UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS ESCOLA DE VETERINÁRIA Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação

Dermanyssus gallinae (ACARI: DERMANYSSIDAE) (DE GEER, 1778): COLONIZAÇÃO E RESPOSTA DE PROTONINFAS ALIMENTADAS A CORRENTES DE AR E A ODORES DE EXTRATOS DE ÁCAROS CO-ESPECÍFICOS EM OLFATÔMETRO DISCRIMINANTE

LUCAS MACIEL CUNHA

Belo Horizonte UFMG - Escola de Veterinária 2008

LUCAS MACIEL CUNHA

Dermanyssus gallinae (ACARI: DERMANYSSIDAE) (DE GEER, 1778): COLONIZAÇÃO E RESPOSTA DE PROTONINFAS ALIMENTADAS A CORRENTES DE AR E A ODORES DE EXTRATOS DE ÁCAROS CO-ESPECÍFICOS EM OLFATÔMETRO DISCRIMINANTE

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Paulo Roberto de Oliveira

Co-orientador: Prof. Israel José da Silva

Belo Horizonte UFMG - Escola de Veterinária 2008

C972d Cunha, Lucas Maciel, 1982-

Dermanyssus gallinae (Acari: Dermanyssidae) (De Geer, 1778): colonização e resposta de protoninfas alimentadas a correntes de ar e a odores de extratos de ácaros co-específicos em olfatômetro discriminante / Lucas Maciel Cunha. – 2008.

63p.: il.

Orientador: Paulo Roberto de Oliveira Co-orientador: Israel José da Silva

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

T 1 '1 '11'

Inclui bibliografia

- Ácaro da ave Teses. 2. Feromônios Teses. 3. Olfatômetro Teses.
 Acarologia Teses. I. Oliveira, Paulo Roberto de. II. Silva, Israel José da.
- III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária. III. Título.

CDD - 636.089.696 8

Dissertação defendida e aprovada em 16 de maio de 2008, pela Comissão Examinadora constituída por:

Prof. Paulo Roberto de Oliveira Orientador

Profa. Lígia Miranda Ferreira Borges

3

"A luta contra o erro tipográfico tem algo de homérico. Durante a revisão os erros se escondem, fazem-se positivamente invisíveis. Mas assim que o livro sai, tornam-se visibilíssimos, verdadeiros Sacis a nos botar a língua em todas as páginas. Trata-se de um mistério que a ciência ainda não conseguiu decifrar...".

(Monteiro Lobato)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Doutor Paulo Roberto de Oliveira, que somou seus conhecimentos e dedicação para me orientar. Agradeço também a este mestre por dividir comigo os méritos dos resultados desta dissertação;

Aos professores Romário Cerqueira Leite, Nelson Rodrigo da Silva Martins, Israel José da Silva e demais professores da Escola de Veterinária da UFMG, que se dedicaram ao meu aprendizado e me socorreram nas inúmeras vezes em que foram solicitados;

Agradecimentos especiais devem ser feitos à Professora Ligia Miranda Ferreira Borges e ao Professor Álvaro Eduardo Eiras que me apresentaram ao incrível "universo" da ecologia química e, consequentemente, me ajudaram muito;

À Escola de Veterinária da UFMG pela oportunidade de realização do mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto;

Aos colegas de pós-graduação e dos laboratórios de Saneamento e Endo-Ectoparasitoses, especialmente à Simone, Gabrielle, Júlia e Ticiano;

À Andréia Kelly Roberto Santos pelo amor, dedicação, carinho e apoio durante todos os percalços deste período;

À Mariana Maciel Cunha, minha irmã, estudante de iniciação científica e maior colaboradora na realização deste projeto;

À minha mãe, Vera Lúcia Maciel, e ao meu pai, Renato Cunha, por me servirem como exemplos, por me darem educação e por me prepararem como ser humano desde meu nascimento;

Ao Sr. Luiz Antônio, por abrir as portas de sua casa diversas vezes para que eu tivesse ácaros hematófagos até o momento que consegui estabelecer e estabilizar minha colônia;

Por fim, não posso deixar de dedicar minha sincera gratidão àqueles indivíduos que deram o seu sangue e viveram noites mal dormidas para que eu pudesse realizar meus experimentos: as aves utilizadas como hospedeiros dos parasitos estudados.

