



Caracterização morfológica e molecular de ácaros trombiculídeos (Acari: Trombidiformes: Trombiculidae) parasitos de pequenos mamíferos do Brasil

Palavras-Chave: ECTOPARSITOS, ANÁLISE INTEGRATIVA, TAXONOMIA.

Autores(as):

Maria Eduarda Barbosa de Souza-Silva, IB - UNICAMP

Ester Nascimento da Costa, IB - UNICAMP

Isabella Pereira Pesenato, IB - UNICAMP

Ricardo Bassini-Silva, LCZ - Instituto Butantan

Prof. Dr. Fernando de Castro Jacinavicius (orientador), IB - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A família Trombiculidae representa um importante grupo de ácaros de relevância médico e médico-veterinária, em razão de seu potencial impacto na saúde humana e animal. Com cerca de 70 espécies já registradas no Brasil, os representantes dessa família destacam-se pelo seu estágio larval parasitário, que acometem uma ampla variedade de vertebrados terrestres (Jacinavicius et al., 2018). As infestações desses ácaros causam lesões cutâneas intensas e pruriginosas nos hospedeiros, decorrentes de fortes reações inflamatórias locais conhecidas como trombiculíase. Diante dessas características, levanta-se a hipótese do papel desses ácaros como vetores potenciais de patógenos, uma vez que no ato do parasitismo, eles podem acabar ingerindo células sanguíneas, embora sua participação efetiva em ciclos epidemiológicos ainda careça de confirmação científica (Pesenato et al., 2024). Apesar de sua possível relevância na transmissão de doenças, os estudos envolvendo trombiculídeos parasitando pequenos mamíferos no Brasil são ainda escassos, sobretudo no que tange à sua diversidade atual e sua relação com agentes infecciosos. Neste contexto, o presente trabalho propõe uma abordagem integrativa, combinando análises morfológicas e moleculares de ácaros desta família provenientes de coleções acarológicas e bancos de tecidos, com ênfase em espécimes coletados em roedores e marsupiais de diversas regiões do território nacional.

METODOLOGIA:

Os espécimes analisados foram provenientes da Coleção Acarológica do Instituto Butantan (IBSP) e de amostras obtidas de bancos de tecidos biológicos previamente coletados de roedores e marsupiais em diferentes regiões do Brasil que também estão depositados na mesma coleção.

Os ácaros foram previamente triados e montados em lâminas semipermanentes com meio de Hoyer e deixados em estufa a 40°C por sete dias para a fixação e clarificação do material. A identificação taxonômica foi realizada por meio de microscopia óptica, com base em características morfológicas seguindo chaves dicotômicas específicas para o grupo.

Para as análises moleculares, os espécimes foram submetidos individualmente à extração de DNA total utilizando o kit comercial Qiagen DNeasy Blood & Tissue, seguindo as recomendações do fabricante. A amplificação de fragmentos gênicos foi realizada por PCR utilizando os pares de *primers* 18S-1F e 18S-1R (Otto & Wilson, 2001) e LCO1490 e HCO2198 (Folmer et al., 1994), com as condições de amplificação descritas pelos autores mencionados anteriormente.

