



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS EM
TECNOLOGIA EM SAÚDE**

**Análise do uso de repelentes contra
carrapatos da espécie *Amblyomma sculptum*
(ACARI: IXODIDAE) transmissores da febre
maculosa brasileira**

TESE DE DOUTORADO

Beatriz Rodrigues de Barcelos

Orientador: Dr. Marcos Takashi Obara

Coorientadora: Dra. Viviane Zeringóta
Rodrigues Cotta

**Brasília
2024**

BEATRIZ RODRIGUES DE BARCELOS

Análise do uso de repelentes contra carrapatos da espécie *Amblyomma sculptum* (ACARI: IXODIDAE) transmissores da febre maculosa brasileira

Tese de Doutorado apresentada para o Programa de Pós-Graduação em Ciências em Tecnologia em Saúde da Universidade de Brasília.

Orientador: Dr. Marcos Takashi Obara

Coorientadora: Dra. Viviane Zeringóta Rodrigues Cotta

**Brasília
2024**

BB242aa Barcelos, Beatriz Rodrigues
Análise do uso de repelentes contra carrapatos da espécie
Amblyomma sculptum (ACARI: IXODIDAE) transmissores da febre
maculosa brasileira / Beatriz Rodrigues Barcelos; orientador
Marcos Takashi Obara; co-orientador Viviane Zeringóta
Rodrigues Cotta. -- Brasília, 2024.
59 p.

Tese(Doutorado em Ciências e Tecnologias em Saúde) --
Universidade de Brasília, 2024.

1. carrapato. 2. repelente. 3. Febre Maculosa Brasileira.
4. Amblyomma sculptum. I. Obara, Marcos Takashi, orient. II.
Zeringóta Rodrigues Cotta, Viviane, co-orient. III. Título.

Tese de autoria de BEATRIZ RODRIGUES DE BARCELOS, intitulado ANÁLISE DO USO DE REPELENTES CONTRA CARRAPATOS DA ESPÉCIE *AMBLIOMMA SCULPTUM* (ACARI: IXODIDAE) TRANSMISSORES DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA, apresentado para o Programa de Pós-Graduação em Ciências em Tecnologia em Saúde da Universidade de Brasília, em 21 de junho de 2024, defendido e aprovado pela banca examinadora abaixo assinada:

Dr. Marcos Takashi Obara
Orientador
Universidade de Brasília

Dr. Stefan Vilges de Oliveira
Examinador Externo
Universidade Federal de Uberlândia

Dra. Morgana Maria Arcanjo Bruno
Examinadora Externa
Universidade Católica de Brasília

Dr. Leonardo Petrus da Silva Paz
Examinador Interno
Universidade de Brasília

Dra. Vanessa Rezende Nogueira Cruvinel
Examinadora Interna (Suplente)
Universidade de Brasília

Brasília
2024

Aos meus filhos, João Paulo e Catarina,
meu esposo Leandro, meus pais Maria
Angélica e Íris Donizetti, minha irmã
Heloisa e toda minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor Dr. Marcos Takashi Obara pela oportunidade, incentivo e dedicação nessa tarefa árdua de orientação. Graças a seu aceite tenho a oportunidade de cursar uma Pós-graduação nesta renomada instituição sem custos.

Ao Professor Dr. Stefan Vilges de Oliveira, pelo incentivo, contribuição e auxílio para com a pesquisa, em especial por ter sido a ponte entre o Professor Dr. Matias, da Universidade Federal de Uberlândia, e a Professora Dra. Ligia, da Universidade de Goiás, que muito têm contribuído para o desenvolvimento da pesquisa.

Reconhecimento à Professora Doutora Viviane Zeringóta Rodrigues Cotta que prontamente disponibilizou-se a coorientar minha tese de doutorado e tem sido uma parceira incansável nas atividades laboratoriais e campo. E agradecimento especial às colegas Joelma e Mayara pelo apoio nas atividades de laboratório e campo.

Ao Professor Dr. Matias Pablo Juan Szabó, pelos ensinamentos, disponibilidade e apoio para com a pesquisa, e a todos os alunos e pesquisadores do Laboratório de Ixodologia (Labix) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, em especial aos colegas Marlene, Caroline Queiroz e Vinicius Silva Rodrigues pela recepção, disponibilidade, apoio e ensinamentos. Um agradecimento especial ao Vinicius pelo auxílio na produção e cessão das ninfas de carrapato essenciais para o desenvolvimento dos testes.

A minha irmã, Heloísa Rodrigues de Barcelos Mota, e cunhado, Leonardo Nogueira Mota, pela disponibilidade para realização dos testes de campo.

À minha querida avó, MSc. Maria Helena Saraiva Rodrigues, pelo estímulo. Aos meus pais, Íris Donizetti de Barcelos e Maria Angélica Saraiva Rodrigues de Barcelos, por terem me proporcionado o caminhar por essa árdua trajetória.

Às minhas alunas e parceiras, Isabella e Ruana, por terem aceitado participar dessa pesquisa sem pestanejar e têm vivenciado comigo todas as minhas angústias e vitórias conquistadas no dia a dia. Essa etapa vencida também é de vocês!

Sumário

LISTA DE SIGLAS	8
Resumo.....	9
Abstract.....	10
INTRODUÇÃO	11
1.1 Febre Maculosa Brasileira	11
1.2 Transmissores da FMB	13
1.3 Prevenção e Controle da FMB.....	15
1.4 Repelentes.....	17
2. JUSTIFICATIVA.....	20
3. OBJETIVOS.....	22
4. ARTIGO CIENTÍFICO	23
5. DISCUSSÃO	35
6. CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS.....	40
ANEXOS	48
Manuscript Submission Overview	48
Certificado da revista	49
Autorização do CEP.....	51
Nota Técnica.....	55
Folder.....	59

LISTA DE SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CPV - Centro de Parasitologia Veterinária

DEET - N, N-Diethyl-3-methylbenzamide

EVZ/UFG - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás

Icaridina - hidroxietil isobutil-piperidina carboxilato

IR3535 - etil-butil-acetilaminopropionato

LEQC - Laboratório de Ecologia Química de Carrapatos

LABIX - Laboratório de Ixodologia

Análise do uso de repelentes contra carrapatos da espécie *Amblyomma sculptum* (ACARI: IXODIDAE) transmissores da febre maculosa brasileira

Beatriz Rodrigues de Barcelos

Resumo

A Febre Maculosa Brasileira, adquirida por meio da picada do carrapato-estrela (*Amblyomma sculptum*) infectado, pode se tornar fatal se não tratada adequadamente. No contexto brasileiro, há escassez de informações sobre a eficácia dos repelentes, em relação à espécie *A. sculptum*. Portanto, o objetivo dos experimentos foi avaliar a repelência de produtos contendo os compostos DEET, IR3535 e Icaridina e a possibilidade de indicação desses produtos para a repelência de *A. sculptum*. Seis repelentes comerciais registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) foram selecionados para o experimento: OFF!®, Repelex®, Johnson®, Henlau®, Exposis® e SBP®, sendo dois de cada composto mencionado. Três bioensaios foram conduzidos para avaliar o comportamento dos carrapatos: i) Bioensaio do Papel Filtro, ii) Bioensaio da Ponta do Dedo e iii) Teste de Campo. Em todos os testes realizados, as formulações demonstraram elevada atividade repelente, apresentando diferenças significativas ($p < 0,05$), em relação ao grupo controle. No bioensaio do papel filtro, os produtos mais eficazes foram OFF!® (97,08%), Repelex® (95,42%) e Exposis® (94,58%). Na avaliação da ponta do dedo, o repelente OFF!® repeliu um número maior de carrapatos (174 ninfas), em comparação com Exposis® (100 ninfas) e Repelex® (86 ninfas). No teste de campo, não houve diferença significativa entre a base Icaridina (Exposis®) e DEET (OFF!® e Repelex®), ambas diferindo do controle ($p < 0,05$). OFF!® apresentou o melhor percentual de repelência (100%), seguido por Repelex® (96,8%) e Exposis® (93,1%), considerando o período de duas horas do bioensaio. A confirmação da eficácia desses repelentes comerciais contra *A. sculptum* apresentada neste estudo é de suma importância, dado que esse carrapato é o principal ectoparasita de seres humanos e pode transmitir *Rickettsia rickettsii* quando infectado. Além disso, a eficiência desses repelentes contra outras espécies de carrapatos que parasitam seres humanos também poderá ser explorada, em estudos futuros.

Palavras-chave: carrapato, febre maculosa brasileira, *Amblyomma sculptum*, repelente.

Abstract

Brazilian Spotted Fever, acquired through the bite of an infected star tick (*Amblyomma sculptum*), can become fatal if not treated properly. In the Brazilian context, there is a lack of information on the effectiveness of repellents in relation to the species *A. sculptum*. Therefore, the objective of the experiments was to evaluate the repellency of products containing the compounds DEET, IR3535 and Icaridin and the possibility of indicating these products for *A. sculptum* repellency. Six commercial repellents registered with the National Health Surveillance Agency (ANVISA) were selected for the experiment: OFF!®, Repelex®, Johnson®, Henlau®, Exopis® and SBP®, two of each compound mentioned. Three bioassays were conducted to evaluate tick behavior: i) Filter Paper Bioassay, ii) Fingertip Bioassay and iii) Field Test. In all tests carried out, the formulations demonstrated high repellent activity, presenting significant differences ($p < 0.05$) in relation to the control group. In the filter paper bioassay, the most effective products were OFF!® (97.08%), Repelex® (95.42%) and Exopis® (94.58%). In the fingertip evaluation, OFF!® repellent repelled a greater number of ticks (174 nymphs), compared to Exopis® (100 nymphs) and Repelex® (86 nymphs). In the field test, there was no significant difference between the base Icaridin (Exopis®) and DEET (OFF!® and Repelex®), both differing from the control ($p < 0.05$). OFF!® showed the best percentage of repellency (100%), followed by Repelex® (96.8%) and Exopis® (93.1%), considering the two-hour bioassay period. Confirming the effectiveness of these commercial repellents against *A. sculptum* presented in this study is extremely important, given that this tick is the main ectoparasite of humans and can transmit *Rickettsia rickettsii* when infected. Furthermore, the efficiency of these repellents against other species of ticks that parasitize humans can also be explored in future studies.

Keyword: tick, brazilian spotted fever, *Amblyomma sculptum*, repellent.

INTRODUÇÃO

1.1 Febre Maculosa Brasileira

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) representa uma zoonose infecciosa provocada por bactérias e disseminada mediante a picada de carrapatos infectados. É caracterizada por febre aguda e sintomatologia comum a diversas outras enfermidades infecciosas, podendo resultar em hospitalização devido a quadros mais severos que, em alguns casos, culminam em óbito (1). A detecção precoce e o tratamento adequado são fundamentais para reduzir a morbidade e a mortalidade associadas aos patógenos transmitidos por carrapatos. No entanto, picadas de carrapatos não identificadas, sintomas inespecíficos e falta de familiaridade com profissionais médicos podem dificultar o diagnóstico e o tratamento oportuno (2).

Trata-se de uma riquetsiose causada por bactérias da Família Rickettsiaceae, gênero *Rickettsia*. Sendo a riquetsiose mais prevalente e reconhecida causada pela bactéria gram-negativa intracelular obrigatória *Rickettsia rickettsii* (3) As riquetsioses pertencentes ao grupo da febre maculosa são doenças zoonóticas, onde os seres humanos atuam como hospedeiros acidentais, desempenhando um papel insignificante na manutenção da circulação da bactéria (4).

Destaca-se que a bactéria *Rickettsia rickettsii* causa FMB com sintomas graves, com registro no norte do estado do Paraná e nos Estados da Região Sudeste do Brasil. A doença causada pela bactéria *Rickettsia parkeri* tem sido registrada em ambientes de Mata Atlântica (Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Bahia e Ceará), produzindo quadros clínicos menos graves (5).

Os primeiros relatos da FMB foram documentados nos Estados Unidos, mais precisamente no Estado de Idaho, no início do século XX, recebendo então o nome de Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (RMSF). A designação da doença teve origem em sua alta incidência nos estados norte-americanos atravessados pela cadeia das Montanhas Rochosas. Posteriormente, Howard Taylor Ricketts foi pioneiro no isolamento de *R. rickettsii*, elucidando aspectos epidemiológicos significativos da enfermidade, que incluíram a participação de carrapatos em sua transmissão e a dependência de hospedeiros silvestres para o ciclo de transmissão (6).

No Brasil a doença é denominada Febre Maculosa Brasileira (FMB), sendo o primeiro relato de infecções por Rickettsiaceae datado em 1900, pelo Instituto Bacteriológico de São Paulo, pelo Dr. Adolfo Lutz, sendo, em 1932, descritos casos da infecção em humanos por José Toledo Piza no município de São Paulo, denominando, na época, a infecção de “tifo exantemático” (7).

Devido à alta letalidade e à diversidade clínica, desde 2001 é uma zoonose de notificação compulsória às autoridades locais de saúde (8). Destaca-se que atualmente as taxas de mortalidade variam entre 20% e 30% e, em casos não tratados, a letalidade pode chegar a 80% (9).

A investigação epidemiológica da doença deve ser iniciada imediatamente após a notificação, sendo a ficha de investigação que alimenta o Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Ministério da Saúde (SINAN-MS) - o instrumento oficial de notificação. A importância da notificação se deve também à possibilidade de surto, sendo necessário a adoção de medidas imediatas de controle (8).

Verifica-se em estudos de análises retrospectivas de dados aumento progressivo no número de casos confirmados de FMB ao longo dos anos, fenômeno este mais relacionado com a aprimorada sensibilidade da vigilância e a implementação de técnicas diagnósticas, incluindo a inspeção post mortem (1).

Os registros de ocorrência da doença acontecem tanto em áreas rurais quanto nas urbanas, praticamente em todo o País, sendo as regiões brasileiras Sudeste e Sul as de maior incidência de casos (10) (5). No período de 2007 a 2022, conforme detalhado na Nota Técnica nº 75/2023-CGZV/DEDT/SVSA/MS (11), foram diagnosticados 2.880 casos de febre maculosa no Brasil, sendo que 33% destes casos (N = 931) resultaram em óbito.

Por ser uma enfermidade sistêmica, a febre maculosa brasileira pode manifestar um curso clínico variável, desde quadros clássicos até formas atípicas desprovidas de exantema. O início geralmente é súbito e os sintomas são inespecíficos, incluindo febre, frequentemente elevada, cefaléia, mialgia intensa, mal-estar difuso, náuseas e vômitos. Em casos mais graves, o exantema evolui para uma apresentação petequial e, subsequentemente, hemorrágica, caracterizada predominantemente por equimoses ou sufusões. Em pacientes não tratados, as equimoses têm propensão à confluência, podendo progredir para necrose, especialmente em extremidades (12).

Os sintomas mais frequentemente observados em seres humanos infectados incluem febre abrupta, mialgia, cefaleia e exantema, este último surgindo entre o 2º e o 5º dia após a infecção, além de hemorragia. Ocasionalmente, podem ser observados sinais como fotofobia, vômitos, náuseas, dores abdominais e manifestações neurológicas, presentes em cerca de 40% dos pacientes, e falência renal aguda observada nos casos graves. A evolução da doença pode se dar de forma assintomática, com sintomatologia discreta até formas graves com elevada taxa de letalidade (13)(14).

Na ausência de tratamento, o quadro pode evoluir para um estágio de torpor e confusão mental, acompanhado por frequentes alterações psicomotoras, culminando em coma profundo. Icterícia e convulsões podem manifestar-se em

fases mais avançadas da doença. Nesse contexto, a letalidade, na ausência de intervenção terapêutica, pode atingir até 80% (15).

A aquisição da doença ocorre por meio da picada do carrapato, principalmente de ninfas e larvas, quando este está infectado pela bactéria *Rickettsia* que habita glândulas salivares e ovários de artrópodes hospedeiros (16). Geralmente, a transmissão efetua-se quando o artrópode permanece aderido ao hospedeiro, sendo relevante destacar que a doença não possui transmissão entre seres humanos (12).