SUMÁRIO RESUMO..... 12 ABSTRACT..... 12 INTRODUÇÃO..... 1. 13 REVISÃO DE LITERATURA..... 2 14 2.1 Características morfológicas gerais de Dermanyssus gallinae..... 14 2.2 Ciclo biológico, etologia e fisiologia de *D. gallinae*..... 15 2.2.1 Ciclo biológico de D. gallinae.... 15 2.2.2 Biologia reprodutiva de D. gallinae.... 16 2.2.3 Fatores que influenciam o ciclo biológico de *D. gallinae*..... 17 2.2.4 Fisiologia e comportamento de *D. gallinae*.... 18 A importância de *D. gallinae* para a medicina veterinária e para a saúde pública..... 2.3 19 Hospedeiros susceptíveis.... 2.3.1 19 2.3.1.1 Casos humanos de acarioses causadas por ácaros hematófagos das aves..... 2.1 2.3.2 Efeito do parasitismo por D. gallinae nos hospedeiros..... 22 Papel de D. gallinae na transmissão e manutenção de doenças aos seres humanos e a 2.3.3 outros animais..... 23 2.4 Distribuição geográfica e prevalência no Brasil e em outras partes do mundo...... 25 2.5 Dinâmica populacional de D. gallinae.... 26 2.6 Manutenção de colônias de *D. gallinae* em laboratório..... 2.7 Princípios de ecologia química no comportamento de reunião de ácaros de importância médico-veterinária.... 29 2.7.1 Terminologia e conceitos básicos. 29 2.7.1.1 29 Conceitos básicos para estudos em olfatometria. 2.7.1.2 Terminologia utilizada para descrever compostos químicos em relação às respostas comportamentais geradas por esses nos artrópodes..... 29 2.7.1.3 O termo infoquímico..... 30 2.7.2 Principais feromônios de reunião de ácaros de importância médico-veterinária..... 31 3 HIPÓTESES..... 32 3.1 Hipótese geral.... 32 3.2 Hipóteses específicas..... 32 OBJETIVOS..... 33 4 4.1 33 Objetivo geral..... 4.2 Objetivos específicos. 33 5 MATERIAL E METODOS..... 33 5.1 Tempo e local de realização dos experimentos..... 33 5.2 Obtenção, identificação e manutenção dos ácaros..... 33 5.2.1 Obtenção dos ácaros..... 33 5.2.2 Caracterização do parasito..... 34 5.2.3 Estabelecimento e manutenção da colônia. 34 5.3 35 Olfatômetro..... 5.4 Padronização do Olfatômetro..... 35 5.5 Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de D. gallinae submetidas a diferentes velocidades de correntes de ar em olfatômetro de discriminante..... 36 5.6 Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de D. gallinae expostos a plumas de odor produzidas em septos de borracha impregnados com soluções obtidas a partir da imersão de ácaros co-específicos em diferentes solventes..... 37 5.6.1 Procedimentos de limpeza do olfatômetro antes de cada teste..... 37 5.6.2 Produção dos extratos de protoninfas e impregnação dos septos de borracha contendo soluções utilizadas.... 37

5.6.3 5.7	Procedimentos durante os bioensaios	39 40		
6	RESULTADOS.	41		
6.1	Considerações a respeito do método de criação da colônia de <i>D. gallinae</i>	41		
6.2	Padronização do olfatômetro discriminante (olfatômetro de arena)			
6.3	Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> em diferentes	41		
0.3	velocidades de correntes de ar em olfatômetro de discriminante	43		
6.4	Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> submetidas a odores de	73		
0.1	extratos hexânicos ou extratos diclorometânicos de ácaros co-específicos em olfatômetro			
	discriminante	45		
7	DISCUSSÃO	49		
7.1	Criação e manutenção da colônia de <i>D. gallinae</i>	49		
7.1	Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> em diferentes	7/		
1.2	velocidades de correntes de ar em olfatômetro de discriminante	51		
7.3	Comportamento de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> submetidas a odores de	31		
1.3	extratos hexânicos ou diclorometânicos de ácaros co-específicos em olfatômetro			
	discriminante	53		
Q	CONCLUSÕES	54		
8 9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55 55		
9	REFERENCIAS DIDLIOGRAFICAS	33		
TD 1 1 1	LISTA DE TABELAS			
Tabela 1 -	Proporção de protoninfas alimentadas que atingiram as bordas dos septos de borracha	16		
	impregnados com diferentes extratos em olfatômetro discriminante	46		
	LISTA DE FIGURAS			
Figura 1 -	LISTA DE FIGURAS Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38		
Figura 1 -		38		
Figura 1 - Figura 2 -		38		
Figura 2 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38		
C	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e D. gallinae			
Figura 2 - Figura 3 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38		
Figura 2 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38		
Figura 2 - Figura 3 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38		
Figura 2 - Figura 3 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 - Figura 5 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 - Figura 5 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 - Figura 5 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 - Figura 5 - Figura 6 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 - Figura 5 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		
Figura 2 - Figura 3 - Figura 4 - Figura 5 - Figura 6 -	Equipamentos utilizados na manutenção de colônias e <i>D. gallinae</i>	38 38 39 42		

