) [16] registrou na Santa Casa do Municipio de Louveira, em 26/05/04, um paciente de 17 anos, agricultor, com suspeita de intoxicação por agrotóxicos, morador de uma propriedade

utilizada para lazer, pesca e plantação de sete mil pés de figo. Possuem cachorros e galinhas. Relataram a presença de capivaras e roedores. Foram registrados 6 suspeitos de FM sendo que 2 vieram a óbito.

Lamas et al. (2008) [17] relataram o caso de um homem com 48 anos, porteiro na zona norte do Rio de Janeiro. Ele foi transferido para um hospital de doenças infecciosas de referência com o diagnóstico positivo da leptospirose e, teve frequentes contato com roedores. Ele tinha sido picado por carrapatos em Campo Grande área oeste do Rio de Janeiro, duas semanas antes, quando visitou seu irmão, que era motorista de carro de bois. Este paciente foi a óbito.

Não foram encontrados nos artigos informação sobre o combate do *A. cajennense*. Bem como não foram citadas medidas de prevenção da doença o que desperta uma preocupação com relação à falta de informações sobre como se evitar a doença.

Entre todos os artigos incluídos neste estudo, com exceção de Del Guercio et al.(1997)[12] que trata de um inquérito sorológico, constatamos que foram relatados 60 casos confirmados de FM, com 29 óbitos, representando uma taxa de mortalidade de 48,3%.

Conclusões

Não existe registro ou mesmo estudo sistemático da Febre maculosa no Brasil até o momento, o numero de casos relatados na literatura são inferiores aos que a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde tem divulgado.

É uma doença de difícil diagnóstico nos estágios iniciais, mesmo por clínicos experientes. O que torna ainda mais necessário o alerta para que se façam mais pesquisas e levantamentos sobre a febre maculosa.

Nas últimas duas décadas, vem aumentando a importância da febre maculosa enquanto agravo de saúde pública. Essa importância se justifica pelo crescente número de casos diagnosticados, elevadas taxas de letalidade, e o diagnóstico tardio, juntamente com a expansão das áreas de transmissão. Com o ser humano a cada dia adentranto, morando e mantendo contato cada vez mais com os vetores, devido à constante expansão de parques ecológicos e hotéis fazenda. A ocorrência de casos em áreas urbanas e periurbanas demonstra mudanças na ecológia da doença.

O Estado de Goiás apresenta condições favoráveis de clima, fauna e flora para a presença e disseminação da FMB.

Os dados levantados pela revisão sugerem que novas investigações e estudos sejam feitos, pois a distribuição desta doença pode ser mais ampla do que se supõe.

Resumo

A febre maculosa brasileira (FMB) é uma zoonose infecciosa febril, aguda, de gravidade variável, podendo cursar desde formas assintomáticas ate formas graves, e representa um sério risco epidemiológico devido às altas taxas de letalidade. No Brasil, o principal reservatório da *Rickettsia rickettsii* é o carrapato da espécie *Amblyomma cajennense*. Através da revisão sistemática da literatura conhecer a distribuição da doença, que constituem hoje um problema de Saúde Pública. Foram incluídos os artigos publicados na língua inglesa e portuguesa do Brasil que apresentaram os descritores: *Amblyomma cajennense*, Febre Maculosa e *Rickettsia rickettsii.* No Brasil a magnitude da FMB é desconhecida. Concluímos através desta revisão que os casos relatados na literatura são inferiores aos divulgados pela Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministerio da Saúde. O Estado de Goiás apresenta condições favoráveis de clima, fauna e flora para a presença e disseminação da FMB. Faz se necessários mais estudos e investigações sobre a FMB, pois esta doença pode ter uma distribuição maior do que se supõe.

Palavras chaves: Febre Maculosa, *Amblyomma cajennense*, *Rickettsia rickettsii.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- SOUZA, C. E. et al. O papel da capivara *Hidrochaeris hidrochaeris* na cadeia Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 13, p. 203-204, set. 2004.

2- ANGERAMI, R. N. Aspectos clínicos e laboratoriais da Febre Maculosa Brasileira. Experiência do Hospital das Clínicas-HC/UNICAMP-Campins-SP-Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 13, p. 360-360, set. 2004.

3- GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATESTI, D. M. **Ectoparasitos de Importância Médico Veterinária.** São Paulo: Editora Plêiade/FAPESP, p. 213, 2001.

4- PEREIRA, M.; LABRUNA, M B. Febre Maculosa: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 12, p. 19-23, 1998.

5- PINTER, A. Epidemiologia da febre maculosa transmitida pelo carrapato Amblyomma aureolatum (Acari: Ixodidae). **Anais do XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino americano de Riquetsioses**, Ribeirão Preto, p.154-156, set. 2006.

6- LABRUNA, M. B. Carta Acarológica. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 13, p. 199-202, set. 2004.

7- CALIC, S. B. Sorologia das riquetisioses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 13, p.185-187, set. 2004.

8- GALVÃO, M. A. Febre maculosa. 1996. Disponível em: www.ufop.br/pesquisa/revista/maculosa.htm. Acesso em: 07 set. 2009.

9- CORRÊA, S.H.R.; PASSOS, E.C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, p. 493-499, 2001.

10- BARLETT, P.C.; JUDGE, L.J. The role of epidemiology in public health. **Office International des Epizooties Scientific and Technical Review**, v. 16, n. 2, p. 331-336, 1997.

11- GALVÃO, M.A.M. et al. Spotted fever rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n.4, 2003.

12- DEL GUERCIO, V.M.F.; ROCHA, M.M.M.; MELLES, H.H.B.; LIMA, V.C.I.; PIGNATTI, M.G. Febre Maculosa no município de Pedreira, SP, Brasil. Inquérito Sorológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 1, p. 47-52, 1997.

13- MELLES, H. H.; COLOMBO, S.; SILVA, M. V. Spotted fever: Isolation of Rickettsia from a skin biopsy sample. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo,** v. 34, p.37-41. 1992.

14- LIMA, L.C.V.; SOUZA, S.S.L.; SOUZA, C.E.; VILELA, M.F.G.; PAPAIORDANOU, P.M.O; ROCHA, M.M.M Situação da febre maculosa na Região Administrativa de Campinas, São Paulo, Brasil. **Caderno de Saúde Públi**ca, Rio de Janeiro,v. 19, n.1, p.331-334, jan-fev, 2003.

15- LEMOS, E.R.S.; ROZENTAL, T.; VILLELA, C.L. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical in the State of Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** v. 35, n. 5, p. 523-525, 2002.

16- SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO. Investigação de surto de febre maculosa na região de Campinas. Informes Técnicos Institucionais. **Revista de Saúde Pública**, v. 38, n. 5, p. 743-744, 2004.

17- LAMAS, C.; FAVACHO, A.; ROZENTAL, T. BÓIA, M.N.; KIRSTEN, A.H. Characterization of *Rickettsia rickettsii* in a Case of Fatal Brazilian Spotted Fever in City of Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Infections**, v. 12, n. 2, p. 149-151, 1997.

4.2 - Artigo 2 - Monitoring of the resistance or susceptibility of adult specimens and larvae of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) to chemical acaricides in Goiás, Brazil.

Freitas, E. P. S.; Garcia-Zapata, M. T. A.; Fernandes, F. F.

Submetido ao periódico científico Experimental and Applied Acarology. (normas no anexo)

Monitoring of the resistance or susceptibility of adult specimens and larvae of *Amblyomma cajennense* (*Fabricius, 1787*) (*Acari: Ixodidae*) to chemical acaricides in Goiás, Brazil.

Edméia de Paula e Souza Freitas[1], Marco Túlio Antônio Garcia Zapata[2], Fernando de Freitas Fernandes[3].

Abstract

Amblyomma cajennense or the Cayenne tick is a three-host ixodid tick species of low parasitic specificity that is the principal vector of Brazilian spotted fever. The primary objective of this study was to evaluate the possible development of resistance by adult specimens of *A. cajennense* to deltamethrin, a synthetic pyrethroid insecticide and the principal miticide commercially available in the region. The second objective was to monitor the susceptibility and/or resistance of larvae of this species to 12 synthetic acaricide formulations selected from the principal pesticides available in Goiás for the control of ticks. Unfed male and female adult specimens of *A. Cajennense* were collected from leaves of bushes along a nature trail in the municipality of Caldas Novas, Goiás, Brazil. They were submitted to immersion in the highest recommended dose of deltamethrin and subsequently, were placed in contact with filter paper impregnated with the substance. The toxicological effects caused by the insecticide were observed every 6 hours over a 36-hour period. To obtain larvae, engorged females of *A. Cajennense* were collected from naturally infested horses that had been free of acaricidal residue for at least 45 days, in farms situated in five different municipalities in the state (Caldas Novas, Hidrolândia, Goiás, Terezópolis and Goiânia). The larvae were exposed to different concentrations of 12 commercially available acaricidal formulations using the larval packet test (LPT) method. The control groups were treated with distilled water alone. The bioassays were performed in quadruplicate at a temperature of 27°C, relative air humidity > 80% and 12-hour light/dark cycles. The mean percentage of mortality ($\overline{MX}$) was 72.6%

[1]Mestranda do Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) Biológa. Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária (LAMV), Universidade Federal de Goiás (UFG).
[2]Professor Doutor da / UFG. PPGSC.
[3]Professor Adjunto Doutor da, UFG. Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária, *Head.*
Corresponding author at: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, CEP 74.605-050, Cx. Postal 131, Goiânia, Goiás, Brazil.
E-mail address: fernandesff@pq.cnpq.br (F. F. Fernandes); fernandesff.ufg@gmail.com.

in the adult specimens after 24 hours of exposure to the dose of deltamethrin recommended by the manufacturer, characterizing a *status of resistance*. $\overline{MX}$ of 82%, 89%, 89.6% and 90% of the larvae were obtained, respectively, for deltamethrin, cypermethrin + piperonyl butoxide (PBO), amitraz and permethrin, characterizing a *status of probable resistance* of the larvae to these acaricides. No significant mortality was found in the control groups ($p<0.05$).

Keywords: Ixodidae; tick control; *Amblyomma cajennense*; chemical control; acaricide resistance.

Introduction

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) is a three-host ixodid tick species that originated in the New World and was first described in the city of Cayenne in French Guyana, which gave its name to this species. This ixodid is distributed throughout the Americas, from the southern United States (Texas), through Central America including the Antilles, to northern Argentina, with the exception of the extreme south of Brazil, Uruguay and Chile. This species has poor parasitic specificity, infesting anything from reptiles and amphibians to rodents, marsupials and even large mammals. It is considered to be the principal vector of *Rickettsia rickettsii*, the etiological agent of Brazilian spotted fever (very similar to the North American Rocky Mountain spotted fever). This ixodid is also believed to be involved in the transmission of an unknown pathogen responsible for a human form of borreliosis similar to Lyme disease. It is also an effective vector of the Venezuelan equine encephalitis virus and to a lesser extent, of Ehrlichia ruminantium, (previously known as Cowdria ruminantium). Moreover, there are reports of paralysis in hosts following blood-feeding activity, as a result of the inoculation of toxins present in its saliva (Barros-Battesti et al. 2006).

In view of its avidity for blood-feeding and its poor parasitic specificity, this ixodid is beginning to constitue an obstacle to ecotourism, an activity that represents an important source of income in developing countries with a vast biodiversity such as Brazil. Recently, a large number of unfed adult specimens of *A. Cajennense* were found in nature trails in the municipality of Caldas Novas in the state of Goiás, Brazil. They were hidden beneath the foliage of bushes at the side of the trail, exhibiting their well-known "ambush behavior" by using their olfactory sensilla to detect volatile kairomones (the trace of scents from the host) to then attack

and infest any potential host that passes by (Sonenshine 2006; Barros-Battesti et al. 2006). These trails, in addition to being used by humans, were also found to be used by wild animals such as opossums (*Didelphis* sp) and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), as shown by the occasional sighting of these hosts or traces such as paw prints and feces on the trails. Blood isolates of *Didelphis* sp, naturally infected by *R. rickettsii*, have been obtained in the states of São Paulo and Minas Gerais, Brazil. Nonetheless, the potential of these mammals to infect ticks during blood-feeding activity is as yet unknown. Likewise, epidemiological studies conducted in São Paulo have indicated the capybara as the probable amplifier host of *R. rickettsii*; nevertheless, this hypothesis remains to be confirmed scientifically (Barros-Battesti et al. 2006; Wada and Martins 2007).

The presence of the vector and supposed amplifier hosts (capable of becoming infected, developing bacteremia in sufficient plasma titers to cross the intestinal barrier of an uninfected tick through blood-feeding) (Barros-Battesti et al. 2006) are findings that serve as an alert for the state of Goiás, which is still considered a nonendemic area for Brazilian spotted fever (Wada and Martins 2007). It should be emphasized that autochthonous Brazilian spotted fever has been recorded in the Federal District, which is situated within the state of Goiás, since 2005; while in Minas Gerais, which shares a lengthy border with Goiás, there are records of Brazilian spotted fever dating from the 1930s, with a lethality rate of 26% of cases diagnosed between the years of 1995 and 2006 (Wada and Martins 2007). This high lethality rate may be explained by the persistent lack of knowledge of Brazilian physicians with respect to this emerging parasitosis, which, after rabies, may be considered the most lethal disease to mankind, with a lethality rate that may reach as high as 80% of cases that are not treated with antibiotics. Since this disease is multisystemic and its clinical course and progression may vary from case to case and since pathognomonic signs are absent, diagnosis of cases of Brazilian spotted fever may be delayed, hence resulting in the death of patients (Wada and Martins 2007; Barros-Battesti,et al. 2006). Between 1981 and 2006, Brazilian spotted fever spread throughout the Brazilian states of Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, the Federal District and Paraná, with at least 537 recorded cases according to preliminary data from the Department of Health Surveillance of the Brazilian Ministry of Health (Wada and Martins 2007).

