

Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia
Curso de Especialização em Diagnóstico e Controle Microbiológico

Leandro Lansiquot Mendes

**Eficácia do uso de fungos entomopatogênicos no controle de artrópodes
ectoparasitas vetores de agentes infecciosos para humanos**

Belo Horizonte – MG

2019

Leandro Lansiquot Mendes

Eficácia do uso de fungos entomopatogênicos no controle de artrópodes ectoparasitas vetores de agentes infecciosos para humanos

Versão final

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Diagnóstico e Controle Microbiológico do Departamento de Microbiologia/ICB da UFMG, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

Orientadora: Prof. Dr^a. Iara Furtado Santiago

Belo Horizonte – MG

2019

043

Mendes, Leandro Lansiquot.

Eficácia do uso de fungos entomopatogênicos no controle de artrópodes ectoparasitas vetores de agentes infecciosos para humanos [manuscrito] / Leandro Lansiquot Mendes. – 2019.

49 f. : il. ; 29,5 cm.

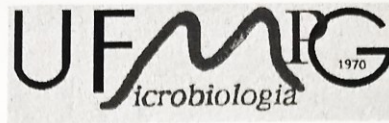
Orientadora: Prof. Dr^a. Iara Furtado Santiago.

Monografia apresentada ao Curso de Especialização em Diagnóstico e Controle Microbiológico do Departamento de Microbiologia/ICB da UFMG, como requisito obrigatório para a obtenção do título de Especialista em Microbiologia.

1. Microbiologia. 2. Fungos - patogenicidade. 3. Insetos. 4. Artrópodes. 5. Controle de Vetores. I. Santiago, Iara Furtado. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 579

UFMG



**Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia**

Às 09:30 horas do dia 03 de março de 2020 reuniu-se, no Instituto de Ciências Biológicas da UFMG a Banca Debatedora constituída pelo Msc. Ana Raquel de Oliveira Santos (Departamento de Microbiologia/ICB/UFMG), Dra. Carlos Emmanuel Montandon (Departamento de Genética/ICB/UFMG) e a Dra. Iara Furtado Santiago - Orientadora, para avaliar a Monografia intitulada " Eficácia do uso de fungos entomopatogênicos no controle de artrópodes ectoparasitas vetores de agentes infecciosos para humanos", do aluno Leandro Lansiquot Mendes. Após a apresentação oral pública seguida de uma arguição, o aluno foi APROVADO, considerando as sugestões feitas pela Banca Debatedora. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata, que será assinada pelos membros da Banca. Belo Horizonte, 03 de março de 2020.

Msc. Ana Raquel de Oliveira Santos Ana Raquel de Oliveira Santos

Dr. Carlos Emmanuel Montandon Carlos E. Montandon

Dra. Iara Furtado Santiago - Orientadora Iara Furtado Santiago

Susana Johann

Profa. Susana Johann

Coordenadora do Curso de Especialização em Microbiologia
ICB/UFMG

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elizabeth Mary e Antônio Cícero, que sempre acreditaram em mim e apoiaram as minhas escolhas.

Aos professores da Especialização, que colaboraram com minha formação.

À minha orientadora, Professora Doutora Iara Furtado Santiago, por me auxiliar, criticar, sugerir e guiar durante a elaboração dessa Monografia.

Às minhas colegas de classe, que me arrancaram alguns sorrisos em dias árdusos, em especial a Aryana e Stella por serem integrantes do meu trio para trabalhos e relatórios e, a Amanda, por sempre realizar atividades em duplas comigo.

Por fim, à minha namorada, Edileuza, que me encontrou todos os finais de semana na UFMG, após as aulas, até mesmo em dias de chuva forte.

“Eu não quero acreditar. Eu quero saber.”

(Carl Sagan)

RESUMO

O reino Fungi é composto por micro-organismos eucariotos unicelulares, como as leveduras, ou multicelulares, como os fungos filamentosos. As relações e interações entre estes micro-organismos e outros seres vivos são diversas, podendo estas serem benéficas, neutras ou prejudiciais. Dentre as interações prejudiciais, podemos destacar os fungos que causam enfermidades em insetos; estes classificados como entomopatogênicos. As infecções causadas por fungos entomopatogênicos variam conforme o organismo infectado, ocorrendo principalmente através do tegumento ou trato digestivo. O controle de alguns artrópodes ectoparasitas como pulgas, piolhos, ácaros e carrapatos são de grande interesse na saúde pública, devido a capacidade destes organismos atuarem como vetores de diversos agentes infecciosos. No Brasil o controle destes ectoparasitas por meio da produção de micopesticidas, iniciou no ano de 1970. Os biopesticidas, micoinseticidas e micoacaricidas podem ser produzidos utilizando propágulos de fungos entomopatogênicos, visando controlar a proliferação de insetos (micoinseticidas) e ácaros e/ou carrapatos (micoacaricidas). Atualmente os micopesticidas são utilizados na agricultura, mas são pouco explorados como um meio de controle de artrópodes ectoparasitas. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é contribuir para o conhecimento, divulgação e, com isso, utilização de fungos entomopatogênicos no controle de artrópodes ectoparasitas vetores de agentes infecciosos para humanos. Para isto, foi realizada uma revisão bibliográfica em várias bases de dados a respeito dos fungos entomopatogênicos.

Palavras-chave: Fungos Entomopatogênicos, Artrópodes Ectoparasitas, Vetores de Agentes Infecciosos, Micopesticidas

ABSTRACT

The kingdom fungi is composed of unicellular eukaryotes microorganisms, like the yeasts, or multicellular, such as filamentous fungi. The relations and interactions between these microorganisms and other living beings are diverse, they can be beneficial, neutral or harmful. In the harmful interactions, we can highlight the fungi that causes diseases in insects; these are classified as entomopathogenics. The infections caused by entomopathogenic fungi can vary on the infected organism, primarily occurring through the integument or digestive tract. The control of some arthropods ectoparasites such as fleas, lice, mites and ticks are of great interest of public health, due to the capacity of these organisms to act as vectors of various infectious agents. In Brazil the control of these ectoparasites through the production of mycopesticides, started in the year 1970. The biopesticides, mycoinsecticides and mycoacaricides can be produced utilizing propagules of entomopathogenic fungi, aiming to control the proliferation of insects (mycoinsecticides) and mites and/or ticks (mycoacaricides). Currently the mycopesticides are being used in agriculture, but are not well explored as a means to control the arthropods ectoparasites. In this context, the objective of this essay is to contribute to the knowledge, disclosure and, with that, the use of entomopathogenic fungi on the control of arthropods ectoparasites vectors of infectious agents to humans. To this end, a bibliographic review was fulfilled on various databases about entomopathogenic fungi.

Keywords: Entomopathogenic Fungi, Arthropod Ectoparasites, Infectious Agents Vectors, Mycopesticides

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Processo de infecção dos fungos entomopatogênicos.	23
Figura 2 – Exemplar de <i>C. canis</i> infectado por <i>B. bassiana</i>	26
Figura 3 – Eletromicrografia dos conídios de <i>M. anisopliae</i> (A) e de <i>B. bassiana</i> (B) aderidos à cutícula. Formação de tubo germinativo nos conídios de <i>M. anisopliae</i> (C) e <i>B. bassiana</i> (D).	27
Figura 4 – Eletromicrografia das hifas em ramificação de <i>M. anisopliae</i> (E) e <i>B. bassiana</i> (F), e formação de colônias de <i>M. anisopliae</i> (G) e <i>B. bassiana</i> (H).	27
Figura 5 – Taxa de mortalidade dos percevejos e mosquito após o 5º dia de tratamento.....	33
Figura 6 – Número de atos agonísticos durante o reconhecimento de abelhas forrageiras.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Média de <i>Hypothenemus hampei</i> infectados por <i>B. bassiana</i>	14
Tabela 2 – LT_{50} dos insetos <i>A. gambiae</i> s. s. e <i>C. quinquefasciatus</i> , após a exposição à <i>M. anisopliae</i>	15
Tabela 3 – Tipos de micopesticidas e suas características.	19
Tabela 4 – Taxa de mortalidade de <i>C. felis</i> após 48 horas da aplicação dos conídios.	28
Tabela 5 – Mortalidade (%) de <i>A. Americanum</i> e <i>D. variabilis</i> após 02 e 05 semanas pós exposição.....	30
Tabela 6 – Porcentagem de controle de <i>R. sanguineus</i> expostos à diversas formulações.	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo geral.....	11
2.2 Objetivos específicos	11
3. METODOLOGIA	12
4. REVIÃO DA LITERATURA	13
4.1 Fungos.....	13
4.1.1 Fungos Entomopatogênicos	14
4.2 Micopesticidas	17
4.3 Artrópodes	20
4.3.1 Pulgas.....	20
4.3.2 Piolhos.....	21
4.3.3 Ácaros e Carrapatos	21
4.4 Mecanismo de Ação dos Fungos Entomopatogênicos.....	22
4.5 Susceptibilidade dos Artrópodes Ectoparasitas à Fungos Entomopatogênicos	25
4.6 Efeito em Organismos Não Alvo	32
5. CONCLUSÃO	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1. INTRODUÇÃO

Insetos, como pulgas e piolhos, e acarídeos, como ácaros e carrapatos, são animais ectoparasitas. Eles vivem na superfície (pele e pelos) ou na área subcutânea de seus hospedeiros, sendo estes animais selvagens e domésticos, incluindo os seres humanos. Muitos desses ectoparasitas são hematófagos, e desta forma acabam se tornando transmissores de agentes patogênicos para seus hospedeiros (WALL, 2007).

Segundo diversos autores, as populações de baixa renda são as mais susceptíveis de serem infectadas por piolhos (HEUKELBACK; OLIVEIRA; FELDMEIER, 2003; GABANI; MAEBARA; FERRARI, 2010). No Brasil este fato é alarmante, pois o controle desse ectoparasita é negligenciado, sendo as crianças o grupo da população maior vulnerabilidade aos piolhos (SILVA, 2015). Os piolhos são vetores para as bactérias *Rickettsia prowazekii*, agente etiológico do tifo epidêmico; *Bartonella quintana*, que causa a febre das trincheiras; e *Borrelia recurrentis*, agente causador da febre recorrente (INSA, 2014).

Mamíferos como roedores, cães e gatos podem ser hospedeiros de pulgas (insetos da ordem *Siphonaptera*), sendo este ectoparasita, através de sua picada, o principal transmissor da peste. Esta doença tem grande interesse para saúde pública, visto que as bactérias da espécie *Yersinia pestis* é o agente causador dessa patologia, as quais podem infectar não só os roedores, cães e gatos, mas também outros mamíferos, incluindo o homem (BRASIL, 2008).

Outra enfermidade transmitida por ectoparasitas hematófagos é a Febre Maculosa Brasileira, chamada assim quando ocorre no Brasil, e é causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, que ocorre com maior frequência na região sudeste do Brasil (BRASIL, 2019a), e condiz com a presença do ectoparasita na localidade (FIOL, 2010). O Ministério da Saúde demonstrou que entre os anos de 2000 e 2016, foram registrados 1715 casos de febre maculosa no Brasil, e cerca de 1/3 desses casos evoluíram à óbito (BRASIL, 2019a; BRASIL, 2019b). A transmissão da bactéria causadora da febre maculosa, ocorre através da picada dos carrapatos *Amblyomma sculptum*, que são aracnídeos, hematófagos e ectoparasitas de diversos mamíferos silvestres, como as capivaras, e animais domésticos (NASSER, 2015; ARAUJO; NAVARRO; CARDOSO, 2016).