Além dos carrapatos, podem ser considerados como reservatórios da bactéria causadora de FMB, *R. rickettsii*, espécies de mamíferos e aves silvestres como: capivaras, gambás, coelhos, equinos, cães e outros animais domésticos e silvestres. Destaca-se que capivaras, gambás e equinos têm participação relevante na cadeia epidemiológica da febre maculosa, pois amplificam as riquetsias, alimentando e transportando carrapatos potencialmente infectados (8)(17).

Sobre a sazonalidade da FMB, observa-se um aumento expressivo de casos entre os meses de junho a novembro, sugerindo que os casos possam ter relação ao ciclo dos vetores transmissores da doença, visto que nesse período ocorre também um aumento da população das ninfas dos carrapatos da espécie *A. sculptum* (18).

No Brasil, os principais vetores e reservatórios da FMB são os carrapatos do gênero *Amblyomma*, tais como *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma aureolatum* e *Amblyomma ovale*. No entanto, qualquer espécie de carrapato pode ser um potencial reservatório de riquetsias (19). *A. sculptum* é o principal vetor da *R. rickettsii* no Brasil, a qual pertence a um complexo de seis espécies (complexo *Amblyomma cajennense*), com dois representantes no Brasil, *A. cajennense* (sensu stricto) (s.s.) e *A. sculptum* (Berlese, 1888) (20).

1.2 Transmissores da FMB

Carrapatos são aracnídeos pertencentes à ordem Ixodida e distribuídos em quatro famílias: Argasidae, Nuttalliellidae, Ixodidae e Deinocrotonidae (21). São artrópodes, ectoparasitos hematófagos de animais silvestres, domésticos e acidentalmente dos seres humanos. Possuem distribuição cosmopolita, ocupando todas as seis regiões zoogeográficas, principalmente os trópicos, estando presente em todos os habitats (22)(23). De um modo geral, são registradas 951 espécies de Ixodida (24)(25)(26); sendo que 70 espécies são consideradas estabelecidas no Brasil. Do total dessas espécies, 47 são da família Ixodidae e 23 na família Argasidae. Os gêneros *Amblyomma* (32 spp.) e *Ornithodoros* (18 spp.) são os mais representativos (27).

Entre as famílias de carrapatos destaca-se a Ixodidae, pela capacidade de transmissão de uma variedade de bioagentes que podem causar complicações à saúde de seus hospedeiros e, a depender da intensidade, pode levar a morte (28). Ressalta-se que essa família é subdividida em dois grupos, Prostriata e Metastriata. O primeiro representado por um único gênero, Ixodes (subfamília Ixodinae) e o segundo grupo com quatro subfamílias: Amblyominae, Haemaphysalinae, Hyalomminae e Rhipicephalinae (29).

Na família Ixodidae tem-se o gênero *Amblyomma* que apresenta grande importância médica e veterinária e ampla distribuição geográfica nas regiões tropicais e subtropicais, sendo que 32 espécies são encontradas no Brasil (27). Neste gênero tem-se a espécie *A. sculptum*, pertencente ao complexo *A. cajennense* que se encontra distribuída na Argentina, Bolívia, Paraguai e Brasil (30). No Brasil, *A. sculptum* ocorre principalmente nos biomas do Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal e Caatinga (31).

A. sculptum é uma espécie de carrapato com ciclo de vida evolutivo dividido em quatro estágios: ovo, larva, ninfa e adultos. É um trioxeno, ou seja, necessita de três hospedeiros para completar seu ciclo. Para cada instar esse período de alimentação pode variar e, após o ingurgitamento, o carrapato desprende-se do hospedeiro e volta ao solo para mudança de estágio de vida ou ecdise (larvas e ninfas) e, no caso das fêmeas ingurgitadas, para realizar oviposição (32).

Em seu ciclo natural, esse carrapato completa apenas uma geração por ano, com cada uma de suas fases de vida predominando em diferentes épocas. As larvas surgem no início do período seco, entre abril e julho, enquanto as ninfas predominam de julho a outubro, abrangendo o final do período seco e o início das chuvas. A presença dos adultos coincide com os meses mais quentes e úmidos, sendo mais proeminente de outubro a março (33)(34)(35).

A variação populacional do carrapato *A. sculptum* ao longo do ano é influenciada pelo período de diapausa comportamental das larvas, durante o qual permanecem inativos no solo, sem se alimentar. As larvas que eclodem entre outubro e março, coincidindo com o período de atividade dos adultos, permanecem no solo até abril. Somente nesse momento, as larvas saem da diapausa e iniciam suas atividades de busca por hospedeiros, escalando folhas de capim e arbustos. O término da diapausa é desencadeado por fatores como fotoperíodo e temperatura (33)(36).

Do aspecto reprodutivo, uma única fêmea alimentada de *A. sculptum*, após a fertilização pode depositar entre 5.000 e 10.000 ovos, os quais levam aproximadamente 30 dias para eclodir. Devido à sua considerável habilidade de postura de ovos, essa espécie demonstra alto potencial de preservação e multiplicação de alguns agentes patógenos, podendo transmitir esses agentes tanto transtestadial quanto transovarianamente (37).

Sobre a anatomia dos carrapatos, as larvas e ninfas distinguem-se dos adultos não só pelas dimensões, como também pela ausência do orifício genital. A larva possui três pares de pernas, enquanto a ninfa e adultos possuem quatro pares de pernas. Com relação à distinção de sexo, somente na fase adulta há distinção, na fêmea o escudo cobre somente a parte anterior do dorso e no macho cobre inteiramente (38). Entre os órgãos internos desses ácaros, as glândulas salivares desempenham um papel crucial na regulação do equilíbrio hidrodinâmico do carrapato, gerando e liberando diversas substâncias que influenciam sua aderência à pele do hospedeiro vertebrado e na regulação das respostas imunológicas e hemostáticas deste último, durante o processo de alimentação sanguínea (39).

Com relação à saúde, trata-se de espécie de importância tanto para saúde animal quanto pública, visto que a espécie está envolvida na transmissão de ampla variedade de patógenos como fungos, vírus, bactérias e protozoários aos seus diferentes hospedeiros (39)(40). É relevante ressaltar que este carrapato está implicando na disseminação de doenças bacterianas, sendo o principal transmissor da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da Febre Maculosa Brasileira (FMB), reconhecida pela alta letalidade nas Américas (41)(42)(43).

Os carrapatos, uma vez infectados pela bactéria responsável pela Febre Maculosa, mantêm-se infectados ao longo de toda a sua vida, geralmente por um período que varia de 18 a 36 meses, sendo responsáveis, portanto, pela manutenção da *R. rickettsii* na natureza. Essa infecção pode ser disseminada para outros carrapatos por meio de diferentes mecanismos, incluindo a transmissão vertical (transovariana), a transmissão entre estágios de desenvolvimento (transestadial) e a transmissão durante o processo de cópula. Além disso, existe a possibilidade de alimentação simultânea de carrapatos infectados com não infectados em animais que apresentam uma carga suficiente de riquetsia (44). Em seres humanos, o período de incubação da doença pode variar entre 2 e 14 dias, e as manifestações clínicas abrangem desde formas atípicas, sem o surgimento de exantema, até quadros mais graves, nos quais o exantema evolui para uma apresentação petequiral e, posteriormente, hemorrágica, predominantemente caracterizada por equimoses ou sufusões (45).

1.3 Prevenção e Controle da FMB

A febre maculosa brasileira é uma enfermidade zoonótica e infecciosa, com período de incubação variando de 2 a 14 dias. Trata-se de uma enfermidade de considerável importância, nesse sentido, os órgãos governamentais demonstram uma expressiva preocupação quanto às medidas adotadas para mitigar a incidência da doença, a qual evolui rapidamente e frequentemente resulta num desfecho fatal após a infecção, caso o tratamento não seja iniciado (46). Destaca-se que, ações de prevenção para esta doença são mais eficientes que o tratamento, diferentemente de outras doenças infecciosas, visto que a FMB, atualmente, não

dispõe de opções de imunização ou quimioprofilaxia contra rickettsioses. Assim, relevante é a implementação de medidas preventivas contra o parasitismo por carrapatos (20).

É crucial ressaltar que a taxa de mortalidade da Febre Maculosa Brasileira está intrinsecamente relacionada ao diagnóstico precoce e à rápida instituição do tratamento adequado. O tratamento deve ser iniciado para todo caso suspeito, independentemente da confirmação, em função da alta letalidade da doença quando associada ao diagnóstico tardio. Conforme evidenciado por Del Fiol et al. (46), se o tratamento for iniciado nos primeiros três dias, a taxa de mortalidade fica em torno de 2% em crianças e 9% em idosos (acima de 65 anos).

Portanto, diante da rápida evolução e da elevada letalidade da doença, é de suma importância que os profissionais de saúde estejam devidamente capacitados para identificar precocemente casos suspeitos. Isso possibilitará o imediato início do tratamento específico, contribuindo assim para a redução do risco de progressão da doença, que pode culminar no óbito de indivíduos infectados (20).

No que tange à prevenção da doença, esta se fundamenta na redução do contato com carrapatos, sendo assim, essenciais são os conhecimentos acerca do ciclo da FMB, do principal vetor e da biologia deste, compreendendo a sua fase parasitária sobre o hospedeiro e a sua fase de vida livre. Portanto, torna-se imprescindível a realização de uma avaliação socioambiental das áreas afetadas, o monitoramento do vetor e do hospedeiro primário, bem como a vigilância do patógeno, tanto no hospedeiro-sentinela quanto no ambiente circundante. A integração dos resultados dessas avaliações é crucial para a definição das áreas prioritárias e das medidas a serem adotadas (46).

O Ministério da Saúde no Brasil preconiza a implementação de algumas medidas preventivas, simultâneas e integradas, para assegurar um processo eficaz na redução dos riscos associados à proliferação de carrapatos, com o intuito de evitar a doença, especialmente em áreas propensas à presença desses artrópodes (20). Entre as ações tem-se a de remoção do excesso de vegetação e material orgânico do solo para ampliar a exposição solar em áreas previamente sombreadas, dificultando a manutenção de estágios imaturos de carrapatos; ademais, a criação de uma barreira física, como uma faixa de um metro de cascalho ou lascas de madeira seca, entre áreas gramadas ou arborizadas e áreas de convívio, para reduzir a migração de carrapatos pelo solo protegido pela vegetação (20).

Evitar habitats de alto risco durante os períodos de atividade dos estágios imaturos dos carrapatos, é uma das estratégias para prevenir picadas de carrapato e evitar a contaminação (48). Destaca-se como habitats de maior risco para infestação, por algumas espécies de carrapatos pertencentes ao gênero *Amblyomma*, áreas periféricas de matas, locais de trilhas, prática de arborismo, acampamentos, margens de rios e de outras coleções de água. Assim, aconselha-

se evitar locais com vegetação alta, e, caso necessário a realização de visitas nesses locais torna-se essencial a avaliação do risco (49)(20).

As visitas nessas áreas infestadas por carrapatos devem ser cuidadosamente planejadas, incluindo a verificação da presença desses aracnídeos nas roupas ou na pele a cada duas a quatro horas. A remoção imediata dos carrapatos é crucial para diminuir o risco de transmissão da doença. A realização de verificações sistemáticas no corpo contribui significativamente para reduzir o potencial de infestação por carrapatos (20).

É possível adotar medidas simples para minimizar o risco de picadas de carrapato e, conseqüentemente, reduzir a exposição a possíveis patógenos. O uso de vestimentas apropriadas é essencial, incluindo meias espessas e longas, macacão com fechamento em zíper ou um conjunto composto por calças longas presas nas meias e uma camisa de mangas compridas. Essa vestimenta pode ser complementada com botas de cano alto, o que reduz mecanicamente o risco de um carrapato encontrar um local para se alimentar após o contato inicial. Recomenda-se que as vestimentas sejam na coloração claras para facilitar a detecção de carrapatos (20)(48).

A remoção de carrapatos, quando encontrados no corpo, deve ser efetuada preferencialmente com uma pinça, evitando esmagá-los com as unhas, visto que essa prática pode liberar bactérias e contaminar áreas com lesões na pele. Destaca-se a importância da remoção rápida dos carrapatos do corpo, uma vez que isso reduz significativamente o risco de contrair a doença (12).

Aconselha-se, também, a utilização de repelentes com eficiência contra carrapatos e realização do controle parasitário em animais domésticos. A aplicação dos repelentes em seres humanos deve ocorrer tanto diretamente nas vestimentas quanto na pele exposta, a fim de reduzir o risco da atividade de artrópodes hematófagos, prevenindo a transmissão da doença (20)(27). De acordo com Perez (50), a eficiência dos repelentes é atribuída à natureza e ao modo de ação dessas substâncias nas células sensoriais olfativas dos artrópodes, porém é interrompida quando a pele é umedecida, ocorrendo perda imediata do efeito repelente.

1.4 Repelentes

O sucesso do controle efetivo dos carrapatos é essencial para a prevenção contra a doença (51). Uma das principais formas do controle de carrapato ainda é o uso de acaricidas com bases químicas neurotóxicas, todavia, o uso excessivo destas substâncias ocasiona o aparecimento de cepas resistentes e contaminação ambiental (52)(53). Assim, uma alternativa ao uso de acaricidas seria o controle biológico realizado com compostos químicos repelentes.

A repelência é um método relevante para o controle, uma vez que busca afastar os carrapatos antes que eles possam se fixar no hospedeiro e transmitir patógenos. A repelência pode ser alcançada por meio do uso de produtos químicos ou naturais com propriedades repelentes (8). A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o uso de repelentes para proteção em áreas endêmicas(54).

Importante destacar que repelentes são substâncias químicas que produzem a perda de resposta ao hospedeiro, ou seja, produz um estímulo locomotor para longe da fonte de alimentação (55). O produto provoca um desajustamento no sistema olfatório dos artrópodes de importância médica, provocando na espécie alvo um movimento desordenado para longe da fonte de odor após a liberação da substância (56).

Essas substâncias afetam diferentes sistemas fisiológicos e bioquímicos do artrópode, impedindo o alcance do alvo, o hospedeiro (57). O repelente gera uma resposta fisiológica adaptativa negativa ao receptor da informação, fazendo com que os carrapatos cessem o comportamento de busca pelo hospedeiro ou provocam um afastamento desses da fonte emissora provocando um comportamento de repelência sobre os indivíduos (39).

Esta conduta é influenciada pela biologia comportamental dos carrapatos, que se concentra na percepção de compostos químicos, especialmente os repelentes (58). Essa percepção é mediada pela presença de um órgão sensorial conhecido como Haller, localizado no dorso do tarso do primeiro par de patas, cuja função principal é a olfação (59)(60).

É importante destacar que nenhum composto químico atua isoladamente no desencadeamento de uma resposta comportamental. A interação e o equilíbrio dos compostos químicos encontrados em cada hospedeiro podem agir de maneira sinérgica para uma espécie de antagonista para outra espécie de parasita (61).

Além disso, fatores abióticos como temperatura, umidade, velocidade e direção do vento, bem como pressão atmosférica, não só influenciam a percepção de produtos químicos pelos artrópodes, mas também sua resposta comportamental (62)(63).

É importante ressaltar que o uso de repelentes em seres humanos contra carrapatos representa uma medida preventiva no combate às doenças transmitidas por esses artrópodes, apresentando-se como uma alternativa viável. No entanto, embora essa prática seja recomendada, é necessário considerar que os repelentes são originalmente desenvolvidos para afastar insetos. As definições encontradas na literatura indicam que os repelentes são produtos destinados a afastar insetos de sua fonte de emissão, ou seja, do objeto tratado, prevenindo assim as picadas desses artrópodes, pois interferem em seu comportamento de busca pelo hospedeiro (64)(65)(66).

A aplicação de repelentes na pele humana é um dos métodos mais antigos de proteção contra picadas de artrópodes, sendo os primeiros relatos do uso remetido à Idade Antiga. Os egípcios utilizavam substâncias com fortes odores, e os romanos utilizavam plantas com a finalidade de repelir insetos (66)(67)(68). De início, os repelentes foram desenvolvidos, a partir de extratos de plantas em formulações contendo um único ingrediente ativo ou substância repelente, as quais eram queimadas para produzir fumaça e gerar efeito repelente (55).