With a view to improving control of the most susceptible link (the vector) in the epidemiological chain that results in Brazilian spotted fever, a disease that is spreading throughout the country, the objective of the present study was to evaluate the possible development of resistance in adult specimens of *A. cajennense* to the most common synthetic pyrethroid available on the market in Goiás. This pyrethroid is produced by some pharmaceutical companies for use in veterinary medicine (for pulverizing infected animals) at the following

recommended doses: 25 ppm for cattle and exactly twice that dose, i.e. 50 ppm for horses. It is also produced by some pharmaceutical companies for environmental control (for application in infested environments, around the home, in rural installations, stables, barns, kennels, horse stalls, etc.), at a recommended dose of 150 ppm for flies (adults and larvae) and 200 ppm for crawling arthropods. In the present study, it was decided to evaluate the highest recommended dose for application of the product directly on horses, the principal hosts of *A. cajennense* of all domestic and farm animals.

Once a "*status of resistance*" or "*status of probable resistance*" to the pyrethroid deltamethrin was found, as defined in accordance with the recommendations of the World Health Organization (WHO Guidelines, 1970, 1998), the second objective of the study was to monitor the susceptibility or resistance of *A. cajennense* to the twelve principal synthetic chemical acaricidal products available on the market in the state of Goiás.

Materials and Methods

Preliminary bioassay using adult specimens of A. cajennense to verify the possible development of resistance to the pyrethroid deltamethrin.

Unfed male and female specimens of *A. cajennense* were found and collected in naturally infested leaves of bushes of the Brazilian *cerrado* biome in the municipality of Caldas Novas, Goiás, Brazil. The ticks were placed, together with the leaves, in glass jars (17 x 8.5 cm), each containing a strip of sterilized hydrophilic cotton wool moistened in distilled water and fixed to the screw-on top of the container. A piece of paper folded in the form of a concertina was placed at the bottom of the jar, allowing the extremely agile ixodids to attach themselves, settle or hide in its folds. Next, they were transported to the Medical and Veterinary Arthropodology Laboratory at the Institute of Tropical Pathology and Public Health of the Federal University of Goiás. In the laboratory, they were washed with distilled water and dried with a paper towel. With the aid of a stereoscopic microscope, males and females were separated, and further selection eliminated any ticks with malformations or mutilations. Next, they were identified according to their species using the taxonomic keys for species of *Amblyomma* found in the Western hemisphere and in Brazil, updated and illustrated (Jones et al. 1972; Guimarães et al. 2001; Onofrio et al. 2006). Males and females were transferred separately to clean jars, similar to those described above. These jars were then kept inside Biochemical Oxygen Demand (BOD) incubators at a

temperature of 27 ± 1 °C, with relative air humidity = 80% and with 12-hour light/dark cycles, until the bioassays with the synthetic pyrethroid were performed.

To evaluate sensitivity to the acaricide, the adult specimens were immersed for five minutes in a bath containing a solution of pyrethroid deltamethrin in distilled water at the highest dose recommended by the manufacturer, a technique adapted from the methodology described by Drummond et al. (1973). Next, the groups were separated into males and females and placed in devices designed to contain the ixodids and expose them to the test solution. These devices consisted basically of a glass petri dish (9 x 1.4 cm) and a circular filter paper (9 cm in diameter). A series of envelopes was made from this filter paper and treated in the test group with the same solution of deltamethrin in distilled water. Identical envelopes moistened only with distilled water were used for a control group. Each envelope was treated either with 4 ml of the test solution or distilled water, distributed uniformly over its internal surface with the use of disposable pipettes. Next, the envelopes were allowed to dry for 12 hours at room temperature inside the glass petri dishes, in accordance with a modified version of the methodology previously described by Fernandes (2000, 2001) for bioassays of the susceptibility of ixodid larvae to pyrethroids; however, neither paraffin nor organza cloth were used. Each petri dish with the envelope inside had previously been carefully identified on the outside using an indelible ink pen (Sarstedt, Germany), leaving the upper surface and the remaining sides clear so as to allow the specimens to be observed during the entire bioassay without any need to open the petri dish.

Before being opened to remove the samples, the glass jars with the ticks were placed over a 500 ml beaker, placed upside down over a circular aluminum container (30.5 x 5 cm), half full of water to prevent the ixodids from escaping. Using fine entomological forceps to minimize damage, around 10-16 ticks were transferred to each petri dish, placed on top of the envelope. The bioassays were performed in a biological chamber specifically constructed in the laboratory for testing acaricides, maintained at a temperature of 27 ± 1º C, with relative air humidity = 80% and 12 hours of natural light/dark cycles. The containment and exposure devices were then placed on the bench inside this chamber.

Mortality was verified every 6 hours over 36 hours of exposure with the use of a stereoscope, without opening the devices. With the objective of permitting comparison between the results of the present study and the findings of other investigators, ticks that were motionless were considered dead.

Bioassays with larvae of A. cajennense

Engorged females of *A. cajennense* were collected from naturally infested horses and infested rural environments in the municipalities of Caldas Novas, Hidrolândia, Goiás, Terezópolis and Goiânia in the state of Goiás, Brazil. The females were stored in glass jars and transported to the laboratory where they were cleaned and underwent selection as previously described.

To allow the females to lay their eggs, they were fixed dorsally using double-sided adhesive tape to a glass slide (180 x 120 mm) that was then turned upside down over the base of a petri dish (150 mm in diameter). Next, they were placed in a BOD incubator at a temperature of 27º ± 1ºC with relative air humidity >80% and 12-hour light/dark cycles (Fernandes and Freitas 2007; Fernandes et al. 2007). Eggs were collected daily and each daily collection was pooled in a single polyethylene tube (8.5 x 2.5 cm) with a screw-on top. After eclosion, each polyethylene tube was then sealed with crepe tape to prevent the larvae from escaping (Fernandes 2000, 2001).

Twelve different acaricidal formulations were selected from among those commercially available in Goiás for effectiveness testing. The bioassays were performed in quadruplicate. For each bioassay, new stock solutions were prepared at different concentrations according to the acaricide to be evaluated. A progressive dilution series of the stock solution was made using distilled water to give lower concentrations, including the concentrations recommended by the manufacturer for the combat of *A. cajennense* and other species of ticks.

To evaluate the sensitivity of the larvae, the larval packet test developed by Fernandes and Freitas (2007) was used, based on previously published methodology (FAO 1995, 2004; Fernandes 2000, 2001; Fernandes et al. 2005, 2007) but including some modifications that were introduced to increase practicality and minimize costs without reducing efficacy. The bioassays were performed in a temperature controlled chamber at 27º ± 1ºC with relative air humidity >80% and 12-hour natural light/dark cycles. The chamber was specifically constructed for performing bioassays with acaricides. For the bioassays, 14-21 day-old larvae obtained from the polyethylene tubes (8.5 x 2.5 cm) containing the larvae pools with the highest eclosion rates (90-100%) were used. Once the tube was selected, prior to opening, it was placed over an inverted glass vial (7 x 2.5 cm) at the center of a petri dish with water to prevent the larvae from escaping. A sample of the larvae was then carefully picked up using a No. 4 paintbrush moistened with distilled water or with the test solution, the paintbrush then being placed in the center of a sheet of white paper (43 x 32 cm) fixed to the bench with adhesive tape. Double-

sided adhesive tape was also placed over the edges of this sheet of paper in order to prevent the larvae from escaping. Only agile larvae were selected for the bioassays.

For each repetition of the quadruplicated bioassays, a new stock solution of each acaricide was prepared. In each bioassay, four envelopes of filter paper were prepared for each concentration tested. These were impregnated with 4 ml of each solution, distributed uniformly over its internal surface and left for 6 hours to allow the crystals formed by the acaricides to adhere to the filter paper. The test group was exposed to envelopes impregnated with acaricides. The control group was exposed to: 1) dry envelopes (no treatment) and 2) envelopes moistened internally with 2 ml of distilled water. Around 50 or more larvae were carefully lifted from the white paper on the bench using a dampened paintbrush and placed at the bottom of each envelope. The envelopes were then immediately closed by folding them over at around 10 mm from the top and sealing them with metal clips. The envelopes were then suspended on supports by the clips in order to avoid contamination or solution flow out from contact with the bench. The envelopes were opened and mortality assessed using a stereoscope after 24 hours of exposure, following the recommendations of FAO (2004).

In accordance with the criteria defined by the World Health Organization (1970, 1998), the acaricides that yielded a mean mortality ($\overline{MX}$) of < 80% of the larvae of *A. cajennense* at the recommended commercial concentration of the substance were considered ineffective since they characterize a "*status of resistance*". Those that resulted in a $\overline{MX}$ of 80 to 97% configured a "*status of probable resistance*". Finally, those that resulted in a $\overline{MX}$ = 97% were classified as a "*status of susceptibility*".

Statistical analysis

With the objective of determining the existence of statistically significant differences ($p<0.01$) between the mortality caused by the acaricides at the respective doses recommended by the manufacturers, analysis of variance (ANOVA) was used followed by the Scott-Knott test. The statistical software program used was Assistat®, version 7.4. The lethal concentrations (LC), particularly LC_{50} (concentration capable of killing 50% of the larvae tested) and LC_{99} (concentration capable of killing 99% of the larvae tested) with their respective 95% confidence intervals (95%CI) and their coefficients of determination (R^2) were calculated for the products that were found to be ineffective (Fernandes et al. 2005, 2007; Fernandes and Freitas 2007). These indexes were calculated by interpolating the $\overline{MX}$ resulting from the different concentrations tested by probit analysis using the SAEG statistical analysis system (SAEG®, version 9.0).

Results and Discussion

Monitoring the susceptibility or resistance of adult specimens of A. cajennense to deltamethrin.

The results obtained with respect to the mortality and toxicological effects of deltamethrin on adult male and female specimens of *A. cajennense* are shown in Table 1. The $\overline{MX}$ of the test group, observed according to the recommendations of FAO (1995, 2004) at 24 hours of exposure, was 72.6%. These results infer a "*status of resistance*" of adults of these strains of *A. cajennense* submitted to the synthetic pyrethroid deltamethrin in accordance with the criteria defined by the WHO (1970, 1998).

Having confirmed the resistance of adult specimens of *A. cajennense* to the pyrethroid deltamethrin, the investigation then went on to evaluate the susceptibility and/or resistance of larvae of *A. cajennense* to the principal acaricidal products available in Goiás, Brazil, which were then tested in sequence, constituting the second objective of this study.

The toxicological knock-down effect found in adult specimens of *A. cajennense* in this study (Table 1) that is characteristic of the effect of pyrethroids on ticks and other arthropods (Hervé 1983) was previously reported by Pinheiro (1987) in *A. cajennense* in the initial days of treatment with synthetic pyrethroids, hampering the work of this investigator in counting ticks on horses, and by Fernandes (2001, 2006) in larvae of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*, and cattle tick, Rhipicephalus (*Boophilus*) *microplus*. Notwithstanding, when observed over 30 hours in the present study, these toxicological effects underwent no further changes, making it impossible to recommend observation of the mortality of ixodids exposed to deltamethrin for longer than the 24 hours currently recommended by FAO (2004). Thus, the mortality rates obtained in the present study at 24, 30 and 36 hours of exposure were not found to be significantly different according to the statistical tests applied: ANOVA and the Scott-Knott test ($p<0.01$). Statistical analysis also showed that the male ticks were more sensitive to pyrethroids, with a higher mean percentage of mortality ($\overline{MX}$ = 88.52%) compared to the females ($\overline{MX}$ = 73.13%).

The device used to contain and expose the adult specimens in the present study for the bioassays with deltamethrin was adapted from previous methodologies used in bioassays on the susceptibility of larvae to acaricides (Fernandes 2000, 2001). However, organza cloth and paraffin, which were fundamental in preventing the larvae from escaping in the methods described by Fernandes (2000, 2001), were not used in the present study, a modification that did not alter the effectiveness of the system. Organza cloth and paraffin were not used

in these experiments in view of the much greater size of the adult specimens compared to the larvae of ixodids and because of the pressure exerted by the weight of the petri dish on the filter paper, which sealed the device, thereby preventing the ticks from escaping. Moreover, because of the poorer adherence of the glass petri dish, it was found that the ixodids remained almost all the time on the filter paper, thus increasing contact with the test solution.

The use of 4 mL of the test solution to moisten each filter paper instead of the 2 mL described in the methodology by Fernandes et al. (2005, 2007) and by Fernandes and Freitas (2007), who evaluated the susceptibility of *R.* (*B.*) *microplus* larvae to acaricidal substances, is justified by the already known tolerance of *A. cajennense* to higher concentrations of acaricides than those used for the control of *R.* (*B.*) *microplus.* This fact was previously observed by Pinheiro (1987), who carried out *in vitro* bioassays of the synthetic pyrethroids deltamethrin, alphamethrin, flumethrin and fenvalerate. In agreement with these findings, other investigators went on to recommend that doses at least 1.8 times higher than those recommended for the control of *R.* (*B.*) *microplus* should be used in the chemical control of *A. cajennense* (Barros-Battesti et al. 2006; Martins et al. 2006).

Monitoring of the susceptibility and/or resistance of larvae to the principal acaricides on the market in the state of* Goiás for the control of *A. cajennense and other ticks.

Larvae of *A. Cajennense* responded heterogenically to the doses of the products analyzed (ANOVA: $F_{11,24} = 6.95; p < 0.01$). The $\overline{MX}$ resulting from use of these products [cypermethrin + piperonyl butoxide (PBO), permethrin, amitraz and deltamethrin] after 24 hours of exposure, showed, according to the standards defined by the WHO (1970, 1998), a "*status of possible resistance*" of the larvae to this ixodid ($\overline{MX}$ of 80 to 95%) (Table 2).

These results indicate the probable and brief development of a "*status of resistance*" of the larvae of these strains of *A. cajennense* to these products, as has also been reported with respect to cypermethrin and deltamethrin, which at the doses recommended by the manufacturers, resulted in $\overline{MX}$ of only 77.6% and 76.3%, respectively, (both <80%, thereby configuring a "*status of resistance*") when used against larvae of strains of bovine ticks from farms in the municipality of Goiânia in the state of Goiás in a study carried out by Fernandes in 2001. Previously, these same pyrethroids, at the same concentrations, had yielded $\overline{MX}$ of 80.3% (>80%, thus

indicating a "*status of susceptibility*") and 68.2% (<80%, thus indicating a "*status of resistance*"), respectively, for larvae of strains of brown dog tick from different districts of this same municipality (Fernandes 2000).

Contrary to the findings of the present study, Fernandes (2000, 2001) previously reported that permethrin was the synthetic pyrethroid that offered the best $\overline{MX}$ indexes for strains of larvae of *R. sanguineus* and *R.* (*B.*) *microplus* from the municipality of Goiânia, 86.9% and 86.2%, respectively, configuring a "*status of susceptibility*" (= 80%) in both cases.