A utilização de pesticidas visa controlar ou extinguir as populações de artrópodes. A eficiência dos pesticidas utilizados está em atingir vias bioquímicas e metabólicas desses ectoparasitas. Como a variabilidade de pesticidas é ampla, seu destino final no meio ambiente depende de suas características químicas (SPADOTTO & SPADOTTO, 2015).

Há quase dois séculos os fungos são descritos como organismos potencialmente aptos a infectar insetos. A utilização desses micro-organismos como biopesticida, favorece questões de saúde pública e ambiental, não só porque apresentam resultados positivos no combate à diversas espécies de insetos, mas também pela diminuição do uso de pesticidas químicos (MESSIAS, 1989).

Em experimentos controlados, foi possível observar que carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* se mostraram susceptíveis à infecção por fungos *Metarhizium anisopliae* (GARCIA; MONTEIRO; SZABÓ, 2004). Isolados de *M. anisopliae* também tem se mostrado eficiente contra pulgas da espécie *Ctenocephalides felis* em ensaios *in vitro* (MELO et al., 2007).

Desta maneira, a busca por fungos entomopatogênicos torna-se uma excelente alternativa para o controle de populações de artrópodes, já que a não utilização ou até mesmo a redução do uso de defensivos químicos, tem impacto positivo no meio ambiente.

O presente trabalho visa fazer um levantamento bibliográfico sobre a eficiência do uso de fungos entomopatogênicos no controle de artrópodes ectoparasitas vetores de agentes infecciosos para humanos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Revisar na literatura os efeitos dos fungos entomopatogênicos em artrópodes ectoparasitas que são vetores de agentes infecciosos para humanos.

2.2 Objetivos específicos

- Discorrer sobre os fungos entomopatogênicos;
- Relatar os principais artrópodes transmissores de agentes infecciosos para humanos;
- Descrever mecanismo de ação dos fungos entomopatogênicos;
- Discorrer sobre a susceptibilidade de artrópodes ectoparasitas à fungos entomopatogênicos.

3. METODOLOGIA

Para produzir esta revisão foram realizados levantamentos de artigos científicos nacionais e internacionais, nas bases de dados Portal CAPES, SCIELO, PubMed, Science Direct, Google Acadêmico e Embrapa.

Foram priorizados artigos, livros e manuais com menos de dez anos de publicação, e alguns artigos anteriores a esse período relevantes ao tema abordado.

As buscas foram realizadas utilizando os termos: entomopathogenic fungi, fungos entomopatogênicos, arthropod ectoparasites, artrópodes ectoparasitas, vetores de agentes infecciosos, micopesticidas, micoacaricidas.

4. REVIÃO DA LITERATURA

4.1 Fungos

Fungos são organismos que possuem parede celular de quitina e glicano, diferentes das células bacterianas e dos vegetais, que são constituídas de peptidoglicano ou celulose respectivamente (WARREN, 2011; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014). Eles são micro-organismos heterotróficos (absorvem o alimento), e a maioria de suas espécies são aeróbicas, com apenas alguns representantes anaeróbicos facultativos, como as leveduras, que podem causar infecções no trato geniturinário (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014).

Os fungos podem se apresentar em duas morfologias, leveduriforme (unicelular) e filamentosa (hifas), porém, alguns fungos são dimórficos, ou seja, podem adotar ambas as formas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012; MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014). Santos et al. (2012) descreve que essa alteração da morfologia está ligada à virulência do micro-organismo, uma vez que a composição da parede celular, as moléculas antigênicas e a expressão de fatores de virulência variam entre os dois morfotipos.

O principal fator que atua na mudança de morfologia dos fungos dimórficos é a temperatura (GAUTHIER, 2015). Todavia, há descrito que o fungo entomopatogênico *Isaria fumosorosea* apresenta mudança em sua morfologia quando os níveis de oxigênio são alterados. Jackson (2011) investigou o crescimento dimórfico de *I. fumosorosea* em culturas submersas, identificando que o fungo apresenta um aumento no crescimento de suas hifas em baixas concentrações de oxigênio (<3%) e, permanecem leveduriformes em concentração acima de 10%, em culturas com 2 dias de idade.

Embora o dimorfismo dos fungos possa ser mediado principalmente pela temperatura, fatores como feromônios, nutrição e hemolinfa dos insetos também são motivadores para a variação morfológica (GAUTHIER, 2015). Em experimentos realizados por Boucias et al. (2016), foi apontado que o dimorfismo do fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi* é regulado por uma molécula com detecção de quórum (QSM) não fúngica, portanto, é sugerido que a transição de fragmentos de

hifas para micélio, do fungo mencionado, se dê por sinais químicos gerados pelos tecidos do inseto infectado.

4.1.1 Fungos Entomopatogênicos

Diversos organismos, como bactérias, fungos, nematódeos, protozoários e vírus, podem causar enfermidades em insetos, e são classificados como entomopatogênicos. A forma de infecção varia conforme o organismo, podendo ser através do trato digestivo ou pelo tegumento (BADII & ABREU, 2006).

A maior diversidade de fungos entomopatogênicos está classificada em dois táxons, na ordem *Hypocreales*, do filo *Ascomycota*, e no filo *Entomophthoromycota*. Esses fungos são responsáveis por causar epizootias, disseminação de doenças entre animais não humanos, em populações de insetos e aracnídeos, atuando na regulação desses indivíduos no ambiente (BARA & LAING, 2019).

A espécie *Beauveria bassiana* é representante de fungos entomopatogênicos, sendo descrita como ubíqua, e há relatos deles presentes no solo e no interior de plantas, como um organismo endofítico. São saprofíticos e parasitam diversas espécies de artrópodes, podendo infectar até 700 espécies de insetos (BARA & LAING, 2019). Monzón, Guharay e Klingen (2008), observaram a ocorrência natural de *B. bassiana* em populações de *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae), ao analisar três fazendas sem pulverização prévia, na Nicarágua, durante os meses de julho a novembro de 2004 e julho a dezembro de 2005. Os autores não identificaram diferenças significativas nas taxas de infecção entre as fazendas, entretanto, a média de infecção foi de $2,7\% \pm 3,8\%$ no ano de 2004 e $12,1\% \pm 11,6\%$ no ano de 2005 (Tabela 1). Demonstrando um aumento no número de insetos infectados.

Tabela 1 – Média de *Hypothenemus hampei* infectados por *B. bassiana*.

Fazendas	Nível de infestação (%)	
	Média em 2004	Média em 2005
Fazenda 1	2,3 ± 4,2 (n= 482)	13,7 ± 13,4 (n= 573)
Fazenda 2	2,2 ± 3,2 (n= 510)	15,0 ± 12,5 (n= 456)
Fazenda 3	3,7 ± 4,3 (n= 470)	7,6 ± 7,7 (n= 669)
Média	2,7 ± 3,8	12,1 ± 11,6

Fonte: Adaptado de Monzón, Guharay e Klingen (2008).

Já Alves et al. (2015) demonstraram que a aplicação no solo de aviário, de *B. bassiana*, formulado em dispersão de óleo, em concentração de $4,2 \times 10^9$ conídios/m², foi eficaz no controle de *Alphitobius Diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae), reduzindo aquela população em 56% e 73%, após 96 e 146 dias, respectivamente, após a aplicação.

Outros representantes de micro-organismos entomopatogênicos, porém saprofíticos, são os fungos do gênero *Metarhizium*, eles já foram encontrados na rizosfera das plantas, em cadáveres de artrópodes (SCHRANK & VAINSTEIN, 2010) e no solo, além de parasitar um amplo espectro de artrópodes (BISCHOFF; REHNER; HUMBER, 2009; SCHRANK; VAINSTEIN, 2010). Scholte et al. (2003) investigaram, *in vitro*, o potencial de infecção de *Metarhizium anisopliae* contra mosquitos adultos das espécies *Anopheles gambiae sensu stricto* (Diptera: Culicidae) e *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae), respectivamente, vetores dos agentes etiológicos da Malária e Filariose. Neste estudo, eles demonstraram que os indivíduos infectados pelo fungo apresentaram um tempo letal médio (LT₅₀) significativamente menor do que os indivíduos do grupo não tratado, como por exemplo, o macho de *C. quinquefasciatus*, em tratamento contínuo, reduzindo seu LT₅₀ de 18 para 3,24 dias (Tabela 2).

Tabela 2 – LT₅₀ dos insetos *A. gambiae s. s.* e *C. quinquefasciatus*, após a exposição à *M. anisopliae*.

Espécies	Tempo de exposição	Sexo	LT ₅₀ ± SE (dias)		p-value
			Controle	Tratados	
<i>A. gambiae s.s.</i>	contínuo	fêmea	11,00 ± 0,58	5,08 ± 1,61	0,03
	contínuo	macho	7,65 ± 1,60	3,75 ± 0,29	0,042
	48 hrs	fêmea	10,31 ± 1,30	3,80 ± 0,25	0,076
	48 hrs	macho	11,66 ± 4,28	3,15 ± 0,37	0,125
	24 hrs	fêmea	8,87 ± 1,32	3,39 ± 0,28	0,01
	24 hrs	macho	11,68 ± 1,16	3,29 ± 0,59	0,048
<i>C. quinquefasciatus</i>	contínuo	fêmea	13,33 ± 2,91	3,88 ± 0,19	0,01
	contínuo	macho	18,00 ± 1,00	3,24 ± 0,23	0,01

Fonte: Adaptado de Scholte et al. (2003).

Resultados semelhantes foram observados por Bilal, Hassan e Khan (2012) em seus estudos, avaliaram a eficácia do fungo *M. anisopliae* contra larvas de *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), um vetor para o vírus da dengue, e os resultados indicaram que 50% dos indivíduos dos tratamentos com o fungo morreram após 45 horas.

Com mais de 50 espécies descritas (ZHANG; ZHANG; LI, 2019), o gênero *Sporothrix* possui algumas espécies que podem infectar humanos (*Sporothrix schenckii*, *Sporothrix globosa*, *Sporothrix brasilienses*), causando a Esporotricose (QUEIROZ-TELLES; BUCCHERI; BENARD, 2019). No entanto, apenas uma espécie é descrita como entomopatogênica, o *Sporothrix insectorum*, que é inócua aos humanos (ZHANG; ZHANG; LI, 2019) e utilizado no controle de mosca-da-renda, além de poder ser misturado à outras formulações de micopesticidas (BETTIOL, 2003). Alves et al. (2003) verificou que o formulado em óleo emulsionável de *S. insectorum* é eficiente contra a mosca-da-renda, *Leptopharsa heveae* Drake & Poor (Hemiptera: Tingidae), um inseto praga de seringais. Em bioensaios executados por Silva et al. (2012), diferentes espécies de fungos entomopatogênicos foram utilizados no controle de *L. heveae* (Hemiptera: Tingidae). O autor considerou que os isolados de fungos seriam eficientes se atingissem taxas de mortalidade acima de 80% até o sexto dia após a aplicação da suspensão fúngica, porém, dos sete isolados de *S. insectorum* utilizados no estudo, apenas um, o *S. insectorum* 1225, demonstrou mortalidade superior à taxa proposta pelo autor, no entanto, o isolado *S. insectorum* 1226 demonstrou exatamente 80% de mortalidade. Os demais isolados de *S. insectorum* apresentaram taxas de mortalidade abaixo de 60% até o sexto dia após a aplicação.

