



Universidade de Brasília

Núcleo de Medicina Tropical

Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical

Biologia das doenças infecciosas e parasitárias

**ECToDEX, UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO ELETRÔNICA PARA
ECTOPARASITOS DE INTERESSE EM SAÚDE PÚBLICA:
DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO PILOTO**

Mestranda: Joana de Albuquerque Ribeiro

Orientador: Rodrigo Gurgel Gonçalves

Coorientador: Gilberto Salles Gazeta

Brasília - DF, fevereiro de 2023

JOANA DE ALBUQUERQUE RIBEIRO

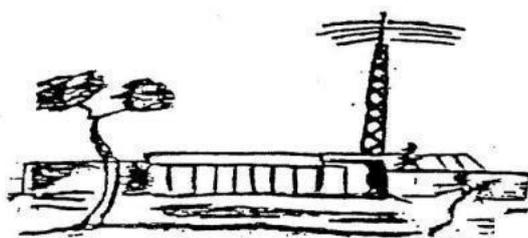
DISSERTAÇÃO:

**ECToDEX, UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO ELETRÔNICA PARA
ECTOPARASITOS DE INTERESSE EM SAÚDE PÚBLICA:
DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO PILOTO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical da Universidade da Brasília para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical, na área de concentração: Biologia das doenças infecciosas e parasitárias (DIP), estudos de agentes etiológicos, reservatórios e vetores das DIP.

Orientador: Rodrigo Gurgel Gonçalves

Coorientador: Gilberto Salles Gazeta



Brasília - DF, fevereiro de 2023

Ficha Catalográfica

de de Albuquerque Ribeiro, Joana
ECTODEx, UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO ELETRÔNICA PARA
ECTOPARASITOS DE INTERESSE EM SAÚDE PÚBLICA: DESENVOLVIMENTO
E AVALIAÇÃO PILOTO / Joana de Albuquerque Ribeiro;
orientador Rodrigo Gurgel Gonçalves; co-orientador Gilberto
Salles Gazeta. -- Brasília, 2023.
196 p.

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) --
Universidade de Brasília, 2023.

1. Ectoparasitos. 2. Aplicativo. 3. Chaves eletrônicas.
4. Vigilância . 5. Saúde Pública. I. Gurgel Gonçalves,
Rodrigo, orient. II. Salles Gazeta, Gilberto, co-orient.
III. Título.

**ECToDEX, UMA CHAVE DE IDENTIFICAÇÃO ELETRÔNICA PARA
ECTOPARASITOS DE INTERESSE EM SAÚDE PÚBLICA:
DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO PILOTO**

Universidade de Brasília

Banca examinadora

Prof Dr Rodrigo Gurgel Gonçalves (Orientador)

Universidade de Brasília UnB

Prof Dr Gilberto Salles Gazêta (Coorientador)

Fiocruz-Rio de Janeiro

Prof Dra Juliana Lott de Carvalho

Universidade de Brasília- UnB

Prof Dra Marina Regina Frizzas

Universidade de Brasília-UnB

Dr Claudio Manuel Rodrigues

Fiocruz- Rio de Janeiro

DEDICATÓRIA

À Marcos Antônio Guedes Ribeiro e Maria de Fátima de Albuquerque Ribeiro, meus amados pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, aos meus pais, Marcos e Fátima, a quem devo todas as conquistas por mim alcançadas, tendo todo o apoio e cuidado necessários até aqui. Ao meu irmão, Rafael, quem dividiu os momentos mais importantes comigo e me presenteou com uma cunhada amiga, Juliana, e, principalmente, com duas pequenas pessoas que são donas do meu coração: meus sobrinhos, Maria Luísa e Vinícius.

Agradeço ao meu orientador, professor Doutor Rodrigo Gurgel Gonçalves, por toda a orientação e apoio pessoal na execução desta pesquisa. Agradeço ao meu coorientador, professor Doutor Gilberto Salles Gazêta, quem me abriu as portas do laboratório da Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, proporcionando o melhor meio de formar o conhecimento necessário para a pesquisa. Ao professor Doutor Fernando Abad-Franch, o qual participou de forma ativa na análise estatística deste estudo, meus sinceros agradecimentos. E ao Doutor Douglas de Almeida Rocha e Maxwell Ramos de Almeida por toda a ajuda durante o desenvolvimento do projeto. Torço para que muitos tenham a sorte de ter um apoio como o que recebi de todas as partes.

Ao grupo de pesquisa do Laboratório de Referência Nacional em Vetores de Riquetsioses e ao Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores da Universidade de Brasília, pelo apoio. Aos colegas desses e de outros laboratórios que cederam parte do seu tempo para a validação do presente estudo.

Aos amigos que pude conhecer ao longo dessa e de outras jornadas da minha vida e aos que permaneceram, pelos momentos bons e ruins que dividimos. De alguma forma, cada um tem participação nesta etapa também. Minha gratidão por isso!

Por fim, e não menos importante, agradeço às instituições que me acolheram e sediaram a realização deste trabalho, a Universidade de Brasília e a Fundação Oswaldo Cruz.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para essa pesquisa, meus sinceros agradecimentos.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EUA	Estados Unidos da América
GLMMs	Modelos generalizados lineares mistos
Hmisc	Harrell Miscellaneous.
IC	Intervalo de confiança
LRNVR	Laboratório de Referência Nacional do Vetores de Rickettsioses
min	Minuto
PKEY	do inglês print key (chave impressa)
UnB	Universidade de Brasília

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A e B carrapato Ixodídeo. A. Fêmea, com escudo restrito à região anterior. B. Macho, com escudo recobrimdo todo o idiossoma. C e D carrapato Argasídeo. C. Vista dorsal. D. Vista ventral.	23
Figura 2. Piolhos que ocorrem em humanos. A. <i>Pediculus humanus humanus</i> fêmea. B. <i>Pediculus humanus capitis</i> fêmea. C. <i>Pediculus humanus capitis</i> macho. D. <i>Phthirus pubis</i> fêmea com ovo preso ao fio.	26
Figura 3. Características morfológicas das principais espécies de pulga de interesse para a saúde pública. A. <i>Xenopsylla cheopis</i> . B. <i>Pulex irritans</i> . C. <i>Ctenocephalis canis</i> . D. <i>Ctenocephalides felis</i> . E. <i>Tunga penetrans</i>	29
Figura 4. <i>Cimex lectularius</i> vista dorsal e ventral.	31
Figura 5. Exemplo de chave tradicional.	33
Figura 6. Exemplo da cybertaxonomia em que é possível observar dados como: características do táxon, nome, descritores, comentários e fotos.	35
Figura 7. Funcionalidades do site TickSpotters.	37
Figura 8. Página inicial do TickEncounter.	37
Figura 9. Aplicativo Tekenbeet.	38
Figura 10. Aplicativo Tekenscanner.	39
Figura 11. Menu dos aplicativos Dex e suas funcionalidades.	40
Figura 12. Morfologia do corpo dos ectoparasitos. A) Exemplos de ectoparasitos da classe Insecta. B) Exemplos de ectoparasitos da classe Arachnida. 1: cabeça, 2: tórax, 3: abdome, 4: antenas, 5: gnatossoma, 6: idiossoma.	56
Figura 13. Morfologia das pernas de <i>Pediculus humanus</i> (A); <i>Phthirus pubis</i> (B) <i>Cimex</i> (C). As setas indicam os últimos segmentos das pernas, em A e B formando uma garra.	57
Figura 14. Morfologia do pronoto de <i>Cimex</i> . A: <i>Cimex hemipterus</i> . B: <i>Cimex lectularius</i> . As setas indicam a margem anterior do pronoto, profundamente côncava em B.	57
Figura 15. Morfologia do tórax. A) Segmentos curtos de <i>Tunga penetrans</i> ; B) Cerdas em formato de pente de <i>Ctenocephalides</i> spp. e C) Segmentos mais largos de outras espécies de pulgas.	58
Figura 16. Ctenídios e formato da cabeça de A) <i>Ctenocephalides canis</i> e B) <i>Ctenocephalides felis</i>	58
Figura 17. Cerdas presentes na cabeça. A) Com duas fileiras na cabeça em forma de V em <i>Xenopsylla</i> ; B) Uma cerda na cabeça em <i>Pulex irritans</i> e C) Três fileiras paralelas em <i>Polygenis</i> sp.	59
Figura 18. Implantação da cerda antipigidial. A) Em discreto tubérculo (I); B) Em nítido tubérculo (<i>X. brasiliensis</i>).	59

- Figura 19.** Morfologia da espermateca. A) Corpo da espermateca (1) não mais largo que a base da cauda (2) (*X. cheopis*); B) Corpo da espermateca (1) mais largo que a base da cauda (2) (*X. brasiliensis*).59
- Figura 20.** A) Carrapato mole (Argasidae) com tegumento rugoso e ausência de escudo dorsal. B) e C) Carrapatos duros (Ixodidae) com tegumento liso e presença de escudo dorsal. Em B) o escudo é amplo (macho) e em C) mais curto (fêmea). ..60
- Figura 21.** Periferia do corpo. A) *Argas miniatus* mostrando a periferia achatada e B) *Ornithodoros* cuja periferia não é diferenciada.61
- Figura 22.** Morfologia das bochechas em Argasidae. A) Bochechas muito desenvolvidas em *Ornithodoros rietcorraei*. B) Bochechas ausentes em *Ornithodoros rostratus* e *O. brasiliensis*. Fonte:.....61
- Figura 23.**Extremidade do tarso e pré-tarso presente no 4º par de pernas em *O. brasiliensis* (A) e ausente em *O. rostratus* (B). Fonte: Aragão (1931).61
- Figura 24.**Sulco anal: A) anterior ao ânus em *Ixodes* sp. B) Posterior ao ânus nas demais espécies.62
- Figura 25.**Coxas com aumento progressivo e peritrema em formato de disco de *Dermancetor nitens* (A) em contraste com as características apresentadas pelas demais espécies (B).62
- Figura 26.** Morfologia dos palpos de *Rhipicephalus* (A) e *Amblyomma* (B).63
- Figura 27.** Morfologia dos palpos de *Rhipicephalus*. A) Quelíceras do mesmo tamanho dos palpos e denteção do hipostômio 3/3 B) Quelíceras maiores que os palpos e denteção do hipostômio 4/4.63
- Figura 28.** Dimorfismo sexual em *Amblyomma*. A) Escudo dorsal completo em macho. B). Escudo restrito à porção anterior do idiossoma em fêmea64
- Figura 29.** Morfologia das coxas em *Amblyomma*. A) Espinho da coxa I curto em *Amblyomma longirostre* e (*A. parkeri*). As demais espécies possuem esse espinho longo(B).65
- Figura 30.** Morfologia das coxas em *Amblyomma*. A) Espinhos da coxa I desiguais, B) subiguais, C) Espinhos subiguais com a altura menor que a coxa. D) espinhos subiguais com altura maior que a coxa terminando em ponta reta E) espinhos subiguais com altura maior que a coxa terminando em ponta curva para fora.65
- Figura 31.**Espinhas da coxa IV. A) Coxa IV com duas espinhas. B) Coxa IV apenas com 1 espinha.66
- Figura 32.** Altura do espinho da coxa I, em A) menor que a altura da coxa, em B) maior que a altura da coxa, terminando em ponta reta e C) maior que a altura da coxa, com o externo terminando em ponta encurvada para fora.66
- Figura 33.** Ornamentação do escudo e presença de sulco marginal. A) Manchas esbranquiçadas nas porções laterais, sulco marginal distinto; B) Escudo castanho com elevações escuras sem pontuações nas porções mediano-posterior e lateral, sulco marginal incompleto e C em formato de J, sulco marginal ausente.67
- Figura 34.** Morfologia do sulco marginal em machos de *Amblyomma*. A) Sulco marginal incompleto (*A. longirostre*) e B) completo (*A. parkeri*). Fonte:.....67

Figura 35. Morfologia do hipostômio de fêmeas de <i>Amblyomma</i> . A) Hipostômio lanceolado (<i>A. longirostre</i>) e B) hipostômio espatulado (<i>A. parkeri</i>).	67
Figura 36. Prolongamentos nos festões em <i>Amblyomma</i> . As setas indicam prolongamentos moderados (A) ou não (B).	68
Figura 37. Morfologia do escudo em <i>Amblyomma</i> . A) Escudo sem ornamentação (<i>A. parvum</i>) e B) escudo com ornamentação (<i>A. dubitatum</i>).	68
Figura 38. Morfologia da coxa IV em <i>Amblyomma</i> A) Espinho da coxa IV curto (<i>A. sculpturatum</i>). B) Espinho da coxa IV longo (<i>A. brasiliense</i> e <i>A. dubitatum</i>).	69
Figura 39. Escudo de <i>A. brasiliense</i> (A) e <i>A. dubitatum</i> (B).	69
Figura 40. Sulco marginal. As setas indicam em (A) sulco marginal ausente em <i>A. naponense</i> e (B) sulco marginal presente.	70
Figura 41. Morfologia do escudo em <i>Amblyomma</i> . A) Escudo castanho claro com manchas esbranquiçadas ou acobreadas (<i>A. sculptum</i> e <i>A. cajennense</i>). B) Escudo com listras claras (<i>A. tigrinum</i> e <i>A. triste</i>).	70
Figura 42. Morfologia do peritrema em <i>Amblyomma</i> . A) Peritrema em formato de vírgula (<i>A. tigrinum</i>). B) Peritrema oval (<i>A. triste</i>).	70
Figura 43. A) Mapa de distribuição de <i>A. sculptum</i> e B) <i>A. cajennense</i>	71
Figura 44. Morfologia do espinho interno da coxa I de fêmeas de <i>Amblyomma</i> . A) Vestigial. B) não vestigial.	72
Figura 45. Ornamentação do escudo de fêmeas de <i>Amblyomma</i> salientando a interrupção (A) ou não (B) da mancha clara central.	72
Figura 46. Escudo de espécies de <i>Amblyomma</i> . A.(<i>A. parvum</i> ; B. <i>A. sculptum</i> , <i>A. cajennense</i> , <i>A. naponense</i> e <i>A. brasiliense</i> ; C. <i>A. sculpturatum</i> ; D. <i>A. dubitatum</i> ; E. <i>A. oblongoguttatum</i> ; F. <i>A. aureolatum</i> ; G. <i>A. nodosum</i> e H. <i>A. ovale</i>	72
Figura 47. Detalhe da coloração do escudo de <i>A. ovale</i> , variado de acobreado (A) à esverdeado (B).	73
Figura 48. Dentição do hipostômio em <i>Amblyomma</i> . A. 3/3 (<i>A. sculptum</i> , <i>A. cajennense</i> e <i>A. naponense</i>). B. 4/4 (<i>A. brasiliense</i>). Fonte: Aragão (1961).	73
Figura 49. Tamanho do hipostômio em <i>Amblyomma</i> . A. longo (<i>A. sculptum</i> e <i>A. cajennense</i>). B. curto (<i>A. naponense</i>).	73
Figura 50. Formato da abertura genital em <i>Amblyomma</i> . A) Abertura genital em formato de U (<i>A. sculptum</i>). B) em formato de cálice (<i>A. cajennense</i>).	74
Figura 51. Telas do VETORDEX e ECTODEX, mostrando as perguntas ilustradas e a identificação final, com informações sobre o ectoparasito e sua foto. Atualmente VETORDEX inclui três aplicativos, LUTZODEX (Rocha et al. 2019), TRIATODEX (Gurgel-Gonçalves et al. 2021) e EctoDex. Mais detalhes do aplicativo em https://apps.apple.com/br/app/vetordex/id1602553121	75
Figura 52. Acurácia (porcentagem de identificações corretas) entre as rodadas de identificação. Os valores médios e intervalos de confiança foram muito similares entre a primeira (representado por 0) e a segunda rodada (representada por 1).	75
Figura 53. Resultados das análises exploratórias bivariadas. Acurácias do ECTODEX de acordo com as características dos usuários A) Gênero; B) Alta	

expertise; C) Treinamento especializado; D) Laboratório de referência; E) Biologia e F) Idade. Em B a E, 0 indica ausência da característica e 1 a presença. Em F as idades estão representadas em anos de vida (20 a 50 anos).....79

Figura 54. Acurácia e seus intervalos de confiança estimados pelos modelos exploratórios bivariados para os grupos de ectoparasitos. O gráfico mostra que os piolhos foram mais corretamente identificados que os grupos de ectoparasitos.....81

Figura 55. Porcentagem de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33 voluntários usando EctoDex (azul) e chaves dicotômicas impressas (salmão): variação entre usuários. As previsões são derivadas do modelo completo. O aumento das porcentagens de identificação correta associado com o uso do EctoDex foi maior entre os usuários menos habituados ao uso de chaves dicotômicas. Os três usuários com mais expertise em taxonomia de ectoparasitos estão destacados no eixo horizontal do painel da esquerda (caixa “Alta expertise”). Os boxplots mostram medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras verticais) das previsões do modelo; os valores das previsões individuais para cada espécime e usuário foram omitidos para melhorar a clareza da figura.82

Figura 56. Porcentagem de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33 usuários do ECTODEX e chaves dicotômicas: variação entre espécies. As previsões são derivadas do modelo completo. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras); os diamantes vermelhos são os outliers.82

Figura 57. Probabilidade de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33 usuários do ECTODEX (azul) e chaves dicotômicas (salmão): variação entre espécies e o ‘efeito ECTODEX’. As previsões são derivadas do modelo completo. Para cada espécie, a diferença entre os valores vermelhos (previsões para as chaves dicotômicas impressas) e azuis (previsões para ECTODEX) ilustra o aumento consistente das probabilidades de identificação correta associado com o uso do ECTODEX. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).....83

Figura 58. Tempo (em segundos) que os usuários gastaram para identificar diferentes grupos de ectoparasitos. Piolhos e percevejos de cama foram mais rapidamente identificados que espécimes de carrapatos e pulgas.86

Figura 59. Tempo utilizado (em minutos) para identificar 21 espécies de ectoparasitos usando EctoDex (azul) e chave dicotômica impressa (salmão): variação entre os usuários. Os valores são previsões do modelo completo. Para cada espécie, a diferença entre os valores em salmão (previsões para as chaves dicotômicas impressas) e azul (previsões para EctoDex) ilustra a diminuição consistente do tempo de identificação associada com o uso do EctoDex. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).87

Figura 60. Tempo utilizado (em minutos) para identificar 21 espécies de ectoparasitos por 33 usuários do ECTODEX (azul) e chaves dicotômicas (salmão): variação entre espécies e o ‘efeito ECTODEX’. As previsões são derivadas do modelo completo. Para cada espécie, a diferença entre os valores vermelhos (previsões para as chaves dicotômicas impressas) e azuis (previsões para

ECTODEX) ilustra a diminuição consistente do tempo de identificação associado com o uso do ECTODEX. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).....88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Efeitos esperados de características dos usuários e dos ectoparasitos no desempenho do ECTODEX.	44
Tabela 2. Características dos usuários do ECTODEX e da chave dicotômica impressa e número de tarefas de identificação realizadas.....	50
Tabela 3. Espécimes usados para testar o desempenho do ECTODEX: taxonomia e códigos.....	52
Tabela 4. Espécies de piolhos, percevejos de cama, pulgas e carrapatos incluídas no estudo.....	55
Tabela 5. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos por usuários com treinamento especializado de acordo com suas características usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).	77
Tabela 6. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos por usuários sem treinamento especializado de acordo com suas características usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).	78
Tabela 7. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos segundo os principais grupos (carrapatos, percevejos, piolhos e pulgas) usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).	80
Tabela 8. Tempo para identificar os ectoparasitos segundo as características dos usuários com treinamento especializado usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).....	84
Tabela 9. Tempo para identificar os ectoparasitos segundo as características dos usuários sem treinamento especializado usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).....	85

ÓRGÃOS FINANCIADORES

O projeto de Pós-graduação (Mestrado) foi financiado com a concessão de por 18 meses de bolsa pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal em Nível Superior – Capes.

SUMÁRIO

RESUMO	17
ABSTRACT	19
1 INTRODUÇÃO.....	21
1.1 Importância dos artrópodes ectoparasitos para a saúde pública.....	21
1.1.1. Acari (carrapatos).....	22
1.1.2. Phthiraptera (piolhos).....	25
1.1.3. Siphonaptera (pulgas).....	27
1.1.4. Percevejo de cama	30
1.2. Identificação de espécies e cybertaxonomia	32
1.3. Ferramentas para identificação de vetores e ocorrência de doenças	35
1.4. Aplicativos da linha Dex.....	39
2 JUSTIFICATIVA	41
3 OBJETIVOS	43
3.1. Objetivo geral	43
3.2. Objetivos específicos.....	43
3.3. Hipóteses.....	44
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	46
4.1 Fonte das imagens e informações das espécies.....	46
4.2 Chaves de identificação.....	46
4.3 Desenvolvimento do ECTODEX	47
4.4 Desempenho do ECTODEX.....	48
4.5 Análise estatística.....	53
5 RESULTADOS.....	55
5.1 Espécies	55

5.2 Passos da identificação no aplicativo	56
5.3 Descrição do ECTODEX	74
5.4 Desempenho do ECTODEX.....	74
5.4.1 Análise exploratória da acurácia	74
5.4.2 Análise da acurácia usando modelos generalizados lineares mistos.....	81
5.4.3 Análise exploratória do tempo de identificação	83
5.4.4 Análise do tempo de identificação usando modelos generalizados lineares mistos	86
6 DISCUSSÃO	89
7 CONCLUSÕES	93
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

Apêndice 1. Chave dicotômica para identificação de adultos piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos de importância para a saúde pública no Brasil	105
---	-----

Apêndice 2. Script do R para análises estatísticas do estudo.	116
--	-----

Apêndice 3. Manuscrito para submissão na revista Parasites & Vectors (versão português)	11653
---	-------

RESUMO

Embora fundamental para o controle e vigilância eficiente de várias doenças infecciosas importantes (incluindo peste, febre maculosa ou doença de Lyme), a identificação de artrópodes ectoparasitos geralmente depende de chaves impressas desatualizadas, incompletas e de difícil acesso. Com o objetivo de facilitar a identificação de ectoparasitos, desenvolvemos uma chave pictórica politômica (“ECTODEx”) baseada em aplicativo Android/iOS para 34 espécies de carrapatos, piolhos, pulgas e percevejos de interesse em saúde pública. Em uma avaliação piloto, comparamos o ECTODEx com uma chave dicotômica impressa (“PKEY”) em termos de (i) porcentagem de identificações corretas (“acurácia”) e (ii) tempo gasto para concluir uma tarefa de identificação (“tempo”). Além disso, testamos se e como o desempenho foi afetado pelas características do usuário (por exemplo, idade, sexo, treinamento especializado ou expertise) e espécies de ectoparasitos. Cada um dos 33 usuários brasileiros recebeu até 30 ‘espécimes-problema’ codificados (21 espécies) preservados em tubos ou em lâminas de microscópio, e foi solicitado a identificar cada espécime para espécie usando ECTODEx e PKEY (1356 tarefas de identificação no total). Após análises exploratórias, ajustamos modelos lineares mistos generalizados (GLMMs) contabilizando dependências entre observações repetidas pelo mesmo usuário; do mesmo espécime; e de ectoparasitos do mesmo gênero. Nossas análises mostram que o ECTODEx melhorou a identificação de ectoparasitos entre usuários e espécies, tanto em termos de acurácia quanto de tempo, em relação ao PKEY. A acurácia melhorou muito entre usuários sem treinamento especializado em taxonomia de ectoparasitos, com valores previstos pelo GLMM subindo de ~57,2% (PKEY; CI95% [40,8–72,2]) para ~77,1% (ECTODEx; [63,5–86,8]), do que entre usuários com tal treinamento especializado – cuja acurácia aumentou apenas ligeiramente, de ~73,1% (PKEY; [60,4–82,9]) para ~74,4% (ECTODEx; [62,0–83,9]). As identificações de usuários com alta expertise foram, em geral, mais precisas (ECTODEx: ~87%; PKEY: ~81%) do que

aquelas de usuários não especialistas (~59% e ~47%, respectivamente); por outro lado, a idade, o gênero ou a formação acadêmica do usuário não afetaram significativamente a acurácia com nenhuma das chaves. A acurácia variou amplamente entre as espécies de ectoparasitos, de 12 a 18% para o carrapato *Amblyomma parvum* a ~ 98 a 99% para o piolho *Pediculus humanus*. Os GLMMs de tempo também mostraram que o ECTODEx acelerou as tarefas de identificação, especialmente para usuários sem treinamento especializado em taxonomia de ectoparasitos (PKEY: ~2,8 min/tarefa, [2,3–4,0]; ECTODEx: ~2,0 min/tarefa, [1,4–2,8]); a economia de tempo foi modesta para usuários com tal treinamento (PKEY: ~2,5 min/tarefa, [1,9–3,3]; ECTODEx: ~2,1 min/tarefa, [1,6–2,8]). Mais uma vez, a alta expertise também levou a uma grande economia de tempo (~1,5 min/tarefa, em média, vs. ~3,7 min/tarefa para não especialistas), e a idade, sexo ou formação acadêmica do usuário não afetaram significativamente o tempo para identificação. Também encontramos grande variação entre as espécies, com valores médios previstos variando de ~3–4 min/tarefa para *A. sculptum* a ~1 min/tarefa para *P. humanus*. Concluímos que o ECTODEx é promissor como meio de melhorar a identificação de ectoparasitos em termos de acurácia e economia de tempo. As melhorias foram maiores para usuários sem treinamento taxonômico especializado formal – cujo desempenho geral, ao usar ECTODEx, tornou-se comparável ao de usuários treinados formalmente. Nosso estudo piloto também destacou, no entanto, as dificuldades substanciais inerentes à identificação de alguns ectoparasitos de interesse de saúde pública, incluindo várias espécies de carrapatos do gênero *Amblyomma*.

Palavras-Chave: Ectoparasitos, App, Chaves eletrônicas, Vigilância, Saúde Pública

ABSTRACT

Although critical for the efficient control-surveillance of several major infectious diseases (including plague, spotted fever, or Lyme disease), identification of ectoparasitic arthropods often relies on outdated, incomplete, and hard-to-access printed keys. Aiming to facilitate ectoparasite identification, we developed an Android/iOS app-based pictorial, polytomous key ("ECTODEX") to 34 species of ticks, lice, fleas, and bedbugs of public-health interest. In a pilot evaluation, we compared ECTODEX with a printed dichotomous key ("PKEY") in terms of (i) percentage of correct identifications ("accuracy") and (ii) time taken to complete an identification task ("time"). Moreover, we tested whether and how performance was affected by user traits (e.g., age, gender, background training, or prior expertise) and ectoparasite species. Each of 33 Brazilian users received up to 30 coded 'problem specimens' (21 species) preserved in tubes or on microscope-slides and was asked to identify each specimen to species using ECTODEX and PKEY (1356 identification tasks in total). After exploratory analyses, we fitted generalized linear mixed models (GLMMs) accounting for dependencies among repeated observations by the same user; of the same specimen; and from same genus ectoparasites. Our analyses show that ECTODEX overall improved ectoparasite identification across users and species, both in terms of accuracy and time, relative to PKEY. Accuracy improved by a larger amount among users without specialized training in ectoparasite taxonomy, with GLMM-predicted values rising from ~57.2% (PKEY; CI_{95%} [40.8–72.2]) to ~77.1% (ECTODEX; [63.5–86.8]), than among users with such specialized training – whose accuracy rose only slightly, from ~73.1% (PKEY; [60.4–82.9]) to ~74.4% (ECTODEX; [62.0–83.9]). Identifications by users with high prior expertise were overall more accurate (ECTODEX: ~87%; PKEY: ~81%) than those by non-expert users (~59% and ~47%, respectively); in contrast, user age, gender, or background general training did not significantly affect accuracy with either key. Accuracy varied widely across ectoparasite

species, ranging from 12–18% for the tick, *Amblyomma parvum* to ~98–99% for the louse, *Pediculus humanus*. Time GLMMs also showed that ECTODEX speeded-up identification tasks particularly for users without specialized training in ectoparasite taxonomy (PKEY: ~2.8 min/task, [2.3–4.0]; ECTODEX: ~2.0 min/task, [1.4–2.8]); time-saving was modest for users with such training (PKEY: ~2.5 min/task, [1.9–3.3]; ECTODEX: ~2.1 min/task, [1.6–2.8]). Again, high prior expertise also led to large time-savings (~1.5 min/task, on average, vs. ~3.7 min/task for non-experts), and user age, gender, or background general training did not significantly affect time-to-identification. We also found large among-species variation, with average predicted values ranging from ~3–4 min/task for *A. sculptum* to ~1 min/task for *P. humanus*. We conclude that ECTODEX holds promise as a means to improve ectoparasite identification in terms of both accuracy and time-savings. Improvements were larger for users lacking formal specialized taxonomic training – whose overall performance, when using ECTODEX, became comparable to that of formally trained users. Our pilot study also highlighted, however, the substantial difficulties inherent to identifying some ectoparasites of public-health interest, including several tick species in the genus *Amblyomma*.

Keywords: Ectoparasites, App, Electronic Keys, Surveillance, Public Health

1 INTRODUÇÃO

1.1 Importância dos artrópodes ectoparasitos para a saúde pública

Os artrópodes são um conjunto diversificado de invertebrados, correspondendo a mais de 80% de todas as espécies animais e ocupando quase todos os habitats conhecidos. Contudo, algumas espécies desenvolveram a capacidade de viver diretamente à custa de hospedeiros de outra espécie, desenvolvendo adaptações para habitar, obter alimento e ainda escapar das defesas imunológicas do hospedeiro (Zelmer 1998, Wall e Shearer, 2008). Essa relação é conhecida como parasitismo, com grande parte deste grupo taxonomicamente diverso de organismos – os ectoparasitos –, infestando a pele de seres humanos e outros animais (Wall e Shearer, 2008; Quah 2016).

Muitos ectoparasitos são conhecidos por serem vetores de patógenos, incluindo aqueles que causam doença de Lyme, peste, tifo e muitas outras (Blaine e Pritt, 2014), normalmente transmitido aos hospedeiros enquanto se alimentam ou ocasionalmente defecam (Hopla et al., 1994). Causam lesões, como irritação pela picada de insetos e ácaros, ou prejuízos orgânicos pelas toxinas que têm reação irritativa e inflamatória (Munõz, 2008).

A importância dos artrópodes relacionados à saúde pública tem aumentado com a ampliação das áreas de ocorrência de algumas espécies de vetores e de ectoparasitos (Hamer et al., 2010; Goddard, 2012) e devido aos processos de urbanização que aproximam o homem dos animais silvestres (Ortiz et al. 2021). Por exemplo, os carrapatos vetores da Febre Maculosa no Brasil têm requisitos ecológicos específicos, o que influencia a transmissão e a distribuição geográfica da doença. A presença dos carrapatos no local provável de infecção muitas vezes é a única informação para auxiliar as hipóteses diagnósticas e realizar o tratamento oportuno e eficaz dos pacientes (Szabó et al., 2013). A alteração da paisagem pelo

homem também resultou na expansão das populações de capivaras, hospedeiras adequadas para carrapatos *Amblyomma sculptum* e associadas à altas infestações ambientais (Ferraz et al., 2007; Heijden et al., 2005; Perez et al., 2008; Queirogas et al., 2012).

O filo Arthropoda compreende as classes Acari e Insecta (Wall e Shearer, 2008) em que estão inseridos os objetos desse estudo: as ordens Ixodida, Siphonaptera, Phthiraptera e Hemiptera. Nos tópicos seguintes são descritos aspectos morfológicos, biológicos e a importância desses grupos para a saúde pública.

1.1.1. Acari (carrapatos)

Os carrapatos (Acari: Ixodida) são artrópodes ectoparasitos que vivem parte de sua vida na superfície do corpo de hospedeiros - animais domésticos, silvestres e ocasionalmente o homem (Szabo et al., 2013; Ereemeeva e Dasch, 2015). Apresentam ampla distribuição, ocupando todas as seis regiões zoogeográficas, principalmente os trópicos (Dantas-torres e Otranto, 2022). Ixodida inclui 951 espécies (Du et al., 2018; Kwak et al., 2018; Dantas-Torres, 2018); 70 espécies são consideradas estabelecidas no Brasil, sendo 47 da família Ixodidae e 23 na família Argasidae. Os gêneros *Amblyomma* (32 spp.) e *Ornithodoros* (18 spp.) são os mais representativos (Dantas-Torres, 2019).

Todos os estágios ativos dos carrapatos são hematófagos, realizando ecdises de um estágio para o outro e a ovipostura geralmente no ambiente; alguns carrapatos monoxênicos realizam as ecdises no hospedeiro (Klompen et al., 1996; Barros-Battesti et al., 2006). O problema mais importante associado à infestação de carrapatos é a competência para transmitir agentes patogênicos como vírus, bactérias, protozoários e nematóides a animais e seres humanos (Sonenshine, 2014, Dantas-Torres et al., 2012a). Exemplos de carrapatos com tais competências são *Amblyomma americanum* nos Estados Unidos e *A. sculptum* na América do Sul (Dantas-Torres e Otranto, 2022).

Os carrapatos possuem cabeça, tórax e abdômen fusionados formando o idiossoma. Numa região separada, o gnatossoma ou capítulo, inserem-se os apêndices bucais (Ferreira, 2012; Estrada-Peña, 2017). Os carrapatos são ácaros de grande porte, com todos os estágios sem antenas (Parola, 2001, Dantas-torres e Otranto, 2022).

As duas principais famílias de carrapatos são Ixodidae, a qual inclui carrapatos duros em virtude da placa esclerotizada em sua superfície dorsal; e Argasidae, os carrapatos moles, estes sem a placa esclerotizada e com superfície com aspecto de couro (Figura 1) (Estrada-Peña, 2017).

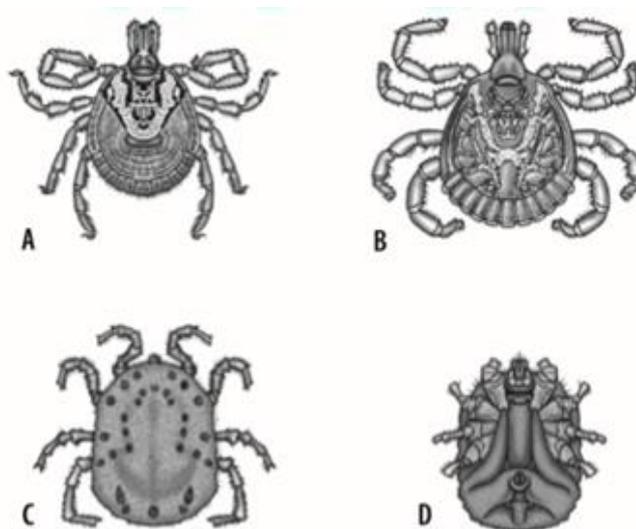


Figura 1. A e B carrapato Ixodídeo. A. Fêmea, com escudo restrito à região anterior. B. Macho, com escudo recobrendo todo o idiossoma. C e D carrapato Argasídeo. C. Vista dorsal. D. Vista ventral. Fonte: Adaptado de Ferreira, 2012.

Na família Ixodidae os adultos têm claro dimorfismo sexual – o escudo quitinizado cobre aproximadamente toda a superfície dorsal do corpo do macho, enquanto nas fêmeas se limita à metade anterior do corpo (Estrada-Peña, 2017, Dantas-torres e Otranto, 2022).

As peças bucais, inseridas no capítulo, posicionam-se anteriormente ao escudo. O capítulo é composto por um par de quelíceras, dois palpos segmentados e o hipostômio. A grande maioria dos carrapatos possui hipostômio bem desenvolvido, e os palpos são divididos em quatro

segmentos (artigos I-IV), podendo variar em morfologia (Dantas-torres e Otranto, 2022). Nos palpos o segmento distal é pequeno e retrátil (Estrada-Peña, 2017). Os olhos, quando presentes, localizam-se nas margens laterais do escudo em carrapatos ixodídeos e nas pregas supracoxais em carrapatos argasídeos (Estrada-Peña, 2017, Dantas-torres e Otranto, 2022).

Os carrapatos da família Argasidae distinguem-se dos Ixodidae por não possuírem áreas esclerotizadas no dorso. Em vez disso, apresentam discos e mamilões, conferindo ao corpo um aspecto elástico (Estrada-Peña, 2017). Os carrapatos do gênero *Ornithodoros* são capazes de induzir lesões graves diretamente associadas à picada. Esses tipos de lesões e doenças não infecciosas são referidos como toxicoses de carrapatos, cujos resultados variam de uma patologia local leve (dor e prurido) até a morte (Mans et al., 2004).

Os carrapatos podem causar danos diretos ao hospedeiro, cujo grau de gravidade depende das características da espécie de carrapato infestante e da intensidade da infestação, podendo ser vetores de uma série de patógenos, destacando-se os que causam a Febre Maculosa e a Doença de Lyme, grande problema na América Latina (Barros-Battesti et al., 2006; Labruna, 2009; Parola e Raoult, 2001, Oteo et al., 2014, Dantas-Torres e Otranto, 2022). No Brasil, 1.245 casos de febre maculosa foram notificados entre 2007 e 2015 (Oliveira et al., 2016). Destes, 411 levaram à morte, a maioria no sudeste do Brasil, onde a letalidade atingiu 55% (Dantas-Torres et al., 2019).

No Brasil, o principal agente etiológico da Febre Maculosa é *Rickettsia rickettsii* (Dantas-Torres, 2007; Labruna et al., 2011, Brasil, 2022). A taxa de carrapatos infectados por riquetsias em condições naturais pode chegar a 10% (Pinter et al., 2016). No entanto, a prevalência de *Rickettsia rickettsii* em *Amblyomma sculptum* é muito baixa (0,05–1,28%), mesmo em áreas onde a febre maculosa brasileira é endêmica (Costa et al., 2020). Os principais vetores da doença no Brasil são *A. sculptum*, *A. aureolatum* e *A. ovale* (Szabo et al., 2013). Espécies como *A. dubitatum* e *Rhipicephalus sanguineus* também são importantes para a manutenção do ciclo da doença

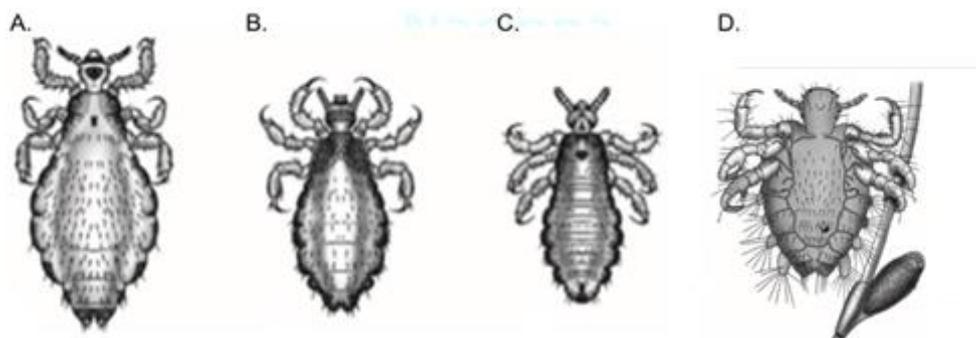
(Almeida et al., 2011; Brites-Neto et al., 2015; Gehrke et al., 2009; Cunha et al., 2009). A infecção resulta do parasitismo de um carrapato infectado. A mortalidade de carrapatos infectados com a *R. rickettsia* é maior, por isso é necessário um hospedeiro amplificador para manter a bactéria ativa na natureza. Algumas espécies de roedores, por exemplo, mantêm a bactéria na corrente sanguínea o tempo suficiente para que outros carrapatos se infectem (Burgdorfer, 1989). Os sintomas clássicos que geralmente ocorrem após um período de incubação de 5 a 10 dias incluem febre alta, dor de cabeça e mialgia acompanhado de uma possível erupção cutânea (Moreira et al., 2012). Outra rickettsia causadora de febre maculosa, *Rickettsia parkeri*, foi descrita mais recente no território brasileiro, em que os sintomas são menos graves que os causados por *R. rickettsii* (Nieri-Bastos et al., 2018; Spolidorio et al., 2010; Silva et al., 2011; Yoshinari et al., 2010).

A borreliose de Lyme, causada pela espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, é atualmente considerada a doença transmitida por vetores mais importante na Europa e nos Estados Unidos e que tem manifestações clínicas polimórficas (cutâneas, reumatológicas e neurológicas (Parola, 2001, Eldin et al, 2018). No Brasil, apesar de ainda haver dúvidas sobre a importância epidemiológica da doença de Lyme, alguns estudos apontam para a circulação de *Borrelia* sp. ou *Borrelia burgdorferi* s.l. no território nacional (Mantovani et al., 2012; Gonçalves et al., 2013; Gonçalves et al., 2015; Lopes et al., 2017; Rodrigues et al., 2017; Pacheco et al. 2019), bem como de borrelia do Grupo da Febre Recorrente (Muñhos-Leal et al., 2018) assinalando a importância da pesquisa desse bioagente e seus vetores para o diagnóstico diferencial e garantia da gestão da qualidade no Sistema de Vigilância no país.

1.1.2 Phthiraptera (piolhos)

A ordem Phthiraptera é composta por dois grandes grupos: Anoplura (sugadores hematófagos obrigatórios de mamíferos) e Mallophaga (os piolhos mastigadores ou mordedores dos pássaros, marsupiais e mamíferos)

(Lance, 2008). Os piolhos sugadores de sangue são mais importantes do que os piolhos mastigadores na transmissão de patógenos para seus hospedeiros (Mullen e Lance, 2018) e duas espécies, *Pediculus humanus* e *Phthirus pubis* (Figura 2), necessitam de humanos como hospedeiros (Coates, 2019). *Pediculus humanus* possui duas subespécies: *Pediculus humanus capitis* (piolho da cabeça) e *Pediculus humanus humanus* (piolho



do corpo) que causam a pediculose. *Phthirus pubis* (piolho do púbis ou chato) causa a fitirose, fitiríase ou pitiríase (Coates, 2019; Ferreira, 2012).

Figura 2. Piolhos que ocorrem em humanos. **A.** *Pediculus humanus humanus* fêmea. **B.** *Pediculus humanus capitis* fêmea. **C.** *Pediculus humanus capitis* macho. **D.** *Phthirus pubis* fêmea com ovo preso ao fio. Fonte: Adaptado de Ferreira (2012).

Os piolhos são pequenos insetos ápteros (até 10mm) achatados dorsoventralmente (Mullen, 2018). Os piolhos do corpo e da cabeça têm formato ovóide e medem 2 a 3 mm, já os piolhos pubianos medem 0,8 a 1,2 mm de diâmetro e são mais largos do que compridos (Coates, 2019). Nestes insetos a cabeça é mais estreita que o tórax, formada por antenas curtas e aparelho bucal picador-sugador (Ferreira, 2012). O abdômen alongado é composto por 11 segmentos esclerotizados e inúmeras cerdas, terminando na genitália. Nas fêmeas, a genitália é acompanhada por dois pares de gonópodos e no macho a genitália é relativamente grande, às vezes ocupando quase metade do comprimento do abdômen (Mullen e Lance, 2018). As pernas são bem desenvolvidas, com processo tibial oposto ao tarso, formando uma garra para se prender aos hospedeiros (Ferreira, 2012).

Os piolhos do corpo persistem como um problema significativo nas nações menos desenvolvidas em partes da África, Ásia, América Central e do Sul e nas populações de alguns moradores de rua em todo o mundo. Isso é significativo porque *P. humanus humanus* é o único piolho de humanos que é conhecido por transmitir patógenos naturalmente. *Pediculus humanus humanus* também tem sido implicado como um provável vetor histórico de *Yersinia pestis* (Mullen e Lance, 2018). Os piolhos do corpo podem transmitir bactérias que causam febre das trincheiras (causada pela *Bartonella quintana*), febre recidivante (*Borrelia recurrentis*) e tifo epidêmico (*Rickettsia prowazekii*), doenças potencialmente fatais e ainda relevantes (Coates, 2019; Light et al., 2010; Rauolt e Roux, 1999; Bonilla et al., 2009).

Os piolhos da cabeça, embora não sejam tipicamente importantes na transmissão de patógenos, podem transmitir mecanicamente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pyogenes*, causadoras de infecções na pele e nos tecidos. Sob condições ótimas de laboratório, os piolhos da cabeça podem transmitir o agente causador do tifo epidêmico (Mullen e Lance, 2018; Ferreira 2012).

1.1.3. Siphonaptera (pulgas)

As pulgas são ectoparasitos reunidos na ordem Siphonaptera, composta por aproximadamente 2.500 espécies (Lewis, 1993; Zhu et al., 2015). Pulgas, hematófagos obrigatórios de mamíferos e aves, são hospedeiros de uma ampla variedade de patógenos que podem ressurgir em forma epidêmica em muitas partes do mundo (Bitam, 2009). Esses ectoparasitas desempenharam um papel histórico nas pragas humanas e na 'Peste Negra' (peste bubônica), que se estima, durante a Idade Média, ter causado a morte de um terço da população mundial (Gubler, 2009). Podem, também, causar a tungíase, uma doença endêmica na América Latina (Coates, 2019).

A classificação de pulgas é baseada quase exclusivamente na morfologia quitinosa de espécimes adultos clarificados (Mullen e Lance,

2018). As pulgas são insetos ápteros sugadores de sangue, com 1,5-10 mm de comprimento (Iannino et al., 2017, Bitam, 2009). A cabeça é triangular e as antenas são dispostas em fossetas laterais (Ferreira, 2012) com suas antenas curtas, situadas em sulcos laterais e compostas por três segmentos (Iannino et al., 2017, Mullen, 2018). Muitas espécies carregam um ou mais pentes na cabeça, os ctenídeos, uma fileira de espinhos esclerotizados aumentados.

A natureza da ctenídia e cerdas especializadas (Figura 3) frequentemente refletem a pelagem ou os hábitos do hospedeiro, ajudando na prevenção do deslocamento dos cabelos ou penas (Iannino et al. 20197, Mullen, 2018). O aparelho bucal é do tipo picador-sugador composto por estiletos ou fascículo usados para perfurar a pele do hospedeiro. As pernas posteriores são aumentadas, permitindo-os saltar. No abdômen, os metâmeros encontram-se uns sobre os outros, além de possuírem numerosas cerdas com importância taxonômica. A distinção entre machos e fêmeas é feita pela morfologia do órgão genital, em que machos apresentam extremidade genital pontuda e fêmeas arredondada (Ferreira, 2012).

As pulgas são vetores de agentes como *Yersinia pestis* (peste bubônica) e *Rickettsia typhi* (tifo murino) (Mullen, 2018; Ferreira, 2012). Outras espécies, como *Polygenis bohlsi* têm importância indireta, pois podem transmitir a peste bubônica entre ratos silvestres e, destes, para ratos domiciliares, facilitando a emergência de epidemias (Serra-Freire, 2006).

A peste bubônica, mantida em áreas urbanas em roedores domésticos é causada pela infecção por *Yersinia pestis*. O patógeno é transmitido a esses roedores, especialmente por pulgas do gênero *Xenopsylla*. *Pulex irritans* também é assinalada como capaz de transmitir bacilos de peste (Mullen, 2018). O tifo murino é resultante da infecção pela bactéria *Rickettsia typhi* que pode causar febre leve em humanos. Os dois ciclos envolvidos na transmissão de *R. typhi* são: um ciclo clássico rato-pulga-rato e um ciclo peridoméstico envolvendo gatos, cães e suas pulgas (Gillespie et al. 2009). Embora essa zoonose seja tipicamente mantida em ratos peridomésticos por transmissão de pulgas, os seres humanos também

podem ser infectados (Mullen, 2018). A transmissão aos seres humanos ocorre quando as fezes de pulgas infectadas contaminam o local de sua alimentação ou outro local em que haja uma ferida (Azad et al., 1992).