Solomon et al. (1979) had already shown adult ixodids to be less sensitive to synthetic acaricides than their larvae. With this in mind, in the present study different methodologies were used for adults and for larvae to evaluate their susceptibility or resistance to acaricides. As previously described, the larvae were submitted to contact with the acaricide by exposing them to the filter paper impregnated with 2 mL of the solution for 24 hours. The adults were previously immersed in an acaricidal bath for 5 minutes, which is believed to result in better penetration of the product in the tick through the cuticle and respiratory system. It should be emphasized that following immersion, the adults were then placed on the filter paper that had been soaked with 4 mL of the substance, twice the dose used in the bioassays with the larvae. This is believed to be why the adult specimens in the present study were less sensitive to deltamethrin compared to the larvae, with $\overline{MX}$ indexes of 72.6% and 82.0%, respectively, after 24 hours of exposure. In agreement with these findings, Freitas and Fernandes (2005) reported in a previous paper that the method of immersing the insects in acaricides results in higher mortality rates compared to the moistened paper method. In addition to these factors, it should be mentioned that, according to FAO (1995, 2004), the methodology of using moistened filter paper and unfed larvae of a uniform age (*Larval Packet Test – LPT*) is the most widely recommended test for evaluating the efficacy of acaricidal products used in tick control.

The other products tested on larvae in the present study (dichlorvos + cypermethrin, chlorfenvinphos + dichlorvos + alkyl + xylol, chlorpyrifos + high-cis cypermethrin, cypermethrin, chlorpyrifos, cypermethrin + chlorpyrifos + citronellal, trichlorfon + coumaphos + cyfluthrin and diazinon) resulted in a "status of susceptibility" in the larvae, with $\overline{MX}$ indexes = 97% (Table 2).

The results shown in Table 2 indicate that the association of the organophosphate chlorpyrifos with the synthetic pyrethroid cypermethrin, and the association of citronellal (a substance of botanical origin with supposed synergistic acaricidal and/or insecticidal activity) and piperonyl butoxide (a substance of botanical origin used as a synergic agent of pyrethrins, an inhibitor of the microsomal enzyme system of insects and,

consequently, prolonging the activity of a large number of insecticides) did not interfere with the acaricidal effect of the synthetic pyrethroid cypermethrin.

Lethal concentrations were calculated for the commercially available acaricides that were found to have the poorest acaricidal efficacy. With cypermethrin + piperonyl butoxide (PBO), permethrin, amitraz and deltamethrin, CL_{99} was 0.81% (8100 ppm), 1.15% (11500 ppm), 3.6% (36000 ppm) and 0.32% (3200 ppm), respectively (Table 3). Table 3 shows that the effective dose, i.e. the dose capable of killing all the larvae (CL_{99}) of the *A. cajennense* tick, found in this study for these acaricides, was much higher, 1.8 times or twice as high the doses reported by other authors (Pinheiro 1987; Barros-Battesti et al. 2006; Martins et al. 2006). These data confirm the development of the resistance of larvae to these products. As shown in Table 3, the effective doses (i.e. the CL_{99}) of amitraz, permethrin and cypermethrin + PBO were 18 times, 5.75 times and 8.1 times greater, respectively, than the doses recommended by the manufacturers. Figures 1 and 2 show the susceptibility of the larvae of *A. cajennense* to the different concentrations of acaricides tested after 24 hours of exposure to the products. Mortality values above 97% were achieved only when concentrations over 0.1% (1000 ppm) were used for amitraz, 0.14% (1400 ppm) for permethrin and 0.1% (1000 ppm) for deltamethrin and for cypermethrin + PBO (Figures 1 A-C and 2 A-C).

Despite these findings, it is important to remember that to disinfest horses of ticks, it is best to use products that were specifically formulated for these hosts and to rigorously follow the posology and the instructions for dilution and administration specified by the manufacturer, since horses are extremely sensitive to pesticides. It is important to remember that in addition to detecting a "*state of probable resistance*" of the larvae of *A. cajennense* to amitraz, acaricides based on this substance should not be used on horses as it is poisonous to these animals. It should also be emphasized that phosphate-based acaricides should not be administered to pregnant mares. In addition, supplementary treatment with iron, vitamins and liver protective drugs may help avoid possible intoxication from acaricides that may occur in seriously infested and very debilitated hosts. A latency period of 21 days should be maintained between pulverizations with acaricides due to the high toxicity of these products to horses (Frazer 1991; Westermann 2004; Pereira and Busato 2007).

If there is no alternative to chemical control, studies suggest the use of acaricides in horses in the form of pulverization and the application of phosphate-based products, principally synthetic pyrethroids, since these are less toxic to mammals, have a rapid effect, are potentially effective and leave desired residual effects (Hervé 1983; Pereira and Busato 2007). Taking into consideration the toxicity of the product in mammals and its efficacy, the results of the present study suggest use of the following products for the control of the strains of *A.*

cajennense evaluated, in the following order: 1) cypermethrin; 2) cypermethrin + chlorpyrifos + citronellal; 3) dichlorvos + cypermethrin or chlorpyrifos + high-cis cypermethrin; 5) chlorpyrifos; 6) trichlorfon + coumaphos + cyfluthrin; 7) chlorfenvinphos + dichlorvos + alkyl + xylol; and 8) diazinon. All the listed products yielded 100% mean mortality of treated larvae.

Nevertheless, it is important to emphasize that performing tests of susceptibility similar to those carried out in the present study, using the ticks from each horse breeding farm infested, with the objective of establishing the optimal acaricidal active ingredients to be used in each case, would reduce costs and significantly increase the efficacy of tick control. The use of acaricides for environmental control in infested installations (that allow much higher doses to be used since they are not applied directly on the host) is a measure to be considered, principally because *A. cajennense* is a three-host ixodid tick that undergoes all the phases of ecdysis and oviposition in the environment. In addition, it is important to take into consideration the fact that the number of specimens of ectoparasites that are found on hosts generally corresponds to only 5% of the local population. The others remain in immature form, in the non-parasitic phase of the biological cycle (Martins et al., 2006).

Nevertheless, the aggression currently suffered by the environment urgently demands the use of measures with a lower environmental impact. Therefore, as a physical means of control, prescribed burning of the floor surface of stables, kennels and other installations infested by *A. cajennense*, performed carefully with the use of a domestic flame-thrower in cracks in the floor, walls and roof in order to avoid fires, is quite effective in destroying specimens in non-parasitic phases. Another effective physical control measure is to rotate pastures, always taking care to keep the pasture cropped and clean, therefore less hospitable to the permanence and development of ticks in view of their greater exposure to weather conditions, resulting in sudden changes in temperature and rendering the environment inhospitable to the specimens.

A future perspective for the integrated control of this vector that merits further investigation is an anti-tick vaccine that would permit more specific control of the population without damaging the environment (FAO, 2003). Vaccines with antigens related to intestinal membrane proteins of the *R.* (*B.*) *microplus* tick (Bm86) are already on the market; however, lethality is low in adult stages (20-30%) and the high cost renders the product inaccessible to the majority of producers, thereby limiting their viability in Latin America (FAO, 2003). Current studies however, have shown new mechanisms of action for anti-tick vaccines, highlighting mechanisms involving possible interference in the RNA of ticks with the objective of genetic manipulation (De la Fuente et al. 2007), as well as techniques to inhibit the genes responsible for the synthesis of anti-hemostatic agents

present in the saliva of these parasites, agents that are fundamental for the feeding and survival of the ticks (Martitz-Olivier et al. 2007).

The damage to public health and to the economy caused by *A. cajennense*, the emerging risk of introducing and sustaining specimens that are vectors of Brazilian spotted fever and of amplifier hosts in Goiás and, principally, the findings of the present study showing the inefficacy of some acaricides that are widely used to combat this vector, are facts that demand investment in studies aimed at developing alternative methods of integrated, more effective and less environmentally damaging means of control. Prospects include the development of natural organic acaricides based on promising results obtained experimentally with such substances in the control of other species of ixodids (Kaaya et al. 2000, Fernandes et al. 2005, 2007; Pereira and Famadas et al. 2006; Fernandes and Freitas 2007; Ribeiro *et al*., 2007) and on the broad and valuable biodiversity of the Brazilian flora.

Table 1: The toxicological effect of the pyrethroid deltamethrin used at the recommended dose for application in horses (50 ppm) on male and female specimens of *A. cajennense*

Contention exposure devices	**Ixodids**		**Mortality**						
	Number of	**Sex**	**01h**	**06h**	**12h**	**18h**	**24h**	**30h**	**36h**
T1	12	M	0	3	6	6	9	10	10
T2	16	F	0	4	7	7	11	12	12
T3	14	M	0	7	7	8	11	12	12
T4	12	F	0	0	3	3	8	8	8
T5	13	M	0	6	7	7	10	11	11
T6	14	F	0	2	6	6	9	10	11
T7	12	M	0	4	3	8	10	12	13
T8	15	F	0	3	8	9	11	11	12
T9	10	M	0	2	3	6	7	8	8
T10	10	F	0	0	2	5	7*	6*	6
Subtotal	128	-	0	31	52	65	93	98 (100)	103
Mean males (%)	61	-	0a	36.06b	42.62b	57.37d	77.04e	86.88f	88.52f
Mean females (%)	67	-	0a	13.43c	38.80b	44.77b	68.66e	70.14e	73.13e
Mean adults (%)	-	-	0A	24.2B	41.0C	50.8D	72.6E	78.1E	80.5E
Standard error	-	-	0	0.23	0.22	0.17	0.57	0.2	0.23
Standard deviation	-	-	0	2.28	2.20	1.71	1.56	2.05	2.26
C1	16	M	0	0	0	0	0	0	0
C2	15	F	0	0	0	0	0	0	0
Overall total	159								

T: test group. C: Control group. M: Males. F: Females. * *knock - down effect.*

Values in the horizontal lines followed by identical capital letters and values in the vertical columns followed by identical lower-case letters indicate that no statistically significant difference was found according to the *Scott-Knott* test ($p<0.01$).

Table 2: Mortality of *A. cajennense* larvae due to the effect of different acaricidal bases at the doses recommended by the manufacturers for the treatment of ticks

Acaricidal bases	**Chemical groups**	**Mean mortality (%)**
Dichlorvos + Cypermethrin	Organophosphate + Pyrethroid	100 a
Chlorfenvinphos + Dichlorvos + Alkyl + Xylol	Organophosphate	100 a
Chlorpyrifos + high-cis Cypermethrin	Organophosphate + Pyrethroid	100 a
Cypermethrin	Pyrethroid	100 a
Amitraz	Formamidine	89.6 b
Cypermethrin + Piperonyl butoxide	Pyrethroid + Synergist	89.0 b
Chlorpyrifos	Formamidine + Organophosphate	100a
Cypermethrin + Chlorpyrifos + Citronellal	Pyrethroid + Organophosphate + Synergist	100a
Deltamethrin	Pyrethroid	82 b
Trichlorfon + Coumaphos + Cyfluthrin	Organophosphate + Pyrethroid	100 a
Diazinon	Organophosphate	100 a
Permethrin	Pyrethroid	90 b

Line values followed by identical letter were not significantly different from each other according to the Scott-Knott test ($p<0.01$).

Table 3: Products that in their respective concentrations (%) recommended by the manufacturer resulted in resistance by larvae of *A. cajennense*, as indicated by CL_{50} and CL_{99}.

Acaricidal bases	**Dose recommended by the manufacturer (%)**	**CL_{50} (95%CI)**	**CL_{99} (95%CI)**	**R^2**
Amitraz	0.2	0.003 (0.0015-0.0045)	3.6 (1.6 - 11.19)	0.9216
Permethrin	0.2	0.06 (0.05 - 0.07)	1.15 (0.75 - 2.08)	0.8365
Cypermethrin + PBO	0.1	0.017 (0.013 - 0.02)	0.81 (0.52 - 1.4)	0.9348
Deltamethrin	0.1	0.04 (0.03 - 0.05)	0.32 (0.2 - 0.4)	0.9282

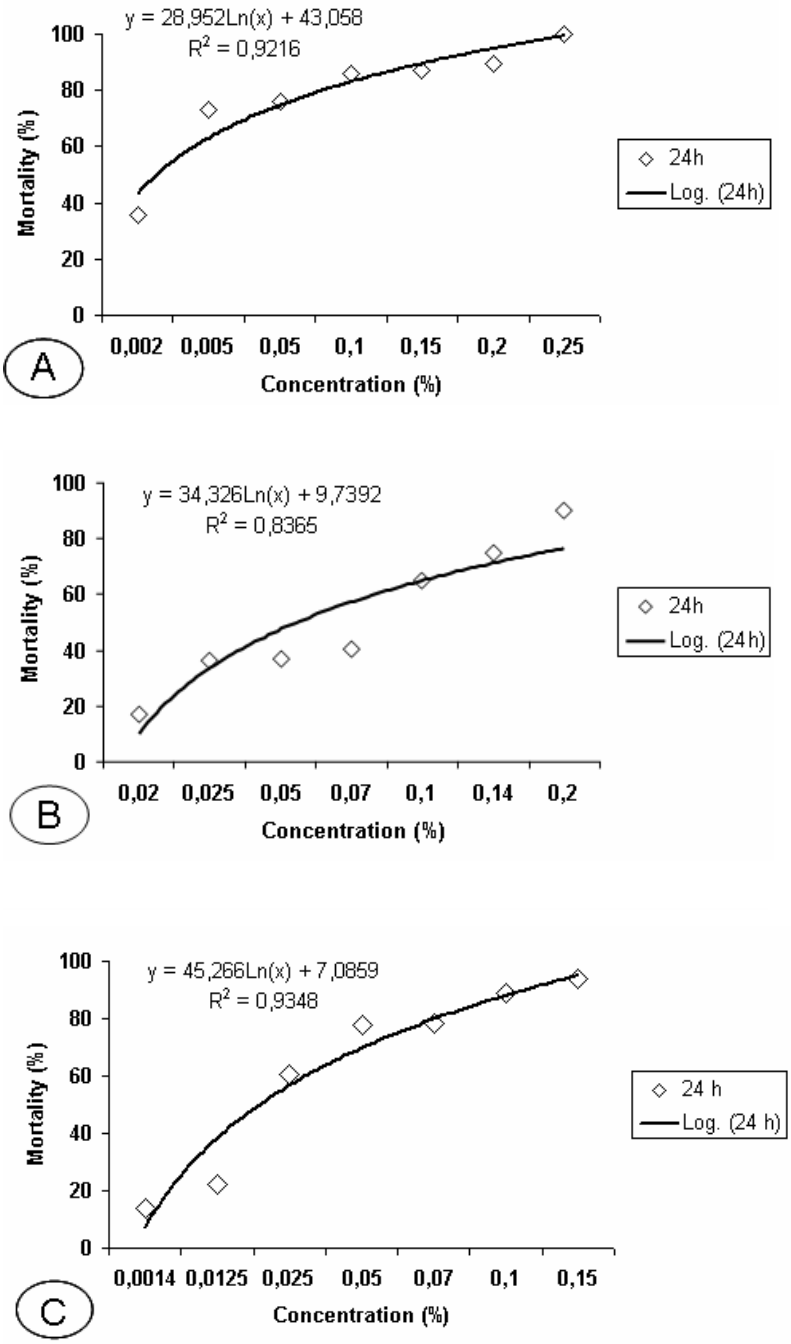
CL_{50}: Lethality concentration at 50%; CL_{99}: lethality concentration at 99%; CI: confidence interval; R^2: Coefficient of determination.