O desenvolvimento dos repelentes sintéticos foi iniciado, por volta de 1930, nos Estados Unidos e no Reino Unido. Esse processo intensificou-se com a Segunda Guerra Mundial para garantir a proteção dos soldados contra a picada de vetores em áreas tropicais e subtropicais (66). Desde então várias substâncias com capacidade de repelência têm sido testadas, desde naturais a sintéticas, destacando-se, entre os repelentes a base de DEET (N,N-dietil-3-metilbenzamida), IR3535 (etil-butil-acetilaminopropionato) e Icaridina.

Entre os repelentes, Fradin (69) destaca que os a base de DEET são os mais reconhecidos como referência de repelência. Ademais, possuem atividade comprovada contra mosquitos e moscas hematófagas. Para carrapatos, diversas pesquisas de repelência foram elaboradas desde 1940, sendo que várias metodologias têm sido empregadas, de acordo com a biologia e o comportamento do carrapato em estudo e do tipo de análise que se pretende realizar (70).

Contudo, apesar das recomendações para o uso de medidas preventivas, especialmente repelentes, no Brasil, há uma lacuna de informações sobre a eficiência da repelência contra o carrapato *A. sculptum*, além da falta de regulamentação para o registro junto ao órgão competente. Isso se deve ao fato de que os requisitos técnicos para a concessão de registro de produtos se aplicam apenas a repelentes contra insetos, de acordo com a RDC 19, de 10 de abril de 2013 (71), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Esses produtos, conforme estabelecido pela ANVISA, estão registrados como cosméticos destinados especificamente ao uso contra insetos. O registro para o uso contra outros parasitas externos, como os carrapatos, requer um dossier específico que comprove a segurança e a eficiência apropriada do produto.

Portanto, diante da ausência de regulamentação específica para carrapatos e da necessidade de prevenção da Febre Maculosa Brasileira (FMB), é crucial avaliar a eficiência dos repelentes comerciais já utilizados, principalmente contra mosquitos, sobre o *A. sculptum*. Isso contribuirá para a formulação de políticas públicas que ajudem na prevenção da FMB e no estabelecimento de requisitos técnicos para o registro junto ao órgão competente.

2. JUSTIFICATIVA

A realização de estudos sobre a eficiência do uso de repelentes contra carrapatos causadores da febre maculosa brasileira é de extrema importância, considerando o impacto significativo da doença na saúde pública e a necessidade de medidas preventivas eficazes. Trata-se de uma enfermidade zoonótica grave, com alta letalidade em casos não tratados, representando um desafio significativo para a saúde no Brasil.

A doença é transmitida principalmente pelo carrapato *A. sculptum*, que possui uma distribuição geográfica ampla no Brasil e capacidade de adaptação nos diferentes ambientes. Assim, a capacidade do carrapato *A. sculptum* de transmitir patógenos justificam a necessidade de pesquisas voltadas para a avaliação da repelência química.

Os repelentes têm se mostrado ferramentas cruciais na prevenção de picadas de carrapatos e, conseqüentemente, na redução do risco de contrair doenças associadas a esses artrópodes. Estudos que avaliam a eficiência específica de diferentes tipos de repelentes contra carrapatos são fundamentais para orientar as estratégias de prevenção e proteção da população, fornecendo informações essenciais que orientam a escolha e o uso adequado desses agentes de proteção. Considerando a urgência em mitigar os riscos da FMB, investigações sobre a eficiência específica de repelentes contra o carrapato transmissor tornam-se imperativas. Esses estudos podem fornecer dados valiosos para embasar políticas de saúde pública, direcionando a população quanto às práticas mais eficazes de prevenção. Dessa forma, a pesquisa nesse campo contribui não apenas para a compreensão dos mecanismos de proteção, mas também para a implementação de medidas mais efetivas no combate à febre maculosa brasileira.

Compreender a eficiência dos repelentes contra carrapatos é fundamental, pois esses produtos podem ajudar a evitar as picadas do vetor, diminuindo assim o risco de transmissão de patógenos como a bactéria *Rickettsia rickettsii*, responsável pela FMB. Os repelentes atuam interferindo nos sistemas fisiológicos e bioquímicos do carrapato, induzindo uma resposta de repelência que afasta os aracnídeos do hospedeiro humano.

É essencial que esses repelentes sejam testados e avaliados quanto à sua eficiência específica contra a espécie *A. sculptum* em estudos laboratoriais e de campo, verificando a eficiência em condições de uso real, bem como a efetividade desses produtos em repelir esse carrapato. Destaca-se que os estudos devem abranger diferentes formulações de repelentes, para determinar qual oferece a melhor proteção contra o carrapato estrela, bem como a duração da proteção oferecida.

Em suma, os estudos para avaliar a eficiência dos repelentes contra o carrapato *Amblyomma sculptum* são essenciais para informar medidas de prevenção da FMB e reduzir o risco de transmissão dessa doença grave. Essa pesquisa forneceu informações valiosas para orientar políticas de saúde pública e promover práticas de prevenção eficazes contra as doenças transmitidas por carrapatos.

3. OBJETIVOS

O objetivo geral deste estudo foi avaliar a repelência química de repelentes à base de DEET, Icaridina e IR3535 utilizados contra o *Amblyomma sculptum*.

Os objetivos específicos foram:

- Testar a repelência de DEET, Icaridina e IR3535 por meio do bioensaio em papel filtro, bioensaio da ponta dos dedos e bioensaio de campo.
- Avaliar a possibilidade de indicação do uso dos produtos avaliados para a repelência de *Amblyomma sculptum*.

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Submeteu-se artigo científico com os resultados da pesquisa para a edição especial da revista *Pathogens* que possui Qualis A3 na avaliação de 2017-2020 na plataforma Sucupira. Recebido: 26 October 2023; Revisado: 27 November 2023; Aceito: 28 November 2023.



Article

Do Commercial Insect Repellents Provide Protection against the Tick *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae)?

Beatriz Rodrigues de Barcelos ^{1,*}, Nathália Gabriela Silva Santos Coelho ², Mayara Macedo Barrozo Santos ³, Francisca Letícia Vale ³, Ana Lúcia Coutinho Teixeira ³, Lainny Martins Pereira e Souza ³, Viviane Zeringóta ⁴, Caio Márcio de Oliveira Monteiro ³, Chesterton Ulysses Orlando Eugenio ⁵ and Marcos Takashi Obara ^{1,*}

- ¹ Postgraduate Program in Health Sciences and Technologies, University of Brasilia, Metropolitan Center, Conjunto A, Lot 01, Federal District, Brasilia 72220-275, Brazil
- ² Department of Biological Sciences, Catholic University of Brasilia, QS 07, Lot 01, Taguatinga, Federal District, Brasilia 71966-700, Brazil; nathaliagsilvasc@gmail.com
- ³ Postgraduate Program in Animal Science, Federal University of Goiás, Nova Veneza, km 8, Samambaia Campus, Goiania 74001-970, Brazil; may_macedo@hotmail.com (M.M.B.S.); leticiadetecta@gmail.com (F.L.V.); luciacoutinho13@gmail.com (A.L.C.T.); lainnyjordana@gmail.com (L.M.Pe.S.); caiosat@gmail.com (C.M.d.O.M.)
- ⁴ Institute of Tropical Pathology and Public Health, Federal University of Goiás, Goiania 74605-220, Brazil; viviane_zeringota@ufg.br
- ⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, São Bartolomeu Street, Luziania 72811-580, Brazil; chesterton.ucb@gmail.com
- * Correspondence: beatriz.rodrigues.barcelos@gmail.com (B.R.d.B.); marcos.obara@gmail.com (M.T.O.)

Abstract: *Amblyomma sculptum* is a species of public health interest because it is associated with the transmission of the bacteria that causes Brazilian Spotted Fever (BSF). The use of repellents on humans is a prophylactic measure widely used to provide protection against a series of arthropod vectors, including mosquitoes and ticks. However, in Brazil, the effectiveness of commercial repellents against *A. sculptum* is little known. Therefore, it is necessary to carry out specific studies to evaluate the repellency of these commercial products, registered for use against mosquitoes, against the star tick. The main goal of the present work was to evaluate the effectiveness of six commercial repellents against *A. sculptum*. Unfed nymphs, aged between two and eight weeks, were tested against products based on DEET (OFF!® and Repelex®), Icaridin (Exposis® and SBP®), and IR3535 (Johnsons and Henlau). Three bioassays were conducted to evaluate tick behavior: (i) filter paper, (ii) fingertip, and (iii) field. All bases tested showed high repellent activity, differing significantly ($p < 0.05$) from the control. It was observed the formulation with DEET resulted in the best results in the filter paper bioassay. In the fingertip bioassay, the DEET base repelled a greater number of ticks compared to Icaridin. In the field bioassay, there was no significant difference between the Icaridin base and DEET, and both formulations differed from the control ($p < 0.05$). The six formulations tested showed significant percentages of repellency against ticks; however, for the fingertip and field bioassays, the products OFF!®, Repelex®, and Exposis® were tested as they showed better performance in the filter paper test. OFF!® showed the best percentage of repellency (100%), followed by Repelex® (96.8%), and Exposis® (93.1%), considering the two-hour period of the bioassay-field-test. Proving the effectiveness of repellents on the market against *A. sculptum* presented in this study is crucial, since this is the main ectoparasite of humans that can transmit *Rickettsia rickettsii* when infected. The effectiveness of commercial insect repellents against other tick species that parasitize humans can also be explored.

Keywords: *Amblyomma cajennense* complex; *Amblyomma sculptum*; resistance; Brazilian Spotted Fever; DEET; Icaridin and IR3535



Citation: de Barcelos, B.R.; Coelho, N.G.S.S.; Santos, M.M.B.; Vale, F.L.; Teixeira, A.L.C.; Pereira e Souza, L.M.; Zeringóta, V.; de Oliveira Monteiro, C.M.; Eugenio, C.U.O.; Obara, M.T. Do Commercial Insect Repellents Provide Protection against the Tick *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae)? *Pathogens* **2024**, *13*, 9. <https://doi.org/10.3390/pathogens13010009>

Academic Editor: Valentines Chisu

Received: 26 October 2023
Revised: 27 November 2023
Accepted: 28 November 2023
Published: 21 December 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Ticks (Acari: Ixodida) are ectoparasitic arthropods that have a wide distribution, occupying all six zoogeographic regions, mainly in the tropics [1]. Currently, more than 900 species are known globally, with around 70 found in Brazil. Among ticks, the genus *Amblyomma* has great medical and veterinary importance and wide geographic distribution in tropical and subtropical regions, with around 32 species found in Brazil [2].

Within the genus *Amblyomma*, the species *Amblyomma sculptum* stands out, belonging to the *A. cajennense* complex, distributed in Argentina, Bolivia, Paraguay, and Brazil [3]. In Brazil, *A. sculptum* is found in all regions of Brazil, being registered in several states [4]. In these areas, this species is associated with the transmission of infectious agents [5] and is the main vector of the bacterium *Rickettsia rickettsii*—the etiological agent of Brazilian Spotted Fever (BSF) [6].

Since 2001, BSF has been a zoonosis that must be notified to local health authorities, and epidemiological investigation must be initiated within 48 h. The investigation form feeds into the Ministry of Health's Notifiable Diseases Information System (SINAN-MS) as an official notification instrument. The importance of notification is also due to the possibility of an outbreak, requiring the adoption of immediate control measures [7].

According to the Epidemiological Bulletin of the Ministry of Health [8], between 2007 and 2021, 36,497 cases of Spotted Fever were reported in Brazil, of which 2545 cases were confirmed. However, most cases are underreported [9]. Most of the BSF records occur in urban areas, with the Southeast region having the highest incidence rate of cases, due to the presence of *A. sculptum* and amplifying hosts [10,11].

The epidemiological scenario of BSF in the three Brazilian states with the highest lethality coefficient (São Paulo, Rio de Janeiro, and Minas Gerais) demonstrates a strong tendency for cases to increase, especially in the months of August to November, when there are higher incidences of nymphs. Capybaras and opossums play a relevant role in the BSF epidemiological chain, as they amplify *rickettsiae*, in addition to being food and transport for potentially infected ticks [12].

The World Health Organization (WHO) recommends the use of protection mechanisms in endemic areas, including the use of repellents [13]. The development of synthetic repellents began around 1930 in the United States and United Kingdom. This process intensified with the Second World War to ensure the protection of soldiers against the bites of arthropod vectors [14].

Repellents are important prophylactic tools for people living or traveling to endemic areas for vector-borne diseases. Initially, repellents were developed from plant extracts, formulated with a single active ingredient or repellent substance, which were burned to produce smoke. Molecularly, these products evolved and started to contain active substances such as DEET, which cause a maladjustment in the olfactory system of medically important arthropods [15]. Thus, repellents are chemical substances that produce a loss of response to the host, that is, they produce locomotors stimulus away from the food source, altering the arthropod's behavior [16].

Repellents are regulated as cosmetics; however, in the technical requirements for granting registration, there are specifications only for insect repellents, according to RDC (Collegiate Board Resolution) n^o. 19, of 10 April 2013 [17], and there is no regulation for ticks. Hence, given the lack of regulation on specific registration for ticks and the need to prevent BSF, it is important to evaluate the efficiency of commercial repellents used, mainly against mosquitoes on *A. sculptum* in order to contribute to the development of public policies that help prevent BSF.

In this sense, the objective of this study was to evaluate the chemical repellency of six commercial products based on DEET, IR3535, and Icaridin against *A. sculptum*, to improve BSF prevention and control actions.

2. Materials and Methods

2.1. Tick Colony

To carry out the experiments in the laboratory, *A. sculptum* nymphs were used, provided by the Ixodology Laboratory (Labix) of the Faculty of Veterinary Medicine of the Federal University of Uberlandia (FAMEV/UFU). The ticks were fed on rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), and this colony was started in 2019 with specimens collected at Serra Farm, located in the city of Araguapaz, Goiania [18].

The maintenance of ticks was approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the Federal University of Uberlandia, according to protocol n° 069/18. Nymphs were sent to Brasilia-DF, where they were placed in desiccators kept in BOD-type greenhouses at 20 °C and 85% relative air humidity for a maximum period of 60 days, and taken to the Laboratory of Biology, Ecology and Tick Control (LABEC) from the Federal University of Goias (UFG) to carry out the experiments.

2.2. Repellents

The repellency tests were conducted at LABEC, located at the Veterinary Parasitology Center (CPV) of the UFG Veterinary School, in the period between 2019 and 2021.

To carry out the repellency tests, six commercial liquid repellents registered with ANVISA were used, based on DEET, Icaridin, and IR3535, as shown in Table 1.

Table 1. Commercial repellents registered in Brazil, for protection against mosquito bites, used in repellency tests against *Amblyomma sculptum* nymphs.

Commercial Name	Way of Applying	Active Principle (Product Concentration)	Registration Number (ANVISA)	Manufacturing Company
1 OFF!® Family	Spray	DEET (6.65%)	201920481	Reckitt Benckiser
2 Repelex® Super	Spray	DEET (6.79%)	203450001	Reckitt Benckiser
3 Exopis® Extreme	Spray	Icaridina (20.00%)	203451022	Reckitt Benckiser
4 SBP® Advanced Family	Spray	Icaridina (9.98%)	03451022	Reckitt Benckiser
5 Johnsons® Baby Loção	Lotion	IR3535 (12.50%)	200920551	Johnson & Johnson
6 Henlau® Repelente	Spray	IR3535 (20.00%)	227430204	Henlau

2.3. Repellency of Bioassays

Unfed nymphs, aged two weeks to two months, were used, as established by Soares et al. [19]. Two laboratory bioassays were carried out to evaluate the repellency of the *A. sculptum* tick: (i) filter paper bioassay and (ii) fingertip bioassay. Laboratory bioassays were carried out at a temperature of 27 °C and humidity of 70%. Figure 1 shows images of the bioassays carried out in this study. Subsequently, a field bioassay was carried out at the facilities of the School Farm of Federal University of Goiás (UFG), during the period of nymph infestation, which occurred in July 2021.