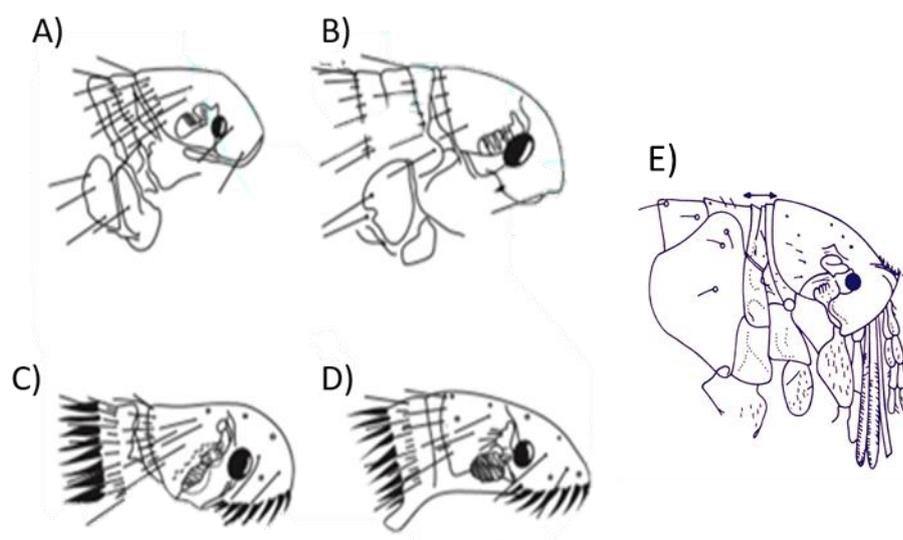


Figura 3. Características morfológicas das principais espécies de pulga de interesse para a saúde pública. **A.** *Xenopsylla cheopis*. **B.** *Pulex irritans*. **C.** *Ctenocephalis canis*. **D.** *Ctenocephalides felis*. **E.** *Tunga penetrans*. Fonte: Adaptado de Ferreira (2012) e Neves (2005).

Outra *Rickettsia* transmitida pelas pulgas é a *Rickettsia felis* (Iannino et al., 2017), uma riquetsiose humana emergente que foi diagnosticada em países como os Estados Unidos (Schriefer et al. 1994), França e Brasil (Raoult et al. 2001). No Brasil, tem sido encontrada com bastante frequência em *Ctenocephalides* spp. (Horta et al., 2014).

A tungiase é uma doença parasitária da pele disseminada em comunidades pobres, causada pela fêmea de pulgas pertencentes ao gênero *Tunga* (Iannino et al. 2017). A principal espécie associada a tungiase em humanos é *Tunga penetrans*, porém 12 das 14 espécies desse gênero são encontradas na América Latina (Harvey et al. 2021). As áreas mais

afetadas são as extremidades inferiores do corpo (Bitam et al. 2010) porém casos disseminados graves têm sido registrados principalmente entre pessoas de alta vulnerabilidade social (Heukelbach et al. 2001, Krüger et al. 2017).

1.1.4. Percevejo de cama

Os percevejos de cama são atualmente um dos ectoparasitos mais comuns encontrados no mundo, geralmente permanecendo em seus ninhos ou em espaços no ambiente entre os repastos sanguíneos obrigatórios. Existem cerca de 90 espécies que se alimentam de mamíferos e aves, sendo que algumas se adaptaram ao ambiente domiciliar, convivendo com humanos (Usinger 1966, Ferreira, 2012; Ibrahim 2017, Akhoundi et al. 2020).

Existem três espécies de percevejos associados a humanos: *Leptocimex boueti* em morcegos e homem na África Ocidental; *Cimex hemipterus* (percevejo tropical), se alimentando em humanos, galinhas e raramente morcegos nos trópicos do Velho e Novo Mundo; e *Cimex lectularius* (percevejo comum) (Figura 4) associado ao homem, morcegos, galinhas e ocasionalmente outros animais domésticos na maior parte do mundo (Usinger 1966; Doggett, 2009; Studdiford et al., 2012).

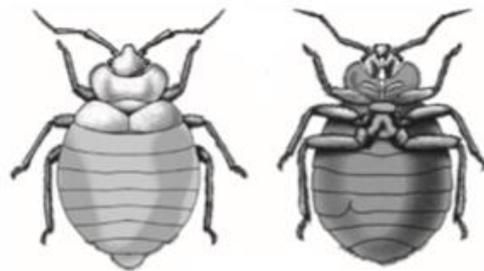


Figura 4. *Cimex lectularius* vista dorsal e ventral. Fonte: Adaptado de Ferreira (2012).

Os percevejos adultos são ápteros, com corpo com formato oval, coloração cinza-avermelhada, achatados e com aproximadamente 5 mm de comprimento (Goddard, 2009; Doggett, 2009). O protórax é amplo, recebendo a cabeça em sua margem anterior côncava, com os lados se estendendo lateralmente. As almofadas hemetrais sempre são reduzidas nunca alcançando muito além do segundo segmento abdominal. O abdômen, com 11 segmentos, é praticamente o mesmo em suas características gerais em todos os Cimicidae. No adulto, as diferenças sexuais envolvem principalmente as estruturas genitais (Usinger, 1966).

Os percevejos de cama estão ocorrendo mais frequentemente e em maior número em ambiente domiciliar, sendo observada uma ampliação da distribuição geográfica, afetando a vida humana em todo o mundo (Sabou et al. 2013, Hamzaoui et al. 2019), sendo uma grande preocupação para a saúde pública. Nas últimas décadas, as infestações de percevejos em habitats humanos aumentaram consideravelmente, levando a incômodos e distúrbios relacionados (Akhoundi et al. 2020).

A importância desses insetos está relacionada ao hematofagismo que exercem durante a noite, causando espoliação sanguínea, interrompendo o repouso do hospedeiro (Ferreira, 2012) e consequências dermatológicas e alergênicas das picadas do percevejo (Delaunay et al., 2011; Goddard, 2009; Doggett, 2012) com o aparecimento da erupção cutânea sendo uma importante característica para o diagnóstico de infecções por esses animais (Woloski et al. 2018). São uma grande preocupação para a saúde pública, pois podem atuar como vetores competentes para patógenos (Leulmi et al., 2015; Salazar et al., 2015)

Estudos evidenciam que *Cimex* parece ser um vetor competente de *T. cruzi*, agente causal da doença de Chagas. Os percevejos adquirem eficientemente *T. cruzi* na alimentação de camundongos infectados e transmitem o parasito de volta a hospedeiros suscetíveis tanto durante a

coabitação como através de fezes contaminadas colocadas na pele do hospedeiro. As medidas quantitativas de padrões de defecação de *C. lectularius* confirmam que os percevejos têm um alto potencial de transmissão pelas fezes (Blacklock et al. 1914; Salazar, 2015).

Estudos também sugerem que *C. lectularius* pode ser vetor competente de *Borrelia recurrentis*. Os percevejos, experimentalmente, são capazes de adquirir, manter e excretar a *B. recurrentis*, podendo infectar humanos através de lesões na pele (Hamzaoui et al. 2019). No entanto, sua relação na transmissão de doenças infecciosas em humanos não foi confirmada (Lai et al. 2016).

1.2. Identificação de espécies e cybertaxonomia

A taxonomia é a ciência que objetiva caracterizar, nomear e classificar os grupos de organismos, fundamental para explorar e entender a biodiversidade do planeta (Schilick-Steiner et al. 2010). Essa ciência se baseia no contexto de tipo, em que um espécime é diferenciado de outros por caracteres diagnósticos, mais usualmente por comparação visual entre um espécime nomeado e uma descrição dos táxons (Walter, 2007) para encontrar o táxon ao qual um espécime pertence (Dalwitz et al., 2000). O nome desses táxons são as principais chaves de acesso à informação biológica (Polaszek, 2005).

As chaves tradicionais impressas têm em sua essência a análise de duas informações contrastantes sobre caracteres (Voss, 1952) com as escolhas levando a etapas, que resultam na identificação (Walter, 2007) (Figura 5). Dalwitz et al. (2000) faz a analogia das chaves tradicionais como árvores em que o usuário começa na raiz da árvore e segue os ramos correspondentes aos estados de caracteres exibidos pela amostra até que o nome do táxon seja alcançado.

7. Chave para a identificação das espécies de *Ornithodoros*, no estágio adulto, que ocorrem no Brasil, adaptada de Aragão & Fonseca (1961).

- 1- Bochechas ausentes **2**
- Bochechas presentes. **3**

- 2- Tarsos e pré-tarsos com extremidades bem desenvolvidas no 1º, 2º e 3º pares de pernas e ausentes no 4º par; tibia sem prolongamento digitiforme dorsal ***O. rostratus***
- Tarsos e pré-tarsos com extremidades bem desenvolvidas no 1º, 2º e 3º pares de pernas e presente no 4º par (formando pequena ponta apical) ***O. brasiliensis***

- 3- Corpo muito anguloso na extremidade anterior ***O. jul***
- Corpo pouco anguloso na extremidade anterior **4**

- 4- Bochechas muito desenvolvidas chegando, às vezes, a cobrir as partes bucais; coxas das pernas I e II separadas (Figura 9a, Capítulo 14) ***O. talaje***
- Bochechas pouco desenvolvidas; todas as coxas contíguas ***O. hasei***

Figura 5. Exemplo de chave tradicional. Fonte: Barros-Battesti et al. (2012).

A abordagem da comparação visual é frequentemente a primeira escolha de um especialista em taxonomia para a identificação de espécies (Walter, 2007). O uso de imagens melhora a identificação de caracteres diagnósticos e a utilização de ferramentas vêm aumentando, sustentada pelas inovações em fotografia digital, computação gráfica e publicação eletrônica (Walter, 2007). Tais avanços facilitam o conhecimento taxonômico (Wheeler et al., 2012) e revolucionam a identificação biológica (Walter, 2007).

A identificação correta é importante, pois, por exemplo, alguns estágios do ciclo de vida desses animais são mais importantes na transmissão de patógenos. Soares et al. (2012) mostram que larvas de *Amblyomma sculptum* têm baixa competência vetorial para transmitir *Rickettsia rickettsii* quando comparada às ninfas. Como defendido por Zucchi (1993) a identificação correta de um vetor é uma etapa inicial e crucial para a obtenção de informações biológicas.

A cybertaxonomia, e-taxonomy ou taxonomia habilitada para cibernética, é “uma maneira integrada de conduzir pesquisas taxonômicas

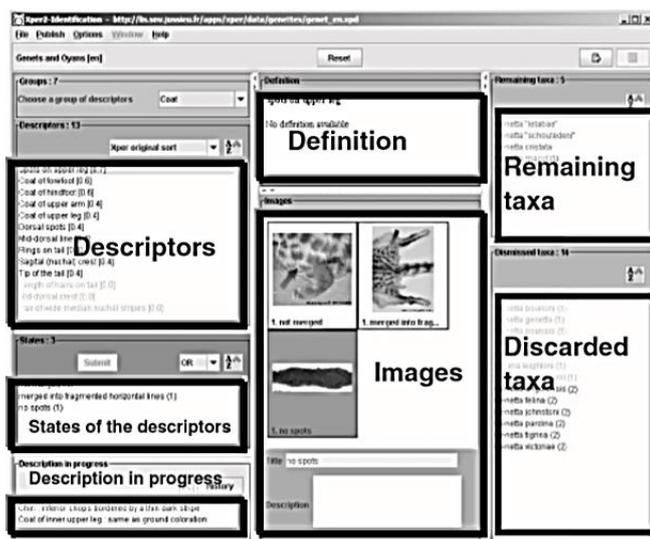
usando ferramentas e recursos eletrônicos padronizados, consistindo em: 1) um fluxo de trabalho que envolve o uso de ferramentas eletrônicas padronizadas de acesso à informação (bancos de dados, publicações eletrônicas) e / ou que gera novas bases de conhecimento; 2) o processo de analisar informações armazenadas em fontes não digitais ou convertidas a partir delas para um formato eletrônico padronizado e sintetizar essas informações em uma representação digital de um ou mais conceitos taxonômicos; 3) realizar trabalho taxonômico on-line e através de ferramentas de software” (<https://cyber-taxonomy.com/>) (Figura 6).

A cybertaxonomia e a taxonomia tradicional têm os mesmos objetivos: explorar, descobrir, caracterizar, nomear e classificar espécies; estudar suas relações filogenéticas; e mapear suas distribuições geográficas e associações ecológicas (Wheeler 2010). A vantagem na cybertaxonomia é a rapidez e melhores resultados quando comparada à taxonomia tradicional. Outro ponto positivo nesse método é que a atualização das informações referentes às espécies pode ser feita por meio da internet por diversos especialistas (Wheeler, 2010).

A cybertaxonomia faz uso de dados descritivos e chaves interativas para relacionar características morfológicas ao nome dos táxons para realizar a identificação de amostras para novos inventários e pesquisas de monitoramento, análises filogenéticas e estudos biogeográficos e ecológicos (Ung et al.2010). A cybertaxonomia fornece ferramentas para ajudar na identificação; treinamento de ecologistas de campo; lista de ocorrência em ecossistemas específicos; possibilidade de recuperar dados; previsões sobre contribuições para as funções ecológicas. É possível extrair informações sobre a distribuição de espécies; status, abundância e raridade de espécies; riqueza de espécies de determinadas localidades e dados relevantes para a avaliação da conservação e informações visuais para entender a variação fenotípica em relação às condições ambientais (Wheeler, 2010).

A cybertaxonomia não está apenas mudando a maneira como os taxonomistas trabalham, mas também as formas pelas quais podem acessar e fazer uso de dados, informações e conhecimentos taxonômicos (Wheeler,

2010)
 ser a próxima
 na taxonomia
 al.2010).



podendo
 revolução
 (Ung et

Figura 6. Exemplo da cybertaxonomia em que é possível observar dados como: características do táxon, nome, descritores, comentários e fotos. Fonte: Ung et al. (2010).

1.3. Ferramentas para identificação de vetores e ocorrência de doenças

O 'OIE Terrestrial Animal Health Code' define a vigilância da saúde animal como "uma ferramenta essencial para detectar doenças ou infecções, monitorar tendências de doenças, facilitar o controle de doenças ou infecções, e fornecer dados para uso na análise de riscos, para fins de saúde animal e/ou pública, e para fundamentar a lógica das medidas sanitárias" (OIE, 2011).

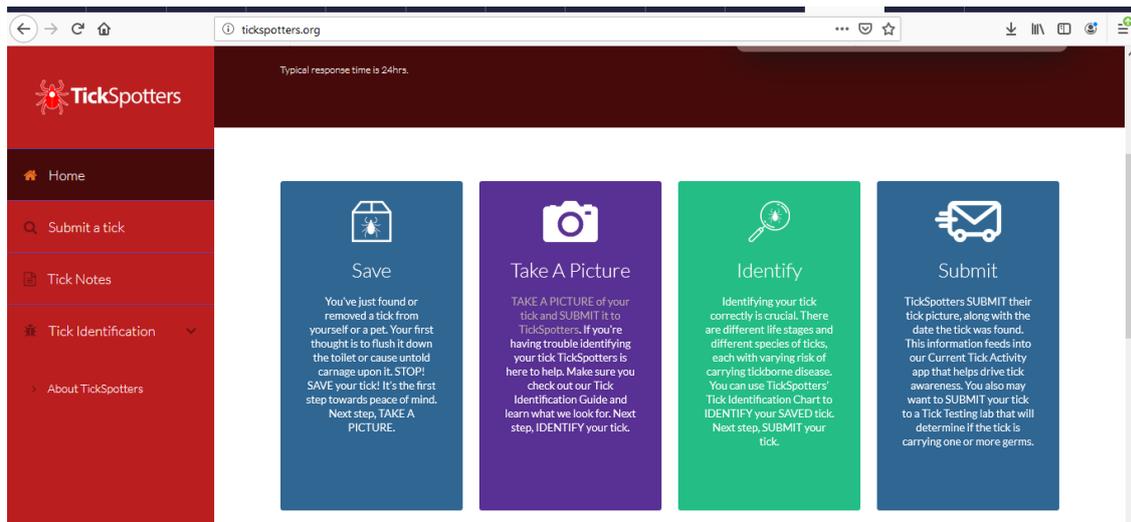
Muitos pesquisadores voltaram seus estudos para ajudar o público no entendimento das doenças transmitidas por vetores. A criação de grandes conjuntos de dados de coleta de vetores de artrópodes vem acontecendo em larga escala devido ao aumento da acessibilidade e

comunicação na era digital através da participação do público. Quando aplicada a coleções de vetores de artrópodes de importância para a saúde pública, isso não apenas contribui para estudos de ecologia de vetores, mas também envolve o entendimento do público e proteção de sua própria saúde (Hamer, 2018).

A tecnologia móvel criou oportunidades na vigilância da saúde animal, como o auxílio na coleta de dados, o mapeamento geo-referenciado e a visualização e identificação de vetores como carrapatos (Madder, 2012). A rápida expansão da comunicação baseada em tecnologia facilitou uma nova era de investigação de doenças, a epidemiologia digital, que fornece oportunidades e desafios únicos para abordar questões de saúde pública (Salathé et al., 2012). Iniciativas em saúde pública têm sido ajudadas por programas educacionais sobre prevenção de doenças transmitidas por vetores (Hamer, 2018). A infra-estrutura cibernética empregada na epidemiologia digital – inclui sites, e-mail, aplicativos para celular e plataformas de mídia social (Hamer, 2018).

Atualmente, a tecnologia facilita a vigilância em saúde com auxílio de cidadãos, os quais ficam empoderados ao usar um aplicativo em seus *smartphones* para gerar as informações para a vigilância e auxiliar a identificação e o mapeamento dos vetores (Lefebvre 2009, Salathé et al. 2012, Antonise-Kamp et al. 2017, Hamer et al. 2018). Chaves de identificação eletrônicas (Rocha et al. 2019, Gurgel-Gonçalves et al. 2021) e identificação automática de imagens (Gurgel-Gonçalves et al. 2017, Khalighifar et al. 2019, Justen et al. 2021, Cheong et al. 2021, Pataki et al. 2021, Luo et al. 2022) são tecnologias que podem ajudar a melhorar o processo de identificação de vetores tradicionalmente baseado em chaves dicotômicas impressas.

Um exemplo de produto proveniente das interações entre pesquisadores e população é o TickSpotters (Figura 7) (<http://www.tickcounter.org/tickspotters>), um programa da Universidade de Rhode Island, EUA, em que pessoas removem carrapatos de si mesmos ou de seus animais de estimação e enviam fotos pelo site. O site submete a



foto, com a data de captura do carrapato, e inclui no aplicativo Current Tick Activity para ajudar a aumentar a conscientização (Berger et al., 2014).

Também da Universidade de Rhode Island o TickEncounter (Figura



8) pode ser útil no planejamento de recreação ao ar livre, focando na proteção contra picadas de carrapatos para prevenção de doenças (Hamer, 2018).

Figura 7. Funcionalidades do site TickSpotters. Fonte: Site TickSpotters.org

Figura 8. Página inicial do TickEncounter. Fonte: Site https://web.uri.edu/tickencounter/.

Outro exemplo é o aplicativo holandês "Tekenbeet" (Figura 9) que tem como objetivo auxiliar de maneira correta sobre a remoção de carrapatos; o 'radar de carrapatos'; a opção para os usuários documentarem as picadas, e lembretes sejam configurados para verificar a pele do usuário por várias semanas após a picada (Antonise-Kamp, 2017).



Figura 9. Aplicativo Tekenbeet. Fonte: Apple Store.

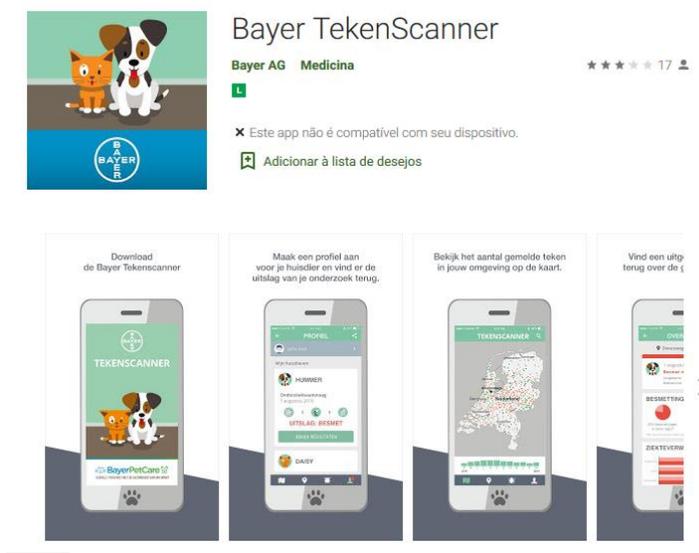
Também na Holanda há o aplicativo "Tekenscanner" (Figura 10). Este aplicativo envolve proprietários de animais e veterinários em atividades

de vigilância ativa direcionadas a carrapatos e doenças transmitidas por carrapatos (Jongejan, 2019).

1.4. Aplicativos da Linha Dex

Desenvolvido por colaboradores do Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores da UnB e especialistas em tecnologia da informação, os aplicativos da linha Dex auxiliam a identificação morfológica de flebotomíneos (LutzoDex) e triatomíneos (TriatoDex) (Figura 11). O aplicativo é composto por perguntas sobre características morfológicas e morfométricas dessas espécies e demais informações como distribuição

médica,
de
(Rocha
No
reiniciei
apenas
usuário



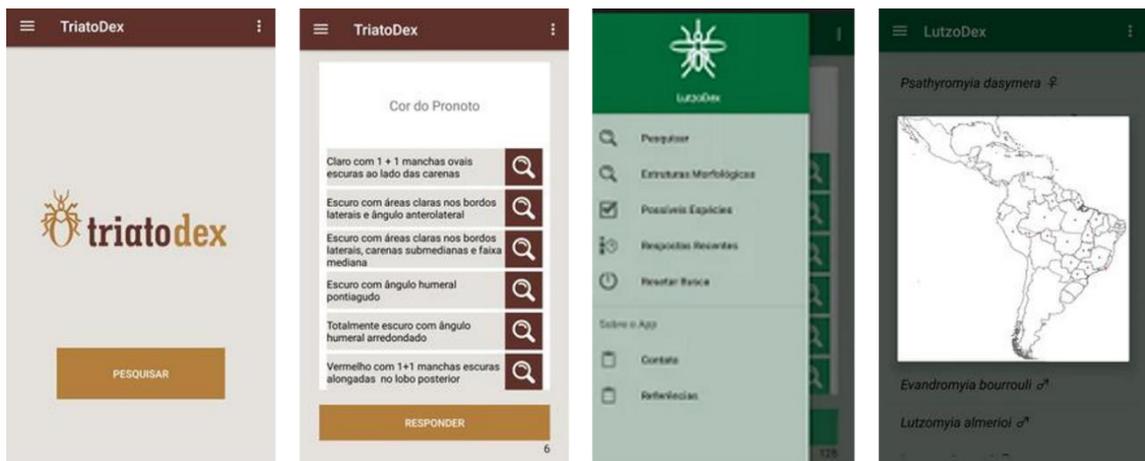
geográfica,
importância
autores e ano
descrição
et al., 2020).
aplicativo
também é
possível
a pesquisa ou
partes se o
julgar ter

Figura 10. Aplicativo TekenScanner. Fonte: Apple Store.

respondido de maneira errada, ou então ver a lista de possíveis espécies, em qualquer momento da identificação (Rocha et al., 2020).

O conceito está no desenvolvimento de uma fonte de dados separadamente do aplicativo, com carregamento e união das informações durante a execução, e conexão de estruturas e imagens (Rocha et al., 2020) Todos os recursos são ilustrados e não possui as dicotomias tradicionais das identificações.

Figura 11. Menu dos aplicativos Dex e suas funcionalidades. Fonte: Aplicativo Triatodex



2 JUSTIFICATIVA

A disponibilidade de tecnologias modernas e necessidade de identificar as espécies de artrópodes vetores ou ectoparasitos justifica o presente estudo. A ferramenta fundamental para a identificação taxonômica tem sido as chaves dicotômicas, já que a maioria das espécies pode ser identificada com caracteres morfológicos. Tais chaves, presentes em bibliografias, são muitas vezes desatualizadas e, se as características diagnósticas são ambíguas, a identificação torna-se complicada. Como em qualquer chave impressa, o texto só é atualizado em uma nova edição. Além disso, a sua utilização é limitada pela necessidade de taxonomistas experientes, geralmente muito tempo de execução ao utilizar a chave e treinamento intensivo. Alternativas, tais como a identificação baseada em taxonomia molecular, têm sido exploradas, mas o seu maior custo quando comparado com a identificação morfológica diminui sua aplicabilidade em larga escala.

Uma vez que a infestação por piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos pode levar a ectoparasitoses importantes e que alguns deles também transmitem doenças relevantes para a saúde pública, há necessidade de desenvolver métodos de identificação mais eficazes desses artrópodes. O projeto Resposta Global ao Controle de vetores, da OMS, iniciado em 2017, evidencia a necessidade de estratégias de controle e prevenção baseadas em respostas rápidas, salientando a necessidade pela busca por alternativas que simplifiquem a identificação é necessária, desenvolvendo, assim, estratégias que: a) sejam mais fáceis de serem utilizadas, b) sejam mais ilustradas e autoexplicativas, c) atinjam um público maior de pessoas e; d) promovam uma rápida identificação. Os aplicativos devem atender a diferentes públicos nos serviços de vigilância entomológica. Existe uma demanda da população que convive com piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos e dos agentes comunitários de saúde e de endemias que trabalham na vigilância e controle desses artrópodes. Para esse

público é importante ter acesso a um aplicativo de identificação o qual também pode ser usado para educação em saúde ao informar a importância médica dos grupos e formas de prevenção e controle. O presente trabalho propõe desenvolver um aplicativo de identificação de ectoparasitos de maior importância em saúde pública que ocorrem no Brasil. Esperamos que dessa forma o aplicativo venha a auxiliar a vigilância e controle das doenças associadas a esses artrópodes.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver e avaliar uma chave de identificação eletrônica, pictórica e politômica (“ECTODEX”) para 34 espécies de carrapatos, piolhos, pulgas e percevejos de cama de interesse para a saúde pública.

3.2. Objetivos específicos

- Obter imagens de espécies de piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos em coleções científicas;
- Desenvolver uma chave eletrônica de identificação de piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos com interesse em saúde pública no Brasil;
- Organizar informações relacionadas a importância médica e distribuição geográfica das espécies presentes no ECTODEX e das doenças relacionadas aos vetores e ectoparasitos;
- Comparar o desempenho do ECTODEX com uma chave dicotômica impressa em termos de porcentagem de identificações corretas (acurácia) e tempo para completar a identificação das espécies pelos usuários.
- Analisar os efeitos esperados de características dos usuários e dos ectoparasitos no desempenho do ECTODEX.

3.3. Hipóteses

Testamos hipóteses sobre os efeitos esperados de características dos usuários e dos ectoparasitos no desempenho do ECTODEX de acordo com a tabela 1.

Tabela 1. Efeitos esperados de características dos usuários e dos ectoparasitos no desempenho do ECTODEX.

Grupo	Características	Hipótese	Justificativa e referências*
Usuários	Treinamento especializado**	A porcentagem de identificação correta dos ectoparasitos (acurácia) é maior entre os usuários com treinamento especializado O tempo gasto para identificar um ectoparasito (tempo) é menor entre os usuários com treinamento especializado e alta expertise	Melhor conhecimento das características morfológicas das espécies após realização de cursos de identificação Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies
	Expertise***	A acurácia é maior entre os usuários com alta expertise O tempo é menor entre os usuários com alta expertise	Melhor conhecimento das características morfológicas das espécies com a experiência adquirida Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies com a experiência adquirida
	Laboratório	A acurácia é maior entre os usuários que trabalham em um laboratório de referência**** O tempo é menor entre os usuários que trabalham em um laboratório de referência	Mais capacitados em usar chaves de identificação; identificam com maior frequência as espécies de ectoparasitos no laboratório. Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies de ectoparasitos devido a prática de laboratório
	Formação	A acurácia é maior entre os usuários com formação em biologia O tempo é menor entre os usuários com formação em biologia	Mais chance de aprender a morfologia de ectoparasitos nas aulas práticas de zoologia, parasitologia ou entomologia Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies devido às aulas práticas
	Idade	A acurácia é maior entre usuários mais jovens O tempo é menor entre os usuários mais jovens	Mais facilidade em usar um aplicativo móvel Usuários mais jovens têm mais agilidade em usar recursos eletrônicos
	Gênero	Sem efeitos esperados	Nenhuma evidência encontrada para justificar maior acurácia ou tempo de identificação de um ectoparasito em determinado gênero

Ectoparasitos	Carrapatos	A acurácia para espécies de carrapatos é menor do que a de outros ectoparasitos O tempo é maior para espécies de carrapatos	Maior dificuldade de visualização de estruturas (e.g. dentes do hipostômio), ingurgitamento das fêmeas dificulta identificação Mais tempo para reconhecer as estruturas
	Pulgas	A acurácia para espécies de pulgas é menor do que a de outros ectoparasitos O tempo é maior para espécies de pulgas	Maior dificuldade de visualização de cerdas e de observar o formato da espermateca em algumas espécies Mais tempo para reconhecer as estruturas
	Piolhos	A acurácia para espécies de piolhos é maior do que a de outros ectoparasitos O tempo é menor para espécies de pulgas	Menor dificuldade de visualização de estruturas (e.g. pernas com garras são facilmente observadas) Menos tempo para reconhecer estruturas, menos etapas para identificar a espécie
	Percevejos	A acurácia para percevejos é menor do que a de outros ectoparasitos O tempo é menor para espécies de percevejos	Menor dificuldade de visualização de estruturas (e.g. pernas e pronoto são facilmente observados) Menos tempo para reconhecer estruturas

* Gurgel-Gonçalves et al. (2021), Dantas-Torres et al. (2019), Stojanovich e Pratt (1965), Bicho e Ribeiro (1998), Zhou et al. (2014). ** Treinamento baseado em cursos, oficinas ou práticas de identificação com conteúdo sobre taxonomia/sistemática de ectoparasitos. ***Expertise na identificação de ectoparasitos autorreferida pelo usuário ****Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses, Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Fonte das imagens e informações das espécies

Nós fotografamos ectoparasitos (piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos) em coleções científicas na Universidade de Brasília (Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias e Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores) e na Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses [LRNVR-Fiocruz], Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz [CEIOC-Fiocruz] e Laboratório Interdisciplinar de Vigilância Entomológica [LIVEDIH-Fiocruz]). Nós fotografamos carrapatos com um equipamento descrito em Gurgel-Gonçalves et al. (2017) com o aumento de 21×. Os outros ectoparasitos foram fotografados usando microscópios com câmeras acopladas (Leica M205C; Nikon 5Mp, HDMI; Sony Cyber-Shot, 14.1 Mp). As imagens de espécies ausentes nessas coleções foram obtidas de Barros-Battesti (2006) e do banco de imagens de colaboradores da Fiocruz. Nós usamos desenhos de carrapatos de Aragão (1931, 1961) e obtivemos informações relacionadas aos carrapatos (infecção humana e hospedeiros) de Barros-Battesti (2006). As informações para piolhos, pulgas e percevejos de cama foram obtidas em Durden (1994), Bicho e Ribeiro (1998) e Usinger (1966), respectivamente. Nós elaboramos mapas descrevendo a ocorrência dos ectoparasitos nos estados brasileiros e incluímos no aplicativo. Os registros de ocorrência foram obtidos de *SpeciesLink* (<http://splink.cria.org.br/>), Global Biodiversity Information Facility (<https://www.gbif.org/>) e Martins (2014), que revisou a distribuição das espécies de *Amblyomma*. Para produção dos mapas, nós utilizamos os contornos dos estados no Brasil no QGIS 3.22 e transferimos para o GIMP 2.10, onde editamos os mapas.

4.2 Chaves de identificação

Nós desenvolvemos duas chaves de identificação para 34 espécies de ectoparasitos de interesse em saúde pública e de importância médico-

veterinária. A primeira foi uma chave dicotômica impressa (PKEY) baseada em chaves e informações dos grupos de interesse (Stojanovich e Pratt 1965, Bicho e Ribeiro 1998, Barros-Battesti 2006, Martins 2014, Estrada-Peña 2017, Dantas-Torres et al. 2019) (Apêndice 1). A segunda foi uma chave politômica e pictórica, baseada na primeira, porém com caracteres selecionados (ECTODEx). O objetivo foi utilizar as características diagnósticas mais importantes e de fácil visualização para diminuir o número de passos e facilitar a identificação das espécies. Em ambas as chaves, nós incluímos as espécies de piolhos e percevejos de cama de interesse para saúde pública, as principais espécies de pulgas de importância médica e veterinária (Bicho e Ribeiro, 1998) e as principais espécies de carrapatos encontradas pela vigilância ambiental e entomológica do Brasil, de acordo com dados do LRNVR-Fiocruz. A chave de identificação pictórica e politômica foi usada para o desenvolvimento do ECTODEx.

4.3 Desenvolvimento do ECTODEx

Nós organizamos uma base de dados no Microsoft Excel com as características morfológicas selecionadas, uma linha para cada espécie. As colunas continham informações específicas (autor e ano da descrição da espécie, distribuição geográfica, hospedeiros preferenciais e importância epidemiológica) e as 34 perguntas a respeito dos caracteres morfológicos das espécies. Nós desenvolvemos o ECTODEx usando o código fonte dos aplicativos para identificação de flebotomíneos (LUTZODEx, Rocha et al. 2019) e triatomíneos (TRIATODEx, Gurgel-Gonçalves et al. 2021). Nós desenvolvemos o ECTODEx utilizando a tecnologia *open-source React Native* (criada por Meta Platforms Inc). Essa é uma plataforma capaz de criar aplicativos para Android TV, iOS, macOS, tvOS, Web, Windows e Universal Windows Platform. Estruturas morfológicas e imagens são conectadas a partir de etiquetas dentro do banco de dados. Todas as informações do ECTODEx são armazenadas em nuvem no *FireBase* e compartilhadas com os dispositivos em formato JavaScript Object Notation. Em março de 2022,

nós lançamos a nova versão dos aplicativos (VETORDEX) incluindo no mesmo aplicativo o LUTZODEX, TRIATODEX e ECTODEX para Android (<https://play.google.com/store/apps/details?id=vetordex.com>) e iOS (<https://apps.apple.com/br/app/vetordex/id1602553121>).

4.4 Desempenho do ECTODEX

Nós realizamos uma avaliação piloto do ECTODEX com apoio de usuários com treinamento especializado que realizaram cursos, treinamento, oficinas ou práticas de identificação com conteúdo sobre taxonomia/sistemática de ectoparasitos, e (b) usuários sem treinamento especializado. Os usuários também informaram na ficha de identificação se tinham alta, média ou baixa expertise para identificar ectoparasitos (Tabela 3). Apenas três usuários do LNRVR-Fiocruz que identificam carrapatos, piolhos, pulgas e percevejos em seus trabalhos de rotina informaram que tinham alta expertise (Tabela 2).

Nós enviamos o ECTODEX para as instituições participantes junto com uma lista de 30 ‘espécimes-problema’ para a Fiocruz (selecionados por Gilberto Salles Gazeta) e 15 para a UnB (selecionados por Rodrigo Gurgel-Gonçalves), pertencentes a 21 espécies (Tabela 3). Foram selecionadas as espécies mais registradas pela vigilância de ectoparasitos no Brasil de acordo com informações do LNRVR-Fiocruz. Estas espécies foram previamente identificadas por pesquisadores experientes (Gilberto Salles Gazeta e Rodrigo Gurgel-Gonçalves) e usando chaves dicotômicas impressas. Esta identificação prévia foi considerada a referência (ou ‘padrão ouro’). Cada espécime foi etiquetado somente com um código alfanumérico, de forma que o usuário não identificasse a espécie pela etiqueta. Cada usuário foi também identificado com um código alfanumérico individual, de forma que o avaliador (Fernando Abad-Franch) pudesse analisar o desempenho dos usuários sem conhecer a identidade dos mesmos. A avaliação do ECTODEX foi, neste sentido, duplamente “cega” – os usuários não tinham informação prévia sobre a identidade dos espécimes e o analista

não tinha informação prévia sobre a identidade dos usuários. Os 33 usuários (10 do LRNVR-Fiocruz e 23 de outros laboratórios, Tabela 2) receberam 15 ou 30 ectoparasitos montados em lâminas de microscopia ou preservados em tubos com álcool 70% e realizaram as tarefas (atividades em que os usuários identificavam o espécime usando as duas chaves e anotavam a espécie e tempo realizado para completar a identificação em uma planilha). Os usuários realizaram as tarefas em dois períodos (fevereiro/março de 2021 e novembro/dezembro de 2021), por isso até 60 tarefas foram registradas por usuário (Tabela 2). Para isso, nós randomizamos as chaves e ordem de identificação dos espécimes entre os dois períodos de realização de tarefas pelos usuários. Nós usamos essa estratégia para diminuir as chances de que um usuário lembrasse a identificação de um espécime que ele já tinha identificado. Os resultados (código alfanumérico do espécime + espécie identificada + código alfanumérico do usuário + tempo, medido em minutos, usado para identificar cada espécime) foram enviados à UnB para avaliação do desempenho do sistema. As identificações foram classificadas em duas categorias: corretas (codificadas como “1”) ou incorretas (codificadas como “0”). Estes dados permitiram avaliar as seguintes métricas (ou variáveis dependentes): (a) porcentagem de identificações corretas do ectoparasito (“acurácia”); (b) tempo empregado por cada usuário para identificar cada espécime (“tempo”). As informações sobre usuários (Tabela 2) e espécimes (Tabela 3) permitiram, por sua vez, avaliar os efeitos das características dos mesmos (ou variáveis independentes) sobre as duas variáveis dependentes (ver seção *Análise estatística*).

Tabela 2. Características dos usuários do ECTODEX e da chave dicotômica impressa e número de tarefas de identificação realizadas.

ID	Instituição*	LNRVR-Fiocruz**	Treinamento especializado***	Expertise	Formação	Profissão	Idade	Gênero	Tarefas
B_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	30s	Feminino	30
C_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	20s	Feminino	30
D_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina****	Estudante (graduação)	20s	Masculino	15
E_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	20s	Feminino	30
F_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	20s	Masculino	30
G_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas****	Estudante (graduação)	20s	Feminino	15
J_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Médico veterinário	40s	Feminino	30
K_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Médico veterinário	30s	Feminino	30
L_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Biólogo	20s	Feminino	30
M_1	UnB	Não	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Biólogo	40s	Masculino	30
N_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Médico veterinário	40s	Feminino	15
P_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	40s	Feminino	30
Q_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	30s	Feminino	30
R_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Pesquisador (Entomologia médica)	40s	Masculino	15
A_1	UnB	Não	Não	Média	Medicina Veterinária****	Estudante (graduação)	20s	Masculino	15
H_1	UnB	Não	Não	Média	Ciências Biológicas	Estudante (pós-graduação)	20s	Masculino	30
I_1	UnB	Não	Não	Média	Medicina Veterinária	Médico veterinário	20s	Feminino	30
O_1	UnB	Não	Não	Média	Medicina Veterinária	Pesquisador (Patologia animal)	20s	Masculino	30
E	Fiocruz	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Pesquisador (Saúde pública)	40s	Feminino	60
F	Fiocruz	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Pesquisador (Ciências ambientais)	50s	Masculino	60
J	Fiocruz	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária****	Estudante (graduação)	20s	Masculino	60
H	Fiocruz	Não	Sim	Média	Ciências Biológicas	Biólogo	50s	Feminino	60
P	Fiocruz	Não	Não	Média	Ciências Biológicas	Pesquisador (Biodiversidade e	50s	Feminino	60

C	Fiocruz	Sim	Sim	Alta	Ciências Biológicas	Pesquisador (Entomologia médica)	30s	Feminino	60
I	Fiocruz	Sim	Sim	Alta	Ciências Biológicas	Pesquisador (Taxonomia)	30s	Feminino	60
K	Fiocruz	Sim	Sim	Alta	Ciências Biológicas	Pesquisador (Taxonomia)	30s	Feminino	60
L	Fiocruz	Sim	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	40s	Feminino	60
M	Fiocruz	Sim	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Pesquisador (Biologia molecular)	30s	Feminino	60
N	Fiocruz	Sim	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	50s	Masculino	60
A	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Ciências Agrícolas	Pesquisador (Taxonomia)	60s	Masculino	60
B	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Nível Médio	Técnico de laboratório	50s	Masculino	60
D	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Medicina Veterinária	Médico veterinário	50s	Masculino	60
O	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Ciências Biológicas	Pesquisador (Entomologia médica)	30s	Feminino	60

* UnB, Universidade de Brasília; Fiocruz, Fundação Oswaldo Cruz. **Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses. *** O usuário fez algum curso ou treinamento específico em sistemática de ectoparasitos? ****Em andamento

Tabela 3. Espécimes usados para testar o desempenho do ECTODEX: taxonomia e códigos

Grupo	Gênero	Espécie	Código espécime
Carrapato	<i>Amblyomma</i>	<i>A. aureolatum</i>	J29
		<i>A. aureolatum</i>	F56
		<i>A. aureolatum</i>	V22
		<i>A. dubitatum</i>	W69
		<i>A. dubitatum</i>	J15
		<i>A. dubitatum</i>	E24
		<i>A. longirostre</i>	B32
		<i>A. ovale</i>	I57
		<i>A. ovale</i>	F51
		(<i>A. parvum</i>	X71
		<i>A. sculptum</i>	D47
		<i>A. sculptum</i>	Y76
		<i>A. sculptum</i>	M68
		<i>A. tigrinum</i>	P55
	<i>A. tigrinum</i>	T14	
	<i>A. tigrinum</i>	T89	
	<i>A. tigrinum</i>	I20	
	<i>Argas</i>	<i>Ar. miniatus</i>	N56
		<i>Ar. miniatus</i>	T93
	<i>Dermacentor</i>	<i>D. nitens</i>	E22
<i>D. nitens</i>		L77	
<i>Ornithodoros</i>	<i>O. rietcorraei</i>	T23	
	<i>O. rietcorraei</i>	K65	
<i>Rhipicephalus</i>	<i>R. microplus</i>	R32	
	<i>R. microplus</i>	W56	
	<i>R. sanguineus</i>	S07	
	<i>R. sanguineus</i>	U76	
	<i>R. sanguineus</i>	D33	
Percevejo	<i>Cimex</i>	<i>C. lectularius</i>	C14
Piolho	<i>Pediculus</i>	<i>P. humanus</i>	Z16
		<i>P. humanus</i>	U21
		<i>P. humanus</i>	W82
	<i>Phthirus</i>	<i>P. pubis</i>	E25
Pulga	<i>Ctenocephalides</i>	<i>Ct. canis</i>	M33
		<i>Ct. felis</i>	F20
		<i>Ct. felis</i>	P85
		<i>Ct. felis</i>	V76
	<i>Pulex</i>	<i>Px. irritans</i>	X30
		<i>Px. irritans</i>	S45
	<i>Tunga</i>	<i>T. penetrans</i>	A90
		<i>T. penetrans</i>	T35
		<i>T. penetrans</i>	I65
	<i>Xenopsylla</i>	<i>X. brasiliensis</i>	I23
		<i>X. cheopis</i>	B83
		<i>X. cheopis</i>	J88

4.5 Análise estatística

Nós avaliamos o desempenho do ECTODEx em duas etapas: uma descritiva-exploratória e outra inferencial. Nós avaliamos o desempenho geral do ECTODEx a partir de duas métricas: acurácia e tempo de identificação. A análise exploratória foi baseada em tabelas e gráficos com estatísticas descritivas e modelos bivariados exploratórios. Nós computamos estatísticas descritivas para: (i) a acurácia, baseada em contagens e proporções (com intervalos de confiança de 95% [IC] usando o método de Wilson implementado no pacote Hmisc [Harrell, 2022] no ambiente estatístico R 4.2.1 [R CORE TEAM, 2022]) e (ii) tempo de identificação baseada em médias, medianas e desvio padrão. Os modelos bivariados exploratórios (Bolker et al. 2009) para acurácia foram baseados na distribuição de erro binomial e função de ligação *logit* para estimar os efeitos ‘brutos’ de cada característica relacionada ao usuário e à espécie, levando em conta a não independência das tarefas de identificação (i) realizadas pelo mesmo usuário; (ii) envolvendo a mesma espécie e (iii) envolvendo espécies do mesmo gênero. Para isto, incluímos a identificação de cada usuário, de cada espécie e de cada gênero como fatores aleatórios em todos os modelos. A especificação do gênero como um efeito aleatório permitiu levar em conta, a não-independência filogenética dos espécimes de espécies do mesmo gênero, que tendem a ser mais parecidos do que espécimes de espécies de gêneros diferentes. Os modelos exploratórios para a variável “tempo” foram desenvolvidos seguindo a mesma lógica dos modelos de acurácia; como a variável dependente é uma contagem de números inteiros com valores ≥ 1 , utilizamos uma distribuição de erros binomial negativa truncada (sem zeros) e a função de ligação *log* (Bolker et al. 2009). Esses modelos exploratórios forneceram uma comparação preliminar do desempenho do EctoDex entre grupos de usuários (Tabela 2) e entre táxons de ectoparasitos (Tabela 3).

Nossas análises inferenciais se concentram nas variáveis mostradas nas Tabelas 1, 2 e 3. As variáveis independentes consideradas como efeitos aleatórios foram usuário, espécie e gênero de ectoparasito (ver explicação acima); treinamento especializado, expertise, laboratório de referência, formação em biologia, idade, sexo, espécie foram considerados efeitos fixos

para os quais nós formulamos hipóteses (Tabela 1). Antes de construir os modelos, calculamos correlações de Pearson aos pares para as variáveis de efeito fixo (car 3.0–7 [Fox et al. 2018] e corrplot 0.84 [Wei et al. 2017] pacotes R); após analisar as correlações observamos que houve correlação entre as variáveis treinamento especializado e laboratório de referência (0,88, $p = 0,0000$), por isso os modelos não incluíram essas variáveis ao mesmo tempo. Em seguida, construímos, usando o pacote glmmTMB 1.0.1 (Brooks et al. 2017), um modelo aditivo completo, incluindo todas variáveis. Todas as análises foram feitas em RStudio (RcoreTeam, 2021) com pacotes conforme especificado acima. O código relacionado às análises está disponível no Apêndice 2.

5 RESULTADOS

5.1 Espécies

Foram selecionadas 34 espécies de ectoparasitos de maior relevância em saúde pública no Brasil ou mais encontradas em áreas de ocorrência de casos humanos de doenças, a maioria da ordem Acari (Tabela 4). A chave dicotômica incluiu 47 dicotomias (Apêndice 1) e o aplicativo 35 passos, 83 imagens de estruturas morfológicas, 51 fotos dorsais e 34 mapas. Os passos para identificação estão descritos a seguir.

Tabela 4. Espécies de piolhos, percevejos de cama, pulgas e carrapatos incluídas no estudo.

Piolhos	Percevejo	Pulgas	Carrapatos
<i>Pediculus humanus</i>	<i>Cimex hemipterus</i>	<i>Tunga penetrans</i>	<i>Argas miniatus</i>
<i>Phthirus pubis</i>	<i>Cimex lectularius</i>	<i>Ctenocephalides canis</i>	<i>Ornithodoros rietcorreia</i>
		<i>C. felis</i>	<i>O. rostratus</i>
		<i>Xenopsylla cheopis</i>	<i>O. brasiliensis</i>
		<i>X. brasiliensis</i>	<i>Ixodes</i> sp.
		<i>Pulex irritans</i>	<i>Dermacentor nitens</i>
		<i>Polygenis</i> sp.	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
			<i>R. (Boophilus) microplus</i>
			<i>Amblyomma longirostre</i>
			<i>A. parkeri</i>
			<i>A. cajennense</i>
			<i>A. sculptum</i>
			<i>A. tigrinum</i>
			<i>A. triste</i>
			<i>A. naponense</i>
			<i>A. brasiliense</i>
			<i>A. scalpturatum</i>
			<i>A. dubitatum</i>
			<i>A. oblongoguttatum</i>
			<i>A. aureolatum</i>

A. nodosum

A. ovale

A. parvum

5.2 Passos da identificação no aplicativo

O primeiro passo consistiu em separar os piolhos, pulgas e percevejos de cama pela presença de cabeça, tórax e abdômen claramente divididos e presença de um par de antenas, organização corporal diferente dos carrapatos que possuem corpo formado por gnatossoma (ou capítulo) e idiossoma e ausência de antenas (Figura 12).