Figure Legends

Figure 1: Mortality of the larvae of *A. cajennense* as a result of the effect of different concentrations of the following acaricides: Amitraz **(A)**, permethrin **(B),** cypermethrin + PBO **(C)** and deltamethrin (**D**), respectively, observed at 24 hours of exposure. The squares represent the mean mortality percentages obtained with the different concentrations and the trend line is derived from the log-probit analysis. Y = straight line equation. R^2 = coefficient of determination.

Figure 2: Susceptibility of larvae of *A. cajennense* to the different concentrations of the following acaricides: amitraz **(A)**, cypermethrin + PBO **(B),** permethrin **(C)** and deltamethrin (**D**), respectively, observed after 24 hours of exposure. The shape-curves are derived from probit regression analysis.

Figure 1


y = 28,952Ln(x) + 43,058
R² = 0,9216
Mortality (%)
100
80
60
40
20
0
0,002 0,005 0,05 0,1 0,15 0,2 0,25
Concentration (%)
24h
Log. (24h)
A
y = 34,326Ln(x) + 9,7392
R² = 0,8365
Mortality (%)
0,02 0,025 0,05 0,07 0,1 0,14 0,2
Concentration (%)
24h
Log. (24h)
B
y = 45,266Ln(x) + 7,0859
R² = 0,9348
Mortality (%)
0,0014 0,0125 0,025 0,05 0,07 0,1 0,15
Concentration (%)
24 h
Log. (24 h)
C

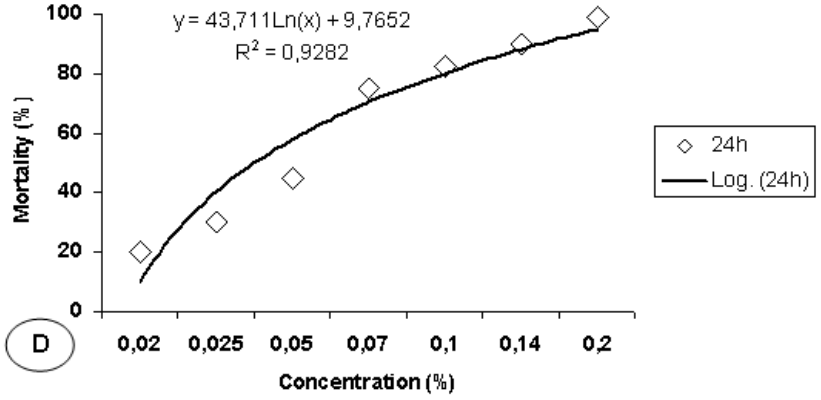
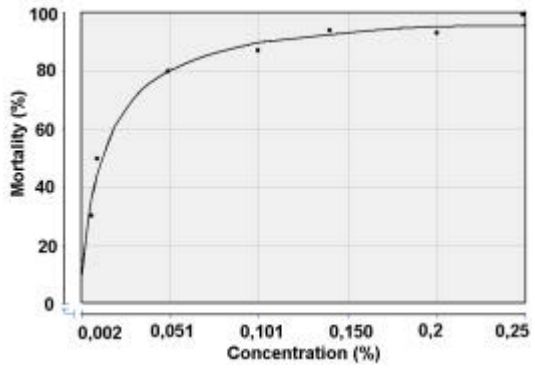
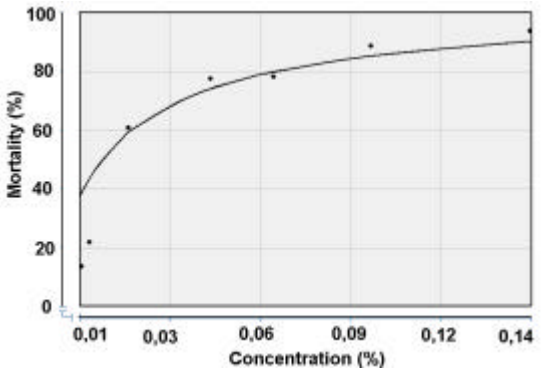
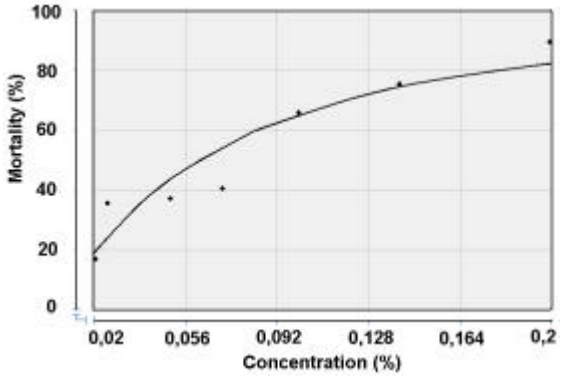

y = 43,711Ln(x) + 9,7652
R² = 0,9282
Mortality (%)
100
80
60
40
20
0
0,02
0,025
0,05
0,07
0,1
0,14
0,2
Concentration (%)
24h
Log. (24h)
D

Figure 2

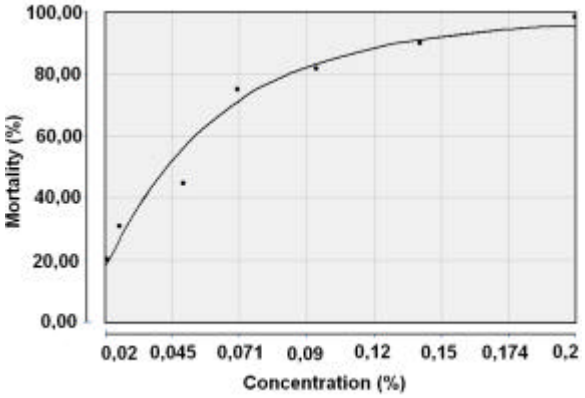

Mortality (%)
100
80
60
40
20
0
0,002
0,051
0,101
0,150
0,2
0,25
Concentration (%)


Mortality (%)
100
80
60
40
20
0
0,01
0,03
0,06
0,09
0,12
0,14
Concentration (%)

B


Mortality (%)
100
80
60
40
20
0
0,02
0,056
0,092
0,128
0,164
0,2
Concentration (%)

C


Mortality (%)
100,00
80,00
60,00
40,00
20,00
0,00
0,02
0,045
0,071
0,09
0,12
0,15
0,174
0,2
Concentration (%)

D

REFERENCES

Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH (2006). Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/ Butantan, São Paulo, 223 pp.

De la Fuente J, Kocan KM., Almazán C, Blouin EF (2007). RNA interference for the study and genetic manipulation of ticks. Trends Parasitol., 23: 427-433.

Drummond RO, Ernst SE, Trevino JL, Gladney WJ, Graham OH (1973). *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. J. Econ. Entomol. 66: 130 - 133.

FAO (1995). *Acaricide resistance test kit*. Instructions for use. World Acaricide Resistance Reference Centre (WARRC), Berlin, 9 pp.

FAO (2003). Resistencia a los antiparasitarios: Estado actual con énfasis en América Latina. Producción y Sanidad Animal.157: 55 pp.

FAO 2004. Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants, Rome.

Fernandes FF (2000). In vitro activity of permethrin, cipermethrin and deltamethrin on larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari, Ixodidae). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 52: 621-626.

Fernandes FF (2001). Toxicological effects and resistance to pyrethroids in *Boophilus microplus* from Goiás, Brazil. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 53: 538-543.

Fernandes FF, Freitas EPS (2007). Acaricidal activity of an oleoresinous extract from *Copaifera reticulata* (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the southern cattle tick, *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae). Vet. Parasitol. 147: 150 – 154.

Fernandes FF, Freitas EPS, Costa AC, Silva IG (2005). Larvicidal potential of *Sapindus saponaria* to control of the cattle tick, *Boophilus microplus*. Pesqui. Agropec. Bras. 40: 1243-1245.

Fernandes FF, Leles RN, Silva IG, Freitas EPS (2007). Larvicidal potencial of *Sapindus saponaria* (sapindaceae) against *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 59: 145 - 149.

Frazer CM (1991). Parte VIII - Farmacologia Veterinária. In: Frazer, C. M. (Ed.), Manual Merck de Veterinária. Roca, São Paulo, 1553-1753 pp.

Freitas EPS, Fernandes FF, (2005). Estudo da bioatividade larvicida das plantas Stryphnodendron adstringens, Qualea grandiflora e Copaifera langsdorffii para o controle de Boophilus microplus (Canestrini, 1887) (Acari, Ixodidae). In: Congresso de pesquisa, ensino e extensão da UFG - CONPEEX, 2. Anais eletrônicos do XIII seminário de iniciação cientifica [CD-ROM], Goiânia,: 3 pp.

Guimarães JH, Tucci EC, Barros-Battesti DM (2001). Ectoparasitos de importância Veterinária. Plêiade/FAPESP, São Paulo, 218 pp.

Hervé JJ (1983). El modo de acción de los pirtroides y el problema de la resistência a estos compuestos. In: Nominé (Ed.) Deltmetrín Monografia. Roussel-Uclaf, Paris, 67-107 pp.

Jones EK, Clifford CM, Keirans JE, Kohls GM (1972). The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the western hemisphere. Brigham Young Univ. Sci. Bull. Biol. Ser. 17, 1-40.

Kaaya GP (2000). The potential for antitick plants as components of an integrated tick control strategy. Ann. N.Y. Acad. Sci, 916: 576-582.

Martins JRS, Furlong J, Leite RC (2006). Controle de carrapatos. In: Barros-Battesti, D.; Arzua, M.; Bechara, G. H. (Eds.) Carrapatos de importância Médica e Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Brasil, São Paulo, pp. 145-153.

Maritz-Olivier C, Stutzer C, Jongejan F, Neitz AWH, Gaspar ARM (2007). Tick anti-hemostatics: Targets for future vaccines and therapeutics. Trends Parasitol. 23: 397-407.

Menezes ELA (2005). Inseticidas botânicos: Seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Embrapa, Seropédica, Rio de Janeiro, 32 pp.

Onofrio VC, Labruna MB, Pinter A, Giacomin FG, Barros-Battesti DM (2006). Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma*. In: Barros-Battesti, D.M., Arzua, M., Bechara, G.H. (Eds.), Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, 53-113 pp.

Pereira JR, Famadas KM (2006). The efficiency of extracts of *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae, Papilionoidae, Millettiedae) on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in artificially infested bovines. Vet. Parasitol. 142: 192-195.

Pereira MC, Busato A (2007). Carrapatos: é possível controlar. Responsáveis por grandes perdas econômicas no rebanho bovino, esses sugadores estão presentes também entre os equídeos. http://www.abelvargas.hpg.ig.com.br/artigos/carrapatos.htm. Cited 2007.

Pinheiro VRE (1987). Avaliação do efeito carrapaticida de alguns piretróides sintéticos sobre o carrapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina: Ixodidae). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 126 pp.

Ribeiro VLS, Toigo, E, Bordignon SAL, Gonçalves K, Poser G, 2007. Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of *Hypericum polyanthemum* on the cattle tick *Boophilus microplus*. Vet. Parasitol. 147: 199-203.

Solomon KR, Baker MK, Heyne H, Van Kleef J (1979). The use of frequency diagrams in the survery of resistance to pesticides in ticks in Southern Africa**.** Onderst J Vet Research, 46: 171-177.

Sonenshine DE (2006). Tick pheromones and their use in tick control. Ann. Rev. Entomol. 51: 557 – 580.

Wada MY, Martins EC (2007). Programa nacional de vigilância, prevenção e controle da febre maculosa brasileira e outras rickettsioses. In: II Congresso Nacional de Saúde Pública Veterinária, 2007. Fortaleza, CE. Anais. Associação Brasileira de Saúde Pública Veterinária.

Westermann CM, Boerma S, Nieuwstadt R A (2004). Amitraz intoxications in the horse: cases and backgrounds. Tijdschr Diergeneeskd. 129: 438 – 441.

World Health Organization (1970). Insecticide Resistance and Vector Control. WHO Technical Report Series, Geneva.

World Health Organization (1998). Test procedures for Insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio – efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces . WHO Report of the WHO informal consultation, Geneva.

World Health Organization (1998). Test procedures for Insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio – efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces . WHO Report of the WHO informal consultation, Geneva.

5 - CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

5.1- Conclusões

- Constatou-se pela revisão sistemática da literatura realizada no presente estudo a franca expansão territorial da Febre Maculosa Brasileira (FMB) no Brasil, com o registro de casos humanos nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais.

- Faz se necessárias novas investigações e estudos sobre a FMB.

-Observou-se eficiência, praticidade e baixo custo, das metodologias utilizadas nos bioensaios, para a contenção e exposição de adultos e larvas de *A. cajennense*.

- Constatou-se a perda de eficiência de importantes acaricidas químicos utilizados no controle do principal vetor da FMB, o *A. cajennense*.

-Constatou-se o desenvolvimento de resistência de adultos de *A. cajennense* ao piretroide sintético mais comercializado em Goiás, deltametrina, em sua maior dosagem recomendada pelo fabricante.