Figura 9 -	Foto de acima do teto do olfatômetro que mostra a pluma de cloreto de amônio (NH ₄ Cl) gerada por um chumaço de algodão colocado a cinco centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade no centro do fluxo laminar de 20±2 cm/s)				
Figura10 -	Foto de acima do teto do olfatômetro evidenciando a pluma de NH ₄ Cl gerada por um chumaço de algodão colocado a cinco centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade do vento no centro do fluxo laminar de 30±2 cm/s)				
Figura11 -	Histograma dos tempos médios para protoninfas saírem da área de teste do piso da arena do olfatômetro discriminante (olfatômetro de arena) considerando o tempo de permanência inicial no quadrado central do piso Belo Horizonte, 2008				
Figura12 -	Histograma dos tempos médios para protoninfas saírem da área de teste do piso da arena do olfatômetro discriminante cujo tempo de permanência inicial no quadrado central do piso foi subtraído do tempo total Belo Horizonte, 2008				
Figura13 -	Medidas de temperatura e umidade relativa do ar da sala utilizada para a manutenção de colônias de <i>D. gallinae</i> no período de 15 de fevereiro a 24 de março de 2008				
Figura14 -	Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> submetidas a septos de borracha impregnados com diclorometano P.A. em olfatômetro discriminante				
Figura15 -	Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de <i>Dermanyssus gallinae</i> em olfatômetro discriminante quando estas foram colocadas com septos de borracha impregnados com extratos diclorometânicos com 200 equivalentes-ácaro/mL				
Figura16 -	Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> em olfatômetro discriminante quando estas foram submetidas a septos de borracha impregnados com extratos diclorometânicos com 500 equivalentes-ácaro/mL				
Figura17 -	Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> em olfatômetro discriminante desafiadas com septos de borracha impregnados com hexano P.A				
Figura18 -	Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> em olfatômetro discriminante desafiadas com septos de borracha impregnados com extratos hexânicos com 200 equivalentes-ácaro/mL				
Figura19 -	Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de <i>D. gallinae</i> submetidas a septos de borracha impregnados com extratos hexânicos com 500 equivalentes-ácaro/mL em olfatômetro discriminante				

RESUMO

Protoninfas ingurgitadas de Dermanyssus gallinae foram submetidas a diferentes velocidades de fluxo de ar laminar e a septos de borracha impregnados com extratos hexânicos e diclorometânicos de co-específicos em olfatômetro discriminante. Quando estas protoninfas foram expostas a fluxos laminares de ar com velocidade de zero cm/s, 10±2 cm/s, 20± 2 cm/s ou 30±2 cm/s; não houve diferenças nos tempos de latência, ou no tempo gasto para sair da área de teste do olfatômetro. Os co-senos médios dos ângulos de percurso de cada uma das protoninfas alimentadas de D. gallinae também não diferiram (p≤0,99). Os co-senos médios dos ângulos de percurso de cada um dos ácaros expostos aos septos de borracha impregnados com zero; 200 e 500 equivalentes-ácaro por mililitro (eq/mL) de extratos diclorometânicos ou impregnados com zero; 200 e 500 eg/mL de extratos hexânicos, não diferiram estatisticamente (p≤0,99), embora a análise dos histogramas dos ângulos de percurso demonstre uma atração desses ácaros por septos de borracha impregnados com 500 eq/mL de extratos diclorometânicos de protoninfas co-específicas. As proporções de ácaros que atingiram a distância de até um milímetro das bordas dos septos de borracha não diferiram estatisticamente entre zero, 200 e 500 eq/mL de extratos hexânicos (p≤0,01). As proporções de ácaros que atingiram a distância de até um milímetro das bordas dos septos de borracha não diferiram estatisticamente entre zero e 200; ou 200 e 500 eq/mL de extratos diclorometânicos (p≤0,05), mas diferiram significativamente entre os ácaros expostos a septos de borracha contendo zero e 500 eq/mL (p≤0,01). Estes resultados sugerem que protoninfas alimentadas de D. gallinae não são repelidas por feromônios de coespecíficas, mas são atraídas para se reunirem quando entram em contato com substâncias não voláteis e não-apolares presentes em co-específicos.