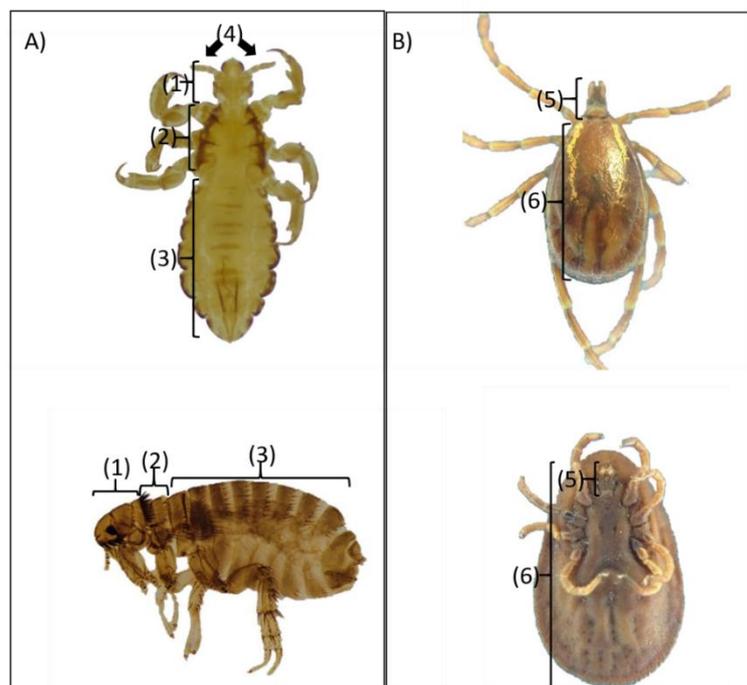


Figura 12. Morfologia do corpo dos ectoparasitos. A) Exemplos de ectoparasitos da classe Insecta. B) Exemplos de ectoparasitos da classe Arachnida. 1: cabeça, 2: tórax, 3: abdome, 4: antenas, 5: gnatossoma, 6: idiossoma.

A morfologia das pernas foi utilizada para distinguir *Pediculus humanus* (em que todos os pares terminam em garras bem desenvolvidas) de *Phthirus pubis* (segundo e terceiro par de pernas com garras mais desenvolvidas do que o primeiro) e *Cimex* (todos os pares de pernas com morfologia similar, sem garras desenvolvidas).

As pulgas têm o terceiro par mais desenvolvido que os primeiros (Figura 13). As espécies de *Cimex* foram identificadas pela morfologia do pronoto, em que *Cimex hemipterus* apresenta margem anterior moderadamente côncava e *Cimex lectularius* margem anterior profundamente côncava (Figura 14).

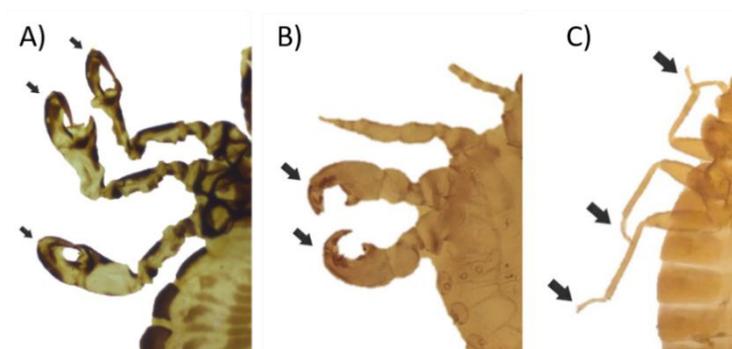


Figura 13. Morfologia das pernas de *Pediculus humanus* (A); *Phthirus pubis* (B) *Cimex* (C). As setas indicam os últimos segmentos das pernas, em A e B formando uma garra.

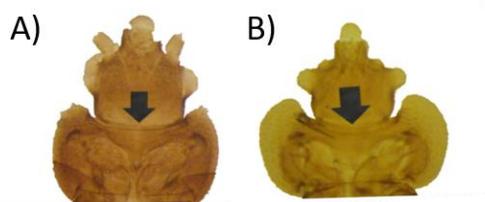
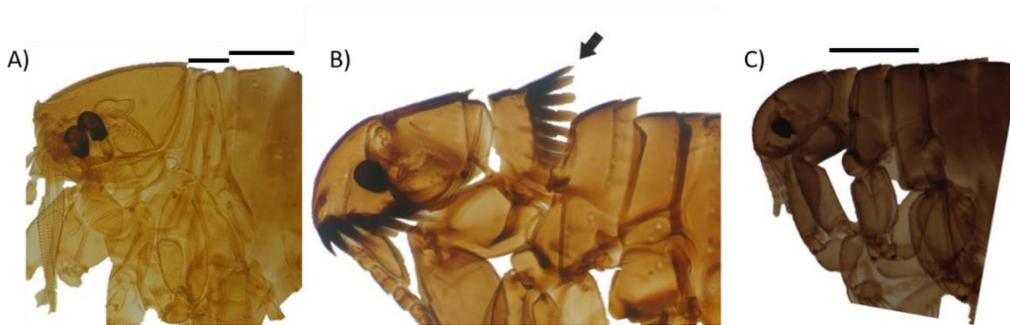


Figura 14. Morfologia do pronoto de *Cimex*. A: *Cimex hemipterus*. B: *Cimex lectularius*. As setas indicam a margem anterior do pronoto, profundamente côncava em B.

Os próximos passos foram para separar as principais espécies de Siphonaptera de importância médica e veterinária no Brasil. Observou-se que em *Tunga* sp. o tórax tem segmentos curtos e comprimento menor do que o primeiro segmento abdominal; em *Ctenocephalides* sp. as cerdas em forma de pente estão no primeiro segmento e em *Xenopsylla* sp. *Pulex* sp. e *Polygenis* sp. os segmentos são mais largos e sem cerdas em forma de pente (Figura 15). Os que possuem o segmento em formato de pente, no caso *Ctenocephalides*, podem tê-lo com a primeira cerda bem menor que as demais, cabeça curta e alta (*Ctenocephalides canis*) ou Ctenídeo genal com cerdas

aproximadamente do mesmo tamanho, cabeça alongada e baixa



(*Ctenocephalides felis*) (Figura 16).

Figura 15. Morfologia do tórax. A) Segmentos curtos de *Tunga penetrans*; B) Cerdas em formato de pente de *Ctenocephalides spp.* e C) Segmentos mais largos de outras espécies de pulgas.

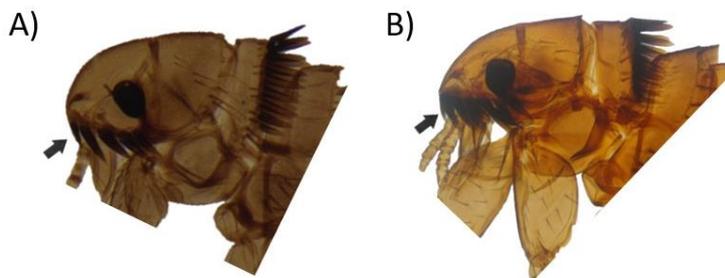


Figura 16. Ctenídios e formato da cabeça de A) *Ctenocephalides canis* e B) *Ctenocephalides felis*

As cerdas na cabeça distinguiram *Xenopsylla* de *Pulex* e *Polygenis* (Figura 17). Em *Xenopsylla* a implantação da cerda antipigidal diferenciou os machos de *X. cheopis* de *X. brasiliensis* (Figura 18) enquanto a morfologia da espermateca foi usada para diferenciar as fêmeas dessas espécies (Figura 19).

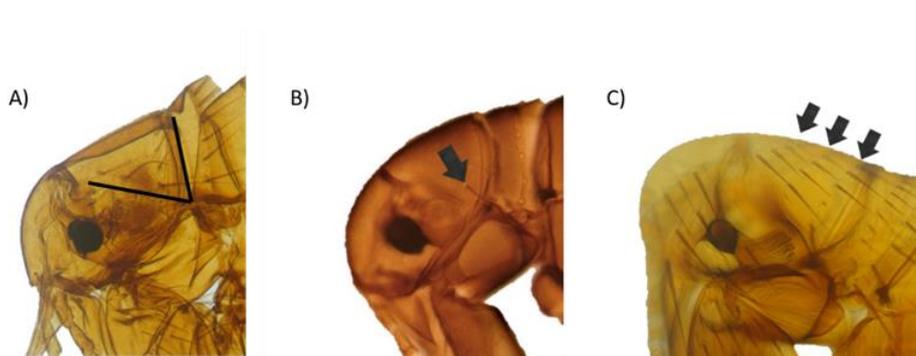
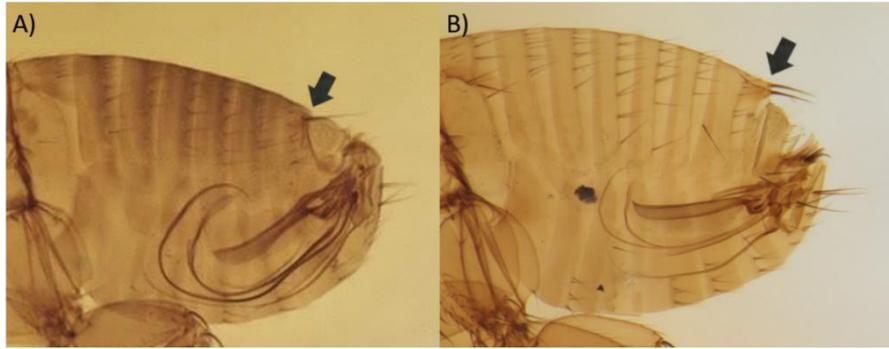
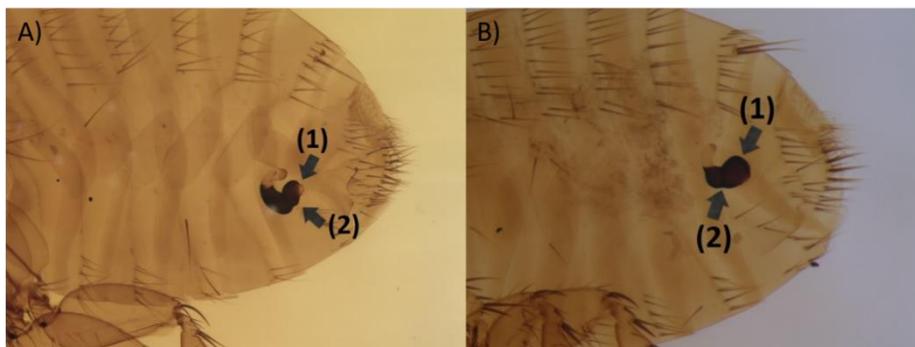


Figura
Cerdas

17.



presentes na cabeça. A) Com duas fileiras na cabeça em forma de V em *Xenopsylla*; B) Uma cerda na cabeça em *Pulex irritans* e C) Três fileiras paralelas em *Polygenis* sp.



Figura

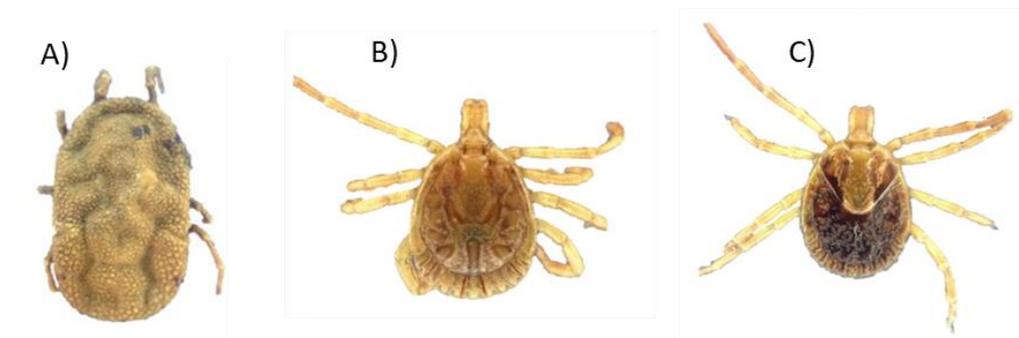
18.Implantação da cerda antipigial. A) Em discreto tubérculo (1); B) Em nítido tubérculo (*X. brasiliensis*).

Figura 19. Morfologia da espermateca. A) Corpo da espermateca (1) não mais largo que a base da cauda (2) (*X. cheopis*); B) Corpo da espermateca (1) mais largo que a base da cauda (2) (*X. brasiliensis*).

Os carrapatos, que haviam sido separados dos outros ectoparasitos pela presença de gnatossoma, idiossoma e ausência de antenas, foram diferenciados em moles (Argasidae) e carrapatos duros (Ixodidae) (Figura 20).

Figura 20. A) Carrapato mole (Argasidae) com tegumento rugoso e ausência de escudo dorsal. B) e C) Carrapatos duros (Ixodidae) com tegumento liso e presença de escudo dorsal. Em B) o escudo é amplo (macho) e em C) mais curto (fêmea).

Nos Argasidae, *Argas miniatus* apresenta a margem do corpo achatada e diferente do dorso, com uma sutura distinguindo a superfície dorsal da ventral diferindo de *Ornithodoros*, cuja periferia do corpo não é diferenciada, sem uma linha sutural (Figura 21). Este último gênero incluiu as seguintes espécies: *Ornithodoros rietcorraei* com bochechas muito desenvolvidas e *Ornithodoros rostratus* e *O. brasiliensis* sem bochechas (Figura 22). As espécies de *O. brasiliensis* têm extremidade do tarso e pré-tarso presente no 4º par de pernas enquanto em *O. rostratus* é ausente (Figura 23).



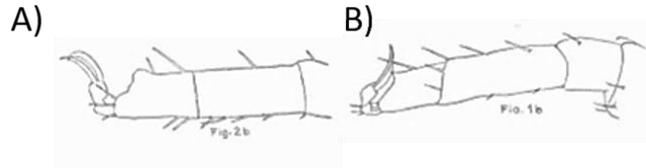


Figura 21. Periferia do corpo. A) *Argas miniatus* mostrando a periferia achatada e B) *Ornithodoros* cuja periferia não é diferenciada.

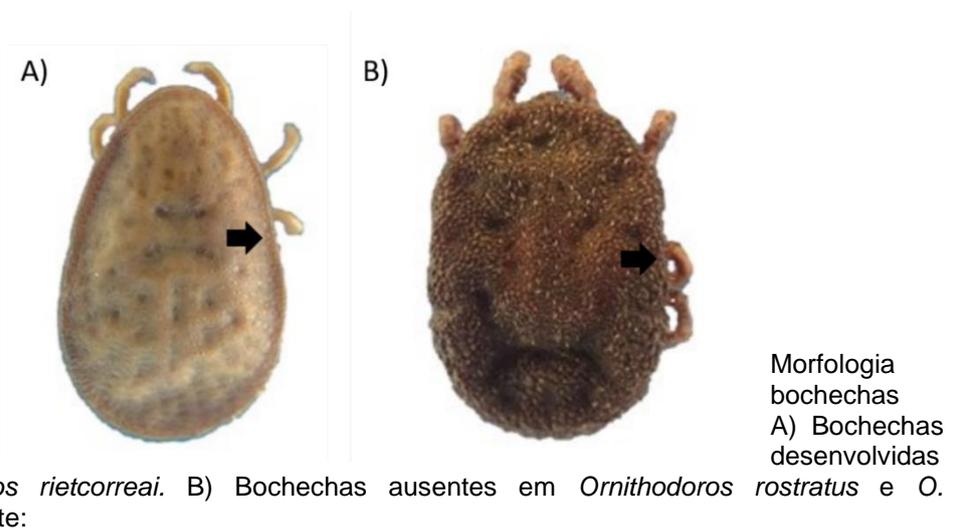


Figura 22. das em Argasidae. muito em *Ornithodoros rietcorraei*. B) Bochechas ausentes em *Ornithodoros rostratus* e *O. brasiliensis*. Fonte:

Morfologia bochechas
A) Bochechas desenvolvidas

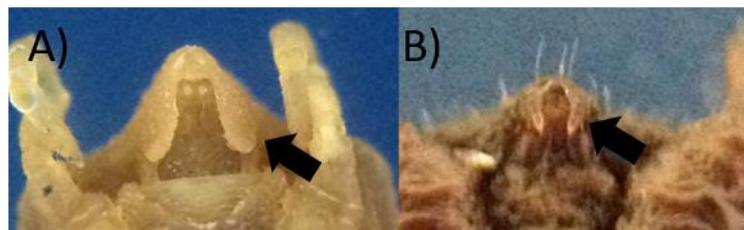


Figura 23.Extremidade do tarso e pré-tarso presente no 4º par de pernas em *O. brasiliensis* (A) e ausente em *O. rostratus* (B). Fonte: Aragão (1931).

Nos Ixodidae, *Ixodes* sp. foram diferenciados dos demais pelo sulco anal anterior ao ânus (Figura 24). *Dermacentor nitens*, por ter a característica

do aumento progressivo de tamanho da coxa I à coxa IV e peritrema com aspecto de disco de telefone, foi separado de *Rhipicephalus* e *Amblyomma* (Figura 25). *Rhipicephalus*, em contrapartida, são distintos dos *Amblyomma* pela morfologia dos palpos: *Rhipicephalus* apresentam palpos curtos, enquanto *Amblyomma* têm palpos longos, com segundo visivelmente maior que os demais (Figura 26). As duas famílias do gênero *Rhipicephalus* distinguem-se pelas quelíceras do mesmo tamanho dos palpos, dentição do hipostômio 3/3 (*Rhipicephalus sanguineus*) quelíceras maiores que os palpos, dentição do hipostômio 4/4 (*Rhipicephalus microplus*) (Figura 27).

Figura 24. Sulco anal: A) anterior ao ânus em *Ixodes* sp. B) Posterior ao ânus nas demais espécies.

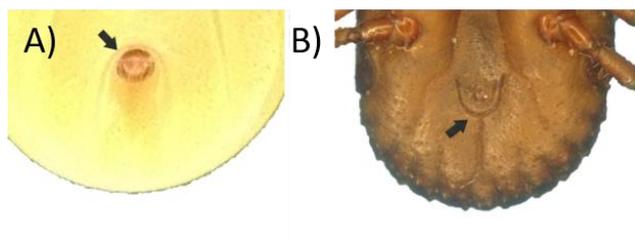


Figura 25. Coxas com aumento progressivo e peritrema em formato de disco de *Dermacentor nitens* (A) em contraste com as características apresentadas pelas demais espécies (B).

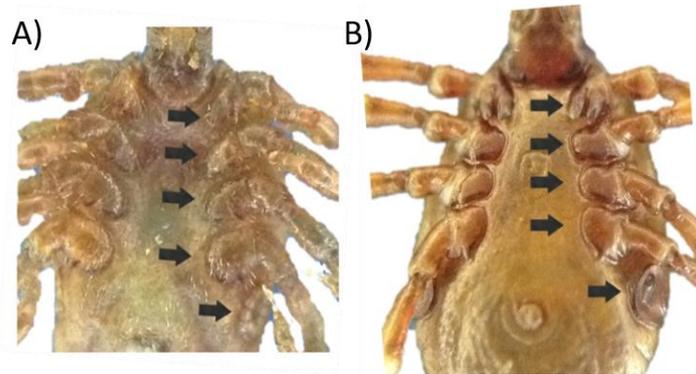


Figura 26. Morfologia dos palpos de *Rhipicephalus* (A) e *Amblyomma* (B).

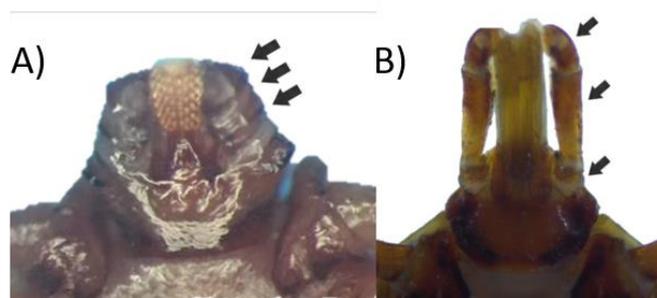
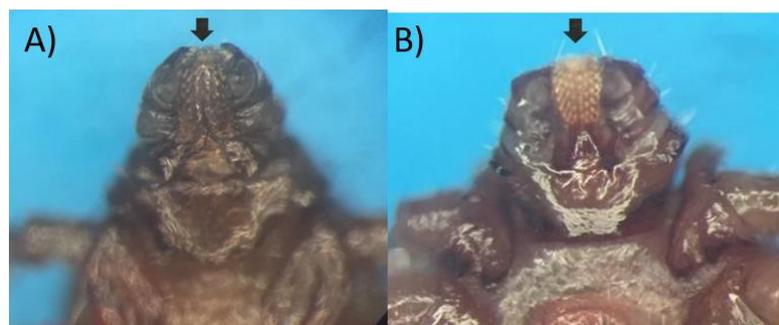


Figura 27. Morfologia dos palpos de *Rhipicephalus*. A) Quelíceras do mesmo tamanho dos palpos e denteção do hipostômio 3/3 B) Quelíceras maiores que os palpos e denteção do hipostômio 4/4.



a
das

Para
identificação
espécies de
Amblyomma
contidas na

chave, a diferenciação do sexo foi o primeiro passo a ser respondido. Os machos apresentam escudos amplos cobrindo praticamente toda a superfície dorsal enquanto as fêmeas se limitam a ter o escudo apenas em uma parte do corpo (Figura 28). Posteriormente o usuário é levado à pergunta sobre o comprimento do espinho externo da coxa I. Esta característica é igual tanto para fêmeas quanto para machos. Consideramos curto quando correspondia à $\frac{1}{4}$ do comprimento do artícuo, ou seja, *Amblyomma longirostre* e *A. parkeri*

possuem o espinho externo da coxa I curto. As demais espécies apresentam o espinho externo da coxa I com tamanho equivalente ou maior que $\frac{1}{2}$ do comprimento da coxa (Figura 29) e foram definidos como longos.

Em relação à similaridade entre os espinhos da coxa I (que se aplica a ambos os sexos) a chave apresentou duas opções: desiguais (*A. dubitatum*, *A. tigrinum* e *A. triste*, *A. cajennense*, *A. sculptum*, *A. naponense*, *A. brasiliense*, *A. scalpturatum* e (*A. parvum*) e subiguais (*A. aureolatum*, *A. nodosum*, *A. ovale*, *A. oblongoguttatum*) (Figura 30).

O próximo passo trata-se da coxa IV com dois espinhos - o externo longo e o interno um pequeno tubérculo que está presente em *A. brasiliense* e ausente em *A. oblongoguttatum*, *A. scalpturatum*, *A. aureolatum*, *A. nodosum* e *A. ovale* (Figura 31).

Seguindo, os espinhos subiguais podem ter a altura menor que a coxa (*A. oblongoguttatum*, *A. nodosum* e *A. scalpturatum*), maior que a altura da coxa, com o externo terminando em ponta reta (*A. aureolatum*) ou maior que a altura da coxa, com o externo terminando em ponta encurvada para fora (*A. ovale*) (Figura 32).

A diferenciação entre *A. oblongoguttatum*, *A. nodosum* e *A. scalpturatum* foi baseada nos escudos dos machos e presença de sulco marginal que em *A. oblongoguttatum* tem manchas esbranquiçadas nas porções laterais, sulco marginal distinto ou em formato de J, sulco marginal ausente em *A. nodosum* ou escudo castanho com elevações escuras sem pontuações nas porções mediano-posterior e lateral, sulco marginal incompleto para *A. scalpturatum* (Figura 33).

Figura 28. Dimorfismo sexual em *Amblyomma*. A) Escudo dorsal completo em macho. B). Escudo restrito à porção anterior do idiossoma em fêmea

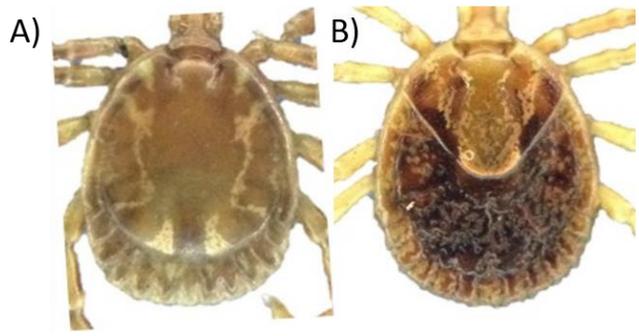
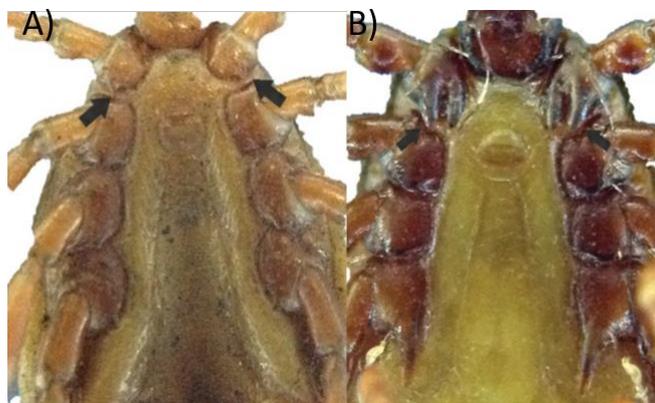
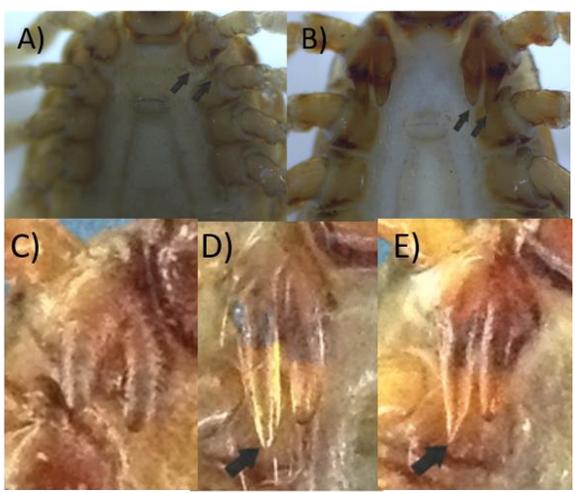


Figura 29. coxas em Espinho da coxa I *Amblyomma parkeri*. As possuem esse



Morfologia das *Amblyomma*. A) curto em *longirostre* e *A. demais espécies* espinho longo(B).

Figura 30. em *Amblyomma*. A) desiguais, B) Espinhos subiguais que a coxa. D) com altura maior que em ponta reta E) com altura maior que em ponta curvada para fora.



Morfologia das coxas Espinhos da coxa I subiguais, C) com a altura menor espinhos subiguais a coxa terminando espinhos subiguais a coxa terminando espinhos subiguais a coxa terminando

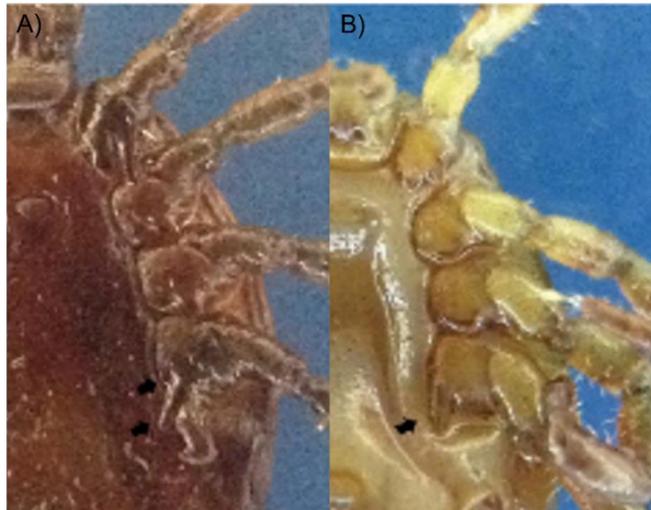


Figura 31. Espinhos da coxa IV. A) Coxa IV com dois espinhos. B) Coxa IV apenas com 1 espinho.

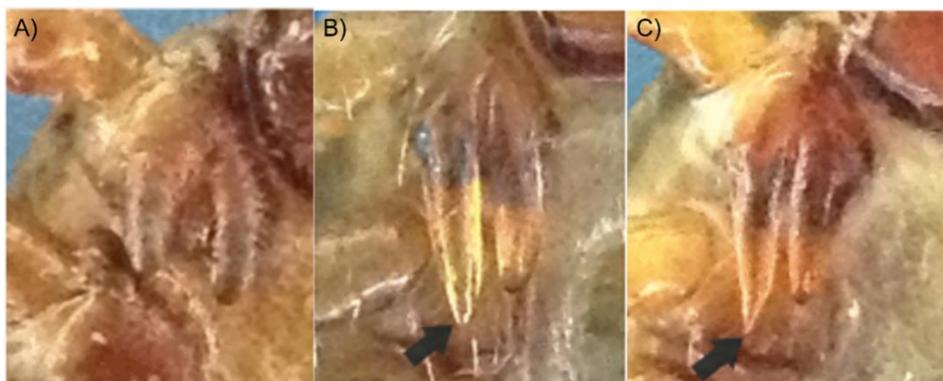


Figura 32. Altura do espinho da coxa I, em A) menor que a altura da coxa, em B) maior que a altura da coxa, terminando em ponta reta e C) maior que a altura da coxa, com e externo terminando em ponta encurvada para fora.

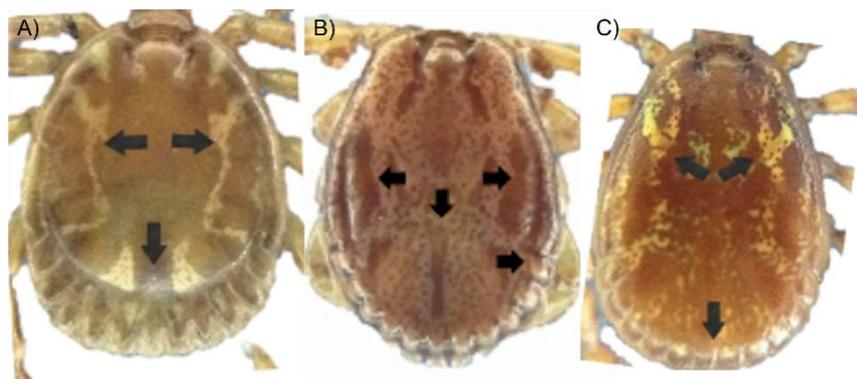


Figura 33. Ornamentação do escudo e presença de sulco marginal. A) Manchas esbranquiçadas nas porções laterais, sulco marginal distinto; B) Escudo castanho com elevações escuras sem pontuações nas porções mediano-posterior e lateral, sulco marginal incompleto e C em formato de J, sulco marginal ausente.

Em espécies cujo espinho da coxa I são considerados curtos os machos apresentam o sulco marginal incompleto em *A. longirostre* ou completo em *A. parkeri* (Figura 34) e as fêmeas de *A. longirostre* o hipostômio lanceolado e de *A. parkeri* espatulado (Figura 35).

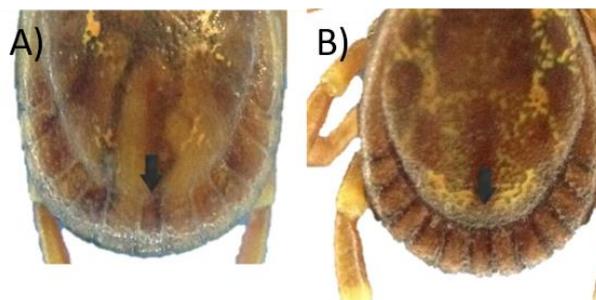


Figura 34. Morfologia do sulco marginal em machos de *Amblyomma*. A) Sulco marginal incompleto (*A. longirostre*) e B) completo (*A. parkeri*). Fonte:

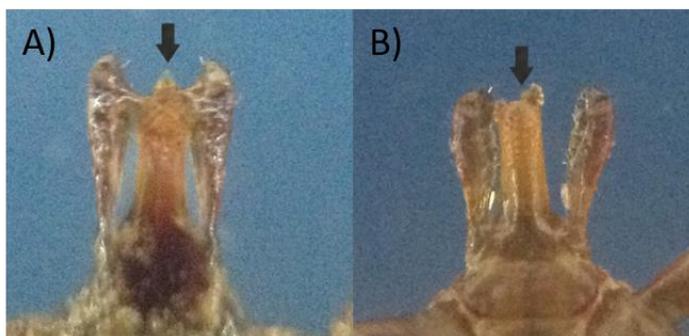


Figura 35. Morfologia do hipostômio de fêmeas de *Amblyomma*. A) Hipostômio lanceolado (*A. longirostre*) e B) hipostômio espatulado (*A. parkeri*).

Em machos com os espinhos da coxa I desiguais, os festões podem ter prolongamentos moderados ((*A. parvum* e *A. dubitatum*) ou não (*A. sculptum*, *A. cajennense*, *A. tigrinum*, *A. triste* e *A. naponense*) (Figura 36).



Figura 36. Prolongamentos nos festões em *Amblyomma*. As setas indicam prolongamentos moderados (A) ou não (B).

Entre os carrapatos com prolongamentos moderados, (*A. parvum* é o único que não possui ornamentação no escudo, enquanto *A. dubitatum* possui o escudo ornamentado (Figura 37).

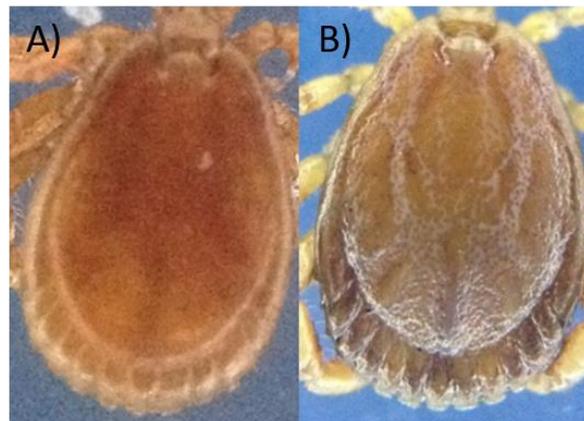


Figura 37. Morfologia do escudo em *Amblyomma*. A) Escudo sem ornamentação (*A. parvum*) e B) escudo com ornamentação (*A. dubitatum*).

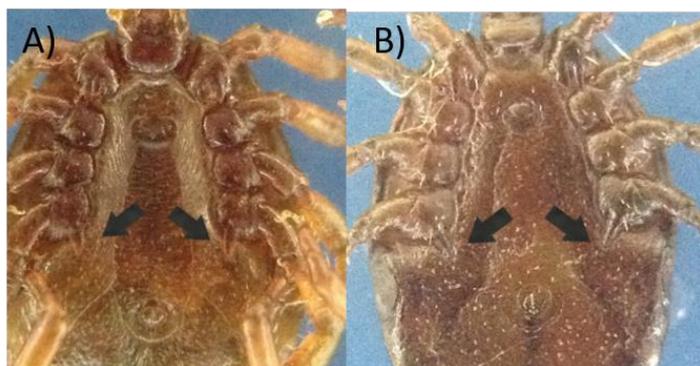


Figura 38. Morfologia da coxa IV em *Amblyomma* A) Espinho da coxa IV curto (*A. sculpturatum*). B) Espinho da coxa IV longo (*A. brasiliense* e *A. dubitatum*).

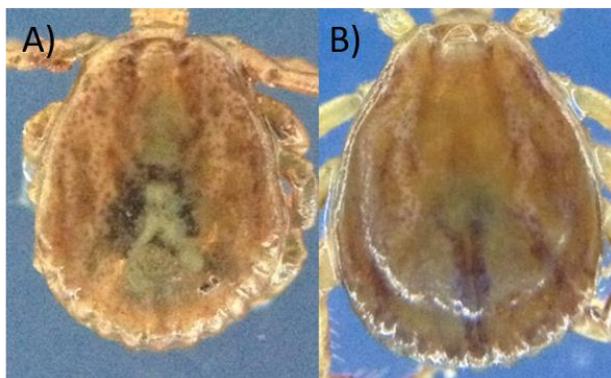


Figura 39. Escudo de *A. brasiliense* (A) e *A. dubitatum* (B).

Entre os carrapatos que não possuem prolongamentos moderados nos festões, apenas *A. naponense* tem o sulco marginal ausente (Figura 40). *A. sculptum* e *A. cajennense* apresentam escudo castanho claro com manchas esbranquiçadas ou acobreadas e *A. tigrinum* e *A. triste* escudo com listras claras (Figura 41). *A. tigrinum* e *A. triste* diferem entre si pelo formato do peritrema, em forma de vírgula ou oval, respectivamente (Figura 42). No complexo *A. cajennense*, para machos, ainda não é sabido um caractere morfológico que os distinga, apesar de existirem diferenças geográficas nas distribuições (Figura 43).



Figura 40. Sulco marginal. As setas indicam em (A) sulco marginal ausente em *A. naponense* e (B) sulco marginal presente. Fonte: (A): Barros-Battesti et al. (2006); (B) Autor.

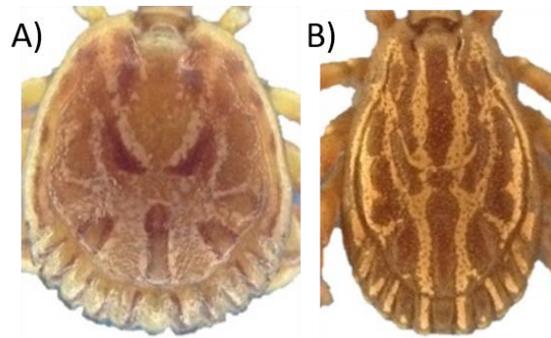


Figura 41. Morfologia do escudo em *Amblyomma*. A) Escudo castanho claro com manchas esbranquiçadas ou acobreadas (*A. sculptum* e *A. cajennense*). B) Escudo com listras claras (*A. tigrinum* e *A. triste*).

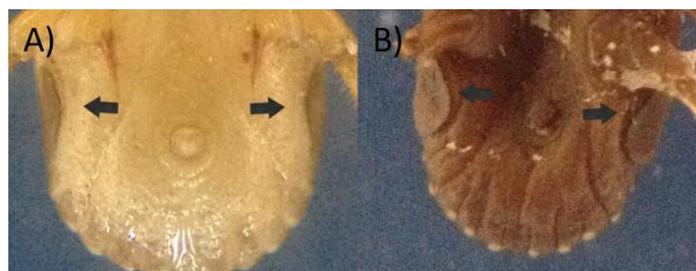


Figura 42. Morfologia do peritrema em *Amblyomma*. A) Peritrema em formato de vírgula (*A. tigrinum*). B) Peritrema oval (*A. triste*).

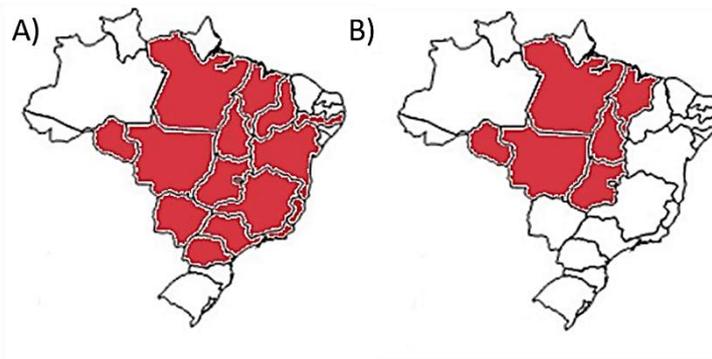


Figura 43. A) Mapa de distribuição de *A. sculptum* e B) *A. cajennense*.

Para as fêmeas restantes foi considerado o espinho interno da coxa I ser vestigial, que é observado em *A. tigrinum* e *A. triste* (Figura 44). *A. tigrinum*, por sua vez, tem a banda marrom central do escudo interrompida por mancha clara, o que não é visto em *A. triste* (Figura 45).

O próximo passo foi a ornamentação do escudo – ausente em (*A. parvum*; com bordos castanhos e centro mais claro (*A. sculptum*, *A. cajennense*, *A. naponense* e *A. brasiliense*); mancha amarela no campo posterior e marcações pálidas adicionais (*A. scalpturatum*); mancha clara interrompida por banda mais escura central (*A. dubitatum*); duas faixas longitudinais nos campos laterais e uma mancha triangular na margem posterior (*A. oblongoguttatum*); predominantemente amarelado (*A. aureolatum*); manchas claras simetricamente dispostas em forma de Y (*A. nodosum*) (Figura 46) e mancha central estendendo-se da porção anterior até a margem posterior, de coloração esverdeada a acobreadas (*A. ovale*) (Figura 47).

No caso das espécies que não foram separadas por essas características, foram observadas a dentição do hipostômio: 3/3 em *A. sculptum*, *A. cajennense* e *A. naponense* e 4/4 em *A. brasiliense* (Figura 48). Os carrapatos cuja dentição era 3/3, o tamanho do hipostômio foi a característica diagnóstica escolhida, longo em *A. sculptum* e *A. cajennense* e curto em *A. naponense* (Figura 49). Por fim, *A. sculptum* e *A. cajennense* são diferenciados pelo formato da abertura genital, em formato de U em *A. sculptum* e em formato de cálice em *A. cajennense* (Figura 50).

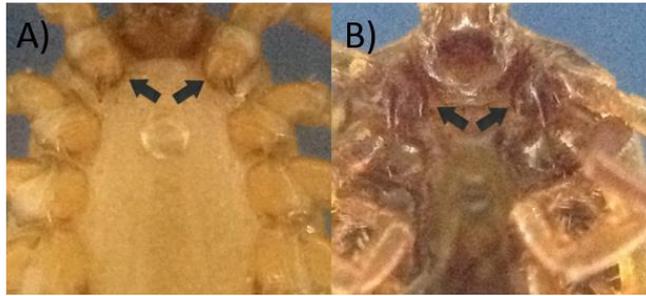


Figura 44. Morfologia do espinho interno da coxa I de fêmeas de *Amblyomma*. A) Vestigial. B) não vestigial.

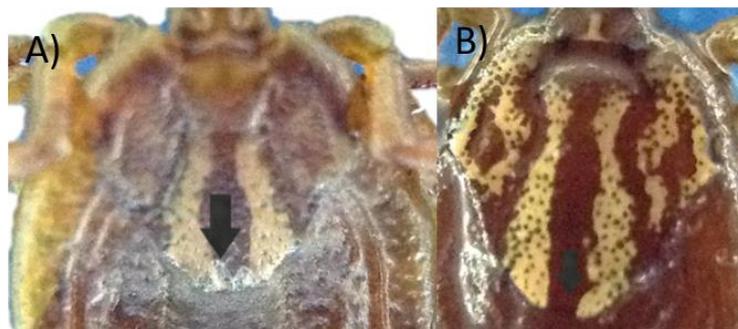


Figura 45. Ornamentação do escudo de fêmeas de *Amblyomma* salientando a interrupção (A) ou não (B) da mancha clara central.

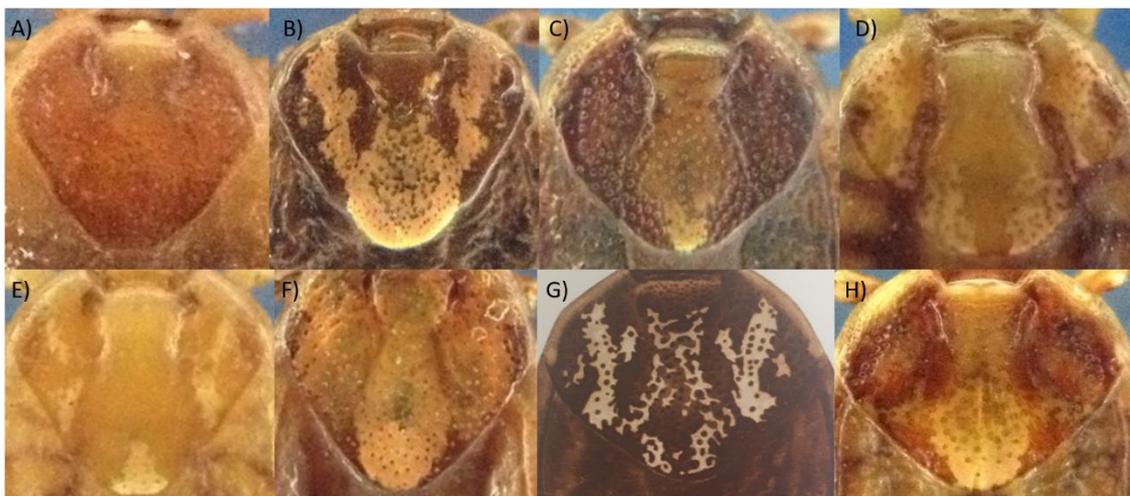


Figura 46. Escudo de espécies de *Amblyomma*. A) (*A. parvum*; B) *A. sculptum*, *A. cajennense*, *A. naponense* e *A. brasiliense*; C) *A. sculpturatum*; D) *A. dubitatum*; E) *A. oblongoguttatum*; F) *A. aureolatum*; G) *A. nodosum* e H) *A. ovale*. Fonte: Aragão (1961)

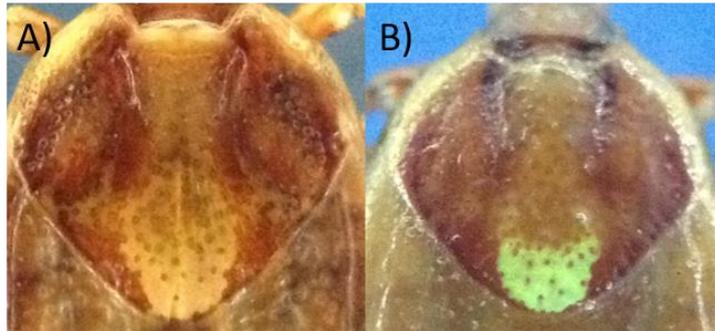


Figura 47. Detalhe da coloração do escudo de *A. ovale*, variado de acobreado (A) à esverdeado (B).

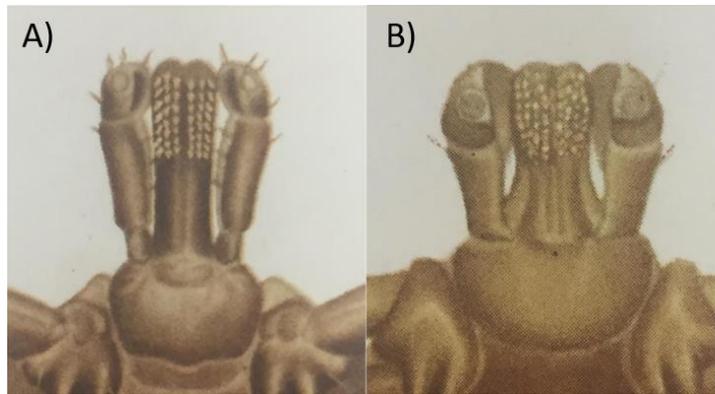


Figura 48. Dentição do hipostômio em *Amblyomma*. A. 3/3 (*A. sculptum*, *A. cajennense* e *A. naponense*). B. 4/4 (*A. brasiliense*). Fonte: Aragão (1961).

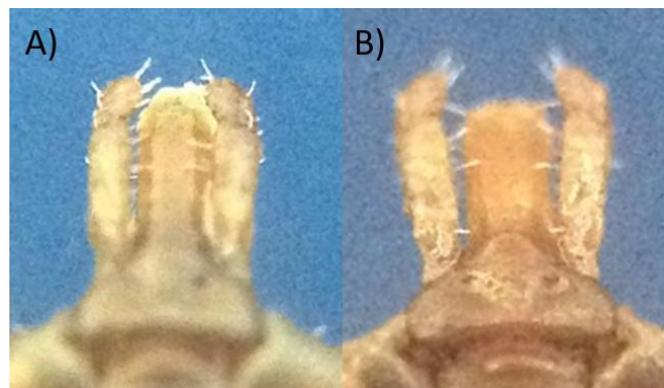


Figura 49. Tamanho do hipostômio em *Amblyomma*. A. longo (*A. sculptum* e *A. cajennense*). B. curto (*A. naponense*).