As epizootias causadas pelos fungos entomopatogênicos podem ser limitadas por fatores como a temperatura e umidade, sendo a temperatura o elemento mais significativo. A umidade presente em folhas e no tegumento dos insetos já propiciam a germinação e infecção dos fungos no hospedeiro (MASCARIN; PAULI, 2010).

Uma vez que os fungos entomopatogênicos podem ser usados como uma alternativa aos pesticidas químicos, surge a necessidade de regulamentar a produção e uso desses agentes.

4.2 Micopesticidas

No Brasil, o uso e produção de agrotóxico é regulamentado pela Lei 7.802 de 1989, e para efeitos de aplicação da lei considera-se agrotóxicos os produtos e os agentes de processos físicos, químicos e biológicos destinados à preservação da flora ou fauna contra a ação danosa de seres vivos nocivos (BRASIL, 1989).

As Instruções Normativas Conjuntas (INC) nº 2 e 3, ambas do ano de 2006, e atualizadas pela INC nº 3 de 2014, estabelecem quais procedimentos deverão ser adotados para o registro de agentes microbiológicos que são empregados no controle populações de seres vivos nocivos (BRASIL, 2006a; BRASIL, 2006b; BRASIL, 2014).

Segundo Silva et al. (2014), além das observações legais que devem ser seguidas na produção dos micopesticidas, deve-se levar em consideração as condições ambientais do local onde será aplicado o produto, pois a temperatura, umidade, radiação solar influenciam na ação dos fungos.

As formulações de micopesticidas são compostas essencialmente por dois tipos de componentes, os propágulos do fungo e adjuvantes. Os propágulos são partes vivas (hifas e/ou conídios) dos fungos e que tem a função de causar a infecção no organismo hospedeiro, já os adjuvantes, são substâncias que visam melhorar a efetividade das formulações, deixando-as estáveis, manuseáveis, resistente à ambientes adversos, garantindo a segurança do usuário e a permanência no ambiente (FILHO, 2009).

Os micoinseticidas e micoacaricidas são biopesticidas que visam controlar a proliferação de insetos (micoinseticidas) e ácaros e/ou carrapatos (micoacaricidas). A produção desse tipo de formulação no Brasil se iniciou nos anos de 1970, com o uso de fungos do gênero *Metarhizium*, para o controle de *Mahanarva posticata* Stål (Hemiptera: Cercopidae), uma praga de culturas de cana-de-açúcar (FILHO, 2009). No Brasil, utiliza-se comumente formulações à base de fungos dos gêneros *Beauveria*, *Metarhizium* e *Sporothrix* para a produção de micopesticidas (ALVES & FARIA, 2010).

As denominações e códigos das formulações de agrotóxicos são definidas pela NBR 12697/2004 (ABNT, 2004). Deste modo, as formulações de micopesticidas são classificadas em pó molhável (WP), iscas (RB), grânulos (GR), grânulos dispersáveis em água (WG), pó de contato (CP), suspensão concentrada (SC), suspensão

concentrada miscível em óleo (OF), dispersão de óleo (OD) e suspensão de volume ultrabaixo (SU) (FARIA; WRAIGHT, 2007) (Tabela 3).

Até o ano de 2010, foram desenvolvidos 171 micopesticidas no mundo, dos quais, a maioria utilizava as espécies *Beauveria bassiana* (33%) e *Metarhizium anisopliae* (32%), seguidos de *Leacanicillium* (14%), *Nomuraea rileyi* (6%), *Sporothrix insectorum* (3%), *Isaria fumosorosea* (3%), *Entomophthora virulenta* (3%) e outras espécies que somam os 6% restantes (MASCARIN; PAULI, 2010). No Brasil, desde o ano de 2005, foram registrados 89 micopesticidas, sendo que 39% deles tem como ativo biológico o fungo *M. anisopliae*, seguido do *B. bassiana*, representando 29% da produção (ABCBIO, 2019).

Tabela 3 – Tipos de micopesticidas e suas características.

Tipos de formulações	Códigos	Descrição	Dispersante	Referências
Pó molhável	WP	Formulação sólida, em pó e que deve ser mantida em agitação no tanque de diluição.	Água	(BRASIL, 2003; FILHO; FARIA; WRAIGHT, 2007).
Iscas	RB	Formulação visa atrair o artrópode alvo, a fim de ser consumida pelo mesmo.	Pronto para aplicação	(FARIA; WRAIGHT, 2007; FILHO; FARIA; WRAIGHT, 2007)
Grânulos	GR	Grãos com tamanhos homogêneos e com ingredientes ativos (propágulos) bem aderidos ou incorporados à partícula, para aplicação com dosador ou por lançamento.	Pronto para aplicação	(FILHO; FARIA; WRAIGHT, 2007; SANTOS; ARAÚJO, 2015)
Grânulos dispersáveis em água	WG	Grãos que devem ser dissolvidos antes da aplicação.	Água	(FARIA; WRAIGHT, 2007; FILHO; FARIA; WRAIGHT, 2007)
Pó de contato	OF	Formulação em pó para aplicação para aplicação direta.	Pronto para aplicação	(FARIA; WRAIGHT, 2007; SANTOS; ARAÚJO, 2015)
Suspensão concentrada ou líquido concentrado	SC	Suspensão em água contendo ingredientes ativos	Água	(FARIA; WRAIGHT, 2007)
Suspensão concentrada miscível em óleo	OF	Suspensão estável com componentes ativos do fungo.	Óleo	(FARIA; WRAIGHT, 2007)
Dispersão de óleo ou suspensão concentrada em óleo	OD	Suspensão em óleo composta por ingrediente ativo e emulsificante.	Água	(FILHO; FARIA; WRAIGHT, 2007)
Suspensão a ultrabaixo volume	SU	Suspensão com ingredientes ativo para aplicação através do equipamento atomizador/nebulizador de ultrabaixo volume (UBV)	Pronto para aplicação	(FILHO; FARIA; WRAIGHT, 2007)

Fonte: Dados compilados pelo autor.

4.3 Artrópodes

O grupo de animais que possui a maior diversidade de espécies é o filo *Arthropoda*, correspondendo à aproximadamente 80 % de todos os animais existentes descritos. Estes, são divididos em cinco grupos, *Chelicerata*, *Crustacea*, *Hexapoda*, *Myriapoda* e *Trilobitomorpha*. Os artrópodes são invertebrados, possuem o corpo segmentado e protegido por um exoesqueleto constituído de quitina, além de terem pernas e demais apêndices articulados (FRANSOZO & NEGREIROS-FRANSOZO, 2016; FUNASA, 2015).

Diversos seres vivos do mundo vêm coexistindo com artrópodes, sendo em relações parasitárias ou mutualísticas (MCNAIR, 2015; FUNASA, 2015). São descritos como ectoparasitas, aqueles que se fixam na área externa de outros indivíduos para se alimentar de insumos do organismo hospedeiro (FUNASA, 2015).

Os artrópodes são de grande interesse na saúde pública, tanto para humanos como para a veterinária, uma vez que são vetores de diversos agentes infecciosos, como vírus, bactérias, helmintos e protozoários (INSA, 2014; MATHISON & PRITT, 2014). Existem também àqueles que não são vetores de agentes patogênicos, como os *Myriapodas* (piolho-de-cobra, lacraias) ou *Hymenoptera* (formigas, vespas, abelhas), porém, podem causar algumas enfermidades, como irritações na pele, prurido e dor, provocados por picadas, mordidas ou por apenas um contato físico (lagartas). Alguns são peçonhentos, como escorpiões e aranhas, que possuem veneno capaz de levar a vítima ao óbito (MATHISON & PRITT, 2014; FUNASA, 2015). Outros vetores como pulgas, piolhos, ácaros e carrapatos, são de grande interesse quando se trata de ectoparasita humano.

4.3.1 Pulgas

As pulgas são insetos da ordem *Siphonaptera*, que estão presentes no mundo inteiro. São ectoparasitas de mamíferos e aves, mas em casos excepcionais podem parasitar humanos (INSA, 2014; MATHISON & PRITT, 2014). Com aproximadamente três mil espécies descritas, as pulgas medem entre 2,0 a 3,0 mm (FUNASA, 2015), possuem corpos achatados lateralmente e uma perna alongada adaptada para pulos (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2014; FUNASA, 2015).

Pulgas das espécies *Xenopsylla spp.*, que parasitam roedores, são de maior importância na saúde pública, uma vez que são vetores das bactérias *Rickettsia typhi*, causadora da doença tifo murino, e *Yersinia pestis*, responsável pela peste bubônica (WARREN, 2011; INSA, 2014; MATHISON & PRITT, 2014).

As espécies *Ctenocephalides felis* e *Ctenocephalides canis* parasitam gatos e cachorros, respectivamente, embora possam ser encontradas em outros mamíferos, além de poder hospedar o cestódeo *Hymenolepis nana* (MATHISON & PRITT, 2014). Pulgas de gato são vetores de bactérias como a *Rickettsia felis*, agente causador da febre maculosa transmitida por gato (BROWN & MACACULO, 2016); e da bactéria *Bartonella henselae*, que é transmitida para o homem através do arranhão ou mordida do felino (ZOUARI et al., 2017; MOREIRA et al., 2019), sendo raro as transmissões pela picada da pulga, esse agente etiológico é responsável pela doença da arranhadura do gato (MOREIRA et al., 2019).

4.3.2 Piolhos

Esses insetos pertencem à ordem *Phthiraptera*, possuem mais de cinco mil espécies (FUNASA, 2015), sendo que apenas três são ectoparasitas de humanos, a espécie *Phthirus pubis*, *Pediculus humanus humanus* e *Pediculus humanus capitis* (MATHISON; PRITT, 2014; FUNASA, 2015). Ademais, essas espécies são exclusivamente hematófagas e todo seu ciclo de vida é realizado no hospedeiro (INSA, 2014).

Dentre as três espécies que parasitam o homem, duas são vetores de bactérias. O *Pediculus humanus humanus* é vetor para três espécies de bactérias; a *Rickettsia prowazekii*, causadora do tifo epidêmico; *Borrelia recurrentis*, responsável pela febre recorrente; e *Bartonella quintana*, que causa a febre das trincheiras (MATHISON; PRITT, 2014). Já o *Pediculus humanus capitis* é vetor para *B. quintana* e *B. recurrentis* (FUNASA, 2015).

4.3.3 Ácaros e Carrapatos

Ácaros e carrapatos são aracnídeos da ordem *Acari* com cerca de trinta mil espécies descritas. A maioria dos ácaros medem menos de 1mm de comprimento, já

os carrapatos podem alcançar até 6 mm, porém, após se alimentarem podem atingir 30 mm. Indivíduos adultos ou em fase larval podem parasitar diversos tipos de hospedeiros, que podem ser tanto vegetais, como plantas de fumo, flores, grãos; quanto animais, como humanos, aves, aranhas e insetos (PECHENIK, 2016).