Palavras-Chave: Dermanyssus gallinae "ácaro vermelho", feromônio, anemotaxia

ABSTRACT

Dermanyssus gallinae ingurgitated protonymphs were submited to laminar flow winds or rubber septa stopper (RSS) containing hexanic or dichloromethanic conspecific extracts in a discriminant olfactometer. The D. gallinae feeded protonymphs latency time (akinetic response) and the time for these mites to leave the test area in olfactometer was similar ($p \le 0.05$) when D. gallinae feeded protonymphs were exposed to winds of zero cm/s, 10±2 cm/s, 20± 2 cm/s or 30±2 cm/s. Each individual D. gallinae feeded protonymphs route line was measured and the cosine averages (CA) were used to demonstrate the predominant positions of the mites. D. gallinae feeded protonymphs exposed to different wind velocities did not show statistic difference (p≤0,99) in these CA's. The mite's CA exposed to odor plumes of RSS containing zero, 200 and 500 equivalent-mites per milliliter (eq/mL) dichloromethanic or hexanic conspecific extracts did not show statistic difference ($p \le 0.99$). However the route line angules histogram of these mites exposed to 500 eq/mL dichloromethanic extracts shows an atratraction behavior. The proportion of mites that eather touched or reached 1 mm distance of RSS impregnated with zero, 200 and 500 eq/mL hexanic extracts did not show statistic difference $(p \le 0,01)$. The proportion of protonymphs that eather or touched or reached 1 mm distance of RSS impregnated with zero and 200 eq/mL; or 200 and 500 eq/mL dichloromethanic extracts did not show statistic difference (p≤0,05), but more protonymphs touched or reached 1 mm distance of rubber septa stopper impregnated with 500 eq/mL dichloromethanic extracts than zero eq/mL (control group) rubber septa (p≤0,01). These results show the absence of laminarwind anemotaxis and abcense of pheromone repellence of D. gallinae feeded protonymphs. However these mites show an atraction and an arrestment-like clumping caused by non volatile and non-unpollar pheromones.

Key Words: *Dermanyssus gallinae*, "poultry red mite", pheromone, anemotaxis

1 INTRODUÇÃO

A avicultura brasileira se desenvolveu continuamente nas últimas quatro décadas, sobretudo devido à aplicação de técnicas que aumentaram a produtividade por animal e a produção por área. Este fato pode ser claramente percebido ao se analisar dados dos censos agropecuários realizados no Brasil pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) nesse período. A produção de ovos aumentou de 556.410.000 dúzias em 1985 para 2.732.407.000 dúzias em 2006. O número de aves (galinhas, galos e pintos de um dia) cresceu de 213.623.000 naquele período para 1.244.260.918 no ano de 2006.

Junto com aumento da produtividade, verifica-se a redução do número de estabelecimentos avícolas, que passaram de 2.708.031 em 1995/1996 para 1.657.542 em 2006 (IBGE, 2006).

Nota-se que a criação de poedeiras comerciais em gaiolas, é uma prática amplamente difundida, desde as publicações dos trabalhos iniciais de Hartman (1953) e Quisenberry (1955), quando foram demonstradas as inúmeras vantagens desse sistema de criação (Baião, 1977). Apesar disto, é possível verificar que este e outros sistemas de criação não impedem a ocorrência de determinadas espécies de ectoparasitos de aves (De Vaney, 1978; Höglund, Nordenfos e Uggla, 1978; Tucci et al., 1996).

