



**Estudo filogenético do ácaro *Allopsoroptoides galli* Mironov (2013) e avaliação do processo de transmissão horizontal em galinhas engaioladas**

**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE SÃO  
PAULO**

**AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS  
AGRONEGÓCIOS**

**INSTITUTO BIOLÓGICO**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE, SEGURANÇA  
ALIMENTARE AMBIENTAL NO AGRONEGÓCIO**

**ESTUDO FILOGENÉTICO DO ÁCARO *Allopsoroptoides galli* MIRONOV (2013) E  
AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE TRANSMISSÃO HORIZONTAL EM GALINHAS  
ENGAIOLADAS**

**FERNANDA CALVO DUARTE**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de  
Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e  
Ambiental no Agronegócio. Área de concentração:  
Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

SÃO PAULO  
2022

**FERNANDA CALVO DUARTE**

**ESTUDO FILOGENÉTICO DO ÁCARO *Allopsoroptoides galli* MIRONOV (2013) E  
AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE TRANSMISSÃO HORIZONTAL EM GALINHAS ENGAIOLADAS**

Dissertação apresentada para a obtenção do  
título de Mestre em Sanidade, Segurança  
Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar  
e Sanidade no Agroecossistema.

Orientador:  
Dra. Márcia Cristina Mendes

Coorientador:  
Doutor Marcos Roberto Buim

SÃO PAULO  
2022

Eu, **Fernanda Calvo Duarte** autorizo o Instituto Biológico (IB-APTA), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente, e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico, de minha autoria, no portal, na biblioteca digital, no catálogo eletrônico, no repositório institucional ou em qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela internet desde que citada a fonte. Declaro também que os dados contidos nesta dissertação/tese são inéditos e autênticos, portanto, sem fraudes nem derivações de plágio, e que tenho pleno conhecimento do Código de Ética e dos procedimentos referentes à proteção da integridade científica do Instituto Biológico.

Assinatura: \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Fernanda Calvo Duarte

Título: Estudo filogenético do ácaro *Allopsoroptoides galli* Mironov (2013) e avaliação do processo de transmissão horizontal em galinhas engaioladas. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovado em: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_

Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ Instituição: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico este trabalho à minha mãe, Edna Calvo Leite, à minha filha, Mel Duarte Munhoz, ao meu marido, Felipe Martins Munhoz, e, especialmente, a meus falecidos avós, Julieta Leite Calvo Escobar e Lelio Calvo Escobar, por quem eu sempre terei amor eterno e gratidão imensurável. Obrigada a todos por todo o apoio e pelo amor dedicado.**

## AGRADECIMENTOS

Nestes dois anos cursando a pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio, eu pude contar com o auxílio de profissionais competentes que disponibilizaram seu tempo e conhecimento, primordiais para que eu pudesse concluir os trabalhos aqui apresentados, portanto, meus sinceros agradecimentos:

À minha orientadora, Doutora Márcia Cristina Mendes, pesquisadora científica do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico de São Paulo, por me orientar de forma primorosa, sempre preocupada com o resultado apresentado, para que ele atendesse aos padrões de excelência. Meu reconhecimento, contudo, vai além, e posso dizer com convicção que é um privilégio poder trabalhar ao lado desta pesquisadora que tanto contribuiu para meu crescimento profissional. Sei que seus ensinamentos serão de suma relevância para toda a minha vida e farão parte de todas as minhas conquistas na carreira de pesquisadora científica. Qualquer que seja meu local de trabalho e minha função, tê-la-ei como exemplo de conduta ética, competência, obstinação e fé.

Ao meu co-orientador, Doutor Marcos Roberto Buim, pesquisador científico do Laboratório Especializado em Sanidade Avícola do Instituto Biológico de Bastos, por ter me ajudado a elaborar e executar a metodologia de avaliação da transmissão horizontal, no município de Bastos.

Ao Doutor Ricardo Harakava, pesquisador científico da Unidade Laboratorial de Referência em Biologia Molecular Aplicada do Instituto Biológico de São Paulo, por ter me ajudado com as técnicas utilizadas para obtenção das sequências gênicas.

Ao Doutor Leonardo Costa Fiorini, pesquisador científico do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico de São Paulo por ter me auxiliado na construção e análises das árvores filogenéticas.

Ao Doutor Fabio Akashi Hernandez, membro da banca de qualificação, professor do Departamento de Ecologia e Zoologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, por apontar as correções e sugestões que vieram a aprimorar o trabalho apresentado.

À Doutora Daniela Pontes Chiebao, membra da banca de qualificação, pesquisadora científica do Laboratório de Doenças de Suínos "Washington Sugay" do Instituto Biológico de São Paulo, pela ótima avaliação do texto, com críticas necessárias e relevantes.

A Rogéria Ferraz Torres Vilela, funcionária de apoio à pesquisa do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico, por ter se empenhado tanto para atender às demandas do laboratório e pela dedicação e carinho a mim dirigidos.

À equipe de doutorandos, mestrandos e alunos de iniciação científica do Laboratório de Parasitologia Animal do Instituto Biológico de São Paulo – Ana Júlia de Lima Barbosa, Elianai Ribeiro de Souza, Deborah Mirela de Melo Romano, Isabella Barboza de Almeida, Karina Araújo dos Anjos, Lucas Mello Morán, Nathalia Maria Barbosa da Silva, Rachel Bernardes Rothbarth, Samir Padua, Thais Araujo Moura, Vinícius Acca Leme da Silva e Yandra Corrêa Peres Antonucci –, pela enorme colaboração, por vezes em atividades diretamente relacionadas

ao projeto e por vezes atendendo às demandas do laboratório, todos sempre prestativos e dedicados. Só posso, assim, desejar, de todo coração, que todos conquistem suas realizações, e me pôr à disposição para ajudá-los sempre que precisarem.

Ao Instituto Biológico, onde, com orgulho, exerço a função de pesquisadora científica, por me proporcionar essa oportunidade ímpar de me tornar Mestre, um título de grande valor e que denota uma responsabilidade à qual pretendo fazer jus.

O seguinte trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.



## EPÍGRAFE

*"sonho que se sonha só é só um sonho que se sonha só, mas sonho que se sonha junto é realidade..."*

*(Raul Seixas)*

DUARTE, Fernanda Calvo. **Estudo filogenético do ácaro *Allopsoroptoides galli* Mironov (2013) e avaliação do processo de transmissão horizontal em galinhas engaioladas.** 2022. 66 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2022.

## RESUMO

O ácaro plumícola *Allopsoroptoides galli* Mironov (2013) é o primeiro psoroptídeo observado nas penas de aves da ordem *Galliformes* durante um surto ocorrido em 2010 (quando ainda este ácaro era uma espécie desconhecida) em galinhas poedeiras de uma instalação comercial no Estado de São Paulo. Os danos causados pelo parasitismo desse ácaro estão relacionados à piora da conversão alimentar e à redução na produção de ovos. Com o objetivo de aprimorar os conhecimentos básicos do ácaro *A. galli*, neste trabalho foi realizado um estudo analítico da transmissão horizontal do ácaro *A. galli* através de um experimento de intervenção entre uma população exposta e outra não exposta ao ácaro *A. galli*, além de análises filogenéticas com sequências dos genes 18S e 28S rRNA do ácaro *A. galli* obtidas neste trabalho, e depositadas no GenBank com os seguintes códigos de acesso: OK533677 e OK533676. O experimento para a avaliação da transmissão foi realizado nos meses de fevereiro e março de 2021 no Instituto Biológico de Bastos. Foi utilizado um total de 30 aves alojadas em 6 gaiolas. Em cada gaiola foram colocadas 4 aves não parasitadas pertencentes ao grupo N (negativo) e uma infestada com o ácaro *A. galli* pertencente ao grupo P (positivo). As aves permaneceram nas gaiolas por um período de 35 dias. As aves, antes de ser colocadas nas gaiolas, foram previamente analisadas no que foi considerado o dia 0 do experimento. Outras 6 análises foram realizadas nos dias 4, 7, 14, 21, 28 e 35. Todas as aves, exceto as utilizadas como controle positivo, tiveram contagem nula para ácaros na avaliação prévia. A partir da contagem do dia 4, as quantidades de ácaros em todos os raspados das aves do grupo N se apresentaram sempre crescentes: 11, 24, 72, 70, 106 e 148. Praticamente o inverso foi verificado em relação à contagem realizada com todas as aves do grupo P, com as seguintes contagens a partir do dia 7: 100, 99, 104, 91, 86 e 74. Ao final do experimento, a infestação apresentou crescimento, pois o aumento gradual do parasitismo nas aves do grupo N ao longo das 5 semanas foi maior do que a queda do número desses parasitos nas aves do grupo P. O tempo médio da infestação da primeira galinha pelo ácaro *A. galli* foi de 4,5 dias. Já o tempo médio da infestação foi de 13,7 dias. Os produtos das ampliações das sequências dos alelos 18S e do 28S rRNA do ácaro *A. galli* apresentaram

respectivamente 589 e 642 pares de bases. As árvores filogenéticas foram construídas pelos métodos de Neighbor-Joining (NJ), Máxima Parcimônia (MP) e Máxima Verossimilhança (MV) com ambas as sequências de rRNA. Nessas montagens foram utilizadas sequências depositadas no GenBank de ácaros da família Psoroptoididae e de ácaros da família e da ordem parafiléticas Pyroglyphidae e Ixodida. Embora todas as árvores filogenéticas obtidas tanto para as sequências de 18S rRNA quanto para a sequência de 28S rRNA tenham apresentado algum grau de discordância com a classificação morfológica atual, nota-se que, em todas as árvores obtidas para a sequência 18S rRNA, o alinhamento do ácaro *A. galli* ficou próximo às sequências do gênero *Pandalura*. Com relação à sequência 28s rRNA, quando utilizados os métodos de máxima parcimônia e de Neighbor-Joining, houve maior proximidade de alinhamento com *Hyomesalges* e *Dermatophagoides farine*, resultado completamente discordante da classificação morfológica atual, visto que se trata de membros da espécie da família Psoroptoididae, subfamília Psoroptoidinae, e da família Piroglyphidae, respectivamente. Com o método de máxima verossimilhança o ácaro *A. galli* se agrupou com os seguintes gêneros da família Pandalurinae: Temnalges, Picalgoides e Mesalgoides.

**Palavras-chave: ácaros de penas, Psoroptoididae, produção de ovos.**

## ABSTRACT

The plumicolous mite *Allopsoroptoides galli* Mironov (2013) was the first psoroptid to be observed on the feathers of birds of the order Galliformes during an outbreak that occurred in 2010 (when this mite was still an unknown species), among laying hens in a commercial installation in the state of São Paulo. The damage caused by parasitism due to this mite relates to worsening of feeding conversion and reduction of egg production. The present study was conducted with the aim of improving basic knowledge about the mite *A. galli* and consisted of an analysis on horizontal transmission of *A. galli* through an interventional experiment in which exposed and non-exposed populations were assessed, along with phylogenetic analyses of the sequences of the 18S and 28S rRNA genes of *A. galli* that were obtained in this study, which were deposited in GenBank with the accession numbers OK533677 and OK533676, respectively. The experiment to evaluate transmission was conducted at the Biological Institute, in Bastos SP, between the months of February and March 2021. A total of 30 birds were used, housed in six cages. Four non-parasitized birds belonging to group N (negative) and one bird infested with *A. galli* which belonged to group P (positive) were placed in each cage. The birds were kept in these cages for a 35-day period. Skin scrapings were taken from the flanks of all the birds on days 0, 4, 7, 14, 21, 28 and 35, in order to count mites. Starting from the count on day 4, the amounts of mites in all the skin scrapings from the birds in group N increased continuously: 11, 24, 72, 70, 106 and 148. A similarly reversed trend was seen regarding the counts on scrapings from the birds in group P, after day 7: 100, 99, 104, 91, 86 and 74. At the end of the experiment, the overall infestation was seen to have grown because the the gradual increase in parasitism in the birds in group N over these five weeks was greater than the decline in the number of these parasites among the birds in group P. The mean time taken for the first hen to become infested by *A. galli* was 4.5 days, while the overall mean time taken for the birds to become infested was 13.7 days. The amplification products from the sequences of the 18S and 28S rRNA alleles of *A. galli* presented 589 and 642 base pairs, respectively. Phylogenetic trees were constructed using the Neighbor-Joining (NJ), maximum parsimony (MP) and maximum likelihood (ML) methods from both rRNA sequences. Sequences from mites of the Psoroptoididae family, the paraphyletic family Pyroglyphidae and the order Ixodida previously deposited in GenBank were used as markers for relatively close, medium and far phylogenetic relationship across the Acari subclass, respectively. Although all of the phylogenetic trees obtained for both 18S and 28S rRNA showed some discrepancies with the canonical phylogenetic classification, it was noted that all of the trees obtained for the sequences of 18S

rRNA showed alignment of *A. galli* close to the sequences of the genus *Pandalura*. The 28S rRNA, when the MP and NJ methods were used, grouped *A. galli* with *Hyomesalges* and *Dermatophagoides farinae*. This result was in complete disagreement with the canonical phylogenetic classification because these species are members of the Psoroptoidinae subfamily of the Psoroptoididae family, and of the Pyroglyphidae family, respectively. On the other hand, the ML method grouped *A. galli* with three genera of the family Pandalurinae: *Temnalges*, *Picalgoides* and *Mesalgoides*.

**Keywords: feather mites, Psoroptoididae, egg production.**

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1.** Quantidade de ovos produzidos no Brasil de 1987 ao primeiro trimestre de 2021

**Figura 2.** *A. galli* Mironov: dorsal (a–c) e ventral (d–f) macho heteromórfico (a, d), macho homeomórfico (b, e), e fêmea (c, f) (escala bar=100 µm)

**Figura 3.** Esquema da classificação morfológica dos clados relacionados ao gênero *Allospiroptoides*

**Figura 4.** (A) Macho, e (B) fêmea do *A. galli*

**Figura 5.** Aves poedeiras da espécie *G. gallus domesticus* dispostas em gaiolas para experimento de intervenção entre aves expostas e não expostas a ácaros da espécie *A. galli*

**Figura 6.** Flanco das aves – local com pouca plumagem onde foi realizado o raspado superficial da pele para realizar a contagem dos ácaros

**Figura 7. A e B** – Processo de montagem das lâminas com o material coletado nas raspagens de pele

**Figura 8.** Esquema de classificação morfológica dos gêneros cujas sequências de DNA foram utilizadas nas árvores filogenéticas

**Figura 9.** [A] Fêmea [B] fêmea com ovo [C] macho [D] ninfa [E] larva da espécie *A. galli*

**Figura 10.** Número de ácaros *A. galli* nas aves do grupo N agrupadas por gaiola em cada contagem. G: gaiola

**Figura 11.** Número de ácaros *A. galli* nas aves do grupo P agrupadas por gaiola em cada contagem. G: gaiola.

**Figura 12.** Números absolutos de ácaros de *A. galli* do grupo P, N e de P+N em todas as contagens, exceto na do dia 4

**Figura 13.** Curva de Kaplan representando a incidência acumulada

**Figura 14.** Árvores filogenéticas com as sequências de 18S e 28S rRNA de *A. galli* pelo método de máxima parcimônia

**Figura 15.** Árvores filogenéticas com as sequências de 18S e 28S rRNA de *A. galli* pelo método de Neighbor-Joining

**Figura 16.** Árvores filogenéticas com as sequências de 18S e 28S rRNA de *A. galli* pelo método de Máxima Verossimilhança

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 1.** Disposição das gaiolas

**Quadro 2.** Primers 18S e 28S rRNA

**Quadro 3.** Sequências de 18S rRNA utilizadas para o alinhamento múltiplo com a sequência obtida do ácaro *A. galli* para a geração das árvores filogenéticas

**Quadro 4.** Sequências de 28S rRNA utilizadas para o alinhamento múltiplo com a sequência obtida do ácaro *A. galli* para a geração das árvores filogenéticas

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Dados absolutos e porcentagens das contagens de ácaros *A. galli* dos raspados de pele das aves do grupo N

**Tabela 2.** Dados absolutos das contagens de ácaros *A. galli* nas aves do grupo P e variação percentual em relação às contagens do dia 0



## LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS UNIDADES, ABREVIATURAS.

°C	Grau(s) Celsius
™	Marca Comercial
®	Marca Registrada
µl	Microlitros
'	Minuto
%	Porcentagem
ωl	Quetotaxia de ácaros
"	Segundo
x	Vezes
AP	Ácaro de pena
ba	Quetotaxia de ácaros
bp	Pares de base
c1	Quetotaxia de seta de ácaros
cm	Centímetros
cm <sup>2</sup>	Centímetros quadrados
d1	Quetotaxia de ácaros
d5	Quetotaxia de ácaros
DNA	Deoxyribonucleic acid (Ácido Desoxirribonucleico)
e1	Quetotaxia de ácaros
h1	Quetotaxia de ácaros
IB	Instituto Biológico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MgCl <sub>2</sub>	Cloreto de Magnésio
min.	Minuto(s)
ml	Mililitros
mM	Milimolar
MP	Máxima Parcimônia
MV	Máxima Verossimilhança
N	Negativo(s)
NJ	Neighbor-Joining
n°	Número

°	Grau
P	Positivo(s)
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RJ	Rio de Janeiro
RNA	Ribonucleic Acid (Ácido ribonucleico)
rRNA	Ácido ribonucleico ribossômico (ribosomal rubonucleic acid)
s	Segundo(s)
sce	Quetotaxia de ácaros
sci	Quetotaxia de ácaros
SP	São Paulo
V	Volt
V/V	Volume de soluto/volume de solução

## Sumário

AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS .....	2
INSTITUTO BIOLÓGICO .....	2
<b>FOLHA DE APROVAÇÃO.....</b>	<b>5</b>
Banca Examinadora.....	5
1. Introdução.....	21
2. Revisão de literatura.....	22
2.1 Histórico de produção de ovos no Brasil.....	22
2.2 Ectoparasitas de importância veterinária na produção de ovos.....	24
2.3 Classificação taxonômica e características morfológicas da família Psoroptoididae....	26
2.4 Aspectos do parasitismo causados pelo ácaro <i>A. galli</i> em granjas poedeiras .....	32
3. Objetivos .....	32
3.1 Objetivos gerais .....	33
3.2 Objetivos específicos.....	33
4. Material e métodos .....	33
4.1 Aquisição das aves .....	33
4.2 Obtenção de amostras de ácaros da espécie <i>A. galli</i> .....	33
4.3 Identificação dos ácaros presentes nos raspados das aves infestadas.....	33
4.4 Avaliação da transmissão horizontal - intervenção em uma população exposta e outra não-exposta.....	34
4.4.1 Local do experimento .....	34
4.4.2 Grupos experimentais .....	34
4.4.3 Contagem dos ácaros .....	36
4.4.4 Análise estatística .....	38
4.5 Análises moleculares e filogenéticas.....	38
4.5.1 Extração de DNA.....	38
4.5.2 Amplificação por PCR dos marcadores moleculares 18S e 28S do ácaro <i>A. galli</i> ....	38
4.5.3 Eletroforese em gel de agarose .....	39

4.5.4	Purificação dos fragmentos de DNA .....	39
4.5.5	Sequenciamento de DNA.....	39
4.5.6	Análises Filogenéticas .....	39
5.	Resultados .....	43
5.1	Identificação dos ácaros presentes nos raspados das aves infestadas.....	43
5.2	Avaliação da transmissão horizontal - intervenção em uma população exposta e outra não-exposta.....	45
5.3	Análises moleculares e filogenéticas .....	51
6.	Discussão.....	58
15.	Conclusão .....	59
16.	Referências .....	61

## 1. Introdução

Na área de produção animal, a avicultura pode ser considerada a atividade que mais se desenvolveu neste século em consequência dos avanços em genética, nutrição, sanidade e manejo (MAZZUCO et al., 1997). O Brasil já tem grandes produtores com instalações automatizadas e sistema de climatização, mas grande parte ainda é considerado pequeno e médio produtor, cujas as aves são criadas em galpões abertos, com pouco ou nenhum controle do ambiente interno. (SILVA, 2019).

O sistema predominante de produção de ovos no Brasil é o intensivo, no qual as aves são dispostas em gaiolas convencionais dentro de galpões (SILVA, 2019). A produção concentrada de aves em ecossistemas artificiais encontra às vezes condições ideais para o desenvolvimento de grandes populações de pragas de artrópodes. (AXTELL & ARENDS, 1990).

Em ambiente natural, existem fatores que possibilitam a defesa das aves contra os ectoparasitas, como exposição ao sol e remoção dos ectoparasitas pelas próprias aves com o auxílio do bico e ao revolverem-se na terra pelas (TUCCI, 2004). Já nos galpões, a debicagem, a reduzida mobilidade e a falta de contato com o solo prejudicam tais práticas, o que favorece a proliferação e a dispersão dos ectoparasitas e conseqüentemente provoca elevação dos efeitos negativos do parasitismo sobre as aves. (BROWN, 1972).

As aves parasitadas ficam em situação de estresse e em reposta podem apresentar elevação de suas taxas de corticosteroides, o que resulta em diminuição da alimentação e prejuízos à imunidade. Como agravante, os ectoparasitas podem transmitir agentes etiológicos causadores de doenças (AXTELL & ARENDS, 1990; CRAIG et al., 1986).

Um dos desafios do setor de produção animal é deparar-se com novas doenças e pragas. Em 2010, quando ocorreu o primeiro surto provocado pelo ácaro *A. galli* em galinhas de uma granja de postura no estado de São Paulo, quando 76 mil aves que representavam metade do plantel foram acometidas (TUCCI et al., 2014), essa espécie de ácaro não havia ainda sido descrita. Nessa ocasião houve um esforço científico dos pesquisadores do Instituto Biológico para solucionar o problema, e, ao constatarem que se tratava de espécie desconhecida, os pesquisadores encaminharam exemplares ao Instituto Zoológico da Academia de Ciência da Universidade Embankment de São Petersburgo – Rússia. No ano de 2013, o ácaro *A. galli* foi descrito por Mironov.

Pelo fato de ser uma espécie descrita há pouco tempo, existem poucos trabalhos científicos sobre esse ectoparasita. No intuito de obter novas informações sobre essa praga que

está acometendo ao menos granjas do estado de São Paulo, por meio de um estudo analítico durante um período de 35 dias em ambiente controlado, foi avaliado o processo de transmissão do ácaro *A. galli*, através de um trabalho experimental de intervenção em uma população exposta e outra não exposta, inclusive abordando pela primeira vez dados sobre a carga parasitária das aves. Além disso, foi realizado um estudo filogenético no qual foram utilizados marcadores moleculares como 18S e 28S de rRNA para obter as primeiras sequências de DNA do ácaro *A. galli*.

Os resultados desse estudo contribuem para o aprimoramento dos conhecimentos básicos sobre a transmissão dessa nova praga no setor de produção de ovos e também apresentam informações genéticas do novo gênero *Allopsoroptoides* que são importantes para o estudo da evolução das espécies conhecidas como ácaros de penas.

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1 Histórico de produção de ovos no Brasil**

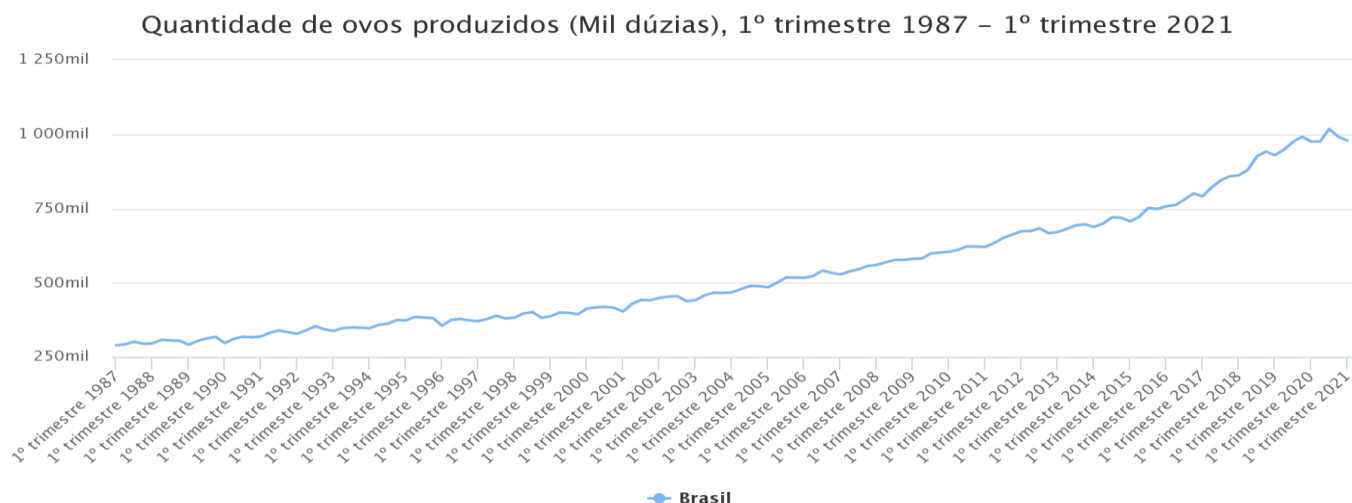
A partir de 1930, para que o Brasil não dependesse quase que exclusivamente das exportações de café, o quadro econômico brasileiro passou por uma modernização. Estratégias de estímulos à indústria foram adotadas abrangendo também a atividade agropecuária. A avicultura foi um dos primeiros setores do agronegócio a investir em uma produção em escala. Até então, no Brasil, a criação de aves não era considerada economicamente importante, situação muito diferente de outros países, como os Estados Unidos. As criações dos milhares de pequenos produtores aqui estabelecidos eram de aves sem valor zootécnico e sem finalidade econômica chamadas de aves crioulas, que eram descendentes das aves trazidas por Pedro Álvares Cabral. Para impulsionar esse setor, surge nesse momento o corporativismo, que iria amparar os produtores, defendendo e estimulando a produção avícola. E assim surgia, na década de 1960, a Cooperativa Avícola de São Paulo, que começa um trabalho árduo para convencer o consumidor a comprar ovos de qualidade, e para ensinar os produtores sobre a necessidade de se adquirir aves de raças com potencial zootécnico, o que levou a cooperativa a implantar um plano de ação, no qual era oferecido um frango de raça pura em troca de duas aves crioulas. (FERREIRA, 2011).

Na década de 1930, a produção de ovos tinha ainda o mercado externo como principal destino, o que viria a ser alterado com o declínio das exportações para a Inglaterra devido às dificuldades de transporte causadas pela guerra. Com o foco no crescimento do mercado interno e ainda vislumbrando vantagens no comércio internacional, o Ministério da Agricultura passa

a entender ser necessário aperfeiçoar a avicultura nacional. E assim é construída a estação de agricultura na Escola Nacional de Agronomia, em Seropédica (RJ), ao mesmo tempo em que se organizava a Cooperativa Nacional de Avicultura no Rio de Janeiro com a pretensão de expandir as cooperativas do setor por todo o território nacional. No ano de 1939, o então presidente do Brasil Getúlio Vargas assina o decreto-lei nº 3.467, de 17 de dezembro, no qual se instituiu o regulamento de Inspeção Sanitária, Classificação, Conservação e Embalagem de Ovos destinados ao comércio exterior. Na década de 1940 crescia também a preocupação com a qualidade e a sanidade da carne de frango, e as propriedades do interior de São Paulo que estavam modernizando sua produção com novos métodos de manejo das aves eram acompanhadas por técnicos do Instituto Biológico de São Paulo. (FERREIRA, 2011).

Em 1979, já se observava no Brasil o aumento do consumo de ovos associado ao aumento da renda per capita da população no estado de São Paulo, e os produtores estavam aumentando sua produção anual a maior do que a demanda por consumo, visto que o preço real da dúzia estava em contínuo declínio. Na década de 1960, o crescimento médio na produção de ovos foi em torno de 18% em todos os estados brasileiros. O acréscimo no país, entretanto, fora de 25%, o que foi relacionado ao aumento de 33% na produção de ovos do estado de São Paulo, percentual bem superior aos dos demais estados. Houve, particularmente no estado de São Paulo, a rápida adoção de novas tecnologias. O melhoramento genético de espécies, o uso de práticas veterinárias, a introdução e a melhoria nas rações balanceadas e o aperfeiçoamento nas construções e nos equipamentos estão entre as principais atividades relacionadas ao incremento do setor nessa década. (MARTIN, 1979).

Um grande salto na avicultura de postura no Brasil ocorre em 2001, quando o país passa a produzir 65 milhões de caixas de 30 dúzias, depois de ficar 3 anos estagnado em 58 milhões de caixas. Nos anos seguintes, porém, houve queda na produção. O fator que influenciou diretamente essas variações foi o valor do milho, insumo utilizado na ração das aves, que, no ano de 2001, estava deprimido. No ano seguinte o baixo valor desse cereal desestimulou sua produção e conseqüentemente restringiu no mercado a oferta do produto, provocando forte crise na avicultura em 2002. (MARTINS, 2003). Essas flutuações na produção não ocorreram de 2010 a 2020, período em que o Brasil obteve crescimento na produção de ovos em todos os anos, com 3 935 904 mil dúzias (Figura 1) produzidas em 2020. (IBGE, 2020).



Fonte: "IBGE – Produção de Ovos de Galinha"

"1 – Até o 4º trimestre de 2011: As informações não correspondem às produções totais das Unidades da Federação, uma vez que são pesquisados apenas os estabelecimentos com 10.000 ou mais galinhas poedeiras;

2 – A partir do 1º trimestre de 2012: As informações não correspondem às produções totais das Unidades da Federação, uma vez que são pesquisados apenas os estabelecimentos com capacidade de alojamento de pelo menos 10.000 galinhas poedeiras;

3 – O número de galinhas poedeiras refere-se à média do plantel existente no último dia de cada mês do trimestre;

4 – O número de informantes se repete nos meses de cada trimestre devido à periodicidade de coleta da pesquisa ser trimestral;

5 – Até o 4º trimestre de 2005 os dados das Unidades da Federação com menos de 4 (quatro) informantes estão desidentificados com o caracter X. A partir do 1º trimestre de 2006 a desidentificação passou a ser feita para menos de 3 (três) informantes.

6 – Os dados referentes ao ano de 2016 são RESULTADOS PRELIMINARES."

**Figura 1.** Quantidade de ovos produzidos no Brasil de 1987 ao primeiro trimestre de 2021.

**Fonte:** IBGE 2021.

## 2.2 Ectoparasitas de importância veterinária na produção de ovos

Os principais ectoparasitas que infestam as poedeiras são os piolhos *Menopon gallinae* e *Menacanthus* sp. e os ácaros *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus* sp. e *Megninia* sp. As fases de vida desses ácaros são ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. (SAATKAMP, et al., 2020).

O ácaro hematófago *D. gallinae* é conhecido popularmente como “piolhinho”, “vermelhinho” ou “pixilinga”. Apesar de ser chamado também de piolho, trata-se de um ácaro com hábitos noturnos de alimentação. Durante o período diurno, abrigam-se nos galinheiros, paióis e aviários. Quando há casos de infestações extremas, uma poedeira pode perder mais de 3% do seu volume de sangue, o que acarreta mortalidade significativa no plantel devido à anemia.

O ácaro hematófago *Ornithonyssus* sp. é conhecido como “ácaro de galinha tropical” e “ácaro de galinha do norte”, e permanece nas aves quase que todo o tempo. Em altas infestações esses ácaros podem ser encontrados nos ovos, nas fezes e até mesmo infestando o trabalhador do aviário, causando irritação, alergias e dermatites. (GUIMARÃES, TUCCI e BARROS-BATTESTI, 2001; BASSINI, 2019; SAATKAMP et al., 2020).



Com poucos relatos no Brasil, a *Megninia* sp. é um ácaro de pena. Essa espécie permanece nas poedeiras durante todo o ciclo de vida, habitando as penas, que ficam com aspecto sujo, fragilizadas e quebradiças nas aves parasitadas. (SAATKAMP et al., 2020). A primeira infestação maciça em granja de postura no Brasil ocorreu em São Paulo no ano de 2004, e foram identificadas duas espécies envolvidas: *Megninia. ginglymura* e *Megninia cubitalis*. (TUCCI et al., 2005).

