

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa, Lisboa, Portugal

²CIISA – Centro Interdisciplinar de Investigação em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

³Laboratório Associado para a Ciência Animal e Veterinária (AL4Animals), Portugal

⁴Escola Superior de Saúde, Proteção e Bem Estar Animal, Instituto Politécnico da Lusofonia, Lisboa, Portugal

⁵Global Health and Tropical Medicine, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade NOVA de Lisboa, Lisboa, Portugal

⁶Casa dos Animais de Lisboa, Estrada Pimenteira, 1300-459 Monsanto, Lisboa, Portugal

*Autores com a mesma contribuição

†Autor correspondente: p6199@ulusofona.pt



Introdução

As larvas de ácaros trombiculídeos (Acari: Trombiculidae) podem parasitar todos os grupos de vertebrados, com exceção dos peixes [1]. Estas possuem cerca de 250 µm de comprimento, cor alaranjada ou vermelha brilhante característica e três pares de patas [2]. Nos cães e gatos são responsáveis pelo aparecimento de sinais clínicos dermatológicos, podendo inclusive afetar o aparelho gastrointestinal e o sistema nervoso [3]. Algumas espécies desta família são zoonóticas [4,5], e podem potencialmente transmitir agentes patogénicos, incluindo bactérias dos géneros *Anaplasma*, *Bartonella*, *Borrelia* e *Rickettsia* [6-10]. No entanto, a informação atualmente disponível sobre a diversidade genética dos ácaros trombiculídeos com importância médica é escassa. O objetivo deste trabalho foi caracterizar molecularmente ácaros trombiculídeos obtidos de um gato errante.

Materiais & Métodos

Seis ácaros da família Trombiculidae foram recolhidos de um gato que deu entrada num centro de recolha oficial de animais errantes em Lisboa (Figura 1) e preservados em álcool a 70%. Alguns aspetos morfológicos dos ácaros trombiculídeos encontram-se representados na Figura 2. Foi realizada a extração de ADN de cada exemplar utilizando o kit *DNeasy® Blood & Tissue* (Qiagen) segundo o protocolo recomendado pelo fabricante. Secções do gene codificante da citocromo C oxidase I (COI) foram amplificadas por PCR convencional e os produtos de reação sequenciados pelo método de Sanger. A diversidade genética das sequências obtidas foi analisada através de árvores filogenéticas inferidas pelo método da máxima verossimilhança.



Figura 1 – Presença de ácaros trombiculídeos no gato errante (círculos pretos). A: Escroto; B: Pavilhão auricular.

Resultados

Quando comparadas com as sequências existentes no GenBank, via BLAST®, as sequências COI dos 6 ácaros em análise apresentaram elevada identidade com a sequência de referência de *Neotrombicula vulgaris* (n.º de acesso KY888693). Na Figura 2 encontram-se alguns aspetos morfológicos que permitem a identificação de ácaros trombiculídeos ao microscópio ótico. Na árvore filogenética, as sequências obtidas formaram um *cluster* monofilético estável, juntamente com a sequência de referência de *N. vulgaris* (n.º acesso KY888693) (Figura 3). A existência de diversidade intraespecífica é adicionalmente sugerida.



Figura 2 – Ácaros trombiculídeos. A: Dois espécimes na fase larvar (três pares de patas). B: Escudo dorsal (seta preta) e distribuição das cerdas no idiossoma dorsal (setas amarelas), aspetos morfológicos importantes para a identificação dos ácaros. C: Quelíceras (seta preta) e palpos (seta amarela). D: Estilostoma, formado pelas quelíceras (seta preta) e pelo cone eosinofílico (seta amarela), permitindo a fixação e alimentação da larva. Escalas: 50 µm.

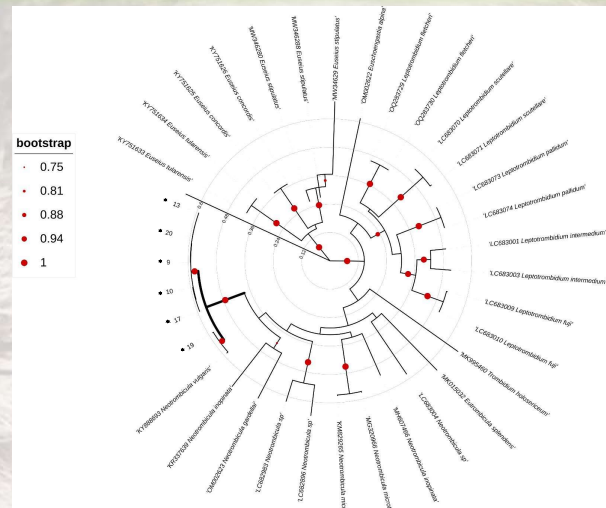


Figura 3 – Árvore filogenética sem raiz inferida a partir das sequências parciais do gene COI. O teste de consistência topológica (*bootstrapping*) foi efetuado com 1000 réplicas e a árvore construída com base no critério de máxima verossimilhança. As sequências obtidas neste estudo (identificadas com “*”) formam um *cluster* juntamente com a sequência de referência de *N. vulgaris* (n.º acesso KY888693; disponível no GenBank).