2.4. Filter Paper Bioassay

For the in vitro evaluation of the activity of the six repellents, a rectangular filter paper (6 cm × 10 cm) divided into three bands was used, with the intermediate band (3 cm × 6 cm) being treated with 90 µL of the repellent, followed by the methodology proposed by Carrol et al. [20], with adaptations. In the control group, 99.5% ethyl alcohol was used. The rectangle was placed on a 100 mm diameter glass Petri dish and fixed with adhesive tape (Figure 1A).

After a 10-min interval, waiting for the solvent to evaporate, five nymphs were placed on the lower region of the paper and the ticks' movement was observed for 1 min. This assessment was repeated every hour, in a total of five hours of testing. Eight replications were performed for each commercial formulation, as well as for the control. It should be noted 240 nymphs were used for each repellent tested, that is, five nymphs per repetition and 40 nymphs per repellent in each time interval tested. Nymphs were discarded after each observation.

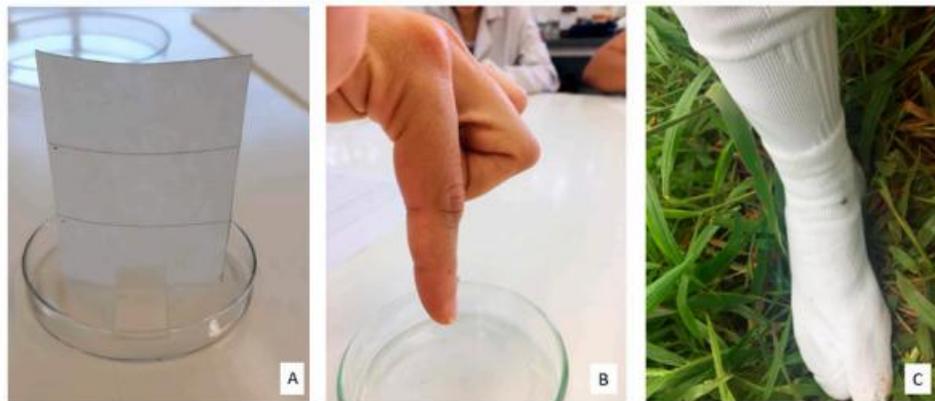


Figure 1. Behavioral assessment bioassays with *A. sculptum*. (A) Filter paper bioassay (rectangular paper filter measuring 6 cm × 10 cm and glass petri dish measuring 9 cm × 1.5 cm), (B) Fingertip bioassay (index finger) and, (C) Field bioassay in an area infested with *A. sculptum*.

Ticks that, after the end of the time interval, remained on the untreated portion of the paper, those that fell into the Petri dish and those that, in an upward movement, reversed direction when coming into contact with the treated area, were classified as repelled. Ticks that remained in the treated area or passed through and remained on the top of the paper were considered not repelled. With the results of the filter paper bioassay, the three best repellents were selected to perform the fingertip and field bioassay.

2.5. Fingertip Bioassay

For the fingertip repellency test, the methodology recommended by Schreck et al. [21], was applied, using the three repellents that showed the best results in the filter paper bioassay (OFF!®, Repelex®, and Exopis®). The repellent was applied to the proximal phalanx of the right index finger of each volunteer, while the control (99% ethanol) was used on the proximal phalanx of the left index finger. A total of five volunteers participated in the experiment.

The amount of substance used was 2.75 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, following the methodology described by Carroll et al., with the solution being applied with a micrometric pipette. To calculate the treatment application area, the formula πdh was used, in which πd represents the length of the circumference of each volunteer's index finger, and h corresponds to the distance between the second and third skin folds of the finger. Thus, each volunteer had a specific amount of substance applied according to the area calculation. After application, a 10-min interval was waited for the solvent to evaporate and the test began.

The volunteers positioned their index finger horizontally, and then a nymph was placed on the first phalanx of the index finger. Subsequently, the finger was positioned vertically, with the tip down (Figure 1B). Due to the negative geotropism of *A. sculptum* nymphs, the expected behavior was they would climb up the finger if they were not repelled.

From the moment the tick started its upward movement, one minute was recorded. Ticks that after the end of this time remained on the untreated portion of the finger, those that fell, and those that in an upward movement reversed direction when coming into contact with the treated area were considered repelled. For each repellent tested, 180 nymphs were used, with 6 nymphs used for each volunteer in each time interval tested, totaling 30 nymphs per repellent in each test period. All ticks were first tested on the control substance. Those that did not move vertically were discarded, and only those that crossed the area treated with the control were used.

2.6. Field Bioassay

In the field bioassay, an area known to be infested by *A. sculptum*, close to places where cattle and capybaras circulate at the School of Veterinary and Animal Science at the Federal University of Goiás, was selected. The methodology of Bissinger et al. [22] and Ogawa et al. [23] was adapted, using the three repellents that demonstrated the best performance in the first bioassay (OFF!®, Repelex®, and Expositis®).

The volunteers wore the appropriate PPE for the activity (white jumpsuit properly sealed with adhesive tape at the ends of the sleeves, with zippers or buttons). Each volunteer received 2 previously treated long socks (10 min before the beginning of the experiment, to evaporate the solvent). In each sock, 1 mL was applied for every 600 cm² of treatment area, following a volume similar to that used in the filter paper methodology. The application always occurred in the mid-calf region, above the calf.

The 2-h experiment period was adopted, as recommended by Pajuaba-Neto [24] for the test in the environment, with dry ice and drag test. Each volunteer received different treatments, including OFF!®, Repelex®, Expositis®, and control (99% alcohol), with nine repetitions of each treatment performed.

The volunteers were instructed to walk randomly through an area measuring about 400 m² at a slow pace, taking approximately 30 steps per minute, for a period of 15 min. Each substance was tested in different ways. Ticks were collected with transparent adhesive tape at 20, 40, 60, and 120 min, stored in properly identified and sealed plastic bags. During the test period, all ticks that crossed the calf area were collected and stored in plastic bags and were considered non-repellent. Those that did not pull up their socks and remained in the foot area were considered repelled and were not counted.

After completion of the test, the plastic bags containing the ticks classified as non-repellent were taken to LABEC, where they were stored in a freezer with at least −4 °C. Subsequently, the number of ticks was recorded and they were morphologically identified according to Martins et al. [25] and Martins et al. [26]. It is important to note all nymphs collected belong to the species *Amblyomma sculptum*.

The following formula is used to calculate the repellency: Repellency (%) = $(C - T)/C \times 100$, where C represents the number of ticks not repelled in the control group and T represents the number of ticks not repelled in the treatment group.

All bioassays were authorized by the Animal Research Ethics Committee (CEP) of the Federal University of Goiás under registration no. 4.955.565.

2.7. Statistical Analysis

To compare the proportions of repelled and non-repelled ticks between the different substances tested in the bioassays (filter paper, fingertip, and field), statistical analyzes were performed using R (Version 4.1.2) [27]. The graphs were generated using the statistical program PAST v 4.0 [28]. The statistical analysis used was the Kruskal-Wallis test, followed by Dunn's post-test for multiple pairwise comparisons (kruskal_test and dunn_test functions from the Rstatix package). The Kruskal-Wallis was performed for each bioassay (filter paper, fingertip, and field), and the Dunn's test was used to perform pairwise comparisons between the repellents. For all statistical tests, *p* less than 0.05 was used as the statistical significance threshold.

3. Results

3.1. Laboratory Bioassays

The results of the filter paper bioassay with the selected repellents and the control substance are presented in Table 2. In this table it is possible to observe the order of repellency of the products was OFF!® > Repelex® > Expositis® > SBP® > Johnson® > Henlau®.

Table 2. Bioassay of filter paper for repellency of the *Amblyomma sculptum* species using commercial repellents OFF![®], Repelex, SBP, Exopis, Henlau and Jonhson, in 2019.

Repellent	Total of Nymphs Repelled	Repellency (%)	Mean *	Standard Deviation *	Coefficient of Variance *
Control	101	43.33	2.10 ^a	1.08	51.17
OFF! [®]	233	97.08	4.50 ^b	0.50	10.40
Repelex [®]	229	95.42	4.77 ^b	0.47	9.90
SBP [®]	225	93.33	4.67 ^b	0.72	15.52
Exopis [®]	227	94.58	4.73 ^b	0.45	9.50
Henlau [®]	179	75.42	3.77 ^c	1.13	30.08
Jonhson [®]	183	76.25	3.81 ^c	1.12	29.47

* The values presented refer to the general analysis of each repetition that used 5 nymphs. ^{a,b,c} Different letters have significant statistical differences using the Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn's test, with *p*-values 0.05.

The analysis demonstrated the repellents presented different repellency rates than the control group (Kruskal-Wallis test, *p* < 0.05). DEET-based repellents showed the best results (OFF![®]—97.08% and Repelex[®]—95.42%) compared to those based on Icaridin (SBP[®]—93.33% and Exopis[®] 94.58) and IR3535 (Henlau[®]—75.42% and Jonhson[®]—76.25%). Furthermore, no significant difference was observed between Icaridin-based repellents (SBP[®] and Exopis[®]) and DEET (OFF![®] and Repelex[®]); however, a difference was observed between IR3535 (Henlau[®] and Jonhson[®]) and DEET, and IR3535 and Icaridin (Table 2).

The commercial repellents OFF![®], REPELEX[®], and EXPOSIS[®] were selected to carry out the fingertip bioassay because they showed the highest mean in repellency of *A. sculptum*.

The results of the fingertip bioassay with the commercial repellents OFF![®], Repelex[®], and Exopis[®] are presented in Table 3. The experiments used a total of five volunteers and there was no statistically significant difference in repellency between volunteers. The OFF![®] brand repellent repelled a greater number of ticks (Kruskal-Wallis test, *p* < 0.05) when compared to the repellents Repelex[®] and Exopis[®], with the latter two not differing from each other. It was verified the *A. sculptum* nymphs were strongly repelled by OFF![®] repellent, throughout the five hours of testing, with the percentage of repellency at 96.67%, against 47.7% for Repelex[®], and 55.5% of Exopis[®].

Table 3. Fingertip bioassay for repellency of the species *Amblyomma sculptum* using commercial repellents OFF![®], Repelex[®] and Exopis[®], in 2020.

Repellent	Total of Nymphs Repelled	Repellency (%)	Mean *	Standard Deviation *	Coefficient of Variance *
OFF! [®]	174	96.6	5.80 ^a	0.41	7.01
Repelex [®]	86	47.7	2.87 ^b	2.15	74.84
Exopis	100	55.5	3.33 ^b	1.79	53.63

* The values presented refer to the general analysis of each repetition that used 5 nymphs. ^{a,b} Different letters have significant statistical differences using the Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn's test, with *p*-values 0.05.

Figure 2A shows the mean number of nymphs repelled by the tested products, indicating a lower performance of Henlau[®] and Jonhson[®]. In Figure 2B, it is possible to see OFF![®] presented the best result in the average number of nymphs repelled.

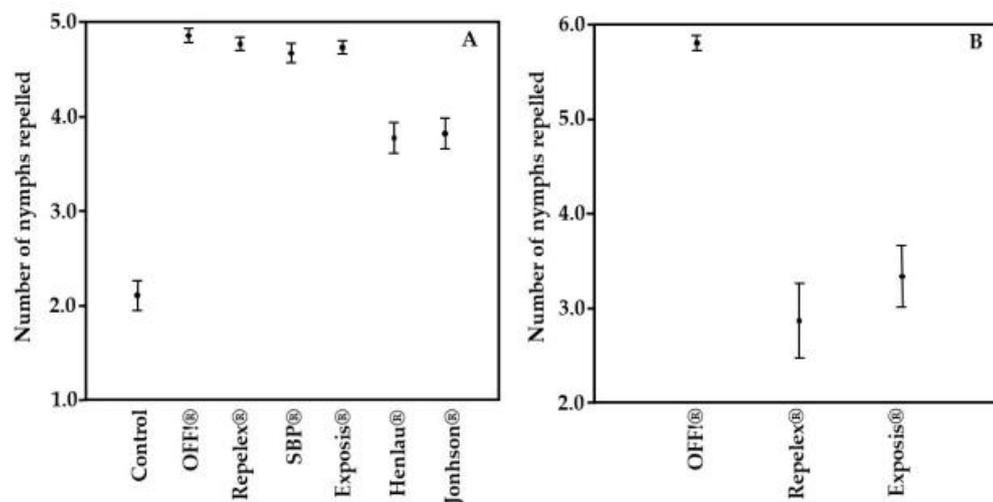


Figure 2. Mean number of *Amblyomma sculptum* nymphs exposed to different commercial repellents. (A) Filter paper bioassays, 2019. (B) Fingertip bioassay, 2020.

3.2. Field Bioassay

For the field bioassay, the 3 (three) repellents that presented the best results in laboratory bioassays (filter paper and fingertip) were used, namely: OFF!® (DEET), Repelex® (DEET), and Expositis® (Icaridin). The field bioassay was carried out by four volunteers and there was no difference in repellency efficiency between them.

In the field bioassay, no significant difference was observed between the repellents Repelex®, Expositis®, and OFF!® (Kruskal-Wallis test, $p \geq 0.05$) (Table 4). All repellents tested demonstrated high percentages of repellency against *A. sculptum*. OFF!® repellent showed the best percentage of repellency (100%), followed by Repelex® (96.8%), and Expositis® (93.1%), over the two hours of the test (Table 4).

Table 4. Field bioassays carried out with the commercial repellents OFF!®, Repelex® and Expositis® in areas infested by the species *Amblyomma sculptum* at the School of Agronomy at the Federal University of Goias, Goiania/GO, in June 2021.

Repellent	Total of Nymphs Collected	Repellency (%)	Mean	Standard Deviation	Coefficient of Variance
Control	434	0	12.44 ^a	4.18	33.60
OFF!®	0	100	0.00 ^b	0.00	-
Repelex®	14	96.8	0.38 ^b	1.37	362.63
Expositis®	10	93.1	0.82 ^b	1.09	132.95

^{a, b} Different letters have significant statistical differences using the Kruskal-Wallis test, followed by the Dunn's test, with p -values 0.05.

It is observed statistically the repellents obtained similar efficiencies, with OFF!® repellent having the best result (Figure 3), since it was the product in which no nymphs were captured during the bioassay period.

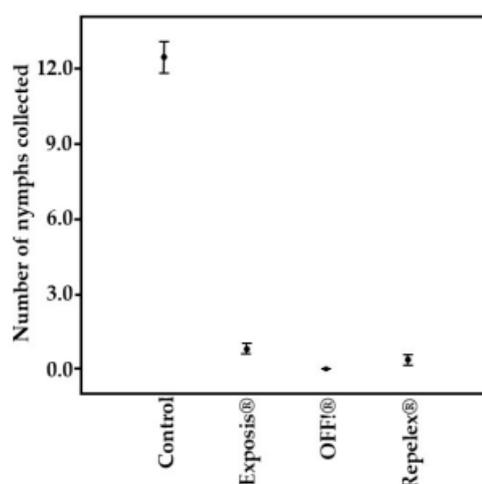


Figure 3. Mean number of *Amblyomma sculptum* nymphs captured in the field bioassay using different brands of repellents, conducted at the School of Agronomy at the Federal University of Goiás, Goiânia/GO, in June 2021.

4. Discussion

The preventive measures against spotted fever, suggested by the Brazilian Ministry of Health, include the use of pants, boots, and shorts with long sleeves. In addition, it recommends the use of repellents, but there is no recommendation about which product to use. In this way, the present study allows, for the first time, the recommendation of the use of repellent products against the star tick, to improve the measures of prevention and control of Brazilian spotted fever.

The results obtained in this research supported the use of commercial repellents, mainly the DEET base, against ticks, especially *A. sculptum*, since the bioassays performed satisfactory repellency. Results were obtained in the following order: Off!® > Repelex® > Exopis® > SBP® > Johnson® > Henlau®. DEET-based repellents showed the best repellency results against *A. sculptum* in all bioassays carried out, which corroborated Leal [15] who described the compound as the gold standard of repellents with proven efficiency against insect species.