Para cada espécie de ácaro há um controle adequado que leva em consideração seu ciclo biológico e habitat. Com relação aos piolhos mastigadores, o que ajuda a diminuir a infestação são aviários cobertos e sombreados, já que a eclosão das ninfas depende da incidência de luz solar sobre os ovos desses insetos. O tratamento químico é realizado com banhos ou aspersão de inseticidas. No controle dos ácaros hematófagos, deve-se evitar a introdução de poedeiras infestadas nos aviários. É recomendada também a utilização de telas que impeçam a entrada de pássaros, animais domésticos e silvestres (evitando o contato com as aves alojadas), a remoção das fezes acumuladas sob as gaiolas, principalmente se estiverem úmidas, e a inspeção dos aviários (gaiolas, comedouros, bebedouros e piso da gaiola). Deve-se também evitar a utilização de madeira como apoio para as gaiolas, pois algumas espécies de ácaro podem utilizar esse tipo de material como esconderijo. Em casos de infestação pelo *D. gallinae*, é possível limpar e escaldar com água fervente comedouros e bebedouros, e aplicar acaricidas nas paredes e nos pisos do aviário. Atualmente, contudo, o ácaro *D. gallinae* é resistente à maioria dos acaricidas químicos existentes no mercado. As poedeiras infestadas podem ser tratadas com acaricidas. A solução recomendada é a formulação líquida de deltametrina 0,4%. Já existem no mercado formulações para uso na água de beber das poedeiras com equivalente eficiência e facilidade de uso. (SAATKAMP et al., 2020).

A resistência às drogas apresentada por ectoparasitas de importância tanto para a medicina humana quanto para a veterinária projeta um futuro em que as infestações também serão controladas por meio de métodos alternativos de tratamento, como o controle biológico e vacina. (MCNAIR, 2015).

Outro fator que deve ser considerado quando se trata de ectoparasitas em granjas de postura é o sistema de produção. Estudo pioneiro no Brasil avaliou a influência do modelo de produção de ovos nas populações da fauna de ácaros de granjas comerciais no sul do país, comparando dois sistemas que utilizam gaiolas, um com disposição vertical e o outro em degraus, classificados como automatizados e semiautomatizados respectivamente, e um terceiro denominado “free range”, que, no Brasil, é conhecido como “caipira”. Neste trabalho, avaliou-se a quantidade de ácaros capturados em armadilhas e o resultado demonstrou que o sistema de

produção de ovos caipiras apresentou maior diversidade de espécies e menor quantidade de ácaros. (HORN et al., 2015).

As infestações de ácaros têm resultado em impactos negativos relevantes para a avicultura de postura, portanto, pesquisas devem ser conduzidas para desenvolver novas estratégias, que devem ser adaptadas conforme as características e as condições de produção de cada granja. Para que seja possível um controle efetivo das infestações de ácaros em granjas, são indicadas estratégias de controle, que, para serem implantadas, necessitam de conhecimento técnico sobre a biologia e o comportamento dos ácaros associado a contínuos monitoramento e revisão de aspectos relacionados à gestão. (REZENDE et al., 2013).

### **2.3 Classificação taxonômica e características morfológicas da família Psoroptoididae**

As aves são hospedeiras de uma diversa gama de ácaros simbioses, com espécies que habitam penas, pele, narinas e vias respiratórias. Essa diversidade abrange táxons representados tanto por espécies que causam danos à saúde das aves quanto por espécies consideradas benignas, por utilizarem seus hospedeiros apenas como transporte. Dentre esses táxons estão os carrapatos (subordem Ixodida) que se alimentam de sangue, os também hematófagos ácaros associados a ninhos cujas espécies mais estudadas, por terem importância na medicina veterinária, são os mesostigmatas da família Dermanyssidae (e.g. *Dermanyssus gallinae*) e Macronyssidae (e.g. *Ornithonyssus sylviarum*). Outros mesostigmatas que tem importância na medicina veterinária são os pertencentes a família Rhinonyssida (*Sternostoma tracheacolum*) que se alimentam nas vias respiratórias de seus hospedeiros. Os ácaros das flores do beija-flor (Ascidae: *Rhinoseius*, *Tropicoseius* e certos *Proctolaelaps*) e alguns membros dos Ameroseiidae, que habitam respectivamente as narinas e os bicos das aves, são exemplos de espécies benignas. (PROCTOR, 2003).

E a diversidade não se limita aos já citados. Alguns prostigmatas têm as aves como hospedeiras, a exemplo das larvas de espécies da família Trombiculidae e Leeuwenhoekidae consideradas ectoparasitas temporários. As espécies da família Cheyletidae são de vida livre, porém são predadores de outros ácaros, e por essa razão são encontradas rondando os ninhos e penas. Já as espécies da família Cheyletiellidae são todas parasitas obrigatórias de aves ou mamíferos. As espécies da família Harpyrhynchidae vivem em penas e na superfície ou no interior da pele. As da Syringophilidae perfuram a parede do cálamo para se alimentar, e a família Tideoide Ereyetidae tem inúmeras espécies, as quais estão presentes nos orifícios nasais. (PROCTOR, 2003).

Mesmo tendo uma infinidade de formas e comportamentos, as referências literárias dos ácaros de penas são reduzidas em relação às dirigidas aos ácaros hematófagos, os quais são abordados principalmente em textos científicos da área médico-veterinária e cujas relações ecológicas entre aves domésticas e selvagens já foram muito investigadas. A maior diversidade de ácaros associados às aves, porém, está na subordem Astigmata. Estima-se que esse grupo seja proveniente dos oribatídeos, grande grupo de ácaros detritívoros de vida livre. (PROCTOR, 2003). Os ácaros parasitas de aves adaptaram-se conforme os diversos microhabitats, sendo que táxons de famílias diferentes podem exibir adaptações morfológicas semelhantes. (DABERT & MIRONOV, 1999).

Segundo Proctor (2003), os astigmatas psoroptídeos das superfamílias Analgoidea, Freyanoidea e Pterolichoidea são considerados os verdadeiros ácaros de penas, e estão representados por aproximadamente 2000 espécies, das quais quase a totalidade é de simbioses obrigatórios, e são classificados, conforme o local onde vivem, como dermícolos (dentro e sobre a pele), siringícolos (dentro das penas) e plumícolos (nas superfícies das penas). Esse mesmo autor descreve que, apesar de ter considerado a Freyanoidea como superfamília em sua revisão, há fortes evidências contra esse status. Outro desacordo apontado nessa revisão se refere à localização dos ácaros da família Pyroglyphidae e das três famílias freianoideas. Gaud & Atyeo (1996) consideram os piroglifídeos como pertencentes a Analgoidea, mas isso é contestado por OConnor (1982) e Dabert & Mironov (1999). OConnor (1982) propôs que Freyanoidea deveria ser colocado dentro de Pterolichoidea (PROCTOR, 2003).

Os ácaros de penas são considerados um grupo parafilético (DABERT & MIRONOV, 1999). Na visão desses autores, a evolução dos analgoídeos tem como principal fator a coespecificação com seus hospedeiros. Os mesmos autores relatam a falta de um bom caráter sinapomórfico para o agrupamento dos seus principais clados, e apontam como provável explicação para a politomia dos analgoídeos uma explosiva radiação logo após o seu surgimento. Neste estudo, essa superfamília é subdividida em 4 clusters, e as famílias Analgidae, Psoroptoididae e Dermoglyphidae foram incluídas no primeiro cluster no qual estão os ácaros cujos ancestrais viviam na superfície das penas; porém, as duas primeiras famílias, mais ancestrais, permaneceram no mesmo microhabitat, e a última, mais avançada, se adaptou para viver no interior dos espinhos das penas.

Desde 1915, muitos gêneros novos foram atribuídos à família Analgidae (sensu Trouessart), o que tornou necessário o estabelecimento de subdivisões. Dubinin (1953) dobrou o número de gêneros pertencentes à Analgidae, em parte ao incluir gêneros atribuídos por Trouessart a Pterolichae, e em parte ao adicionar novos gêneros. Nesse momento propôs as

primeiras subdivisões dessa família em duas subfamílias, Pteronyssinae e Analginae, e, em 1958, Gaud atribuiu outra nova subfamília, a Psoroptoididae, a qual foi elevada ao status de família completa por Gaud & Atyeo (1982), através da divisão da família Analgidae, que passou a ser dividida em sete subfamílias, Analginae, Ancyralginae, Protalginae, Tillacarinae, Anomalginae, Kiwialginae e Megniniinae, as últimas três estabelecidas nessa reclassificação. Já a Psoroptoididae foi dividida em duas subfamílias, Psoroptoidinae e Pandalarinae (inédita na época), sendo que os autores as diferenciaram quanto aos escleritos (na maioria das vezes retangulares), que, para a primeira, apresenta largura maior que o comprimento, e, para a segunda, formato de T.

Gaud & Atyeo (1982) relataram as seguintes especificações morfológicas dos Psoroptoidinae: em ambos os sexos, tarso I, II sem coleiras membranosas; cerda ba (ou Solenidion epsilon) em forma de cavilha, adjacente à estopa  $\omega 1$  ou ausente na perna I, ausente na perna II; com setas s alargadas, recurvadas, com 1 ou 2 dentes; ápices de discos ambulatoriais côncavos, entalhados, raramente arredondados; escudos propodossomais geralmente se estendendo lateralmente além das setas escapulares; setas sci frequentemente fortes, às vezes longas, nunca próximas de sce. Machos com apófises ápico-antaxiais na tíbia III rudimentares ou ausentes. Fêmeas com setas d5 muito reduzidas; setas d1 presentes.

As características morfológicas atribuídas à subfamília Pandalarinae, por Gaud & Atyeo (1982), foram: em ambos os sexos, tarsos I, II com colares membranosos rudimentares ou ausentes, com setas ba, com setas s setiformes; ápices de discos ambulatoriais côncavos ou entalhados; escudos propodossomais geralmente se estendendo posteriormente às setas escapulares; setas sci pequenas, finas, próximas a sce. Macho com apófises ápico-antaxiais nas tíbias III. Fêmea com setas d5, 15 longas, subiguais; setas d1 presentes (exceto Temnalges, alguns Pandalura).

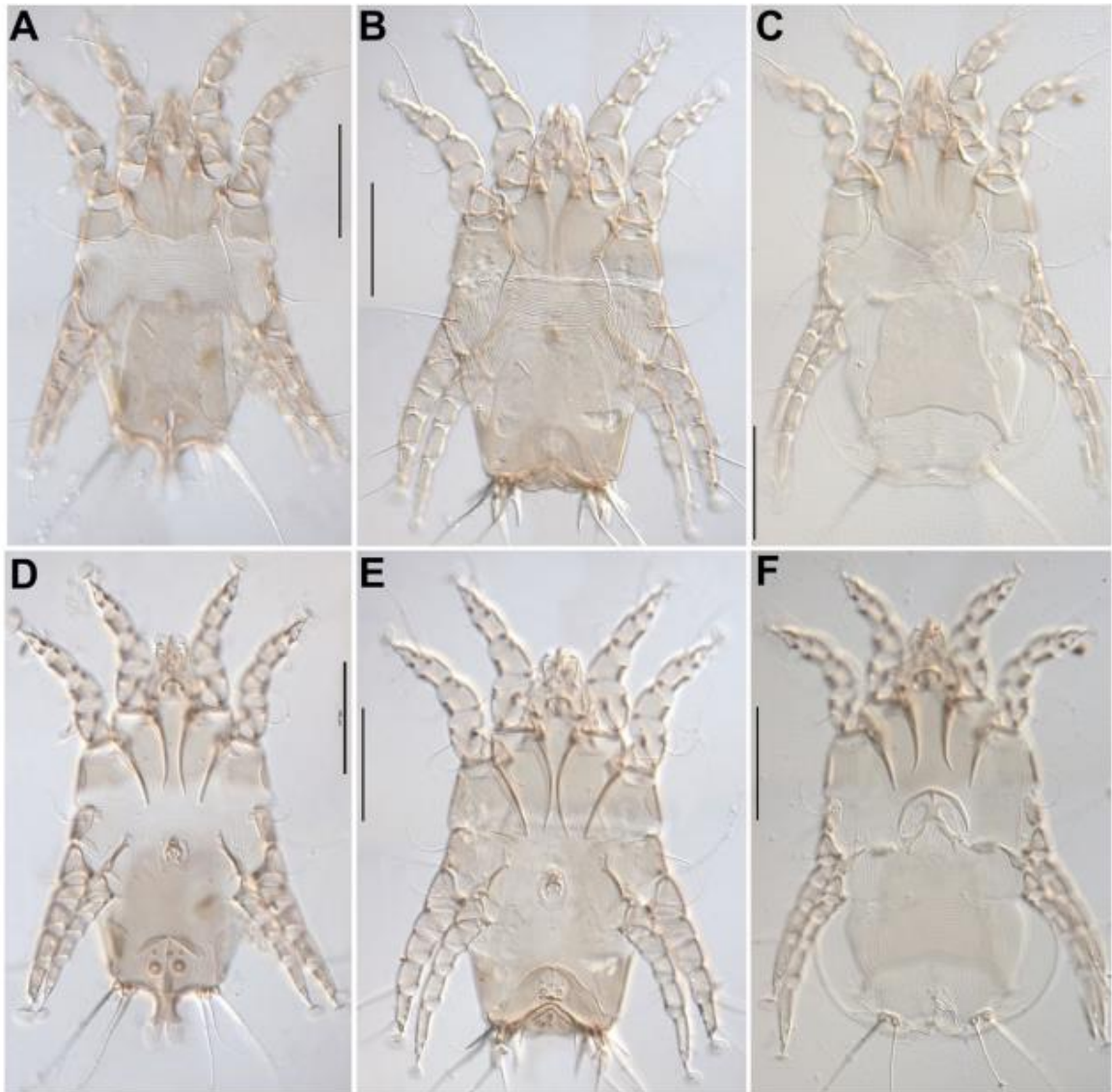
Com relação aos hospedeiros, Gaud & Atyeo (1982) citam uma menor variedade parasitadas pelos psoroptoidíneos, sendo a grande maioria Calaus (Coraciiformes, Bucerotidae), e uma ampla variedade de aves parasitadas pelos ácaros pandaluríneos: Psittaciformes, Strigiformes, Caprimulgiformes, Piciformes, Passeriformes, Gruiformes ou Charadriiformes.

Gaud & Atyeo (1982) descrevem a família Psoroptoidinae com cinco gêneros: Anomothrix Gaud, 1973; Atacturalges Gaud, 1980; Hyomesalges Gaud & Atyeo, 1967; Mesalges Trouessart & Neumann, 1888; e Psoroptoides Trouessart, 1919. Os mesmos autores descrevem a família Pandalarinae com seis gêneros: Chiasmalges Gaud & Atyeo, 1967; Dicamaralges Gaud & Atyeo, 1967; Eurydiscalges Faccini, Gaud & Atyeo, 1976; Mesalgoides

Gaud & Atyeo, 1967; Pandalura Hull, 1934; Temnalges Gaud & Atyeo, 1967. Entretanto, o gênero Chiasmalgas foi considerado subgênero por Gaud e Atyeo (1996). Mironov (2004) elevou o subgênero Picalgoides, pertencente ao Mesalgoides, à categoria de gênero completo e também restaurou o status de gênero de Chiasmalgas, o gênero Cygnocoptes Fain & Bochkov, 2003, descrito inicialmente na família Pyroglyphidae, mas transferido para Psoroptoididae (Pandalurinae) por Mironov (2007). Mironov (2013) descreveu uma nova espécie, *A. galli*, pertencente ao novo gênero Allopsoroptoides.