- Machos de *A. cajennense* foram mais susceptíveis do que as fêmeas, ao piretroide deltametrina.

- Através de bioensaios com larvas de *A. cajennense*, pela metodologia de *"larval packet test* (*lpt*), observou-se um *"status* de possível resistência" larval às dosagens comercialmente recomendadas dos produtos acaricidas testados, à base de Cipermetrina + Butóxido de Piperolina, Permetrina, Amitraz e Deltametrina, os quais proporcionaram mortalidades médias ($\overline{MX}$) de 80% a 90% às larvas.

- A associação de citronelal e Butóxido de Piperolina à Cipermetrina não interferiram na atividade letal ás larvas desse piretroide.

- Constatou-se também pela metodologia de "LPT" o "*status* de susceptibilidade"

($\overline{MX}$ = 97%) de larvas de *A. cajennense* aos produtos acaricidas Diclovós + Cipermetrina, Clorfenvinfos + diclorvós + alquil + xilol, Clorpirifós + cipermetrina hi-cis, Cipermetrina, Clorpirifós, Cipermetrina + clorpirifós + citronelal, Triclorfone + cumafós + ciflutrina e Diazinon.

- As recomendações letais com os produtos que promoveram às larvas um "*status* de possível resistência", foram de 5,78 a 18X maiores do que as recomendadas pelo fabricante.

5.2 - Considerações Finais.

- Em Goiás se tem todas as condições favoráveis de clima, fauna e flora para a presença e disseminação da FMB. O convívio do homem e seus animais domésticos, com o habitat de animais silvestres, devido à valorização do ecoturismo, da intensa atividade agropecuária e de demais atividades ao ar livre, suscitam a realização de pesquisas por técnicas de biologia molecular, para levantamento sorológico em hospedeiros e pacientes suspeitos.

- A ausência de sinais patognomônicos desta enfermidade, que muitas vezes leva ao diagnóstico tardio e óbito de pacientes, sugere o ataque ao elo mais fraco da cadeia epidemiológica da FMB e o monitoramento da eficiência das medidas de controle usuais para seu principal vetor, o *Amblyomma cajennense* além do desenvolvimento de medidas alternativas de controle para este carrapato, mais eficientes e de menor impacto ambiental e melhor relação custo benefício.

5.3 - Perspectiva futura

Considerando os promissores resultados obtidos no presente estudo, pretende se dar sequência ao estudo desenvolvido no presente Mestrado e investigar, em nível de Doutorado, a detecção e o isolamento do agente através de uso de técnicas de biologia molecular.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA FILHO, N.; ROUQUAYROL, M. Z. *Introdução à Epidemiologia Moderna.* Salvador–Rio de Janeiro, **Apce Produtos do Conhecimento** e ABRASCO, co-edição, 1992.

ATWOOD, E. L.; LAMB, JR. J. T.; SONENSHINE, D. E. The contribution to the epidemiology of Rocky Mountain spotted fever in the eastern United States. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 14, n. 5, p. 831-837, 1965.

BACELLAR, F.C. Rickettsias isoladas em Portugal: contribuição para identificação e classificação de estirpes. **Tese de Doutorado**, Universidade de Évora, 1996.

BARLETT, P.C.; JUDGE, L.J. The role of epidemiology in public health. **Office International des Epizooties Scientific and Technical Review**, v. 16, n. 2, p. 331-336, 1997.

BARRIONUEVO, W. R,; LANÇAS, F. M. Extração em Fase Sólida (SPE) e Micro Extração em Fase Sólida (SPME) de Piretróides em água. **Química Nova**, v. 24, p. 172-175, 2001.

BARROS, A. T. M. L.; OTTEA, J.; SANSON, D.; FOIL, L. D. Horn fly (Diptera: Muscidae) resistance to organophosphate insecticides. **Veterinary Parasitology.** v. 96, p. 243-256, 2001.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M; BECHARA, G. H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Vox/ICTTD-3/ Butantã, São Paulo. p. 223. 2006.

BELAN I. BULL C.M. Host detection by four Australian tick species. **Journal of Parasitology,** v. 77, p. 337–340, 1991.

BELOT, J.; MISHRA, G. Toxicité de huit produits acaricides différents sur le tiques de l'espèce *Rhipicephalus sanguineus*. **Recueil de Médicine Vétérinaire**, v.155, p. 869-871, 1979.

BILLINGS, A.N.; YU, X.J.; TEEL, P.D.; WALKER, D.H. Detection of spotted fever group *Rickettsia* in *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in South Texas. **Journal of Medical Entomology**. v. 35, n. 4, p. 474-478, 1998.

BURGDORFER, W. Hemolymph Test. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 19, n. 6, p.1010-1014, 1970.

BURGDORFER, W. A review of Rocky Mountain spotted fever (tickborne typhus), its agent, and its tick vectors in the United States. **Journal of Medicine and Entomology,** v. 12, n. 3, p. 269-278, 1975.

BURGDORFER, W.; BRINTON L. P. Mechanisms of transovarial infection of spotted fever Rickettsiae in ticks. **Annual New York Academy of Sciences**. v. 266, p. 61-72, 1975.

CAMARGO-NEVES, V.L.F.; VIEIRA, A.M.L.; SOUZA, C.E.; LABRUNA, M.B.; MAYO, R.C.; SOUZA, S.S.L. Manual de vigilância acarológica. São Paulo (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. **Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN**. p. 66, 2004.

COMER, M. K. Rocky Mountain spotted fever. **Veterinary Clinics of North America Animal Practice**. v. 21,n. 1,p. 27-44, 1991.

CONRADO, A; MUJICA, F. Efficacy of different acaricides in the control of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Boletin de la Direction de Malariologia y Saneamiento Ambiental**. v. 38, p. 119-122, 1998.

CORRÊA, S.H.R.; PASSOS, E.C. Wild animals and public health. *In*: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, p. 493-499, 2001.

COSTA, J. O.; BOTELHO, J.R. Classe arachnida. In: Neves DP, Melo AL, Genaro O, Linardi PM. **Parasitologia Humana**, São Paulo: Editora Atheneu. ed. 11, p.413-421, 2005.

CRAIG, C.; STITZEL, R.E. Famarcologia moderna. Editora Guanabara Koogan. In: **Princípios de Toxicologia**. REASOR, M; DAVIS, E. M. p. 69-78, 1996.

DIAS, E.; MARTINS, A. V. Spotted fever in Brasil: A summary. **American Journal of Tropical Medicine.** n. 19, p. 103-108, 1939.

DUMLER, J.S.; BARBET, A.F.; BEKKER, C.P.J.; DASCH, G.A.; PALMER, G.H.; RAY, S.C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F.R. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order *Rickettsiales*: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, description of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology,** v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.

DRUMMOND, R. O.; ERNST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **J. Econ. Entomol.** v. 66 p. 130 – 133, 1973.

FALCÃO, E. C. Henriqe da Rocha Lima e a Descoberta da Rickettsia Prowazeki. **Revista do Instituto de Medicina Tropical.** São Paulo, v. 8 (2), p. 55-59, mar-abr, 1966.

FAO (**Food and Agriculture Organization of The United Nations**) Acaricide resistance test kit instructions for use, World Acaricide Resistance Reference Centre (WARRC), Edition 11/1995, Berlin, Germany. 1995.

FAO (**Food and Agriculture Organization of The United Nations**). Module 1: Ticks. In: Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants, Rome. 2005.

FERNANDES, F. F.; SILVA, I. G.; GOMES, A. G.; SILVA, J. R. V.; SILVA, O. R. Ação carrapaticida in vitro de "Butox P®" sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari, Ixodidae). In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia,** 15. Salvador. Anais. Salvador, p. 200 (Resumo). 1997.

FERNANDES, F. F.; SILVA, O. R.; SILVA, J. R. V. Estudo da ação de cypermethrin 15% sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). In: **Congresso Brasileiro de Parasitologia**, 16, Rio de Janeiro. Anais. Rio de Janeiro, p. 1076 (Resumo). 1998.

FERNANDES, F. F. In vitro activitty of permethrin, cipermethrin and deltamethrin on larvae of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari, Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, p. 621-626, 2000.

FERNANDES, F. F. Toxicological effects and resistance to pyrethroids in Boophilus microplus from Goiás, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, p. 538-543, 2001.

FERNANDES, F. F.; FREITAS, E. P. S.; SILVA, J. R. V. Toxicological effects and in vitro inefficacy of deltamethrin on larvae of *Rhipicephalus sanguineus* from Goiânia, Goiás, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 159-165, 2001.

FERNANDES, F. F.; FREITAS, E. P. S. Analysis of the use of fenthion via epicutaneous in dogs for *Rhipicephalus sanguineus* control. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, p. 339-342, 2001.

Fernandes F. F; Freitas E. P. S; Costa A. C; Silva I. G. Larvicidal potential of Sapindus saponaria to control of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 1243-1245, 2005.

FERNANDES, F. F.; FREITAS, E. P. S. Acaricidal activity of an oleoresinous extract from Copaifera reticulata (Leguminosae: Caesalpinioideae) against larvae of the

southern cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Vet. Parasitol**. v. 147, p. 150–154, 2007.

FERNANDES, F. F.; LELES, R. N.; SILVA, I. G. Larvicidal Activity of *Sapindus saponaria* (Sapindaceae) against *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** v.57, p. 000-006, 2007.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de Importância Médico-veterinária**. São Paulo: Nobel, p. 192, 1973.

FRIEDHOFF, K. T. Interaction between parasite and tick vetor. **International Journal of Parasitology.** v.20, n.4, p.525-535, 1990.

FURLONG, J.; MARTINS, J.R.S. Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas. **Circular Técnica.** Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora Minas Gerais, Brazil. v. 59, 2000.

GALVÃO, M. A. M. A febre maculosa brasileira em Minas Gerais e seus determinantes. **Dissertação de mestrado.** Escola Nacional de Saúde Pública, 1988.

GALVÃO, M. A. M. Febre maculosa em Minas Gerais: um estudo sobre a distribuição da doença no Estado e seu comportamento em áreas de foco peri-urbano. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Minas Gerais, 1996.

GALVÃO, M. A. M.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; et al. Spotted fever rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 4, 2003.

GERRITSE, R. G. Movilidad de los organoclorinos en una arean Bassendean. En: **Autoridad de Protección del Ambiente**, Evaluación de la utilización del heptacloro para el control de la Hormiga Argentina y las termitas en Australia Occidental, Boletín n. 354 (Perth: La Autoridad), Apéndice 2, p.13, 1988.

GIMENEZ, D.F. Staining rickettsiae in yolk sac cultures. ***Stain Technology,*** v. 39, p. 135-140, 1964.

GLADNEY, W.J., DAWKINS, C.C. The brown dog tick: laboratory tests of acaricides. **Southwestern Entomologist.** v. 1, p.184-189, 1976.

GUERRA, M. S.; SAMPAIO, D. P. A. **Receituário agronômico**, 2.ed. São Paulo: Editora Globo. 1991.

GUERRERO, F.D.; LI, A.Y.; HERNANDEZ, R. Molecular diagnosis of pyrethroid resistance in Mexican strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 39, p. 770-776, 2002.

GUIMARÃES, A.M.; OLIVEIRA, R.M.F.S.; ROSA, I.C.A.S. Babesiose canina: uma visão dos clínicos veterinários de Minas Gerais. **Clínica Veterinária**, v. 4, p. 60-68, 2002.

HACKSTADT, T.; MESSER, R.; CIEPLAK, W.; PEACOK, M. G. Evidence for proteolitic cleavage of the 120 kilodalton outer membrane protein of Rickettsiae: Identification of an avirulent mutant deficient in processing. **Infection and Immunity**, v. 60, n. 1, p. 159-165, 1992.

KATZ, M.; DESPOMMIERR, D. D.; GWADZ, R. W. The Artropods. The Arachnids. **Parasitic Diseases**, 2. ed, p. 241-249, 1994.

KAUFMAN, W. R. Tck-host interaction: a synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, v. 5, n. 2, p. 47-56, 1989.

JONES, E.K.; CLIFFORD, C.M.; KEIRANS, J.; KOHLS, G.M. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the western hemisfere. Brigham Young Univ. Sci. Bull**. Biol. Ser**. v. 17, p. 1-40. 1972.

LABRUNA, M. B.; KASAI, N.; FERREIRA, F.; FACCINI, J. L.H.; GEMARI, S. M. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 65-77, 2002.

LABRUNA, M. B.; TEIXEIRA, R. H.; WALKER, D. H. *Rickettsia bellii* infectando carrapatos *Ixodes loricatus* em São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologa Veterinária**, v. 13 (Suppl.), p. 362, 2004.

LANE, R. S.; STABBS H. A. Host-seeking behavior of adult Ixodes pacificus (Acari: Ixodidae) as determinate by flagging vegetation. **Journal of Medicine Entomology**, v. 27, n. 3, p. 282-287, 1990.

LEMOS, E. R. S.; ALVARENGA, F. B.; CINTRA, M. L.; RAMOS, M. C.; PADDOCK, C. D.; FEREBEE, T. L.; ZAKI, S. R.; FERREIRA, F. C.; RAVAGNANI, R. C.; MACHADO, R. D.; GUIMARÃES, M. A.; COURA, J. R. Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the state of São Paulo. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 65, p. 329-334, 2001.

LOPES, C. M. L.; LEITE, R. C., LABRUNA, M. B.; OLIVEIRA, P. R.; BORGES, L. M. F.; RODRIGUES, Z. B.; CARVALHO, H. A.; FREITAS, C. M. V.; VIEIRA JÚNIOR, C. R. Host Specificity of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with Comments on the Drop-off Rhythm**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 347-351, 1998.

MARTINS, J. R. S.; FURLONG, J; LEITE, R. C. **Controle de carrapatos.** In: Barros-Battesti D, Arzua M, Bechara GH. (eds.) Carrapatos de importância Médica e Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. Brasil, São Paulo, p. 145-153, 2006.

MCDADE, J. E.; NEWHOUSE, V. F. Natural history of *Rickettsia rickettsii*. **Annual Review of Microbiology**, v 40, p. 287-309, 1986.

MILLER, R. J.; GEORGE, J. E.; GUERRERO, F.; CARPENTER, L.; WELCH, J. B. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille)

(Acari: Ixodidae) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center, Panama. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, p. 298-302, 2001.