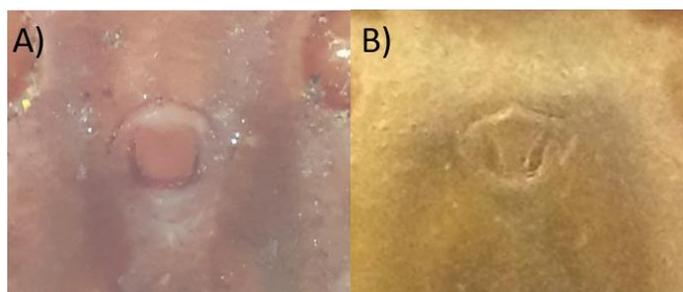


Figura 50. Formato da abertura genital em *Amblyomma*. A) Abertura genital em formato de U (*A. sculptum*). B) em formato de cálice (*A. cajennense*).

5.3 Descrição do ECTODEx

Na versão 2022, o ECTODEx abrange 34 espécies de ectoparasitos e está incluído em um aplicativo mais amplo (VETORDEx) que inclui outras duas chaves de identificação eletrônicas para flebotomíneos e triatomíneos (LUTZODEx e TRIATODEx, respectivamente). ECTODEx inclui 34 perguntas com duas a cinco respostas possíveis e mais de 80 imagens detalhadas de estruturas morfológicas (Figura 1). O usuário seleciona uma opção e é levado diretamente a outra pergunta até finalizar a identificação, quando é apresentada a foto colorida do vetor identificado, sua distribuição geográfica e outras informações (importância médica e hospedeiros). Para cada resposta existem imagens das estruturas para facilitar a tomada de decisão do usuário durante a identificação. Em qualquer momento da identificação, o aplicativo mostra as possíveis espécies e ainda permite retornar para perguntas anteriores. Caso haja algum erro percebido pelo usuário em alguma etapa, o processo de identificação pode ser retornado a partir da última pergunta correta respondida.

5.4 Desempenho do ECTODEx

5.4.1 Análise exploratória da acurácia

Inicialmente, nós testamos se houve diferença entre as rodadas para avaliar se os usuários obtiveram algum tipo de aprendizado na primeira rodada. A Figura 50 mostra que não houve diferença na acurácia entre as rodadas ($p=0,14$). Dessa forma, todas as análises foram realizadas considerando todo o conjunto de dados.

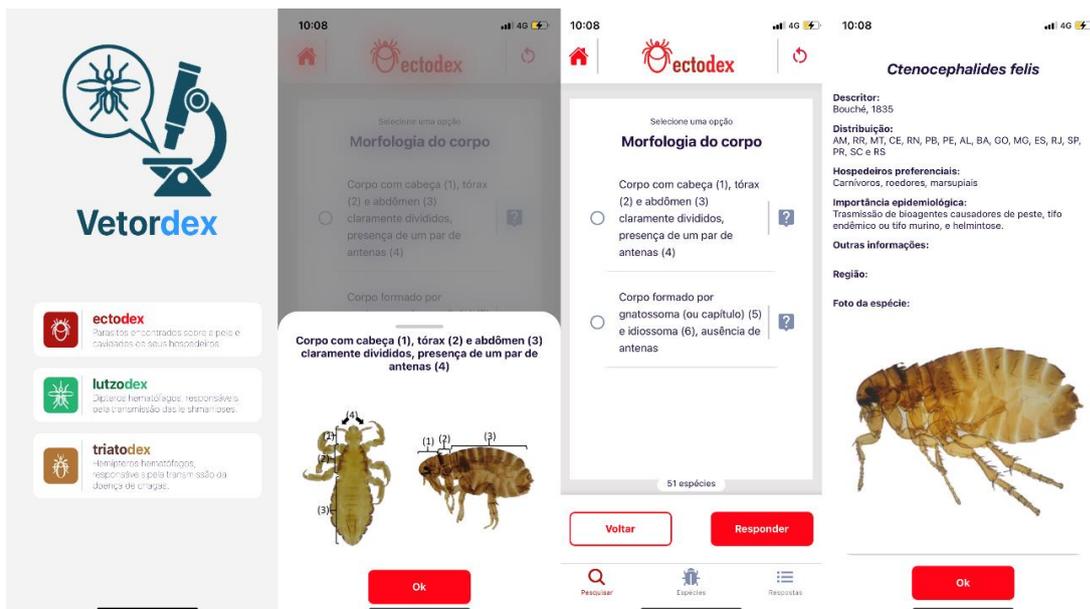


Figura 51. Telas do VETORDEX e ECTODEX, mostrando as perguntas ilustradas e a identificação final, com informações sobre o ectoparasito e sua foto. Atualmente VETORDEX inclui três aplicativos, LUTZODEX (Rocha et al. 2019), TRIATODEX (Gurgel-Gonçalves et al. 2021) e EctoDex. Mais detalhes do aplicativo em <https://apps.apple.com/br/app/vetordex/id1602553121>

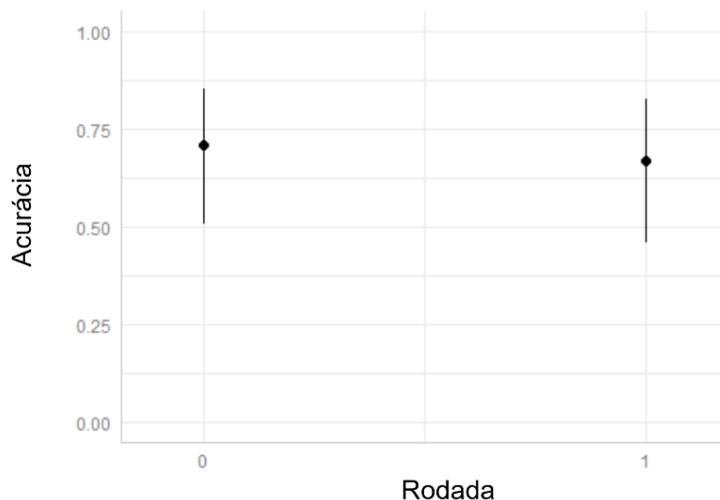


Figura 52. Acurácia (porcentagem de identificações corretas) entre as rodadas de identificação. Os valores médios e intervalos de confiança foram muito similares entre a primeira (representado por 0) e a segunda rodada (representada por 1).

Nós avaliamos o ECTODEX com 33 usuários brasileiros, 12 que tinham treinamento especializado, dos quais 3 tinham alta expertise na identificação de ectoparasitos, e 21 usuários sem tal treinamento, com baixa ou média expertise (Tabela 2). Considerando as 1356 tarefas de identificação, a acurácia foi maior

com ECTODEx (57%, intervalo de confiança de 95% [IC] 53-60) do que usando PKEY (49%, IC 46-53). Como esperado, observamos uma maior acurácia no grupo de usuários com treinamento especializado, chegando a >80% considerando usuários de alta expertise, tanto usando ECTODEx quanto a PKEY (Tabela 5). As acurácias foram maiores entre usuários de 30 anos, pertencentes ao laboratório de referência e que possuíam maior expertise, tanto usando ECTODEx quanto a PKEY. A análise do grupo de usuários sem treinamento especializado mostrou que a acurácia foi maior usando ECTODEx (Tabela 6). Nesse grupo, as acurácias foram similares entre usuários de diferentes idades, formações e expertises, tanto usando ECTODEx quanto a PKEY.

Tabela 5. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos por usuários com treinamento especializado de acordo com suas características usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).

Grupo	ECTODEX			PKEY		
	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)
Gênero						
Feminino	210	141	67,14% (60,53–73,13)	210	131	62,38% (55,66–68,65)
Masculino	135	65	48,14% (7,04–45,18)	150	61	40,66% (33,13–48,66)
Idade						
20'	-*	-	-	-	-	-
30'	150	118	78,66% (71,43–84,46)	150	114	76,00% (68,57–82,13)
40'	40	19	47,50% (30,14–47,51)	30	7	23,33% (11,79–40,92)
50'	117	45	38,46% (32,93–62,50)	119	49	41,17% (32,74–50,15)
60'	30	20	66,66% (48,78–80,76)	30	21	70,00% (52,12–83,33)
Lab referência						
Sim	300	187	62,33% (56,72–67,62)	300	181	60,33% (57,70–65,70)
Não	45	10	22,22% (12,54–36,26)	45	21	46,66% (32,93–60,92)
Formação						
Biologia	255	145	56,86% (50,72–62,79)	255	154	60,39% (54,27–66,19)
Outras	90	51	56,66% (46,36–66,42)	90	48	53,33% (60,53–66,19)
Expertise						
Alta	90	76	84,44% (75,56–90,50)	90	76	84,44% (75,56–90,50)
Média	150	81	54,00% (46,02–61,77)	150	76	50,66% (42,74–58,55)
Baixa	105	48	45,71% (36,50–55,22)	105	50	47,61% (38,32–57,08)

*sem dados para essa característica considerando o grupo de usuários com treinamento especializado.

Tabela 6. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos por usuários sem treinamento especializado de acordo com suas características usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).

Grupo	ECTODEX			PKEY		
	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)
Gênero						
Feminino	194	116	59,79% (52,76–66,43)	196	87	44,38% (37,60–51,38)
Masculino	118	68	57,62% (48,60–66,16)	132	44	33,33% (25,86–41,74)
Idade						
20'	152	87	57,23% (49,28–64,82)	148	39	26,35% (19,91–33,98)
30'	45	27	60,00% (45,45–72,97)	45	18	40,00% (27,02–54,54)
40'	60	44	73,33% (60,99–82,86)	75	34	45,33% (34,56–56,55)
50'	55	26	47,27% (34,69–60,20)	60	21	35,00% (24,16–47,63)
60'	-*	-	-	-	-	-
Lab referência						
Sim	-	-	-	-	-	-
Não	336	190	53,57% (48,22–58,83)	349	144	41,25% (36,21–46,49)
Formação						
Biologia	186	114	61,29% (54,12–67,99)	210	91	43,33% (36,81–50,10)
Outras	141	70	49,64% (41,51–57,79)	139	53	38,12% (30,47–46,42)
Expertise						
Alta	-	-	-	-	-	-
Média	84	45	53,57% (42,98–63,84)	87	37	42,52% (32,67–53,01)
Baixa	243	139	57,20% (50,91–63,26)	262	107	40,83% (35,06–46,88)

*sem dados para essa característica considerando o grupo de usuários sem treinamento especializado.

A acurácia do EctoDex variou de acordo com as características dos usuários (Figura 51); usuários com treinamento especializado, alta expertise, do laboratório de referência, da área de biologia e com idade de 30 anos apresentaram maiores porcentagens de identificações corretas.

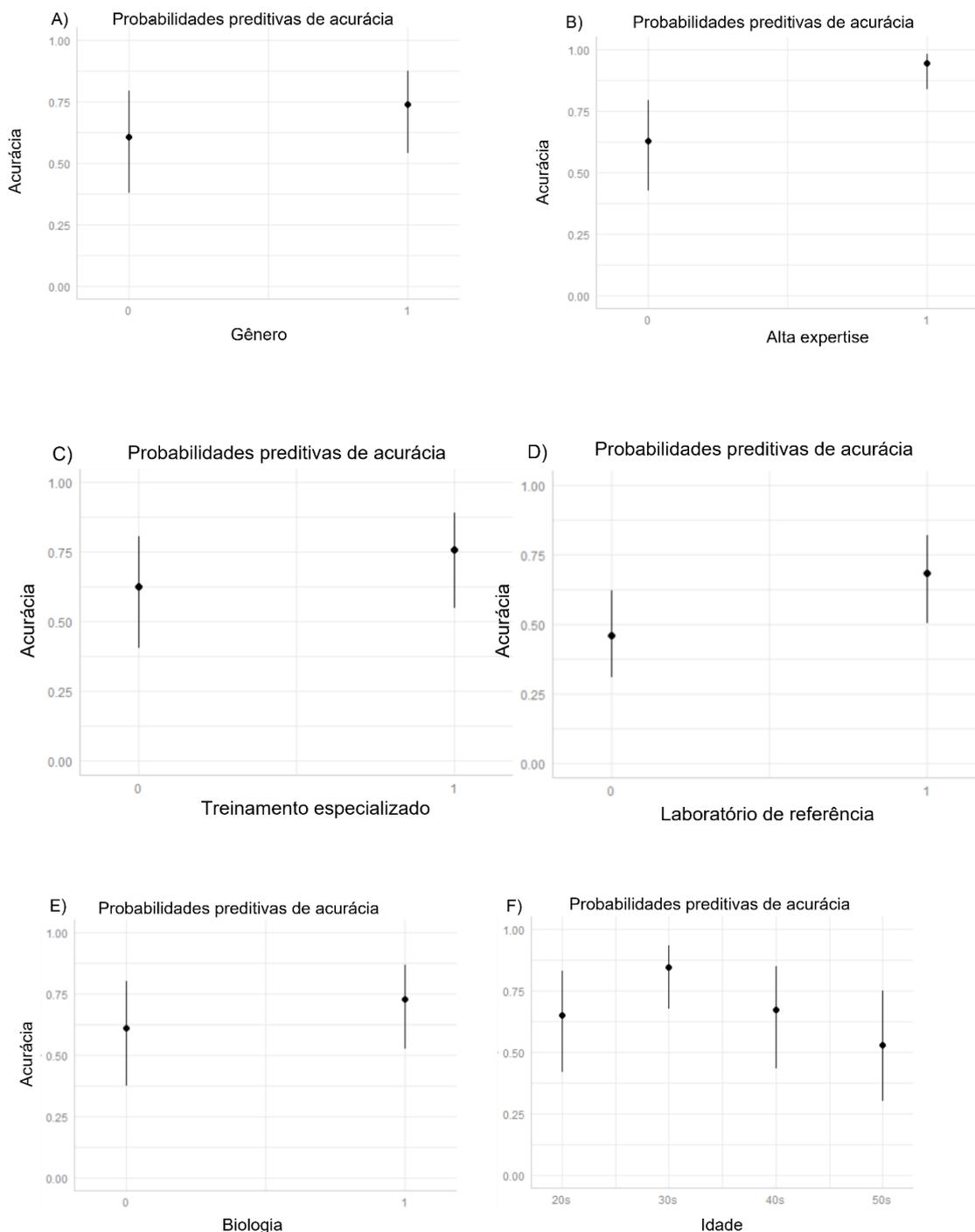


Figura 53. Resultados das análises exploratórias bivariadas. Acurácias do ECTODEX de acordo com as características dos usuários A) Gênero; B) Alta expertise; C) Treinamento especializado; D) Laboratório de referência; E) Biologia e F) Idade. Em B a E, 0 indica ausência da característica e 1 a presença. Em F as idades estão representadas em anos de vida (20 a 50 anos).

A alta expertise teve maior efeito na acurácia; usuários com alta expertise apresentaram acurácias estimadas de 94% (IC95%, 83-98), razão de

chances de 5,4 em relação aos usuários de baixa ou média expertise. A acurácia de usuários com treinamento especializado (76%, IC95% 55-89) foi maior que os que não tinham (62%, IC95% 40-80) com razão de chance de 1,56. Os que pertenciam ao laboratório de referência tiveram maior chance de acertar as identificações 68% (IC95% 50-82) que os não pertencentes à tal laboratório (46%, IC95% 31-62) e razão de chances de 1,72. Ter cursado biologia aumentou a acurácia (72%, IC95% 52-86) em relação àqueles que fizeram outros cursos (61%, IC95% 38-80), razão de chances de 1.40. Idade mostrou-se variável, com melhores resultados aos 30 anos (84%, IC95% 68-93). A acurácia variou entre os grupos de ectoparasitos (Tabela 7), sendo menor para carrapatos e pulgas e superior para piolhos com ECTODEX e PKEY, entretanto as acurácias foram maiores com ECTODEX (Tabela 8).

Tabela 7. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos segundo os principais grupos

Grupo	ECTODEX			PKEY		
	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)
Carrapato	419	201	47,87% (43,23–57,75)	423	173	40,90% (36,31–45,64)
Percevejo	16	13	81,25% (56,91–93,40)	15	3	20,00% (7,04–45,18)
Piolho	63	63	100% (94,25–100,00)	59	52	88,13% (74,47–94,13)
Pulga	180	118	65,56% (58,35–72,10)	181	107	59,11% (51,83–66,01)

(carrapatos, percevejos, piolhos e pulgas) usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).

Os modelos exploratórios bivariados também estimaram maiores acurácias para o grupo dos piolhos e menores para o grupo dos carrapatos (Figura 52).

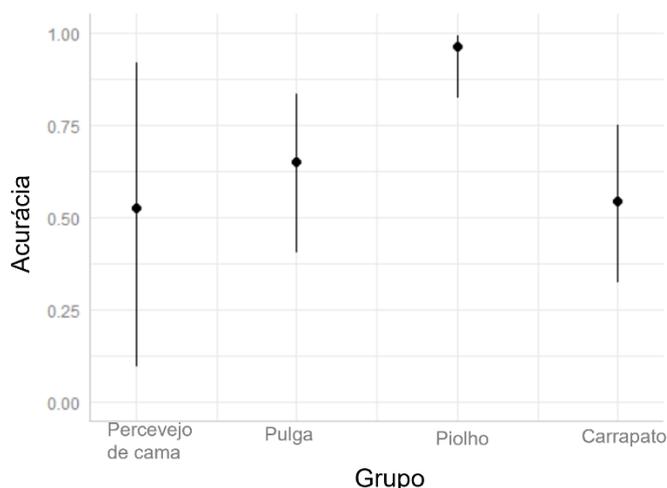


Figura 54. Acurácia e seus intervalos de confiança estimados pelos modelos exploratórios bivariados para os grupos de ectoparasitos. O gráfico mostra que os piolhos foram mais corretamente identificados que os grupos de ectoparasitos.

5.4.2 Análise da acurácia usando modelos generalizados lineares mistos

Nossas análises baseadas em modelos generalizados lineares mistos (GLMMs) mostram que o ECTODEx melhorou a identificação de ectoparasitos entre usuários e espécies em termos de acurácia em relação ao PKEY. A acurácia melhorou muito entre usuários sem treinamento especializado em taxonomia de ectoparasitos, com valores previstos pelo GLMM subindo de ~57,2% (PKEY; CI95% [40,8–72,2]) para ~77,1% (ECTODEx; [63,5–86,8]), do que entre usuários com tal treinamento especializado – cuja acurácia aumentou apenas ligeiramente, de ~73,1% (PKEY; [60,4–82,9]) para ~74,4% (ECTODEx; [62,0–83,9]). As identificações de usuários com alta expertise foram, em geral, mais precisas (ECTODEx: ~87%; PKEY: ~81%) do que aquelas de usuários não especialistas (~59% e ~47%, respectivamente) (Figura 55); por outro lado, a idade, o gênero ou a formação acadêmica do usuário não afetaram significativamente a acurácia com nenhuma das chaves.

A acurácia variou amplamente entre as espécies de ectoparasitos, de 12 a 18% para o carrapato *Amblyomma parvum* a ~ 98 a 99% para o piolho *Pediculus humanus*. (Figura 56). Esses modelos também mostraram que o uso do ECTODEx aumentou consistentemente a acurácia para identificação das espécies (Figura 57).

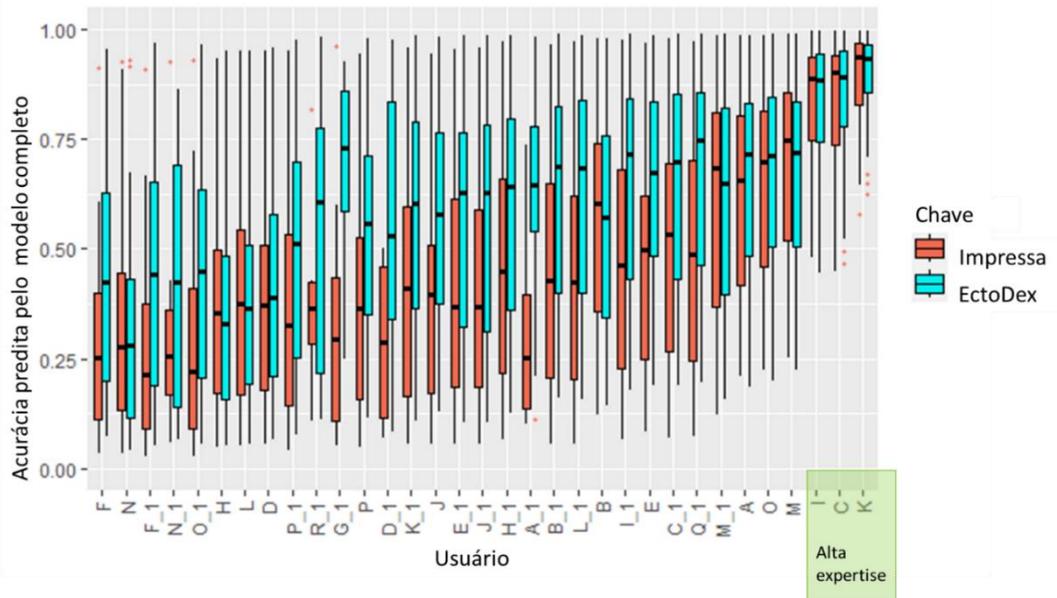


Figura 55. Porcentagem de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33 voluntários usando EctoDex (azul) e chaves dicotômicas impressas (salmão): variação entre usuários. As previsões são derivadas do modelo completo. O aumento das porcentagens de identificação correta associado com o uso do EctoDex foi maior entre os usuários menos habituados ao uso de chaves dicotômicas. Os três usuários com mais expertise em taxonomia de ectoparasitos estão destacados no eixo horizontal do painel da esquerda (caixa “Alta expertise”). Os boxplots mostram medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras verticais) das previsões do modelo; os valores das previsões individuais para cada espécime e usuário foram omitidos para melhorar a clareza da figura.

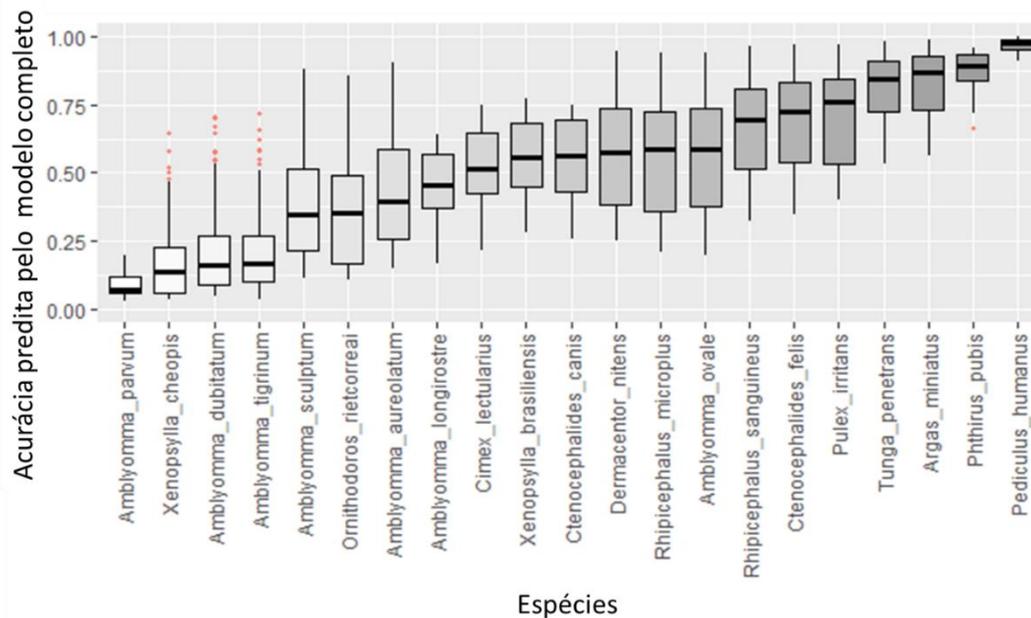


Figura 56. Porcentagem de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33 usuários do ECTODEx e chaves dicotômicas: variação entre espécies. As previsões são derivadas do modelo completo. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras); os diamantes vermelhos são os outliers.

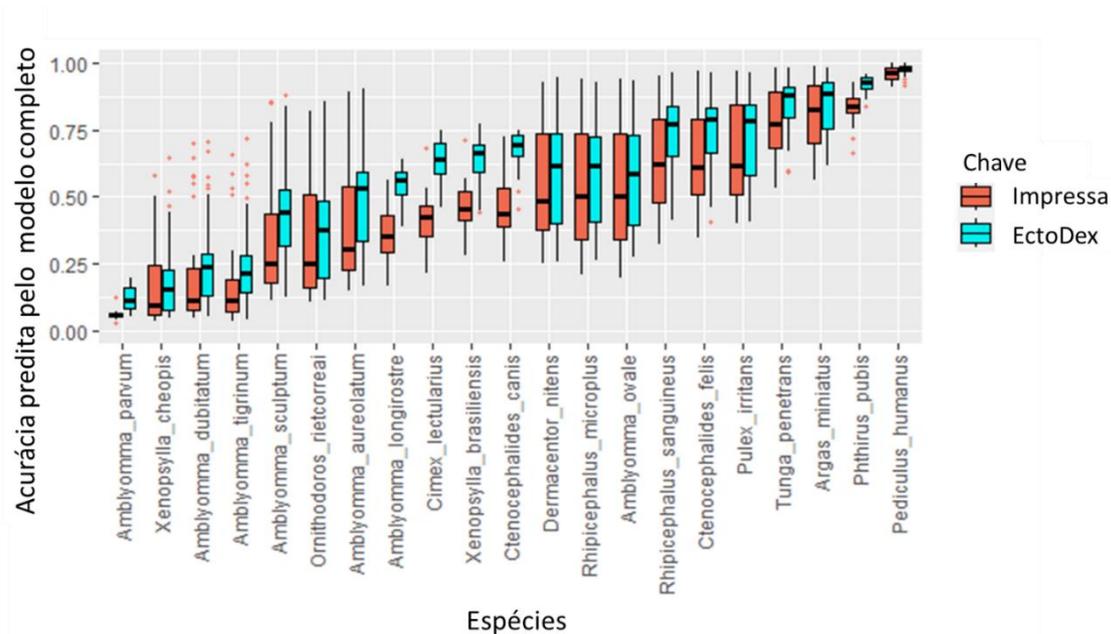


Figura 57. Probabilidade de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33 usuários do ECTODEX (azul) e chaves dicotômicas (salmão): variação entre espécies e o 'efeito ECTODEX'. As predições são derivadas do modelo completo. Para cada espécie, a diferença entre os valores vermelhos (predições para as chaves dicotômicas impressas) e azuis (predições para ECTODEX) ilustra o aumento consistente das probabilidades de identificação correta associado com o uso do ECTODEX. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).

5.4.3 Análise exploratória do tempo de identificação

ECTODEX reduziu o tempo gasto em tarefas de identificação quando comparado ao tempo usando PKEY. Nossa análise exploratória mostrou ampla variação do tempo gasto em tarefas de identificação entre os usuários, sendo que aqueles com treinamento especializado e maior expertise apresentavam menores tempos de identificação quando comparado aos usuários sem treinamento especializado (Tabelas 8 e 9).

Tabela 8. Tempo para identificar os ectoparasitos segundo as características dos usuários com treinamento especializado usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).

Grupo	Ectodex			PKEY		
	Média	Mediana	Desvio padrão	Média	Mediana	Desvio padrão
Gênero						
Feminino	2,90	2,00	2,93	3,73	3,00	3,34
Masculino	3,26	2,00	3,11	3,33	2,00	3,04
Idade						
20'	-*	-	-	-	-	-
30'	2,22	2,00	1,87	3,12	2,00	3,11
40'	6,38	4,17	5,01	6,40	6,62	3,91
50'	3,82	3,00	2,95	4,23	4,00	2,84
60'	0,68	0,55	0,37	0,56	0,50	0,37
Lab Referência						
Sim	3,05	2,00	3,08	3,53	2,73	3,30
Não	2,81	2,00	1,90	4,17	4,00	2,39
Formação						
Biologia	3,88	3,00	3,33	4,13	3,10	3,45
Outras	2,26	1,50	2,13	2,13	1,25	1,96
Expertise						
Alta	5,38	4,03	3,99	6,55	6,15	3,31
Média	2,46	2,00	1,96	2,76	2,00	2,13
Baixa	1,61	1,00	1,60	1,97	1,00	2,73

*sem dados para essa característica.

Nós observamos também que os tempos de identificação foram menores usando o ECTODEX, porém essa diferença foi mais perceptível no grupo sem treinamento especializado (Tabela 9).

Na análise exploratória de tempo o ECTODEX teve um percentual de melhora (em tempo salvo na identificação) de 22.43% quando comparada à PKEY. Os dados das tabelas 9 e 10 sugerem que o tempo gasto para identificação com EctoDex foi maior entre os usuários biólogos, do sexo masculino de 30 a 40 anos. Porém os modelos exploratórios bivariados considerando as dependências da base de dados não indicaram que essas características teriam um efeito significativo no tempo gasto para identificação. Por outro lado, usuários com alta expertise gastaram menos tempo para realização das tarefas (Kruskal-Wallis = 140,69, $p < 0,01$), assim como usuários com treinamento especializado (Kruskal-Wallis = 47,92, $p < 0,01$) e de laboratório de referência (Kruskal-Wallis = 56.10, $p < 0,01$).

Tabela 9. Tempo para identificar os ectoparasitos segundo as características dos usuários sem treinamento especializado usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).

	Ectodex			PKEY		
	Média	Mediana	Desvio padrão	Média	Mediana	Desvio padrão
Gênero						
Feminino	2,78	3,00	3,00	5,73	4,00	5,58
Masculino	3,51	3,00	2,90	4,84	4,01	3,14
Idade						
20'	3,65	3,00	3,21	5,65	4,10	5,33
30'	4,17	4,00	2,61	6,39	5,49	4,61
40'	4,21	3,58	2,98	5,58	4,72	4,52
50'	2,25	2,00	1,77	3,39	3,00	2,20
60'	*	-	-	-	-	-
Lab Referência						
Sim	4,19	3,15	2,90	5,94	5,00	5,19
Não	3,63	3,00	2,95	5,31	4,00	4,67
Formação						
Biologia	3,73	3,00	2,94	5,27	4,00	4,35
Outras	3,55	3,00	2,97	5,42	4,01	5,17
Expertise						
Alta	*	-	-	-	-	-
Média	3,60	3,00	2,95	5,33	4,00	4,70
Baixa	3,81	3,00	2,94	5,81	4,10	5,10

*sem dados para essa característica

O tempo também variou entre os grupos de ectoparasitos (Tabela 10, Figura 58), sendo maior para carrapatos e pulgas e menor para piolhos com ECTODEX e PKEY, entretanto os tempos gastos em tarefas foram menores com ECTODEX (Tabela 10).

	Média	Mediana	Desvio padrão	Média	Mediana	Desvio padrão
Carrapato	3,93	3,00	3,33	5,29	4,00	4,62
Percevejo	2,16	1,33	0,08	3,84	2,16	2,74
Piolho	1,53	1,00	1,28	2,80	2,00	3,49
Pulga	4,98	4,00	4,58	5,20	4,0	4,54

Tabela 10. Tempo utilizado (em minutos) para identificar as espécies de ectoparasitos segundo os principais grupos (carrapatos, percevejos, piolhos e pulgas) usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).

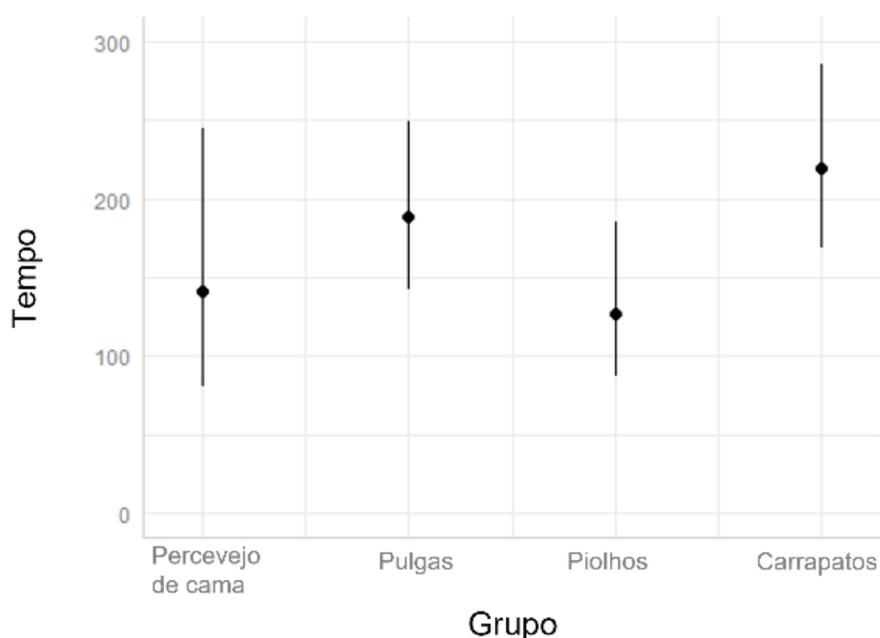


Figura 58. Tempo (em segundos) que os usuários gastaram para identificar diferentes grupos de ectoparasitos. Piolhos e percevejos de cama foram mais rapidamente identificados que espécimes de carrapatos e pulgas.

5.4.4 Análise do tempo usando modelos generalizados lineares mistos

Os GLMMs de tempo também mostraram que o ECTODEx acelerou as tarefas de identificação, especialmente para usuários sem treinamento especializado em taxonomia de ectoparasitas (PKEY: ~2,8 min/tarefa, [2,3–4,0]; ECTODEx: ~2,0 min/tarefa, [1,4–2,8]) (Figura 63); a economia de tempo foi modesta para usuários com tal treinamento (PKEY: ~2,5 min/tarefa, [1,9–3,3]; ECTODEx: ~2,1 min/tarefa, [1,6–2,8]). Mais uma vez, a alta experiência anterior

também levou a uma grande economia de tempo (~1,5 min/tarefa, em média, vs. ~3,7 min/tarefa para não especialistas), e a idade, sexo ou treinamento geral do usuário não afetou significativamente o tempo para identificação. Também encontramos grande variação entre as espécies, com valores médios previstos variando de ~3–4 min/tarefa para *A. sculptum* a ~1 min/tarefa para *P. humanus* (Figura 59).

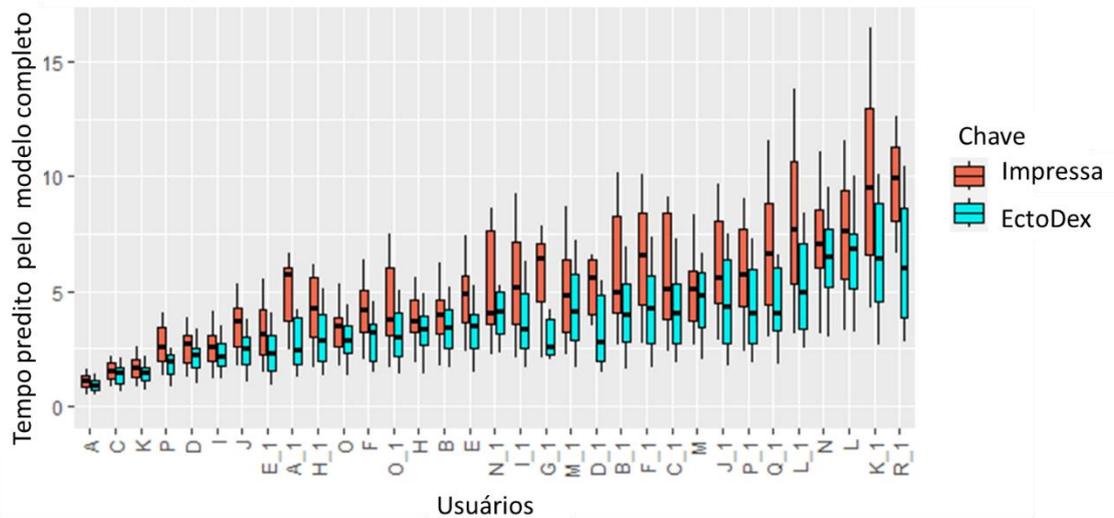


Figura 59. Tempo utilizado (em minutos) para identificar 21 espécies de ectoparasitos usando EctoDex (azul) e chave dicotômica impressa (salmão): variação entre os usuários. Os valores são previsões do modelo completo. Para cada espécie, a diferença entre os valores em salmão (previsões para as chaves dicotômicas impressas) e azul (previsões para EctoDex) ilustra a diminuição consistente do tempo de identificação associada com o uso do EctoDex. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).

Com o ECTODEx, o tempo médio gasto por pessoas que não passaram por treinamento especializado para executar uma tarefa de identificação diminuiu para quase o mesmo tempo gasto por aqueles que o fizeram. Aqueles que foram treinados precisavam de tempos semelhantes com ambas as chaves (embora ECTODEx acelerasse um pouco as coisas), mas quem não foi treinado precisou de mais tempo com a chave impressa do que com a ECTODEx. (Figura 60).

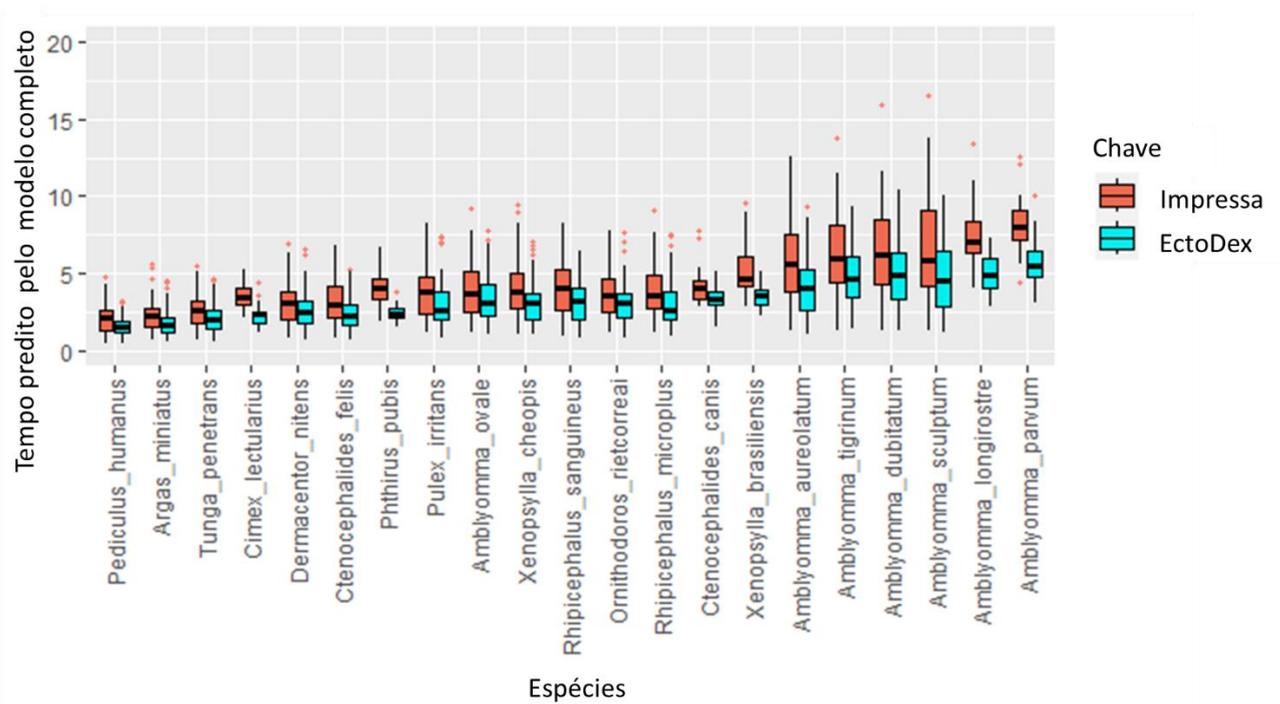


Figura 60. Tempo utilizado (em minutos) para identificar 21 espécies de ectoparasitos por 33 usuários do ECTODEX (azul) e chaves dicotômicas (salmão): variação entre espécies e o 'efeito ECTODEX'. As predições são derivadas do modelo completo. Para cada espécie, a diferença entre os valores vermelhos (predições para as chaves dicotômicas impressas) e azuis (predições para ECTODEX) ilustra a diminuição consistente do tempo de identificação associado com o uso do ECTODEX. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).

6 DISCUSSÃO

Nós desenvolvemos e avaliamos o EctoDex, uma chave de identificação eletrônica, pictórica e politômica para carrapatos, piolhos, pulgas e percevejos de cama de interesse para a saúde pública. O desempenho do EctoDex foi melhor que o da PKEY, em termos de acurácia e economia de tempo, principalmente entre os usuários sem treinamento especializado; idade, gênero ou formação em biologia não influenciaram significativamente o desempenho do EctoDex. O desempenho foi claramente melhor para espécies de piolhos, mas em comparação a PKEY, houve um aumento consistente da acurácia das outras espécies de ectoparasitos. Mostramos ainda que o EctoDex permite uma identificação mais rápida de ectoparasitos do que a PKEY.

Chaves eletrônicas oferecem algumas vantagens quando comparadas com as chaves dicotômicas impressas. Os usuários do EctoDex acertaram com mais frequência as identificações de ectoparasitos em comparação com a PKEY. Nós acreditamos que as chaves eletrônicas, pictóricas e politômicas simplificam a identificação devido às ilustrações e mais opções para tomada de decisão. Os aplicativos incluídos no VetorDex (LutzoDex, EctoDex, TriatoDex) não utilizam dicotomias tradicionais, podendo haver passos com até sete opções de respostas (Rocha et al. 2019, Gurgel-Gonçalves et al. 2021). Por outro lado, as PKEYs têm apenas duas opções de resposta com textos longos, o que pode confundir os usuários. Um resultado similar foi obtido ao avaliar o desempenho do TriatoDex; os usuários da PKEY demoraram mais para identificar as espécies de triatomíneos (Gurgel-Gonçalves et al. 2021). O EctoDex facilita a identificação ao utilizar imagens em todas as etapas, permitir o usuário corrigir erros no processo de identificação, além de apresentar um número menor de etapas em comparação com a PKEY. Chaves eletrônicas representam um avanço tecnológico para identificação de espécies de forma mais rápida e fácil, resolvendo algumas críticas às chaves dicotômicas apontadas por Walter (2007). Uma chave bem desenvolvida, com imagens e textos adequados, diminui os passos necessários para finalizar uma identificação e aumenta a probabilidade de identificação por usuários experientes e não experientes (Walter 2007). Dalwitz et al. (2000) indicam

outras vantagens de chave eletrônicas: 1) a recuperação de informações é feita quando o usuário retoma à pesquisa para responder novamente à uma questão que pode ter sido respondida de maneira errada e 2) presença de ilustrações dos caracteres em todas as etapas do processo de identificação. Essas características estão presentes no EctoDex, assim como no LutzDex (Rocha et al. 2019) e TriatoDex (Gurgel-Gonçalves et al. 2021). Adicionalmente, as chaves eletrônicas são mais fáceis de atualizar. Nas chaves tradicionais a adição de novos caracteres e táxons tem um grande efeito na estrutura da chave (Dalwitz et al. 2000). Nas chaves incluídas no VetorDex, a atualização é realizada com modificações na planilha original e uma nova versão da planilha é incluída no aplicativo que está disponibilizado para qualquer pessoa com *smartphone* Android ou iOS. A atualização mais rápida e o acesso universal e gratuito são importantes vantagens das chaves eletrônicas.

Outras ferramentas foram desenvolvidas para auxiliar a identificação de ectoparasitos, principalmente carrapatos. A vigilância de carrapatos baseada em fotografias do aplicativo *TickSpotters* foi eficaz para monitorar a distribuição de carrapatos na América do Norte. Kopsco et al. (2021a) demonstram que o *TickSpotters* complementa outras estratégias de vigilância de carrapatos em escala nacional com potencial para identificar novos focos e áreas de risco, permitindo ações de prevenção contra carrapatos. Entretanto, Kopsco et al. (2021b) mostraram que a maioria dos carrapatos enviados pelo aplicativo tinham erros de identificação. Por exemplo, 86,8% dos carrapatos *Amblyomma americanum* e 80,7% dos carrapatos de cães (*Dermacentor variabilis*) estavam identificados incorretamente, mostrando a importância de existirem outros aplicativos de identificação disponíveis para carrapatos, como o EctoDex. O aplicativo *Tekenscanner* foi desenvolvido para facilitar o envio de carrapatos detectados pela população, os quais são identificados e examinados em laboratório. Usando esse aplicativo, Jongejan et al. (2019) coletaram ~1300 carrapatos de cães e gatos, entre eles *Ixodes ricinus*, a espécie predominante na Holanda. Apesar desses aplicativos permitirem conhecer melhor a distribuição geográfica dos carrapatos e ainda facilitar o envio de amostras para identificação de patógenos nesses artrópodes nenhum deles permite a identificação pelo próprio usuário, como é proposto pelo EctoDex.

As probabilidades de identificação correta usando EctoDex foram menores para usuários sem treinamento especializado e para algumas espécies de carrapatos e pulgas. Nossa hipótese era que os usuários com expertise alta, por conhecerem melhor as características das espécies, acertariam mais as identificações. Da mesma forma, esperávamos uma maior probabilidade de identificação correta entre os usuários que trabalham em laboratório de referência por serem mais capacitados e identificarem com maior frequência as espécies de ectoparasitos. Nossos dados confirmaram a influência positiva do treinamento especializado para identificação dos ectoparasitos, assim como observado para identificação de insetos vetores (Gurgel-Gonçalves et al. 2021) e parasitos intestinais (Garcia et al. 2017). Outra hipótese foi que a probabilidade de identificação correta de espécies de carrapatos seria menor do que a de outros ectoparasitos por serem mais difíceis de serem identificados considerando o marcante dimorfismo sexual e dificuldade de visualização de estruturas. Nossos dados suportaram essa hipótese. Segundo Dantas-Torres et al. (2019) a identificação morfológica de carrapatos é dificultada porque a diagnose de algumas espécies depende da observação de estruturas de difícil visualização e contagem, como os dentes do hipostômio. O dimorfismo sexual dos carrapatos também é uma característica que dificulta a identificação das espécies porque as chaves devem incluir passos específicos de acordo com o sexo do indivíduo. Em alguns casos não é possível identificar as espécies quando somente o macho está disponível, como no caso da diferenciação de *Amblyomma cajennense* e *A. sculptum* (Nava et al., 2014; Martins et al., 2016, Dantas-Torres et al. 2019). Nossos resultados também mostraram que espécies de outros grupos de ectoparasitos (e.g. a pulga *Xenopsylla cheopis*) também foram mais difíceis de identificar pelos usuários. As nossas chaves incluíram duas espécies similares de *Xenopsylla* cuja diferença nos machos está relacionada a presença de cerdas antipigidiais em nítido tubérculo e nas fêmeas ao formato da espermateca, características que são difíceis de visualizar para usuários inexperientes. Porém, nossos resultados mostraram que o desempenho do EctoDex foi melhor que o da PKEY mesmo para essas espécies de difícil identificação. Esses resultados ilustram as dificuldades na identificação correta de algumas espécies de carrapatos e pulgas, sugerindo que a pesquisa

taxonômica deve se concentrar na definição de caracteres mais evidentes e úteis para a identificação desses ectoparasitos.

Os resultados revelaram uma significativa economia de tempo para completar a identificação dos espécimes usando o EctoDex. Isso deve ter acontecido pelo reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies durante o processo de identificação. Na chave impressa os textos são mais longos e o usuário necessita imaginar a característica morfológica até a tomada de decisão. No EctoDex os textos são mais curtos e logo ao lado existe uma imagem o que facilita a tomada de decisão dos usuários e conseqüentemente diminui o tempo de identificação. Como esperado os usuários com treinamento especializado e alta expertise apresentaram tempos mais curtos de identificação pelo fato de já conhecerem as características das espécies e tomarem as decisões de forma mais rápida. Os resultados de economia de tempo apresentados aqui são relevantes em um cenário do serviço de saúde em que várias espécies são enviadas ao mesmo tempo para o laboratório e dessa forma mais identificações são realizadas.