The filter paper bioassay indicated all bases obtained different results from the control, with high percentages of repellency (DEET, Icaridin, and IR3535). It is noteworthy the highest percentages of repellency is obtained with DEET-based repellents: (i) Repelex® (95.42%) and (ii) Off!® (97.08%). It is noted, according to the information in Table 1, the concentration of the active ingredient in DEET-based repellents is lower, although they obtain the highest percentages of repellency.

In the study conducted by Soares et al. [18], in which the fingertip bioassay was used to analyze the repellency of *A. sculptum*, a repellency rate greater than 90% was observed in all DEET concentrations tested (0.200 to 0.025 mg·cm²), in the range between 10 min and 1 h after application, representing a viable alternative against this Ixodidae.

It is also noteworthy, regarding tests with filter paper, DEET repellent also demonstrate effectiveness against the *Amblyomma americanum* tick, in a study carried out by Carroll et al. [20], confirming the use of this base in the prevention of diseases transmitted by these arthropods.

Jesenieu et al. [29], also found satisfactory repellency results against *Amblyomma hebraeum* using DEET-based repellent. Two hours after applying the repellent, a repellency percentage of 89% was achieved. Gomes et al. [30] pointed out commercial repellents based on DEET were the most relevant when it came to repelling arthropods. The present

study used products containing the DEET to evaluate the repellency efficiency against *A. sculptum*. The results obtained demonstrate evidence that proved the high performance in the repellency against the star tick.

Meng et al. [31] also obtained a better repellency result with the DEET base in filter paper bioassay. In these studies, the authors evaluated DEET repellency and eight commercial essential oils (oregano, cloves, thyme, vetiver, sandalwood, cinnamon, cedar, and peppermint) against star tick nymphs. The results showed the effective DEET concentration that repelled 50% of the ticks was estimated at 0.02 mg/cm², while that of essential oils was between 0.113 and 0.297 mg/cm². The essential oil of oregano was the most efficient of all the oils tested, but none of the essential oils showed a higher level of repellency than DEET.

Still referring to the filter paper bioassay, Bissinger et al. [32] evaluated the efficiency of the commercial repellent BioUD, which had 2-undecanone as its active ingredient, which was derived from wild tomatoes, compared with DEET. In the study, it was found the BioUD repellent was 7.75% effective, while the DEET-based repellent was 98.11%. The results of this research corroborate the findings of the present study, demonstrating the DEET base has a high potential for repellency efficiency against the star tick.

In relation to the fingertip bioassay, OFF!® repellent, over the five hours of testing, obtained a repellency percentage of 96.67%, compared to 47.7% for Repelex® and 55.5% for Exposit®. In a similar study, using fingertip bioassay, Perez et al. [33] also obtained high repellency efficiency against the star tick. In this study, two hours of protection and 98% repellency against unfed *A. sculptum* nymphs were observed using Nexcare repellent at concentrations of 7%, 14%, 25%, and 50%.

It appears investigations into the use of repellents to control ticks are becoming increasingly frequent in recent years, as can be seen in the reviews on the topic by Bissinger, Roe [34], Pages et al. [35], Benelli and Pavela [36]. However, for *A. sculptum*, to date, most repellency evaluation studies have been carried out only under laboratory conditions. The present study gives results that indicate the efficiency of commercial repellents, mainly based on DEET, against the *A. sculptum* tick in field conditions.

Thus, this work filled the gap regarding the possibility of using commercial mosquito repellents against *A. sculptum*, as field experiments were carried out in addition to laboratory tests. Given the efficiency results presented, the use of OFF!® repellent is suggested, as it was the one that significantly repelled ticks the most, compared to the control treatment, in the three bioassays carried out, with 96.08% on filter paper, 96.6% on the fingertip and 100% repellency in the field bioassay.

In this study, DEET products obtained better results in laboratory and field bioassays. Mcmeniman et al. [37] described DEET decreased the sensitivity of olfactory receptor neurons to odors, reducing the responses of neurons stimulated by lactic acid. Furthermore, it also acted as an odorant, altering the host's chemical profile, preventing host-seeking activity [38,39].

Stefani et al. [40] highlighted those substances exhaled through the skin (lactic acid, sweat, CO₂, among others) and the presence of eczema can interfere with the effectiveness of repellents. These factors should be evaluated in future studies, during laboratory and field experiments.

This study was limited to analyze the repellent effect of commercial products against nymphs of the *A. sculptum* tick. Therefore, no analysis of the products against larvae and adult ticks was carried out, making it necessary to evaluate the repellent effect of these products in the different phases of tick life. In this study, we chose to use *A. sculptum* nymphs since they are mainly responsible for the transmission of the bacteria that caused Spotted Fever.

It is important to expand the indication of commercial repellents, especially those based on DEET for ticks, considering they are already registered with ANVISA (National Health Surveillance Agency) and respect the resolution that provides for the technical requirements for granting registration of insect repellent cosmetic products [40]. Furthermore, new

repellency studies are suggested for other tick species of public health importance, taking into account the accessibility of these products on the market.

5. Conclusions

It is concluded that the repellents tested function as a physical barrier for the movement of *A. sculptum*, allowing high effectiveness in repelling with brand performance in the following order: OFF!® > Repelex® > Exposit®. Among the brands tested in the three bioassays carried out, OFF!® repellent was the one that obtained the best result in all bioassays, and may be indicated for use as a repellent against *A. sculptum* tick nymphs.

Author Contributions: Formal analysis: B.R.d.B., C.M.d.O.M., V.Z., F.L.V. and C.U.O.E.; investigation: B.R.d.B., V.Z., C.M.d.O.M., M.M.B.S., A.L.C.T. and L.M.P.e.S.; writing—original draft: B.R.d.B. and N.G.S.S.C.; writing—review and editing: B.R.d.B., M.T.O., C.M.d.O.M. and V.Z.; supervision: M.T.O.; funding acquisition: M.T.O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by funding from OPAS (Pan American Health Organization) number SCON2021-00161.

Institutional Review Board Statement: The animal study protocol was approved by the Ethical Committee of Animal Use of the Federal University of Goiás (CEUA/UFG) under protocol number 071/22, and was in accordance with the ethical principles of animal experimentation. The collection of ticks in the Emas National Park was authorized by the Chico Mendes Institute for Biodiversity (ICMbio Permit No. 70143-2).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: All subjects gave their informed consent for inclusion before they participated in the study. The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Ethics Committee of no. 4.955.565.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Dantas-Torres, F.; Otranto, D. Ixodid and Argasid Ticks. *J. Encycl. Infect. Immun.* **2022**, *2*, 1049–1063.
- Dantas-Torres, F.; Martins, T.F.; Muñoz-Leal, S.; Onofrio, V.C.; Barros-Battesti, D.M. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. *Ticks Tick Borne Dis.* **2019**, *10*, 101–252. [CrossRef] [PubMed]
- Nava, S.; Beati, L.; Labruna, M.B.; Cáceres, A.G.; Mangold, A.J.; Guglielmone, A.A. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Ticks Tick Borne Dis.* **2014**, *5*, 252–275. [PubMed]
- Bitencourth, K.; Voloch, C.M.; Serra-Freire, N.M.; Machado-Ferreira, E.; Amorim, M.; Gazêta, G.S. Analysis of *Amblyomma sculptum* haplotypes in an area endemic for Brazilian Spotted Fever. *Med. Vet. Entomol.* **2016**, *30*, 342–350. [CrossRef]
- Scoles, G.A.; Ueti, M.W. *Amblyomma cajennense* is an intrastadial biological vector of *Theileria equi*. *Parasites Vectors* **2013**, *6*, 306. [CrossRef]
- Labruna, M.B. Ecology of Rickettsia in South America. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2009**, *1166*, 156–166. [CrossRef]
- Ministério da Saúde, Brasil. Guia de Vigilância em Saúde. Available online: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_1ed_atual.pdf (accessed on 25 October 2019).
- Ministério da Saúde, Brasil. Febre Maculosa. Available online: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-maculosa#:~:text=A%2520febre%2520maculosa%2520%25C3%25A9%2520uma,transmitida%2520pela%2520picada%2520do%2520carrapato> (accessed on 1 April 2023).
- Rodrigues, C.M.; Geise, L.; Gazeta, G.S.; Oliveira, S.V. Estudo descritivo de casos notificados de febre maculosa em São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais entre 2007 e 2016. *Cad. Saúde. Colet.* **2023**, *31*, e31020104. [CrossRef]
- Ribeiro, V.L.S.; Weber, M.A.; Fetzer, L.O.; Vargas, C.R.B. Espécies e prevalência das infestações por carrapatos em cães de rua da cidade de Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciência Rural* **1997**, *27*, 285–289. [CrossRef]
- Angerami, R.N.; Câmara, M.; Pacola, M.R.; Rezende, R.C.; Duarte, R.M.; Nascimento, E.M.; Colombo, S.; Santos, F.C.; Leite, R.M.; Katz, G.; et al. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* **2012**, *3*, 346–348. [CrossRef]
- Donalisio, M.R.; Souza, C.E.; Angerami, R.N.; Samy, A.M. Mapping Brazilian spotted fever: Linking etiological agent, vectors, and hosts. *Acta Trop.* **2020**, *207*, 105496. [CrossRef]

13. Barnard, D.R. Repellents and for Personal Protection. World Health Organization. Available online: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/66666/WHO_CDS_WHOPEP_GCDPP_2000.5.pdf?sequence=1&isAllowed=y (accessed on 1 April 2023).
14. Nentwig, G. Use of repellents as prophylactic agents. *Parasitol. Res.* **2003**, *90*, S40–S48. [CrossRef]
15. Leal, W.S. The enigmatic reception of DEET—The gold standard of insect repellents. *Curr. Opin. Insect Sci.* **2014**, *6*, 93–98. [CrossRef]
16. Miller, J.R.; Siegert, P.Y.; Amimo, F.A.; Walker, E.D. Designation of Chemicals in Terms of the Locomotor Responses They Elicit from Insects: An Update of Dethier et al. *J. Econ. Entomol.* **2009**, *102*, 2056–2060. [CrossRef]
17. Ministério da Saúde, Brasil. Resolução—RDC no. 19, de 10 de Abril de 2013. Available online: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0019_10_04_2013.html (accessed on 25 October 2022).
18. Szabó, M.P.J.; Olegário, M.M.M.; Santos, A.L.Q. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. *Exp. Appl. Acarol.* **2007**, *43*, 73–84. [CrossRef] [PubMed]
19. Soares, S.F.; Braga, R.S.; Ferreira, L.L.; Louly, C.C.B.; Sousa, L.A.D.; Silva, A.C.; Borges, L.M.F. Repellent activity of DEET against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs submitted to different laboratory bioassays. *Rev. Bras. Parasitol.* **2010**, *19*, 12–16. [CrossRef]
20. Carroll, J.F.; Solberg, V.B.; Klun, J.A.; Kramer, M.; Debboun, M. Comparative Activity of Deet and AI3-37220 Repellents Against the Ticks *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in Laboratory Bioassays. *J. Med. Entomol.* **2004**, *40*, 249–254. [CrossRef] [PubMed]
21. Schreck, C.E. Techniques for the evaluation of insect repellents: A critical review. *Annu. Rev. Entomol.* **1977**, *22*, 101–119. [CrossRef] [PubMed]
22. Bissinger, B.W.; Apperson, C.S.; Watson, D.W.; Arellano, C.; Sonenshine, D.E.; Roe, R.M. Novel field assays and the comparative repellency of BioUD®, DEET and permethrin against *Amblyomma americanum*. *Med. Vet. Entomol.* **2011**, *25*, 217–226. [CrossRef] [PubMed]
23. Ogawa, K.; Komagata, O.; Hayashi, T.; Itokawa, K.; Morikawa, S.; Sawabe, K.; Tomita, T. Field and Laboratory Evaluations of the Efficacy of DEET Repellent against Ixodes. *Jpn. J. Infect. Dis.* **2015**, *69*, 131–134. [CrossRef] [PubMed]
24. Pajuaba-Neto, A.A.; Ramos, V.D.N.; Martins, M.M.; Osava, C.F.; Pascoal, J.O.; Suzin, A.; Yokosawa, J.; Szabó, M.P.J. Influence of microhabitat use and behavior of *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma dubitatum* nymphs (Acari: Ixodidae) on human risk for tick exposure, with notes on *Rickettsia* infection. *Ticks Tick Borne Dis.* **2018**, *9*, 67–71. [CrossRef]
25. Martins, T.F.; Onofrio, V.C.; Barros-Battesti, D.M.; Labruna, M.B. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: Descriptions, redescrptions, and identification key. *Ticks Tick Borne Dis.* **2010**, *1*, 75–99. [CrossRef] [PubMed]
26. Martins, T.F.; Barbieri, A.R.; Costa, F.B.; Terassini, F.A.; Camargo, L.M.; Peterka, C.R.C.; Pacheco, R.; Dias, R.A.; Nunes, P.H.; Marcili, A.; et al. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (*sensu lato*) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (*sensu stricto*). *Parasit. Vectors* **2016**, *9*, 186. [CrossRef] [PubMed]
27. R Project. The R Project for Statistical Computing. Available online: <https://www.R-project.org> (accessed on 1 April 2023).
28. Hammer, O.; Harper, D.A.; Ryan, P.D. Palaeontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol. Electron.* **2001**, *4*, 1–9.
29. Jensenius, M.; Pretorius, A.M.; Clarke, F.; Myrvang, B. Repellent efficacy of four commercial DEET lotions against *Amblyomma hebraeum* (Acari: Ixodidae), the principal vector of *Rickettsia africae* in southern Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **2005**, *99*, 708–711. [CrossRef] [PubMed]
30. Gomes, J.P.C.; Bankuti, R.M.; Moraes, C.A.P.; Seo, E.S.M. Critical Analysis of Mosquito Repellents Formulation In The Brazilian Market. *Int. J. Dev. Res.* **2022**, *12*, 55129–55131.
31. Meng, H.; Li, A.Y.; Costa Junior, L.M.; Castro-Arellano, L.; Liu, J. Evaluation of DEET and eight essential oils for repellency against nymphs of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.* **2016**, *68*, 241–249. [CrossRef]
32. Bissinger, B.W.; Apperson, C.S.; Sonenshine, D.E.; Watson, D.W.; Roe, R.M. Efficacy of the new repellent BioUD® against three species of ixodid ticks. *Exp. Appl. Acarol.* **2009**, *48*, 239–250. [CrossRef]
33. Perez, C.A.; Omoto, C.; Carvalho, V.H.B.; Silva, M.S.T. Atividade de repelentes aplicados na pele e na roupa para a proteção contra o carrapato-estrela *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). In Proceedings of the Anais do Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ribeirão Preto, Brazil, 1 August 2006; Volume 198.
34. Bissinger, B.W.; Roe, R.M. Tick repellents: Past, present, and future. *Pestic. Biochem. Physiol.* **2010**, *96*, 63–79. [CrossRef]
35. Pages, F.; Dautel, H.; Duvallet, G.; Kahl, O.; Gentile, L.; Boulanger, N. Ticks repellents for human use: Prevention of ticks bites and tick-borne diseases. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **2014**, *14*, 85–93. [CrossRef]
36. Benelli, G.; Pavela, R. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks—A systematic review. *Acta Trop.* **2018**, *179*, 47–54. [CrossRef]
37. McMeniman, C.J.; Corfas, R.A.; Matthews, B.J.; Ritchie, S.A.; Vosshall, L.B. Multimodal Integration of Carbon Dioxide and Other Sensory Cues Drives Mosquito Attraction to Humans. *Cell* **2014**, *156*, 1060–1071. [CrossRef] [PubMed]
38. Leal, W.S.; Barbosa, R.M.; Zeng, F.; Faienstein, G.B.; Tan, K.; Paiva, M.H.; Guedes, D.R.; Crespo, M.M.; Ayres, C.F. Does Zika virus infection affect mosquito response to repellents? *Sci. Rep.* **2017**, *16*, 42826. [CrossRef] [PubMed]

39. Deletre, E.; Schatz, B.; Bourguet, D.; Chandre, F.; Williams, L.; Ratnadass, A.; Thibaud, M. Prospects for repellent in pest control: Current developments and future challenges. *Chemoeology* **2016**, *26*, 127–142. [[CrossRef](#)]
40. Stefani, G.P.; Pastorino, A.C.; Castro, A.P.B.M.; Fomin, A.B.F.; Jacob, C.M.A. Insect repellents: Recommendations for use in children. *Rev. Paul. Pediatr.* **2009**, *27*, 81–89. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

5. DISCUSSÃO

A. sculptum tem suscitado a necessidade de estratégias eficazes de proteção contra esses ectoparasitas que possuem importância para a saúde pública, em função da transmissão de doenças para animais e seres humanos. O presente estudo propôs avaliação da eficiência da repelência química de três princípios ativos: DEET, Icaridina e IR3535, quando confrontados com o *A. sculptum*. Os resultados desta pesquisa oferecem contribuições substanciais para a compreensão da repelência química contra *A. sculptum* e abrem caminho para futuras investigações e aplicações práticas. A combinação de métodos rigorosos de avaliação, aliada a uma análise crítica e contextualizada dos resultados, enriquece o conhecimento científico e fornece subsídios valiosos para a gestão eficaz desse importante vetor no cenário epidemiológico brasileiro.