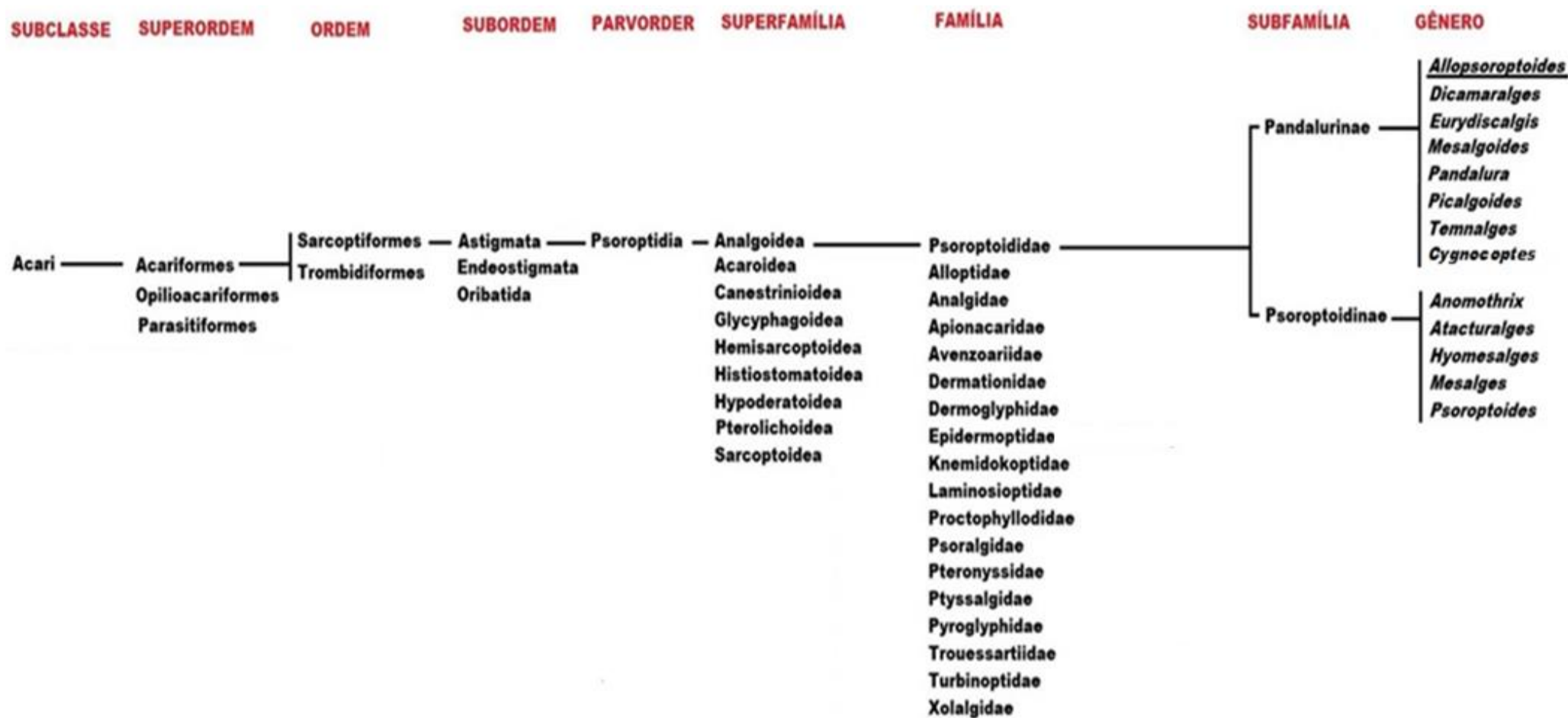
A espécie *A. galli* Mironov (2013) foi encontrada em granja de postura comercial no estado de São Paulo, Brasil (TUCCI et al., 2014). Esse ácaro foi o primeiro Psoroptoididae observado nas penas de aves da ordem Galliformes. O gênero Allopsoroptoides está intimamente relacionado ao gênero Cygnocoptes Fain & Bochkov, 2003, porém difere de todos os outros da família Psoroptoididae pela ausência de quatro pares medianos de setas histeronotais (c1, d1, e1 e h1) em ambos os sexos e pela forma característica do opistossoma masculino, cuja projeção é mediana, longa e estreita, terminando em um par de lamelas semiovais (MIRONOV, 2013). Hernandez et al. (2014) relataram uma forma heteromórfica de machos de ácaros da espécie *A. galli* distribuídos em aves selvagens da família Cuculidae (Figura 2).

A figura 3 apresenta um esquema reduzido das classificações morfológicas descritas acima.



**Figura. 2:** *A. galli* Mironov: dorsal (a–c) e ventral (d–f) macho heteromórfico (a, d), macho homeomórfico (b, e), e fêmea (c, f) (escala bar=100  $\mu$ m)

**Fonte:** HERNANDES et al., (2014)



**Figura 3.** Esquema da classificação morfológica dos clados relacionados ao gênero *Allopsoroptóides*

**Fonte:** Gaud e Atyeo (1996), Mironov (2007), Mironov (2013) e National Center for Biothecnology Information (2021).

## **2.4 Aspectos do parasitismo causados pelo ácaro *A. galli* em granjas poedeiras**

Ampliando a diversidade de ectoparasitas que acometem galinhas poedeiras, Tucci et al. (2014) relataram o primeiro surto ocorrido em 2010 provocado pelo ácaro de pena *A. galli* (MIRONOV, 2013) em galinhas poedeiras de uma instalação comercial no estado de São Paulo. Os autores observaram, durante visitas às instalações aviárias, a presença de aves silvestres nas proximidades, e abordaram a possibilidade da participação dessas aves na transmissão do ácaro *A. galli* às galinhas. Essa hipótese foi corroborada pelo trabalho de Hernandez et al. (2014), que relata o ácaro *A. galli* em sete espécimes de anu branco, *Guira guira* (Gmelin, 1788) nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul. Segundo os autores, essa espécie de ave silvestre, amplamente distribuída no país, seria o hospedeiro primário do ácaro *A. galli*, e eles afirmam que provavelmente a transmissão horizontal tenha ocorrido dos anus para as galinhas poedeiras.

Segundo Tucci et al. (2014), os sinais clínicos apresentados por aves infestadas pelo *A. galli* são dermatite escamosa generalizada com material semelhante a muco e crostas amareladas na pele e ao redor do calame, com lesões mais pronunciadas sob as asas. Os mesmos autores também relataram numerosa quantidade de ácaros na superfície da pele, principalmente nas bases das penas, porém sem penetração profunda no folículo. Soares et al. (2016) relata o estresse das aves, provocado pela ação parasitária desse ácaro, que se apresentam agitadas e com prurido intenso.

Através de estudos hematológicos, bioquímicos e histopatológicos em aves naturalmente acometidas pelo ácaro *A. galli*, Buim et al., (2003) sugerem que esses ácaros podem induzir alterações como diminuição do hematócrito, leucopenia e eosinopenia, diminuição de fosfatase alcalina, creatinocinase, aumento de gamaglutamiltransferase, colesterol e proteínas, além de alterações dermatológicas, hepáticas e renais.

Os danos causados pelo parasitismo do ácaro *A. galli* estão relacionados com a piora da conversão alimentar, a redução na produção de ovos, mas sem a perda da qualidade destes (SOARES et al., 2016). No surto descrito por Tucci et al. (2014), estima-se que a perda de produção de ovos foi de 30%.

A eficácia da ação acaricida da abamectina e ivermectina foi verificada por Tucci, Soares (2013), visando contribuir para o controle do ácaro *A. galli* através de aves alimentadas com ração que contenha esses acaricidas, por um período de trinta dias.

## **3. Objetivos**



### 3.1 Objetivos gerais

Aprimorar os conhecimentos básicos do ácaro *A. galli*, espécie parasita recentemente descrita como a causa de prejuízos em granjas de postura ao infestar aves da espécie *G. gallus domesticus*.

### 3.2 Objetivos específicos

- Avaliar analiticamente o processo de transmissão horizontal do *A. galli* entre aves da espécie *G. gallus domesticus*, linhagem Hyssex.
- Construir árvores filogenéticas com sequências de alelos 18S e 28S rRNA da espécie *A. galli* com outras sequências de ácaros da mesma família Psoroptoididae, e sequências de ácaros de família e ordem parafiléticas.

## 4. Material e métodos

### 4.1 Aquisição das aves

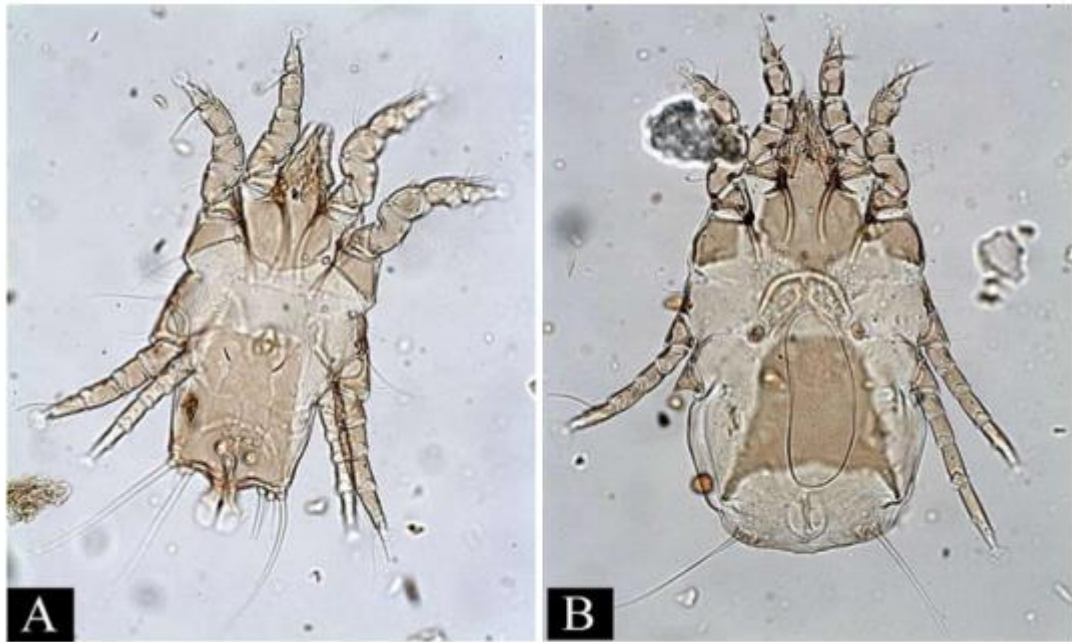
As aves, tanto as infestadas quanto as não infestadas, foram fornecidas por granjas localizadas no município de Bastos – SP (latitude 21°55'19" sul, longitude 50°44'02"). Foram adquiridas 10 aves infestadas e 25 aves não infestadas.

### 4.2 Obtenção de amostras de ácaros da espécie *A. galli*

Em cindo das aves infestadas foram realizados raspados superficiais da pele na região dos flancos (partes naturalmente desprovidas de empenamento ou com poucas penas), e esses raspados foram colocados em um único recipiente com 100 ml de álcool 70%. Esses ácaros foram utilizados após identificação para análises posteriores.

### 4.3 Identificação dos ácaros presentes nos raspados das aves infestadas

Uma porção de penas, junto com aproximadamente 5 ml de álcool 70%, foi transferida do frasco onde estavam acondicionados os raspados das aves infestadas para uma placa de Petri. Utilizando microscópio estereoscópio marca Leica® (aumento de 35x) e uma haste fina de metal, foram retirados aleatoriamente da placa em torno de 100 ácaros, que foram colocados todos em outra placa de Petri. Em seguida foi realizada a triagem desses ácaros, separando formas jovens, fêmeas e machos adultos. Ao mesmo tempo, foi realizada a identificação dos indivíduos adultos conforme descrição de Mironov (2013) e imagens publicadas por Tucci et al. (2014) [Figura 3], e Hernandes et al., (2014) [Figura 4].



**Figura 4.** (A) Macho, e (B) fêmea do *A. galli*.

**Fonte:** TUCCI et al., 2014

Foram montadas lâminas com quinze espécimes triadas (fêmeas, machos e formas jovens) para confirmação da identificação ao microscópio óptico da marca Carl Zeis® no aumento 20x e 40x. Para a montagem das lâminas, os ácaros foram retirados da placa de Petri com o auxílio de uma haste fina de metal e colocados em lâminas onde havia sido adicionada uma gota de meio Hoyer. Foi colocada uma lamínula sobre o ácaro após o seu posicionamento adequado.

Em seguida, as lâminas foram mantidas em estufa a 50 °C por 7 dias para secagem do meio e fixação dos ácaros. Por último, as lâminas foram vedadas com esmalte incolor nas bordas.

#### **4.4 Avaliação da transmissão horizontal - intervenção em uma população exposta e outra não-exposta ao ácaro *A. galli***

##### **4.4.1 Local do experimento**

O experimento foi realizado no Instituto Biológico de Bastos, SP, no período de fevereiro de 2021 a março de 2021.

##### **4.4.2 Grupos experimentais**

Foi utilizado um total de 30 aves, que foram alojadas em 6 gaiolas de 50 cm por 50 cm, totalizando 6 repetições (Figura 5).



**Figura 5.** Aves poedeiras da espécie *G. gallus domesticus* dispostas em gaiolas para experimento de intervenção entre aves expostas e não expostas a ácaros da espécie *A. galli*

**Fonte:** Buim, (2021)

Cada grupo / repetição foi composto de uma ave infestada (controle positivo) que não havia sido utilizada para a obtenção de amostras de ácaros e quatro aves não infestadas. As gaiolas foram dispostas em uma mesma fileira, uma ao lado da outra. As aves foram identificadas e anilhadas, sendo que as infectadas (controle positivo) foram identificadas serialmente de P1 a P6 e distribuídas uma em cada gaiola. As demais 24 aves, não infestadas, foram identificadas serialmente de 1N a 24N e distribuídas nas seis gaiolas conforme o quadro 1.

Gaiola 1	Gaiola 2	Gaiola 3	Gaiola 4	Gaiola 5	Gaiola 6
1N 2N 3N 4N P1	5N 6N 7N 8N P2	9N 10N 11N 12N P3	13N 14N 15N 16N P4	17N 18N 19N 20N P5	21N 22N 23N 24N P6

**Quadro 1.** Disposição das gaiolas

As aves, antes de ser colocadas nas gaiolas, foram previamente analisadas no que foi considerado o dia 0 do experimento. Outras 6 análises foram realizadas nos dias 4, 7, 14, 21, 28 e 35. Todas as aves, exceto as utilizadas como controle positivo, tiveram contagem nula para ácaros na avaliação prévia. No dia 4 não foram realizadas contagens das aves utilizadas como controle positivo.

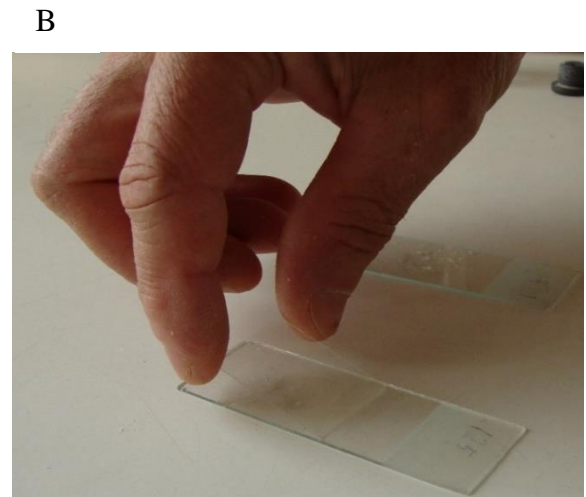
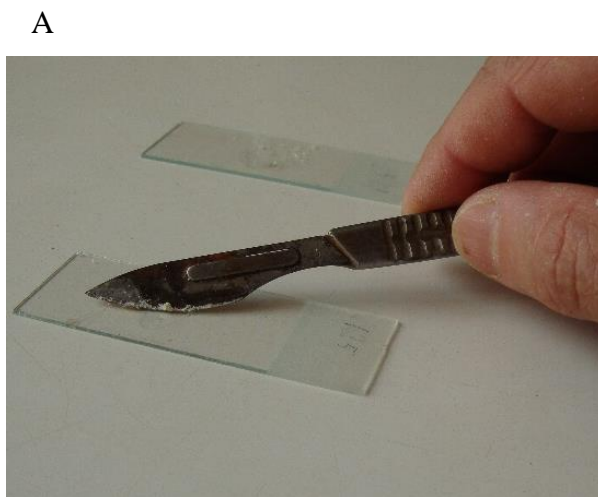
#### **4.4.3 Contagem dos ácaros**

Para a avaliação da infestação, foram realizados raspados superficiais da pele das aves na região do flanco (partes naturalmente desprovidas de empenamento ou com poucas penas) [Figura 6], em uma área aproximada de 3 cm<sup>2</sup> a 4 cm<sup>2</sup> de superfície corpórea. Com o auxílio de uma lâmina de bisturi, o material colhido de cada ave foi depositado em uma lâmina de vidro, sobre uma gota de solução de hidróxido de sódio coberto por uma lamínula (Figura 7 - A e B), e, em seguida, realizou-se a análise microscópica através de varredura ao microscópio óptico da marca Carl Zeiss® (aumento de 20x), na qual os ácaros de todos os estágios foram contados e todas as formas adultas identificadas de acordo com a descrição de Mironov (2013).



**Figura 6.** Flanco das aves – local com pouca plumagem onde foi realizado o raspado superficial da pele para realizar a contagem dos ácaros.

**Fonte:** Buim, M.R (2021)



**Figura 7. A e B** – Processo de montagem das lâminas com o material coletado nas raspagens de pele.

**Fonte:** Buim, M.R (2021)

#### 4.4.4 Análise estatística

A fim de estimar o tempo médio e mediano de infestação, foi construída uma curva de Kaplan-Meier representando a incidência acumulada. As análises foram realizadas com o auxílio do software R, versão 4.1.0. Para todas as análises adotou-se um nível de significância de 95%. (LEE,1992; TEAM, 2021)

#### 4.5 Análises moleculares e filogenéticas

##### 4.5.1 Extração de DNA

Cinquenta ácaros (formas jovens, fêmeas e machos adultos) que já haviam sido triados e identificados em etapa anterior, foram colocados em um tubo plástico estéril de 1,5 ml com tampa contendo 25 µl de água ultrapura. O tubo foi aquecido por 3 minutos a 100 °C, em bloco de aquecimento da marca Labnet®.