EctoDex também apresenta limitações, como todo método de identificação. Primeiro, nós esclarecemos que o desempenho do aplicativo observado aqui se aplica ao conjunto de 33 usuários brasileiros e das 34 espécies de ectoparasitos analisados. Segundo o EctoDex tem um número de espécies limitado e não incluiu algumas espécies de ectoparasitos de interesse veterinário que também são relevantes considerando a abordagem One Health (Johnson et al. 2022). Terceiro, a versão atual do aplicativo funciona apenas em português e os mapas de distribuição estão limitados ao Brasil. A nossa perspectiva é atualizar a lista de espécies do EctoDex para incluir outras espécies de ectoparasitos de interesse para a saúde pública na América do Sul, lançar uma nova versão em espanhol e inglês e revisar a distribuição geográfica das espécies. A nova versão deverá ser testada por profissionais da vigilância de ectoparasitos para verificar se o EctoDex é útil na rotina do serviço de saúde em países da América do Sul.

7 CONCLUSÕES

- Desenvolvemos uma chave de identificação eletrônica, pictórica e politômica (ECTODEx) para 34 espécies de carrapatos, piolhos, pulgas e percevejos de cama de interesse para a saúde pública a qual foi disponibilizada gratuitamente na Apple store e Google play
- O desempenho do ECTODEx foi melhor que o da chave dicotômica impressa em termos de porcentagem de identificações corretas (acurácia) e tempo para completar a identificação das espécies pelos usuários.
- Os usuários sem treinamento especializado tiveram melhor desempenho (acurácia e tempo) usando o ECTODEx do que a chave impressa.
- Idade, gênero ou formação acadêmica não influenciaram significativamente o desempenho do ECTODEx.
- O desempenho do ECTODEx foi claramente melhor para espécies de piolhos, em termos de acurácia e tempo para identificação.
- Em comparação a chave impressa, houve um aumento consistente da porcentagem de identificação correta das outras espécies de ectoparasitos usando o ECTODEx.
- O ECTODEx permite uma identificação mais rápida de ectoparasitos do que a chave impressa.
- Esses dados em conjunto mostram que o aplicativo ECTODEx é útil para identificação de algumas espécies de ectoparasitos de interesse para saúde pública inclusive por usuários não experientes, o que poderá ampliar o seu uso e fortalecer a vigilância de ectoparasitos pela sociedade.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akhoundi M, Sereno D, Durand R, Mirzaei A, Bruel C, Delaunay P & Izri A. Bed bugs (Hemiptera, Cimicidae): overview of classification, evolution and dispersion. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17(12), 4576.

Almeida AP, Cunha LM, Bello AC, da Cunha AP, Domingues LN, Leite RC, Labruna MB. A novel Rickettsia infecting *Amblyomma dubitatum* ticks in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2011; 2(4):209-212.

Antonise-Kamp L, Beaujean DJMA, Crutzen R, Van Steenberghe JE & Ruwaard D. Prevention of tick bites: an evaluation of a smartphone app. *BMC Infect. Dis*. 2017; 17(1), 744.

Aragao HB. Notas sobre os *Ornithodoros rostratus*, *brasiliensis* e *turicata*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1937; v.25, n.3, p.227-236.

Azad AF, Sacci JB, Nelson WM, Dasch GA, Schmidtmann ET, Carl M. Genetic characterization and transovarial transmission of a typhus-like rickettsia found in cat fleas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89, 43-46.

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

Berger KA, Ginsberg HS, Dugas KD, Hamel LH, Mather TN: Adverse moisture events predict seasonal abundance of Lyme disease vector ticks (*Ixodes scapularis*). *Parasites and Vectors* 2014, 7:1–8.

Bicho CL; Ribeiro PB. Chave pictórica para as principais espécies de Siphonaptera de importância médica e veterinária, no Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 1998; v. 7, n. 1, p. 47-51.

Bitam L., Dittmar K., Parola P., Whiting MF, Raoult. Fleas and flea-borne diseases international. *Int. J. Infect. Dis*. 2010; 14, e667-e676

Blaine AM, Bobbi SP. Laboratory identification of arthropod ectoparasites. *Clin*.

Microbiol. Rev. 2014; 27(1):48.

Blacklock, B. On the multiplication and infectivity of *T. cruzi* in *Cimex lectularius*. Br Med J. 1914; 25;1 (2782):912-3.

Bonilla DL, Kabeya H, Henn J, Kramer VL, Kosoy MY. *Bartonella quintana* in body lice and head lice from homeless persons, San Francisco, California, USA. Emerg. Infect. Dis. 2009; 15, 912e915.

Brites-Neto J, Brasil J, Duarte KMR. Epidemiological surveillance of capybaras and ticks on warning area for Brazilian spotted fever. Veterinary World. 2015; 8(9):1143-1149.

Burgdorfer W. Ecological and epidemiological considerations of Rocky Mountain spotted fever and scrub typhus. In: Walker DH (ed) Biology of Rickettsial diseases, vol 1 CRC Inc, Boca Raton.1988; pp 33–50.

Coates SJ, Thomas C, Chosidow O, Engelman D, Chang AY. Ectoparasites: Pediculosis and tungiasis. J. Am. Acad. Dermatol. 2020; 551-569.

Cunha NC, Fonseca AH, Rezende J, Rozental T, Favacho ARM, Barreira JD, Massard CL, Lemos ERS. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. Pesq Vet Bras. 2009; 29(2):105-108.

Dall'Agnol B, Michel T, Weck B, Souza UA, Webster A, Leal BF, et al. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes longiscutatus* ticks from Brazilian Pampa. Ticks Tick Borne Dis.2017; 8: 928-32.

Dallwitz, Mike J., T. A. Paine, and E. J. Zurcher. "Principles of interactive keys." Web-based document <http://biodiversity.uno.edu/delta> v.3, 2000.

Dantas-Torres F. Rocky Mountain spotted fever. Lancet Infect Dis. 2007; 7(11):724-732.

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.

Dantas-Torres F, Martins TF, Murioz-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.

Dantas-Torres F. Species concepts: What about ticks? *Trends Parasitol.* 2018; 34,1017–1026

Dantas-torre F, Otranto D. Ixodid and Argasid ticks. *Journal: Encyclopedia of Infection and Immunity.* 2022; p. 1049-1063.

Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Carrapatos e doenças transmitidas por carrapatos: uma perspectiva de saúde. *Tendências em Parasitologia.* 2012a; 28: 437-446

Delaunay P, Blanc V, Del Giudice P, Levy-Bencheton A, Chosidow O, Marty P, Brouqui P. Bedbugs and infectious diseases. *Clin Infect Dis.*2011; 52: 200–210.

Dogget SL. Bedbugs. What GP needs to Know. *Aust Fam Physician* 2009; 38(11):880-4.

Doggett SL, Dwyer DE, Peñas PF, Russell RC. Bed bugs: clinical relevance and control options. *Clin Microbiol.* 2012; Rev 25: 164–192.

Doggett SL, Russell R. Bed bugs - what the GP needs to know. *Aust Fam Physi-cian.* 2009; 38(11):880–4.

Du CH, SunY, Xu RM, Shao Z. Description of *Haemaphysalis* (*Alloceraea*) *koloninisp. nov* A new species in subgenus *Alloceraea* Schulze (*Ixodidae:Haemaphysalis*) in China. *Acta Parasitol.* 2018; 63,678–691.

Durden L. Lice (Phthiraptera). *Medical and Veterinary Entomology.* In book: *Parasitic Diseases of Wild Mammals, Second Edition;* 2008.

Eldin, Carole, et al. Review of European and American guidelines for the diagnosis of Lyme borreliosis. *Medecine et maladies infectieuses* 49.2 2019: 121-132.

Eremeeva ME, Dasch GA. Challenges posed by tick-borne rickettsiae: eco-epidemiology and public health implications. *Front. Public Health.* 2015; 55.

Estrada-Peña, A. Carrapatos: Morfologia, fisiologia e ecologia (Edição adaptada por regiões geográficas: América Latina). São Paulo: Editora MedVet, 2017.

Ferraz KMP, Ferraz SFB, Moreira JR, Couto HTZ, Verdade LM. Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) distribution in agroecosystems: a cross-scale habitat analysis. *J. Biogeogr.* 2007; 34, 223–230.

Ferreira MU. Parasitologia contemporânea. In: *Parasitologia contemporânea*. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro-GRUPO GEN. 2012; 236p.

Gehrke FS, Gazeta GS, Souza ER, Ribeiro A, Marrelli MT, Schumaker TT. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* sp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio De Janeiro/Brazil. *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15 Suppl 2:267-8.

Gillespie JJ, Ammerman NC, Beier-Sexton M, Sobral BS, Azad AF. Louse- and flea-borne rickettsioses: biological and genomic analyses. *Vet Res.* 2009; 40, 12.

Goddard J, deShazo R. Bedbugs (*Cimex lectularius*) and clinical consequences of their bites. *JAMA* 2009; 310(13):1358-66.

Goddard J. Physician's guide to arthropods of medical importance, 6th ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 2012.

Gomes, AC. Vigilância entomológica. Informe Epidemiológico do SUS. 2002; 11, n. 2, p. 79-90.

Gonçalves DD, Carreira T, Nunes M, Benitez A, Lopes-Mori FMR, Vidotto O, et al. First record of *Borrelia burgdorferi* B31 strain in *Dermacentor nitens* ticks in the northern region of Parana (Brazil). *Brazilian Journal of Microbiology.* 2013; 44(3):883-887.

Gonçalves DD, Moura RA, Nunes M, Carreira T, Vidotto O, Freitas JC, et al. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in humans in a rural area of Paraná State, Brazil.

Braz. J. Microbiol. 2015;46(2):571-9.

Gubler D.J. Vector-borne diseases. Rev Sci Tech. 2009; 28, 583-588.

Gurgel-Gonçalves R, Abad-Franch F, de Almeida MR, Obara MT, de Souza RCM, Batista JAS, Rocha DA. TriatoDex, an electronic identification key to the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease: Development, description, and performance. PloS one. 2021; 16.4; e0248628.

Hamer SA, Tsao JI, Walker ED, Hickling GJ. Invasion of the Lyme disease vector *Ixodes scapularis*: implications for *Borrelia burgdorferi* endemicity. EcoHealth. 2010; 7:47–63.

Hamer SA, Curtis-Robles R, Hamer GL. Contributions of citizen scientists to arthropod vector data in the age of digital epidemiology. Current opinion in insect science. 2018; 28, 98-104.

Hamzaoui B, Laroche M, Bechah Y, Bérenger JM, Parola P. Testing the competence of *Cimex lectularius* bed bugs for the transmission of *Borrelia recurrentis*, the agent of relapsing fever. Am. J. Trop. Med. 2019, 100(6), 1407-1412.

Heijden KM, Szabó MPJ, Egami MI, Campos Pereira M, Matushima ER. Histopathology of tick-bite lesions in naturally infested capybaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*) in Brazil. Exp. Appl. Acarol. 2005; 37, 245–255. doi:10.1007/s10493-005-4155-5

Hopla CE, Durden LA, Keirans. Ectoparasites and classification. Rev. Off. Int. Epizoot. 1994; 13(4), 985-1034.

Horta MC, Ogrzewalska M, Azevedo MC, Costa FB, Ferreira F, Labruna MB. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis felis* from five geographic regions of Brazil. Am. J. Trop. Med. 2014; 91.1- 96-100.

Iannino F, Sulli N, Maitino A, Pascucci I, Pampiglione G, Salucci S. Species, biology and flea-borne diseases. Veterinaria italiana. 2017; v. 53, n. 4, p. 277-288.

Ibrahim O ,Syed UM, Tomecki KJ. Bedbugs: Helping your patient through an infestation. Cleve Clin J Med. 2017; 84: 207-11.

Jongejan F, de Jong S, Voskuilen T, Van Den Heuvel L, Bouman R, Heesen H, Berger L. Tekenscanner: a novel smartphone application for companion animal owners and veterinarians to engage in tick and tick-borne pathogen surveillance in the Netherlands. Parasites & vectors. 2019; 12(1), 116.

Klompen JSH, Black W, Keirans JE, Oliver Jr JH. Evolution of ticks. Annual review of entomology. 1996, 41(1), 141-161.

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; 76,413–419

Labruna MB, Mattar S, Nava S, Bermudez S, Venzal JM, Dolz G, Abarca K, Romero L, de Sousa R, Oteo J, Zavala-Castro J. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. Rev MVZ Córdoba. 2011; 16(2):2435-57.

Labruna MB. Ecology of rickettsia in South America. Ann N Y Acad Sci.; 2009. 1166:156-66.

Lai O, Ho D, Glick S, Jagdeo J. Bed bugs and possible transmission of human pathogens: a systematic review. Archives of dermatological research. 2016, 308(8), 531-538.

Leulmi H, Bitam I, Berenger JM, Lepidi H, Rolain JM, Almeras L, Raoult D, Parola P. Correction: competence of *Cimex lectularius* bed bugs for the transmission of *Bartonella quintana*, the agent of trench fever. PLOS Negl Trop Dis. 2015; 9: e0003871

Lewis, R. E. Notes on the geographic distribution and host preferences in the order Siphonaptera. Part 8. New taxa described between 1984 and 1990, with a current classification of the order. Journal of Medical Entomology. 1993a; 30, 239 e 256.

Light JE, Smith VS, Allen JM, Durden LA, Reed D L. (2010). Evolutionary history of mammalian sucking lice (Phthiraptera: Anoplura). *BMC Evolutionary Biology*, 2010; 10, 292.

Lopes FA, Rezende J, Silva DBS, Alvese FCG, Oliveira CE, Costa IP, Evidência molecular de *Borrelia burgdorferi* sensu lato em pacientes no centro-oeste brasileiro. *Rev Bras Reumatol*. 2017; 57(6):641–645.

Madder M, Adehan S, De Deken R, Adehan R, Lokossou R. New foci of *Rhipicephalus microplus* in West Africa. *Exp. Appl. Acarol*. 2012; 56(4), 385-390.

Mans BJ, Gothe R, Neitz A W H. Biochemical perspective on paralysis and other forms of toxicoses caused by ticks. *Parasitology*, 2004; 129(S1), S95-S111.

Mantovani E, Marangoni RG, Gauditano G, Bonoldi VLN, Yoshinari NH. Amplification of The *Flge* gene provides evidence for the existence of a brazilian Borreliosis. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2012; 54(3):153-157.

McClintock BT, Bailey LL, Pollock KH, Simons TR. Unmodeled observation error induces bias when inferring patterns and dynamics of species occurrence via aural detections. *Ecology*. 2010; 91:2446–2454.

Moreira JR, Ferraz KMPMB, Herrera EA, Macdonald DW. *Capybara: biology, use and conservation of an exceptional neotropical species*. Springer Science & Business Media. 2012; p-422.

Mullen G, Lance D. *Medical and Veterinary Entomology*. Academic Press, 3ª Edição, EUA, 2018.

Munõz S, Fernandes A. *Principais doenças causadas por ectoparasitas*. São Paulo. USP/UNIVESP. 2008.

Muñoz-Leal S, Faccini-Martínez ÁA, Costa FB, Marcili A, Mesquita ETKC, Marques EP Jr, Labruna MB. Isolation and molecular characterization of a relapsing fever *Borrelia* recovered from *Ornithodoros rudis* in Brazil. *Ticks Tick*

Borne Dis. 2018 ;9(4):864-871.

Neves, DP. Parasitologia Humana. 11 ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

Nieri-Bastos FA., Marcili A, De Sousa R, Paddock CD, Labruna MB. Phylogenetic evidence for the existence of multiple strains of *Rickettsia parkeri* in the New World. Appl. Environ. Microbiol. 2018; 84(8).

OIE (Office International des Epizooties). "Terrestrial Animal Health Code." (2011).

Oliveira SV, Guimarães JN, Reckziegel GC, Neves BM, Araújo-Vilges KM, Fonseca LX, Pinna FV, Pereira SV, de Caldas EP, Gazeta GS, Gurgel-Gonçalves R. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2016; 22;22(1):22.

Ortiz DI, Piche-Ovares M, Romero-Vega LM, Wagman J, Troyo A. The Impact of Deforestation, Urbanization, and Changing Land Use Patterns on the Ecology of Mosquito and Tick-Borne Diseases in Central America. Insects. 2021; Dec 23;13(1):20.

Oteo JA, Nava S, Sousa RD, Mattar S, Venzal JM Abarca K, Labruna MB, Zavala CJ. Latin American guidelines of RIICER for diagnosis of tick-borne rickettsioses. Rev. Chilena Infectol. 2014; 31,54–65.

Pacheco A, Cordeiro MD, Cepeda MB, Luz HR, Cardozo SV, Berto BP, et al. Hemoparasites in ticks of wild birds of Serra dos Órgãos National Park, state of Rio de Janeiro, Brazil. Braz J Vet Parasitol. 2019; 28(2): 238-244.

Parola P, Raoult D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. Clin Infect Dis. 2001; 32(6):897-928.

Perez CA., Almeida AF, Almeida A, Carvalho VHB, Balestrin D C, Guimarães MS, et al. Carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) e suas relações com hospedeiros em área endêmica para febre maculosa no Estado de São Paulo. Rev. Bras. Parasit. Vet. 2008, 17,210–217

Pinter A, Costa CS, Holcman MM, Camara M, Leite RM (organizadores). A

Febre Maculosa Brasileira na Região Metropolitana de São Paulo. BEPA. 2016; 13(151):3-47.

Polaszek A. A universal register for animal names. Nature. 2005; p-437-477.

Quah SR. International encyclopedia of public health. Academic Press, 2016.

Queirogas VL, Del Claro K, Nascimento ART, Szabó MPJ. Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases. Exp. Appl. Acarol. 2012; 57, 75–82

Raoult D, La SB, Enea M, Fournier PE, Roux V, Fenollar F, Galvao MA, Lamballerie X. A flea-associated Rickettsia pathogenic for humans. Emerg Infect Dis. 2001; 7: 73–81.

Raoult D, Roux V. The body louse as a vector of reemerging human diseases. Clin. Infect. Dis. 1999; 29, 888 – 911.

Rocha DDA, De Almeida M R, BATISTA JADS, De Andrade AJ. Lutzodex™— A digital key for Brazilian sand flies (Diptera, Phlebotominae) within an Android App. Zootaxa, 2019; 4688(3), 382-388.

Rodrigues BD, Meireles VMB, Braz MN. Borreliose de lyme símile: Relato de caso. Rev. Para. Med. 2017; 21(3).

Sabou M, Imperiale DG, Andrès E; Abou-Bacar A, Foeglé J, Lavigne T, Candolfi E. Bed bugs reproductive life cycle in the clothes of a patient suffering from Alzheimer's disease results in iron deficiency anemia. Parasite. 2013; 20, 16

Salathé M, Bengtsson L, Bodnar TJ, Brewer DD, Brownstein JS, Buckee C, Campbell EM, Cattuto C, Khandelwal S, Mabry PL, et al.: Digital epidemiology. PLoS Comput Biol. 2012; 8: e1002616

Salazar R, Castillo-Neyra R, Tustin AW, Borrini-Mayori K, Naquira C, Levy MZ (2015) Bed bugs (*Cimex lectularius*) as vectors of *Trypanosoma cruzi*. Am J Trop Med Hyg 92:331–335.

Schlick-Steiner BC, Steiner FM, Seifert B, Stauffer C, Christian E, Crozier RH. Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annu Rev Entomol.* 2010; 55:421-38.

Schriefer, ME, Sacci, JB, Dumler JS, Bullen MG, Azad AF. Identification of a novel rickettsial infection in a patient diagnosed with murine typhus. *J. Clin. Microbiol.* 1994; v.32, p.949-954.

Serra-Freire NM, Mello RP. *Entomologia e Acarologia na Medicina Veterinária.* Rio de Janeiro: L.F. Livros. 2006; p-199.

Silva N, Ereemeeva ME, Rozental T, Ribeiro GS, Paddock CD, Ramos EA, et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17(2):275-278.

Soares JF., Soares HS, Barbieri AM, Labruna MB. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. *Med. Vet. Entomol.* 2012; 26(2), 139-151.

Sonenshine DE, Roe RM. Overview. Ticks, people and animals. In: 2nd ed. Sonenshine DE, Roe RM, editors. *Tick biology*, vol. 1. Oxford: Oxford University Press; 2014. p. 3_16.

Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovani E, Brandao PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16(3): 521-523.

Studdiford JS, Conniff KM, Traves KP, Traves KP, Tully AS. Bedbug infestation. *Am Fam Physician.* 2012; 86(7): p-653–8.

Szabó MPJ, Pinter A, Labruna MB. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2013; 3, 27.

Ung V, Dubus G, Zaragüeta-Bagils R, Vignes-Lebbe R. Xper2: introducing e-taxonomy. *Bioinformatics.* 2010; 26: p-703 -704

Usinger RL. *Monograph of Cimicidae.* The Thomas Say Foundation, 1966.

Voss EG. The history of keys and phylogenetic trees in systematic biology. J. Sci. Lab. Denison Univ. 1952; 43:1–25

Wall RL, Shearer D. Veterinary ectoparasites: biology, pathology and control. Blackwell Science, 2001.

Walter DE, Shaun W. Keys and the crisis in taxonomy: extinction or reinvention? Annu. Rev. Entomol. 2007; 52, 193-208.

Wheeler Q, Valdecasas AG. Cybertaxonomy and Ecology. Nat. Sci. Educ. 2010; 3 (10), 6.

Woloski JR, Burman D, Adebona O. Mite and bed bug infections. rim. Care - Clin. Off. Pract. 2018; 45(3), 409-421.

Yoshinari NH, Mantovani E, Bonoldi VLN, Marangoni RG, Gauditano G. Doença de Lyme-símile brasileira ou síndrome Baggio-Yoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. Rev. Assoc. Med. Bras. 2010; v. 56.3, p. 363-369.,

Zelmer DA. An evolutionary definition of parasitism. Int J Parasitol 1998; 28: p. 532-533.

Zhu Q, Hastriter MW, Whiting M F, Dittmar K. Fleas (Siphonaptera) are Cretaceous and evolved with Theria. Mol. Phylogenet. Evol. 2015; 90, p.129 e 139.

Zucch RA, Silveira Neto S, Nakano O. Guia de identificação de pragas agrícolas. Piracicaba: FEALQ, 1993.

APÊNDICES

Apêndice 1. Chave dicotômica para identificação de adultos piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos de importância para a saúde pública no Brasil

- 1 Cabeça, tórax e abdômen claramente divididos, presença de um par de antenas.....2
Corpo com organização corporal diferente e sem antenas.....12
2. Terceiro par de pernas mais desenvolvido que os primeiros.....3
Não como acima.....9
3. Ctenídeos genal e pronotal presentes.....4
Ctenídeo genal e pronotal ausentes.....5
4. Ctenídeo genal com a primeira cerda bem menor que as demais; cabeça curta e alta, com porção antero-dorsal arredondada; tíbia posterior com duas cerdas simples na margem posterior, entre a penúltima e a última cerdas duplas.....*Ctenocephalides canis*
Ctenídeo genal com a primeira cerda, aproximadamente, do mesmo tamanho das demais; cabeça alongada e baixa, com porção antero-dorsal não tão arredondada; tíbia posterior com uma cerda simples na margem posterior, entre a penúltima e a última cerdas duplas.....*Ctenocephalides felis*
5. Tergitos torácicos reunidos, apresentando comprimento menor que o primeiro segmento abdominal.....*Tunga penetrans*

Não acima.....	como6
6. Segmentos abdominais com duas fileiras de cerdas, na porção dorsal; região occipital com duas ou três fileiras de cerdas paralelas, em cada lado da cabeça.....	<i>Polygenis</i> spp.7
Segmentos abdominais com uma fileira de cerdas, na porção dorsal.....	7
7. Região occipital com apenas uma cerda.....	<i>Pulex irritans</i>8
Região occipital com duas fileiras de cerdas dispostas em 'V'.....	8
8. Macho com cerda antepigidial implantada em nítido tubérculo; fêmea com o corpo da espermateca mais largo que a base da cauda.....	<i>Xenopsylla brasiliensis</i>9
Macho com cerda antepigidial implantada em discreto tubérculo; fêmea com corpo da espermateca não mais largo que a base da cauda.....	<i>Xenopsylla cheopis</i>10
9. Todos os pares de pernas terminam em garras.....	10
Todos os pares de pernas com morfologia similar, sem garras.....	11
10. Todos os pares de pernas terminam em garras bem desenvolvidos.....	<i>Pediculus humanus</i>12
O segundo e terceiro par de pernas com garras mais desenvolvidas do que o primeiro.....	<i>Pthirus pubis</i>13
11. Pronoto com margem anterior moderadamente côncavo..	<i>Cimex hemipterus</i>14
Pronoto com margem anterior profundamente côncavo.....	<i>Cimex lectularius</i>15
12. Escudo dorsal presente.....	13

Escudo dorsal ausente.....Argasidae –
ver chave específica

13. Sulco anal posterior ao ânus, podendo ser bem definido ou indistinto.....14

Sulco anal anterior ao ânus, sempre bem definido.....*Ixodes*

14. Palpos mais largos que longos ou no máximo com a largura igual ao comprimento.....15

Palpos mais longos do que largos, com o segundo artículo mais do que duas vezes o comprimento do terceiro; escudo com padrões de cores (maioria das espécies); machos sem placas ventrais.....*Amblyomma* – ver chave específica

15. Base dorsal do capítulo hexagonal, machos com 2 a 4 placas adanais (carrapatos de tamanho médio ou pequenos, escudo geralmente sem padrões definidos (de coloração).....16

Base dorsal do capítulo retangular; macho sem placas adanais; escudo com ou sem padrões definidos de coloração; machos com coxas de tamanho crescente, no sentido I-IV.....*Dermacentor*

16. Dentição do hipostômio 3/3. Escudo não densamente piloso. Sulco anal distinto. Placas espiraculares com prolongamento dorsal. Abertura genital em forma de U nas fêmeas. Apêndice caudal ausente no sexo masculino..... *Rhipicephalus sanguineus*

Dentição do hipostômio 4/4. Escudo densamente piloso. Sulco anal indistinto. Placas espiraculares arredondadas. Abertura genital não em forma de U nas fêmeas. Apêndice caudal presente nos machos.....*Rhipicephalus microplus*

**Chave para as principais espécies adultas da família Argasidae que
ocorrem no Brasil**

1. Periferia do corpo achatada e estruturalmente diferente do dorso, com uma sutura distinguindo a superfície dorsal da ventral.....*Argas*
Periferia do corpo não diferenciada, sem uma linha sutural definida distinguindo a superfície dorsal da ventral.....2
2. Bochechas ausentes.....3
Bochechas presentes.....*Ornithodoros rietcorreia*
3. Tarsos e pré-tarsos com extremidades bem desenvolvidas no 1º, 2º e 3º pares de pernas e ausentes no 4º par, tíbia sem prolongamento digitiforme dorsal.....*O. rostratus*
Tarsos e pré-tarsos com extremidades bem desenvolvidas bem desenvolvidas no 1º, 2º e 3º pares de pernas e presente no 4º par (formando pequena ponta apical).....*O. brasiliensis*

**Chave para as principais espécies adultas de *Amblyomma* que ocorrem
no Brasil**

1. Escudo cobrindo todo o corpo2
 Escudo cobrindo parcialmente o corpo.....15
2. Sulco marginal distinto limitando posteriormente todos os
 festões.....3
 Sulco marginal incompleto ou
 ausente.....10
3. Coxa I com dois espinhos menores que a altura da coxa, um dos quais, em
 geral, cobre o artículo seguinte, ou se ambos o cobrem, não alcançam a
 metade desse
 artículo.....4
 Coxa I com dois espinhos contíguos, agudos e tão longos quanto o
 comprimento da coxa, o externo é ligeiramente encurvado para fora e pouco
 mais longo que o interno, ambos cobrindo o artículo seguinte, escudo castanho
 com manchas acobreadas e esverdeadas; hipostômio
 3/3.....*A. ovale*
4. Coxa IV com um só espinho, tão ou mais longo que o comprimento do
 artículo.....5
 Coxa IV com um só espinho, mais curto que o comprimento do artículo.....8
5. Coxa I com o espinho externo longo e o interno quase obsoleto; escudo
 castanho com manchas esbranquiçadas; espécies pequenas; esporões nos
 tarsos II, III e IV; pernas IV mais robustas.....6
 Coxa I com dois espinhos desiguais; demais descrições não como
 acima.....7
6. Escudo com listras, a banda marrom central do escudo   nitidamente
 interrompida na porção mediana; espinho da coxa IV longo, aproximadamente
 do mesmo comprimento que a coxa.....*A. tigrinum*

Escudo com listras, a banda marrom central é fracamente interrompida na porção mediana onde está localizada a fóvea; espinho da coxa IV muito longo e fino, ultrapassando o comprimento da coxa.....*A. triste*

7. Escudo castanho claro com manchas esbranquiçadas ou acobreadas; hipostômio longo com dente 3/3.....*A. cajennense*

Escudo castanho claro sem ornamentação; palpos curtos e espessos, artigo I com um espinho ventral retrógrado; hipostômio 3/3; córnea pronunciada.....(*A.*

parvum

8. Coxa I com dois espinhos muito curtos, com aproximadamente $\frac{1}{4}$ do comprimento do artigo; presença de cinco áreas esclerotizadas ventrais, a mediana alongada, 1 par lateral igualmente alongado e 1 par de áreas suavemente mais longas que largas; escudo castanho com manchas acobreadas a esverdeadas; coxa IV com um espinho muito curto, menor que o externo da coxa I; hipostômio 3/3; base do capítulo subtriangular.....*A. parkeri*

Coxa I com espinhos desiguais, o externo com tamanho equivalente à $\frac{1}{2}$ do comprimento da coxa; demais características não como acima.....9

9. Coxa I com dois espinhos finos, subiguais, de comprimento ligeiramente menor que a altura da coxa; coxa IV com um espinho fino e longo; escudo castanho claro com manchas suavemente esbranquiçadas nas porções laterais; festões com suaves prolongamentos; hipostômio longo, com dente 3/3.....*A. oblongoguttatum*

Espinhas da coxa I desiguais, bem separadas, de comprimento moderado não ultrapassando a $\frac{1}{2}$ da altura da coxa, o interno correspondendo a $\frac{2}{3}$ do comprimento do externo; coxa IV com um espinho moderadamente longo e forte; placas espiraculares muito grandes. Escudo castanho claro com manchas esbranquiçadas nas porções laterais; festões com prolongamentos quitinosos moderados; dente hipostomal 4/4 da base até a metade e 3/3 da

metade ao ápice, alguns podem ter denteição 3/3.....	<i>A. dubitatum</i>
10. Sulco marginal incompleto (alcançando no máximo o 3º festão).....	11
Sulco marginal ausente.....	13
11. Coxa IV com um espinho.....	12
Coxa IV com dois espinhos, o externo longo e afilado, maior que ½ do comprimento do artícolo, e o interno reduzido a um pequeno tubérculo arredondado; coxas II e III com dois espinhos, sendo o interno reduzido a um tubérculo; escudo castanho claro com manchas amareladas, festões prolongados por lâminas quitinosas salientes não incisadas; sulco marginal não ultrapassando o 2º festão; hipostômio com denteição 3/3.....	<i>A. brasiliense</i>
12. Coxa I com dois espinhos fortes, mais longos ou iguais ao comprimento do artícolo.....	14
Coxa I com dois espinhos muito curtos, o externo correspondendo a ¼ do comprimento do artícolo e o interno reduzido a ½ do externo; presença de cinco áreas esclerotinizadas ventrais, próximas aos festões, sendo uma mediana e alongada e quatro laterais; base dorsal do gnatossoma largamente hexagonal; escudo castanho escuro com manchas esverdeadas e acobreadas; sulco marginal terminando na altura do 3º festão; hipostômio com denteição 3/3.....	<i>A. longirostre</i>
13. Coxa I com dois espinhos fortes, subiguais; escudo castanho com elevações escuras desprovidas de pontuações, sobretudo nas porções mediano-posteriores e laterais; lâminas quitinosas nunca incisadas nos festões.....	<i>A. sculpturatum</i>
Coxa I com dois espinhos longos, subiguais e contíguos, maiores que o comprimento do artícolo, o externo terminando em ponta reta; escudo castanho claro, predominando o colorido amarelo-dourado; sulco marginal alcançando até o 2º festão;.....	<i>A. aureolatum</i>

14. Festões com tubérculos quitinoso dispostos ventralmente nos ângulos internos; escudo castanho claro, ornamentado com manchas amareladas ou acobreadas, e numerosas pontuações grandes e superficiais; coxa I com espinho externo fino e longo, o interno curto e largo alcançando a $\frac{1}{2}$ do comprimento externo.....*A. naponense*
 Festões normais sem tubérculos ventrais quitinosos nos ângulos internos; palpos muito nodosos, o artículo II com uma projeção dorsal e o artículo I com uma extensão lateroventral; córnua saliente; espinhos da coxa I longos, grossos sendo o externo ligeiramente menor que o interno; escudo de colorido castanho com manchas esbranquiçadas, que nos campos cervicais apresentam o aspecto de um 'J'.....*A. nodosum*
15. Coxa IV com um só espinho.....16
 Coxa IV com dois espinhos, em geral curtos.....28
16. Coxa I com dois espinhos, porém o interno vestigial.....17
 Coxa I com dois espinhos evidentes.....18
17. Festões com tubérculos quitinosos nos ângulos internos; banda marrom central do escudo contínua, não sendo interrompida na porção posterior por uma mancha esbranquiçada; presença de um esporão nos pré-tarsos.....*A. triste*
 Festões sem tubérculos nos ângulos internos; banda marrom central do escudo interrompida na porção posterior por uma mancha esbranquiçada; presença de um esporão nos pré-tarsos.....*A. tigrinum*
18. Escudo ornamentado.....19
 Escudo sem ornamentação, castanho claro, de bordos sinuosos; espinhos da coxa I muito desiguais, o interno correspondendo a menos de $\frac{1}{3}$ do comprimento do externo; presença de espinho retrógrado no artículo I do palpo..... (A.
parvum

19. Hipostômio espatulado.....	20
Hipostômio longo e lanceolado; escudo alongado, ornamentado com manchas acobreadas e esverdeadas, que na porção mediana formam um desenho de losango; base dorsal do capítulo subtriangular; coxa I com dois espinhos curtos. Espécie de tamanho médio antes de sugar e muito grande quando ingurgitada.....	
<i>A. longirostre</i>	
20. Coxa I com dois espinhos maiores que o comprimento do artículo.....	21
Coxa I com dois espinhos mais curtos que o comprimento do artículo.....	
22	
21. Coxa I com dois espinhos muito longos, contíguos, o externo pouco maior que o interno, terminando em ponta aguda e ligeiramente encurvada para fora; escudo com pontuações profundas e irregularmente distribuídas; apresentando uma mancha central que vai desde a porção anterior até a posterior e outras bem menores nos campos laterais, todas de coloração esverdeada a acobreada.....	<i>A. ovale</i>
Coxa I com dois espinhos muito longos, subiguais e contíguos, o externo terminando em ponta reta; escudo castanho-claro, predominando o colorido amarelo dourado, com numerosas e profundas pontuações.....	
<i>A. aureolatum</i>	
22. Com tubérculos ou mamilos quitinosos nos ângulos internos dos festões.....	23
Sem tubérculos quitinosos nos festões.....	25
23. Hipostômio curto; escudo com bordos laterais castanhos e centro acobreado, com pontuações largas e superficiais especialmente numerosas nas porções laterais, entremeadas de outras finas abundantes na porção posterior; espinhos da coxa I desiguais, sendo o interno largo, atingindo a	

- metade do comprimento externo que é longo e pontiagudo.....*A. naponense*
 Hipostômio longo; escudo com bordos castanhos e centro esbranquiçado; face dorsal e ventral pilosa; ápice dos festões com pequenos tubérculos quitinosos mamiliformes no ângulo interno; espinhos da coxa I desiguais, separados e pontiagudos.....24
24. Abertura genital em formato de cálice.....*A. cajennense*
 Abertura genital em formato de U.....*A. sculptum*
25. Forte prega oblíqua de posição dorsal no artículo II do palpo; escudo com ornamentação nos campos laterais lembrando 'Y'; coxa I com dois espinhos subiguais longos e largos, sendo o externo ligeiramente menor que o interno.....*A. nodosum*
 Artículo II do palpo normal.....26
26. Coxas II e III com uma prega no lugar dos espinhos; coxa I com espinhos curtos; fórmula dental geralmente 3/3, mas pode ser 4/4 da base até a metade do hipostômio e 3/3 da metade ao ápice; placas espiraculares grandes. Mancha esbranquiçada central do escudo interrompida na porção mediana posterior por uma faixa escura longitudinal.....*A. dubitatum*
 Coxas II e III com espinhos evidentes.....27
27. Espinhos da coxa I muito curtos, o externo correspondendo a 1/5 do comprimento do artículo; escudo castanho claro, com algumas manchas acobreadas irregulares no centro estendendo-se até o bordo posterior e nos campos cervicais; hipostômio longo; base dorsal do gnatossoma pentagonal.....*A. parkeri*
 Espinhos da coxa I de comprimento médio, o externo correspondendo à metade do comprimento do artículo; escudo castanho claro, bem ornamentado, com manchas acobreada na região posterior lembrando um triângulo, e manchas longitudinais nos campos cervicais estendendo-se posteriormente até

as margens laterais; palpos longos e delgados; espinho interno da coxa I ligeiramente mais curto que o externo.....*A. oblongoguttatum*

28. Presença de tubérculos quitinosos nos ângulos internos dos festões, exceto no central; espinhos da coxa I, fortes, o interno correspondendo a 2/3 do externo que, por sua vez, tem a metade do comprimento do artícolo; os espinhos internos das coxas II-IV são muito curtos e pouco evidentes; base dorsal do gnatossoma retangular, com córnua salientes; escudo muito ornamentado com manchas esbranquiçadas que cobrem quase toda a superfície.....*A. brasiliense*

Tubérculos quitinosos ou mamilos quitinosos nos festões; escudo castanho escuro com ornamentação constituída primariamente por uma mancha arredondada branco-amarelada no bordo posterior; com elevação lateral nítida posteriormente aos olhos; coxas I com espinhos fortes e similares aos do macho; orifício genital em forma de 'U'.....*A. scalpturatum*

Apêndice 2. Script do R para análises estatísticas do estudo.

```
#Read and organize data

ecdex<-read.table(file.choose(),header=TRUE) #Data is "EctoDex_DATASET"
Y<-cbind(ecdex$out)
Y<-factor(Y)
X<-
cbind(ecdex$user,ecdex$specimen,ecdex$key,ecdex$time,ecdex$round,ecdex$flea,ecde
x$tick,ecdex$louse,ecdex$group,ecdex$institution,ecdex$specialized,ecdex$reflab,ecde
x$biology,ecdex$vet,ecdex$training,ecdex$interm,ecdex$high,ecdex$expertise,ecdex$t
hirties,ecdex$fourties,ecdex$older,ecdex$age,ecdex$gender,ecdex$genus,ecdex$spp)

ecdex$key<-factor(ecdex$key)
ecdex$round<-factor(ecdex$round)
ecdex$flea<-factor(ecdex$flea)
ecdex$tick<-factor(ecdex$tick)
ecdex$louse<-factor(ecdex$louse)
ecdex$group<-factor(ecdex$group)
ecdex$institution<-factor(ecdex$institution)
ecdex$specialized<-factor(ecdex$specialized)
ecdex$reflab<-factor(ecdex$reflab)
ecdex$biology<-factor(ecdex$biology)
ecdex$vet<-factor(ecdex$vet)
ecdex$training<-factor(ecdex$training)
ecdex$interm<-factor(ecdex$interm)
ecdex$high<-factor(ecdex$high)
ecdex$expertise<-factor(ecdex$expertise)
ecdex$thirties<-factor(ecdex$thirties)
ecdex$fourties<-factor(ecdex$fourties)
ecdex$older<-factor(ecdex$older)
ecdex$age<-factor(ecdex$age)
ecdex$gender<-factor(ecdex$gender)
ecdex$genus<-factor(ecdex$genus)
ecdex$spp<-factor(ecdex$spp)

#Call libraries
library(graphics)
library(stats)
library(lattice)
library(dplyr)
library(Hmisc)
library(car)
library(corrplot)
library(glmM)
library(lme4)
library(AICcmodavg)
library(bbmle) #for AICtab
library(MuMIn)
library(ggeffects)
```

```

library(performance)
library(DHARMa)
library(fitdistrplus)
library(emmeans)
library(see)
library(patchwork)

getOption("na.action")
options(na.action = na.fail)
getOption("max.print")
options(max.print = 99999999)
getOption("digits")
options(digits=5)

##Set up the variables and test for correlations
vars<-dplyr::select(ecdex, gender,high,specialized,biology,reflab,thirties,forties,older)
vars_cor<-rcorr(as.matrix(vars))
vars_corr<-corrplot(vars_cor$r, type="upper", order="original", p.mat=vars_cor$P,
sig.level = 0.9999, insig="blank")
vars_corr<-rcorr(as.matrix(vars), type = "pearson")
vars_corr

flattenCorrMatrix <- function(cormat, pmat) {
  ut <- upper.tri(cormat)
  data.frame(
    row = rownames(cormat)[row(cormat)[ut]],
    column = rownames(cormat)[col(cormat)[ut]],
    cor =(cormat)[ut],
    p = pmat[ut]
  )
}

flattenCorrMatrix(vars_corr$r, vars_corr$P)

#specialized x reflab: corr = 0.8804, p = 0.0000 (i.e., > |0.7|)
#Seems wise to test separately, then choose one
#gender x biology: corr = 0.6295, p = 0.0000
#Check VIFs and decide

#Random intercepts for:
#User (each completed several tasks)
#Specimen (each identified several times)
#Genus (to roughly account for 'phylogenetic non-independence' - same-genus species
are not independent)

#####Accuracy analyses#####
#Exploratory
plot(Y, col=c("grey","forestgreen"))
summary(Y)
binconf(728,1356)

```

```

#Null model
nm<-glmmTMB(Y~1+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial, data=ecdex)
AICc(nm)
summary(nm)
confint(nm)
#Predicted proportions
plogis(confint(nm,"(Intercept)"))#Probabilities (only (Intercept) values)
#Without random effects
nm0<-glmmTMB(Y~1, family=binomial, data=ecdex)
summary(nm0)
confint(nm0)
plogis(confint(nm0))#Probabilities

#Compare "naive" (all independent; 2 first) with "wait a second; not all observations
are independent" (third, from null GLMM)
binconf(728,1356)
plogis(confint(nm0))
plogis(confint(nm,"(Intercept)"))

#Bivariate analyses
#EctoDex effect
plot(Y~ecdex$key,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$key)
print((prop.table(table(Y,ecdex$key), margin=2)*100), digits=4)
chisq.test(Y,ecdex$key)
fisher.test(Y,ecdex$key)
keym<-glmmTMB(Y~key+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(keym)
confint(keym)
exp(confint(keym,"key1"))#Odds ratio
print(ggemmeans(keym,terms="key",type="fe"),digits=4)
plot(ggemmeans(keym,terms="key",type="fe"))+ylim(0,1)
lme4::dotplot.ranef.mer(ranef(keym)$cond, xlim=c(-5,5))

#To again illustrate the effects of ignoring dependencies: "keym" without random
effects
keym0<-glmmTMB(Y~key, family=binomial, data=ecdex)
print(ggemmeans(keym0,terms="key",type="fe"),digits=4)#Ignoring dependencies
print(ggemmeans(keym,terms="key",type="fe"),digits=4)#Taking dependencies into
account
plot(ggemmeans(keym0,terms="key",type="fe"))+ylim(0,1)#Ignoring dependencies
plot(ggemmeans(keym,terms="key",type="fe"))+ylim(0,1)#Taking dependencies into
account
#"Predicted" values from "keyn0" are simply the sample means
#Accuracy (of both keys) is being underestimated
#CIs are MUCH shorter and do NOT overlap
#Uncertainty is being underestimated, because "N" is being overestimated!