Ácaros do gênero *Leptotrombidium spp.* transmitem a bactéria *Orientia tsutsugamushi* para roedores e humanos (MURRAY, ROSENTHAL e PFALLER, 2014), já a espécie *Liponyssoides sanguineus* pode transmitir a bactéria *Rickettsia akari*, que também infecta humanos e roedores (MURRAY, ROSENTHAL e PFALLER, 2014; PORTILLO et al., 2015).

Carrapatos da espécie *Ornithodoros erraticus* também podem transmitir agente etiológico causador de febre recorrente, a bactéria *Borrelia hispânica*. Comumente distribuída geograficamente pelo Hemisfério Norte, a borreliose de Lyme é uma zoonose causada por diversas espécies de bactérias do gênero *Borrelia*, e transmitida por carrapatos do gênero *Ixodes* (INSA, 2014).

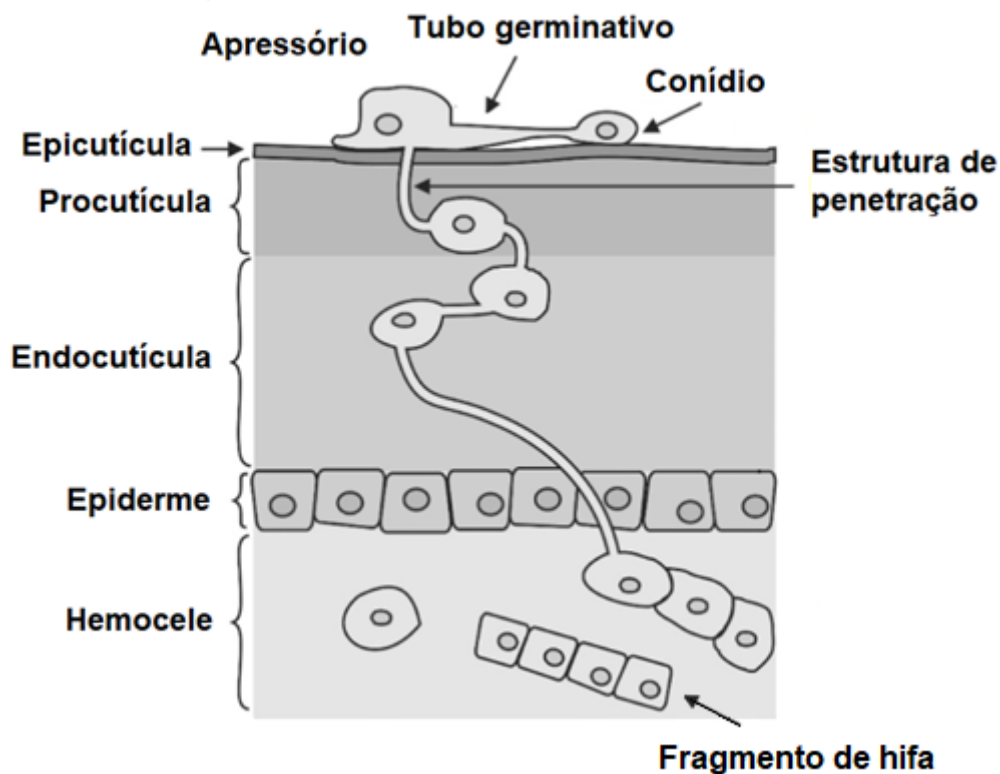
No Brasil, o principal vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii*, causadora da febre maculosa, são os carrapatos do gênero *Amblyomma* (BRASIL, 2010). Entretanto, carrapatos dos gêneros *Dermacentor* e a espécie *Rhipicephalus sanguineus* também são vetores para esse patógeno (MAHAJAN, 2012).

4.4 Mecanismo de Ação dos Fungos Entomopatogênicos

O processo de infecção dos fungos entomopatogênicos ocorre quando propágulos (hifas ou esporos) se fixam no tegumento dos artrópodes e penetram em seus corpos. Dentro do hospedeiro, esses micro-organismos começam a colonizar todo o interior do corpo. As hifas se desenvolvem e passam a danificar o interior do animal até transporem seu exoesqueleto, no exterior do animal as hifas produzem e dispensam os esporos (COSTA & HAIDA, 2009; İNCİ; KILIÇ; CANHİLAL, 2014).

Para os autores Samson, Evans e Latgé (1988), as infecções fúngicas em insetos podem ser divididas em três estágios: a adesão e germinação do esporo na cutícula, a penetração no tegumento e o desenvolvimento do fungo no interior do hospedeiro (Figura 1).

Figura 1 – Processo de infecção dos fungos entomopatogênicos.



Fonte: Adaptado de Samuels et al. (2016).

Após o propágulo do fungo entrar em contato com a cutícula do artrópode, o micro-organismo começa a expressar uma diversidade de enzimas (proteases, quitinases e lipases) que propiciam a germinação e crescimento do fungo no tegumento do hospedeiro (ORTIZ-URQUIZA & KEYHANI, 2013). O aumento na expressão de enzimas durante a infecção foi demonstrada em experimentos realizados por Pelizza et al. (2012) que, utilizando linhagens de *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *Tolyocladium cylindrosporum* e *Paecilomyces lilacinus*, observaram que o micro-organismo que causou a maior taxa mortalidade em ninfas de *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae) e em menor tempo (dias), foi àquele que apresentou os maiores níveis de atividade lipolítica, proteolítica e quitinolítica. O fungo que manifestou a maior taxa de mortalidade nesse ensaio foi o *B. bassiana* (isolado LPSC 1067), com uma taxa de mortalidade de $90 \pm 1,0\%$ e TL_{50} de 5,96 dias. Os demais fungos exibiram taxas de mortalidade entre $16,6 \pm 0,56\%$ (*M. anisopliae* LPSC 906) e $86,6 \pm 1,05\%$ (*B. bassiana* LPSC 1082).

Ortiz-Urquiza e Keyhani (2013) citam que a epicutícula, camada mais externa do tegumento dos insetos, é uma região hidrofóbica rica em lipídios, e que a

procutícula, região interna do tegumento, é composto por proteínas e quitinas. Sem as enzimas lipases e lipoxigenases, as lipoproteínas do tegumento seriam um impedimento à ação dos fungos (KHACHATOURIANS; QAZI, 2008). Em experimentos realizados por Holder e Keyhani (2005) foi avaliado a adesão do fungo *B. bassiana* em superfícies hidrofóbicas e hidrofílicas, e demonstraram que conídios aéreos se ligaram à superfície hidrofóbica, mas não em hidrofílica; isso porque, os conídios são revestidos por hidrofobinas, proteínas que conferem uma adesão, de forma passiva, em superfícies hidrofóbicas.

Os lipídios cuticulares influenciam a germinação dos esporos (SAMSON; EVANS; LATGÉ, 1988). Isto é demonstrado nos ensaios de James & Buckner (2004), em que a adição de diferentes tipos de óleos (mineral, vegetal e lipídios extraídos de ninfas de abelhas *Megachile rotundata*) em meio de cultura, indicaram um aumento na germinação dos esporos do fungo *Ascospaera aggregata*.

Posteriormente a adesão do esporo à superfície do hospedeiro, estruturas especializadas para a infecção, como apressórios (KHACHATOURIANS; QAZI, 2008; ORTIZ-URQUIZA; KEYHANI, 2013), tubos germinativos e estruturas de penetração são desenvolvidas (KHACHATOURIANS; QAZI, 2008).

O sucesso na fixação e germinação do esporo na superfície do artrópode, não garante êxito na infecção, uma vez que, para infectar o hospedeiro, o fungo necessita estar no interior do artrópode (SAMSON; EVANS; LATGÉ, 1988). A penetração é um processo que demanda atividades mecânicas e enzimáticas (SAMSON; EVANS; LATGÉ, 1988; GOETTEL et al, 1989). Durante a penetração, as proteases tripsina, quimotripsina, elastase, colagenase e quimioelastase auxiliam na degradação da cutícula do hospedeiro. No local da estrutura de penetração, a serino protease quimioelastase Pr1 encontra-se em alta concentração, sendo esta, uma enzima que possui a capacidade relevante na degradação enzimática da cutícula (AHMAD, 2012).

Os esporos fixados à superfície do artrópode desenvolvem tubos germinativos juntamente com a produção enzima hidrolíticas, apressórios e estruturas de penetração que, são desenvolvidos na epicutícula, passando pela procutícula, até alcançar a hemocele. Durante o processo de penetração, a área lesionada fica melanizada devido a aglomeração de hemócitos, que são células envolvidas na resposta imunológica dos insetos (KHACHATOURIANS & QAZI, 2008).

No interior do hospedeiro os fungos estão susceptíveis ao reconhecimento pelo sistema imunológico do artrópode e, embora a fagocitose dos seus propágulos seja

rara (devido ao tamanho), o encapsulamento multi-hemocítico pode ser observado (SAMSON; EVANS; LATGÉ, 1988). Ainda que os fungos possam ser detectados no interior do hospedeiro, os blastosporos possuem menos epítomos se comparados aos conídios e hifas, o que garante uma resposta imunológica menos agressiva a esse antígeno (BUTT et al., 2016).

Os fungos entomopatogênicos possuem métodos para evadir do sistema imunológico do seu hospedeiro. Khachatourians & Qazi (2008) descrevem essa evasão podendo ocorrer de três formas: tolerância às defesas imunológica dos insetos, alterações na superfície de suas células e produção de substâncias imunomoduladoras. Essas substâncias podem, por exemplo, ser supressoras do gene para peptídeos antimicrobianos (PAMs), como as destruxinas, produzidas por *M. anisopliae*; ou podem inibir as propenoxidases (ProPO), como fazem as oosporeinas, sintetizadas por *B. bassiana* (LU & LEGER, 2016).

Uma vez que o fungo está na hemocele, cavidade interna dos artrópodes, o micro-organismo inicia a produção conídios (AHMAD, 2012) e de hifas, além de se distribuir por toda a hemocele (KHACHATOURIANS & QAZI, 2008).

Os fungos infectam diversas espécies de artrópodes, porém, para serem utilizados contra os ectoparasitas que são vetores de agentes infecciosos de humanos, se faz necessário realizar ensaios a fim de determinar sua eficácia para tal uso.

4.5 Susceptibilidade dos Artrópodes Ectoparasitas à Fungos Entomopatogênicos

Fungos da espécie *B. bassiana* foram relatados como entomopatogênicos isolados pela primeira vez de *C. canis* em estudos realizados por Ortega-Palomares et al. (2014), que investigou a ocorrência de fungos entomopatogênicos em pulgas caninas. Neste estudo, foram coletados 71 espécimes de *C. canis* de caninos domésticos (*Canis lupus familiares*) e dentre os insetos coletados, 02 exemplares apresentaram características de infecção e morte pelo fungo entomopatogênico *B. bassiana* (Figura 2).