##### 4.5.2 Amplificação por PCR dos marcadores moleculares 18S e 28S do ácaro *A. galli*

As sequências dos oligonucleotídeos usados para a realização da PCR para 18S rRNA e 28S foram descritas por Klimov et al. (2008), exceto pelo oligonucleotídeo 9r, planejado por alinhamento múltiplo de sequências do mesmo alelo de organismos mais próximos possíveis de acordo com suas classificações morfológicas, cujas sequências estão disponíveis em bases de dados públicas de DNA (Quadro 2). A amplificação do fragmento de DNA da região 18S foi realizada por PCR com o par de oligonucleotídeos 1f-Astigs e 9r, e o da região 28S com o par 28S-1F-Astigs e 28SFF. Os reagentes utilizados em ambas as reações foram 2,0 x Taq DNA Polimerase Master Mix Red (1,5mM MgCl<sub>2</sub>) Ampliqon®. Para cada reação foram utilizados 12,5 de mix, 2,5µL ml de cada oligonucleotídeo, 2,5µl de amostra de DNA, e 8µl de água ultrapura. Água foi utilizada em reações como controle negativo. Para a reação de amplificação do rRNA 18S foi realizada uma desnaturação inicial a 94 °C por 3min seguida por 25 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30s, anelamento a 59 °C por 30s e síntese a 72 °C por 2min30s. Para a reação de amplificação do rRNA 28S foi realizada uma desnaturação inicial a 94 °C por 3min seguida por 30 ciclos de desnaturação a 94 °C por 30s, anelamento a 61°C por 30s e síntese a 72 °C por 2min30s.

Gene-alvo	Nome do primer	Sequência dos oligonucleotídeos
18S rRNA	1f-Astigs	5' – GCGAATGGCTCATTAATC – 3'
	9r	5' – TTGTTACGACTTTTACTTCCTCTAGA – 3'
28S rRNA	28S-1F-Astigs	5' – ACGGGATTCCcTTAGTAACG – 3'
	28SFF	5' – GTTACACACTCCTTAGCGGA – 3'

**Quadro 2.** Primers 18S e 28S rRNA

#### 4.5.3 Eletroforese em gel de agarose

A análise do produto de PCR foi feita em gel de agarose 1,5% contendo UniSafe™ Dye® na diluição de 1:20000 V/V a partir do estoque e a corrida do gel foi a 100V. A visualização do tamanho do fragmento foi baseada em marcador de massa molecular de DNA de 100 bp.

#### 4.5.4 Purificação dos fragmentos de DNA

Os fragmentos de DNA de massa molecular esperada foram purificados com o “kit” comercial ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent da empresa ThermoFisher®, de acordo com as instruções do fabricante.

#### 4.5.5 Sequenciamento de DNA

Os sequenciamentos pelo método de Sanger foram realizados com o reagente Big Dye 3.1™ (ThermoFisher Technologies®), de acordo com as instruções do fabricante, utilizando os mesmos oligonucleotídeos das ampliações. Os fragmentos de DNA gerados foram analisados em sequenciador capilar automático (ThermoFisher Technologies®), aplicando-se no gel de corrida 15µl dos produtos das reações de sequenciamento.

#### 4.5.6 Análises Filogenéticas

A identidade dos fragmentos de DNA amplificados foi estabelecida submetendo as sequências obtidas ao programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool™, NCBI). Sequências do GenBank listadas nos quadros 3 e 4 foram recuperadas e alinhadas pelo

programa MUSCLE para posterior montagem de árvores filogenéticas (Quadros 3 e 4) pelo programa Mega10.0.5<sup>TM</sup> pelos métodos de Neighbor-Joining (NJ), Máxima Parcimônia (MP) e Máxima Verossimilhança (MV).

As árvores filogenéticas geradas pelo método de Máxima Verossimilhança foram inferidas com o modelo de máxima probabilidade de dois parâmetros (Kimura-2) e o maior logarítmico de probabilidade possível. As árvores iniciais para a busca heurística foram obtidas automaticamente com a aplicação dos algoritmos Neighbor-Joining e BioNJ a uma matriz de distâncias genéticas calculadas em alinhamentos aos pares com o uso da abordagem de máxima probabilidade composta e seleção da topologia com o maior valor logarítmico de probabilidade possível.

As árvores filogenéticas geradas pelo método de Máxima Parcimônia foram obtidas com a utilização do algoritmo Subtree-Pruning-Regrafting com nível de busca igual a 1, no qual as árvores iniciais foram obtidas pela adição aleatória de sequências (100 replicatas).

As árvores filogenéticas geradas pelo método de Neighbor Joining foram calculadas com o uso do modelo LogDet de distâncias evolutivas, com a eliminação de todas as posições nas quais não existam dados a serem calculados (opção de deleção completa).





**Figura 8.** Esquema de classificação morfológica dos gêneros cujas sequencias de DNA foram utilizadas nas árvores filogenéticas

**Fonte:** Gaud e Atyeo (1996), Mironov (2007), Mironov (2013) e National Center for Biothecnology Information (2021).

Espécie	Número de acesso GenBank	Comprimento (pb)
<i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	JABSTU010000002 Posições: 14654282-14656073 24550941-24552732 24571761-24573552	1791
<i>Dermatophagoides farinae</i>	NBAF01001483	1808
<i>Hyomesalges</i> sp.	AD01028_J000220	1767
<i>Mesalgoides</i> sp.	AD01042_J000233	1767
<i>Pandalura oconnori</i>	KF891887	1762
<i>Pandalura strigisoti</i>	KF891888	1759
<i>Pandalura</i> sp.	KF891889	1736
<i>Picalgoides pteroglossorum</i>	JQ000224	1744
<i>Picalgoides picimajoris</i>	EU152568	1698
<i>Picalgoides</i> sp.	EU152569	1690
<i>Temnalges</i> sp.	JQ000219	1766

**Quadro 3.** Sequências de 18S rRNA utilizadas para o alinhamento múltiplo com a sequência obtida do ácaro *A. galli* para a geração das árvores filogenéticas

Espécie	Número de acesso GenBank	Comprimento (pb)
Rhipicephalus (Boophilus) microplus 28S rRNA	CM023468 Posição: 24555780 a 24559206	3426
rRNA 28S <i>Dermatophagoides farinae</i>	JQ000555	3669
Hyomesalges sp. AD1028 28S ribosomal RNA gene	JQ000528	3643
Pandalura oconnori isolate AD716 28S ribosomal RNA gene	KF891895	3639
Pandalura sp. AD1197 28S ribosomal RNA gene	KF891897	3641
Pandalura strigisoti isolate AD749 28S ribosomal RNA gene	KF891896	3639
Pandalura strigisoti isolate AD749 28S ribosomal RNA gene	JQ000527	3636
Picalgoides sp. n. AD787 28S ribosomal RNA gene	JQ000529	3653
Picalgoides sp. n. AD787 28S ribosomal RNA gene	EU152693	1415
Picalgoides aff. <i>pteroglossorum</i> AD1152 28S ribosomal RNA gene	JQ000532	3647
Picalgoides picimajoris voucher UMMZ BMOC 061119177 AD757 28S ribosomal RNA gene	JQ000530	3648
Picalgoides sp. AD1159 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	JQ000533	3644
Picalgoides sp. n. AD582 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	JQ000531	3650
Picalgoides sp. n. AD582 28S ribosomal RNA gene	EU152695	1416
Mesalgoides sp. n. AD773 28S ribosomal RNA gene	JQ000536	3649
Mesalgoides sp. n. AD747 28S ribosomal RNA gene	JQ000534	3652

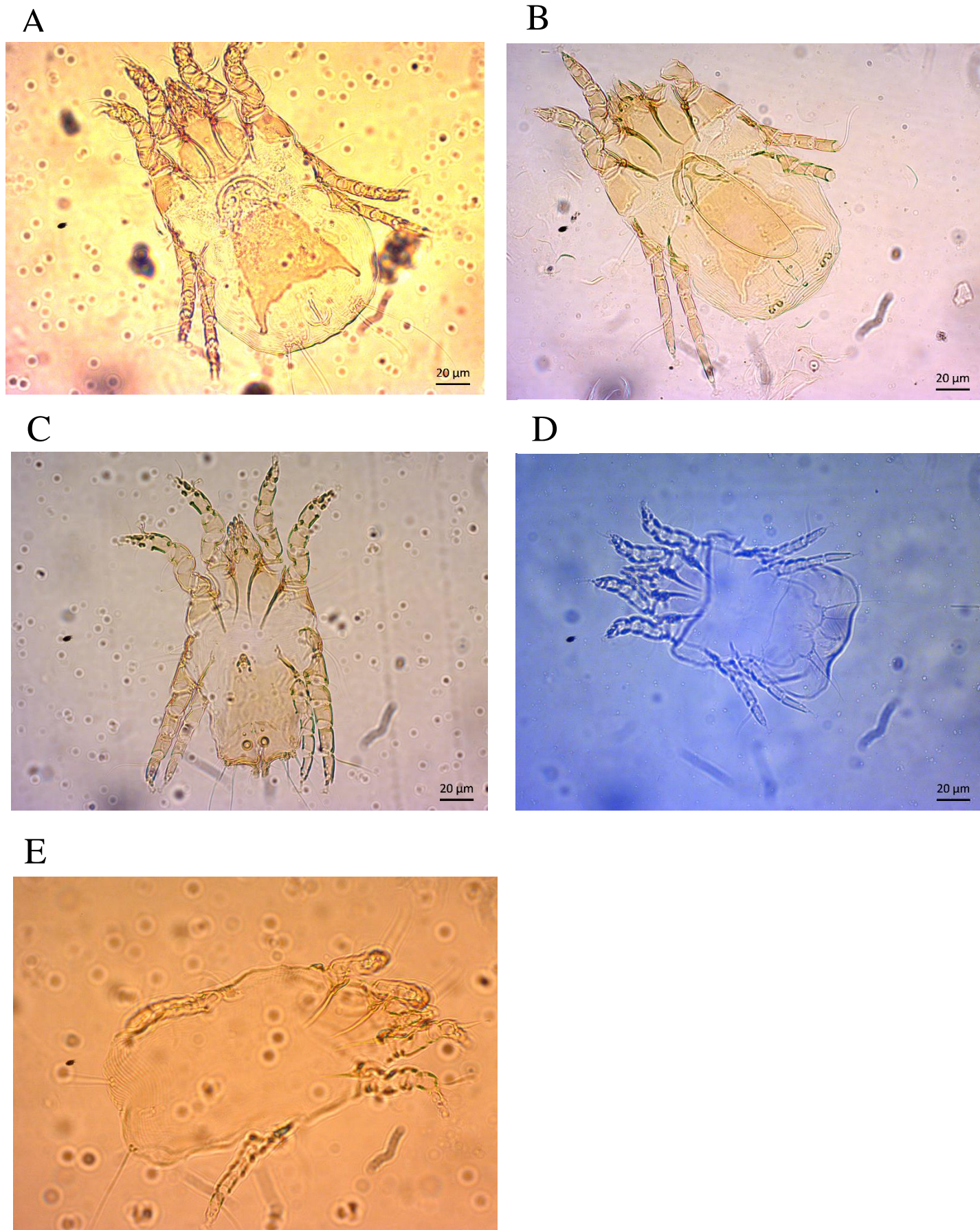
**Quadro 4.** Sequências de 28S rRNA utilizadas para o alinhamento múltiplo com a sequência obtida do ácaro *A. galli* para a geração das árvores filogenéticas

## **5. Resultados**

### **5.1 Identificação dos ácaros presentes nos raspados das aves infestadas**

Durante a triagem dos 100 espécimes, todos os indivíduos adultos foram identificados como ácaros da espécie *A. galli*. As lâminas montadas com alguns dos espécimes triados confirmaram a primeira identificação, visto que machos e fêmeas adultos presentes nas lâminas mostraram realmente ser da espécie já identificada. Quando realizadas as triagens, foi observada a presença de formas jovens que podemos inferir que também sejam da espécie *A. galli* (Figura 9).

Lâminas e material imerso em álcool 70% foram depositados na coleção “Parasitas e Artrópodes de Importância Médico-Veterinária do Instituto Biológico”, sob o número AP 20/2021.



**Figura 9.** [A] Fêmea [B] fêmea com ovo [C] macho [D] ninfa [E] larva da espécie *A. galli*  
**Fonte:** ANJOS & MORAN (2022)

## **5.2 Avaliação da transmissão horizontal - intervenção em uma população exposta e outra não-exposta**

Na contagem do dia 4, 7 das 24 aves do grupo N tiveram raspados de pele positivos. Nessa contagem, em 5 das 6 gaiolas pelo menos uma das aves do grupo N já apresentaram raspados de pele positivos, sendo que a gaiola 6 apresentou o maior número de aves comprovadamente infestadas. Porém em todos os raspados positivos foram contados um total igual ou inferior a 3 indivíduos (Tabela 1).

Na contagem do dia 7 todas as gaiolas já apresentaram aves do grupo N com raspados positivos, sendo 12 no total distribuídas da seguinte forma: gaiolas 4 e 5, uma ave, gaiolas 1, 2 e 3, duas aves, e a gaiola 6, três aves. Nesse dia, as contagens variaram entre 0 e 4 ácaros por raspado das aves do grupo N (Tabela 1).

Na contagem do dia 14, 15 aves do grupo N apresentaram raspado de pele positivo, sendo uma na gaiola 2, duas nas gaiolas 1 e 6, 3 nas de número 3 e 4 e todas as da gaiola 5. Os raspados com o maior número de ácaros foram os das aves 9N (Gaiola 3) e 15N (Gaiola 4), com 13 e 12 ácaros respectivamente. Considerando o total de ácaros do grupo N na contagem do dia 14, uma ordem decrescente foi estabelecida pelas gaiolas 4,3,6,1,5 e 2, com os seguintes percentuais, respectivamente: 25, 22, 21, 18, 13 e 1 (Tabela 1).

No dia 21 do experimento, foram contados ácaros nos raspados de 19 aves do grupo N. Nas gaiolas 4 e 5 todas as 4 aves estavam comprovadamente infestadas; nas gaiolas 1,2 e 6, 3 aves apresentaram raspados positivos e, na gaiola 3, duas aves. Nessa contagem, considerando o total de ácaros nas aves do grupo N, as gaiolas 6,3,1,5,4 e 2 apresentaram 31%, 23%, 14%, 14%, 10% e 7% dos ácaros. A ave 9N novamente teve o raspado com a maior quantidade de ácaros (15); a 21N (gaiola 6) ficou em segundo lugar, com 10 ácaros (Tabela 1).

No penúltimo dia de contagem, o número de aves do grupo N com raspados positivos aumentou para 20, sendo que as gaiolas, 1,2,5, e 6 contaram com 3 aves comprovadamente infestadas; as 3 e 4 estavam com todas as aves infestadas. Nessa contagem, considerando somente as aves do grupo N, os percentuais de ácaros por gaiola em relação ao total foram: 18% para a gaiola 1, 16% para a de número 2 e as demais com 13% cada uma. Nessa contagem, as aves, 9N e 21N novamente apresentaram o maior número de ácaros, 23 e 15 respectivamente (Tabela 1).

Ao final do experimento, 3 das 24 aves do grupo N apresentaram raspados negativos: 6N (gaiola 2), 19N (gaiola 5) e 22N (gaiola 6). A primeira e a última não apresentaram raspados positivos em nenhuma das contagens; a 19N e a 4N tiveram apenas um único ácaro nas contagens dos dias 35 e 21, respectivamente. As aves 9N (25 ácaros) e 21N (15 ácaros) permaneceram como as mais infestadas. Nessa última contagem, considerando somente os ácaros nas aves do grupo N, os

percentuais de ácaros de cada gaiola, em ordem decrescente, foram 34,18,16,16,8 e 7 nas gaiolas 3,4,2,6,1 e 5 respectivamente (Tabela 1).

As quantidades totais de ácaros em cada uma das contagens a partir do dia 4 obtidas nos raspados das aves do grupo N apresentaram valores sempre crescentes: 11(dia 4), 24 (dia7), 72 (dia 14), 70 (dia 21), 106 (dia 28) e 148 (dia 35) [Tabela 1]. Praticamente o inverso foi verificado em relação à contagem das aves do grupo P: 100 (dia 0), 99 (dia 7), 104 (dia 14), 91 (dia21), 86 (dia28) e 74 (dia 35) [Tabela 2].