```

```

#Round effect ("learning" if round 2 (coded "0") better than round 1 (coded "1"))
plot(Y~ecdex$round,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$round)
print((prop.table(table(Y,ecdex$round), margin=2)*100), digits=4)
chisq.test(Y,ecdex$round)
fisher.test(Y,ecdex$round)
roundm<-glmmTMB(Y~round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(roundm)
confint(roundm)
exp(confint(roundm,"round1"))
print(ggemmeans(roundm,terms="round",type="fe"),digits=4)
plot(ggemmeans(roundm,terms="round",type="fe"))+ylim(0,1)
#No apparent learning

#User traits
#Individuals
table(ecdex$user,Y)
table(ecdex$user[ecdex$key=="1"],Y[ecdex$key=="1"])
table(ecdex$user[ecdex$key=="0"],Y[ecdex$key=="0"])

#Gender
plot(Y~ecdex$gender,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$gender)
print((prop.table(table(Y,ecdex$gender), margin=2)*100), digits=4)
chisq.test(Y,ecdex$gender)
fisher.test(Y,ecdex$gender)
#Apparently highly significant (p < 0.00001), with (of course) women doing better
genders<-glmmTMB(Y~gender+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(genders)
confint(genders)
exp(confint(genders,"gender1"))
#Effect all but vanishes (p = 0.066)
print(ggemmeans(genders, terms = c("gender"), type="fe"), digits=4)
plot(ggemmeans(genders,terms="gender",type="fe"))+ylim(0,1)
#Perhaps slightly higher accuracy for women

#What if we ignore dependencies?
genders0<-glmmTMB(Y~gender, family=binomial, data=ecdex)
summary(genders0)
confint(genders0)
exp(confint(genders0,"gender1"))
#Effect highly significant (p < 0.00001)!
print(ggemmeans(genders0, terms = c("gender"), type="fe"), digits=4)
#Underestimation of accuracies and uncertainties - and overestimation of effects:
plot(ggemmeans(genders0, terms = c("gender"), type="fe"))+ylim(0,1)#Ignoring
dependencies
plot(ggemmeans(genders, terms = c("gender"), type="fe"))+ylim(0,1)#Taking
dependencies into account

```

```

#High level of expertise
plot(Y~ecdex$high,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$high)
print((prop.table(table(Y,ecdex$high), margin=2)*100), digits=4)
chisq.test(Y,ecdex$high)
fisher.test(Y,ecdex$high)
experts<-glmmTMB(Y~high+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(experts)
confint(experts)
exp(confint(experts,"high1"))
print(ggemmeans(experts, terms = c("high"), type="fe"), digits=4)
plot(ggemmeans(experts, terms = c("high"), type="fe"))+ylim(0,1)

#Specialized training covering ectoparasite systematics
plot(Y~ecdex$specialized,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$specialized)
print((prop.table(table(Y,ecdex$specialized), margin=2)*100), digits=4)
chisq.test(Y,ecdex$specialized)
fisher.test(Y,ecdex$specialized)#Apparently highly significant (p = 4.4e-05)
specialist<-glmmTMB(Y~specialized+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=binomial, data=ecdex)
summary(specialist)#Not significant (p = 0.099)
confint(specialist)
exp(confint(specialist,"specialized1"))
print(ggemmeans(specialist, terms = c("specialized"), type="fe"), digits=4)
plot(ggemmeans(specialist, terms = c("specialized"), type="fe"))+ylim(0,1)

#Reference-lab staff vs non-reflab staff
plot(Y~ecdex$reflab,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$reflab)
print((prop.table(table(Y,ecdex$reflab), margin=2)*100), digits=4)
chisq.test(Y,ecdex$reflab)
fisher.test(Y,ecdex$reflab)#Highly significant (p = 1e-06)
reflabs<-glmmTMB(Y~reflab+(1|user)+(1|specimen), family=binomial, data=ecdex)
summary(reflabs)#Significant (p = 0.032)
confint(reflabs)
exp(confint(reflabs,"reflab1"))
print(ggemmeans(reflabs, terms = c("reflab"), type="fe"), digits=4)
plot(ggemmeans(reflabs, terms = c("reflab"), type="fe"))+ylim(0,1)

#Background training in biology (vs rest)
plot(Y~ecdex$biology,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$biology)
print((prop.table(table(Y,ecdex$biology), margin=2)*100), digits=4)
chisq.test(Y,ecdex$biology)
fisher.test(Y,ecdex$biology)#Significant (p = 0.0033)
biolog<-glmmTMB(Y~biology+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)

```

```

summary(biolog)#Non-significant (p = 0.13)
confint(biolog)
exp(confint(biolog,"biology1"))
print(ggemmeans(biolog, terms = c("biology"), type="fe"), digits=4)
plot(ggemmeans(biolog, terms = c("biology"), type="fe"))+ylim(0,1)

#Age class
plot(Y~ecdex$age,col=c("forestgreen","grey"))
table(Y,ecdex$age)
print((prop.table(table(Y,ecdex$age), margin=2)*100), digits=4)
kruskal.test(Y,ecdex$age)
fisher.test(Y,ecdex$age)#Very highly significant (p = 1.3e-14)
ages<-glmmTMB(Y~age+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(ages)#Only "30s" significant (higher accuracy than "20s")
confint(ages)
exp(confint(ages,parm=c("age30s","age40s","age50s")))
print(ggemmeans(ages, terms = c("age"), type="fe"), digits=4)
plot(ggemmeans(ages, terms = c("age"), type="fe"))+ylim(0,1)

#Organism traits
#Species
plot(Y~ecdex$spp,col=c("forestgreen","grey"))#Lots of variation
table(ecdex$spp,Y)
print((prop.table(table(ecdex$spp,Y), margin=1)*100), digits=3)
chisq.test(Y,ecdex$spp)#Very highly significant (p < 2e-16)
sppm<-glmmTMB(Y~spp+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(sppm)
#Genus random effect variance gets down to basically zero (6.45e-10), but that should
be OK
confint(sppm)
exp(confint(sppm))#Ignore "Std.Dev." values
#With A. parvum (with lowest % correct) as the reference level (so all other have
positive effects)
sppmrl<-glmmTMB(Y~relevel(spp,
ref="Amblyomma_parvum")+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(sppmrl)
confint(sppmrl)
exp(confint(sppmrl))#Ignore "Std.Dev" values
plot(ggemmeans(sppm,terms="spp",type="fe"))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(sppm,terms="spp[Cimex_lectularius,Argas_miniatus,Rhipicephalus_s
anguineus,Dermacentor_nitens,Rhipicephalus_microplus,Amblyomma_ovale,Amblyom
ma_longirostre,Amblyomma_aureolatum,Amblyomma_sculptum,Ornithodoros_rietcorre
ai,Amblyomma_dubitatum,Amblyomma_tigrinum,Amblyomma_parvum,Tunga_penetran
s,Ctenocephalides_felis,Pulex_irritans,Ctenocephalides_canis,Xenopsylla_brasiliensis,X
enopsylla_cheopis,Pediculus_humanus,Phthirus_pubis]",type="fe"))+ylim(0,1)
#Bedbug
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Cimex_lectularius]",type="fe"),digits=4)

```

```

#Ticks
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Argas_miniatus]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Rhipicephalus_sanguineus]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Dermacentor_nitens]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Rhipicephalus_microplus]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Amblyomma_ovale]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Amblyomma_longirostre]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Amblyomma_aureolatum]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Ornithodoros_rietcorreai]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Amblyomma_sculptum]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Amblyomma_dubitatum]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Amblyomma_tigrinum]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Amblyomma_parvum]",type="fe"),digits=4)
#Fleas
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Tunga_penetrans]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Ctenocephalides_felis]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Pulex_irritans]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Ctenocephalides_canis]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Xenopsylla_brasiliensis]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Xenopsylla_cheopis]",type="fe"),digits=4)
#Lice
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Pediculus_humanus]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(sppm,terms="spp[Phthirus_pubis]",type="fe"),digits=4)

#Other organism traits (just exploring out of curiosity)
#Group: tick, bedbug, louse, flea
plot(Y~ecdex$group)
grouptx<-glmmTMB(Y~group+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=binomial,
data=ecdex)
summary(grouptx)#Lice easier to identify
confint(grouptx)
exp(confint(grouptx,parm=c("groupFlea","groupLouse","groupTick")))#Lice much
easier (than bedbug), but very large uncertainty
print(ggemmeans(grouptx,terms="group",type="fe"),digits=4)
plot(ggemmeans(grouptx,terms="group",type="fe"))+ylim(0,1)

#Genus
plot(Y~ecdex$genus)
genusm<-glmmTMB(Y~genus+(1|user)+(1|specimen), family=binomial, data=ecdex)
summary(genusm)
confint(genusm)
exp(confint(genusm))#Ignore "Std.Dev." values
#Bedbug
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Cimex]",type="fe"),digits=4)
#Ticks
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Argas]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Rhipicephalus]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Dermacentor]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Ornithodoros]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Amblyomma]",type="fe"),digits=4)

```

```

#Lice
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Pediculus]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Phthirus]",type="fe"),digits=4)
#Fleas
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Tunga]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Pulex]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Ctenocephalides]",type="fe"),digits=4)
print(ggemmeans(genusm,terms="genus[Xenopsylla]",type="fe"),digits=4)

#####Key interactions#####
#With formal specialized training in ectoparasite systematics ("specialist"; 'individual'
trait)
specxkey<-glmmTMB(Y~specialized*key+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=binomial, data=ecdex)
summary(specxkey)#Significant interaction
confint(specxkey)
print(ggemmeans(specxkey, terms = c("specialized","key"), type="fe",nesting=NULL),
digits=4)
plot(ggemmeans(specxkey, terms = c("specialized","key"), type="fe"))+ylim(0,1)
#EctoDex improved accuracy of users WITHOUT specialized training, but not of those
WITH specialized training

#High level of expertise in ectoparasite taxonomy ("high"; 'individual' trait)
highxkey<-glmmTMB(Y~high*key+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=binomial, data=ecdex)
summary(highxkey)#Non-significant interaction
confint(highxkey)
print(ggemmeans(highxkey, terms = c("high","key"), type="fe",nesting=NULL),
digits=4)
plot(ggemmeans(highxkey, terms = c("high","key"), type="fe"))+ylim(0,1)
#EctoDex slightly ("non-significantly") improved accuracy of users WITHOUT high
expertise, but not of those WITH high expertise

#With working (vs not) in a reference lab ("reflab"; contextual trait)
reflabxkey<-glmmTMB(Y~reflab*key+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=binomial, data=ecdex)
summary(reflabxkey)#Significant interaction
confint(reflabxkey)
print(ggemmeans(reflabxkey, terms = c("reflab","key"), type="fe",nesting=NULL),
digits=4)
plot(ggemmeans(reflabxkey, terms = c("reflab","key"), type="fe"))+ylim(0,1)
#EctoDex improved accuracy of users NOT working at a reference lab, but not of those
working at a reference lab

#OK, but which interaction helps explain the data better?
AICctab(specxkey,highxkey,reflabxkey,base=T)
#In "trivariate" models, "high x key" clearly has the smallest AICc

#Now check "full" models, but remember that specialized x reflab: corr = 0.88, p =
0.0000 (so don't put them together in a model)

```

```

mxhs<-
glmmTMB(Y~key*high+age+gender+specialized+biology+spp+round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family="binomial", data=ecdex)
mxhr<-
glmmTMB(Y~key*high+age+gender+reflab+biology+spp+round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family="binomial", data=ecdex)
mxs<-
glmmTMB(Y~key*specialized+age+gender+high+biology+spp+round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family="binomial", data=ecdex)
mxr<-
glmmTMB(Y~key*reflab+age+gender+high+biology+spp+round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family="binomial", data=ecdex)

AICctab(mxhs,mxhr,mxs,mxr,base=T)
#Surprise! When effects are adjusted for the variables we measured (because we thought were potentially important or interesting):
#a) model "mxs" ("key x specialized" interaction) clearly has the smallest AICc (2nd-ranking delta = 4.6)
#b) models with the "high x key" interaction have no support whatsoever from the data (delta >= 8)
#Note: same is true for BIC:
BICtab(mxhs,mxhr,mxs,mxr,base=T)

#SO: use "key x specialized" full model for inference

####Full accuracy model####
#First, refit the model "mxs", but:
#Now calling it simply "am" (= "accuracy model")
#With A. parvum (with lowest % correct) as the reference level (so all other have positive effects, which are easier to interpret)
am<-glmmTMB(Y~key*specialized+age+gender+high+biology+relevel(spp, ref="Amblyomma_parvum")+round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family="binomial", data=ecdex)
check_collinearity(am)#OK: no multicollinearity
summary(am)
confint(am)#Genus variance ~0 and CI from 0 to infinity; that's OK
#Odds ratios and 95% CIs
exp(confint(am))#Ignore "Std.Dev." values
lme4::dotplot.ranef.mer(ranef(am)$cond, xlim=c(-2,2))

#Things to look at:
#1) the "round" effect is "indistinguishable from zero" (beta -0.2192, SE 0.1394, CI -0.4923-0.05398); this suggests that "learning" from Round 1 to Round 2 was negligible - and that, therefore, our randomization tactic worked well

#2) "age", "gender", and "biology" effects were all negligible too; this is overall good (those factors had little influence on accuracy)

```

#In practical terms: in what follows, we will not focus "round", "age", "gender", and "biology" effects - we will focus on discussing "EctoDex" effects that are "adjusted" for "age", "gender", "biology", and "round"

#3) users with "high" expertise had overall better accuracies than those without, independently of anything else (beta 1.5450, SE 0.5303, CI 0.5056-2.5844)
print(ggemmeans(mxs, terms = c("high"),type="fe",nesting=NULL), digits=4)

#4) EctoDex:

#(i) clearly increased accuracy of users without "specialized" training:

#"key1": beta 0.9250, SE 0.1922 (CI 0.5482-1.3017); Odds Ratio 2.52 (CI 1.73-3.68):

#That is: "For users without specialized training, the odds of correct identification were ~2.5 (between ~1.7 and ~3.7) times higher when using EctoDex than when using the printed key"

#(ii) barely affected accuracy of users with "specialized" training ("key1:specialized1" beta -0.8553, SE 0.2742, CI -1.3928 to -0.3178)

#That is: "For users with specialized training, the odds of correct identification were just ~1.07 times higher** when using EctoDex than when using the printed key"

*** beta("key1")+beta("key1:specialized1) = 0.9250-0.8553 = 0.0697; exp(0.0697) = 1.0722 (approx. 7% higher odds, which is about nothing)

#On average (using model "mxs" because ggemmeans doesn't like reordered variables):
print(ggemmeans(mxs, terms = c("key","specialized"),type="fe",nesting=NULL), digits=4)

#Non-"specialized" user accuracy increased from ~57.22% (printed key) to ~77.13% (EctoDex) (an important increase!)

#Whereas "specialized" user accuracy increased from ~73.10% (printed key) to just ~74.44% (EctoDex) (a negligible increase)

#Graphically (much easier to see and understand)

plot(ggemmeans(mxs, terms = c("specialized","key"), type="fe"))+ylim(0,1)

#5) Average predictions for accuracy by species

#(i) A plot with all species (again: using model "mxs" because ggemmeans doesn't like reordered variables)

#Order: bedbug; ticks (ranked from easier to harder to identify); fleas (same rank order); lice (same rank order)

plot(ggemmeans(mxs,terms="spp[Cimex_lectularius,Argas_miniatus,Rhipicephalus_sanguineus,Dermacentor_nitens,Rhipicephalus_microplus,Amblyomma_ovale,Amblyomma_longirostre,Amblyomma_aureolatum,Amblyomma_sculptum,Ornithodoros_rietcorreai,Amblyomma_dubitatum,Amblyomma_tigrinum,Amblyomma_parvum,Tunga_penetrans,Ctenocephalides_felis,Pulex_irritans,Ctenocephalides_canis,Xenopsylla_brasiliensis,Xenopsylla_cheopis,Pediculus_humanus,Phthirus_pubis]",type="fe"))+ylim(0,1)

#(ii) Values (average accuracy predictions) and plots by species

#bedbug

#Values for different combinations of "key", "specialized", and "high"

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)

#For example:

#User with specialized training but not high expertise (specialized = 1; high = 0):

#Accuracy with printed key (key = 0): 0.5353 (53.53%)

```

#Accuracy with EctoDex (key = 1): 0.5526 (55.26%) [a small improvement: from
53.5 to 55.3%]
#Plot for "specialized" training users (NON-"high" (0) and "high" (1) expertise; printed
key ("key"=0) EctoDex ("key"=1))
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","high","specialized[1]"),
type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
#User WITHOUT specialized training AND without high expertise (specialized = 0;
high = 0):
#Accuracy with printed key (key = 0): 0.3619 (36.19%)
#Accuracy with EctoDex (key = 1): 0.5885 (58.85%) [a relatively large
improvement: from 36.2 to 59.0%]
#Plot for NON-"specialized" training users (NON-"high" (0) and "high" (1) expertise;
printed key ("key"=0) EctoDex ("key"=1))
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","high","specialized[0]"),
type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
#Large uncertainty; EctoDex brought little improvement in accuracy for "specialized"
users, but substantial improvement for NON-"specialized" users

#ticks
print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","specialized","high"),type
="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","high","specialized[0]"),ty
pe="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","high","specialized[1]"),ty
pe="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Rhipicephalus_sanguineus]","key","specialized","
high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Rhipicephalus_sanguineus]","key","high","speciali
zed[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Rhipicephalus_sanguineus]","key","high","speciali
zed[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Dermacentor_nitens]","key","specialized","high"),
type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Dermacentor_nitens]","key","high","specialized[0]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Dermacentor_nitens]","key","high","specialized[1]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Rhipicephalus_microplus]","key","specialized","hi
gh"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Rhipicephalus_microplus]","key","high","specializ
ed[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Rhipicephalus_microplus]","key","high","specializ
ed[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_ovale]","key","specialized","high"),t
ype="fe",nesting=NULL),digits=4)

```

```

plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_ovale]","key","high","specialized[0]"),
,type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_ovale]","key","high","specialized[1]"),
,type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_longirostre]","key","specialized","hi
gh"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_longirostre]","key","high","specialize
d[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_longirostre]","key","high","specialize
d[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_aureolatum]","key","specialized","hi
gh"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_aureolatum]","key","high","specialize
d[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_aureolatum]","key","high","specialize
d[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_sculptum]","key","specialized","high
"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_sculptum]","key","high","specialized[
0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_sculptum]","key","high","specialized[
1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ornithodoros_rietcorreai]","key","specialized","hi
gh"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ornithodoros_rietcorreai]","key","high","specialize
d[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ornithodoros_rietcorreai]","key","high","specialize
d[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_dubitatum]","key","specialized","high
h"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_dubitatum]","key","high","specialized
[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_dubitatum]","key","high","specialized
[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_tigrinum]","key","specialized","high
"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_tigrinum]","key","high","specialized[
0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_tigrinum]","key","high","specialized[
1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_parvum]","key","specialized","high")
,type="fe",nesting=NULL),digits=4)

```

```

plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_parvum]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Amblyomma_parvum]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

#fleas
print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Tunga_penetrans]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Tunga_penetrans]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Tunga_penetrans]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ctenocephalides_felis]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ctenocephalides_felis]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ctenocephalides_felis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Pulex_irritans]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Pulex_irritans]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Pulex_irritans]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ctenocephalides_canis]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ctenocephalides_canis]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Ctenocephalides_canis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Xenopsylla_brasiliensis]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Xenopsylla_brasiliensis]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Xenopsylla_brasiliensis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Xenopsylla_cheopis]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Xenopsylla_cheopis]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Xenopsylla_cheopis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

#lice

```

```

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Pediculus_humanus]","key","specialized","high"),t
ype="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Pediculus_humanus]","key","high","specialized[0]"
),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Pediculus_humanus]","key","high","specialized[1]"
),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

print(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Phthirus_pubis]","key","specialized","high"),type=
"fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Phthirus_pubis]","key","high","specialized[0]"
),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)
plot(ggemmeans(mxs,terms=c("spp[Phthirus_pubis]","key","high","specialized[1]"
),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,1)

#Model predictions
predaccuracy <- predict(am, type="response", newdata=NULL)
summary(predaccuracy)
summary(predaccuracy[ecdex$key=="1"])
summary(predaccuracy[ecdex$key=="0"])
summary(predaccuracy[ecdex$specialized=="1"])
summary(predaccuracy[ecdex$specialized=="0"])
summary(predaccuracy[ecdex$high=="1"])
summary(predaccuracy[ecdex$high=="0"])
summary(predaccuracy[ecdex$round=="1"])
summary(predaccuracy[ecdex$round=="0"])

#Save predictions to a table
write.table(predaccuracy, file="pred_full_accuracy_model_am.txt", row.names=TRUE,
col.names=TRUE)

#Plotting full model predictions by key
ecdex$ktx = with(ecdex, reorder(key, predaccuracy, median))
pktx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=ktx, y=predaccuracy, fill=ktx)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("Key") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pktx

#Plotting full model predictions by specialized training
ecdex$sttx = with(ecdex, reorder(specialized, predaccuracy, median))

```

```

sttx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sttx, y=predaccuracy, fill=sttx)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("Specialized training") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
sttx

```

```

#Plotting full model predictions by key AND specialized training
ecdex$sktx = with(ecdex, reorder(key, predaccuracy, median))
pkstx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sktx, y=predaccuracy, fill=specialized)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="right") +
  xlab("Key") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pkstx

```

```

#Plotting full model predictions by key AND specialized training REVERSED
ecdex$sktx = with(ecdex, reorder(specialized, predaccuracy, median))
psktx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sktx, y=predaccuracy, fill=key)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="right") +
  xlab("Specialized training") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))

```

psktx

```
#Plotting full model predictions by high expertise
ecdex$htx = with(ecdex, reorder(high, predaccuracy, median))
htx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=htx, y=predaccuracy, fill=htx)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("High level of expertise") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
htx
```

```
#Plotting full model predictions by user
ecdex$idtx = with(ecdex, reorder(user, predaccuracy, median))
pidtx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtx, y=predaccuracy, fill=idtx)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=3.5, color="red2",
fill="red2") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("User ID") +
  ylab("Full model predictions (Pr(1))") +
  ylim(0, 1) +
```

```
scale_fill_manual(values=c('gray100','gray98','gray96','gray94','gray92','gray90','gray88'
,'gray86','gray84','gray82','gray80','gray78','gray76','gray74','gray72','gray70','gray68','gr
ay66','gray64','gray62','gray60','gray58','gray56','gray54','gray52','gray50','gray48','gray4
6','gray44','gray42','gray40','gray38','gray36'))
pidtx
```

```
#Color by expertise
pidhtx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtx, y=predaccuracy, fill=high)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='none') +
```

```

theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
xlab("User ID") +
ylab("Accuracy full-model predictions") +
ylim(0, 1) +
scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pidhtx

#Graphically separating user predictions by key
pidktx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtx, y=predaccuracy, fill=key)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("User ID") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pidktx

#Plotting full model predictions by species
ecdex$sptx = with(ecdex, reorder(spp, predaccuracy, median)) #Use "mean" to get the
same order as in beta/OR
psptx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sptx, y=predaccuracy, fill=sptx)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=3, color="red2",
fill="red2") +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("group") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("Species") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +

scale_fill_manual(values=c('gray100','gray98','gray96','gray94','gray92','gray90','gray88'
,'gray86','gray84','gray82','gray80','gray78','gray76','gray74','gray72','gray70','gray68','gr
ay66','gray64','gray62','gray60'))
psptx

#Graphically separating by high expertise
pspextx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sptx, y=predaccuracy, fill=high)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +

```

```

xlab("spp") +
theme(legend.position='none') +
theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
xlab("Species") +
ylab("Accuracy full-model predictions") +
ylim(0, 1) +
scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pspsctx

#Graphically separating by specialized training
pspsctx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sctx, y=predaccuracy, fill=specialized)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='none') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("Species") +
  ylab("Model-averaged predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pspsctx

#Graphically separating by key
pspktx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sctx, y=predaccuracy, fill=key)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("Species") +
  ylab("Accuracy full-model predictions") +
  ylim(0, 1) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pspktx

#Plotting full model predictions by round
ecdex$rotx = with(ecdex, reorder(round, predaccuracy, median))
protx <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=rotx, y=predaccuracy, fill=rotx)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +

```

```

theme(legend.position="none") +
xlab("Round") +
ylab("Accuracy full-model predictions") +
ylim(0, 1) +
scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
protx

#####Main conclusions (about ACCURACY)#####
#EctoDex improved overall performance across users and species
pidktx
pspktx
#With EctoDex, the performance of people who did NOT go through specialized
training rose to the same level as those who did, i.e.,
plot(ggemmeans(mxs, terms = c("specialized","key"), type="fe"))+ylim(0,1)
print(ggemmeans(mxs, terms = c("specialized","key"),
type="fe",nesting=NULL),digits=4)
#(i) those who were trained had similar performances with both keys, but
#(ii) those who weren't trained had better performance with EctoDex
#So... EctoDex could REPLACE the training!

#####Time analyses#####
#Exploratory
hist(ecdex$time, breaks=50, col="brown2")
#Divide 'ecdex$time' by 60 or create a "minutes" variable
timem<-(ecdex$time/60)
hist(timem, breaks=50, col="brown2")
summary(timem)
mean(timem)
sd(timem)

#BUT: models are COUNT models; dependent variable MUST be integer ("time" in
seconds)
#Exploratory models use "family=truncated_nbinom2" (error distribution = truncated
negative binomial); this distribution/family yield the smallest AICc values

#Null model
nmt<-glmmTMB(time~1+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=truncated_nbinom2,
data=ecdex)
AICc(nmt)
summary(nmt)
confint(nmt)
#Predicted mean time (in seconds)
exp(confint(nmt,"(Intercept)"))
#Predicted mean time (in minutes)
exp(confint(nmt,"(Intercept)"))/60

#Try other families/distributions (all "truncated" because the data has NO ZEROS)
nmt<-glmmTMB(time~1+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=truncated_nbinom2,
data=ecdex)#Negative binomial: quadratic parameterization ( $V=\mu(1+\mu/\phi)=\mu+\mu^2/\phi$ )

```

```

nmtnb1<-glmmTMB(time~1+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom1, data=ecdex)#Negative binomial: linear parameterization
(V= $\mu(1+\phi)$ )
nmtp<-glmmTMB(time~1+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus), family=truncated_poisson,
data=ecdex)#Poisson ( $V=\mu$ )
AICctab(nmt,nmtnb1,nmtp,base=T)

#Bivariate analyses
#Key' effect
plot(timem~ecdex$key,col=c('coral2','cyan2'))#Time in MINUTES ("timem")
summary(timem[ecdex$key=="0"])#Mean time spent with printed key = 4.6 minutes
summary(timem[ecdex$key=="1"])#Mean time spent with EctoDex = 3.4 minutes
kruskal.test(timem,ecdex$key)#Highly significant (p = 7.8e-08)
keymt<-glmmTMB(time~key+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(keymt)#Highly significant (p 6.2e-15)
confint(keymt)
exp(confint(keymt,"key1"))#RATE ratio
(1-exp(-0.25394))*100#Percent time saving (22.43% less time with EctoDex)
(1-exp(-0.317757))*100#Percent upper CI
(1-exp(-0.19013))*100#Percent lower CI
#Same thing: (1-rate ratio)*100:
print(100*(1-exp(confint(keymt,"key1"))))
#Predictions: mean time spent per identification:
print(ggemmeans(keymt,terms="key",type="fe"), digits=2)#In seconds
print(ggemmeans(keymt,terms="key",type="fe")/60, digits=3)#In minutes (printed, 3.45
min; EctoDex 2.67 min)
plot(ggemmeans(keymt,terms="key",type="fe"))+ylim(0,300)#In seconds

#To ILLUSTRATE the effects of ignoring dependencies: "keymt" without random
effects
keymt0<-glmmTMB(time~key, family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
print(ggemmeans(keymt0,terms="key",type="fe")/60,digits=3)
plot(ggemmeans(keymt0,terms="key",type="fe"))+ylim(0,300)
#"Predicted" are ~ the sample means (4.56 and 3.42 minutes)
#Time spent (with both keys) is being overestimated
#CIs are MUCH shorter and do NOT overlap
#Uncertainty is being underestimated, because "N" is being overestimated!

#Round effect ("learning" if round 2 (coded "0") faster than round 1 (coded "1"); see
**NOTE** below)
plot(timem~ecdex$round)
summary(timem[ecdex$round=="1"])#Mean time spent in 1st round: 4.17 min
summary(timem[ecdex$round=="0"])#Mean time spent in 2nd round: 3.79 min (a bit
faster)
kruskal.test(timem,ecdex$round)#Small but "significant" (p 0.017)
roundmt<-glmmTMB(time~round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(roundmt)#Significant (p 0.00033)
confint(roundmt)

```

```

exp(confint(roundmt,"round1"))#RATE ratio
print(100*(1-exp(-confint(roundmt,"round1"))))#Percent time saving (11.673% faster in
round 2)
(1-exp(-0.12412))*100#Percent time saving (11.673% faster in round 2)
(1-exp(-0.19191))*100#Percent upper CI
(1-exp(-0.056331))*100#Percent lower CI
print(ggemmeans(roundmt,terms="round",type="fe"), digits=2)#Seconds
print(ggemmeans(roundmt,terms="round",type="fe")/60, digits=3)#Minutes
plot(ggemmeans(roundmt,terms="round",type="fe"))+ylim(0,300)
#Perhaps some small "learning effect"
***NOTE**: this is DIFFERENT from "learning" in accuracy analyses - TIME
"learning" suggests that people "learnt" to use the keys more efficiently, NOT that
people remembered the specimens (which would have appeared as ACCURACY
learning)

#User traits
#Individuals
boxplot(ecdex$time~ecdex$user)

#Gender
plot(timem~ecdex$gender)
summary(timem[ecdex$gender=="1"])
summary(timem[ecdex$gender=="0"])
kruskal.test(timem,ecdex$gender)
genderst<-glmmTMB(time~gender+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(genderst)#Non-significant (p 0.81)
confint(genderst)
print(ggemmeans(genderst, terms = c("gender"), type="fe"), digits=2)
print(ggemmeans(genderst, terms = c("gender"), type="fe")/60, digits=3)

#High level of expertise
plot(timem~ecdex$high)
summary(timem[ecdex$high=="1"])#Mean, 1.9 min
summary(timem[ecdex$high=="0"])#Mean, 4.3 min
kruskal.test(timem,ecdex$high)
expertst<-glmmTMB(time~high+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(expertst)#Significant (p 0.0013)
confint(expertst)
exp(confint(expertst,"high1"))
print(100*(1-exp(confint(expertst,"high1"))))#Users with high expertise needed 55.8%
less time
(1-exp(-0.8171511534))*100#Percent time saving
(1-exp(-1.31573774946))*100#CI up
(1-exp(-0.3185645573))*100#CI low
print(ggemmeans(expertst, terms = c("high"), type="fe"), digits=2)
print(ggemmeans(expertst, terms = c("high"), type="fe")/60, digits=3)

#Specialized training covering ectoparasite systematics

```

```

plot(timem~ecdex$specialized)
summary(timem[ecdex$specialized=="1"])
summary(timem[ecdex$specialized=="0"])
kruskal.test(timem,ecdex$specialized)#Highly significant (p 4.4e-12)
specialistt<-glmmTMB(time~specialized+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(specialistt)#Significant (p 0.029)
confint(specialistt)
print(100*(1-exp(confint(specialistt,"specialized1"))))#Users with high expertise
needed 30.6% less time
print(ggemmeans(specialistt, terms = c("specialized"), type="fe"), digits=2)
print(ggemmeans(specialistt, terms = c("specialized"), type="fe")/60, digits=3)

#Reference-lab staff
plot(timem~ecdex$reflab)
summary(timem[ecdex$reflab=="1"])
summary(timem[ecdex$reflab=="0"])
kruskal.test(timem,ecdex$reflab)#Highly significant (p 6.9e-14)
reflabt<-glmmTMB(time~reflab+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(reflabt)#Significant (p 0.018)
confint(reflabt,"reflab1")
exp(confint(reflabt,"reflab1"))
print(100*(1-exp(confint(reflabt,"reflab1"))))
print(ggemmeans(reflabt, terms = c("reflab"), type="fe"), digits=2)
print(ggemmeans(reflabt, terms = c("reflab"), type="fe")/60, digits=3)
plot(ggemmeans(reflabt, terms = c("reflab"), type="fe"))+ylim(0,300)

#Biology background
plot(timem~ecdex$biology)
summary(timem[ecdex$biology=="1"])
summary(timem[ecdex$biology=="0"])
kruskal.test(timem,ecdex$biology)#Significant (p = 0.0026)
biologt<-glmmTMB(time~biology+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(biologt)#Non-significant (p = 0.49)
confint(biologt)
print(ggemmeans(biologt, terms = c("biology"), type="fe"), digits=2)
print(ggemmeans(biologt, terms = c("biology"), type="fe")/60, digits=3)
#"Effect" disappears when dependencies are taken into account
biot<-glmmTMB(time~biology, family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
plot(ggemmeans(biot, terms = c("biology"), type="fe"))+ylim(0,300)#Without
dependencies
#You could conclude that "biologists were slower", but you would probably be fooling
yourself
plot(ggemmeans(biologt, terms = c("biology"), type="fe"))+ylim(0,300)#With
dependencies
#Your data does not allow you to say anything about whether biologists were faster or
slower

```

```

#Age class
plot(timem~ecdex$age)
summary(timem[ecdex$age=="20s"])
summary(timem[ecdex$age=="30s"])
summary(timem[ecdex$age=="40s"])
summary(timem[ecdex$age=="50s"])
kruskal.test(timem,ecdex$age)#Highly significant (p <2e-16)
agest<-glmmTMB(time~age+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(agest)#NON-significant (p 0.092 for 50s vs 20s)
confint(agest)
print(ggemmeans(agest, terms = c("age"), type="fe"), digits=2)
print(ggemmeans(agest, terms = c("age"), type="fe")/60, digits=3)
plot(ggemmeans(agest, terms = c("age"), type="fe"))+ylim(0,400)
aget<-glmmTMB(time~age, family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
plot(ggemmeans(aget, terms = c("age"), type="fe"))+ylim(0,400)
#You could conclude that "people in their 20s and 40s were slower than people in their
30s or 50s", but you would almost certainly be fooling yourself!!
#Not only this does NOT make any sense; a proper analysis shows that the only thing
the data suggest, if anything at all, is that our oldest users (50s) might have been a bit
faster on average...

#Organism traits
#Species
plot(timem~ecdex$spp,las=2)
summary(timem[ecdex$spp=="Amblyomma_aureolatum"])
#Etc...
summary(timem[ecdex$spp=="Xenopsylla_cheopis"])
kruskal.test(timem,ecdex$spp)
sppmt<-glmmTMB(time~spp+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(sppmt)
confint(sppmt)
plot(ggemmeans(sppmt,terms="spp",type="fe"))+ylim(0,500)
#Bedbug
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Cimex_lectularius]",type="fe")/60,digits=3)
#Ticks
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Argas_miniatus]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Rhipicephalus_sanguineus]",type="fe")/60,digits=
3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Dermacentor_nitens]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Rhipicephalus_microplus]",type="fe")/60,digits=3
)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Amblyomma_ovale]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Amblyomma_longirostre]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Amblyomma_aureolatum]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Ornithodoros_rietcorreai]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Amblyomma_sculptum]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Amblyomma_dubitatum]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Amblyomma_tigrinum]",type="fe")/60,digits=3)

```

```

print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Amblyomma_parvum]",type="fe")/60,digits=3)
#Fleas
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Tunga_penetrans]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Ctenocephalides_felis]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Pulex_irritans]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Ctenocephalides_canis]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Xenopsylla_brasiliensis]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Xenopsylla_cheopis]",type="fe")/60,digits=3)
#Lice
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Pediculus_humanus]",type="fe")/60,digits=3)
print(ggemmeans(sppmt,terms="spp[Phthirus_pubis]",type="fe")/60,digits=3)

#Other organism traits (just exploring out of curiosity)
#Group: tick, bedbug, louse, flea
plot(timem~ecdex$group,las=2)
grouptxm<-glmmTMB(time~group+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(grouptxm)
confint(grouptxm)
print(ggemmeans(grouptxm,terms="group",type="fe")/60,digits=3)
plot(ggemmeans(grouptxm,terms="group",type="fe"))+ylim(0,300)

#Genus
plot(timem~ecdex$genus,las=2)
genusmm<-glmmTMB(time~genus+(1|user)+(1|specimen), family=truncated_nbinom2,
data=ecdex)
summary(genusmm)
confint(genusmm)
plot(ggemmeans(genusmm,terms="genus",type="fe"))
#Bedbug
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Cimex]",type="fe"),digits=2)
#Ticks
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Argas]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Rhipicephalus]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Dermacentor]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Ornithodoros]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Amblyomma]",type="fe"),digits=2)
#Lice
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Pediculus]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Phthirus]",type="fe"),digits=2)
#Fleas
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Tunga]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Pulex]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Ctenocephalides]",type="fe"),digits=2)
print(ggemmeans(genusmm,terms="genus[Xenopsylla]",type="fe"),digits=2)

#Was it correctly identified?
plot(timem~Y)
summary(timem[Y=="1"])
summary(timem[Y=="0"])

```

```

kruskal.test(timem,Y)
identt<-glmmTMB(time~Y+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family=truncated_nbinom2, data=ecdex)
summary(identt)
confint(identt,"Y1")
(1-exp(-0.18941))*100#Percent time saving
(1-exp(-0.11284))*100#CI up
(1-exp(-0.265967))*100#CI low
print(ggemmeans(identt, terms = c("Y"), type="fe")/60, digits=4)

#####Error distributions#####
#Check choice of family/distribution
#Full additive models
#With specialized training
mtsp<-
glmmTMB(time~Y+key+high+specialized+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(
1|specimen)+(1|genus), family="truncated_poisson", data=ecdex)
mtsnb1<-
glmmTMB(time~Y+key+high+specialized+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(
1|specimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom1", data=ecdex)
mtsnb2<-
glmmTMB(time~Y+key+high+specialized+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(
1|specimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom2", data=ecdex)

#With reflab
mtrp<-
glmmTMB(time~Y+key+high+reflab+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(1|spe
cimen)+(1|genus), family="truncated_poisson", data=ecdex)
mtrnb1<-
glmmTMB(time~Y+key+high+reflab+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(1|spe
cimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom1", data=ecdex)
mtrnb2<-
glmmTMB(time~Y+key+high+reflab+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(1|spe
cimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom2", data=ecdex)

AICctab(mtsp,mtsnb1,mtsnb2,mtrp,mtrnb1,mtrnb2,base=T)#truncated_nbinom2 clearly
better; mtsnb2 slightly better
summary(mtsnb2)
summary(mtrnb2)

#Variance-inflation factors
check_collinearity(mtsnb2)#"Low Correlation" ('age' vif = 3.14); OK

#####Key interactions#####
#Check key x specialized training INTERACTION
mtsnb2x<-
glmmTMB(time~Y+key*specialized+high+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(
1|specimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom2", data=ecdex)
AICctab(mtsnb2,mtsnb2x,base=T)#Interaction model better (delta 8.2)
summary(mtsnb2x)

```

```

#ggemmeans didn't work unless "rg.limit = 11000)" added
print(ggemmeans(mtsnb2x, terms = c("key", "specialized"), type="fe", rg.limit =
11000))
plot(ggemmeans(mtsnb2x, terms = c("specialized", "key"), type="fe", rg.limit =
11000))+ylim(0,300)
#Everybody was faster (on average) with EctoDex, but the difference was larger for
users without specialized training

#Check key x high INTERACTION
mtsnb2xx<-
glmmTMB(time~Y+key*high+specialized+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(
1|specimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom2", data=ecdex)
AICctab(mtsnb2,mtsnb2x,mtsnb2xx,base=T)#mtsnb2x better (mtsnb2xx delta 8.6)
summary(mtsnb2xx)
#ggemmeans didn't work unless "rg.limit = 11000)" added
print(ggemmeans(mtsnb2xx, terms = c("key", "high"), type="fe", rg.limit = 11000))
plot(ggemmeans(mtsnb2xx, terms = c("high", "key"), type="fe", rg.limit =
11000))+ylim(0,300)

#Checked key x reflat INTERACTION, and has smallest AICc...
#BUT... that would be a "contextual effect" that we're not really interested in... and it's
pretty small:
mtrnb2x<-
glmmTMB(time~Y+key*reflab+high+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(1|spe
cimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom2", data=ecdex)
AICctab(mtsnb2,mtsnb2x,mtsnb2xx,mtrnb2x,base=T)#mtrnb2x better (mtsnb2x delta
3.5)
summary(mtrnb2x)
#ggemmeans didn't work unless "rg.limit = 11000)" added
print(ggemmeans(mtrnb2x, terms = c("key", "reflab"), type="fe", rg.limit = 11000))
print(ggemmeans(mtrnb2x, terms = c("key", "reflab"), type="fe", rg.limit = 11000)/60)
plot(ggemmeans(mtrnb2x, terms = c("reflab", "key"), type="fe", rg.limit =
11000))+ylim(0,300)
#SO: ignore this reflat interaction and go for a full model with a "key x specialized
training" interaction:

#####Full time model#####
mt<-
glmmTMB(time~Y+key*specialized+high+biology+gender+age+spp+round+(1|user)+(
1|specimen)+(1|genus), family="truncated_nbinom2", data=ecdex, na.action="na.fail")
summary(mt)
confint(mt)
lme4::dotplot.ranef.mer(ranef(mt)$cond, xlim=c(-2,2))
#Genus variance ~0 and CI from 0 to infinity... OK (BUT: could REMOVE because no
MMI here)

print(ggemmeans(mt, terms = c("key", "specialized"), type="fe",rg.limit = 11000),
digits=3)#Doesn't work unless "rg.limit = 11000)" added

```

```
#With P. humanus (with fastest mean time) as the reference level (so all other have
positive effects, which are easier to interpret)
mto<-glmmTMB(time~Y+key*specialized+high+biology+gender+age+relevel(spp, ref
="Pediculus_humanus")+round+(1|user)+(1|specimen)+(1|genus),
family="truncated_nbinom2", data=ecdex, na.action="na.fail")
summary(mto)
confint(mto)#Genus variance ~0 and CI from 0 to infinity; that's OK
exp(confint(mto))#Ignore "Std.Dev." values
```

#Things to look at:

#1) "age", "gender", and "biology" effects were all negligible too; this is overall good (those factors had little influence on speed)

#In practical terms: in what follows, we will not focus on "age", "gender", and "biology" effects - we will focus on discussing "EctoDex" effects that are "adjusted" for "age", "gender", and "biology"

#2) there is a positive "round 1" effect (beta 0.1366, SE 0.0336, CI 0.0706-0.2025); this suggests that users were, on average, a bit slower (needed more time) in Round 1 than in Round 2

#Because accuracy analyses suggest that there was no "learning" of specimen identities (i.e., our randomization tactic worked well), this suggests that users "learned" to use the keys more swiftly

#3) users with "high" expertise needed less time, on average, than those without, independently of anything else (beta -0.9195, CI -1.4704 to -0.3687)

#4) EctoDex:

#(i) clearly sped-up identifications by users without "specialized" training:

#"key1": beta -0.3549, SE 0.0461 (CI -0.4454 to -0.2645); Rate Ratio 0.7012 (CI 0.6406-0.7676):

#That is: "For users without specialized training, identification tasks were ~30% (between ~23% and ~36%) faster, on average, when using EctoDex than when using the printed key"

#(ii) led to a much smaller reduction of time users with "specialized" training ("key1:specialized1" beta 0.2079, SE 0.0645, CI 0.0815-0.3342)

#That is: "For users with specialized training, identification tasks were just ~14% faster** when using EctoDex than when using the printed key"

*** $\text{beta}(\text{"key1"}) + \text{beta}(\text{"key1:specialized1"}) = -0.3549 + 0.2079 = -0.147$; $\exp(-0.147) = 0.863$ (approx. $100 \times (1 - 0.863) = 13.7\%$ less time, which is a much smaller (about half) improvement than the 30% for users without specialized training)

#On average (using model "mt" because ggemmeans doesn't like reordered variables):
print(ggemmeans(mt, terms = c("key", "specialized"), type="fe", nesting=NULL, rg.limit = 11000, digits=4)

#Non-"specialized" user time decreased from ~171 sec (2.84 min, printed key) to ~120 sec (1.99 min, EctoDex) (an important time-saving improvement)

#Whereas "specialized" user time decreased from ~149 sec (2.48 min, printed key) to ~128 sec (2.14 min, EctoDex) (a much smaller improvement)

#Graphically (much easier to see and understand)

```
plot(ggemmeans(mt, terms = c("specialized", "key"), type="fe", rg.limit =
11000))+ylim(0,300)
```

#5) Average predictions for accuracy by species

#(i) A plot with all species (again: using model "mt" because ggemmeans doesn't like reordered variables)

#Order: bedbug; ticks (ranked from easier to harder to identify); fleas (same rank order); lice (same rank order)

```
plot(ggemmeans(mt, terms="spp[Cimex_lectularius, Argas_miniatus, Rhipicephalus_san
guineus, Dermacentor_nitens, Rhipicephalus_microplus, Amblyomma_ovale, Amblyomma
_longirostre, Amblyomma_aureolatum, Amblyomma_sculptum, Ornithodoros_rietcorraei,
Amblyomma_dubitatum, Amblyomma_tigrinum, Amblyomma_parvum, Tunga_penetrans,
Ctenocephalides_felis, Pulex_irritans, Ctenocephalides_canis, Xenopsylla_brasiliensis, Xe
nopsylla_cheopis, Pediculus_humanus, Phthirus_pubis]", type="fe", rg.limit =
11000))+ylim(0,300)
```

#(ii) Values (average time per identification task) and plots by species

#bedbug

#Values for different combinations of "key", "specialized", and "high"

```
print(ggemmeans(mt, terms=c("spp[Cimex_lectularius]", "key", "specialized", "high"), typ
e="fe", nesting=NULL), digits=4)
```

#For example:

#User with specialized training but not high expertise (specialized = 1; high = 0):

#With printed key (key = 0): needed, on average, about 147.6 seconds (CI, 101.4-214.9) to run an identification task on a Cimex lectularius specimen

#With EctoDex (key = 1): needed, on average, about 127.4 seconds (CI, 87.5-185.5) to run an identification task on a Cimex lectularius specimen [a small improvement of about 20 sec]

#Plot for "specialized" training users (NON-"high" (0) and "high" (1) expertise; printed key ("key"=0) EctoDex ("key"=1))

```
plot(ggemmeans(mt, terms=c("spp[Cimex_lectularius]", "key", "high[0]", "specialized[1]"
), type="fe", nesting=NULL))+ylim(0,300)
```

#User WITHOUT specialized training AND without high expertise (specialized = 0; high = 0):

#Time with printed key (key = 0): 169.2 sec (123.9-231.0)

#Time with EctoDex (key = 1): 67.5 sec (35.7-127.6) [a large improvement of about 100 sec, or 1.7 min]

#Plot for NON-"specialized" training users (NON-"high" (0) and "high" (1) expertise; printed key ("key"=0) EctoDex ("key"=1))

```
plot(ggemmeans(mt, terms=c("spp[Cimex_lectularius]", "key", "high[0]", "specialized[0]"
), type="fe", nesting=NULL))+ylim(0,300)
```

#With some uncertainty: EctoDex saved relatively little time to "specialized" users, but saved quite a lot for NON-"specialized" users

#BUT... there's one more thing here: whether the specimen was or was not CORRECTLY identified (variable "Y"):

#On average, identification tasks were a bit faster for specimens that, in the end, were CORRECTLY (Y=1) identified:

#"Y1" beta = -0.1240, SE 0.0386 (CI -0.1995 to -0.04837); RR = 0.8834 (CI 0.8191-0.9528); time saving approx. 11.7%

#For the bedbug:

```

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","specialized","Y[0]"),type
e="fe",nesting=NULL,rg.limit = 11000),digits=4)
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","specialized","Y[1]"),type
e="fe",nesting=NULL,rg.limit = 11000),digits=4)
#Plot for "specialized" training users (INcorrect "Y" (0); printed key ("key"=0) EctoDex
("key"=1))
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","Y[0]","specialized[1]"),t
ype="fe",nesting=NULL))+ylim(0,300)
#Plot for "specialized" training users (CORRECT "Y" (1); printed key ("key"=0)
EctoDex ("key"=1))
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","Y[1]","specialized[1]"),t
ype="fe",nesting=NULL))+ylim(0,300)
#Plot for NON-"specialized" training users ((INcorrect "Y" (0); printed key ("key"=0)
EctoDex ("key"=1))
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","Y[0]","specialized[0]"),t
ype="fe",nesting=NULL))+ylim(0,300)
#Plot for NON-"specialized" training users ((CORRECT "Y" (1); printed key ("key"=0)
EctoDex ("key"=1))
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Cimex_lectularius]","key","Y[1]","specialized[0]"),t
ype="fe",nesting=NULL))+ylim(0,300)

```

#We may want to focus on CORRECT identifications, but below I looked at ALL identification tasks

#I rescaled ALL y-axes to the range [0-600] seconds (which fits the maximum value of a CI for predicted time [*A. sculptum*, I think]); this means that you can directly compare the graphs for the different species

#ticks

```

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","specialized","high"),type=
"fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","high","specialized[0]"),type
="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","high","specialized[1]"),type
="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

```

#For example: only *CORRECT* *A. miniatus* identifications by users with and without specialized training:

```

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","specialized","Y[1]"),type=
"fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","Y[1]","specialized[0]"),typ
e="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Argas_miniatus]","key","Y[1]","specialized[1]"),typ
e="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

```

#Continuing (average time; correct AND incorrect identifications)

```

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Rhipicephalus_sanguineus]","key","specialized","hi
gh"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Rhipicephalus_sanguineus]","key","high","specialize
d[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Rhipicephalus_sanguineus]", "key", "high", "specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Dermacentor_nitens]", "key", "specialized", "high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Dermacentor_nitens]", "key", "high", "specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Dermacentor_nitens]", "key", "high", "specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Rhipicephalus_microplus]", "key", "specialized", "high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Rhipicephalus_microplus]", "key", "high", "specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Rhipicephalus_microplus]", "key", "high", "specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_ovale]", "key", "specialized", "high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_ovale]", "key", "high", "specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_ovale]", "key", "high", "specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_longirostre]", "key", "specialized", "high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_longirostre]", "key", "high", "specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_longirostre]", "key", "high", "specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_aureolatum]", "key", "specialized", "high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_aureolatum]", "key", "high", "specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_aureolatum]", "key", "high", "specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_sculptum]", "key", "specialized", "high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_sculptum]", "key", "high", "specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_sculptum]", "key", "high", "specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ornithodoros_rietcorraei]", "key", "specialized", "high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ornithodoros_rietcorraei]", "key", "high", "specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```

plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ornithodoros_rietcorreai]","key","high","specialized
[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_dubitatum]","key","specialized","high
"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_dubitatum]","key","high","specialized[0
]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_dubitatum]","key","high","specialized[1
]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_tigrinum]","key","specialized","high")
,type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_tigrinum]","key","high","specialized[0]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_tigrinum]","key","high","specialized[1]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_parvum]","key","specialized","high"),t
ype="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_parvum]","key","high","specialized[0]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Amblyomma_parvum]","key","high","specialized[1]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

#fleas
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Tunga_penetrans]","key","specialized","high"),type
="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Tunga_penetrans]","key","high","specialized[0]"),ty
pe="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Tunga_penetrans]","key","high","specialized[1]"),ty
pe="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ctenocephalides_felis]","key","specialized","high"),
type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ctenocephalides_felis]","key","high","specialized[0]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ctenocephalides_felis]","key","high","specialized[1]
"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Pulex_irritans]","key","specialized","high"),type="f
e",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Pulex_irritans]","key","high","specialized[0]"),type=
"fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Pulex_irritans]","key","high","specialized[1]"),type=
"fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ctenocephalides_canis]","key","specialized","high")
,type="fe",nesting=NULL),digits=4)
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ctenocephalides_canis]","key","high","specialized[0
]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)

```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Ctenocephalides_canis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Xenopsylla_brasiliensis]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Xenopsylla_brasiliensis]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Xenopsylla_brasiliensis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Xenopsylla_cheopis]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Xenopsylla_cheopis]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Xenopsylla_cheopis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
#lice
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Pediculus_humanus]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Pediculus_humanus]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Pediculus_humanus]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
print(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Phthirus_pubis]","key","specialized","high"),type="fe",nesting=NULL),digits=4)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Phthirus_pubis]","key","high","specialized[0]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
plot(ggemmeans(mt,terms=c("spp[Phthirus_pubis]","key","high","specialized[1]"),type="fe",nesting=NULL))+ylim(0,600)
```