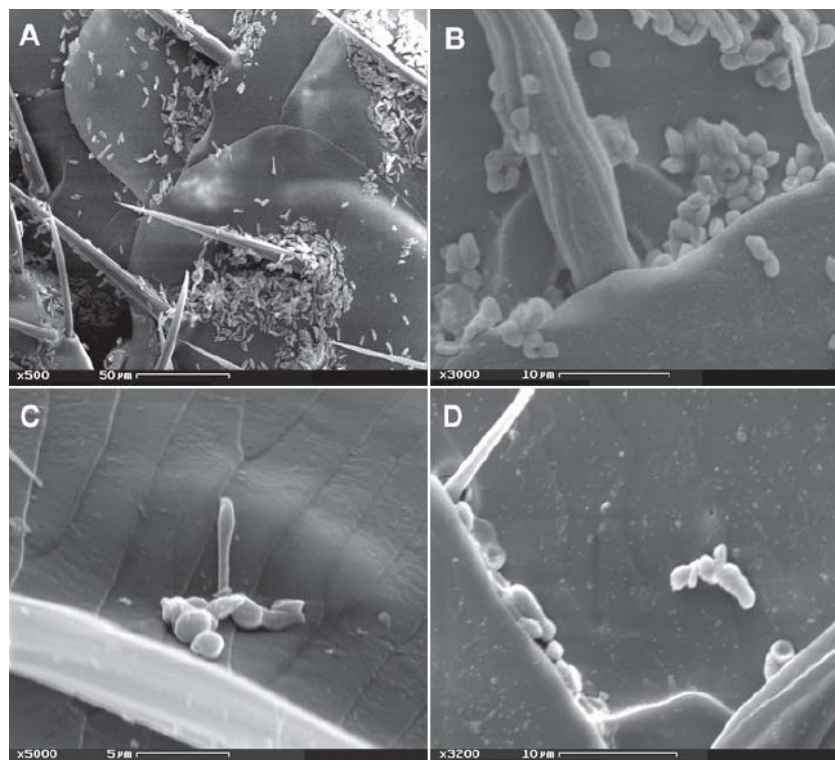
Figura 2 – Exemplo de *C. canis* infectado por *B. bassiana*.



Fonte: Ortega-Palomares et al. (2014).

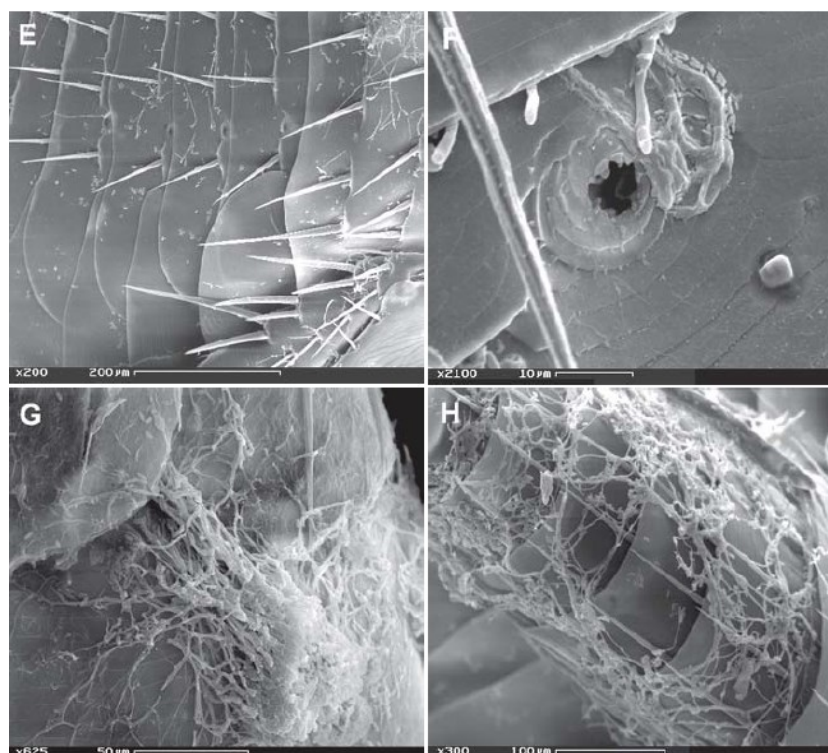
Embora a ocorrência natural de *B. bassiana* em *C. canis* tenha sido identificada somente em 2014, estudos de susceptibilidade, utilizando o fungo citado contra pulgas já haviam sido realizados. Melo e colaboradores (2007) que avaliaram por microscopia eletrônica de varredura, características da infecção de *M. anisopliae* e *B. bassiana* sobre a cutícula de *C. felis*. No experimento, as pulgas receberam uma dose de um mililitro de suspensão dos isolados *M. anisopliae* 959 e *B. bassiana* 986, na concentração de $2,2 \times 10^8$ conídios/ml e $2,4 \times 10^8$ conídios/ml, respectivamente. Os pesquisadores observaram que os conídios de ambos os fungos aderiram à cutícula após 02 horas de infecção (Figura 3), germinaram 15h após a infecção (Figura 2) e apresentaram formação de colônias e conidiogênese com 96 horas (Figura 4).

Figura 3 – Eletromicrografia dos conídios de *M. anisopliae* (A) e de *B. bassiana* (B) aderidos à cutícula. Formação de tubo germinativo nos conídios de *M. anisopliae* (C) e *B. bassiana* (D).



Fonte: Adaptado de Melo e colaboradores (2007).

Figura 4 – Eletromicrografia das hifas em ramificação de *M. anisopliae* (E) e *B. bassiana* (F), e formação de colônias de *M. anisopliae* (G) e *B. bassiana* (H).



Fonte: Adaptado de Melo e colaboradores (2007).

Estudos realizados por Moreno-Ríos et al. (2015) também demonstraram que os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* são eficazes contra pulgas *C. felis*. No estudo, foram utilizados isolados de *M. anisopliae* (Ma1, Ma3, Ma5 e Ma7) e *B. bassiana* (Bb2). As pulgas foram banhadas em solução aquosa em concentração de 1×10^7 conídios/mL e, após 48 horas a mortalidade foi avaliada entre 90% e 100% (Tabela 4).

Tabela 4 – Taxa de mortalidade de *C. felis* após 48 horas da aplicação dos conídios.

Isolados	Mortalidade
Ma3	100,00%
Bb2	100,00%
Ma7	96,67%
Ma5	90,00%
Ma1	90,00%

Fonte: Adaptado de Moreno-Ríos et al. (2015).

Pulgas da espécie *Xenopsylla brasiliensis* também foram alvos de estudos de susceptibilidade de fungos entomopatogênicos. Mnyone et al. (2012) testaram a exposição de larvas de *X. brasiliensis* contra os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*. Nesse experimento, os pesquisadores usaram suspensão em óleo de conídios dos isolados *M. anisopliae* ICIPÉ-30 e *B. bassiana* IMI 391510, ambos em concentração 2×10^8 conídios/m². A mortalidade de 100% dos indivíduos tratados foi atingida com 09 e 11 dias após a exposição aos isolados *M. anisopliae* ICIPÉ-30 e *B. bassiana* IMI 391510 respectivamente.

Os testes de susceptibilidade dos fungos entomopatogênicos contra pulgas não se restringem aos indivíduos adultos ou em fase larval, mas também à fase embrionária desses insetos. Melo et al. (2008) verificou *in vitro* a virulência de isolados de *M. anisopliae* (Ma959 e MaE9) e *B. bassiana* (Bb986 e Bb747) em ovos e indivíduos adultos de *C. felis felis*, que foram tratados com suspensão aquosa em concentração de 10^8 , 10^7 x conídios/mL⁻¹. Os resultados mostraram que o isolado *M. anisopliae* MaE9 foi o mais eficaz em impedir a eclodibilidade dos ovos, permitindo a eclosão 27% e 32% para as concentrações de 10^7 e 10^8 x conídios/mL⁻¹, respectivamente, após 120 horas, sendo que os demais isolados permitiram taxas de eclosão mínima de 64% para a concentração de 10^7 x conídios/mL⁻¹ e de 51% para a concentração de 10^8 x conídios/mL⁻¹.

Além das pulgas, os piolhos também são alvos de experimentos de infecção por fungos entomopatogênicos. Almeida (2005) avaliou *in vivo* e *in situ* a ação dos fungos *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Metarhizium flavoviridae* contra piolhos *Bovicola caprae*, em caprinos infestados. No ensaio *in vivo*, um caprino foi utilizado para cada fungo e, quatro áreas, previamente isoladas, com infestação de *B. caprae* foram selecionadas para a aplicação da suspensão aquosa em concentração de $4,73 \times 10^8$ conídios/mL. Após 10 dias do tratamento, o fungo *M. anisopliae* apresentou 93,3% de infecção em uma das áreas demarcadas, nas demais foram de 100%; *B. bassiana* infectou 100% dos piolhos e; *M. flavoviridae* obteve taxas variadas, sendo de 96,0% (duas regiões) e 93,3% (duas regiões) de insetos infectados. Para os testes *in situ*, os caprinos foram pulverizados com suspensão fúngica *M. anisopliae* e *B. bassiana* na mesma concentração do experimento anterior. Após transcorridos 30 dias da pulverização, 26,08% dos indivíduos tratados com *M. anisopliae* não apresentaram infecção pelos piolhos; no grupo pulverizado com *B. bassiana*, 55,07% dos caprinos evidenciaram a ausência de *B. caprae*.

Briggs, Colwell e Wall (2006) avaliaram a infecção de *M. anisopliae* contra piolhos bovinos, *Bovicola bovis* (Piaget) (Trichodectidae: Ischnocera). Nos ensaios *in vitro* os piolhos foram imersos em suspensão aquosa em concentrações de 10^6 , 10^7 e 10^8 conídios/mL⁻¹ e observados por duas semanas. A média de insetos infectados nas concentrações de 10^6 e 10^7 conídios/mL⁻¹ foi de 22% e 40%, respectivamente; já a concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹ infectou uma média de 71% dos piolhos. No teste *in vivo*, as suspensões de conídios foram aplicadas em áreas pré-determinadas nos bovinos e espargidas em concentrações de 10^7 e 10^8 conídios/mL⁻¹ em duas formulações, aquosa e óleo de silicone. Decorridos 07 dias após a aplicação do tratamento, as diferentes formulações não apresentaram diferenças significativas entre si (Mann–Whitney U = 0.10, P = 0.75), desse modo, a média geral de *B. bovis* que sofreram infecção foi de 73% ($\pm 15.57\%$, intervalo de confiança de 95%).

Ao contrário das pulgas e piolhos, os ácaros e carrapatos são amplamente estudados em ensaios de controle biológico por fungos entomopatogênicos. Estudos de controle dos carrapatos dos gêneros *Amblyomma* e *Dermacentor* são de imensa relevância para o Brasil, pelas considerações citadas nessa revisão.

Desta forma, estudos realizados por Gomathinayagam, Cradock e Needham (2002) investigaram a patogenicidade de *B. bassiana* contra *Amblyomma americanum* e *Dermacentor variabilis*. Os carrapatos foram submetidos à suspensão em óleo em

concentrações de $3,04 \times 10^4$; $3,04 \times 10^5$; $3,04 \times 10^6$; $3,04 \times 10^7$ e $3,04 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹ e os resultados foram observados após 02 e 05 semanas. As concentrações de $3,04 \times 10^7$ e $3,04 \times 10^8$ conídios/mL⁻¹ obtiveram 100% de mortalidade contra *A. americanum* na 2^a semana, e a mesma taxa foi constatada na 5^a semana para *D. variabilis* (Tabela 5). Diante dos resultados apresentados, poderíamos pressupor que *B. bassiana* é menos virulento contra *D. variabilis*, ou que este carrapato é mais resistente à infecção pelo fungo.