Ao final do experimento, todas as aves do grupo P tiveram raspados com menores quantidades de ácaros do que o que foi apresentado no dia 0. Os percentuais de redução foram os seguintes, 29% (P1), 65% (P2), 13% (P3), 19% (P4), 23% (P5) e 6% (P6). A média de ácaros por contagem nas aves do grupo P variou de 13 a 20, sendo a P6 e P1 as aves que apresentaram a menor e a maior média, respectivamente. Apesar de a infestação das aves do grupo P aparentemente reduzir no decorrer do experimento, em geral as aves ainda estavam mais parasitadas que as do grupo N na contagem do dia 35 (Tabelas 1e 2).

**Tabela 1.** Dados absolutos e porcentagens das contagens de ácaros *A. galli* dos raspados de pele das aves do grupo N

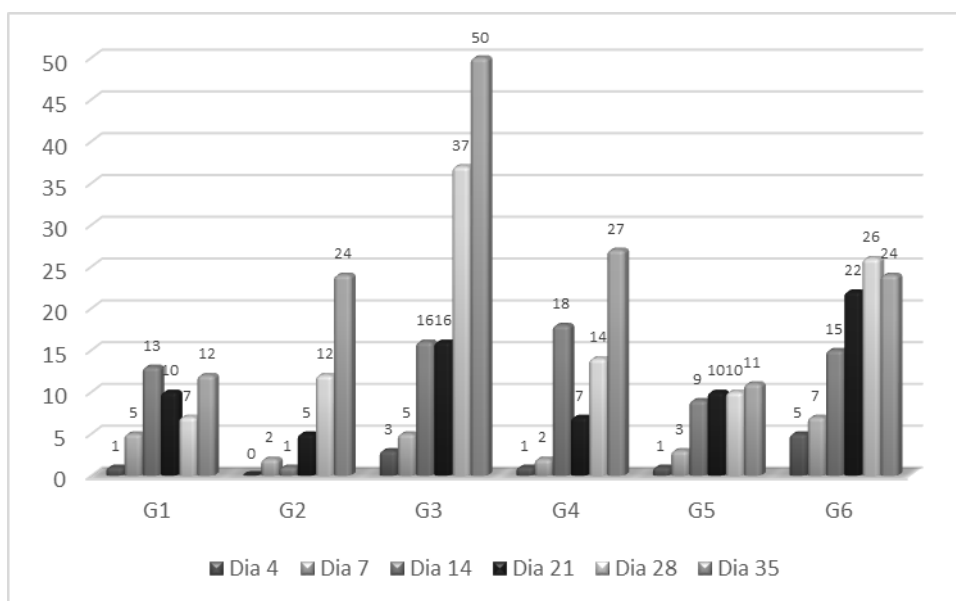
	Ave	Dia 4	% Dia 4	Dia 7	% Dia 7	Dia 14	% Dia 14	Dia 21	% Dia 21	Dia 28	% Dia 28	Dia 35	% Dia 35	Total	% Total
G 1	1N	0	0	0	0	0	0	1	1,4	1	0,9	3	2,0	5	1,2
	2N	0	0	2	8,3	5	6,9	1	1,4	1	0,9	3	2,0	12	2,8
	3N	1	9,1	3	12,5	8	11,1	8	11,4	5	4,7	5	3,4	30	7,0
	4N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	1	0,7	1	0,2
G 2	5N	0	0	1	4,2	1	1,4	3	4,3	5	4,7	8	5,4	18	4,2
	6N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0
	7N	0	0	0	0	0	0	1	1,4	6	5,7	8	5,4	15	3,5
	8N	0	0	1	4,2	0	0	1	1,4	1	0,9	8	5,4	11	2,6
G 3	9N	3	27,3	4	16,7	13	18,1	15	21,4	23	21,7	25	16,9	83	19,3
	10N	0	0	0	0	0	0	1	1,4	8	7,5	9	6,1	18	4,2
	11N	0	0	0	0	1	1,4	0	0	1	0,9	8	5,4	10	2,3
	12N	0	0	1	4,2	2	2,8	0	0	5	4,7	8	5,4	16	3,7
G 4	13N	0	0	0	0	1	1,4	2	2,9	2	1,9	8	5,4	13	3,0
	14N	0	0	0	0	2	2,8	1	1,4	5	4,7	12	8,1	20	4,6
	15N	1	9,1	2	8,3	12	16,7	2	2,9	5	4,7	5	3,4	27	6,3
	16N	0	0	0	0	3	4,2	2	2,9	2	1,9	2	1,4	9	2,1
G 5	17N	0	0	0	0	2	2,8	1	1,4	1	0,9	1	0,7	5	1,2
	18N	1	9,1	3	12,5	5	6,9	4	5,7	3	2,8	3	2,0	19	4,4
	19N	0	0	0	0	0	0	1	1,4	0	0,0	0	0,0	1	0,2
	20N	0	0	0	0	2	2,8	4	5,7	6	5,7	7	4,7	19	4,4
G 6	21N	2	18	3	13	7	10	10	14	15	14	15	10	52	12
	22N	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	23N	2	18	3	13	8	11	9	13	9	8	8	5	39	9
	24N	1	9	1	4	0	0	3	4	2	2	1	1	8	2
	Σ	11	100	24	100	72	100	70	100	106	100	148	100	431	100

G - Gaiola

**Tabela 2.** Dados absolutos das contagens de ácaros *A. galli* do nas aves do grupo P e variação percentual em relação as contagens do dia zero.

Ave	Dia 0	Dia 7	% Dia 7/Dia 0	Dia 14	% Dia 14/Dia 0	Dia 21	% Dia 21/Dia 0	% Dia 0	% Dia 28/Dia 0	Dia 35	% Dia 35/Dia 0	Total	Média
P1	21	20	-5	23	10	20	-5	18	-14	15	-29	117	20
P2	17	18	6	15	-12	17	0	13	-24	6	-65	86	14
P3	15	15	0	16	7	10	-33	13	-13	13	-13	82	14
P4	16	15	-6	16	0	14	-13	13	-19	13	-19	87	15
P5	13	11	-15	15	15	13	0	13	0	10	-23	75	13
P6	18	20	11	19	6	17	-6	16	-11	17	-6	107	18
Σ	100	99		104		91		86		74		554	

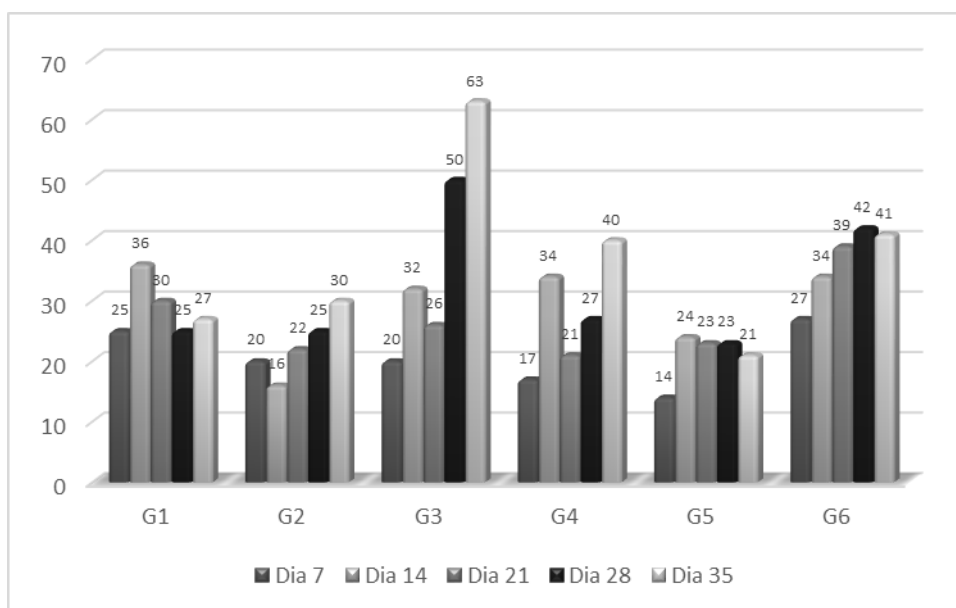
Somando os ácaros das quatro aves do grupo N de cada gaiola, foi observado que as gaiolas 2, 3, 4 e 5 apresentaram um maior número de ácaros na última contagem; já nas gaiolas 1 e 6, o número máximo de ácaros foi obtido na penúltima contagem. Na contagem do dia 35, as aves do grupo N da gaiola 3 apresentaram o maior somatório do número de ácaros, o que ocorreu devido ao fato de que, nessa gaiola, estava a ave 9N, que foi a mais parasitada entre as 24 (Figura 10).



**Figura 10.** Número de ácaros *A. galli* nas aves do grupo N agrupadas por gaiola em cada contagem. G: gaiola.

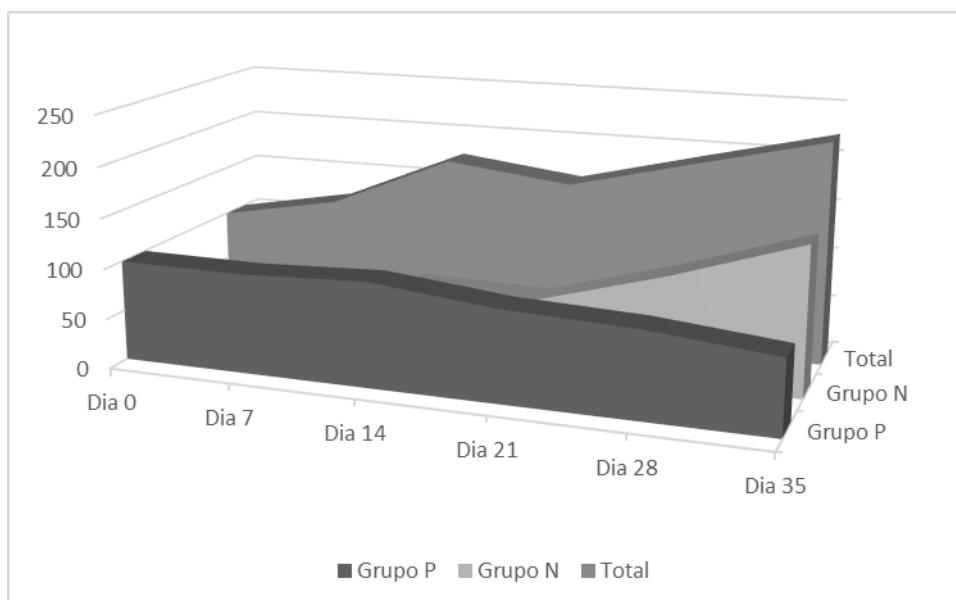


Nas somatórias dos ácaros de todas as aves (grupos P e N) por gaiola, a partir da coleta do dia 7, verifica-se que as gaiolas 2, 3, e 4 tiveram o pico na última contagem; para as gaiolas 1 e 4, o pico ocorreu na contagem do dia 14, e, na gaiola 6, na contagem do dia 28. A gaiola 3, que já havia tido o maior número de parasitas na contagem geral no dia 35, quando considerado somente os ácaros das aves do grupo N, continuou apresentando a mesma condição (Figura 11).



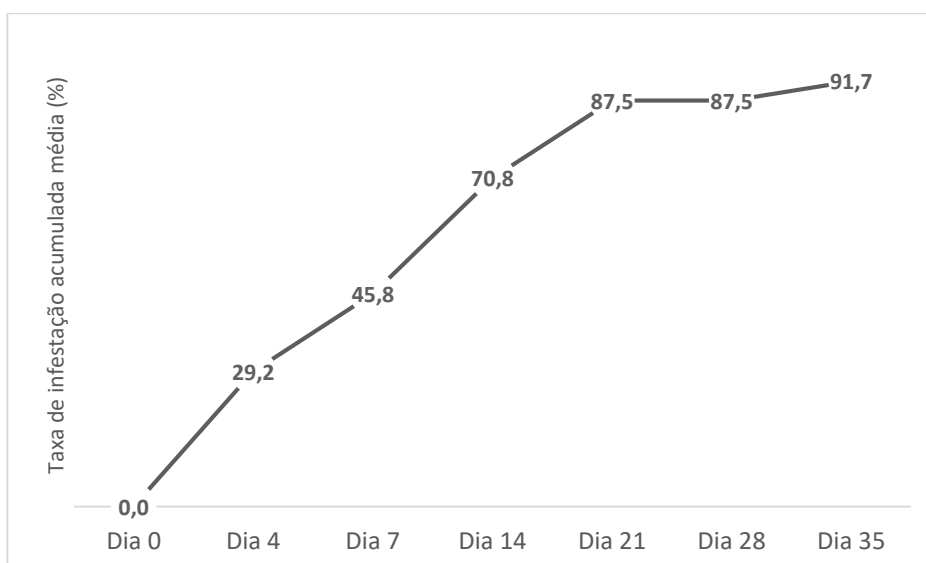
**Figura 11.** Número de ácaros *A. galli* nas aves do grupo P agrupadas por gaiola em cada contagem. G: gaiola.

No total de ácaros em todas as aves dos grupos N e P, verifica-se, ao final dos 35 dias, que há declínio da infestação no grupo P e crescimento no grupo N. Quando se observa a contagem geral, verifica-se que a infestação estava em crescimento ao final desse período (Figura 12).



**Figura 12.** Números absolutos de ácaros de *A. galli* do grupo P, N e de P+N em todas as contagens exceto na do dia 4.

A curva de Kaplan-Meier mostra que houve aumento da infestação acumulada média que variou de 17,5% a 25% entre uma contagem e outra até a avaliação do dia 21. A infestação ficou estável entre as contagens do dia 21 e 28 e teve aumento de aproximadamente 4% no dia 35, comparado ao dia 28 (Figura13).



**Figura 13.** Curva de Kaplan representando a incidência acumulada.

O tempo médio da infestação da primeira galinha do grupo N pelo ácaro *A. galli* foi de 4,5 dias. Já o tempo médio da infestação no geral (cada galinha em todas as gaiolas) foi de 13,7 dias, com mediana de 14 dias. Para ambos os cálculos, o nível de significância foi de 95%.

Lesões macroscópicas foram observadas, sendo as primeiras representadas por alterações na pele, que se torna mais espessa e adquire coloração ligeiramente amarelada, seguida pelo aparecimento de descamação que progride com o aumento da infestação. Com a evolução do quadro, há um aumento de oleosidade e formação de crostas. As aves apresentam um prurido frequente, que se intensifica com o aumento da infestação.