MILBY, T. H. Prevention and Management of Organophosphate Poisoning. **JAMA**, v. 216, p. 2131-2133, 1971.

MORAES, A. C. L. Contribuição para o estudo das intoxicações por carbamatos: o caso do chumbinho no Rio de Janeiro. [**Mestrado**] Fundação Oswaldo Cruz, **Escola Nacional de Saúde Pública**, p. 111, 1999.

MONTEIRO, J. L. Estudos sobre o typho exanthematico de Sao Paulo. Memorias do Instituto Butantan, v. 6, p. 97, 1932.

NEVES, D. P. Muscomorpha (Cyclorrhapha). In: NEVES, D,P,; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana**, 11. ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 379-386, 2005.

NICE, C. S. The dissemination of human infectious diseases by birds**. Reviews of Medical Microbiology**, v. 5, n. 3, p. 191-198, 1994.

NOUIRA, S.; ABROUG, F.; ELATROUS, S.; BOUJDARIA, R.; BOUCHOUCHA, S. Prognostic Value os Serum Cholinesterase in Organophosphate Poisoning. **Chest.** v. 106, p. 1811-1814, 1994.

OLIVEIRA, W.; ADEODATO, S. O. O bairro que respira veneno. **Globo Ciência**. v. 6, p.48-51, 1997.

OLIVER, JR. J. H. Induction of genesis and ovoposition in ticks. **Morfological and Physiological Behavioral Biology Ticks**, p. 233-279, 1984.

OLSEN, J. Meta –analysis or Collaborative Studies. **Joem**, v. 37, p. 897-902, 1995.

ONOFRIO, V. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; GIACOMIN, F. G.; BARROS-BATTESTI, D. M. Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma.*

In: Barros-Battesti, D.M., Arzua, M., Bechara, G.H. (Eds.), **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies.** Vox/ICTTD-3/Butantã, São Paulo, p.53-113, 2006.

OYAFUSO, M. K.; DAGNONE, A. S.; VIDOTTO, O.; MORAIS, H. S. A. Caracterização de carrapatos parasitas de cães em uma população hospitalar no norte do Paraná. **Ciências Agrárias,** Londrina, v. 23, p. 71-74, 2002.

PAVLOVSKY, E. N. Natural Nidality of Transmissible Diseases. **Peace Publishers,** Moscow. 250p. 1965.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B. Febre maculosa: aspectos clínicos epidemiológicos. **Clínica Veterinária**, v. 12, p. 19-23, 1998.

PINHEIRO, V. R. E. Avaliação do efeito carrapaticida de alguns piretróides sintéticos sobre o carrapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina ixodidae). **A Hora Veterinária**, v. 40, p. 21-25, 1987.

PINHEIRO, V. R. E.; MASSARD, C. L.; GRISI, L. Atividade *In Vitro* de alguns piretroides sintéticos no carrapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 24, p. 1193-1199, 1989.

POLYAKOV, D.; SMIRNOVA, O. I. Resistance of ticks to organophosphorus and carbamate acaricides. **Veterinary Bulletin**, v. 46, p. 324, 1976.

PRICE, W. H. The Epidemiology of Rocky Mountain spotted fever: studies of the biological survival mechanisms of *Rickettsia rickettsii*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygyene**, n. 60, p. 292-319, 1954.

REHACEK, J. Ecological relationship between ticks and Rickettsiae. **European Journal of Epidemiology**, v. 5, n. 4, p. 407-413, 1989.

REHACEK, J. The role of ticks in dissemination of Rickettsiae in Nature. **Acta Facult Rerum Natur Univers Comenianae-Zoologia**, v. 35, p. 127-130, 1991.

REHACEK, J.; TARASEVICH, I. V. Ecological questions concerning Rickettsiae. **European Journal of Epidemiology**, v. 7, n. 3, p. 229-236, 1991.

RICKETTS, H. T. Some aspects of Rock Mountain spotted fever as shown by recent investigations. **Medical Record**, v. 76, p. 843-855, 1909.

RINGEN, K. Edwin Chadwick, the market ideology and sanitary reform: on the nature of the nineteenth century public health movement. ***Int. J. Hlth Serv.*** v. 9, p. 107-120, 1970.

ROJAS, R.; MARINI, M. A.; COUTINHO, M. T. Z. Wild birds as hosts of Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (Acari Ixodidae). Rio de Janeiro, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 3, p. 315-322, May/June, 1999.

SEIZI, O. **Fundamentos de toxicologia**, In Alonzo, H. G.; Corrêa, C. L.; Praguicidas 2.ed. Editora Atheneu, p. 437-458, 2003.

SILVA, L. J. Considerações acerca dos fundamentos teóricos da explicação em epidemiología. **Revista de Saúde Pública**, v. 19, p. 377-383, 1985.

SILVA, L. J. O conceito de espaço na epidemiologia das doenças infecciosas. **Cadernos de Saúde Pública,** v. 13, n.4, p. 585-593, 1997

SINGH, S.; BATRA, Y. K.; SINGH, S. M.; WIG, N.; SHARMA, B. K. Is Atropine Alone Sufficient in Acute Severe Organophosphorous Poisoning? Experience of a North West Indian Hospital. **International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 33, p. 628-630, 1995.

SNOW, J. Sobre a maneira de transmissão do cólera. Rio de Janeiro, **USAID**, 1967.

SONENSHINE, D. E.; PETERS, A. H.; LEVY, G. F. Rocky Mountain spotted fever in relation to vegetation in the eastern United States, 1951-1971. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 96, n. 1, p. 59-69, 1972.

SVS/ MS Secretaria de Vigilância em Saúde/ Ministério da Saúde, Brasília. **Guia de Vigilância Epidemiológica.** Febre Maculosa Brasileira - Características clínicas e epidemiológicas. 6. ed. p. 330-343, 2005.

TSAO, T. C.; JUANG, Y. C.; LAN, R. S.; SHIEH, W. B.; LEE, C. H. Respiratory Failure of Acute Organophosphate and Carbamate Poisoning. **Chest**, v. 98, p. 631-635, 1990.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. In: **Farmacognosia: da planta ao Medicamento;** SIMÕES, C. M. O.; SCHENCKEL, E. P.; GOSMAN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. ed. 1 UFSC e UFRGS: Florianópolis/Porto Alegre, 1999.

Word Health Organization Insecticide Resistance and Vector Control. **WHO Technical Report Series**, Geneva, 1970.

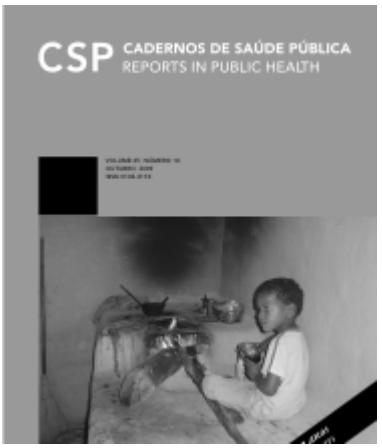
WHO Word Health Organization Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio – efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. **WHO Report of the WHO informal consulation**, Geneva, p. 46, 1998.

ZWIENER, R. J.; GINSBURG, C. M. Organophosphate and Carbamate Poisoning in Infants and Children. **Pediatrics,** v. 81, p. 121-126, 1988.

7– Anexos

7.1- Anexo 1 – Normas de publicação do periódico Cadernos de Saúde Pública

CSP CADERNOS DE SAÚDE PÚBLICA
REPORTS IN PUBLIC HEALTH



INSTRUÇÕES PARA AUTORES

Cadernos de Saúde Pública/Reports in Public Health (CSP) publica artigos originais com elevado mérito científico que contribuam ao estudo da saúde pública em geral e disciplinas afins.
Recomendamos aos autores a leitura atenta das instruções abaixo antes de submeterem seus artigos a Cadernos de Saúde Pública.

CSP aceita trabalhos para as seguintes seções:

1.1 - **Revisão** – revisão crítica da literatura sobre temas pertinentes à saúde pública (máximo de 8.000 palavras e 5 ilustrações);

1.2 - **Artigos** – resultado de pesquisa de natureza empírica, experimental ou conceitual (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

1.3 - **Notas** – nota prévia, relatando resultados parciais ou preliminares de pesquisa

1.4 - **Resenhas** – resenha crítica de livro relacionado ao campo temático de CSP, publicado nos últimos dois anos (máximo de 1.200 palavras);

1.5 - **Cartas** – crítica a artigo publicado em fascículo anterior de CSP (máximo de 1.200 palavras e 1 ilustração);

1.6 - **Debate** – artigo teórico que se faz acompanhar de cartas críticas assinadas por autores de diferentes instituições, convidados pelo Editor, seguidas de resposta do autor do artigo principal (máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações);

1.7 - **Fórum** – seção destinada à publicação de 2 a 3 artigos coordenados entre si, de diferentes autores, e versando sobre tema de interesse atual (máximo de 12.000 palavras no total). Os interessados em submeter trabalhos para essa seção devem consultar o Conselho Editorial.

1. **Normas para envio de artigos**

2.1 - CSP publica somente artigos inéditos e originais, e que não estejam em avaliação em nenhum outro periódico simultaneamente. Os autores devem declarar essas condições no processo de submissão. Caso seja identificada a publicação ou submissão simultânea em outro periódico o artigo será desconsiderado. A submissão simultânea de um artigo científico a mais de um periódico constitui grave falta de ética do autor

2.2 - Serão aceitas contribuições em português, espanhol ou inglês.

2.3 - Notas de rodapé e anexos não serão aceitos.

2.4 - A contagem de palavras inclui o corpo do texto e as referências bibliográficas, conforme item 12.13.

2. **Publicação de ensaios clínicos**

3.1 - Artigos que apresentem resultados parciais ou integrais de ensaios clínicos devem obrigatoriamente ser acompanhados do número e entidade de registro do ensaio clínico.

3.2 - Essa exigência está de acordo com a recomendação da BIREME/OPAS/OMS sobre o Registro de Ensaios Clínicos a serem publicados a partir de orientações da Organização Mundial da Saúde - OMS, do International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org) e do Workshop ICTPR.

3.3 - As entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são:

- Australian New Zealand Clinical Trials Registry (ANZCTR)
- ClinicalTrials.gov
- International Standard Randomised Controlled Trial Number (ISRCTN)
- Nederlands Trial Register (NTR)
- UMIN Clinical Trials Registry (UMIN-CTR)
- WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP)

3. **Fontes de financiamento**

4.1 - Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado, para a realização do estudo.

4.2 - Fornecedores de materiais ou equipamentos, gratuitos ou com descontos, também devem ser descritos como fontes de financiamento, incluindo a origem (cidade, estado e país).

4.3 - No caso de estudos realizados sem recursos financeiros institucionais e/ou privados, os autores devem declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

4. **Conflito de interesses**

5.1 - Os autores devem informar qualquer potencial conflito de interesse, incluindo interesses políticos e/ou financeiros associados a patentes ou propriedade, provisão de materiais e/ou insumos e equipamentos utilizados no estudo pelos fabricantes.

5. **Colaboradores**

6.1 - Devem ser especificadas quais foram as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo.

6.2 - Lembramos que os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do International Committee of Medical Journal Editors, que determina o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada. Essas três condições devem ser integralmente atendidas.

6. **Agradecimentos**

7.1 - Possíveis menções em agradecimentos incluem instituições que de alguma

forma possibilitaram a realização da pesquisa e/ou pessoas que colaboraram com o estudo mas que não preencheram os critérios para serem co-autores.

7. **Referências**

8.1 - As referências devem ser numeradas de forma consecutiva de acordo com a ordem em que forem sendo citadas no texto. Devem ser identificadas por números arábicos sobrescritos (Ex.: Silva 1). As referências citadas somente em tabelas e figuras devem ser numeradas a partir do número da última referência citada no texto. As referências citadas deverão ser listadas ao final do artigo, em ordem numérica, seguindo as normas gerais dos Requisitos Uniformes para Manuscritos Apresentados a Periódicos Biomédicos (http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine/).

8.2 - Todas as referências devem ser apresentadas de modo correto e completo. A veracidade das informações contidas na lista de referências é de responsabilidade do(s) autor(es).

8.3 - No caso de usar algum software de gerenciamento de referências bibliográficas (Ex. EndNote ®), o(s) autor(es) deverá(ão) converter as referências para texto.

8. **Nomenclatura**

9.1 - Devem ser observadas as regras de nomenclatura zoológica e botânica, assim como abreviaturas e convenções adotadas em disciplinas especializadas.

9. **Ética em pesquisas envolvendo seres humanos**

10.1 - A publicação de artigos que trazem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos está condicionada ao cumprimento dos princípios éticos contidos na Declaração de Helsinki (1964, reformulada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000), da World Medical Association.

10.2 - Além disso, deve ser observado o atendimento a legislações específicas (quando houver) do país no qual a pesquisa foi realizada.

10.3 - Artigos que apresentem resultados de pesquisas envolvendo seres humanos deverão conter uma clara afirmação deste cumprimento (tal afirmação deverá constituir o último parágrafo da seção Metodologia do artigo).

10.4 - Após a aceitação do trabalho para publicação, todos os autores deverão assinar um formulário, a ser fornecido pela Secretaria Editorial de CSP, indicando o cumprimento integral de princípios éticos e legislações específicas.

10.5 - O Conselho Editorial de CSP se reserva o direito de solicitar informações adicionais sobre os procedimentos éticos executados na pesquisa.

10. **Processo de submissão *online***

11.1 - Os artigos devem ser submetidos eletronicamente por meio do sítio do Sistema de Avaliação e Gerenciamento de Artigos (SAGAS), disponível em: http://www.ensp.fiocruz.br/csp/.

11.2 - Outras formas de submissão não serão aceitas. As instruções completas para a submissão são apresentadas a seguir. No caso de dúvidas, entre em contado com o suporte sistema SAGAS pelo e-mail: csp-artigos@ensp.fiocruz.br

11.3 - Inicialmente o autor deve entrar no sistema SAGAS. Em seguida, inserir o nome do usuário e senha para ir à área restrita de gerenciamento de artigos. Novos usuários do sistema SAGAS devem realizar o cadastro em "Cadastre-se" na página inicial. Em caso de esquecimento de sua senha, solicite o envio automático da mesma em "Esqueceu sua senha? Clique aqui".