Tabela 5 – Mortalidade (%) de *A. Americanum* e *D. variabilis* após 02 e 05 semanas pós exposição.

Concentração	Mortalidade (%) (2 semanas)		Mortalidade (%) (5 semanas)	
	<i>A. americanum</i>	<i>D. variabilis</i>	<i>A. americanum</i>	<i>D. variabilis</i>
	$3,04 \times 10^8$	100	0	100
$3,04 \times 10^7$	100	0	100	100
$3,04 \times 10^6$	20	0	60	70
$3,04 \times 10^5$	20	0	30	0
$3,04 \times 10^4$	10	0	20	0
Controle	0	0	20	0

Fonte: Adaptado de Gomathinayagam, Cradock e Needham (2002).

Uma baixa taxa de mortalidade dos carrapatos *D. variabilis* também foi observada pelos pesquisadores Kirkland, Westwood e Keyhani (2004), que realizaram experimentos com o aracnídeo citado juntamente com outras espécies, *R. sanguineus* e *Ixodes scapularis*. Os artrópodes foram expostos à formulação aquosa de *B. bassiana* e *M. anisopliae* em concentração de 10^8 conídios/ml. Os resultados demonstraram que no 28^o dia pós exposição, *I. scapularis* e *R. sanguineus* apresentaram mortalidade média de 50% – 70%, sendo que *D. variabilis* manteve uma mortalidade <20%.

Diferentes formulações de conidiais de *M. anisopliae* e *B. bassiana* podem ser usadas no controle de *R. sanguineus*, entretanto, algumas formulações se mostram mais eficazes do que outras. Bioensaios realizados por Reis, Fernandes e Bittencourt (2008), revelaram que *R. sanguineus* tratados com *M. anisopliae* (Ma959) e *B. bassiana* (Bb986), apresentaram taxas de mortalidade de 80,13% e 86,79,

respectivamente, quando os fungos são formulados com os adjuvantes concentrado emulsionável (EC) mais gel polimerizado de celulose (PCG), a uma concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹. As demais combinações de formulação alcançaram no máximo 70,22% (Tabela 6).

Tabela 6 – Porcentagem de controle de *R. sanguineus* expostos à diversas formulações.

Formulações	Mortalidade (%)
PCG + <i>M. anisopliae</i>	41,75
PCG + <i>B. bassiana</i>	64,34
EC + <i>M. anisopliae</i>	65,25
EC + <i>B. bassiana</i>	70,22
EC + PCG + <i>M. anisopliae</i>	80,13
EC + PCG + <i>B. bassiana</i>	86,79

Fonte: Adaptado de Reis, Fernandes e Bittencourt (2008).

Ainda que a suspensão formulada por *B. bassiana* mais gel polimerizado de celulose se mostre menos eficiente que as demais formulações com o mesmo micro-organismo, a incorporação deste gel à suspensão conidial de *B. bassiana* potencializou a patogenicidade do fungo contra carrapatos *Anocentor nitens*. Souza et al. (2009) demonstrou que a associação entre o gel polimerizado de celulose e *B. bassiana* manteve o controle de *A. nitens* acima de 50% durante o período compreendido entre o 04º e 25º dia pós aplicação, em comparação à suspensão pura de *B. bassiana*, que durante o mesmo período, que manteve uma taxa <20%. O referido experimento foi realizado *in vivo* em equídeos naturalmente infestados, e o tratamento foi feito em concentração de 10^8 conídios/mL.

Carrapatos da espécie *Haemaphysalis qinghaiensis*, que são prevalentes na China, foram expostos a sete isolados do fungo *B. bassiana*, em experimentos realizados por Ren et al. (2011). Os carrapatos foram imersos em suspensão aquosa em concentrações de 10^6 , 10^7 e 10^8 conídios/mL⁻¹. Após 14 dias da exposição, apenas três isolados (B.bAT1, B.bAT5 e B.bAT7) alcançaram a média de mortalidade de 100% para a concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹, já para as concentrações de 10^6 e 10^7 conídios/mL⁻¹ o valor mínimo alcançado foi de 73,36%. Os demais isolados (B.bAT2,

B.bAT3, B.bAT4 e B.bAT6) apresentaram taxa de mortalidade máxima de 50,96% para a concentração de 10^8 conídios/mL⁻¹, dessa forma, para a outras concentrações, as taxas foram inferiores à máxima registrada.

Os ácaros, similarmente aos demais artrópodes ectoparasitas, também são avaliados por ensaios para quantificar a patogenicidade de fungos entomopatogênicos. Aracnídeos da espécie *Psoroptes ovis* (Acari: Psoroptidae) foram expostos aos fungos *Hirsutella thompsonii* e *M. anisopliae* pelos autores Smith, Wall e French (2000), a fim de determinar se estes fungos seriam capazes de infectar o ácaro. Entretanto, o micro-organismo *H. thompsonii* não foi capaz de infectar o ectoparasita. De maneira oposta, o fungo *M. anisopliae* infectou a uma taxa de 2% e 25% dos ácaros a uma concentração de 10^4 e 10^6 conídios/mL⁻¹, respectivamente; e 71% em concentração de 10^7 x conídios/mL⁻¹.

Kasburg et al. (2016) avaliou a patogenicidade de isolados de *B. bassiana* (Unioeste 01, Unioeste 02, Unioeste 03, Unioeste 04 e Unioeste 05) e *M. anisopliae* (Unioeste 22), contra ácaros *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). Os fungos foram aplicados em suspensão de conídios em concentração de 10^8 conídios/mL e observados por 7 dias. Todos os isolados de *B. bassiana* apresentaram mortalidade contra o ácaro, porém, a maior taxa de mortalidade, de 65,7%, foi produzida pelo isolado Unioeste 02. Quanto ao único isolado de *M. anisopliae*, este exibiu uma taxa de 38,1%.

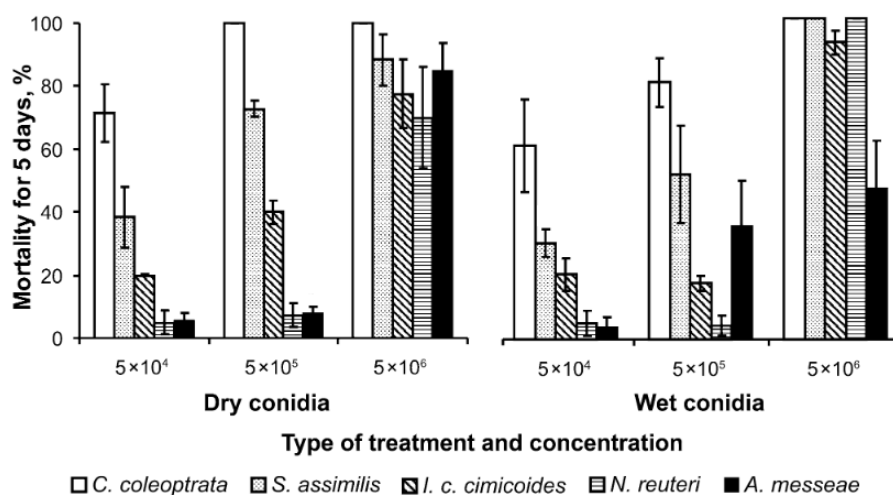
Os fungos entomopatogênicos não infectam unicamente aqueles indivíduos que foram expostos diretamente à suspensão conidial. Ácaros mortos em decorrência de uma infecção fúngica, são capazes de transferir horizontalmente a infecção para indivíduos saudáveis. No experimento realizado por Brooks e Wall (2001), ácaros mortos por infecção do fungo *M. anisopliae*, transmitiram o micro-organismo para indivíduos não infectados. Também foi evidenciado que a virulência dos fungos nos ácaros infectados, é inversamente proporcional a sua idade (dias) de infecção.

4.6 Efeito em Organismos Não Alvo

Ainda que os fungos entomopatogênicos se mostrem eficazes contra ectoparasitas, organismos não alvo podem ser susceptíveis a infecções fúngicas. Belevich et al. (2017) avaliou os efeitos de *M. robertsii* contra *Cymatia coleoptrata* (Heteroptera: Corixidae), *Sigara assimilis* (Heteroptera: Corixidae), *Notonecta reuteri*

(Heteroptera: Notonectidae), *Ilyocoris cimicoides cimicoides* (Heteroptera: Naucoridae), todos predadores de mosquitos, e larvas de *Anopheles messeae*. No experimento, foram aplicadas conídios secos e suspensão aquosa, ambos em concentrações de 5×10^4 , 5×10^5 e 5×10^6 conídios/mL. Os resultados demonstraram que a taxa de mortalidade dos insetos, no 5º dia pós tratamento com conídios secos, em concentração de 5×10^6 conídios/mL, ficou acima de 60% e, em suspensão aquosa, apenas as larvas de *A. messeae* permaneceram abaixo dos 60% de mortalidade (Figura 5).

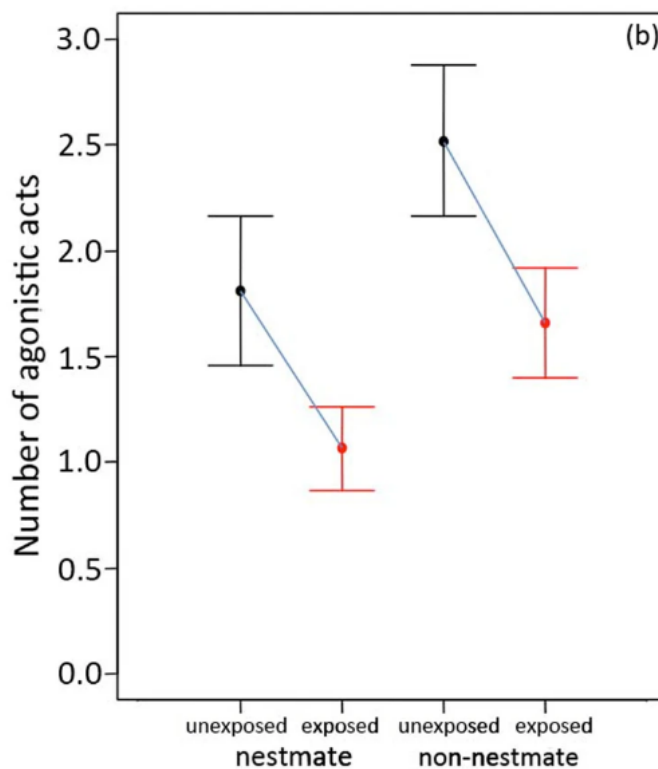
Figura 5 – Taxa de mortalidade dos percevejos e mosquito após o 5º dia de tratamento.



Fonte: Adaptado de Belevich et al. (2014).

Insetos sociais, como as abelhas, não são alvos para aplicação dos fungos entomopatogênicos, porém, são organismos que estão sujeitos a infecção fúngica. Cappa et al. (2019) demonstrou que abelhas expostas aos fungos entomopatogênicos apresentam alterações nos hidrocarbonetos cuticulares, consequentemente, o reconhecimento pelas companheiras tornar-se deficiente, permitindo mais facilmente a entrada de abelhas expostas aos fungos à colmeia (Figura 6).