Os produtos amplificados foram verificados em gel de agarose a 1,5% corado com GelRed e registrados em tabela de acordo com seu resultado, em seguida, aqueles com resultados positivos foram purificados e encaminhados ao sequenciamento do tipo Sanger.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os ácaros coletados estavam associados a uma ampla diversidade de hospedeiros, entre elas roedores das famílias Cricetidae (*Akodon montensis*, *Akodon* sp., *Delomys sublineatus*, *Euryoryzomys russatus*, *Holochilus brasiliensis*, *Hylaeamys megacephalus*, *Necomys lasiurus*, *Nectomias escamiformes*, *Oligoryzomys nigripes*, *Oligoryzomys* sp., *Rhipidomys mastacalis*, *Rhipidomys* sp., *Sooretamys angouya* e *Thaptomys nigrita*), Echimyidae (*Thrichomys apereoides*), Cavidae (*Cavia intermedia*), e marsupiais das famílias Didelphidae (*Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Monodelphis americana*, *Monodelphis domestica* e *Thylamys macrurus*). Foram testados ao todo 561 espécimes de ácaros da família Trombiculidae em diferentes estados brasileiros e seus respectivos hospedeiros: **Alagoas:** *Akodon* sp.; **Distrito federal:** *Hylaeamys megacephalus*, *Monodelphis americana*, *Necomys lasiurus*, *Nectomias escamiformes* e *Rhipidomys mastacalis*; **Maranhão:** *Didelphis albiventris* e *Didelphis aurita*; **Mato Grosso do Sul:** *Didelphis albiventris*, *Hylaeamys megacephalus*, *Thylamys macrurus*; **Mato Grosso:** *Akodon* sp., *Didelphis marsupialis*; **Pernambuco:** *Didelphis albiventris*, *Thrichomys apereoides*; **Piauí:** *Monodelphis domestica*, *Rhipidomys* sp., *Thrichomys apereoides*; **Paraná:** *Euryoryzomys russatus*; **Santa Catarina:** *Akodon* sp., *Cavia intermedia*, *Euryoryzomys russatus*, *Oligoryzomys nigripes* e *Akodon montensis*; **São Paulo:** *Akodon montensis*, *Akodon* sp., *Delomys sublineatus*, *Didelphis aurita*, *Euryoryzomys russatus*, *Holochilus brasiliensis*, *Monodelphis americana*, *Oligoryzomys* sp., *Sooretamys angouya* e *Thaptomys nigrita*, com predomínio das regiões Sudeste e Sul.

Após extração de DNA e submissão das amostras a PCR, das 561 amostras testadas, 270 (48%) amplificaram para o gene 18S rRNA para as espécies: *Eutrombicula* sp. (2/5 – 40%), *Eutrombicula* sp.n.4 (1/1 – 100%), *Eutrombicula spipi* (2/5 – 40%), *Eutrombicula tinami* (17/33 – 51,5%), *Herpetacarus hertigi* (19/51 – 37,2%), *Kymoacta* sp. n.1 (1/3 – 33,3%), *Microtrombicula* sp. (2/4 – 50%), *Parasecia* sp.n. (1/4 – 25%), *Pseudoschoengastia petrolinensis* (9/28 – 32%), *Quadrasetta brasiliensis* (43/144 – 30%),

Quadraseta flochi (1/5 – 20%), *Quadraseta mackenziei* (3/3 – 100%), *Quadraseta* sp. (92/159 – 58%) e *Susa bauchani* (1/2 – 5%). Já para o gene *cox1*, 31(11,5%) amostras amplificaram para as espécies *Eutrombicula spipi* (1/2 – 50%), *Eutrombicula tinami* (1/17 - 6%), *Herpetacarus hertigi* (3/20 – 15%), *Pseudoschoengastia petrolinensis* (3/9 – 33,3%), *Quadraseta brasiliensis* (3/63 – 5%), *Quadraseta pazca* (3/51 – 6%), *Quadraseta* sp. (17/92 – 18,4%) e *Quadraseta pazca* (51/73 – 70%).

Os resultados deste estudo demonstram uma amplificação geral de 48% para o gene 18S rRNA, sendo *Eutrombicula* sp.n.4, *Quadraseta mackenziei* e *Quadraseta* sp. as espécies com maiores porcentagens de ampliações. Já para o gene *cox1*, houve 11,5% de amostras amplificadas, sendo *Akodon* sp., *Quadraseta pazca* e *Eutrombicula spipi* as espécies com maiores porcentagens de ampliações. Bassini-Silva et al. (2018) tiveram 72.5% (29/40) sucesso em amplificar o gene para a espécie *B. sinnamaryi* coletada de aves do Brasil, e Sang-Won et al. (2015) tiveram sucesso em amplificar 50% (38/76) para *Helenicula miyagawai* e 87.5% (7/8) para *Leptotrombidium*, coletadas em roedores da família Muridae na Coreia do Sul.