```
#You can copy graphs and paste them on a PowerPoint, then edit
```

```
#Model predictions
```

```
predtime <- predict(mt, type="response", newdata=NULL)
```

```
summary(predtime)
```

```
summary(predtime[ecdex$key=="1"])/60
```

```
summary(predtime[ecdex$key=="0"])/60
```

```
summary(predtime[Y=="1"])/60
```

```
summary(predtime[Y=="0"])/60
```

```
summary(predtime[ecdex$specialized=="1"])/60
```

```
summary(predtime[ecdex$specialized=="0"])/60
```

```
summary(predtime[ecdex$high=="1"])/60
```

```
summary(predtime[ecdex$high=="0"])/60
```

```
#Save predictions to a table
```

```
write.table(predtime, file="pred_full_time_model_mt.txt", row.names=TRUE, col.names=TRUE)
```

```

#Plotting full model predictions by key
ecdex$kttt = with(ecdex, reorder(key, predtime, median, decreasing=T))
pktt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=kttt, y=predtime, fill=kttt)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color
="salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("Key") +
  ylab("Full model predictions (sec)") +
  ylim(0, 1000) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pktt

```

```

#Plot minutes (use "y=predtime/60" and "ylim(0, 20)" - and "ylab("Full model
predictions (min)")")
ecdex$kttt = with(ecdex, reorder(key, predtime, median, decreasing=T))
pkttm <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=kttt, y=predtime/60, fill=kttt)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color
="salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("Key") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pkttm

```

```

#Separating full model predictions by key and specialized
psktt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=kttt, y=predtime/60, fill=specialized)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color
="salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="right") +
  xlab("Key") +
  ylab("Full model predictions (min)") +

```

```

ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
psktt

#Separating full model predictions by key and "correct"
psky <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=ktt, y=preptime/60, fill=Y)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color
="salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="right") +
  xlab("Key") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('red3','green3'))
psky

#Plotting full model predictions by specialized
ecdex$stt = with(ecdex, reorder(specialized, preptime, median, decreasing=T))
pstt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=stt, y=preptime/60, fill=stt)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon",coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("Specialized training") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pstt

#Separating full model predictions by key and specialized
pkstt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=stt, y=preptime/60, fill=key)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=4, color="black",
fill="black") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="right") +

```

```

xlab("Specialized training") +
ylab("Full model predictions (min)") +
ylim(0, 20) +
scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pkstt

#Plotting full model predictions by user
ecdex$idtt = with(ecdex, reorder(user, predtime, median))
pidtt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtt, y=predtime/60, fill=idtt)) +
  geom_boxplot(width=0.8, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=3.5, color="red2",
fill="red2") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("id") +
  theme(legend.position="none") +
  xlab("User ID") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +

scale_fill_manual(values=c('gray100','gray98','gray96','gray94','gray92','gray90','gray88'
,'gray86','gray84','gray82','gray80','gray78','gray76','gray74','gray72','gray70','gray68','gr
ay66','gray64','gray62','gray60','gray58','gray56','gray54','gray52','gray50','gray48','gray4
6','gray44','gray42','gray40','gray38','gray36'))
pidtt

#Graphically separating user predictions by key
pidktt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtt, y=predtime/60, fill=key)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("User ID") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pidktt

#Color by specialized training
pidstt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtt, y=predtime/60, fill=specialized)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +

```

```

theme(legend.position='right') +
theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
xlab("User ID") +
ylab("Full model predictions (min)") +
ylim(0, 20) +
scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pidstt

#Color by expertise
pidhtt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtt, y=preptime/60, fill=high)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("User ID") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pidhtt

#Color by "correct"
pidctt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=idtt, y=preptime/60, fill=Y)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("User ID") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('red3','green3'))
pidctt

#Plotting full model predictions by species
ecdex$sptt = with(ecdex, reorder(spp, preptime, median))
psptt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sptt, y=preptime/60, fill=sptt)) + #Can use "fill=genus" or "group" etc...
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #stat_summary(fun=mean, geom="point", shape=18, size=3, color="red2",
fill="red2") +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("group") +
  theme(legend.position="none") +

```

```

xlab("Species") +
ylab("Full model predictions (min)") +
ylim(0, 20) +

scale_fill_manual(values=c('gray100','gray98','gray96','gray94','gray92','gray90','gray88'
,'gray86','gray84','gray82','gray80','gray78','gray76','gray74','gray72','gray70','gray68','gr
ay66','gray64','gray62','gray60'))
psptt

#Graphically separating by key
pspktt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sptt, y=preptime/60, fill=key)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("Species") +
  ylab("Full model predictions") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('coral2','cyan2'))
pspktt

#Graphically separating by high specialized training
pspextt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sptt, y=preptime/60, fill=specialized)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("Species") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
pspextt

#Graphically separating by high expertise
psphxtt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sptt, y=preptime/60, fill=high)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("Species") +
  ylab("Full model predictions (min)") +

```

```

ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('orange2','olivedrab'))
psphxtt

#Graphically separating by "corect"
pspyxtt <- ecdex %>%
  ggplot(aes(x=sptt, y=preptime/60, fill=Y)) +
  geom_boxplot(width=0.7, color="black", alpha=1, outlier.shape = 20, outlier.color =
"salmon", coef = 1.5, lwd=0.7) +
  #geom_jitter(color="black", size=0.2, alpha=1) +
  xlab("spp") +
  theme(legend.position='right') +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1)) +
  xlab("Species") +
  ylab("Full model predictions (min)") +
  ylim(0, 20) +
  scale_fill_manual(values=c('red3','green3'))
pspyxtt