Investigações sobre o uso de repelentes para o controle de carrapatos tornaram-se mais frequentes nos últimos anos, todavia para *A. sculptum* os estudos de eficiência da repelência, no geral, concentram-se em testes em condições laboratoriais (72)(73). Assim, o presente trabalho possui relevância visto que realizou três diferentes tipos de bioensaios, entre laboratoriais e de campo, garantindo assim que as condições reais fossem avaliadas e comprovadas a eficiência com relação a repelência dos carrapatos.

A pesquisa desenvolvida com o intuito de avaliar a repelência química de diferentes compostos, como DEET, Icaridina e IR3535, frente ao *A. sculptum*, representa uma contribuição significativa para a compreensão e controle dos carrapatos, notadamente no contexto brasileiro. Ao longo deste estudo, foram realizados bioensaios com 3 metodologias distintas, papel filtro, bioensaio, ponta dos dedos e campo, visando a obtenção de dados robustos sobre a eficácia desses repelentes.

Os resultados obtidos revelaram a capacidade de cada substância em repelir a espécie *Amblyomma sculptum*, fornecendo subsídios importantes para o desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle deste artrópode de importância para saúde pública, em função da capacidade de transmissão de doenças, como a Febre Maculosa Brasileira. A comparação entre os repelentes à base de DEET, Icaridina e IR3535 destaca nuances interessantes quanto à eficácia

relativa desses compostos, permitindo inferências sobre a escolha mais apropriada em diferentes contextos de uso.

No contexto do bioensaio do papel filtro, observou-se que determinados repelentes apresentaram maior eficácia, sugerindo a relevância desse método para avaliações iniciais. Já o bioensaio da ponta dos dedos forneceu dados sobre a repelência em condições mais próximas da aplicação real, ampliando a compreensão sobre o desempenho dos produtos em situações práticas.

O bioensaio de campo, por sua vez, permitiu a avaliação em um ambiente mais próximo das condições naturais, possibilitando uma análise mais abrangente e contextualizada. Os resultados desses diferentes métodos convergem para conclusões consistentes, fortalecendo a confiabilidade dos achados desta pesquisa.

No âmbito do bioensaio do papel filtro, os resultados forneceram uma classificação clara da ordem de repelência dos produtos testados contra o *Amblyomma sculptum*. A observação dessa hierarquia revelou que os repelentes OFF!® e Repelex® destacaram-se como os mais eficazes, seguidos por Expositis®, SBP®, Johnson® e Henlau®, respectivamente. Notavelmente, os produtos à base de DEET, OFF!® e Repelex®, e o produto à base de Icaridina, Expositis®, exibiram as maiores médias de repelência, fundamentando a escolha dessas substâncias para prosseguimento nos bioensaios subsequentes, como o da ponta dos dedos e o de campo. Essa consistência nos resultados entre os diferentes métodos de avaliação fortalece a confiança na eficácia desses repelentes específicos contra o *Amblyomma sculptum*, fornecendo uma base sólida para as considerações práticas e a aplicação desses produtos como agentes de repelência eficazes.

No bioensaio da ponta do dedo, os resultados apresentaram a eficácia dos repelentes comerciais OFF!®, Repelex® e Expositis® contra o *Amblyomma sculptum*. Destacadamente, o repelente da marca OFF!® demonstrou um desempenho superior, repelindo um número maior de carrapatos em comparação com os repelentes Repelex® e Expositis®. Essa observação reforça a efetividade do produto à base de DEET, sugerindo que a formulação específica do repelente OFF!® possui propriedades repelentes mais robustas quando aplicadas em condições simuladas de contato direto com a pele. Essa distinção nos resultados destaca a importância de considerar não apenas a substância ativa do repelente, mas também a formulação específica do produto ao avaliar sua eficácia em

condições práticas de uso, contribuindo para uma compreensão mais abrangente e aplicável na escolha de estratégias de proteção contra o *Amblyomma sculptum*.

No contexto do bioensaio de campo, que simulou uma situação real em um ambiente controlado infestado por ninfas da espécie *Amblyomma sculptum*, os resultados com os repelentes comerciais OFF!®, Repelex® e Expositis® corroboram a tendência observada nos ensaios anteriores. Notavelmente, o repelente da marca OFF!® novamente se destacou ao repelir um maior número de carrapatos quando comparado aos repelentes Repelex® e Expositis®. Este cenário, que reproduz condições de exposição mais próximas da realidade, reforça a consistência na eficácia do repelente à base de DEET, indicando sua capacidade de proteção efetiva mesmo em ambientes naturalmente infestados. A participação ativa dos voluntários, utilizando os produtos selecionados, contribuiu para uma avaliação mais contextualizada, agregando relevância prática aos resultados e destacando o potencial do repelente OFF!® como uma ferramenta eficaz na prevenção de picadas de carrapatos em ambientes reais e desafiadores. Esses achados têm implicações importantes na escolha de estratégias de proteção individual em áreas propensas à infestação por *Amblyomma sculptum*.

Também é importante ressaltar a respeito do uso de ninfas nos bioensaios realizados. A escolha deveu-se a algumas características específicas dessa fase do ciclo de vida dos carrapatos. O uso de ninfas nos testes justifica-se porque, no geral, elas têm um tamanho menor e uma cutícula menos espessa em comparação com os estágios adultos. Podendo torná-las mais sensíveis aos efeitos dos repelentes, permitindo uma avaliação mais sensível da eficiência desses produtos (74)(75).

Ademais, as ninfas são ativas na busca por hospedeiros para se alimentar, o que as torna mais propensas a entrar em contato com repelentes aplicados. A capacidade de evitar a fixação dessas ninfas é crucial para a eficiência prática dos repelentes (74)(75).

Outro aspecto importante para o uso de ninfas em testes de repelência contra carrapato é que fases imaturas desse ixodídeo, no caso das ninfas, podem ocasionar lesões nos locais de fixação em humanos, podendo causar reações alérgicas devido a inoculação de saliva durante a alimentação. Além disso, ao contrário dos estágios adultos, o tamanho reduzido das ninfas dificulta sua

localização e retirada do corpo, portanto é essencial o uso de produtos que repelem para evitar o contato e a transmissão de doenças (39).

Sobre a eficiência da repelência dos produtos testados contra as ninfas do *A. sculptum* verificou-se que os produtos à base de DEET obtiveram as melhores médias nos três bioensaios, destacando-se o OFF!®. Corroborando com os resultados positivos para produtos com esse princípio ativo tem-se o estudo de Luker et al. (76) que em bioensaio da ponta do dedo utilizando também produtos à base de DEET conseguiram 90% de repelência das ninfas de carrapatos, demonstrando que o produto tem potencial para ser utilizado na prevenção da transmissão da bactéria *Rickettsia rickettsii* pela espécie *A. sculptum*.

Com relação ao tempo de duração do efeito de repelência dos produtos, Wong (77), em seu estudo, verificou que a eficiência dos repelentes diminui com o decorrer do tempo, mesmo que o efeito da base permaneça por um período considerável. Diferente do que foi verificado no presente estudo onde não foram identificadas diferenças na eficiência ao longo do tempo dos bioensaios, ou seja, o fator tempo não influenciou em nenhum dos testes realizados, não possuindo, portanto, significado estatístico.

Diante o exposto, o presente estudo vem preencher uma lacuna importante sobre a possibilidade de uso de repelentes comerciais contra *A. sculptum*; sendo que todos os repelentes de insetos avaliados no presente estudo repeliram os carrapatos significativamente ao serem comparados com o tratamento controle. Como todas as marcas testadas possuem registro na Anvisa, respeitando a resolução que dispõe sobre os requisitos técnicos para a concessão de registro de produtos cosméticos repelentes de insetos (72), é interessante que a demanda por um produto com rápido acesso para população e testado em laboratório contra *A. sculptum* possa viabilizar a ampliação da indicação desses repelentes não apenas para insetos, mas também para *A. sculptum*, e a partir de novos testes, também para outras espécies que possam parasitar o ser humano.

6. CONCLUSÕES

As conclusões deste estudo são bastante promissoras e relevantes para a saúde pública, especialmente em áreas endêmicas de Febre Maculosa Brasileira (FMB) onde o *Amblyomma sculptum* é prevalente. A pesquisa demonstrou que os repelentes à base de DEET, Icaridina e IR3535 apresentam eficiência na repelência desse carrapato, com destaque para os produtos comerciais OFF!®, Repelex® e Exposit®.

Os testes de bioensaio em papel filtro, bioensaio da ponta dos dedos e bioensaio de campo confirmaram a alta atividade repelente das formulações, com diferenças significativas, em relação ao grupo controle. Destaca-se o produto comercial OFF!® que alcançou 100% de repelência, nos bioensaios de campo.

A indicação do uso de OFF!® para a repelência de *Amblyomma sculptum* é respaldada pelos resultados, especialmente em áreas endêmicas de FMB. No entanto, é importante destacar que a efetividade dos repelentes pode ser influenciada por fatores como a concentração do produto, a frequência de aplicação e as características individuais do hospedeiro. Assim, recomenda-se a realização de estudos adicionais para avaliar esses fatores e considerar diferentes populações e ambientes.

Além da relevância para a repelência de *A. sculptum*, os resultados deste estudo podem incentivar a exploração da eficiência desses repelentes contra outras espécies de carrapatos que também parasitam seres humanos (*Amblyomma aureolatum* e *Amblyomma ovale*). A confirmação da eficiência desses produtos é crucial, dado o papel significativo que os carrapatos desempenham como vetores de doenças. Portanto, o uso adequado de repelentes pode ser uma medida eficaz para prevenir infestações e, conseqüentemente, reduzir a incidência de doenças transmitidas por carrapatos.

REFERÊNCIAS

- (1) Rodrigues AC, et al. The inoculation eschar of *Rickettsia parkeri* rickettsiosis in Brazil: Importance and cautions. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2023 Mar;14(2):102127. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102127>.
- (2) Brett ME, et al. US healthcare providers experience with Lyme and other tick-borne diseases. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2014 Jun;5(4):404-408. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.01.008>.
- (3) Socolovschi C, Mediannikov O, Raoult D, Parola P. The relationship between spotted fever group *Rickettsiae* and ixodid ticks. *Vet Res*. 2009;40(2).
- (4) Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde [recurso eletrônico]. 5. ed. rev. e atual. Brasília: Ministério da Saúde; 2022. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_5ed_rev_atual.pdf.
- (5) Brasil Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância e Ambiente. NOTA TÉCNICA No. 75/2023-CGZV/DEDT/SVSA/MS. Orientações da Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde às Secretarias Estaduais de Saúde para o período de sazonalidade da febre maculosa no Brasil e dá outros encaminhamentos. Diário Oficial da União, Brasília (DF); 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-maculosa/publicacoes/nota-tecnica-no-752023-cgzv-dedt-svsa-ms>.
- (6) Xiao Y, Beare PA, Best SM, Morens DM, Bloom ME, Taubenberger JK. Genetic sequencing of a 1944 Rocky Mountain spotted fever vaccine. *Sci Rep*. 2023;13(1):4687.
- (7) Moraes-Filho J. Febre maculosa brasileira. *Rev Educ Contin Med Vet Zootec CRMV-SP*. 2017;15(1):38-45. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.36440/recmvz.v15i1.36765>. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: [recurso eletrônico]. 1. ed. atual. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_1ed_atual.pdf.

- (8) Leite CB, Fernandes FF, Tamayo COC, Renk CB, Fernandes JDP, de Castro Matsuoka SM, et al. Febre Maculosa Brasileira no Distrito Federal: relato de infecção sintomática após uso de tratamento precoce. *Braz J Health Rev.* 2023;6(2):4541-4554. Disponível em: South Florida Publishing LLC. doi: <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv6n2-006>.
- (9) Ribeiro VLS, Weber MA, Fetzer LO, Vargas CRBD. Espécies e prevalência das infestações por carrapatos em cães de rua da cidade de Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciênc Rural.* 1997;27(2):285-289. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v27n2/a19v27n2.pdf>.
- (10) Angerami RN, Câmara M, Pacola MR, Rezende RC, Duarte RM, Nascimento EM, et al. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012;3(5-6):346-8. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877959X12000957>.
- (11) Paddock CD, Finley RW, Wright CS, Robinson HN, Schrodt BJ, Lane CC, et al. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain spotted fever. *Clin Infect Dis.* 2008;47(9):1188-96. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/592254>.
- (12) Teles JAA, Porto MLS. Febre maculosa, um cuidado que devemos reforçar. *Environ Smoke.* 2021;4(3):71-2. Disponível em: [10.32435/envsmoke.20214371-72](https://doi.org/10.32435/envsmoke.20214371-72).
- (13) Costa GA, Carvalho ALD, Teixeira DC. Febre maculosa: atualização. *Rev Med Minas Gerais.* 2016;26(Supl 6). Disponível em: [10.5935/2238-3182.20160059](https://doi.org/10.5935/2238-3182.20160059).
- (14) Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico 2019 [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2019 [acesso em dez 2020]. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/setembro/25/boletim-especial-21ago19-web.pdf>.
- (15) Martins MEP. Febre maculosa: revisão-atualização, situação brasileira e goiana. *Multi-Sci J.* 2016;1(5):15-23. Disponível em: [10.33837/msj.v1i5.192](https://doi.org/10.33837/msj.v1i5.192).
- (16) Donalisio MR, Souza CE, Angerami RN, Samy AM. Mapping Brazilian spotted fever: Linking etiological agent, vectors, and hosts. *Acta Trop.* 2020;207:105496.
- (17) Barros-Silva PMR, Pereira SVC, Fonseca LX, Maniglia FVP, de Oliveira SV, de Caldas EP. Febre maculosa: uma análise epidemiológica dos registros do sistema de vigilância do Brasil. *Scientia Plena.* 2014;10(4(a)).