No presente estudo, fornecemos novas sequências do gene 18S para 14 espécies e do gene *cox1* para 8 espécies. Segundo HILLIS e DIXON (1991) e CRUICKSHANK (2002), o gene 18S tem uma taxa de evolução lenta e é adequado para filogenias ao nível de família e subfamília. Portanto, além de ser útil como controle endógeno na detecção de agentes patogênicos, a criação de um banco de genes pode contribuir para estudos futuros das relações entre os ácaros dos grupos superiores. Já o gene *cox1* em uma alta taxa de evolução e é adequado para filogenias ao nível de gênero e espécies. Portanto é útil para confirmação molecular de espécies. Vale ressaltar que os hospedeiros apresentam co-parasitismo, ou seja, mais de uma espécie de ácaros parasitando um mesmo hospedeiro e é necessário que seja realizada caracterização molecular individual.

CONCLUSÕES:

Os resultados obtidos neste estudo destacam a eficácia da abordagem molecular, por meio dos marcadores *cox1* e 18S rRNA, na identificação e caracterização da diversidade de ácaros da família Trombiculidae no Brasil. A combinação desses dois genes pode auxiliar em estudos filogenéticos futuros, incluindo caracterização de espécies.

Além do avanço no conhecimento sistemático, os resultados também têm implicações potenciais para a saúde pública e veterinária, considerando que diferentes espécies de trombiculídeos podem apresentar variações no comportamento parasitário e no potencial de transmissão de patógenos. Assim, este trabalho contribui não apenas para a taxonomia do grupo, mas também para a base científica necessária ao monitoramento epidemiológico de doenças emergentes relacionadas a ácaros parasitas.

Por fim, ressalta-se a importância da continuidade de estudos integrativos envolvendo dados morfológicos, moleculares e ecológicos, para o melhor entendimento da biodiversidade de trombiculídeos e seu papel nos ecossistemas e na interface com a saúde humana e animal.

BIBLIOGRAFIA

BASSINI-SILVA, R.; JACINAVICIUS, F. C.; MATURANO, R.; MUÑOZ-LEAL, S.; OCHOA, R.; BAUCHAN, G.; LABRUNA, M. B.; BARROS-BATTESTI D. M. 131 ***Blankaartia sinnamaryi* (Trombidiformes: Trombiculidae) parasitizing birds in 132 southeastern Brazil, with notes on *Rickettsia* detection.** Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria, v. 27, n. 3, p. 354-362, 2018a.

FOLMER O, BLACK M, HOEH W, LUTZ R, VRIJENHOEK R. 1994. **DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates.** Molecular Marine Biology and Biotechnology. 3:294–299.

HILLS D. M.; DIXON M. T. Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. **The Quarterly Review of Biology**, v. 66, n. 4, p. 411-453, 1991.

CRUICKSHANK, R. H. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks. 152 **Systematic and Applied Acarology**, p. 3-14, 2002.

JACINAVICIUS, F. DE C.; BASSINI-SILVA, R.; MENDOZA-ROLDAN, J.A.; PEPATO, A.R.; OCHOA, R.; WELBOURN, C.; BARROS-BATTESTI, D.M. 2018. **A Checklist of Chiggers from Brazil, Including New Records (Acari: Trombidiformes: Trombiculidae and Leeuwenhoekiidae).** Zookeys, 743, 1–41, doi:10.3897/zookeys.743.22675.

OTTO JC, WILSON KJ. 2001. **Assessment of the usefulness of ribosomal 18S and mitochondrial COI sequences in Prostigmata logeny.** In: Proctor HC, Norton RA, Colloff MJ, editors. Acarology: proceedings of the 10th international congress. Melbourne: CSIRO Publishing. p. 100–109.

PARK SW, HA NY, RYU B, BANG JH, SONG H, KIM Y, KIM G, OH MD, CHO NH, LEE JK. **Urbanization of scrub typhus disease in South Korea.** PLoS Negl Trop Dis. 2015 May 22;9(5):e0003814. doi: 10.1371/journal.pntd.0003814. PMID: 26000454; PMCID: PMC4441427.

PESENATO IP, BASSINI-SILVA R, JACINAVICIUS FC. **A review on trombiculiasis: An underreported parasitosis that affects humans and animals, including world distribution, clinical findings, associated pathogens, prophylaxis and identification methods.** Acta Trop. 2024 Dec; 260:107420. DOI: 10.1016/j.actatropica.2024.107420. Epub 2024 Oct 2. PMID: 39366499.