Figura 6 – Número de atos agonísticos durante o reconhecimento de abelhas forrageiras.



Fonte: Adaptado de Cappa et al. (2019).

No Brasil, estudos que demonstrem o efeito de fungos entomopatogênicos em organismos não alvo são escassos, sobretudo em vertebrados. É promissor a realização estudos em animais vertebrados, principalmente, porque os fungos entomopatogênicos podem ser aplicados diretamente sobre eles ou em seus locais de habitação.

5. CONCLUSÃO

Compreender que insetos, como pulgas e piolhos, e aracnídeos, como ácaros e carrapatos, não causam, diretamente, doenças ao homem, mas são vetores de diversos agentes infecciosos, possibilita sugerir que o controle desses artrópodes ectoparasitas seria um método eficiente para o controle dos micro-organismos patogênicos.

Uma vez que o controle desses artrópodes pode ser realizado por uma ampla gama de pesticidas que, por ventura, podem ser prejudiciais para o meio ambiente, surge a necessidade de desenvolver formas alternativas de controle, sendo uma delas, a utilização de micopesticidas.

A identificação das espécies de fungos e em quais formulações alcançam mais sucesso no controle de ectoparasitas, é fundamental para aperfeiçoar a eficiência desses biopesticidas.

Novos estudos de susceptibilidade devem ser realizados, principalmente contra àqueles ectoparasitas que são passíveis de infestar humanos, pois, a maioria dos estudos de controle de artrópodes por fungos entomopatogênicos, são ensaios de interesse da pecuária e agricultura.

Embora os fungos entomopatogênicos sejam micro-organismos viáveis no controle de ectoparasitas, deve-se buscar estratégias para a aplicação dos mesmos, a fim de evitar que organismos não alvo sejam afetados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, Shahid Ali et al. Entomopathogenic fungi as biological controllers: New insights into their virulence and pathogenicity. **Archives Of Biological Sciences**, Belgrade, v. 64, n. 1, p.21-42, 2012.

ALMEIDA, Valdivan Ferreira de. **Ação de fungos entomopatogênicos sobre *Bovicola caprae* (Phtherapta: Mallophaga, EWING, 1936) em caprinos naturalmente infestados em clima de semi-arido**. 2005. 66 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Paraíba, Brasil, 2005.

ALVES, L. F. A. et al. *Beauveria Bassiana* Applied to Broiler Chicken Houses as Biocontrol of *Alphitobius Diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), an Avian Pathogens Vector. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, [s. L.], v. 17, n. 4, p.459-466, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-635X2015000400459&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 02 jan. 2020.

ALVES, Roberto Teixeira et al. **Controle biológico do percevejo-de-renda da seringueira com o uso de micoinseticida formulado em óleo emulsionável**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. 22 p. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2009/26448/1/bolpd_113.pdf>. Acesso em: 03 jan. 2020.

ALVES, R. T.; FARIA, M. R. de. **Pequeno manual sobre fungos entomopatogênicos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2010. 50 p.

ARAUJO, Rachel Paes de; NAVARRO, Marli Brito Moreira de Albuquerque; CARDOSO, Telma Abdalla de Oliveira. Febre maculosa no Brasil: estudo da mortalidade para a vigilância epidemiológica. **Cad. Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 3, p. 339-346, 2016.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12697**: Formulações de Agrotóxicos - Terminologia. Brasília, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS EMPRESAS DE CONTROLE BIOLÓGICO (ABCBio). **Biodefensivos Registrados**: Produtos biológicos de controle registrados no Brasil desde 2005. 2019. Disponível em: <<https://www.abcbio.org.br/biodefensivos-registrados/>>. Acesso em: 02 dez. 2019.

BADII, M.H.; ABREU, J.L. Control biológico una forma sustentable de control de plagas. **International Journal of Good Conscience**, v.1, p.82-89, 2006.

BARA, Gracian T.; LAING, Mark D.. Entomopathogens: Potential to Control Thrips in Avocado, with Special Reference to *Beauveria bassiana*. In: WARRINGTON, Ian (Ed.). **Horticultural Reviews**. [S.L.]: John Wiley & Sons, 2020. p. 325-368.

BELEVICH, Olga E. et al. Effect of entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* on non-target organisms, water bugs (Heteroptera: Corixidae, Naucoridae, Notonectidae). **Applied Entomology And Zoology**, [s. l.], v. 52, n. 3, p.439-445, 2017.

BILAL, Hazrat; HASSAN, Soaib Ali; KHAN, Imtinan Akram. Isolation and efficacy of entomopathogenic fungus (*Metarhizium anisopliae*) for the control of *Aedes albopictus* Skuse larvae: suspected dengue vector in Pakistan. **Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine**, [s. l.], v. 2, n. 4, p.298-300, 2012. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169112600264>>. Acesso em: 02 jan. 2020.

BISCHOFF, Joseph F.; REHNER, Stephen A.; HUMBER, Richard A.. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. **Mycologia**, [s. l.], v. 101, n. 4, p.512-530, 21 jan. 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.3852/07-202>>. Acesso em: 04 dez. 2019.

BRASIL. Constituição (1989). Lei nº 7802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o

armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Brasília, DF, 11 jul. 1989.

BRASIL. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Sistema de Produção de Pêssego de Mesa na Região da Serra Gaúcha: Tecnologia de aplicação de agrotóxicos. 2003. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pessego/PessegodeMesaRegiaoSerraGaucha/defensi.htm>>. Acesso em: 05 dez. 2019.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 2, de 23 de janeiro de 2006. Estabelece norma específica para registro de agentes biológicos de controle, e o que consta do Processo nº 2000.002569/2004-77. Brasília, DF, 23 jan. 2006a.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 10 de março de 2006. Estabelece norma específica para fins de registro de produtos microbiológicos que se caracterizem como produtos técnicos, agrotóxicos e afins, segundo definições estabelecidas no Decreto 4.074, incisos IV e XXXVII. Brasília, DF, 23 jan. 2006b.

BRASIL. Instrução Normativa Conjunta nº 3, de 19 de agosto de 2014. Revisa os estudos exigidos nas Instruções Normativas Conjuntas nº 32, de 26 de outubro de 2005 e nº 03, de 10 de março de 2006, que dispõem respectivamente sobre registro de produtos bioquímicos e à base de agentes microbiológicos. Brasília, DF, 23 jan. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Febre Maculosa**: Tabela de casos confirmados de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000 a 2018. 2019a. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/06/caso-fmb-atualiza--o-site-01.08.2018.pdf>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Febre Maculosa**: Tabela de óbitos de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000 a 2018. 2019b. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/06/caso-fmb-atualiza--o-site-01.08.2018.pdf>>. Acesso em: 31 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**: Guia de Bolso. 8. ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 448 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Peste**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 92 p.

BETTIOL, W. Controle de doenças de plantas com agentes de controle biológico e outras tecnologias alternativas. In: CAMPAGNOLLA, Clayton; BETTIOL, Wagner (Ed.). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 191-215. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/164175/1/Campanhola-Metodos.pdf>>. Acesso em: 01 dez. 2019.

BOUCIAS, D. et al. Fungal dimorphism in the entomopathogenic fungus *Metarhizium rileyi*: Detection of an *in vivo* quorum-sensing system. **Journal Of Invertebrate Pathology**, [s. l.], v. 136, n. 1, p.100-108, 2016.

BROOKS, A. J.; WALL, R.. Infection of Psoroptes Mites with the Fungus *Metarhizium Anisopliae*. **Experimental & Applied Acarology**, [s. l.], v. 25, n. 10-11, p.869-880, 2001.

BROWN, L. D.; MACALUSO, K. R. Rickettsia felis, an emerging flea-borne rickettsiosis. **Current tropical medicine reports**, v. 3, n. 2, p. 27-39, 2016.

BRIGGS, L. L.; COLWELL, D. D.; WALL, R.. Control of the cattle louse *Bovicola bovis* with the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae*. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 142, n. 3-4, p.344-349, 2006.

BUTT, T. M. et al. Entomopathogenic Fungi: New Insights into Host-Pathogen Interactions. In: LOVETT, Brian; LEGER, Raymond J. St. (Ed.). **Advances in Genetics: Genetics and Molecular Biology of Entomopathogenic Fungi**. 94. ed. [s.l.]: Elsevier Inc., 2016. Cap. 9. p. 307-364.

CAPPA, Federico et al. Natural biocide disrupts nestmate recognition in honeybees. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 3171, n. 9, p.1-10, 2019.

COSTA, J. H. B. D.; HAIDA, K. S. Segurança de Fungos Entomopatogênicos Para Vertebrados. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v. 2, n. 2, p. 293-302, 2009.

FARIA, Marcos. R. de; MAGALHÃES, B. P. O uso de fungos entomopatogênicos no Brasil. **Biociência**, v. 22, n. 1, p. 18-21, 2001.

FARIA, Marcos R. de; WRAIGHT, Stephen P.. Mycoinsecticides and Mycoacaricide: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. **Biological Control**, [s. l.], v. 43, n. 3, p.237-256, 2007.

FILHO, Miguel Michereff. et al. MicoInseticidas e micoacaricidas no Brasil: como estamos após quatro décadas?. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 769-779, out./dez. 2009.

FILHO, Miguel Michereff; FARIA, Marcos Rodrigues de; WRAIGHT, Stephen P.. **MicoInseticidas e Micoacaricidas no Brasil: Como estamos?**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 28 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos, 240).

FIOL, Fernando de Sá Del et al. A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, p. 461-466, 2010.

FORZZA, R. C., org., et al. INSTITUTO DE PESQUISAS JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Andrea

Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010. 871 p. Vol. 1.

FRANSOZO, A.; NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. **Zoologia dos Invertebrados**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). Ministério da Saúde. **Manual de Saneamento**. 4. ed. Brasília: Funasa, 2015.

GABANI, Flávia Lopes; MAEBARA, Clarice Martins Lima; FERRARI, Rosângela Aparecida Pimenta. PEDICULOSE NOS CENTROS DE EDUCAÇÃO INFANTIL: CONHECIMENTOS E PRÁTICAS DOS TRABALHADORES. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p.309-317, 2010.

GAUTHIER, Gregory M.. Dimorphism in Fungal Pathogens of Mammals, Plants, and Insects. **PLOS Pathog**, [s. l.], v. 11, n. 2, p.1-7, 2015.

GARCIA, Marcos Valério; MONTEIRO, Antonio Carlos; SZABÓ, Matias Pablo Juan. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p.1513-1518, 2004.

GOETTEL, Mark S. et al. Ultrastructural Localization of a Cuticle-degrading Protease Produced by the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* during Penetration of Host (*Manduca sexta*) Cuticle. **Journal Of General Microbiology**, [s. l.], v. 135, n. 8, p.2233-2239, 1989.

GOMATHINAYAGAM, Sankaralingam; CRADOCK, Kenwyn R.; NEEDHAM, Glen R.. Pathogenicity of the fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) to *Amblyomma Americanum* (L.) and *Dermacentor variabilis* (Say) ticks (Acari: Ixodidae). **International Journal Of Acarology**, [s. L.], v. 28, n. 4, p.395-397, 2002.

HEUKELBACH, Jörg; OLIVEIRA, Fabíola Araújo Sales de; FELDMEIER, Hermann. Ectoparasitoses e saúde pública no Brasil: desafios para controle. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 5, p. 1535-1540, 2003.