- (18) Szabó MP, Pinter A, Labruna MB. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3:27. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00027>.
- (19) Brasil. Febre maculosa: saiba como evitar e tratar a doença transmitida por carrapato. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/outubro/febre-maculosa-saiba-como-evitar-e-tratar-a-doenca-transmitida-por-carrapato>.
- (20) Peñalver E, Arillo A, Delclòs X, Peris D, Grimaldi DA, Anderson SR, et al. Ticks parasitised feathered dinosaurs as revealed by Cretaceous amber assemblages. *Nat Commun.* 2017;8(1):1924.
- (21) Dantas-Torres F, Otranto D. Ixodid and Argasid ticks. In: Rezaei N, editor. *Encyclopedia of infection and immunity*. 1st ed. United States: Elsevier; 2022. p. 1049-63.
- (22) Labruna MB. Carrapatos. *A Hora Veterinária.* 2004;23(137):63-5.
- (23) Du CH, Sun Y, Xu RM, Shao Z. Description of *Haemaphysalis* (*Alloceraea*) *Kolonini* sp. nov., a new species in subgenus *Alloceraea* Schulze (Ixodidae: *Haemaphysalis*) in China. *Acta Parasitol.* 2018;63(4):678-91.
- (24) Kwak ML, Madden C, Wicker L. *Ixodes heathi* n. sp. (Acari: Ixodidae), a co-endangered tick from the critically endangered mountain pygmy possum (*Burramys parvus*), with notes on its biology and conservation. *Exp Appl Acarol.* 2018;76:413-9.
- (25) Dantas-Torres F. Species concepts: what about ticks?. *Trends Parasitol.* 2018;34(12):1017-26.
- (26) Dantas-Torres F, Martins TF, Muñoz-Leal S, Onofrio VC, Barros-Battesti DM. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019;10(6):101252.
- (27) Almeida RFC, et al. Importância dos carrapatos na transmissão da Febre Maculosa Brasileira [recurso eletrônico]. Brasília, DF: Embrapa; 2012. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/937949/1/DOC193.pdf>.
- (28) Black 4th WC, Piesman J. Phylogeny of hard-and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Proc Natl Acad Sci.* 1994;91(21):10034-8.

- (29) Nava S, Beati L, Labruna MB, Cáceres AG, Mangold AJ, Guglielmone AA. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). Ticks Tick Borne Dis. 2014;5(3):252-276. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.11.004>.
- (30) Bitencourth K, Voloch CM, Serra-Freire NM, Machado-Ferreira E, Amorim M, Gazêta GS. Analysis of *Amblyomma sculptum* haplotypes in an area endemic for Brazilian spotted fever. Med Vet Entomol. 2016;30(3):342-50.
- (31) RODRIGUES et al. Carrapato-estrela (*Amblyomma sculptum*): ecologia, biologia, controle e importância. Comunicado Técnico. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; 2015. Acesso em nov 2019. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/134963/1/COT132-Final.pdf>.
- (32) Labruna MB, Kasai N, Ferreira F, Faccini JL, Gennari SM. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. Vet Parasitol. 2002;105(1):65-77.
- (33) Oliveira PR, Borges LMF, Leite RC, Freitas CMV. Seasonal dynamics of the Cayenne tick, *Amblyomma cajennense* on horses in Brazil. Med Vet Entomol. 2003;17(4):412-416.
- (34) Guedes E, Leite RC. Dinâmica sazonal de estádios de vida livre de *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) numa área endêmica para febre maculosa, na região de Coronel Pacheco, Minas Gerais. Rev Bras Parasitol Vet. 2008;17(1):78-82.
- (35) Cabrera RR, Labruna MB. Influence of photoperiod and temperature on the larval behavioral diapause of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). J Med Entomol. 2009 Nov;46(6):1303-1309.
- (36) Guglielmone AA, Szabó MPJ, Martins JDS, Estrada-Peña A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. In: Estrada-Peña A, editor. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan; 2006. p. 115-138. Paulo, 115-138.

- (37) Travassos J, Vallejo-Freire A. Criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa. Mem Inst Butantan. 1944;18:145-235..
- (38) Sonenshine DE, Roe RM, editors. Biology of ticks volume 2. Vol. 2. Oxford University Press, USA; 2014.
- (39) Menezes KMF. Reconstrução tridimensional do lobo olfativo do carrapato *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae). Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Área de Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia; 2017.
- (40) Labruna MB. Ecology of rickettsia in South America. Ann N Y Acad Sci. 2009 Jun;1166(1):156-166.
- (41) BARROS-BATTESTI DM, ARZUA M, BECHARA GH. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Butantan. 2006.
- (42) Scoles GA, Ueti MW. *Amblyomma cajennense* is an intrastadial biological vector of *Theileria equi*. Parasit Vectors. 2013 Jan;6:1-9.
- (43) BRASIL. Febre maculosa: entenda a doença. 2010. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/febre-maculosa-entenda-a-doenca/>.
- (44) BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: volume 2. 1. ed. atual. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_volume_2.pdf
- (45) PEREZ CA et al. Protocolo de priorização de áreas para prevenir a ocorrência da febre maculosa brasileira [Recurso eletrônico]. Piracicaba: FEALQ; 2023. 44 p. Acesso em 17 fev 2024. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/7773077/mod_resource/content/0/protocolo-febre-maculosa-digital-1.pdf..
- (46) Fiol FDS, Junqueira FM, Rocha MCP, Toledo MID, Barberato Filho S. A febre maculosa no Brasil. Rev Panam Salud Publica. 2010;27:461-466. Disponível em: 10.1590/S1020-49892010000600008.
- (47) Piesman J, Eisen L. Prevention of tick-borne diseases. Annu Rev Entomol. 2008;53:323-343.

- (48) Martins TF, Barbieri AR, Costa FB, Terassini FA, Camargo LM, Peterka CR, et al. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). *Parasit Vectors*. 2016;9:1-14. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1460-2> PMID:27036324.
- (49) Perez CA. História de sucesso no controle de *Amblyomma* sp. em área com ampla circulação de pessoas. In: Verrissimo CJ, organizador. Controle de carrapatos nas pastagens. 2ª ed. rev. e ampl. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia; 2015. p. 42-115.
- (50) Benelli G, Pavela R. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks—A systematic review. *Acta Trop*. 2018;179:47-54.
- (51) Miller RJ, George JE, Guerrero F, Carpenter L, Welch JB. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal army veterinary quarantine center, Panama. *J Med Entomol*. 2001 Mar-Apr;38(2):298-302..
- (52) Wall R. Ectoparasites: future challenges in a changing world. *Vet Parasitol*. 2007 May 15;148(1):62-74.
- (53) BARNARD DR. Global Collaboration for Development of Pesticides for Public Health (GCDPP) Repellents and Toxicants for Personal Protection, WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2000.5. Geneva: World Health Organization; 2000. Acesso em: 01 nov. 2018. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66666/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2000.5.pdf?sequence=1&isAllowed=y..
- (54) Miller JR, Siegert PY, Amimo FA, Walker ED. Designation of chemicals in terms of the locomotor responses they elicit from insects: an update of Dethier et al.(1960). *J Econ Entomol*. 2009 Dec;102(6):2056-2060.
- (55) Leal WS. The enigmatic reception of DEET—the gold standard of insect repellents. *Curr Opin Insect Sci*. 2014;6:93-98. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25530943/>.
- (56) Licciardi S, Hervé JP, Darriet F, Hougard JM, Corbel V. Lethal and behavioural effects of three synthetic repellents (DEET, IR3535 and KBR 3023) on *Aedes aegypti* mosquitoes in laboratory assays. *Med Vet Entomol*. 2006 Sep;20(3):288-293.
- (57) Vilela EF, Della Lucia TMC. Feromônios de insetos: (biologia, química e emprego no manejo de pragas). UFV, Impr. Univ.; 1987.

- (58) Sonenshine DE. Biology of ticks. vol. 1. New York: Oxford University Press; 1991. 447 p.
- (59) Fabbro S, Nazzi F. From Chemistry to Behavior. Molecular Structure and Bioactivity of Repellents against *Ixodes ricinus* Ticks. PLoS One. 2013;8(6):1-9.
- (60) Weldon PJ. Nuisance arthropods, nonhost odors, and vertebrate chemical aposematism. Naturwissenschaften. 2010 May;97(5):443-448.
- (61) Guerenstein P, Grenacher S, Vlimant M, Diehl PA, Steullet P, Syed Z. Chemosensory and behavioural adaptations of ectoparasitic arthropods. Nova Acta Leopoldina NF. 2000;83(316):213-229.
- (62) Pellegrino AC, Peñaflor MFGV, Nardi C, Bezner-Kerr W, Guglielmo CG, Bento JMS, McNeil JN. Weather forecasting by insects: modified sexual behaviour in response to atmospheric pressure changes. PLoS One. 2013 Oct;8(10).
- (63) Dethier VG, Browne BL, Smith CN. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. J Econ Entomol. 1960 Feb;53(1):134-136.
- (64) Davis EE. Insect repellents: concepts of their mode of action relative to potential sensory mechanisms in mosquitoes (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 1985 May;22(3):237-243.
- (65) Chou JT, Rossignol PA, Ayres JW. Evaluation of commercial insect repellents on human skin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 1997 Nov;34(6):624-630.
- (66) Nentwig G. Use of repellents as prophylactic agents. Parasitol Res. 2003;90(Suppl 2).
- (67) Curtis CF, Lines JD, Ijumba J, Callaghan A, Hill N, Karimzad MA. The relative efficacy of repellents against mosquito vectors of disease. Med Vet Entomol. 1987 Apr;1(2):109-119.
- (68) Seyoum A, Kabiru EW, Lwande W, Killeen GF, Hassanali A, Knols BG. Repellency of live potted plants against *Anopheles gambiae* from human baits in semi-field experimental huts. Am J Trop Med Hyg. 2002 Aug;67(2):191-195.
- (69) Fradin MS. Mosquitoes and mosquito repellents: a clinician's guide. Ann Intern Med. 1998 Jun 1;128(11):931-940.
- (70) Schreck CE. Techniques for the evaluation of insect repellents: a critical review. Annu Rev Entomol. 1977 Jan;22(1):101-119.
- (71) Brasil. ANVISA. Resolução - RDC nº 19, de 10 de abril de 2013. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a concessão de registro de produtos cosméticos

- repelentes de insetos e dá outras providências. Acesso em outubro de 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br>.
- (72) Borges LMF, Sousa LAD, Barbosa CDS. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Rev Bras Parasitol Vet. 2011;20:89-96.
- (73) Novato TPL, Araújo LX, de Monteiro CMO, Maturano R, Senra TDOS, da Silva Matos R, et al. Evaluation of the combined effect of thymol, carvacrol and (E)-cinnamaldehyde on *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) larvae. Vet Parasitol. 2015 Jun 15;212(3-4):331-335.
- (74) ROBERTS LS, JANOVY JRJ, SCHMIDT GD. Foundations of Parasitology. McGraw-Hill Education. 2009. Disponível em: https://deevesacb.wordpress.com/wp-content/uploads/2015/10/foundations_of_parasitology.pdf.
- (75) CARROLL JF, Hill DE. Techniques for evaluating repellents and deterrents. In Medical and x Entomology. 2011, p. 639-648. Academic Press.
- (76) Luker HA, Rodriguez S, Kandel Y, Vulcan J, Hansen IA. A novel Tick Carousel Assay for testing efficacy of repellents on *Amblyomma americanum* L. PeerJ. 2021;9.
- (77) Wong C, Crystal K, Coats J. Three molecules found in rosemary or nutmeg essential oils repel ticks (*Dermacentor variabilis*) more effectively than DEET in a no-human assay. Pest Manag Sci. 2021 Mar;77(3):1348-1354.

ANEXOS

Manuscript Submission Overview

Types of Publications

Pathogens has no restrictions on the maximum length of manuscripts, provided that the text is concise and comprehensive. Full experimental details must be provided so that the results can be reproduced. Pathogens requires that authors publish all experimental controls and make full datasets available where possible (see the guidelines on Supplementary Materials and references to unpublished data).

Manuscripts submitted to Pathogens should neither be published previously nor be under consideration for publication in another journal. The main article types are listed below and a comprehensive list of article types can be found here—please note that not all article types are available for all disciplines.

Article: These are original research manuscripts. The work should report scientifically sound experiments and provide a substantial amount of new information. The article should include the most recent and relevant references in the field. The structure should include an Abstract, Keywords, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, and Conclusions (optional) sections.

Review: Reviews offer a comprehensive analysis of the existing literature within a field of study, identifying current gaps or problems. They should be critical and constructive and provide recommendations for future research. No new, unpublished data should be presented. The structure can include an Abstract, Keywords, Introduction, Relevant Sections, Discussion, Conclusions, and Future Directions.

A Scoping Review type can be submitted as a Review. The structure is similar to that of a review. Scoping reviews should strictly follow the PRISMA extension for scoping reviews checklist (<http://www.prisma-statement.org/Extensions/ScopingReviews?AspxAutoDetectCookieSupport=1>) and submit the checklist as non-published material during submission. Templates for the flow diagram can be downloaded from the PRISMA website and the diagram should be included in the main text. We strongly encourage authors to register their detailed protocols, before data extraction commences, in a public registry such as the Open Science Framework (<https://osf.io/>) or Inplasy (<https://inplasy.com/>). Authors must include a statement about following the PRISMA guidelines and registration information (if available) in the Methods section.

Certificado da revista

beatriz.rodrigues.barcelos@gmail.com My Profile (/user/edit) Logout Submit (/user/manuscripts/upload)

 (https://susy.mdpi.com) Journals (https://www.mdpi.com/about/journals/)

Topics (https://www.mdpi.com/topics) Information (https://www.mdpi.com/guidelines)

Author Services (https://www.mdpi.com/authors/english) Initiatives About (https://www.mdpi.com/about)

Manuscripts Invoices - 2710128

▼ User Menu 

- Home (/user/myprofile) Assigned Editor **Fiorella Zhao**
- Manage Accounts (/user/manage_accounts) Proofread Editor Send Proof Yes
- Change Password (/user/chgpwd) Journal Pathogens
- Edit Profile (/user/edit) Manuscript Status Website online
- Logout (/user/logout) Manuscript ID **pathogens-2710128**

▼ Submissions Menu 

- Submit Manuscript (/user/manuscripts/upload) Manuscript Title Do commercial insect repellents provide protection against the tick *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae)? (https://www.mdpi.com/2076-0817/13/1/9)
- Display Submitted Manuscripts (/user/manuscripts/status) manuscript.docx (/user/manuscripts/displayFile/7d2aaf194f6199bd16df7399bf7913b1)
- Display Co-Authored Manuscripts (/user/manuscripts/co-authored) manuscript.pdf (/user/manuscripts/displayFile/7d2aaf194f6199bd16df7399bf7913b1/final-format-manuscript)
- English Editing (/user/pre_english_article/status) manuscript-english.pdf (/user/english/displayFile/7d2aaf194f6199bd16df7399bf7913b1/manuscript-english-pdf)
- Discount Vouchers (/user/discount_voucher) Authors
- Invoices (/user/invoices)
- LaTeX Word Count (/user/get/latex_word_count)

▼ Reviewers 

	Ms.	Beatriz Rodrigues de Barcelos *	beatriz.rodrigues.barcelos@gmail.com	B	R	University of ...			
	Mrs.	Nathalia Gabriela Silva Santos Coelho	nathaliagsilvasc@gmail.com	B	R	Catholic Univ...			
	Mr.	Mayara Macedo Barrozo Santos	may_macedo_@hotmail.com	B	R	Federal Univ...			
	Mr.	Francisca Letícia Vale	leticiaadetecta@gmail.com	B	R	Federal Univ...			
	Mr.	Ana Lucia Coutinho Teixeira	luciacoutinho13@gmail.com	B	R	Federal Univ...			
	Mr.	Lainny Martins Pereira e Souza	lainnyjordana@gmail.com	B	R	Federal Univ...			
	Prof. Dr.	Viviane Zeringota	viviane_zeringota@ufg.br	B	R	Federal Univ...			