#####Main conclusions (about TIME)#####
#EctoDex sped-up identification tasks across users and species:
pidktt
pspktt
#With EctoDex, the average time taken by people who did NOT go through specialized
training to run an identification task 'shrunk' to almost the same time taken by those
who did:
plot(ggemmeans(mt, terms = c("specialized", "key"), type="fe",rg.limit =
11000))+ylim(0,300)
print(ggemmeans(mt, terms = c("key", "specialized"), type="fe",rg.limit =
11000,digits=4))
#Or
pkstt
#(i) those who were trained needed similar times with both keys (although EctoDex
sped-up things a bit), but
#(ii) those who weren't trained needed more time with the printed key than with
EctoDex
#So... again, EctoDex could REPLACE the training!

```

1

2 **Apêndice 3. Manuscrito para submissão na revista Parasites & Vectors**
3 **(versão português)**

4

5 Submissão para Parasites & Vectors (versão em português)

6 **ECTODEX, uma chave de identificação eletrônica para ectoparasitos de interesse**
7 **em saúde pública: desenvolvimento e avaliação piloto**

8

9 Joana de Albuquerque Ribeiro^{1,2*}, Fernando Abad-Franch^{1,3*}, Gilberto Salles Gazeta^{4**},
10 Gino Chaves da Rocha⁵, Maxwell Ramos de Almeida⁶, Douglas de Almeida Rocha^{7*} &
11 Rodrigo Gurgel Gonçalves^{1,2*}

12

13 ¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Faculdade de Medicina,
14 Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

15 ²Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores, Faculdade de Medicina,
16 Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

17 ³Instituto Leônidas & Maria Deane – Fiocruz Amazônia, Manaus, Brasil.

18 ⁴Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses, Instituto Oswaldo
19 Cruz – Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

20 ⁵Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, Faculdade de Agronomia e
21 Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.

22 ⁶Prime IT, Lisboa, Portugal.

23 ⁷Pesquisador independente, Brasília, Brasil.

24 * Os autores contribuíram igualmente para o manuscrito

25 ** Autor de correspondência: gsgazeta@gmail.com

26 RESUMO

27 **Antecedentes:** Embora fundamental para o controle-vigilância de várias doenças
28 infecciosas (incluindo peste, febre maculosa ou doença de Lyme), a identificação de
29 artrópodes ectoparasitos depende de chaves impressas desatualizadas e de
30 disponibilidade limitada. Neste trabalho, desenvolvemos uma chave eletrônica, pictórica
31 e politômica (“ECTODEX”) Android/iOS para 34 espécies de carrapatos, piolhos, pulgas
32 e percevejos de interesse médico. Em uma avaliação piloto, comparamos ECTODEX e
33 uma chave dicotômica impressa (“PKEY”) em termos de (i) porcentagem de
34 identificações corretas (“acurácia”) e (ii) minutos necessários para completar uma
35 identificação (“tempo”). Além disso, investigamos se, e como, o desempenho das
36 chaves variou entre usuários e espécies de ectoparasitos.

37 **Métodos:** Cada um de 33 voluntários recebeu até 30 ‘espécimes-problema’ (21
38 espécies), codificados e preservados, e identificou cada espécime até o nível de espécie
39 usando ECTODEX e PKEY ($N = 1356$ ‘tarefas de identificação’). Após análises
40 exploratórias, ajustamos modelos lineares generalizados mistos (GLMMs) de “acurácia”
41 e “tempo” incorporando a não independência das observações feitas pelo mesmo
42 voluntário, envolvendo o mesmo espécime, e envolvendo espécies do mesmo gênero.

43 **Resultados:** Comparado com PKEY, ECTODEX aumentou a acurácia e diminuiu o
44 tempo de identificação de ectoparasitos. A melhora da acurácia foi maior entre usuários
45 sem treinamento especializado em taxonomia de ectoparasitos (GLMM: com PKEY
46 $\sim 57,2\%$, CI95% [40,8–72,2]; com ECTODEX $\sim 77,1\%$ [63,5–86,8]) do que entre usuários
47 com treinamento ($\sim 73,1\%$ com PKEY; $\sim 74,4\%$ com ECTODEX). A acurácia variou
48 amplamente entre espécies, de 12–18% para o carrapato *Amblyomma parvum* a 98–99%
49 para o piolho *Pediculus humanus*. ECTODEX também acelerou as tarefas de
50 identificação (usuários sem treinamento especializado: PKEY $\sim 2,8$ min/tarefa, ECTODEX

51 ~2,0 min/tarefa; com treinamento: PKEY ~2,5 min/tarefa; ECTODEX ~2,1 min/tarefa); ao
52 comparar espécies, os valores médios variaram entre ~1 min/tarefa para *P. humanus* e
53 ~3–4 min/tarefa para *A. sculptum*. Em geral, o desempenho foi melhor entre usuários
54 com ampla expertise em sistemática de ectoparasitos, com efeitos insignificantes da
55 idade, gênero ou formação acadêmica básica.

56 **Conclusões:** ECTODEX pode aumentar a acurácia e economizar tempo na identificação
57 de ectoparasitos de interesse médico, principalmente entre usuários sem treinamento
58 especializado – cujo desempenho geral, ao usar ECTODEX, tornou-se comparável ao de
59 usuários treinados.

60

61 Palavras-Chave: Ectoparasitos, App, Chaves eletrônicas, Vigilância, Saúde Pública

62

63 **Antecedentes**

64 Os artrópodes ectoparasitos têm grande relevância para a saúde pública por
65 transmitirem patógenos que causam doenças como peste, tifo, doença de Lyme,
66 encefalites e febre maculosa (1, 2, 3). A importância médica dos ectoparasitos tem
67 aumentado com a ampliação das áreas de ocorrência de algumas espécies devido a
68 mudanças climáticas (4, 5) e devido aos processos de urbanização e reflorestamento de
69 áreas desmatadas que favorecem o eco-turismo e aproximam o homem dos animais
70 silvestres (6). Nesse cenário, há necessidade de reforçar a vigilância e controle dos
71 ectoparasitos a partir da identificação correta e rápida dos principais vetores (7, 8).

72 Os ectoparasitos são identificados utilizando chaves dicotômicas impressas (PKEY
73 daqui em diante), geralmente incompletas, de difícil acesso e desatualizadas; novas
74 espécies são descritas a cada ano e as PKEYS dificilmente acompanham as novidades

75 taxonômicas. Alternativas de identificação têm sido desenvolvidas, como as chaves
76 eletrônicas, as quais são ilustradas, autoexplicativas, de fácil acesso e utilização (e.g. 9).
77 Atualmente, a tecnologia facilita a vigilância em saúde com auxílio de cidadãos os quais
78 podem usar aplicativos em seus *smartphones* para gerar as informações para a vigilância
79 e auxiliar a identificação e o mapeamento dos vetores (10, 11, 12, 13). Chaves de
80 identificação eletrônicas (14, 9) e identificação automática de imagens (15, 16, 17, 18,
81 19, 20) são tecnologias que podem ajudar a melhorar o processo de identificação de
82 vetores tradicionalmente baseado em PKEYS.

83 A maior parte dos estudos de identificação e de vigilância de ectoparasitos que
84 utilizam aplicativos em *smartphones* tem sido feito com carrapatos. O *TickSpotters*
85 permite o envio de fotos pelos usuários e amplia a conscientização a respeito do risco de
86 transmissão de patógenos por carrapatos nos EUA (21). A vigilância baseada em
87 fotografias do *TickSpotters* é eficaz para o mapeamento e prevenção de doenças
88 transmitidas por carrapatos (21, 22). O aplicativo *Tekenbeet* fornece instruções sobre a
89 maneira correta de remover carrapatos, além da opção para os usuários documentarem
90 eventos de contato com esses artrópodes na Holanda (12). O aplicativo *Tekenscanner*
91 também auxilia a vigilância de doenças transmitidas por carrapatos na Holanda (23).
92 Finalmente, Justen et al. (17) descrevem os primeiros passos para o desenvolvimento de
93 um sistema de identificação automática de carrapatos a partir de uma rede de
94 inteligência artificial baseada em aprendizagem profunda (“TickIDNet”) e uma base de
95 dados de ~12.000 imagens de três espécies de carrapatos mais comuns encontrados em
96 humanos nos EUA. Esses aplicativos foram desenvolvidos para a vigilância de
97 carrapatos na América do Norte e Europa. Até o momento, não existe algo similar para
98 carrapatos e outros ectoparasitos na América do Sul.

99 A iniciativa “Global vector control response 2017–2030” (24) indica a necessidade
100 de desenvolver estratégias de identificação simples, ilustradas e autoexplicativas, com
101 objetivo de promover uma rápida identificação de artrópodes vetores de doenças. Dessa
102 forma, nosso objetivo foi desenvolver e avaliar uma chave de identificação eletrônica,
103 pictórica e politômica (“ECTODEX”) para 34 espécies de carrapatos, percevejos de cama,
104 piolhos e pulgas de interesse para a saúde pública. Em uma avaliação piloto,
105 comparamos ECTODEX e uma chave dicotômica impressa (“PKEY”) em termos de (i)
106 porcentagem de identificações corretas (“acurácia”) e (ii) minutos necessários para
107 completar uma identificação (“tempo”). Além disso, investigamos se, e como, o
108 desempenho das chaves variou entre usuários e espécies de ectoparasitos (Tabela 1).

109

110 **Tabela 1.** Efeitos esperados de algumas características dos usuários e dos ectoparasitos no desempenho do ECTODEX.

Grupo	Características	Hipótese	Justificativa e referências*
Usuários	Treinamento especializado**	A porcentagem de identificação correta dos ectoparasitos (acurácia) é maior entre os usuários com treinamento especializado O tempo gasto para identificar um ectoparasito (tempo) é menor entre os usuários com treinamento especializado e alta expertise	Melhor conhecimento das características morfológicas das espécies após realização de cursos de identificação Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies
	Expertise***	A acurácia é maior entre os usuários com alta expertise O tempo é menor entre os usuários com alta expertise	Melhor conhecimento das características morfológicas das espécies com a experiência adquirida Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies com a experiência adquirida
	Laboratório	A acurácia é maior entre os usuários que trabalham em um laboratório de referência**** O tempo é menor entre os usuários que trabalham em um laboratório de referência	Mais capacitados em usar chaves de identificação; identificam com maior frequência as espécies de ectoparasitos no laboratório. Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies de ectoparasitos devido a prática de laboratório
	Formação	A acurácia é maior entre os usuários com formação em biologia O tempo é menor entre os usuários com formação em biologia	Mais chance de aprender a morfologia de ectoparasitos nas aulas práticas de zoologia, parasitologia ou entomologia Reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies devido às aulas práticas
	Idade	A acurácia é maior entre usuários mais jovens O tempo é menor entre os usuários mais jovens	Mais facilidade em usar um aplicativo móvel Usuários mais jovens têm mais agilidade em usar recursos eletrônicos
	Gênero	Sem efeitos esperados	Nenhuma evidência encontrada para justificar maior acurácia ou tempo de identificação de um ectoparasito em determinado gênero
	Ectoparasitos	Carrapatos	A acurácia para espécies de carrapatos é menor do que a de outros ectoparasitos O tempo é maior para espécies de carrapatos
Pulgas		A acurácia para espécies de pulgas é menor do que a de outros ectoparasitos O tempo é maior para espécies de pulgas	Maior dificuldade de visualização de cerdas e de observar o formato da espermateca em algumas espécies Mais tempo para reconhecer as estruturas
Piolhos		A acurácia para espécies de piolhos é maior do que a de	Menor dificuldade de visualização de estruturas (e.g. pernas com

	outros ectoparasitos O tempo é menor para espécies de pulgas	garras são facilmente observadas) Menos tempo para reconhecer estruturas, menos etapas para identificar a espécie
Percevejos	A acurácia para percevejos é menor do que a de outros ectoparasitos O tempo é menor para espécies de percevejos	Menor dificuldade de visualização de estruturas (e.g. pernas e pronoto são facilmente observados) Menos tempo para reconhecer estruturas

111

112 * (9), (25), (26), (27), (28). ** Treinamento baseado em cursos, oficinas ou práticas de identificação com conteúdo sobre taxonomia/sistemática de ectoparasitos. ***Expertise

113 na identificação de ectoparasitos auto referida pelo usuário ****Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses, Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz, Rio de

114 Janeiro, Brasil

115 **Métodos**

116 **Fonte das imagens e informações das espécies**

117 Nós fotografamos piolhos, pulgas, percevejos de cama e carrapatos em coleções
118 científicas na Universidade de Brasília (Laboratório de Parasitologia e Doenças
119 Parasitárias e Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores) e na Fiocruz,
120 Rio de Janeiro (Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses
121 [LRNVR-Fiocruz], Coleção Entomológica do Instituto Oswaldo Cruz e Laboratório
122 Interdisciplinar de Vigilância Entomológica). Nós fotografamos carrapatos com um
123 equipamento descrito em (15) com o aumento de 21×. Os outros ectoparasitos foram
124 fotografados usando microscópios com câmeras acopladas (Leica M205C; Nikon 5Mp,
125 HDMI; Sony Cyber-Shot, 14.1 Mp). As imagens de espécies ausentes nessas coleções
126 foram obtidas de (29) e do banco de imagens de colaboradores da Fiocruz. Nós usamos
127 desenhos de carrapatos de Aragão (30, 31) e obtivemos informações relacionadas aos
128 carrapatos (infecção humana e hospedeiros) de Barros-Battesti (29). As informações
129 para piolhos, pulgas e percevejos de cama foram obtidas em Durden (32), Bicho e
130 Ribeiro (27) e Usinger (33), respectivamente. Nós elaboramos mapas descrevendo a
131 ocorrência dos ectoparasitos nos estados brasileiros e incluímos no aplicativo. Os
132 registros de ocorrência foram obtidos de *SpeciesLink* (<http://splink.cria.org.br/>), “Global
133 Biodiversity Information Facility” (<https://www.gbif.org/>) e Martins (34), que revisou a
134 distribuição das espécies de *Amblyomma*. Para produção dos mapas, nós utilizamos os
135 contornos dos estados no Brasil no QGIS 3.22 e transferimos para o GIMP 2.10, onde
136 editamos os mapas.

137

138

139 **Chaves de identificação**

140 Nós usamos duas chaves de identificação para 34 espécies de ectoparasitos de
141 interesse em saúde pública e de importância médico-veterinária (Tabela 2). A primeira
142 foi uma chave dicotômica impressa (“PKEY”) baseada em chaves e informações dos
143 grupos de interesse (26, 27, 29, 34, 35, 25) (Arquivo adicional 1: Texto S1). A segunda
144 foi uma chave politômica e pictórica (ECTODEX), baseada na primeira, porém com
145 caracteres morfológicos selecionados de acordo com dois critérios: (i) escolha de
146 características diagnósticas mais importantes baseado na experiência de especialistas e
147 (ii) maior facilidade de visualização das características morfológicas, com objetivo de
148 diminuir o número de passos e facilitar a identificação das espécies. Em ambas as
149 chaves, nós incluímos as espécies de percevejos de cama e piolhos de interesse para a
150 saúde pública, as principais espécies de pulgas de importância médica e veterinária (27)
151 e as principais espécies de carrapatos encontradas pela vigilância ambiental e
152 entomológica do Brasil, de acordo com registros do Laboratório de Referência Nacional
153 em Vetores de Riquetsioses que recebe ectoparasitos para identificação provenientes de
154 todos os estados brasileiros. A chave de identificação pictórica e politômica foi usada
155 para o desenvolvimento do ECTODEX.

156 **Desenvolvimento do ECTODEX**

157 Nós organizamos uma base de dados no Microsoft Excel com as características
158 morfológicas selecionadas, sendo uma linha para cada espécie. As colunas continham
159 informações específicas (autor e ano da descrição da espécie, distribuição geográfica,
160 hospedeiros preferenciais e importância epidemiológica) e as 34 perguntas a respeito
161 dos caracteres morfológicos das espécies. Nós desenvolvemos o ECTODEX usando o
162 código fonte dos aplicativos para identificação de flebotomíneos (LUTZODEX, 14) e
163 triatomíneos (TRIATODEX, 9). Nós desenvolvemos o ECTODEX utilizando a tecnologia

164 *open-source React Native* (criada por Meta Platforms Inc). Essa é uma plataforma capaz
165 de criar aplicativos para Android, iOS, macOS, tvOS, Web, Windows e Universal
166 Windows Platform. Estruturas morfológicas e imagens são conectadas a partir de
167 etiquetas dentro do banco de dados. Todas as informações do ECTODEx são
168 armazenadas em nuvem no *FireBase* e compartilhadas com os dispositivos em formato
169 JavaScript Object Notation. Em março de 2022, nós lançamos a nova versão dos
170 aplicativos (VETORDEx) incluindo no mesmo aplicativo o LUTZODEx, TRIATODEx e
171 ECTODEx para Android (<https://play.google.com/store/apps/details?id=vetordex.com>) e
172 iOS (<https://apps.apple.com/br/app/vetordex/id1602553121>).

173 **Desempenho do ECTODEx**

174 Nós realizamos uma avaliação piloto do ECTODEx com apoio de (a) usuários
175 com treinamento especializado que realizaram cursos, treinamento, oficinas ou práticas
176 de identificação com conteúdo sobre taxonomia/sistemática de ectoparasitos, e (b)
177 usuários sem treinamento especializado. Os usuários também informaram na ficha de
178 identificação se tinham alta, média ou baixa expertise para identificar ectoparasitos
179 (Tabela 3). Apenas três usuários do LNRVR-Fiocruz que identificam carrapatos,
180 piolhos, pulgas e percevejos em seus trabalhos de rotina informaram que tinham alta
181 expertise (Tabela 3).

182 Nós enviamos o ECTODEx para as instituições participantes junto com uma lista
183 de 30 ‘espécimes-problema’ para a Fiocruz (selecionados por Gilberto Salles Gazeta) e
184 15 para a UnB (selecionados por Rodrigo Gurgel-Gonçalves), pertencentes a 21
185 espécies (Tabela 2). Foram selecionadas as espécies mais registradas pela vigilância de
186 ectoparasitos no Brasil de acordo com informações do LNRVR-Fiocruz. Estas espécies
187 foram previamente identificadas por pesquisadores experientes (Gilberto Salles Gazeta
188 e Rodrigo Gurgel-Gonçalves) e usando chaves dicotômicas impressas. Esta

189 identificação prévia foi considerada a referência (ou ‘padrão ouro’). Cada espécime foi
190 etiquetado somente com um código alfanumérico, de forma que o usuário não
191 identificasse a espécie pela etiqueta. Cada usuário foi também identificado com um
192 código alfanumérico individual, de forma que o avaliador (Fernando Abad-Franch)
193 pudesse analisar o desempenho dos usuários sem conhecer a identidade dos mesmos. A
194 avaliação do ECTODEX foi, neste sentido, duplamente “cega” – os usuários não tinham
195 informação prévia sobre a identidade dos espécimes e o analista não tinha informação
196 prévia sobre a identidade dos usuários. Os 33 usuários (10 do LRNVR-Fiocruz e 23 de
197 outros laboratórios, Tabela 3) receberam 15 ou 30 ectoparasitos montados em lâminas
198 de microscopia ou preservados em tubos com álcool 70% e realizaram as tarefas
199 (atividades em que os usuários identificavam o espécime usando as duas chaves e
200 anotavam a espécie e tempo realizado para completar a identificação em uma planilha).
201 Os usuários realizaram as tarefas em dois períodos (fevereiro/março de 2021 e
202 novembro/dezembro de 2021), por isso até 60 tarefas foram registradas por usuário
203 (Tabela 3). Para isso, nós randomizamos as chaves e ordem de identificação dos
204 espécimes entre os dois períodos de realização de tarefas pelos usuários. Nós usamos
205 essa estratégia para diminuir as chances de que um usuário lembrasse a identificação de
206 um espécime que ele já tinha identificado. Os resultados (código alfanumérico do
207 espécime + espécie identificada + código alfanumérico do usuário + tempo, medido em
208 minutos, usado para identificar cada espécime) foram enviados à UnB para avaliação do
209 desempenho do sistema. As identificações foram classificadas em duas categorias:
210 corretas (codificadas como “1”) ou incorretas (codificadas como “0”). Estes dados
211 permitiram avaliar as seguintes métricas (ou variáveis dependentes): (a) porcentagem de
212 identificações corretas do ectoparasito (“acurácia”); (b) tempo empregado por cada
213 usuário para identificar cada espécime (“tempo”). As informações sobre usuários

214 (Tabela 3) e espécimes (Tabela 4) permitiram, por sua vez, avaliar os efeitos das
 215 características dos mesmos (ou variáveis independentes) sobre as duas variáveis
 216 dependentes (ver seção *Análise estatística*).

217 **Tabela 2.** Espécies de percevejos de cama, piolhos, pulgas e carrapatos incluídas no
 218 estudo.

Piolhos	Percevejo	Pulgas	Carrapatos
<i>Pediculus humanus</i>	<i>Cimex hemipterus</i>	<i>Tunga penetrans</i>	<i>Argas miniatus</i>
<i>Phthirus pubis</i>	<i>Cimex lectularius</i>	<i>Ctenocephalides canis</i>	<i>Ornithodoros rietcorreia</i>
		<i>C. felis</i>	<i>O. rostratus</i>
		<i>Xenopsylla cheopis</i>	<i>O. brasiliensis</i>
		<i>X. brasiliensis</i>	<i>Ixodes</i> sp.
		<i>Pulex irritans</i>	<i>Dermacentor nitens</i>
		<i>Polygenis</i> sp.	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
			<i>R. (Boophilus) microplus</i>
			<i>Amblyomma longirostre</i>
			<i>A. parkeri</i>
			<i>A. cajennense</i>
			<i>A. sculptum</i>
			<i>A. tigrinum</i>
			<i>A. triste</i>
			<i>A. naponense</i>
			<i>A. brasiliense</i>
			<i>A. scalpturatum</i>
			<i>A. dubitatum</i>
			<i>A. oblongoguttatum</i>
			<i>A. aureolatum</i>
			<i>A. nodosum</i>
			<i>A. ovale</i>
			<i>A. parvum</i>

Tabela 3. Características dos usuários do ECTODEX e da chave dicotômica impressa e número de tarefas de identificação realizadas.

ID	Instituição*	LNRVR-Fiocruz**	Treinamento especializado***	Expertise	Formação	Profissão	Idade	Gênero	Tarefas
B_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	30s	Feminino	30
C_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	20s	Feminino	30
D_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina****	Estudante (graduação)	20s	Masculino	15
E_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	20s	Feminino	30
F_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	20s	Masculino	30
G_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas****	Estudante (graduação)	20s	Feminino	15
J_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Médico veterinário	40s	Feminino	30
K_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Médico veterinário	30s	Feminino	30
L_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Biólogo	20s	Feminino	30
M_1	UnB	Não	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Biólogo	40s	Masculino	30
N_1	UnB	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Médico veterinário	40s	Feminino	15
P_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	40s	Feminino	30
Q_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	30s	Feminino	30
R_1	UnB	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Pesquisador (Entomologia médica)	40s	Masculino	15
A_1	UnB	Não	Não	Média	Medicina Veterinária****	Estudante (graduação)	20s	Masculino	15
H_1	UnB	Não	Não	Média	Ciências Biológicas	Estudante (pós graduação)	20s	Masculino	30
I_1	UnB	Não	Não	Média	Medicina Veterinária	Médico veterinário	20s	Feminino	30
O_1	UnB	Não	Não	Média	Medicina Veterinária	Pesquisador (Patologia animal)	20s	Masculino	30
E	Fiocruz	Não	Não	Baixa	Ciências Biológicas	Pesquisador (Saúde pública)	40s	Feminino	60
F	Fiocruz	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária	Pesquisador (Ciências ambientais)	50s	Masculino	60
J	Fiocruz	Não	Não	Baixa	Medicina Veterinária****	Estudante (graduação)	20s	Masculino	60
H	Fiocruz	Não	Sim	Média	Ciências Biológicas	Biólogo	50s	Feminino	60
P	Fiocruz	Não	Não	Média	Ciências Biológicas	Pesquisador (Biodiversidade e saúde)	50s	Feminino	60
C	Fiocruz	Sim	Sim	Alta	Ciências Biológicas	Pesquisador (Entomologia médica)	30s	Feminino	60
I	Fiocruz	Sim	Sim	Alta	Ciências Biológicas	Pesquisador (Taxonomia e sistemática)	30s	Feminino	60
K	Fiocruz	Sim	Sim	Alta	Ciências Biológicas	Pesquisador (Taxonomia e sistemática)	30s	Feminino	60
L	Fiocruz	Sim	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	40s	Feminino	60
M	Fiocruz	Sim	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Pesquisador (Biologia molecular)	30s	Feminino	60
N	Fiocruz	Sim	Sim	Baixa	Ciências Biológicas	Técnico de laboratório	50s	Masculino	60
A	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Ciências Agrícolas	Pesquisador (Taxonomia)	60s	Masculino	60
B	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Nível Médio	Técnico de laboratório	50s	Masculino	60
D	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Medicina Veterinária	Médico veterinário	50s	Masculino	60
O	Fiocruz	Sim	Sim	Média	Ciências Biológicas	Pesquisador (Entomologia médica)	30s	Feminino	60

223 **Tabela 4.** Espécimes usados para testar o desempenho do ECTODEx: taxonomia e
 224 códigos

Grupo	Gênero	Espécie	Código espécime
Carrapato	<i>Amblyomma</i>	<i>A. aureolatum</i>	J29
		<i>A. aureolatum</i>	F56
		<i>A. aureolatum</i>	V22
		<i>A. dubitatum</i>	W69
		<i>A. dubitatum</i>	J15
		<i>A. dubitatum</i>	E24
		<i>A. longirostre</i>	B32
		<i>A. ovale</i>	I57
		<i>A. ovale</i>	F51
		<i>A. parvum</i>	X71
		<i>A. sculptum</i>	D47
		<i>A. sculptum</i>	Y76
		<i>A. sculptum</i>	M68
		<i>A. tigrinum</i>	P55
		<i>A. tigrinum</i>	T14
	<i>A. tigrinum</i>	T89	
	<i>A. tigrinum</i>	I20	
	<i>Argas</i>	<i>Ar. miniatus</i>	N56
		<i>Ar. miniatus</i>	T93
	<i>Dermacentor</i>	<i>D. nitens</i>	E22
<i>D. nitens</i>		L77	
<i>Ornithodoros</i>	<i>O. rietcorreai</i>	T23	
	<i>O. rietcorreai</i>	K65	
<i>Rhipicephalus</i>	<i>R. microplus</i>	R32	
	<i>R. microplus</i>	W56	
	<i>R. sanguineus</i>	S07	
	<i>R. sanguineus</i>	U76	
	<i>R. sanguineus</i>	D33	
Percevejo	<i>Cimex</i>	<i>C. lectularius</i>	C14
Piolho	<i>Pediculus</i>	<i>P. humanus</i>	Z16
		<i>P. humanus</i>	U21
		<i>P. humanus</i>	W82
	<i>Phthirus</i>	<i>P. pubis</i>	E25
Pulga	<i>Ctenocephalides</i>	<i>Ct. canis</i>	M33
		<i>Ct. felis</i>	F20
		<i>Ct. felis</i>	P85
		<i>Ct. felis</i>	V76
	<i>Pulex</i>	<i>Px. irritans</i>	X30
		<i>Px. irritans</i>	S45
	<i>Tunga</i>	<i>T. penetrans</i>	A90
		<i>T. penetrans</i>	T35
		<i>T. penetrans</i>	I65
	<i>Xenopsylla</i>	<i>X. brasiliensis</i>	I23
		<i>X. cheopis</i>	B83
<i>X. cheopis</i>		J88	

225

226

227

228

229

230 **Análise estatística**

231 Nós avaliamos o desempenho do ECTODEx em duas etapas: uma descritiva-
232 exploratória e outra inferencial. Nós avaliamos o desempenho geral do ECTODEx a
233 partir de duas métricas: acurácia e tempo de identificação. A análise exploratória foi
234 baseada em tabelas e gráficos com estatísticas descritivas e modelos bivariados
235 exploratórios. Nós computamos estatísticas descritivas para: (i) a acurácia, usando
236 contagens e proporções (com intervalos de confiança de 95% [IC] usando o método
237 de Wilson implementado no pacote Hmisc (36) no ambiente estatístico R 4.2.1 (37) e
238 (ii) o tempo de identificação, usando médias, medianas e desvios padrão. Os modelos
239 bivariados exploratórios (38) para acurácia foram baseados na distribuição de erro
240 binomial e função de ligação *logit* para estimar os efeitos ‘brutos’ de cada
241 característica relacionada ao usuário e à espécie, levando em conta a não
242 independência das tarefas de identificação (i) realizadas pelo mesmo usuário; (ii)
243 envolvendo a mesma espécie e (iii) envolvendo espécies do mesmo gênero. Para isto,
244 incluímos a identificação de cada usuário, de cada espécie e de cada gênero como
245 fatores aleatórios em todos os modelos. A especificação do gênero como um efeito
246 aleatório permitiu levar em conta, a não-independência filogenética dos espécimes de
247 espécies do mesmo gênero, que tendem a ser mais parecidos do que espécimes de
248 espécies de gêneros diferentes. Os modelos exploratórios para a variável “tempo”
249 foram desenvolvidos seguindo a mesma lógica dos modelos de acurácia; como a
250 variável dependente é uma contagem de números inteiros (segundos) com valores \geq

251 1, utilizamos uma distribuição de erros binomial negativa truncada (sem zeros) e a
252 função de ligação *log* (38). Esses modelos exploratórios forneceram uma comparação
253 preliminar do desempenho do ECTODEX entre grupos de usuários (Tabela 3) e entre
254 táxons de ectoparasitos (Tabela 4).

255 Nossas análises inferenciais se concentram nas variáveis mostradas nas
256 Tabelas 1, 3 e 4. As variáveis independentes consideradas como efeitos aleatórios
257 foram usuário, espécie e gênero de ectoparasito (ver explicação acima); treinamento
258 especializado, expertise, laboratório de referência, formação em biologia, idade,
259 sexo, espécie foram considerados efeitos fixos para os quais nós formulamos
260 hipóteses (Tabela 1). Antes de construir os modelos, calculamos correlações de
261 Pearson aos pares para as variáveis de efeito fixo (`car 3.0–7` (39) e `corrplot 0.84` (40)
262 pacotes R); após analisar as correlações observamos que houve correlação entre as
263 variáveis treinamento especializado e laboratório de referência (0,88, $p = 0,0000$),
264 por isso os modelos não incluíram essas variáveis ao mesmo tempo. Em seguida,
265 construímos, usando o pacote `glmmTMB 1.0.1` (41), um modelo aditivo completo,
266 incluindo todas variáveis. Todas as análises foram feitas em RStudio (37) baseadas
267 nos dados de acurácia e de tempo de identificação com pacotes conforme especificado
268 acima. Dados (Dados S1) e código (Código S1) subjacentes a essas análises estão
269 disponíveis nos dados suplementares.

270

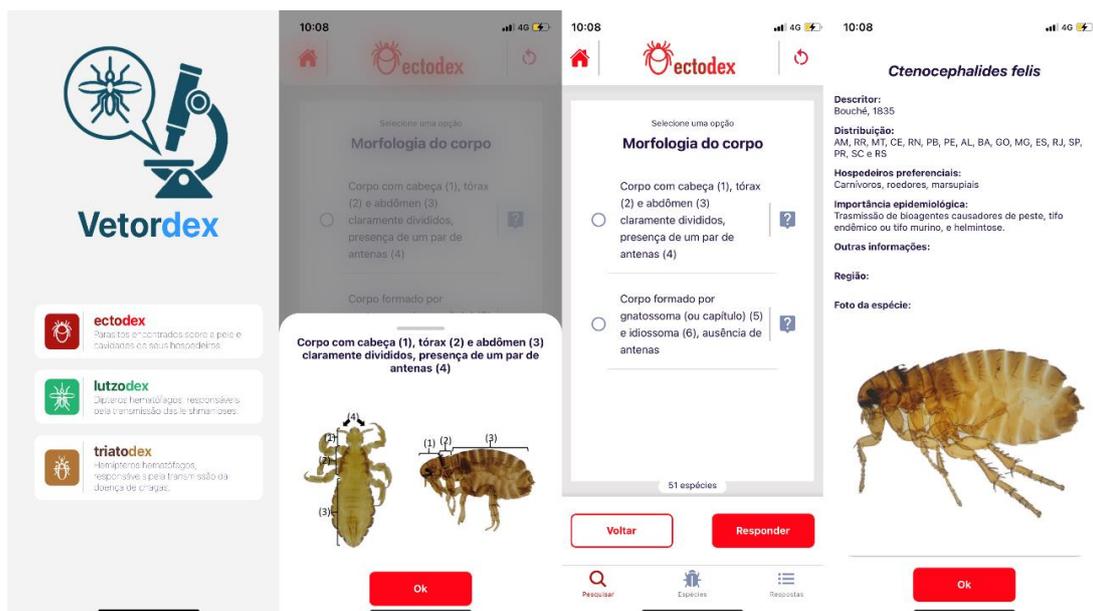
271

272

273 **Resultados**

274 **Descrição do ECTODEX**

275 Na versão 2022, o ECTODEX abrange 34 espécies de ectoparasitos e está
276 incluído em um aplicativo mais amplo (VETORDEX) que inclui outras duas chaves de
277 identificação eletrônicas para flebotomíneos e triatomíneos (LUTZODEX e
278 TRIATODEX, respectivamente). ECTODEX inclui 34 perguntas com duas a cinco
279 respostas possíveis e mais de 80 imagens detalhadas de estruturas morfológicas
280 (Figura 1). O usuário seleciona uma opção e é levado diretamente a outra pergunta
281 até finalizar a identificação, quando é apresentada a foto colorida do vetor
282 identificado, sua distribuição geográfica e outras informações (importância médica e
283 hospedeiros). Para cada resposta existem imagens das estruturas para facilitar a
284 tomada de decisão do usuário durante a identificação. Em qualquer momento da
285 identificação, o aplicativo mostra as possíveis espécies e ainda permite retornar para
286 perguntas anteriores. Caso haja algum erro percebido pelo usuário em alguma etapa,
287 o processo de identificação pode ser retornado a partir da última pergunta correta
288 respondida.



289

290 **Fig 1.** Telas do VETORDEX e ECTODEX, mostrando as perguntas ilustradas e a
 291 identificação final, com informações sobre o ectoparasito e sua foto. Atualmente
 292 VETORDEX inclui três aplicativos, LUTZODEX (14), TRIATODEX (9) e ECTODEX.
 293 Mais detalhes do aplicativo em
 294 <https://apps.apple.com/br/app/vetordex/id1602553121>

295 Desempenho do EctoDex

296 Acurácia

297 Nós avaliamos o ECTODEX com 33 usuários brasileiros, 12 que tinham
 298 treinamento especializado, dos quais 3 tinham alta expertise na identificação de
 299 ectoparasitos, e 21 usuários sem tal treinamento, com baixa ou média expertise
 300 (Tabela 3). Considerando as 1356 tarefas de identificação, a acurácia foi maior com
 301 ECTODEX (57%, intervalo de confiança de 95% [IC] 53-60) do que usando PKEY
 302 (49%, IC 46-53). Como esperado, observamos uma maior acurácia no grupo de
 303 usuários com treinamento especializado, chegando a >80% considerando usuários de
 304 alta expertise, tanto usando ECTODEX quanto a PKEY (Tabela 5). As acurácias foram

305 maiores entre usuários de 30 anos, pertencentes ao laboratório de referência e que
306 possuíam maior expertise. A análise do grupo de usuários sem treinamento
307 especializado mostrou que a acurácia foi maior usando ECTODEX (Tabela 6). Nesse
308 grupo, as acurácias foram similares entre usuários de diferentes idades, formações e
309 expertises, tanto usando ECTODEX quanto a PKEY. A acurácia variou entre os
310 grupos de ectoparasitos (Tabela 7), sendo menor para carrapatos e pulgas e superior
311 para piolhos usando ECTODEX e PKEY. De forma geral as acurácias foram maiores
312 usando ECTODEX (Tabela 7).

313

314

315

316

317

318

319

320

321

322

323

324 Tabela 5 Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos por usuários com
 325 treinamento especializado de acordo com suas características usando ECTODEX e
 326 chave dicotômica impressa (PKEY).

Grupo	ECTODEX			PKEY		
	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)
Gênero						
Feminino	210	141	67,14% (60,53–73,13)	210	131	62,38% (55,66–68,65)
Masculino	135	65	48,14% (7,04–45,18)	150	61	40,66% (33,13–48,66)
Idade						
20'	.*	-	-	-	-	-
30'	150	118	78,66% (71,43–84,46)	150	114	76,00% (68,57–82,13)
40'	40	19	47,50% (30,14–47,51)	30	7	23,33% (11,79–40,92)
50'	117	45	38,46% (32,93–62,50)	119	49	41,17% (32,74–50,15)
60'	30	20	66,66% (48,78–80,76)	30	21	70,00% (52,12–83,33)
Lab referência						
Sim	300	187	62,33% (56,72–67,62)	300	181	60,33% (57,70–65,70)
Não	45	10	22,22% (12,54–36,26)	45	21	46,66% (32,93–60,92)
Formação						
Biologia	255	145	56,86% (50,72–62,79)	255	154	60,39% (54,27–66,19)
Outras	90	51	56,66% (46,36–66,42)	90	48	53,33% (60,53–66,19)
Expertise						
Alta	90	76	84,44% (75,56–90,50)	90	76	84,44% (75,56–90,50)
Média	150	81	54,00% (46,02–61,77)	150	76	50,66% (42,74–58,55)
Baixa	105	48	45,71% (36,50–55,22)	105	50	47,61% (38,32–57,08)

327 *.sem dados para essa característica considerando o grupo de usuários com treinamento especializado.

328

329

330

331

332 Tabela 6. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos por usuários sem
 333 treinamento especializado de acordo com suas características usando EctoDex e
 334 chave dicotômica impressa (PKEY).

Grupo	ECTODEX			PKEY		
	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)
Gênero						
Feminino	194	116	59,79% (52,76–66,43)	196	87	44,38% (37,60–51,38)
Masculino	118	68	57,62% (48,60–66,16)	132	44	33,33% (25,86–41,74)
Idade						
20'	152	87	57,23% (49,28–64,82)	148	39	26,35% (19,91–33,98)
30'	45	27	60,00% (45,45–72,97)	45	18	40,00% (27,02–54,54)
40'	60	44	73,33% (60,99–82,86)	75	34	45,33% (34,56–56,55)
50'	55	26	47,27% (34,69–60,20)	60	21	35,00 % (24,16–47,63)
60'	.*	-	-	-	-	-
Lab referência						
Sim	-	-	-	-	-	-
Não	336	190	53,57% (48,22–58,83)	349	144	41,25% (36,21–46,49)
Formação						
Biologia	186	114	61,29% (54,12–67,99)	210	91	43,33% (36,81–50,10)
Outras	141	70	49,64% (41,51–57,79)	139	53	38,12% (30,47–46,42)
Expertise						
Alta	-	-	-	-	-	-
Média	84	45	53,57% (42,98–63,84)	87	37	42,52% (32,67–53,01)
Baixa	243	139	57,20% (50,91–63,26)	262	107	40,83% (35,06–46,88)

335 *.sem dados para essa característica considerando o grupo de usuários sem treinamento especializado.

336

337

338 Tabela 7. Acurácia para identificar as espécies de ectoparasitos segundo os principais
 339 grupos (carrapatos, percevejos, piolhos e pulgas) usando EctoDex e chave
 340 dicotômica impressa (PKEY).

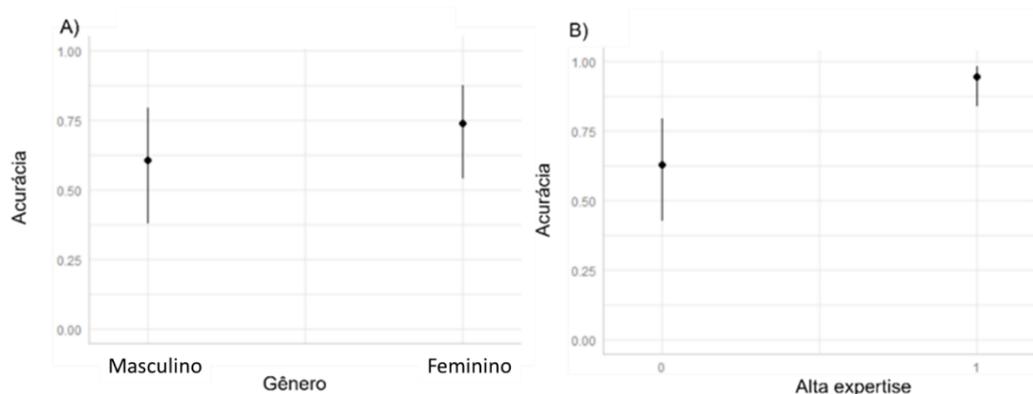
Grupo	ECTODEX			PKEY		
	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)	Tarefas	Corretas	Porcentagem e CI (Wilson, 95%)
Carrapato	419	201	47,87% (43,23–57,75)	423	173	40,90% (36,31–45,64)
Percevejo	16	13	81,25% (56,91–93,40)	15	3	20,00% (7,04–45,18)
Piolho	63	63	100% (94,25–100,00)	59	52	88,13% (74,47–94,13)
Pulga	180	118	65,56% (58,35–72,10)	181	107	59,11% (51,83–66,01)

341

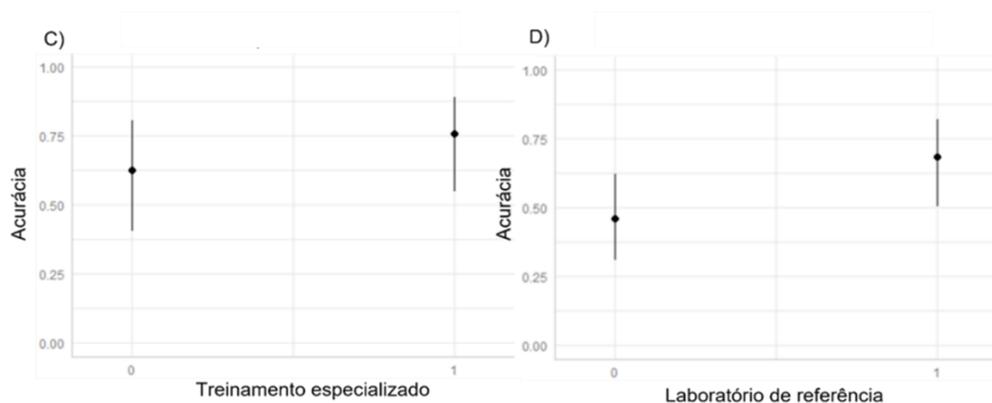
342 Os modelos exploratórios bivariados mostraram que a expertise teve maior
 343 efeito na acurácia usando EctoDex; usuários com alta expertise apresentaram
 344 acurácias estimadas de 94% (IC95%, 83-98), razão de chances de 5,4 em relação aos
 345 usuários de baixa ou média expertise. A acurácia de usuários com treinamento
 346 especializado (76%, IC95% 55-89) foi maior que os que não tinham (62%, IC95%
 347 40-80) com razão de chance de 1,56. Os usuários que pertenciam ao laboratório de
 348 referência apresentaram maior acurácia (68%, IC95% 50-82) que os não pertencentes
 349 à tal laboratório (46%, IC95% 31-62) e razão de chances de 1,72. Ter cursado
 350 biologia aumentou a acurácia (72%, IC95% 52-86) em relação aos usuários que
 351 fizeram outros cursos (61%, IC95% 38-80), razão de chances de 1,40. Idade
 352 mostrou-se variável, com melhores resultados aos 30 anos (84%, IC95% 68-93)
 353 (Figura 2).

354

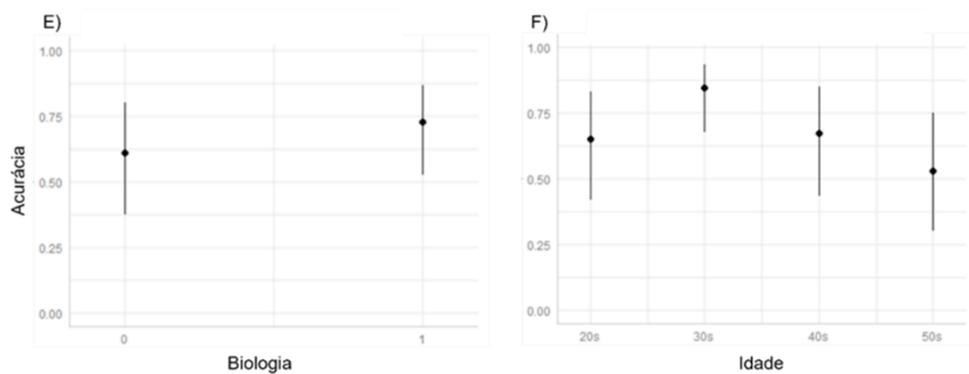
355



356



357



358

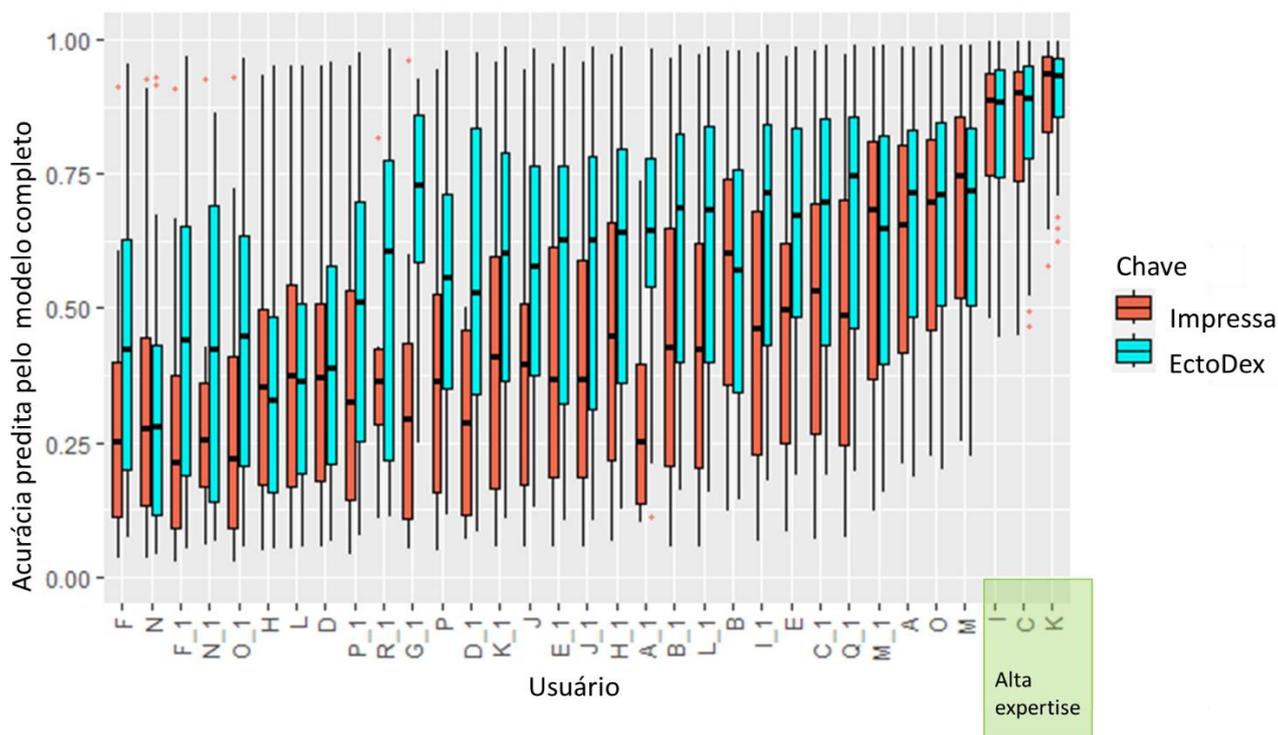
359 **Fig 2.** Resultados das análises exploratórias bivariadas. Acurácias do ECTODEX de
 360 acordo com as características dos usuários A) Gênero; B) Alta expertise; C)
 361 Treinamento especializado; D) Laboratório de referência; E) Biologia e F) Idade. Em
 362 B a E, 0 indica ausência da característica e 1 a presença. Em F as idades estão
 363 representadas em anos de vida (20 a 50 anos).

364 A diferença de desempenho entre as chaves (ECTODEx ou PKEY) foi
365 evidenciada pelo modelo linear generalizado misto (GLMMTMB, modelo aditivo
366 completo). A acurácia melhorou muito entre usuários sem treinamento especializado
367 em taxonomia de ectoparasitos, com valores previstos pelo GLMM subindo de
368 ~57,2% (PKEY; CI95% [40,8–72,2]) para ~77,1% (ECTODEx; [63,5–86,8]), do que
369 entre usuários com tal treinamento especializado – cuja acurácia aumentou apenas
370 ligeiramente, de ~73,1% (PKEY; [60,4–82,9]) para ~74,4% (ECTODEx; [62,0–83,9]).
371 As identificações de usuários com alta expertise foram, em geral, mais acuradas
372 (ECTODEx: ~87%; PKEY: ~81%) do que aquelas de usuários não especialistas
373 (~59% e ~47%, respectivamente) (Figura 3); no entanto, idade, gênero ou formação
374 acadêmica do usuário não afetaram significativamente a acurácia com nenhuma das
375 chaves. A acurácia variou amplamente entre as espécies de ectoparasitos, variando de
376 12 a 18% para o carrapato *Amblyomma parvum* a ~ 98 a 99% para o piolho
377 *Pediculus humanus* (Figuras 4 e 5).

378

379

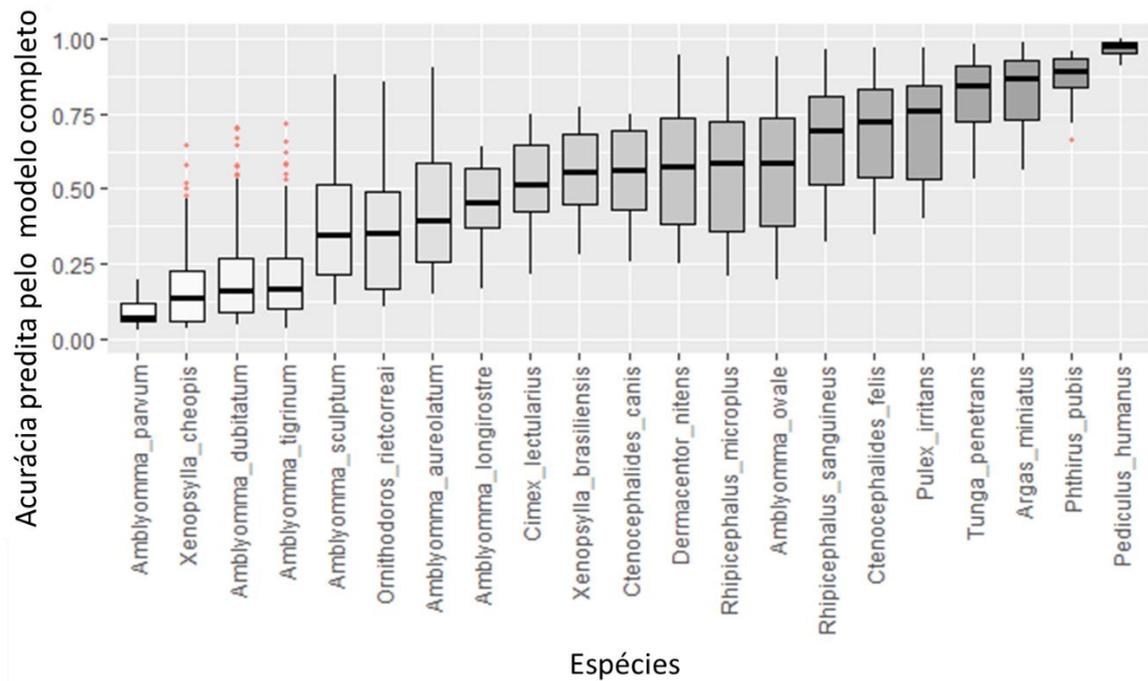
380



381

382 **Fig 3.** Porcentagem de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33
 383 voluntários usando ECTODEX (azul) e chaves dicotômicas impressas (salmão):
 384 variação entre usuários. As previsões são derivadas do modelo completo. O aumento
 385 das porcentagens de identificação correta associado com o uso do ECTODEX foi
 386 maior entre os usuários menos habituados ao uso de chaves dicotômicas Os três
 387 usuários com mais expertise em taxonomia de ectoparasitos estão destacados no eixo
 388 horizontal do painel da esquerda (caixa “Alta expertise”). Os boxplots mostram
 389 medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de
 390 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras verticais) das previsões do modelo; os
 391 valores das previsões individuais para cada espécime e usuário foram omitidos para
 392 melhorar a clareza da figura.

393



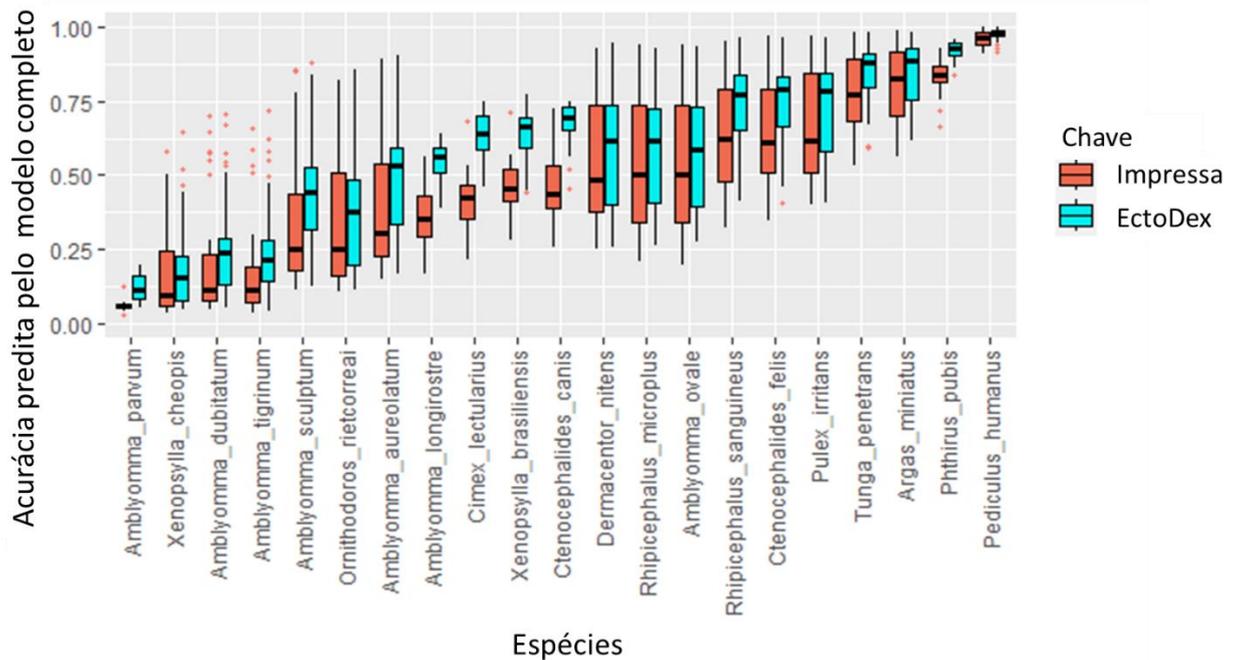
394

395 **Fig 4.** Porcentagem de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33
 396 usuários do ECTODEx e chaves dicotômicas: variação entre espécies. As predições
 397 são derivadas do modelo completo. Os boxplots mostram as medianas (linhas
 398 horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o
 399 intervalo interquartil (barras); os diamantes vermelhos são os outliers.

400

401

402



403

404 **Fig 5.** Probabilidade de identificação correta de 21 espécies de ectoparasitos por 33
 405 usuários do ECTODEX (azul) e chaves dicotômicas (salmão): variação entre espécies
 406 e o ‘efeito ECTODEX’. As predições são derivadas do modelo completo. Para cada
 407 espécie, a diferença entre os valores vermelhos (predições para as chaves
 408 dicotômicas impressas) e azuis (predições para ECTODEX) ilustra o aumento
 409 consistente das probabilidades de identificação correta associado com o uso do
 410 ECTODEX. Os boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis
 411 (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).

412

413

414

415

416

417

418

419 **Tempo de identificação**

420 Também indicamos que ECTODEX reduziu o tempo gasto em tarefas de
 421 identificação (3,4 min/tarefa) quando comparado ao tempo usando PKEY (4,5 min).
 422 Nossa análise exploratória mostrou ampla variação do tempo gasto em tarefas de
 423 identificação entre os usuários, sendo que aqueles com treinamento especializado
 424 apresentavam menores tempos de identificação quando comparado aos usuários sem
 425 treinamento especializado (Tabelas 9 e 10).

426 Tabela 9. Tempo utilizado (em minutos) para identificar os ectoparasitos segundo as
 427 características dos usuários com treinamento especializado usando EctoDex e chave
 428 dicotômica impressa (PKEY).

Grupo	Ectodex			PKEY		
	Média	Mediana	Desvio padrão	Média	Mediana	Desvio padrão
Gênero						
Feminino	2,90	2,00	2,93	3,73	3,00	3,34
Masculino	3,26	2,00	3,11	3,33	2,00	3,04
Idade						
20'	-*	-	-	-	-	-
30'	2,22	2,00	1,87	3,12	2,00	3,11
40'	6,38	4,17	5,01	6,40	6,62	3,91
50'	3,82	3,00	2,95	4,23	4,00	2,84
60'	0,68	0,55	0,37	0,56	0,50	0,37
Lab Referência						
Sim	3,05	2,00	3,08	3,53	2,73	3,30
Não	2,81	2,00	1,90	4,17	4,00	2,39
Formação						
Biologia	3,88	3,00	3,33	4,13	3,10	3,45
Outras	2,26	1,50	2,13	2,13	1,25	1,96
Expertise						
Alta	5,38	4,03	3,99	6,55	6,15	3,31
Média	2,46	2,00	1,96	2,76	2,00	2,13
Baixa	1,61	1,00	1,60	1,97	1,00	2,73

429 *sem dados para essa característica considerando o grupo de usuários com
 430 treinamento especializado

431 Nós observamos que o tempo gasto em tarefas de identificação foi menor
 432 usando ECTODEX, sendo que as diferenças de tempo entre ECTODEX e a PKEY
 433 foram maiores no grupo sem treinamento especializado (Tabela 10). O tempo
 434 também variou entre os grupos de ectoparasitos (Tabela 11), sendo maior para
 435 carrapatos e pulgas e menor para piolhos com ECTODEX e PKEY, entretanto os
 436 tempos gastos em tarefas foram menores com ECTODEX (Tabela 11). Outra
 437 observação foi que os tempos de identificação foram menores usando o ECTODEX,
 438 porém essa diferença foi mais perceptível no grupo sem treinamento especializado
 439 (Tabela 10).

440 Tabela 10. Tempo utilizado (em minutos) para identificar os ectoparasitos segundo
 441 as características dos usuários sem treinamento especializado usando EctoDex e

	Ectodex			PKEY		
	Média	Mediana	Desvio padrão	Média	Mediana	Desvio padrão
Gênero						
Feminino	2,78	3,00	3,00	5,73	4,00	5,58
Masculino	3,51	3,00	2,90	4,84	4,01	3,14
Idade						
20'	3,65	3,00	3,21	5,65	4,10	5,33
30'	4,17	4,00	2,61	6,39	5,49	4,61
40'	4,21	3,58	2,98	5,58	4,72	4,52
50'	2,25	2,00	1,77	3,39	3,00	2,20
60'	-*	-	-	-	-	-
Lab Referência						
Sim	4,19	3,15	2,90	5,94	5,00	5,19
Não	3,63	3,00	2,95	5,31	4,00	4,67
Formação						
Biologia	3,73	3,00	2,94	5,27	4,00	4,35
Outras	3,55	3,00	2,97	5,42	4,01	5,17
Expertise						
Alta	-*	-	-	-	-	-
Média	3,60	3,00	2,95	5,33	4,00	4,70
Baixa	3,81	3,00	2,94	5,81	4,10	5,10

442 chave dicotômica impressa (PKEY).

443 *sem dados para essa característica considerando o grupo de usuários sem treinamento especializado

444

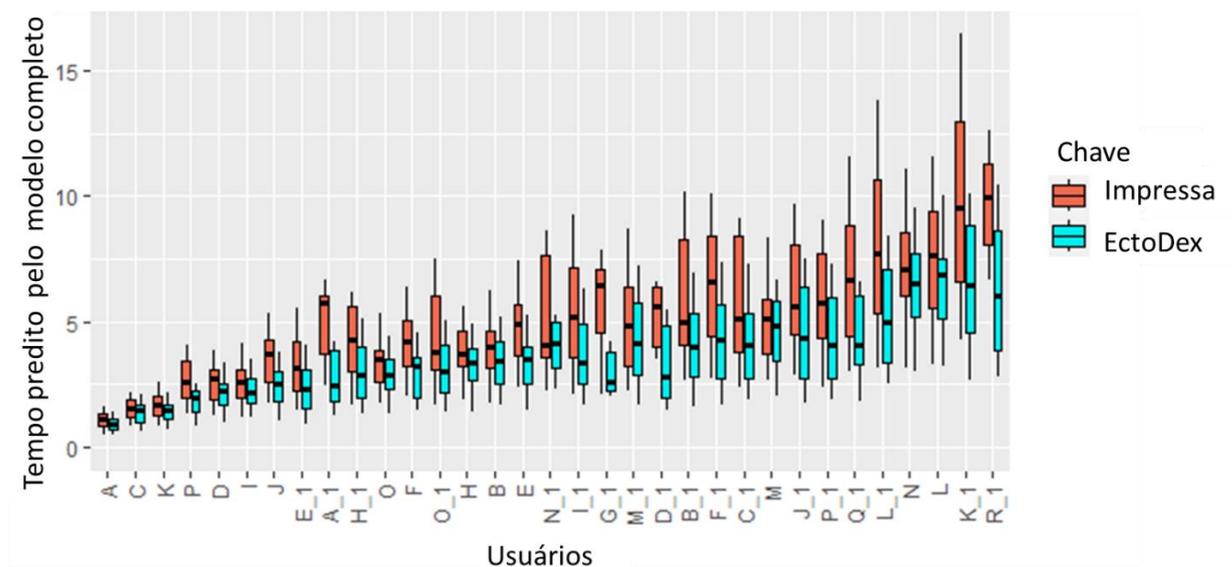
Grupo	Ectodex			PKEY		
	Média	Mediana	Desvio padrão	Média	Mediana	Desvio padrão
Carrapato	3,93	3,00	3,33	5,29	4,00	4,62
Percevejo	2,16	1,33	0,08	3,84	2,16	2,74
Piolho	1,53	1,00	1,28	2,80	2,00	3,49
Pulga	4,98	4,00	4,58	5,20	4,0	4,54

445 Tabela 11. Tempo utilizado (em minutos) para identificar as espécies de
446 ectoparasitos segundo os principais grupos (carrapatos, percevejos, piolhos e pulgas)
447 usando EctoDex e chave dicotômica impressa (PKEY).

448

449 Na análise exploratória do tempo de identificação o EctoDex teve um
450 percentual de economia de tempo de 22,43% quando comparada à PKEY. Os dados
451 das tabelas 10 e 11 sugerem que o tempo gasto para identificação com EctoDex foi
452 maior entre os usuários biólogos, do sexo masculino de 30 a 40 anos. Porém os
453 modelos exploratórios bivariados considerando as dependências da base de dados
454 não indicaram que essas características teriam um efeito significativo no tempo gasto
455 para identificação. Por outro lado, usuários com alta expertise gastaram menos tempo
456 para realização das tarefas (Kruskal-Wallis = 140,69, $p < 0,01$), assim como usuários
457 com treinamento especializado (Kruskal-Wallis = 47,92, $p < 0,01$) e de laboratório de
458 referência (Kruskal-Wallis = 56,10, $p < 0,01$).

459 Os GLMMs de tempo também mostraram que o ECTODEx acelerou as tarefas
 460 de identificação entre usuários (Figura 6) e espécies (Figura 7). A economia de
 461 tempo foi maior especialmente para usuários sem treinamento especializado em
 462 taxonomia de ectoparasitos (PKEY: ~2,8 min/tarefa, [2,3–4,0]; ECTODEx: ~2,0
 463 min/tarefa, [1,4–2,8]); a economia de tempo foi modesta para usuários com tal
 464 treinamento (PKEY: ~2,5 min/tarefa, [1,9–3,3]; ECTODEx: ~2,1 min/tarefa, [1,6–
 465 2,8]). Mais uma vez, a alta expertise também levou a uma grande economia de tempo
 466 (~1,5 min/tarefa, em média, vs. ~3,7 min/tarefa para não especialistas), e a idade,
 467 sexo ou formação acadêmica do usuário não afetaram significativamente o tempo
 468 para identificação. Também encontramos grande variação entre as espécies, com
 469 valores médios previstos variando de ~3–4 min/tarefa para *A. sculptum* a ~1
 470 min/tarefa para *P. humanus*.

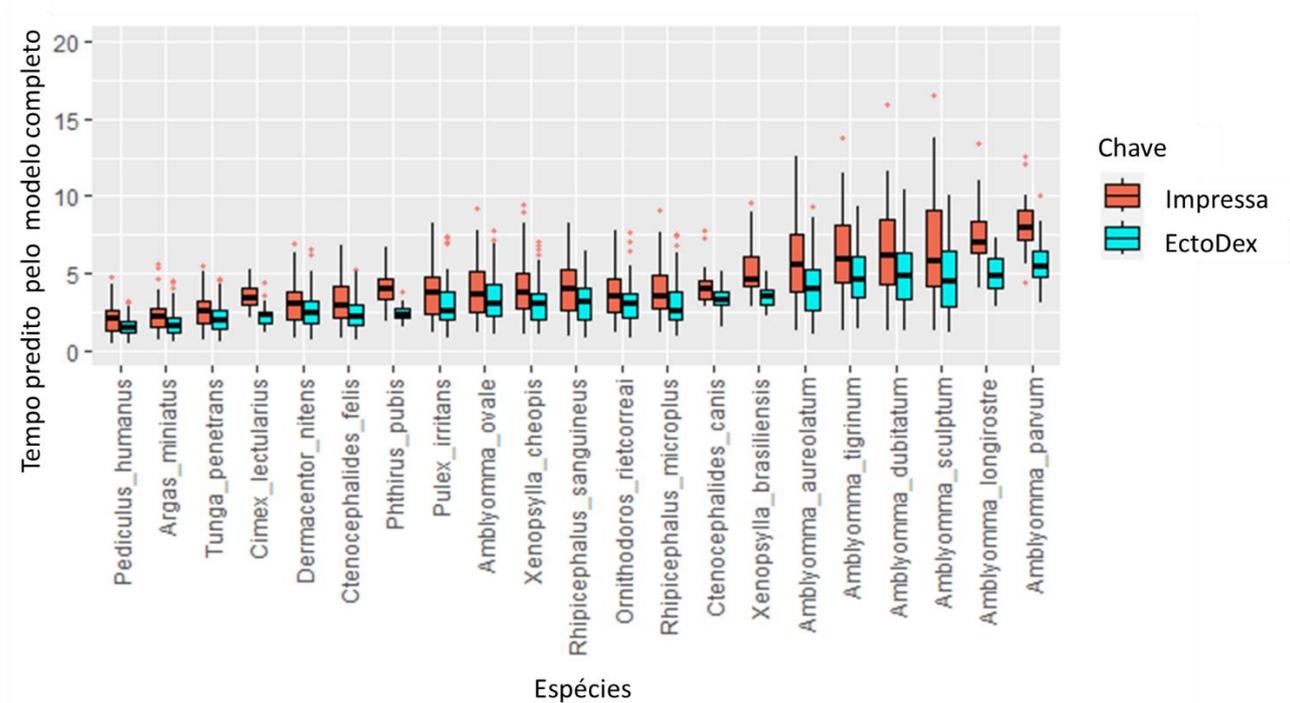


471
 472 **Fig 6.** Tempo utilizado (em minutos) para identificar 21 espécies de ectoparasitos
 473 usando EctoDex (azul) e chave dicotômica impressa (salmão): variação entre os
 474 usuários. Os valores são previsões do modelo completo. Para cada espécie, a

475 diferença entre os valores em salmão (predições para as chaves dicotômicas
476 impressas) e azul (predições para EctoDex) ilustra a diminuição consistente do tempo
477 de identificação associada com o uso do EctoDex. Os boxplots mostram as medianas
478 (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores que caem dentro de 1,5 vezes o
479 intervalo interquartil (barras).

480

481



482

483 **Fig 7.** Tempo utilizado (em minutos) para identificar 21 espécies de ectoparasitos por
484 33 usuários do ECTODEX (azul) e chaves dicotômicas (salmão): variação entre
485 espécies e o ‘efeito ECTODEX’. As predições são derivadas do modelo completo.
486 Para cada espécie, a diferença entre os valores vermelhos (predições para as chaves
487 dicotômicas impressas) e azuis (predições para ECTODEX) ilustra a diminuição
488 consistente do tempo de identificação associada com o uso do ECTODEX. Os
489 boxplots mostram as medianas (linhas horizontais grossas), quartis (caixas) e valores
490 que caem dentro de 1,5 vezes o intervalo interquartil (barras).

491

492 **Discussão**

493 Nós desenvolvemos e avaliamos o ECTODEX, uma chave de identificação
494 eletrônica, pictórica e politômica para carrapatos, piolhos, pulgas e percevejos de
495 cama de interesse para a saúde pública. O desempenho do ECTODEX foi melhor que o
496 da PKEY, em termos de acurácia e economia de tempo, principalmente entre os
497 usuários sem treinamento especializado; idade, gênero ou formação em biologia não
498 influenciaram significativamente o desempenho do ECTODEX. O desempenho foi
499 claramente melhor para espécies de piolhos, mas em comparação a PKEY, houve um
500 aumento consistente da acurácia das outras espécies de ectoparasitos. Mostramos
501 ainda que o ECTODEX permite uma identificação mais rápida de ectoparasitos do que
502 a PKEY.

503 Chaves eletrônicas oferecem algumas vantagens quando comparadas com as
504 chaves dicotômicas impressas. Os usuários do ECTODEX acertaram com mais
505 frequência as identificações de ectoparasitos em comparação com a PKEY. Nós
506 acreditamos que as chaves eletrônicas, pictóricas e politômicas simplificam a
507 identificação devido às ilustrações e mais opções para tomada de decisão. Os
508 aplicativos incluídos no VETORDEX (LutzoDEX, ECTODEX, TRIATODEX) não
509 utilizam dicotomias tradicionais, podendo haver passos com até sete opções de
510 respostas (14, 9). Por outro lado, as PKEYs têm apenas duas opções de resposta com
511 textos longos, o que pode confundir os usuários. Um resultado similar foi obtido ao
512 avaliar o desempenho do TRIATODEX; os usuários da PKEY demoraram mais para
513 identificar as espécies de triatomíneos (9). O ECTODEX facilita a identificação ao
514 utilizar imagens em todas as etapas, permitir o usuário corrigir erros no processo de

515 identificação, além de apresentar um número menor de etapas em comparação com a
516 PKEY. Chaves eletrônicas representam um avanço tecnológico para identificação de
517 espécies de forma mais rápida e fácil, resolvendo algumas críticas às chaves
518 dicotômicas apontadas por Walter (42). Uma chave bem desenvolvida, com imagens
519 e textos adequados, diminui os passos necessários para finalizar uma identificação e
520 aumenta a probabilidade de identificação por usuários experientes e não experientes
521 (42). Dalwitz (43) indicam outras vantagens de chave eletrônicas: 1) a recuperação
522 de informações é feita quando o usuário retoma à pesquisa para responder novamente
523 à uma questão que pode ter sido respondida de maneira errada e 2) presença de
524 ilustrações dos caracteres em todas as etapas do processo de identificação. Essas
525 características estão presentes no ECTODEX, assim como no LUTZODEX (14) e
526 TRIATODEX (9). Adicionalmente, as chaves eletrônicas são mais fáceis de atualizar.
527 Nas chaves tradicionais a adição de novos caracteres e táxons tem um grande efeito
528 na estrutura da chave (43). Nas chaves incluídas no VETORDEX, a atualização é
529 realizada com modificações na planilha original e uma nova versão da planilha é
530 incluída no aplicativo que está disponibilizado para qualquer pessoa com *smartphone*
531 Android ou iOS. A atualização mais rápida e o acesso universal e gratuito são
532 importantes vantagens das chaves eletrônicas.

533 Outras ferramentas foram desenvolvidas para auxiliar a identificação de
534 ectoparasitos, principalmente carrapatos. A vigilância de carrapatos baseada em
535 fotografias do aplicativo *TickSpotters* foi eficaz para monitorar a distribuição de
536 carrapatos na América do Norte. Kopsco et al. (44) demonstram que o *TickSpotters*
537 complementa outras estratégias de vigilância de carrapatos em escala nacional com
538 potencial para identificar novos focos e áreas de risco, permitindo ações de

539 prevenção contra carrapatos. Entretanto, Kopsco et al. (45) mostraram que a maioria
540 dos carrapatos enviados pelo aplicativo tinham erros de identificação. Por exemplo,
541 86,8% dos carrapatos *Amblyomma americanum* e 80,7% dos carrapatos de cães
542 (*Dermacentor variabilis*) estavam identificados incorretamente, mostrando a
543 importância de existirem outros aplicativos de identificação disponíveis para
544 carrapatos, como o ECTODEX. O aplicativo *Tekenscanner* foi desenvolvido para
545 facilitar o envio de carrapatos detectados pela população, os quais são identificados e
546 examinados em laboratório. Usando esse aplicativo, Jongejan et al. (23) coletaram
547 ~1300 carrapatos de cães e gatos, entre eles *Ixodes ricinus*, a espécie predominante
548 na Holanda. Apesar desses aplicativos permitirem conhecer melhor a distribuição
549 geográfica dos carrapatos e ainda facilitar o envio de amostras para identificação de
550 patógenos nesses artrópodes nenhum deles permite a identificação pelo próprio
551 usuário, como é proposto pelo ECTODEX.

552 As probabilidades de identificação correta usando ECTODEX foram menores para
553 usuários sem treinamento especializado e para algumas espécies de carrapatos e
554 pulgas. Nossa hipótese era que os usuários com expertise alta, por conhecerem
555 melhor as características das espécies, acertariam mais as identificações. Da mesma
556 forma, esperávamos uma maior probabilidade de identificação correta entre os
557 usuários que trabalham em laboratório de referência por serem mais capacitados e
558 identificarem com maior frequência as espécies de ectoparasitos. Nossos dados
559 confirmaram a influência positiva do treinamento especializado para identificação
560 dos ectoparasitos, assim como observado para identificação de insetos vetores (9) e
561 parasitos intestinais (46). Outra hipótese foi que a probabilidade de identificação
562 correta de espécies de carrapatos seria menor do que a de outros ectoparasitos por

563 serem mais difíceis de serem identificados considerando o marcante dimorfismo
564 sexual e dificuldade de visualização de estruturas. Nossos dados suportaram essa
565 hipótese. Segundo Dantas-Torres et al. (25) a identificação morfológica de carrapatos
566 é dificultada porque a diagnose de algumas espécies depende da observação de
567 estruturas de difícil visualização e contagem, como os dentes do hipostômio. O
568 dimorfismo sexual dos carrapatos também é uma característica que dificulta a
569 identificação das espécies porque as chaves devem incluir passos específicos de
570 acordo com o sexo do indivíduo. Em alguns casos não é possível identificar as
571 espécies quando somente o macho está disponível, como no caso da diferenciação de
572 *Amblyomma cajennense* e *A. sculptum* (47, 34, 25). Nossos resultados também
573 mostraram que espécies de outros grupos de ectoparasitos (e.g. a pulga *Xenopsylla*
574 *cheopis*) também foram mais difíceis de identificar pelos usuários. As nossas chaves
575 incluíram duas espécies similares de *Xenopsylla* cuja diferença nos machos está
576 relacionada a presença de cerdas antipigidiais em nítido tubérculo e nas fêmeas ao
577 formato da espermateca, características que são difíceis de visualizar para usuários
578 inexperientes. Porém, nossos resultados mostraram que o desempenho do ECTODEX
579 foi melhor que o da PKEY mesmo para essas espécies de difícil identificação. Esses
580 resultados ilustram as dificuldades na identificação correta de algumas espécies de
581 carrapatos e pulgas, sugerindo que a pesquisa taxonômica deve se concentrar na
582 definição de caracteres mais evidentes e úteis para a identificação desses
583 ectoparasitos.

584 Os resultados revelaram uma significativa economia de tempo para completar a
585 identificação dos espécimes usando o ECTODEX. Isso deve ter acontecido pelo
586 reconhecimento mais rápido das características morfológicas das espécies durante o

587 processo de identificação. Na chave impressa os textos são mais longos e o usuário
588 necessita imaginar a característica morfológica até a tomada de decisão. No
589 ECTODEX OS textos são mais curtos e logo ao lado existe uma imagem o que facilita
590 a tomada de decisão dos usuários e conseqüentemente diminui o tempo de
591 identificação. Como esperado os usuários com treinamento especializado e alta
592 expertise apresentaram tempos mais curtos de identificação pelo fato de já
593 conhecerem as características das espécies e tomarem as decisões de forma mais
594 rápida. Os resultados de economia de tempo apresentados aqui são relevantes em um
595 cenário do serviço de saúde em que várias espécies são enviadas ao mesmo tempo
596 para o laboratório e dessa forma mais identificações são realizadas.

597 ECTODEX também apresenta limitações, como todo método de identificação.
598 Primeiro, nós esclarecemos que o desempenho do aplicativo observado aqui se aplica
599 ao conjunto de 33 usuários brasileiros e das 34 espécies de ectoparasitos analisados.
600 Segundo o ECTODEX tem um número de espécies limitado e não incluiu algumas
601 espécies de ectoparasitos de interesse veterinário que também são relevantes
602 considerando a abordagem One Health (48). Terceiro, a versão atual do aplicativo
603 funciona apenas em português e os mapas de distribuição estão limitados ao Brasil.
604 A nossa perspectiva é atualizar a lista de espécies do ECTODEX para incluir outras
605 espécies de ectoparasitos de interesse para a saúde pública na América do Sul, lançar
606 uma nova versão em espanhol e inglês e revisar a distribuição geográfica das
607 espécies. A nova versão deverá ser testada por profissionais da vigilância de
608 ectoparasitos para verificar se o ECTODEX é útil na rotina do serviço de saúde em
609 países da América do Sul.

610

611 **Conclusões**

612 Finalmente, concluímos que o novo aplicativo desenvolvido é útil para
613 identificação de algumas espécies de ectoparasitos de interesse para saúde pública
614 considerando que: 1) a porcentagem de identificações corretas foi maior com
615 ECTODEX do que usando a chave impressa, 2) os usuários sem treinamento
616 especializado tiveram melhor desempenho usando o ECTODEX do que a chave
617 impressa, 3) o ECTODEX permitiu a identificação de piolhos, percevejos de cama,
618 pulgas e carrapatos de forma mais rápida do que usando a chave impressa. Esses
619 resultados mostraram que o ECTODEX é um aplicativo que facilita uma identificação
620 correta e rápida de ectoparasitos, principalmente para usuários não experientes, o que
621 amplia o seu uso por agentes de saúde e cidadãos não habituados ao uso de chaves
622 impressas. Acreditamos que ECTODEX poderá ser amplamente usado por
623 profissionais da área de vigilância e controle de vetores ápteros e permitirá resposta
624 rápida às ações em saúde, além de ampliar e facilitar o acesso ao conhecimento sobre
625 ectoparasitos para sociedade.

626

627

628

629

630

631

632

633

634 **Referências**

635 1- Dantas-Torres F, Chomel BB, Otranto D. Ticks and tick-borne diseases: a One
636 Health perspective. Trends Parasitol. 2012; Oct;28(10):437-46.

637 2- Boulanger, N., Boyer, P., Talagrand-Reboul, E., & Hansmann, Y. Ticks and tick-
638 borne diseases. Med Mal Infect; 2019.

639 3- Coates SJ, Thomas C, Chosidow O, Engelman D, Chang AY. Ectoparasites:
640 Pediculosis and tungiasis. J. Am. Acad. Dermatol. 2020; 551-569.

641 4- Hamer SA, Tsao JI, Walker ED, Hickling GJ. Invasion of the Lyme disease vector
642 *Ixodes scapularis*: implications for *Borrelia burgdorferi* endemicity. EcoHealth.
643 2010; 7:47–63.

644 5- Gardner AM, Pawlikowski NC, Hamer SA, Hickling GJ, Miller JR, Schotthoefer
645 AM, Tsao JI, Allan BF. Landscape features predict the current and forecast the future
646 geographic spread of Lyme disease. Proc. R. Soc. B. 2020; 287: 20202278

647 6- Ortiz DI, Piche-Ovares M, Romero-Vega LM, Wagman J, Troyo A. The Impact of
648 Deforestation, Urbanization, and Changing Land Use Patterns on the Ecology of
649 Mosquito and Tick-Borne Diseases in Central America. Insects. 2021; Dec
650 23;13(1):20.

651 7- Mathison BA, Pritt BS. Laboratory identification of arthropod ectoparasites. Clin
652 Microbiol Rev. 2014; Jan;27(1):48-67.

653 8- Poh KC, Evans JR, Skvarla MJ, Machtinger ET. All for One Health and One
654 Health for All: Considerations for Successful Citizen Science Projects Conducting
655 Vector Surveillance from Animal Hosts. Insects. 2022; May 24;13(6):492.

656 9- Gurgel-Gonçalves R, Abad-Franch F, de Almeida MR, Obara MT, de Souza

657 RCM, Batista JAS, Rocha DA. TriatoDex, an electronic identification key to the
658 Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas disease: Development,
659 description, and performance. *PloS one*. 2021; 16.4; e0248628.

660

661 10- Lefebvre Craig Integrating Cell Phones and Mobile Technologies Into Public
662 Health Practice: A Social Marketing Perspective *Health Promot Pract* 2009 10: 490

663 11- Salathé M, Bengtsson L, Bodnar TJ, Brewer DD, Brownstein JS, Buckee C,
664 Campbell EM, Cattuto C, Khandelwal S, Mabry PL, et al.: Digital epidemiology.
665 *PLoS Comput Biol*. 2012; 8: e1002616.

666 12- Antonise-Kamp L, Beaujean DJMA, Crutzen R, Van Steenberghe JE, Ruwaard
667 D. Prevention of tick bites: an evaluation of a smartphone app. *BMC infectious*
668 *diseases*. 2017; 17(1), 744.

669 13- Hamer SA, Curtis-Robles R, Hamer GL. Contributions of citizen scientists to
670 arthropod vector data in the age of digital epidemiology. *Curr. Opin. Insect. Sci*.
671 .2018; 28, 98-104.

672 14- Rocha DDA, De Almeida MR, BATISTA JADS, De Andrade AJ.
673 LutzDex™—A digital key for Brazilian sand flies (Diptera, Phlebotominae) within
674 an Android App. *Zootaxa*, 2019; 4688(3), 382-388.

675 15- Gurgel-Gonçalves R, Komp E, Campbell LP, Khalighifar A, Mellenbruch J,
676 Mendonça VJ, Owens HL, de la Cruz Felix K, Peterson AT, Ramsey JM. Automated
677 identification of insect vectors of Chagas disease in Brazil and Mexico: The Virtual
678 Vector Lab. *PeerJ*. 2017; Apr 18;5: e3040.

679 16- Khalighifar A, Komp E, Ramsey JM, Gurgel-Gonçalves R, Peterson AT. Deep
680 Learning Algorithms Improve Automated Identification of Chagas Disease Vectors.
681 *J. Med. Entomol*. 2019; 56:5, p. 1404–1410

- 682 17- Justen L, Carlsmith D, Paskewitz SM, Bartholomay LC, Bron GM. Identification
683 of public submitted tick images: A neural network approach. PLoS One. 2021; Dec
684 2;16(12): e0260622.
- 685 18 - Cheong YL, Rosilawati R, Mohd-Khairuddin C I, Siti-Futri F, Nur-Ayuni N,
686 Lim K H, Khairul-Asuad M, et al. PesTrapp mobile app: A trap setting application
687 for real-time entomological field and laboratory study Trop Biomed . 2021; Jun
688 1;38(2):171-179.
- 689 19- Pataki BA, Garriga J, Eritja R, Palmer JRB, Bartumeus F, Csabai. [Deep learning](#)
690 [identification for citizen science surveillance of tiger mosquitoes.](#) I.Sci Rep. 2021;
691 Feb 25;11(1):4718.
- 692 20- Luo CY, Pearson P, Xu G, Rich SM. A Computer Vision-Based Approach for
693 Tick Identification Using Deep Learning Models. Insects. 2022; Jan 22;13(2):116.
- 694 21- Kopsco, H. L., G. Xu, C.-Y. Luo, S. M. Rich, and T. N. Mather. 2020.
695 Crowdsourced photographs as an effective method for large-scale passive tick
696 surveillance. J. Med. Entomol. 2020; 57: 1955–1963.
- 697 22- Kopsco HL, Mather TN. Tick-Borne Disease Prevention Behaviors Among
698 Participants in a Tick Surveillance System Compared with a Sample of Master
699 Gardeners. J Community Health. 2022; Apr;47(2):246-256.
- 700 23- Jongejan F, de Jong S, Voskuilen T, Van Den Heuvel L, Bouman R, Heesen H,
701 Berger L. Tekenscanner: a novel smartphone application for companion animal
702 owners and veterinarians to engage in tick and tick-borne pathogen surveillance in
703 the Netherlands. Parasites & vectors. 2019; 12(1), 116.
- 704 24- OMS. Global vector control response 2017–2030. Geneva: World Health
705 Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO; 2017.

- 706 25- Dantas-Torres F, Martins TF, Muñoz-Leal S, Onofrio VC, Barros-Battesti DM.
707 Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: updated species checklist and
708 taxonomic keys. *Ticks Tick-borne Dis.* 2019; 10(6), 101252.
- 709 26- Stojanovich CJ, Pratt, HD. *Key to Anoplura of North America*, 1965.
- 710 27- Bicho CL; Ribeiro PB. Chave pictórica para as principais espécies de
711 Siphonaptera de importância médica e veterinária, no Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.*
712 1998; v. 7, n. 1, p. 47-51
- 713 28- Zhou J, R PL, Salvendy G. Age-related difference in the use of mobile phones.
714 *Universal Access in the Information Society.* 2014; 13:401–413.
- 715
- 716 29- Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de importância médico-
717 veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies.
718 São Paulo, *Vox/ICTTD-3/Butantan.* 2006; p. 223.
- 719 30- Aragão HB. Notas sobre os *Ornithodoros rostratus*, *brasiliensis* e *turicata*.
720 *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1937; v.25, n.3, 227-236.
- 721 31- Aragão HB, Fonseca F. Notas de ixodologia: VIII. Lista e chave para os
722 representantes da fauna ixodológica brasileira: notas de ixodologia." *Memórias do*
723 *Instituto Oswaldo Cruz.* 1961; 59; 115-129.
- 724 32- Durden L.A. The sucking lice (Insecta, Anoplura) of the world: a taxonomic
725 checklist with records of mammalian hosts and geographical distributions. *Bulletin*
726 *of the AMNH.* 1994, 218, 90.
- 727 33- Usinger RL. *Monograph of Cimicidae.* The Thomas Say Foundation, 1966.
- 728 34- Martins TF. Estudo do complexo *Amblyomma cajennense* no Brasil. Faculdade de
729 Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

- 730 35- Estrada-Peña, A. Garrapatas. Morfología, fisiología y ecología. Edición América
731 Latina. São Paulo: Editora MedVet, 2015.
- 732 36- Harrell FE. Hmisc: a package of miscellaneous R functions. 2014. Available
733 from: <http://biostat.mc.vanderbilt.edu/Hmisc>.
- 734 37- RDevelopment Core Team. R: a language and environment for statistical
735 computing. Version 3.6.3. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. 2020.
736 Available from: <https://www.R-project.org>
- 737 38- Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, Geange SW, Poulsen JR, Stevens MHH,
738 White JSS. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and
739 evolution. Trends in ecology & Evolution. 2009. p. 127-135.
- 740 39- Fox J, Weisberg S. An R companion to applied regression. 2nd ed. Thousand
741 Oaks: Sage; 2018.
- 742 40- Wei T, Simko V. R package “corrplot”: Visualization of a correlation matrix
743 (Version 0.84); 2017. Available from: <https://github.com/taiyun/corrplot>.
- 744 41- Brooks ME, Kristensen K, Van Benthem KJ, Magnusson A, Berg CW, Nielsen
745 A et al. glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated
746 generalized linear mixed modeling. The R Journal. 2017; 9: 378–400.
- 747 42- Walter DE, Winterton S. Keys and the crisis in taxonomy: extinction or
748 reinvention? Annu. Rev. Entomol. 2007; 52: 193-208.
- 749 43- Dallwitz MJ, Paine TA, Zurcher EJ. Principles of interactive keys. 2000.
750 <https://www.delta-intkey.com/www/interactivekeys.pdf>. Accessed 26 set 2018.
- 751 44- Kopsco HL, Duhaime RJ, Mather TN. Crowdsourced Tick Image-Informed
752 Updates to U.S. County Records of Three Medically Important Tick Species. J Med
753 Entomol. 2021a; Nov 9;58(6):2412-2424.

- 754 45- Kopsco HL, Duhaime RJ, Mather TN. Assessing Public Tick Identification
755 Ability and Tick Bite Riskiness Using Passive Photograph-Based Crowdsourced
756 Tick Surveillance. *J Med Entomol.* 2021b; Mar 12;58(2):837-846.
- 757 46- Garcia LS, Arrowood M, Kokoskin E, Paltridge, G. P.; Pillai, D. R.; Procop, G.
758 W.; Ryan, N.; Shimizu, R. Y.; Visvesvara, G. Practical guidance for clinical
759 microbiology laboratories: laboratory diagnosis of parasites from the gastrointestinal
760 tract. *Clin. Microbiol. Rev.* 2017; v. 31, n., e00025.
- 761 47- Nava S, Beati L, Labruna MB, Cáceres AG, Mangold AJ, Guglielmono AA.
762 Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* () with the
763 description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma*
764 *interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma*
765 *mixtum*, and *Amblyomma sculptum* (Ixodida: Ixodidae). *Ticks Tick Borne Dis.* 2014;
766 Apr;5(3):252-76.
- 767 48- Johnson N, Phipps LP, Hansford KM, Folly AJ, Fooks AR, Medlock JM,
768 Mansfield KL. One Health Approach to Tick and Tick-Borne Disease Surveillance in
769 the United Kingdom. *Int J Environ Res Public Health.* 2022; May 11;19(10):5833.