HOLDER, Diane J.; KEYHANI, Nemat O.. Adhesion of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria* (Cordyceps) *bassiana* to Substrata. **Applied And Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 71, n. 9, p.5260-5266, 2005. Disponível em: <<https://aem.asm.org/content/71/9/5260>>. Acesso em: 02 jan. 2020.

İNCİ, Abdullah; KILIÇ, Engin; CANHİLAL, Ramazan. Entomopathogens in control of urban pests. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, [s. l.], v. 61, n. 2, p.155-160, 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DOUTOR RICARDO JORGE (INSA) (Portugal). Ministério da Saúde. **Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores**. Lisboa: Guide – Artes Gráficas Lda, 2014.

JACKSON, Mark A.. Dissolved oxygen levels affect dimorphic growth by the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea*. **Biocontrol Science And Technology**, [s. l.], v. 22, n. 1, p.67-79, 2012.

JAMES, R. R.; BUCKNER, J. S.. Lipids stimulate spore germination in the entomopathogenic ascomycete *Ascospaera aggregata*. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 158, n. 3, p.293-302, 2004.

KASBURG, C. R. et al. Activity of some Brazilian isolates of entomopathogenic fungi against the poultry red mite *Dermanyssus gallinae* de Geer (Acari: Dermanyssidae). **Revista Brasileira de Ciência Avícola (Brazilian Journal Of Poultry Science)**, [s. l.], v. 18, n. 6, p.457-460, 2016.

KHACHATOURIANS, George G.; QAZI, Sohail S.. Entomopathogenic Fungi: Biochemistry and Molecular Biology. In: BRAKHAGE, Axel A.; ZIPFEL, Peter F. (Ed.). **Human and Animal Relationships**. 2. ed. Berlin: Springer, 2008. p. 33-61. (The Mycota).

KIRKLAND, Brett H.; WESTWOOD, Greg S.; KEYHANI, Nemat O.. Pathogenicity of Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to Ixodidae Tick Species *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Ixodes scapularis*. **Journal Of Medical Entomology**, [s. L.], v. 41, n. 4, p.705-711, 2004.

LU, H. L.; LEGER, R. J. St.. Insect Immunity to Entomopathogenic Fungi. In: LOVETT, Brian; LEGER, Raymond J. St. (Ed.). **Advances in Genetics: Genetics and Molecular Biology of Entomopathogenic Fungi**. 94. ed. [s.l.]: Elsevier Inc., 2016. Cap. 7. p. 251-285.

MASCARIN, G. M.; PAULI, G. Bioprodutos à base de fungos entomopatogênicos. In: Madelaine Venzon; Trazilbo José de Paula Júnior; Angelo Pallini. (Org.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças na Agricultura Orgânica**. 1 ed. Viçosa: U.R. EPAMIG ZM, 2010, v. 4, p. 169-195.

MAHAJAN, S. K. Rickettsial diseases. **The Journal of the Association of Physicians of India**, v. 60, p. 37, 2012.

MATHISON, B. A.; PRITT, B. S. Laboratory identification of arthropod ectoparasites. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 27, n. 1, p. 48-67, 2014.

MELO, Denise R. de et al. Desenvolvimento dos fungos *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883 E *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 sobre *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835). **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 16, n. 3, p.166-170, set. 2007.

MELO, Denise R. de et al. Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to *Ctenocephalides felis felis*. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, [s. l.], v. 1149, n. 1, p.388-390, 2008.

MESSIAS, Luiz Cláudio. Fungos, sua utilização para controle de insetos de importância médica e agrícola. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro,

v. 84, n. 3, p.57-59, 1989. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02761989000700012&script=sci_arttext&lng=es>. Acessado em: 01 ago. 2019.

MCNAIR, C. M. Ectoparasites of medical and veterinary importance: drug resistance and the need for alternative control methods. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 67, n. 3, p. 351-363, 2015.

MNYONE, Ladslaus L. et al. Entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* reduce the survival of *Xenopsylla brasiliensis* larvae (Siphonaptera: Pulicidae). *Parasites & Vectors*, [s. L.], v. 5, n. 1, p. 204, 2012.

MONZÓN, Arnulfo J.; GUHARAY, Falguni; KLINGEN, Ingeborg. Natural occurrence of *Beauveria bassiana* in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) populations in unsprayed coffee fields. **Journal Of Invertebrate Pathology**, [s. l.], v. 97, n. 2, p.134-141, 2008. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022201107001528>>. Acesso em: 01 jan. 2020.

MOREIRA, J. et al. Neurorretinite por Bartonella henselae: caso clínico e revisão da literatura. **Revista da Sociedade Portuguesa de Oftalmologia**, v. 42, n. 4, 2019.

MORENO-RÍOS, Martín et al. Evaluación de hongos entomopatógenos sobre pulgas *Ctenocephalides felis* Bouché (SIPHONAPTERA: PULICIDAE). **Entomología Mexicana**, [s. l.], v. 2, p.266-271, 2015.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. **Microbiología Médica**. 7. ed. Barcelona: Elsevier España, 2014.

NASSER, Jeanette Trigo et al. Urbanização da febre maculosa brasileira em município da região Sudeste: epidemiologia e distribuição espacial. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 299-312, 2015.

ORTEGA-PALOMARES, Jonathan E. et al. Occurrence of Entomopathogenic Fungus from Flea *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Open Journal Of Veterinary Medicine*, [s. l.], v. 4, n. 12, p.281-285, 2014.

ORTIZ-URQUIZA, Almudena; KEYHANI, Nemat O.. Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi versus the Insect Cuticle. *Insects*, Gainesville, v. 4, n. 3, p.357-374, 16 jul. 2013. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2075-4450/4/3/357>>. Acesso em: 02 jan. 2020.

PECHENIK, Jan A. **Biologia de Invertebrados**. 7. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2016.

PELIZZA, Sebastian Alberto et al. Entomopathogenic fungi from Argentina for the control of *Schistocerca cancellata* (Orthoptera: Acrididae) nymphs: Fungal pathogenicity and enzyme activity. *Biocontrol Science And Technology*, [s. l.], v. 22, n. 10, p.1119-1129, out. 2012. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09583157.2012.713910?scroll=top&needAccess=true>>. Acesso em: 03 jan. 2020.

PORTILLO, Aránzazu et al. Rickettsioses in Europe. *Microbes And Infection*, [s. l.], v. 17, n. 11-12, p.834-838, 2015.

QUEIROZ-TELLES, Flavio; BUCCHERI, Renata; BENARD, Gil. Sporotrichosis In Immunocompromised Hosts. *Journal Of Fungi*, [S. L.], v. 5, n. 1, p. 8, 01 jan. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/jof5010008>>. Acesso em: 01 dez. 2019.

REIS, Rosana C. S.; FERNANDES, Éverton K. K.; BITTENCOURT, Vânia R. E. P.. Fungal Formulations to Control *Rhipicephalus sanguineus* Engorged Females. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, [s. l.], v. 1149, n. 1, p.239-241, 2008.

REN, Qiaoyun et al. Biological control of engorged female *Haemaphysalis qinghaiensis* (Acari: Ixodidae) ticks with different Chinese isolates of *Beauveria bassiana*. *Parasitology Research*, [s. l.], v. 109, n. 4, p.1059-1064, 2011.

SCHRANK, Augusto; VAINSTEIN, Marilene Henning. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, [s. l.], v. 56, n. 7, p.1267-1274, 15 dez. 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.03.008>>. Acesso em: 04 dez. 2019.

SAMUELS, Richard I. et al. Entomopathogenic organisms: Conceptual advances and real-world applications for mosquito biological control. **Open Access Insect Physiology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p.25-31, 2016.

SAMSON, Robert A.; EVANS, Harry C.; LATGÉ, Jean-Paul. **Atlas of Entomopathogenic Fungi**. Berlin: Springer, 1988. 187 p.

SANTOS, Eliene Maciel dos; ARAÚJO, Rosivaldo Cordeiro de. *Fitossanidade: Princípios Básicos e Métodos de Controle de Doenças e Pragas Vegetais*. São Paulo: Érica, 2015. 136 p.

SANTOS, Rodrigo da Silva et al. Mecanismos celulares e moleculares envolvidos no processo de transição dimórfica em fungos patogênicos humanos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 10, n. 1, p.105-116, 2012. Disponível em: <<http://periodicos.unincor.br/index.php/revistaunincor/article/view/604>>. Acesso em: 01 dez. 2019.

SCHOLTE, Ernst-Jan et al. Infection of malaria (*Anopheles gambiae* s. s.) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vectors with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Malaria Journal**, [s. l.], v. 29, n. 2, 15 set. 2003. Disponível em: <<https://rdcu.be/bZ1w2>>. Acesso em: 02 jan. 2020.

SILVA, A. P. et al. Bioformulations in Pest Control – A Review. **Annual Research & Review in Biology**, v. 5, n. 6, p. 535-543, 21 nov. 2014.

SILVA, E. A. R. et al. Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de *Leptopharsa heveae* (Hemiptera: Heteroptera, Tingidae). **Arquivos do Instituto Biológico**. Instituto Biológico, [s. l.], v. 79, n. 4, p.549-556, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/27004>>. Acesso em: 03 jan. 2020.

SILVA, Neirielen Francisco da. **UMA PROPOSTA DE INTERVENÇÃO NO COMBATE E CONTROLE DE PEDICULOSES NA ESCOLA MUNICIPAL DE EDUCAÇÃO INFANTIL**. 2015. 27 f. Monografia (Especialização) - Curso de Curso de Especialização em Estratégia Saúde da Família, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberlândia, 2015.

SMITH, K. E.; WALL, R.; FRENCH, N. P.. The use of entomopathogenic fungi for the control of parasitic mites, *Psoroptes spp.* **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 92, n. 2, p.97-105, 2000.

SOUZA, E. J. et al. Ação do fungo *Beauveria bassiana* associado a gel polimerizado de celulose no controle do carrapato *Anocentor nitens* em teste de campo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, [s. l.], v. 61, n. 1, p.163-169, 2009.

SPADOTTO, C. A.; SPADOTTO, C. A. Problemas ambientais no manejo de pastagens: uso de pesticidas e fertilizantes e mineralização do rebanho. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 23., 2006, Piracicaba. **As pastagens e o meio ambiente**. Piracicaba: FEALQ, 2006. p. 425-437. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1026370>>. Acessado em: 01 ago. 2019.

WALL, Richard. Ectoparasites: Future challenges in a changing world. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 1, p. 62-74, 2007.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed Editora S.A., 2012.

WARREN, L. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 10. ed. Porto Alegre: AMGH Editora Ltda., 2011.

ZHANG, Shu; ZHANG, Yong-Jie; LI, Zhi-Liang. Complete mitogenome of the entomopathogenic fungus *Sporothrix insectorum* RCEF 264 and comparative mitogenomics in Ophiostomatales. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [S.

L.], v. 103, n. 14, p.5797-5809, jul. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00253-019-09855-3>>. Acesso em: 01 dez. 2019.

ZOUARI, S. et al. First molecular detection and characterization of zoonotic Bartonella species in fleas infesting domestic animals in Tunisia. **Parasites & Vectors**, v. 10, p. 436, 2017.