Discussão & Conclusão

Os estudos moleculares permitem conhecer a composição em espécies de um determinado grupo de parasitas e entender a sua diversidade genética e distribuição geográfica. Este estudo permitiu aumentar a representatividade de sequências genéticas de *N. vulgaris*, sendo importante para futuros trabalhos genéticos com ácaros da família Trombiculidae utilizando o método de *DNA barcoding*, para uma mais fácil identificação de exemplares capturados em animais e/ou no ser humano. Embora os resultados obtidos sugiram a infestação por *N. vulgaris* em gatos, serão necessários mais estudos morfológicos e filogenéticos para se comprovar a primeira referência desta espécie em Portugal.

Referências

- [1] Santibáñez P, Palomar AM, Portillo A, Santibáñez S & Oteo JA (2015). The role of chiggers as human pathogens. In: Amidou Samie (Ed.), *An overview of tropical diseases* (1.ª ed., pp. 173-202). London: Intech.
- [2] Kaya TI & Yilmaz MA (2019). Dermoscopy confirmed Trombiculidae larva infestation in Turkey. *Int J Dermatol*, 58(6), e120-e121.
- [3] Marques C, Delgado I, Cruz J, Costa P, Portela G, Munhoz A, Waap H, Pereira A & Ramilo DW (2022). Ácaros trombiculídeos: Revisão de uma parasitose negligenciada em animais de companhia. *Revista Lusófona de Ciência e Medicina Veterinária*, 12: 18-33.
- [4] Parcell BJ, Sharpe G, Jones B & Alexander CL (2013). Conjunctivitis induced by a red bodied mite *Neotrombicula autumnalis*. *Parasite*, 20, 25.
- [5] Guarnieri F, Pugliese A, Giudice E, Guarnieri C, Gianetto S & Guarnieri B (2005). Trombiculiasis: Clinical contribution. *Eur J Dermatol*, 15(6), 495-496.
- [6] Literak I, Stekolnikov AA, Sychra O, Dubska L & Taragelova V (2008). Larvae of chigger mites *Neotrombicula* spp. (Acari: Trombiculidae) exhibited *Borrelia* but not *Anaplasma* infections: a field study including birds from the Czech Carpathians as hosts of chiggers. *Exp Appl Acarol*, 44(4), 307-314.
- [7] Kabeya H, Colborn JM, Bai Y, Lerdtusnee K, Richardson JH, Maruyama S, et al. (2010). Detection of *Bartonella tamiiae* DNA in ectoparasites from rodents in Thailand and their sequence similarity with bacterial cultures from Thai patients. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 10(5), 429-434.
- [8] Areso-Apesteguia M, Areso-Portell JB, Halalhel-Kassab N & Garcia-Sallinas MJ (2019). Severe trombiculiasis in hunting dogs infested with *Neotrombicula inopinata* (Acari: Trombiculidae). *J Med Entomol*, 56(5), 1389-1394.
- [9] Jacinavičius FC, Bassini-Silva R, Muñoz-Leal S, Welbourn C, Ochoa R, Lubruña MB, et al. (2019). Molecular detection of *Rickettsia* genus in chigger mites (Trombidiformes: Trombiculidae) collected on small mammals in southeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Ver*, 28(4), 563-568.
- [10] Kuo CC, Lee PL & Wang HC (2022). Molecular identification of *Rickettsia* spp. in chigger mites in Taiwan. *Med Vet Entomol*, 36(2), 223-225.

Financiamento

Este trabalho foi financiado pelo projeto de investigação 2021-2022 da FMV-Lusófona (Acrónimo: Trombiculidae). FCT - Fundação Portuguesa para a Ciência e Tecnologia, no âmbito do projeto UIDB/00276/2020. Inês L.S. Delgado, Cátia Marques e David W. Ramilo são financiados pelo projeto FCT LA/P/0059/2020.