### 5.3 Análises moleculares e filogenéticas

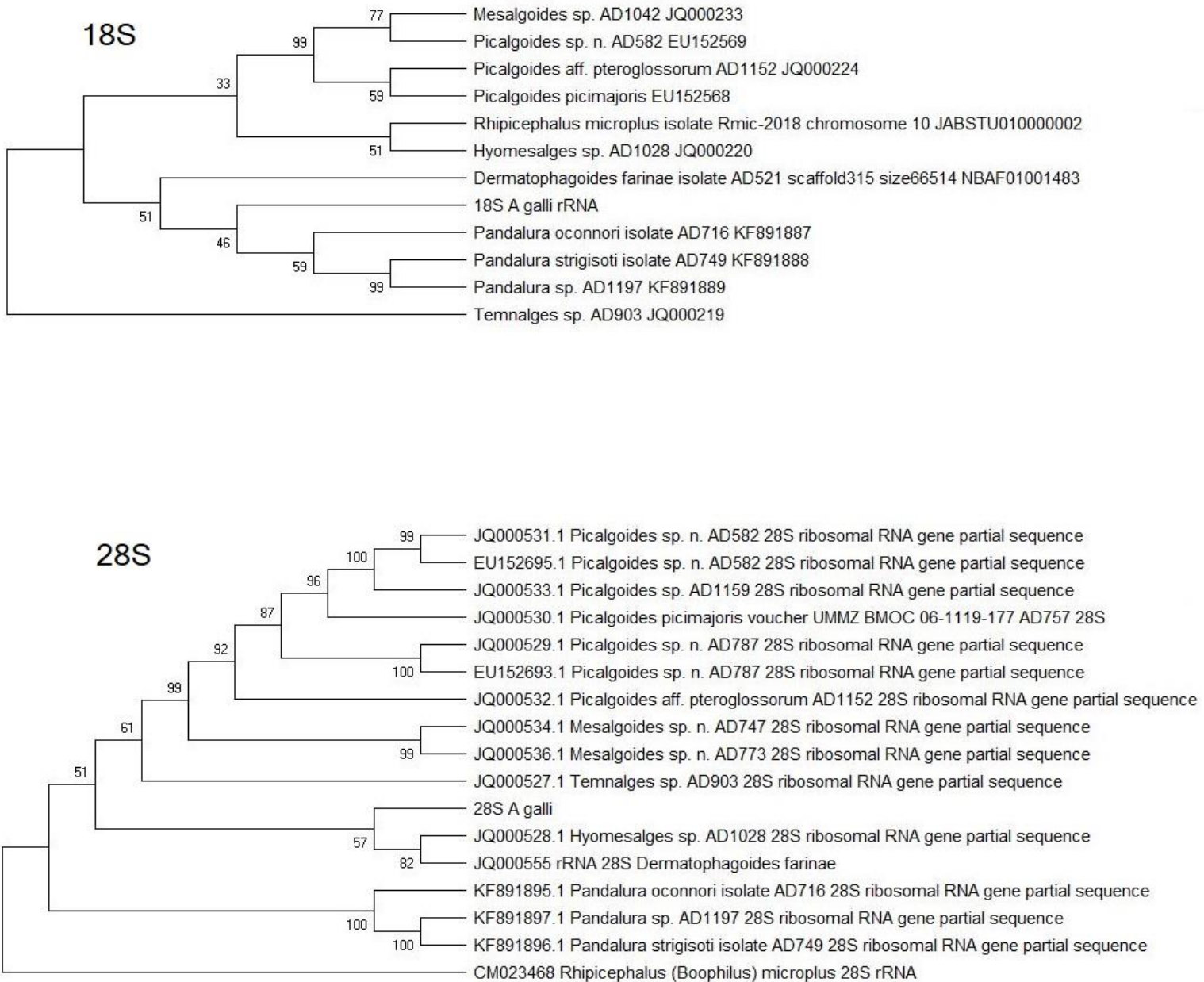
As sequências do 18S e do 28S rRNA do ácaro *A. galli* obtidas neste estudo são compostas por 589 e 642 pares de bases, respectivamente, e estão depositadas no GenBank com os As sequências do 18S e do 28S rRNA do ácaro *A. galli* obtidas neste estudo são compostas de 589 e 642 pares de bases, respectivamente, e estão depositadas no GenBank, com os seguintes códigos de acesso: OK533677 e OK533676.

Uma busca no banco de dados de DNA (GenBank) pelo programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), com a sequência experimental obtida do 18S rRNA do ácaro *A. galli* resultou em uma lista de sequências de alta similaridade (ao redor de 95%) com sequências de DNA da família Psoroptoididae e de outras da mesma superfamília Analgoidea. A mesma pesquisa, porém, retorna apenas sequências com alta identidade (94%) com a espécie *Dermatophagoides farinae* quando se restringe a base de dados apenas aos registros de sequências de rRNA revisadas e classificadas como altamente confiáveis. Nessa consulta, as demais sequências apresentaram identidade igual ou menor a 85%. Em ambos os alinhamentos, a porcentagem de cobertura de cada sequência encontrada foi próxima de 100%. As pesquisas feitas com o 28S rRNA do ácaro *A. galli* com as mesmas bases de dados utilizadas acima resultaram em uma lista de sequências de similaridade ao redor de 83% com sequências de DNA da família Psoroptoididae e de outras da mesma superfamília Analgoidea. Assim como na busca com a sequência de 18S rRNA, em uma consulta restrita à base de dados mais confiável, encontrou-se a maior identidade (81%) com o 28S rRNA de *D. farinae*, quando consideradas somente as sequências com cobertura próxima de 100%.

A montagem da árvore filogenética da sequência de 18S rRNA do ácaro *A. galli* pelo método de máxima parcimônia agrupou a sequência do ácaro *A. galli* com todas as do gênero *Pandalura*. As espécies de *Pandalura* e *Picalgoides* agruparam-se em seus respectivos gêneros em clados próximos. A sequência do gênero *Hyomesalges* agrupou-se inesperadamente com os gêneros de Pandalurinae. Nessa simulação, tanto *R. (Boophilus) microplus* quanto *D. farinae*

agruparam-se com os psoroptoidídeos, mesmo sendo, respectivamente, espécies representantes de ordem (Ixodida) e de família (Pyroglyphidae) mais distantes do ponto de vista filogenético. Esse agrupamento inesperado foi também obtido para as sequências de 28S rRNA com o mesmo método de simulação. Nessa árvore de sequências de 28S rRNA, os gêneros *Picalgoides*, *Mesalgoides* e *Pandalura* agruparam-se em ramos monofiléticos de acordo com os seus respectivos gêneros, e o ácaro *A. galli* agrupou-se monofileticamente com uma dicotomia basal entre uma espécie do gênero da subfamília Psoroptoidinae (*Hyomesalges*) com o *D. farinae* (Figura 14).

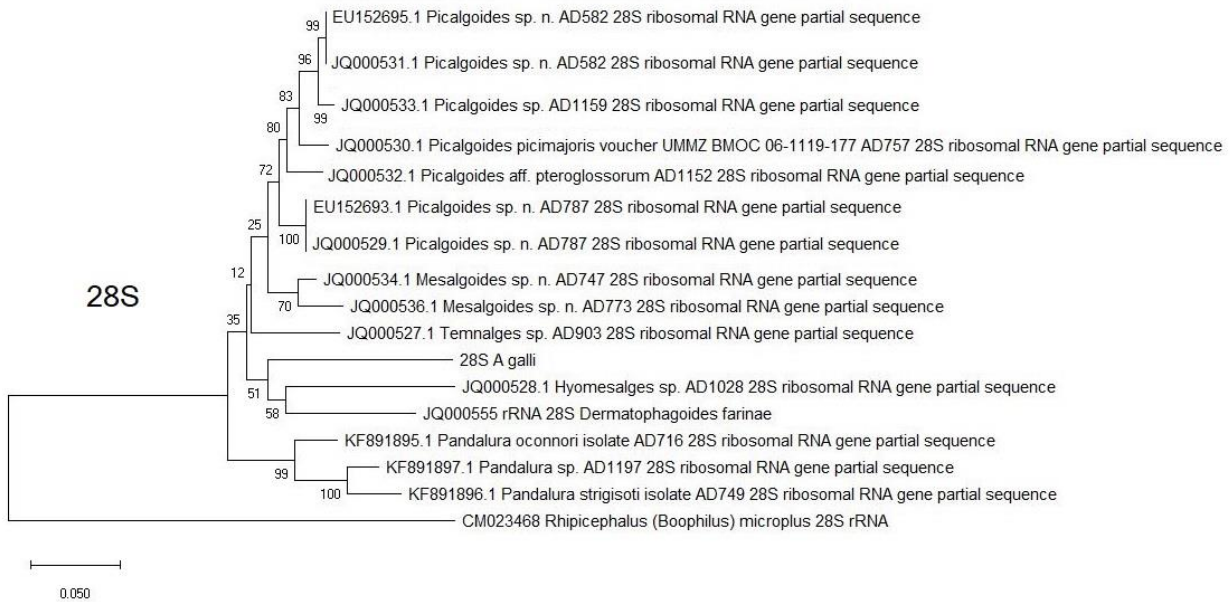
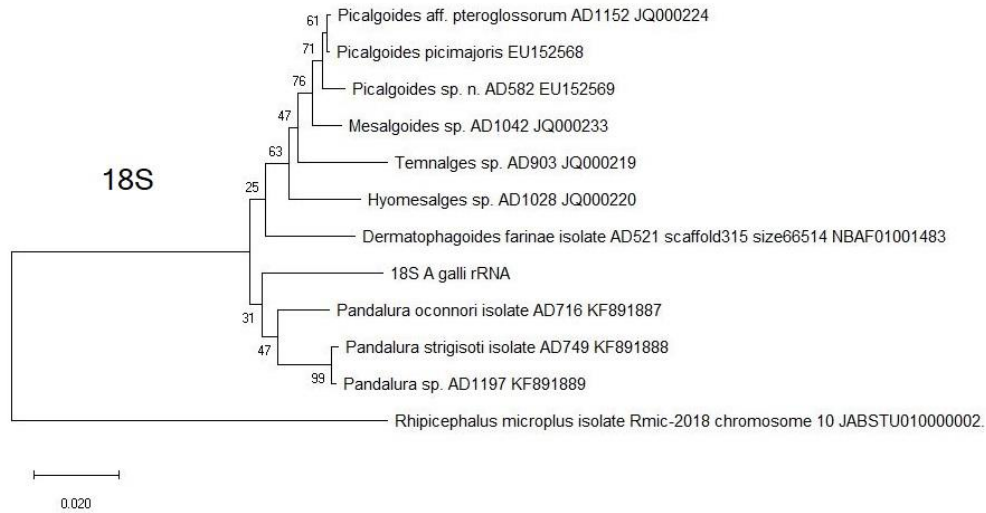
## Máxima Parcimônia



**Figura 14.** Árvores filogenéticas com as sequências de 18S e 28S rRNA do ácaro *A. galli* pelo método de máxima parcimônia

A montagem da árvore filogenética da sequência de 18S rRNA do ácaro *A. galli* pelo método de Neighbor-Joining agrupou a sequência de *R. (Boophilus) microplus* em concordância com a taxonomia atual, o que não se verificou com o *D. farinae*, que se agrupou com os psoroptoidídeos. Já os picalgoides e pandaluras agruparam-se em ramos monofiléticos de acordo com os seus respectivos gêneros. O grande grupo de psoroptoidídeos dividiu-se em dois ramos parafiléticos. Um deles agrupa o ácaro *A. galli* com três sequências do gênero *Pandalura*, enquanto o outro clado agrupa os demais representantes das duas subfamílias Psoroptoidinae e Pandalurinae. A topologia da árvore do 28S rRNA com esse mesmo método de simulação se mostrou semelhante à do 18S rRNA, pois agrupou monofileticamente as sequências do gênero *Pandalura*, agrupando, porém, o ácaro *A. galli* com *Hyomesalges* e o *D. farinae*, mesma dicotomia basal observada na árvore obtida pela Máxima Parcimônia, que agrupa a espécie do gênero da subfamília Psoroptoidinae (*Hyomesalges*) com o *D. farinae* (Figura 15).

## Neighbor-Joining



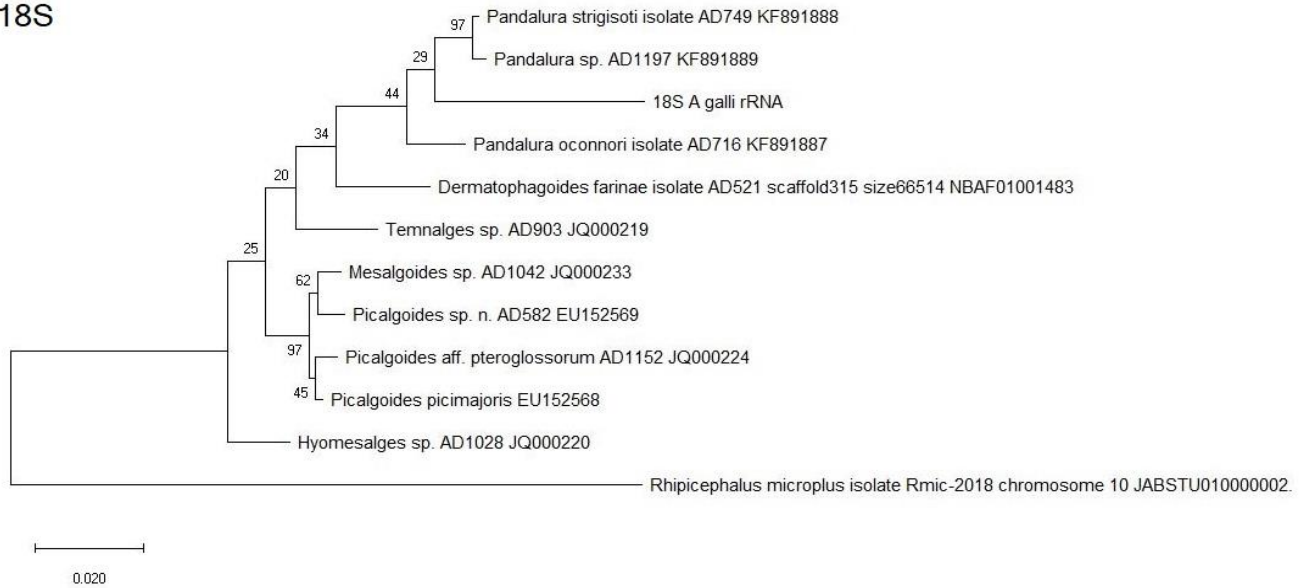
**Figura 15.** Árvores filogenéticas com as sequências de 18S e 28S rRNA do ácaro *A. galli* pelo método de Neighbor-Joining

A montagem da árvore filogenética da sequência de 18S rRNA do ácaro *A. galli* pelo método de Máxima Verossimilhança mostrou maior fidelidade à atual classificação taxonômica, exceto novamente pelo posicionamento do *D. farinae* agrupado aos psoroptoidídeos. Nessa árvore, os representantes da subfamília Pandalurinae se segregaram da única espécie de Psoroptoidinae (*Hyomesalges*) incluída no alinhamento múltiplo, e o ácaro *A. galli* agrupou-se com as espécies do gênero *Pandalura*. A árvore do 28S rRNA com esse mesmo método de simulação novamente agrupou o *D. farinae* entre os psoroptoidídeos e não segregou *Hyomesalges* como grupo parafilético à subfamília Pandalurinae. Entretanto, como na árvore simulada para o 18S rRNA, o *R. (Boophilus) microplus* posicionou-se externamente como esperado. Nessa árvore, o ácaro *A. galli* agrupou-se parafileticamente com o *Temnalges* em uma dicotomia basal com os *Picalgoides* e *Mesalgoides* (Figura 16).

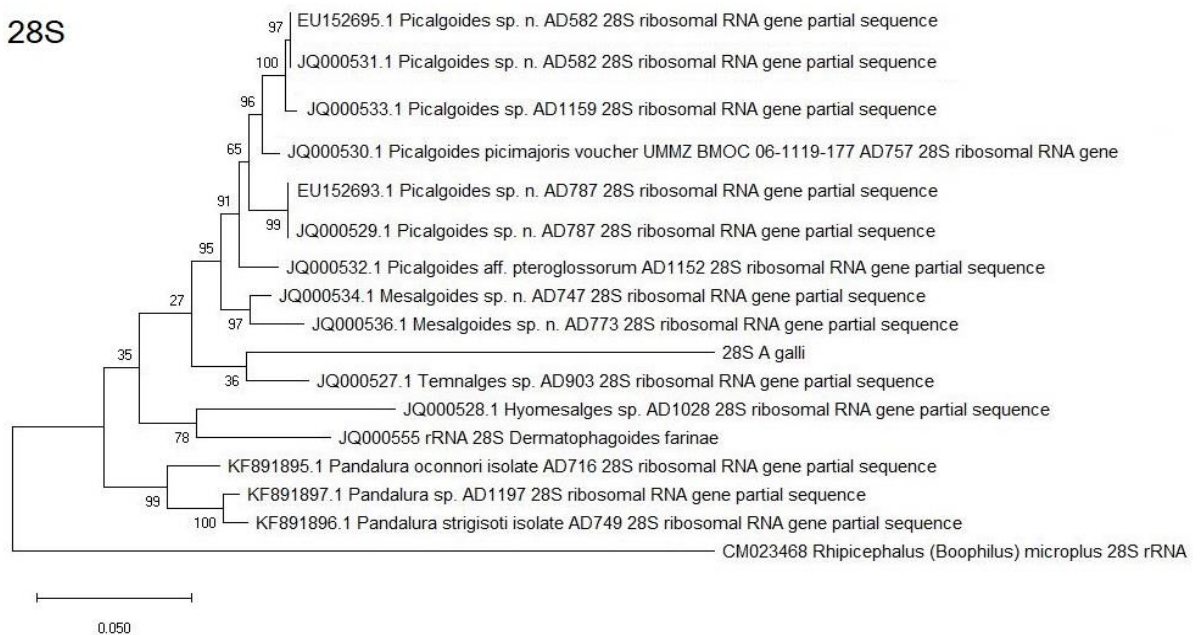


## Máxima Verossimillhança

18S



28S



**Figura 16.** Árvores filogenéticas com as seqüências de 18S e 28S rRNA do ácaro *A. galli* pelo método de Máxima Verossimillhança.

## 6. Discussão

Ao final do experimento sobre a transmissão horizontal, a infestação, apresentou-se em crescimento, o que é demonstrado através da curva de Kaplan-Meier (Figura 13). O que parece ter ocorrido é que o aumento do parasitismo gradual nas aves do grupo N ao longo das cinco semanas permitiu o crescimento da população de ácaros mesmo com a queda do número desses parasitos nas aves do grupo P. Um fato a se destacar é a menor carga parasitária de todas as aves do grupo P após o período de 35 dias.