Reviews (/user/reviewer/status)	Prof. Caio Márcio de Oliveira Dr. Monteiro	caiosat@gmail.com	B R	Federal Univ...
Volunteer				
Preferences (/volunteer_reviewer_info/view)	Chesterton Mr. Ulysses Orlando Eugenio	chesterton.ucb@gmail.com	B R	Federal Instit...
	Prof. Marcos Takashi Dr. Obara *	marcos.obara@gmail.com	B R	University of ...
Section	Epidemiology of Infectious Diseases (https://www.mdpi.com/journal/pathogens/sections/epidemiology_of_infectious_diseases)			
Special Issue	Advances in Spotted Fever (https://www.mdpi.com/journal/pathogens/special_issues/spotted_fever)			
Author Contributions	Formal analysis, Beatriz Rodrigues de Barcelos, Chesterton Ulysses Orlando Eugenio and Marcos Takashi Obara; Investigation, Francisca Letícia Vale and Ana Lucia Coutinho Teixeira; Writing – original draft, Mayara Macedo Barrozo Santos and Lainny Martins Pereira e Souza; Writing – review & editing, Nathalia Gabriela Silva Santos Coelho and Marcos Takashi Obara; Supervision, Viviane Zeringota, Caio Márcio de Oliveira Monteiro and Marcos Takashi Obara; Funding acquisition, Marcos Takashi Obara.			
Coverletter	coverletter.v1.pdf (/user/manuscripts/displayFile/7d2aaf194f6199bd16df7399bf7913b1/coverletter)			
Number of Words	4720			
Submission Received	26 October 2023			
Submission Revision Date	27 November 2023			
Accepted	28 November 2023			
Published	21 December 2023			

 Total Amount: 2430 CHF - Paid Amount: 2430 CHF - Due Amount: 0 CHF			Support
Invoice-ID	Updated	Action	Invoice Amount
pathogens-2710128  (/user/manuscript/7d2aaf194f6199bd16df7399bf7913b1/show/invoice/2646623/pdf)	22 Dec 2023		2430.00 CHF



Autorização do CEP

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise do uso de repelentes contra carrapatos da espécie *Amblyomma sculptum* (ACARI: IXODIDAE) transmissores de febre maculosa

Pesquisador: CAIO MARCIO DE OLIVEIRA MONTEIRO

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 46564121.0.0000.5078

Instituição Proponente: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.955.565

Apresentação do Projeto:

A febre maculosa é adquirida pela picada do carrapato estrela (*Amblyomma sculptum*) infectado, podendo ser letal se não cuidado. No Brasil há escassez de informações a respeito da eficiência da repelência sobre o *A. sculptum*, portanto a realização dos experimentos tem como objetivo avaliar a repelência química de produtos à base dos compostos DEET, IR3535 e Icaridina utilizados contra o carrapato de forma a verificar a segurança dos produtos e estabelecendo os requisitos mínimos para o registro junto aos órgãos competentes. Para o experimento serão utilizados 6 (seis) repelentes comerciais com registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), sendo eles: OFF, Repelax, Jhonson, Henlau, Expositis e SBP; sendo dois de cada composto citado. Serão realizados três bioensaios para avaliação do comportamento dos carrapatos: Bioensaio do Papel filtro; Bioensaio da Ponta do Dedo e Teste de Campo. Sabendo-se da

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Hospital das Clínicas/UFG - 16º Andar - Edifício de Internação
Bairro: St. Leste Universitário **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3644-8933 **E-mail:** cepcufg@yahoo.com.br

Continuação do Parecer: 4.955.565

importância do carrapato-estrela (*A. sculptum*) para a saúde pública, torna-se essencial estudos sobre o uso de repelentes e a elaboração de requisitos mínimos que auxiliarão na elaboração de protocolos com vistas ao registro

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a repelência química de produtos comerciais à base de DEET, IR3535 e Icaridina contra *Amblyomma sculptum*

Objetivo Secundário:

- Testar a repelência de DEET, Icaridina e IR3535 por meio do bioensaio em papel filtro, bioensaio da ponta dos dedos e teste de campo, comparando as metodologias;
- Verificar o tempo de repelências das substâncias testadas;
- Estabelecer os requisitos mínimos para o registro dos produtos repelentes para *Amblyomma sculptum*

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Com relação às substâncias que serão utilizadas não há risco pois todas possuem liberação para uso humano pelo órgão competente (ANVISA) e os voluntários farão um teste de contato, como recomendado pelos fabricantes, com antecedência. Já com relação ao contato com carrapatos a equipe já é treinada e medidas para prevenção de parasitismo serão tomadas, sendo que em todos testes o uso de EPIs preconizados serão utilizados. No laboratório, ambiente controlado, a visualização e monitoramento das ninfas é mais fácil. E com relação ao teste de campo, todos voluntários irão vistoriar o corpo com frequência para evitar infestação por carrapatos. Caso algum

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Hospital das Clínicas/UFG - 16º Andar - Edifício de Internação

Bairro: St. Leste Universitário

CEP: 74.605-020

UF: GO

Município: GOIANIA

Telefone: (62)3644-8933

E-mail: cephcfg@yahoo.com.br

Continuação do Parecer: 4.955.565

voluntário durante os testes apresente qualquer sintoma de reação alérgica ou for parasitado por carrapatos, este será retirado do experimento e encaminhado imediatamente para o pronto socorro mais próximo ou para o laboratório para retirada dos ectoparasitos, respectivamente.

Benefícios:

No Brasil não há regulamentação pela ANVISA para o uso de repelentes contra carrapatos, assim torna-se essencial o presente estudo que irá garantir a ação preventiva da febre maculosa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há óbices éticos ao projeto de pesquisa avaliado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este Protocolo de Pesquisa foi APROVADO na sua totalidade, de acordo com as Resoluções 466/12 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Os aspectos que foram considerados para que esta decisão fosse tomada constam no parecer. A pesquisa poderá ser iniciada e toda e qualquer alteração no protocolo deverá ser comunicada ao CEP/HC/UFG, assim como relatórios semestrais e finais, notificação de eventos adversos e eventuais emendas ou modificações no protocolo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1726899.pdf	13/07/2021 13:36:14		Aceito
Outros	Respostas_pendencias_13_07_2021.docx	13/07/2021 13:36:00	VIVIANE ZERINGOTA RODRIGUES	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	tcle_13_07_2021.doc	13/07/2021 13:35:47	VIVIANE ZERINGOTA	Aceito

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Hospital das Clínicas/UFG - 16º Andar - Edifício de Internação

Bairro: St. Leste Universitário

CEP: 74.605-020

UF: GO **Município:** GOIANIA

Telefone: (62)3644-8933

E-mail: cepcufg@yahoo.com.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
GOIÁS - UFG



Continuação do Parecer: 4.955.565

Justificativa de Ausência	tcle_13_07_2021.doc	13/07/2021 13:35:47	RODRIGUES COTTA	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto.pdf	28/04/2021 14:29:43	VIVIANE ZERINGOTA RODRIGUES	Aceito
Outros	Termo_compromisso_28_04_2021.pdf	28/04/2021 14:25:30	VIVIANE ZERINGOTA RODRIGUES	Aceito
Outros	UFG.pdf	23/04/2021 16:12:16	VIVIANE ZERINGOTA RODRIGUES	Aceito
Declaração de concordância	Anuencia_UFU.pdf	22/04/2021 09:31:39	BEATRIZ RODRIGUES DE BARCELOS	Aceito
Outros	Parecer_CEUA_UFU.pdf	22/04/2021 09:28:41	BEATRIZ RODRIGUES DE BARCELOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_repelencia_finatec_opas.pdf	22/04/2021 09:27:35	BEATRIZ RODRIGUES DE BARCELOS	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 06 de Setembro de 2021

Assinado por:
JOSE MARIO COELHO MORAES
(Coordenador(a))

Endereço: 1ª Avenida s/nº - Hospital das Clínicas/UFG - 16º Andar - Edifício de Internação
Bairro: St. Leste Universitário **CEP:** 74.605-020
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3644-8933 **E-mail:** cephcfg@yahoo.com.br

Nota Técnica

Indicação para uso de repelentes contra carrapatos da espécie (*Amblyoma Sculptum*) (ACARI: IXODIDAE) transmissores de febre maculosa brasileira.

Para: Ministério da Saúde e Vigilâncias Sanitárias Brasileiras.

1. ASSUNTO

Após resultados de pesquisa de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências em Tecnologia em Saúde da Universidade de Brasília indica-se a atualizar a recomendação de uso de repelentes comerciais contra carrapatos da espécie (*Amblyoma Sculptum*) (ACARI: IXODIDAE) transmissores de febre maculosa brasileira.

2. ANÁLISE

2.1. A realização de estudos sobre a eficiência do uso de repelentes contra carrapatos causadores da febre maculosa brasileira é de extrema importância, considerando o impacto significativo da doença na saúde pública e a necessidade de medidas preventivas eficazes. Trata-se de uma enfermidade zoonótica grave, com alta letalidade em casos não tratados, representando um desafio significativo para a saúde no Brasil.

2.2. A doença é transmitida principalmente pelo carrapato *A. sculptum*, que possui uma distribuição geográfica ampla no Brasil e capacidade de adaptação nos diferentes ambientes. Assim, a capacidade do carrapato *A. sculptum* de transmitir patógenos justificam a necessidade de pesquisas voltadas para a avaliação da repelência química.

2.3. Os repelentes têm se mostrado ferramentas cruciais na prevenção de picadas de carrapatos e, conseqüentemente, na redução do risco de contrair doenças associadas a esses artrópodes. Estudos que avaliam a eficiência específica de diferentes tipos de repelentes contra carrapatos são fundamentais para orientar as estratégias de prevenção e proteção da população, fornecendo informações essenciais que orientam a escolha e o uso adequado desses agentes de proteção. Considerando a urgência em mitigar os riscos da Febre Maculosa Brasileira (FMB), investigações sobre

a eficiência específica de repelentes contra o carrapato transmissor tornam-se imperativas.

- 2.4.** Esses estudos podem fornecer dados valiosos para embasar políticas de saúde pública, direcionando a população quanto às práticas mais eficazes de prevenção. Dessa forma, a pesquisa nesse campo contribui não apenas para a compreensão dos mecanismos de proteção, mas também para a implementação de medidas mais efetivas no combate à febre maculosa brasileira.
- 2.5.** Compreender a eficiência dos repelentes contra carrapatos é fundamental, pois esses produtos podem ajudar a evitar as picadas do vetor, diminuindo assim o risco de transmissão de patógenos como a bactéria *Rickettsia rickettsii*, responsável pela FMB. Os repelentes atuam interferindo nos sistemas fisiológicos e bioquímicos do carrapato, induzindo uma resposta de repelência que afasta os aracnídeos do hospedeiro humano.
- 2.6.** É essencial que esses repelentes sejam testados e avaliados quanto à sua eficiência específica contra a espécie *A. sculptum* em estudos laboratoriais e de campo, verificando a eficiência em condições de uso real, bem como a efetividade desses produtos em repelir esse carrapato. Destaca-se que os estudos devem abranger diferentes formulações de repelentes, para determinar qual oferece a melhor proteção contra o carrapato estrela, bem como a duração da proteção oferecida.
- 2.7.** Nesse sentido, realizou-se pesquisa no Programa de Pós-Graduação em Ciências em Tecnologia em Saúde da Universidade de Brasília com o objetivo de avaliar a repelência química de repelentes à base de DEET, Icaridina e IR3535 utilizados contra o *Amblyomma sculptum*.
- 2.8.** Ademais, testaram a repelência de DEET, Icaridina e IR3535 por meio do bioensaio em papel filtro, bioensaio da ponta dos dedos e bioensaio de campo, e avaliaram a possibilidade de indicação do uso dos produtos avaliados para a repelência de *Amblyomma sculptum*.
- 2.9.** Para a realização dos testes de repelência, na pesquisa, foram utilizados seis repelentes comerciais líquidos com registro na ANVISA: repelentes à base de DEET das marcas OFF!® Family Company, e Repelex® (Reckitt Benckiser, São Paulo, São Paulo, Brasil); à base de Icaridina das marcas Exposis® e SBP® (Reckitt Benckiser, São Paulo, São Paulo, Brasil); e à base de IR3535 das marcas Johnsons® e Henlau®. Os registros na ANVISA dos repelentes utilizados são: 201920481 (OFF!), 203450001 (Repelex) 232520009 (Exposis), 203451022 (SBP), 200920551 (Johnsons) e 227430204 (Henlau).

- 2.10.** Foram utilizadas ninfas não alimentadas com idade de duas semanas a dois meses; e realizados três bioensaios para avaliação do comportamento dos carrapatos: bioensaio do papel filtro, bioensaio da ponta do dedo e bioensaio de campo.
- 2.11.** As conclusões deste estudo são bastante promissoras e relevantes para a saúde pública, especialmente em áreas endêmicas de FMB onde o *Amblyomma sculptum* é prevalente. A pesquisa demonstrou que os repelentes à base de DEET, Icaridina e IR3535 apresentam eficiência na repelência desse carrapato
- 2.12.** No bioensaio do papel filtro observou-se os seguintes percentuais de repelência: OFF!® – 97,08%; Repelex® – 95,42%, SBP® – 93,33%, Expositis® - 94,58, Henlau® – 75,42% e Johnson® – 76,25%. Verificou-se que a ordem de repelência dos produtos: OFF!® > Repelex® > Expositis® > SBP® > Johnson® > Henlau®.
- 2.13.** Para o bioensaio da ponta do dedo e de campo utilizaram-se os 3 (três) repelentes que apresentaram os melhores resultados no bioensaio de papel filtro a saber: OFF!® (DEET), Repelex® (DEET) e Expositis® (Icaridina).
- 2.14.** No bioensaio da ponta do dedo pode-se observar que as ninfas de *A. sculptum* foram fortemente repelidas pelo repelente OFF!®, ao longo das cinco horas de teste, ficando o percentual de repelência em 96,67%, contra 47,7% do Repelex® e 55,5% do Expositis®.
- 2.15.** No bioensaio de campo, não foi observada diferença significativa entre os repelentes Repelex®, Expositis® e OFF!®.
- 2.16.** Todos os repelentes testados demonstraram altos percentuais de repelência contra *A. sculptum*. O repelente OFF!® apresentou o melhor percentual de repelência (100%), seguido pelo Repelex® (96,8%) e Expositis® (93,1%), ao longo das duas horas do teste.

3. CONCLUSÃO

- 3.1.** A pesquisa demonstrou que os repelentes à base de DEET, Icaridina e IR3535 apresentam eficiência na repelência desse carrapato, com destaque para os produtos comerciais OFF!®, Repelex® e Expositis®.
- 3.2.** Os testes de bioensaio em papel filtro, bioensaio da ponta dos dedos e bioensaio de campo confirmaram a alta atividade repelente das

formulações, com diferenças significativas, em relação ao grupo controle. Destaca-se o produto comercial OFF!® que alcançou 100% de repelência, nos bioensaios de campo.

- 3.3.** A indicação do uso repelente contra a picada de *Amblyomma sculptum* é respaldada pelos resultados, especialmente em áreas endêmicas de FMB. No entanto, é importante destacar que a efetividade dos repelentes pode ser influenciada por fatores como a concentração do produto, a frequência de aplicação e as características individuais do hospedeiro.
- 3.4.** Além da relevância para a repelência de *A. sculptum*, os resultados deste estudo podem incentivar a exploração da eficiência desses repelentes contra outras espécies de carrapatos que também parasitam seres humanos. A confirmação da eficiência desses produtos é crucial, dado o papel significativo que os carrapatos desempenham como vetores de doenças.
- 3.5.** Portanto, a indicação do uso de repelentes comerciais pode ser uma medida eficaz para prevenir infestações e, conseqüentemente, reduzir a incidência de doenças transmitidas por carrapatos, especialmente a Febre Maculosa Brasileira.

BEATRIZ RODRIGUES DE BARCELOS

Programa de Pós-Graduação em Ciências em Tecnologia em Saúde

Universidade de Brasília



MIRE NA PREVENÇÃO DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA

A febre maculosa brasileira é uma doença infecciosa grave com elevada taxa de letalidade. É causada por uma bactéria do gênero *Rickettsia*, transmitida pela picada do carrapato estrela.

Para mais informações

Barcelos, B.R.; Coelho, N.G.S.S.; Santos, M.M.B.; Vale, F.L.; Teixeira, A.L.C.; Pereira e Souza, L.M.; Zeringóta, V.; de Oliveira Monteiro, C.M.; Eugenio, C.U.O.; Obara, M.T. Do Commercial Insect Repellents Provide Protection against the Tick *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae)? *Pathogens* 2024, 13, 9. <https://doi.org/10.3390/pathogens13010009>

- ✓ Aplicação de repelentes a base de DEET
- ✓ Use roupas protetoras
- ✓ inspecione o corpo após atividades ao ar livre
- ✓ evite áreas conhecidas por infestação de carrapatos