11.4 - Para novos usuários do sistema SAGAS. Após clicar em "Cadastre-se" você será direcionado para o cadastro no sistema SAGAS. Digite seu nome, endereço, e-mail, telefone, instituição.

11. **Envio do artigo**

12.1 - A submissão *online* é feita na área restrita de gerenciamento de artigos http://www.ensp.fiocruz.br/csp/. O autor deve acessar a "Central de Autor" e selecionar o *link* "Submeta um novo artigo".

12.2 - A primeira etapa do processo de submissão consiste na verificação às normas de publicação de CSP. O artigo somente será avaliado pela Secretaria Editorial de CSP se cumprir todas as normas de publicação.

12.3 - Na segunda etapa são inseridos os dados referentes ao artigo: título, título corrido, área de concentração, palavras-chave, informações sobre financiamento e conflito de interesses, resumo, *abstract* e agradecimentos, quando necessário. Se desejar, o autor pode sugerir potenciais consultores (nome, e-mail e instituição) que ele julgue capaz de avaliar o artigo.

12.4 - O título completo (no idioma original e em inglês) deve ser conciso e informativo, com no máximo 150 caracteres com espaços.

12.5 - O título corrido poderá ter máximo de 70 caracteres com espaços.

12.6 - As palavras-chave (mínimo de 3 e máximo de 5 no idioma original do artigo) devem constar na base da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), disponível: http://decs.bvs.br/.

12.7 - *Resumo*. Com exceção das contribuições enviadas às seções Resenha ou Cartas, todos os artigos submetidos em português ou espanhol deverão ter resumo na língua principal e em inglês. Os artigos submetidos em inglês deverão vir acompanhados de resumo em português ou em espanhol, além do *abstract* em inglês. O resumo pode ter no máximo 1100 caracteres com espaço.

12.8 - *Agradecimentos*. Possíveis agradecimentos às instituições e/ou pessoas poderão ter no máximo 500 caracteres com espaço.

12.9 - Na terceira etapa são incluídos o(s) nome(s) do(s) autor(es) do artigo, respectiva(s) instituição(ões) por extenso, com endereço completo, telefone e e-mail, bem como a colaboração de cada um. O autor que cadastrar o artigo automaticamente será incluído como autor de artigo. A ordem dos nomes dos autores deve ser a mesma da publicação.

12.10 - Na quarta etapa é feita a transferência do arquivo com o corpo do texto e as referências.

12.11 - O arquivo com o texto do artigo deve estar nos formatos DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format) ou ODT (Open Document Text) e não deve ultrapassar 1 MB.

12.12 - O texto deve ser apresentado em espaço 1,5cm, fonte Times New Roman, tamanho 12.

12.13 - O arquivo com o texto deve conter somente o corpo do artigo e as referências bibliográficas. Os seguintes itens deverão ser inseridos em campos à parte durante o processo de submissão: resumo e *abstract*; nome(s) do(s) autor(es), afiliação ou qualquer outra informação que identifique o(s) autor(es); agradecimentos e colaborações; ilustrações (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

12.14 - Na quinta etapa são transferidos os arquivos das ilustrações do artigo (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas), quando necessário. Cada ilustração deve ser enviada em arquivo separado clicando em "Transferir".

12.15 - *Ilustrações*. O número de ilustrações deve ser mantido ao mínimo, conforme

especificado no item 1 (fotografias, fluxogramas, mapas, gráficos e tabelas).

12.16 - Os autores deverão arcar com os custos referentes ao material ilustrativo que ultrapasse esse limite e também com os custos adicionais para publicação de figuras em cores.

12.17 - Os autores devem obter autorização, por escrito, dos detentores dos direitos de reprodução de ilustrações que já tenham sido publicadas anteriormente.

12.18 - *Tabelas*. As tabelas podem ter 17cm de largura, considerando fonte de tamanho 9. Devem ser submetidas em arquivo de texto: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format) ou ODT (Open Document Text). As tabelas devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

12.19 - *Figuras*. Os seguintes tipos de figuras serão aceitos por CSP: Mapas, Gráficos, Imagens de satélite, Fotografias e Organogramas, e Fluxogramas.

12.20 - Os mapas devem ser submetidos em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics). Nota: os mapas gerados originalmente em formato de imagem e depois exportados para o formato vetorial não serão aceitos.

12.21 - Os gráficos devem ser submetidos em formato vetorial e serão aceitos nos seguintes tipos de arquivo: XLS (Microsoft Excel), ODS (Open Document Spreadsheet), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

12.22 - As imagens de satélite e fotografias devem ser submetidas nos seguintes tipos de arquivo: TIFF (Tagged Image File Format) ou BMP (Bitmap). A resolução mínima deve ser de 300dpi (pontos por polegada), com tamanho mínimo de 17,5cm de largura.

12.23 - Os organogramas e fluxogramas devem ser submetidos em arquivo de texto ou em formato vetorial e são aceitos nos seguintes tipos de arquivo: DOC (Microsoft Word), RTF (Rich Text Format), ODT (Open Document Text), WMF (Windows MetaFile), EPS (Encapsuled PostScript) ou SVG (Scalable Vectorial Graphics).

12.24 - As figuras devem ser numeradas (números arábicos) de acordo com a ordem em que aparecem no texto.

12.25 - Títulos e legendas de figuras devem ser apresentados em arquivo de texto separado dos arquivos das figuras.

12.26 - *Formato vetorial*. O desenho vetorial é originado a partir de descrições geométricas de formas e normalmente é composto por curvas, elipses, polígonos, texto, entre outros elementos, isto é, utilizam vetores matemáticos para sua descrição.

12.27 - *Finalização da submissão*. Ao concluir o processo de transferência de todos os arquivos, clique em "Finalizar Submissão".

12.28 - *Confirmação da submissão*. Após a finalização da submissão o autor receberá uma mensagem por e-mail confirmando o recebimento do artigo pelos CSP. Caso não receba o e-mail de confirmação dentro de 24 horas, entre em contato com a secretaria editorial de CSP por meio do e-mail: csp-artigos@ensp.fiocruz.br .

12. **Acompanhamento do processo de avaliação do artigo**

13.1 - O autor poderá acompanhar o fluxo editorial do artigo pelo sistema SAGAS. As decisões sobre o artigo serão comunicadas por e-mail e disponibilizadas no sistema SAGAS.

13.2 - O contato com a Secretaria Editorial de CSP deverá ser feito através do sistema SAGAS.

13. **Envio de novas versões do artigo**

14.1 - Novas versões do artigo devem ser encaminhadas usando-se a área restrita de gerenciamento de artigos http://www.ensp.fiocruz.br/csp/ do sistema SAGAS, acessando o artigo e utilizando o *link* "Submeter nova versão".

14. **Prova de prelo**

15.1 - Após a aprovação do artigo, a prova de prelo será enviada para o autor de correspondência por e-mail. Para visualizar a prova do artigo será necessário o programa Adobe Reader ou similar. Esse programa pode ser instalado gratuitamente pelo site: http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html.

7.2- Anexo-2- Normas para Publicação no Periódico Científico Internacional Qualis "B" Experimental and Applied Acarology.

Experimental and Applied Acarology

Editor: F. Jongejan; J. Bruin

ISSN: 0168-8162 (print version)
ISSN: 1572-9702 (electronic version)
Journal no. 10493
Springer Netherlands

Online version available

Online First articles available

Description

Experimental and Applied Acarology publishes original papers of a high scientific standard, bringing together basic and applied research on mites and ticks, including all aspects of their control. Coverage encompasses agricultural mites, stored-product mites, parasitic mites, mites of environmental significance and ticks of medical and veterinary importance. The subject matter draws upon a wide variety of disciplines, among them ecology, epidemiology, physiology, biochemistry, toxicology and pesticide resistance, immunology, genetics and molecular biology.

Experimental and Applied Acarology is edited by Jan Bruin, University of Amsterdam, The Netherlands, and Frans Jongejan, Utrecht University, The Netherlands and University of Pretoria, South Africa.

5-Year Impact Factor: 1.336

Welcome to the Online Manuscript Submission, Review and Tracking System for the journal Experimental and Applied Acarology

We trust that you will find this Online Manuscript Submission, Review and Tracking System very user friendly. To make your start even easier, please find below a few instructions:

New Authors: Please click the 'Register' button from the menu above and enter the requested information. Upon successful registration you will be sent an e-mail with instructions to verify your registration.

Note:

When you have received an e-mail from us with an assigned user ID and password, DO NOT REGISTER AGAIN. Just log in to the system as 'Author'.

Authors: Please click the 'Login' button from the menu above and log in to the system as 'Author'. Then submit your manuscript and track its progress through the system. A wide range of submission file formats is supported, including: Word, WordPerfect, RTF, TXT, TIFF, GIF, JPEG, EPS, LaTeX2E, TeX, Postscript, PICT, Excel, Tar, Zip and Powerpoint. **PDF is not an acceptable file format.**

Note:

Please upload your manuscript only ONCE on to the system. After uploading your manuscript, it will be automatically formatted as a PDF file, and you will be sent an e-mail requesting that you approve your submission. Please return to the main menu and APPROVE your submission accordingly.

Returning Authors: Please use the provided username and password and log in as 'Author' to track your manuscript or to submit a NEW manuscript. (*Do not register again as you will then be unable to track your manuscript*).

Reviewers: Please click the 'Login' button from the menu above and log in to the system as 'Reviewer'. You may view and/or download manuscripts assigned to you for review, submit your comments for the editors and the authors, and track the progress of your manuscripts through the system.

Note:

Please click the 'Accept' or 'Decline' button as soon as possible after receipt of the e-mail asking you to review a manuscript.

To change your username and password: Log in to the system and select 'Update My Information' from the menu above. At the top of the Update My Information screen, click the 'Change Password' button and follow the directions.

Forget your password? If you have forgotten your password, click the 'Login' button and click 'Forget Your Password?' at the bottom of the Login screen and follow the directions

Manuscript submission

Manuscript Submission

Permissions

Online Submission

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Title Page

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address(es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

Abstract

Please provide an abstract of 150 to 250 words. The abstract should not contain any undefined abbreviations or unspecified references.

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Note: If you use Word 2007, do not create the equations with the default equation editor but use the Microsoft equation editor or MathType instead.Save your file in doc format. Do not submit docx files.

Word template

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

LaTeX macro package

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables. Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

Scientific style

Please always use internationally accepted signs and symbols for units, SI units.

Scientific style

Genus and species names should be in italics.

Please use the standard mathematical notation for formulae, symbols etc.: Italic for single letters that denote mathematical constants, variables, and unknown quantities

Roman/upright for numerals, operators, and punctuation, and commonly defined functions or abbreviations, e.g., cos, det, e or exp, lim, log, max, min, sin, tan, d (for derivative)

Bold for vectors, tensors, and matrices.

References

Citation

Reference list

Citation

Cite references in the text by name and year in parentheses. Some examples:

- Negotiation research spans many disciplines (Thompson 1990).
- This result was later contradicted by Becker and Seligman (1996).
- This effect has been widely studied (Abbott 1991; Barakat et al. 1995; Kelso and Smith 1998; Medvec et al. 1993).

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.
Reference list entries should be alphabetized by the last names of the first author of each work.

- Journal article
  Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. Eur J Appl Physiol 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8
  Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:
  Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. N Engl J

Med 965:325–329

Article by DOI

- Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med. doi:10.1007/s001090000086

Book

- South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London

Book chapter

- Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document

- Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1. Accessed 26 June 2007

Dissertation

- Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of Califórnia

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php

Tables

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

-
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
-
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork Guidelines

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork – photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

Electronic Figure Submission

Line Art

Halftone Art

Combination Art

Color Art

Figure Lettering

Figure Numbering

Figure Captions

Figure Placement and Size

Permissions

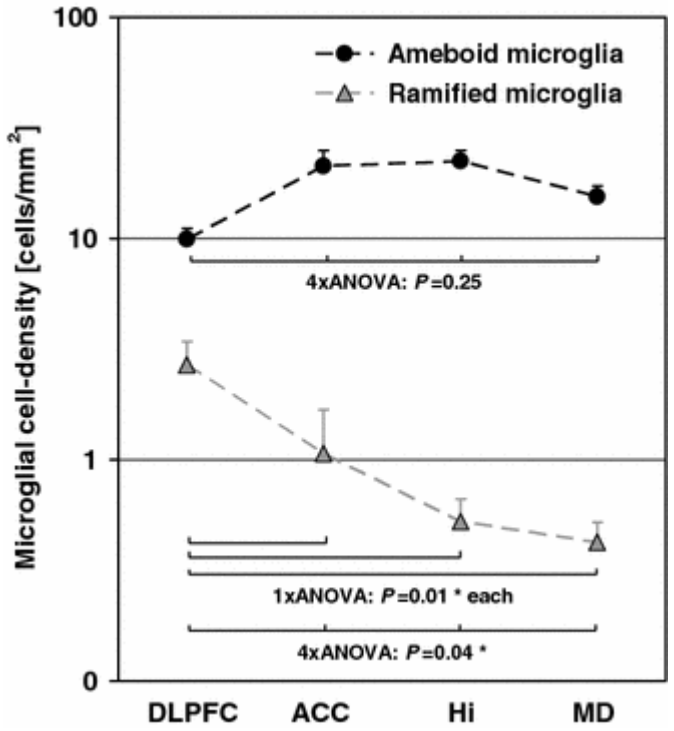
Accessibility

Electronic Figure Submission

- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MS Office files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art

- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

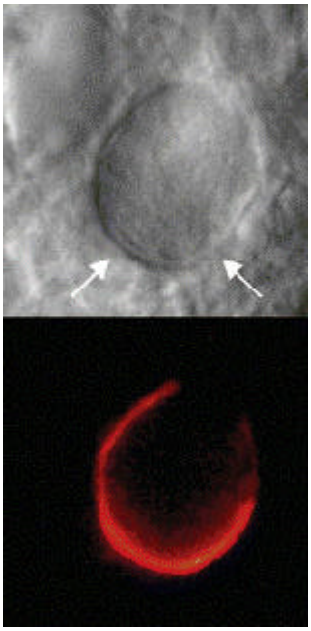


Halftone Art

Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

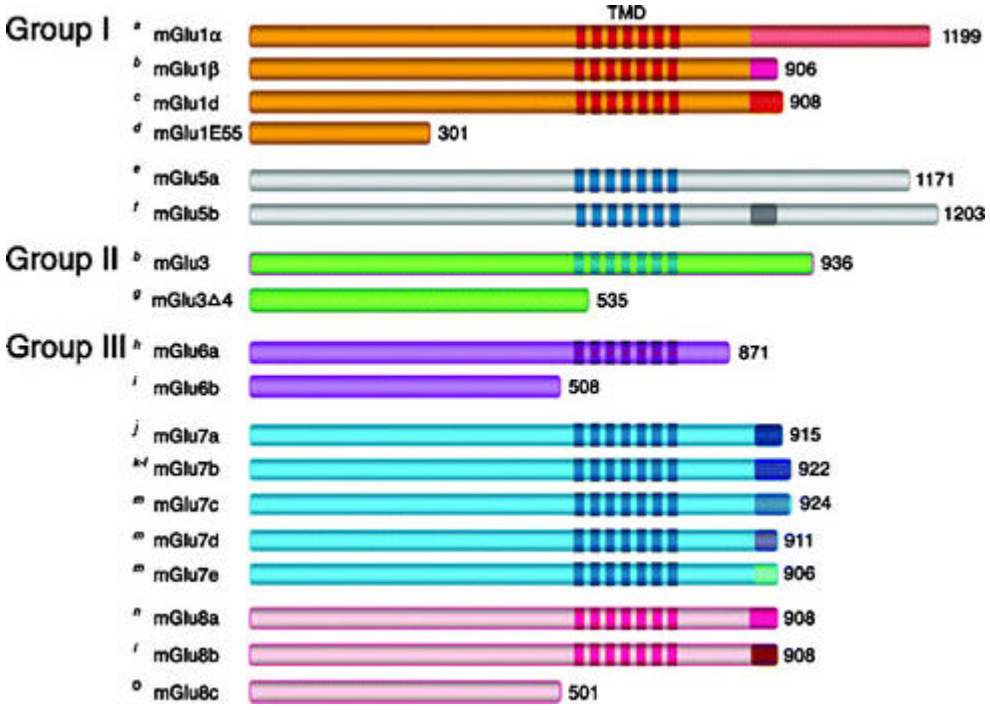
Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.