O estudo realizado por Tucci et al. (2014), ao colocar em contato direto galinhas infestadas por ácaros da espécie *A. galli* com outras que não estavam parasitadas, utilizando uma proporção 1:1 com um total de 24 aves, demonstrou o aparecimento de sintomas após 15 dias. Uma analogia pode ser feita com os resultados desse estudo, já que o tempo médio de infestação geral foi de 13,7 dias com mediana de 14 dias. É preciso, porém, considerar que, neste trabalho, a proporção entre aves infestadas e não parasitadas foi de 1:4.

As lesões macroscópicas observadas, pele espessa com coloração ligeiramente amarelada, descamação que progride com o aumento da infestação e prurido frequente, em muito se assemelham às relatadas no estudo citado acima.

Os resultados aqui disponibilizados podem vir a ser úteis para orientar manejos de controle já empregados. Pela constatação de que, entre as 24 aves do grupo N havia tanto aves resistentes, com nenhum ou apenas um ácaro, somando todos os raspados, quanto aves suscetíveis, que apresentaram logo nos primeiros 15 dias maiores quantidades de parasitas e se mantiveram mais parasitadas até ao final do experimento, infere ser esta uma condição que deve ser abordada em novas pesquisas, pois pode revelar conhecimento relevante para o aprimoramento do manejo de pragas nas granjas de avicultura de postura. Entre esses conhecimentos, estudos moleculares para verificar se tais condições estariam relacionadas a mutações em genes específicos, visto que a engenharia genética é cada vez mais utilizada como ferramenta no aprimoramento da produção no agronegócio.

O posicionamento semelhante ao do ácaro da família Pyroglyphidae parafileticamente aos psoroptoidídeos em todas as árvores também foi encontrado por Klimov & O'Connor (2013), tanto para o marcador 18S quanto para o 28S. Os resultados obtidos neste estudo concordam com esses autores principalmente nas árvores com sequências da região 28S, nas quais o *Hyomesalges* foi o psoroptoidídeo agrupado parafileticamente mais próximo do *D. farinae* do que dos demais representantes da família Psoroptoididae (*Mesalgoides*, *Picalgoides* e *Temnalges*). Importante neste caso citar o fato de que Mironov (2013) descreve o gênero *Allopsoroptoides* muito próximo ao *Cygnocoptes*, o mesmo gênero que era classificado como pertencente à família Pyroglyphidae, e ainda neste artigo o autor argumenta sobre a necessidade

de serem realizados estudos filogenéticos com todas as espécies de psoroptoidídeos atualmente reconhecidos. Ele baseia sua sugestão justamente citando o fato de o artigo de Klimov & O'Connor (2013) não comprovar relações parafiléticas das subfamílias Pandalurinae e Psoroptoidinae em investigações filogenéticas dos astigmatas.

O uso de sequências de DNA disponíveis em bancos de dados públicos de ácaros (*D. farinae* e *R. [Boophilus] microplus*) relacionados em diferentes níveis taxonômicos com o objetivo de indicar a robustez da reconstrução filogenética mostrou sucesso apenas para o nível taxonômico mais alto, e ainda assim somente com o uso dos métodos de

Neighbor-Joining e máxima verossimilhança.

Embora todas as árvores filogenéticas obtidas tanto para as sequências de 18S rRNA quanto para a sequência de 28S rRNA apresentem um alto grau de discordância com a taxonomia atual, nota-se que, em todas as árvores obtidas para a sequência 18S rRNA, o alinhamento do ácaro *A. galli* ficou próximo às sequências do gênero *Pandalura*. Entretanto, com relação à sequência 28S rRNA, quando se utilizaram os métodos de máxima parcimônia e de Neighbor-Joining, houve maior proximidade de alinhamento com *Hyomesalges* e *D. farine*, resultado completamente discordante da taxonomia atual, visto que se trata de espécies da família Psoroptoididae, subfamília Psoroptoidinae, e da família Piroglyphidae, respectivamente. Já o método de máxima verossimilhança agrupou o ácaro *A. galli* com os gêneros da família Pandalurinae: *Temnalges*, *Picalgoides* e *Mesalgoides*. Árvores filogenéticas discordantes entre si, obtidas a partir do alinhamento múltiplo de marcadores genéticos distintos, também foram obtidas por Knowles e Klimov (2011) e por Klimov e O'Connor (2013). Os primeiros autores citados concatenaram entre si as árvores de diferentes topologias de 4 genes (18S, 28S, HSP70 e EF-1 $\alpha$ ) e obtiveram uma árvore consensual mais robusta com suporte aos diferentes nós evolutivos mais robusto do que nas árvores dos marcadores individuais.

## 7. Conclusão

O ácaro *A. galli* é uma espécie descrita há relativamente pouco tempo, e apresentam-se neste estudo resultados analíticos de sua transmissão horizontal, análises filogenéticas das primeiras sequências de DNA obtidas desse organismo. As principais conclusões obtidas foram:

- Após 4,5 dias já ocorreu a transmissão horizontal do ácaro *A. galli*
- Foram identificadas aves sensíveis e resistentes ao parasitismo pelo ácaro *A. galli* no período analisado

- Ao final do experimento a população de ácaros estava em crescimento considerando o número total de aves submetidas ao estudo.
- Foram obtidas as primeiras sequências de DNA da espécie *A. galli*, as quais estão depositadas no principal banco de dados público de sequências de DNA (GenBank), cujos links de acesso são: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OK533677> e <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OK533676>.
- Em todas as árvores obtidas para a sequência 18S rRNA, o alinhamento do ácaro *A. galli* ficou próximo às sequências do gênero *Pandalura*, que pertence à mesma subfamília Pandalurinae.
- Em relação à sequência 28S rRNA, quando se utilizaram os métodos de máxima parcimônia e de Neighbor-Joining, houve maior proximidade de alinhamento com *Hyomesalges* e *D. farine.*, enquanto o método de máxima verossimilhança agrupou o ácaro *A. galli* com os gêneros da subfamília Pandalurinae: *Temnalges*, *Picalgoides* e *Mesalgoides*.
- A geração de novas sequências de DNA, de outros alelos, é fundamental para fornecer dados necessários para análises moleculares adicionais a fim de que seja possível aumentar a precisão e a robustez do posicionamento filogenético do ácaro *A. galli*.

## 8. Referências

- AXTELL, R.C.; ARENDS, J.J. Ecology and management of arthropod pests of poultry. Annu. Rev. Entomol., v.35, p. 101-26, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.35.010190.000533>. Acesso em: 20 ago. 2021.
- BASSINI-SILVA, R., JACINAVICIUS, F. D. C., HERNANDES, F. A., OCHOA, R., BAUCHAN, G. R., DOWLING, A. P., & BARROS-BATTESTI, D. M. Dermatitis in humans caused by *Ornithonyssus bursa* (Berlese 1888) (Mesostigmata: Macronyssidae) and new records from Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 28, 134-139. 2019. Acesso em: 20 ago. 2021.
- BROWN, N.S. The effect of host beak condition on the size of *Menacanthus stramineus* populations of domestic chickens. Poult. Sci., v.51, p.162-164. 1972. Acesso em: 20 ago. 2021.
- BUIM, M.R., LEFFER, A.M.C., DEL FAVA, C. SPINOSA, H.S., BUENO, R.S., GÓMIK, S.L. The First Report about *Allopsoroptoides galli* n. g., n. sp (Acari: Analgoidea: Psoroptoididae) Infected Layer Hens: Hematological, Serum Chemistry, and Histopathologic Findings. International Journal of Poultry Science. 2013, 12 (5): 261-263. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3923/ijps.2013.261.263>. Acesso em: 20 ago. 2021
- CRAIG, J.V.; CRAIG J.A.; VARGAS, J.V. Corticosteroids and other indication of hen's well-being in four laying house environments. Poult. Sci., v.65, p.856-863, 1986. Acesso em: 20 ago. 2021.
- DABERT J, MIRONOV SV. Origin and evolution of feather mites (Astigmata). Exp. Appl. Acarol. 23:437–54.1999. Acesso em: 20 ago. 2021.
- DUBININ V.B.. Feather mites (Analgoidea). Part III. Family Pterolichidae. Fauna USSR 6(7):1–813, 1956
- FERREIRA, M. A saga da avicultura brasileira - Como o Brasil se tornou o maior exportador mundial de carne de frango. UBABEF , 120 p, 2011. Disponível em: [https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/pesquisas/avicultura\\_0.92125600%201514918416.pdf](https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/pesquisas/avicultura_0.92125600%201514918416.pdf). Acesso em: 17 mar. 2022

GAUD J, ATYEO WT. Feather mites of the world (Acarina, Astigmata): the supraspecific taxa. Part I. Text. Ann. Zool. Wet. 277:1–193,1996.

GAUD, J. Acariens plumicoles (Analgesoidea) parasites des oiseaux du Maroc. II. Analgidae. Bulletin de la Société de Sciences naturelles et physiques du Maroc, 38, 27–49, 1958.

GAUD, J., & ATYEO, W. T. The subfamilies of the Analgidae and Psoroptoididae (Acari: Analgoidea). Journal of Medical Entomology, 19, 299–305, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jmedent/19.3.299>. Acesso em: 20 ago. 2021

GUIMARÃES, J., TUCCI, E., & BARROS-BATTESTI, D. M. Ectoparasitas de importância veterinária. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 218p, 2001. Acesso em: 20 ago. 2021.

HERNANDES, F.A., PEDROSO, L.G.A., MIRONOV, S.V. From cuckoos to chicken: a caught-in-the-act case of host shift in feather mites (Arachnida: Acari: Psoroptidae). Parasitol. Res.113(12):4355-61, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00436-014-4110-7>. Acesso em: 20 ago. 2021

HORN, TB, KÖRBES, JH, GRANICH, J., SENTER, M. & FERLA, NJ. Influência dos sistemas de galinhas poedeiras na comunidade da fauna de ácaros (Acari) de granjas comerciais de aves no sul do Brasil. Parasitology Research, 115, 355-366, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4756-9>. Acesso em: 20 ago. 2021

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9216-pesquisa-trimestral-da-producao-de-ovos-de-galinha.html?edicao=20753&t=series-historicas>. Acesso em: 20 ago. 2021.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9216-pesquisa-trimestral-da-producao-de-ovos-de-galinha.html?edicao=20753&t=downloads>. Acesso em: 20 ago. 2021.

KLIMOV, P. B., & OCONNOR, B. M. Origin and higher-level relationships of psoroptidian mites (Acari: Astigmata: Psoroptidia): evidence from three nuclear genes. *Molecular*

*phylogenetics and evolution*, 47(3), 1135–1156, 2008  
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.12.025> Acesso em: 20 ago. 2021.

KLIMOV, P.B., OCONNOR, B.M. Is permanent parasitism reversible? - Critical evidence from early evolution of house dust mites. *Syst. Biol.* 62, 411-423, 2013 Disponível em: <https://doi.org/10.1093/sysbio/syt008>. Acesso em: 20 ago. 2021

KNOWLES, L & KLIMOV, P.B. Estimating phylogenetic relationships despite discordant gene trees across loci: the species tree of a diverse species group of feather mites (Acari: Proctophyllodidae). *Parasitol.* 138:1750–1759, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s003118201100031x>. Acesso em: 20 ago. 2021

LEE, E.T. *Statistical Methods for Survival Data Analysis*. 2 ed., New York: John Wiley and Sons, 1992. Acesso 04 de fevereiro de 2022.

MARTIN, M. A. Uma análise econométrica do mercado de ovos em São Paulo. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, Brasília, n. 4, p. 1-13, 1979. Disponível em: <https://www.revistasober.org/article/5d06c70a0e88257174f70b6d>. Acesso em: 20 ago. 2021

MARTINS, S.S. Situação e perspectivas da avicultura de postura no Brasil em 2003. *Informações Econômicas*, SP, v.33, n.12. 2003. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/ie/2003/seto1-1203.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2021

MAZZUCO, H.; ROSA, P.S.; PAIVA, D.P. de; JAENISCH, F.; MOY, J. Manejo e produção de poedeiras comerciais. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 67p, 1997. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/433213/1/doc44.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2021

MCNAIR, C. M. Ectoparasites of medical and veterinary importance: drug resistance and the need for alternative control methods. *J. Pharm. Pharmacol.* 67(3), 351-363, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jphp.12368>. Acesso em: 20 ago. 2021

MIRONOV S. V. *Allopsoroptoides galli* n. g., n. sp., a new genus and species of feather mites (Acari: Analgoidea: Psoroptoididae) causing mange in commercially raised domestic chicken

in Brazil. *Systematic Parasitology*, v. 85, p. 201–212, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11230-013-9422-y>. Acesso em: 20 ago. 2021

MIRONOV, S.V. *Allopsoroptoides galli* n.g., n.sp., a new genus and species of feather mites (Acari: Analgoidea: Psoroptodidae) causing mange in commercially raised domestic chicken in Brazil. *Syst. Parasitol.* (85): 201-212, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11230-013-9422-y>. Acesso em: 20 ago. 2021

OCONNOR BM. 1982. Acari: Astigmata. In *Synopsis and Classification of Living Organisms*, ed. SP Parker, pp. 146–69. New York: McGraw-Hill. 1232 pp. Acesso em: 20 ago. 2021

PROCTOR H. C. Feather mites (Acari: Astigmata): ecology, behavior, and evolution. *Annual review of Entomology*, 48, 185–209, 2003. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.48.091801.112725>. Acesso em: 20 ago. 2021.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2021. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso 04 de fevereiro de 2022.

REZENDE, L. D. C., CUNHA, L. M., TEIXEIRA, C. M., OLIVEIRA, P. R. D., & MARTINS, N. R. D. S. Mites affecting hen egg production: some considerations for Brazilian farms. *Ciência Rural*, 43(7), 1230-1237, 2013. Acesso em: 15 mar. 2022

SAATKAMP, M. G; DUARTE, S. C.; LOULY, C. C. B.; FERREIRA, L. L.; ARAÚJO, I. C. S. de. Importância, identificação e controle de piolhos e ácaros em galinhas poedeiras: perguntas & respostas. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2020. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1124931/1/final-9491.pdf>. Acesso em: 20 ago. 2021

SILVA, I.J. O. Sistemas de produção de galinhas poedeiras no Brasil - Alinhamento da estratégia nacional de bem-estar dos animais de produção, adotando o conceito proposto pela OIE. Disponível em: [http://www.sectordialogues.org/documentos/proyectos/adjuntos/b26c49\\_X-GUIA-GALINHAS-2019.pdf](http://www.sectordialogues.org/documentos/proyectos/adjuntos/b26c49_X-GUIA-GALINHAS-2019.pdf). Acesso em: 20 ago. 2021



SOARES, N.M., TUCCI, E.C., FREITAS, E.R., FERNANDES, E.P.B. Reduced productivity among confined laying hens infested by *Allopsoroptoides galli* (Mironov, 2013). Poultry Science. (0):1–4, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3382/ps/pev442>. Acesso em: 20 ago. 22.

TROUESSART, E. L. Revision des genres de la sous-famille de Analgesidae ou Sarcoptides plumicoles. Bull. Soc. Zool.Fr. 40: 207-23, 1915. Acesso em: 20 ago. 2021.

TUCCI, E. C., GUASTALI, E. A. L., REBOUÇAS, M. M., MENDES, M. C., & GAMA, N. M. S. Q. Infestação por *Megninia spp.* em criação industrial de aves produtoras de ovos para consumo. Arquivos do Instituto Biológico,72(1), 121-124, 2005. Acesso em: 15 de mar. de 2022

TUCCI, E.C., SOARES, N.M. Ação Acaricida Da Abamectina e Ivermectina Sobre *Allopsoroptoides Galli* Mironov, 2013 (Pandalurinae: Psoroptoididae) Ácaro Causador De Dermatite Em Galinhas Poedeiras. Biológico. (75) n.2, p.51-122, 2013. Disponível em: [http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v75\\_2/p82.pdf](http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v75_2/p82.pdf). Acesso em: 20 ago. 2021

TUCCI, E.C., SOARES, N.M., FACCINI, J.L.H., VILASBOAS, D. Additional information about a mange outbreak by *Allopsoroptoides galli* (Acari: Psoroptoididae) in comercial laying hands in the State of São Paulo, Brazil. Pesq. Vet. Bras. 34 (8): 760-762, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000800009>. Acesso em: 20 ago. 2021