Combination Art

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line

- drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.



Color Art

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)
- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (color-blind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

After acceptance

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice, offprints, or printing of figures in color.
Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

Open Choice

Copyright transfer

Offprints

Color illustrations

Proof reading

Online First

Open Choice

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform SpringerLink. We regret that Springer Open Choice cannot be ordered for published articles.

Springer Open Choice

Copyright transfer

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the œopyright remains with the author. In opting for open access, they agree to the Springer Open Choice Licence.

Offprints

Additional offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Online publication of color illustrations is free of charge. For color in the print version, authors will be expected to make a contribution towards the extra costs.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.
After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Online First

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers

Languages

Articles and abstracts must be in English or in the journal's official language(s), but the journal accepts additional abstracts in other languages of the author's choice (for instance in the author's first language, if not English or the journal's official language). Such abstracts are optional. Authors would need to supply such abstracts themselves, certify that they are a faithful translation of the official abstract, and they must be supplied in Unicode (see www.unicode.org for details), especially if they are using non-roman characters.

http://www.unicode.org

Such abstracts in other languages will carry a disclaimer:

"This abstract is provided by the author(s), and is for convenience of the users only. The author certifies that the translation faithfully represents the official version in the language of the journal, which is the published Abstract of record and is the only Abstract to be used for reference and citation."

Springer Open Choice™

Your Research. Your Choice.

Springer operates a program called Springer Open Choice. It offers authors to have their journal articles made available with full open access in exchange for payment of a basic fee ('article processing charge').

With Springer Open Choice the authors decide how their articles are published in the leading and well respected journals that Springer publishes. Springer continues to offer the traditional publishing model, but for the growing number of researchers who want open access, Springer journals offer the option to have articles made available with open access, free to anyone, any time, and anywhere in the world. If authors choose open access in the Springer Open Choice program, they will not be required to transfer their copyright.

Whatever the decision, an author's work will always benefit from all Springer has to offer. There is no difference in the way that they are treated between Springer Open Choice articles and other articles among the well over 100,000 that Springer publishes annually. All articles will be peer-reviewed, professionally produced, and available both in print and in electronic versions on SpringerLink. In addition, every article will be registered in CrossRef and included in the appropriate Abstracting and Indexing services. Springer Open Choice articles will have the possibility of incorporating additional non-text files such as sound or video in the electronic edition.

7.3- Anexo 3- Ficha de descrição das coletas

LAMV- Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária-IPTSP-UFG.

Ficha de descrição das coletas

Data da coleta:_____/_____/_____

Local onde foi coletada, Cidade, município._____

Quem coletou?_____

Onde coletou? Centro de Zoonoses( )

Casas particulares ( ) Bairro:_____

Fazendas ( ) Município:_____

Qual foi a ultima vez que aplicou inceticida no local/ animal?_____

Qual foi o ambiente onde predominou a coleta ex: Canil ( ), Paredes ( ),

Madeiras do telhado ( ), Piso( ), No(s) Cães( ), Apenas 1 Cão ( ),

Número de cães( ) _____

Outras obs:_____

Curral ( ), Paredes ( ), Madeiras do telhado ( ), Piso( ), No(s) Cavalos( ), Apenas 1 Cavalo ( ), Número de cavalos:_____

Bovinos ( ), Número de Bovinos:_____

Pastagens ( ) Tipo de Pastagens?_____

Qual foi a espécie coletada: *Amblyomma cajennense* ( )

***Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* ( ) OU *Rhipicephalus sanguineus* ( )**

NÚMERO DE ESPÉCIMES:_____

NÚMERO DA AMOSTRA:_____

7.4- Anexo 4- Ficha de descrição das Oviposturas

LAMV- Laboratório de Artropodologia Médica e Veterinária- IPTSP-UFG.

Ficha de descrição das Oviposturas

Qual é espécie:

Amblyomma cajennense ( )

Rhipicephalus (Boophilus) microplus ( )

Rhipicephalus sanguineus ( )

Número da identificação do tubo com os ovos:_____

Data das coletas das oviposturas:_____/_____/_____

Data da Pré-Germinação:_____/_____/_____

Data da Germinação:_____/_____/_____

Data da Eclosão:_____/_____/_____

Data da possível previsão de realização dos testes:____/_____/_____

7.5-Delineamento da Revisão Sistemática da Literatura

Delineamento da Revisão Sistemática de Literatura

Edméia de P. S. Freitas, Luanna G. Paula e Marco Tulio A. Garcia-Zapata.

Problema: Saber como está atualmente à freqüência descrita da zoonose, Febre Maculosa transmitida pelo *Amblyomma cajennese* no Brasil, traçando o perfil epidemiológico através da revisão sistemática.

Pergunta: Qual o perfil epidemiológico da zoonose, Febre Maculosa, transmitida pelo *Amblyomma cajennese* no Brasil?

Definições: *Amblyomma cajennese:* vetor da zoonose; Febre Maculosa

Hipóteses

As seguintes hipóteses concernentes ao problema serão testadas:

a) Onde mais se tem divulgado a transmissão da Febre Maculosa no Brasil?

b) O *Amblyomma cajennese* tem sido encontrado mais na zona rural ou urbana?

c) A febre maculosa está sendo facilmente diagnóstica?

Objetivos

Conhecer a freqüência descrita da zoonose, Febre Maculosa transmitida pelo *Amblyomma cajennese* no Brasil, traçando o perfil epidemiológico através da revisão sistemática.

Objetivo Geral

? Verificar a o perfil epidemiológico da zoonoses, Febre Maculosa, transmitida pelo *Amblyomma cajennense* no Brasil?

Objetivos específicos

? Fazer o delineamento da zoonose, Febre Maculosa ocorrida e registradas no Brasil.

? Comparar a ocorrência relatada

? **Base de Dados (artigos em Inglês e português)**

Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), PubMed Central (PMC). LILACS, Cochrane e SCIELO.

Aplicação do 1º Teste de Relevância

Unitermos:(I) *Amblyomma cajennense* – AC; Febre Maculosa – FM; *Rickettsia rickettsii* –RR;

Código:_____

Título do Artigo:_____

_____

Autores:_____

_____

Critérios de Inclusão

	SIM	**NÂO**
1-O estudo trata de zoonoze transmitida por *Amblyomma cajennense*?		
2-Trata se de Febre maculosa?		
3-O estudo está na língua inglesa ou portuguesa (Brasil)?		
Critérios de Exclusão		
1-É revisão de literatura?		
2- É de outro país a descrição?		
3-Foi transmitido por outra espécie?		

Parecer do Avaliador: Inclusão ( ) Exclusão ( )

Comentário sobre o resumo:_____

Pesquisador responsável:_____

Aplicação do 2º Teste de Relevância

Teste de Relevância II (*aplicado ao artigo*)

Unitermos: (I) *Amblyomma cajennense* And Febre Maculosa And *Rickettsia rickettsii*

Código:_____

Título do Artigo:_____

_____

Autores:_____

Critérios de Inclusão	**Sim**	**Não**
1. Relato de caso de Febre Maculosa.		
2. Trata de Informes sobre a Febre Maculosa?		
3. A doença foi relatada no Brasil?		
4. Inquérito sorológico de humanos?		
Critérios de Exclusão	**Sim**	**Não**
1. A Doença não foi transmitida por *Amblyomma cajennense*?		
2. Trata-se de Inquérito sorológico de animais?		
3. Trata-se de levantamento de espécies de carrapatos?		

Parecer do Avaliador: ( ) Inclusão ( ) Exclusão

Comentário sobre o artigo:_____

_____

_____

Pesquisador responsável:_____

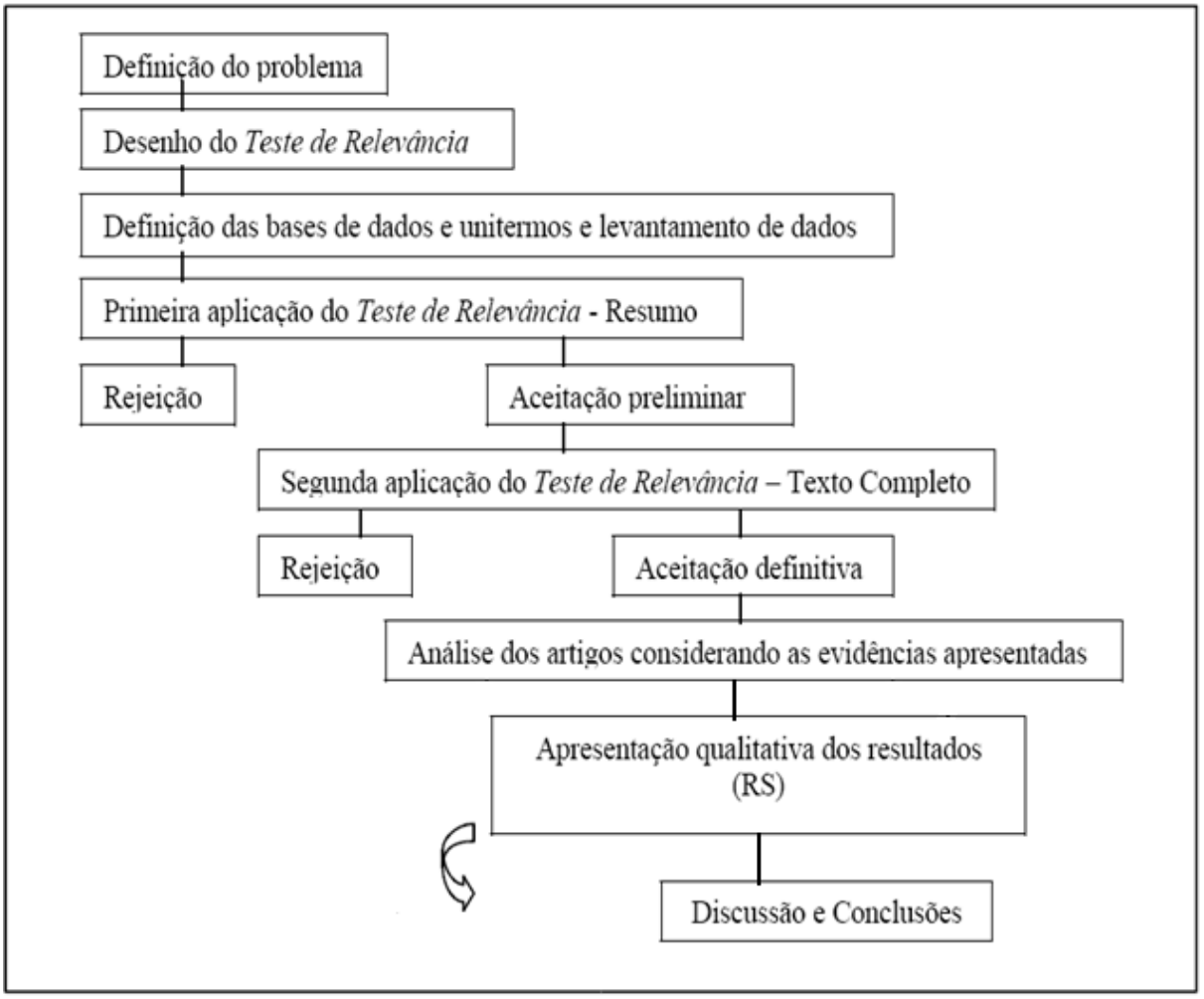
Teste de Relevância II - Aplicação do Índice de Concordância

IC= A/A+B x100

Onde: IC= Índice de concordância; A = nº acordos; B = nº desacordos.

Conhecido como triangulação de pesquisadores, tem como função aumentar a probabilidade de que os resultados de uma pesquisa sejam entendidos como passíveis de credibilidade. Considera-se aceitável IC=80% (Blit et al., 2004).

Desenho da Revisão Sistemática



(adaptado de OLSEN, 1995.)

Código:_____

Título:_____

Autores:_____

Número de casos de casos relatados:_____

_____

Número de óbitos:_____

Tipo de Estudo (descrição suscita do estudo):_____

_____

Procedimentos Metodológicos:_____

_____

_____

_____

Resultados:_____

_____

_____

Considerações do avaliador (procedimentos, resultados, limitações metodológicas e demais tópicos considerados pertinentes:_____

_____

_____

Avaliador:_____

_____