Os ectoparasitos de aves podem ser classificados em dois grandes grupos: O primeiro é representado por aqueles que se alimentam apenas de apêndices, como as penas ou células mortas da pele. Eles apresentam pequena importância econômica, exceto para animais de companhia, aves de exposição ou quando penas e plumas são produtos importantes. O segundo grupo de ectoparasitos causa maior irritação e danos

econômicos ao hospedeiro, pois utilizam a pele para obter sangue, linfa, calor e proteção. Neste grupo estão incluídos, entre outros parasitos, os ácaros hematófagos (De Vaney, 1986).

O ácaro vermelho das galinhas, *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778), é cosmopolita e um dos ectoparasitos de galinhas mais importantes economicamente, juntamente com o ácaro *Ornithonyssus sylviarum* (Canestrini e Fanzago, 1877).

Nos Estados Unidos, as perdas na indústria avícola, determinadas pelo parasitismo por ácaros hematófagos, superaram 68 milhões de dólares no ano de 1974 (De Vaney, 1978). As perdas ocasionadas na indústria avícola do Brasil atualmente não são conhecidas e não podem ser estimadas a partir dos dados norte-americanos devido ao tempo decorrido e a diferença de prevalência das espécies de ácaros hematófagos. Nos Estados Unidos, O. sylviarum é o ácaro mais prevalente nas granjas avícolas comerciais ao passo que no Estado de São Paulo, único estado do Brasil em que a prevalência destes parasitos é conhecida, Dermanyssus gallinae é o mais comumente encontrado (De Vaney, 1978; Tucci, 1996).

Dentre os fatores que aumentam a importância destes parasitos estão as dermatites causadas em humanos e em outros animais, o potencial de transmissão de doenças para os hospedeiros e os altos gastos com o controle.

No Brasil. Dermanyssus gallinae conhecido popularmente como "piolhinho", "piolho de galinha", "ácaro vermelho", "ácaro roxo" e "Pichilinga", no nordeste (Guimarães, Tucci e Barros-Battesti, 2001). primeiras denominações As duas demonstram claramente aue desconhecimento sobre este artrópode leva parte da população a concluir erroneamente que este ácaro é um piolho.

Conhecimentos a respeito das características biológicas e ecológicas de um determinado podem parasito auxiliar direta indiretamente no controle de pragas e parasitos. Considerando como verdade esta afirmativa, o estudo da ecologia química de artrópodes poderá, potencialmente, fornecer informações importantes para o controle de ácaros de importância médica e veterinária. Um exemplo pode ser notado na elaboração de programas de controle através de informações sobre a dinâmica populacional de muitas espécies de ácaros, principalmente de carrapatos, utilizando armadilhas que liberam dióxido de carbono. No Brasil, a associação entre armadilhas que liberam CO₂, arrastão de flanela e raspagem dos animais hospedeiros foi utilizada por Oliveira (1998) para estudar a dinâmica populacional de Amblyomma cajennense na cidade de Pedro Leopoldo, Estado de Minas Gerais. Os dados deste estudo estão entre os principais fundamentos utilizados elaboração de programas de controle estratégico de A. cajennense, tais como o controle estratégico proposto por Leite et al. (1997) e testado por Labruna et al. (2004).

O número relativamente pequeno de informações científicas sobre a biologia e ecologia de D. gallinae, sobretudo no Brasil, torna-se um problema que precisa ser continuamente estudado para aumentar os conhecimentos sobre este campo parasitologia veterinária. Esses estudos auxiliarão para fundamentar estratégias de controle de parasitos de forma cada vez mais eficientes. A carência de publicações de revisão da literatura abordando de forma detalhada a biologia deste parasito também necessita ser resolvida para aumentar o acesso da população a informações sobre este ácaro.

Consequentemente, considerável interesse tem sido dirigido ao uso de feromônios de reunião para o controle de carrapatos, pois são estáveis, tem longa duração, são solúveis em água, além de mostrarem atividade entre estádios ou mesmo em diferentes espécies (Sonenshine, 1993; citado por Borges, 2004). Portanto, mais detalhes sobre a resposta de *D. gallinae* a extratos de coespecíficos contendo feromônios poderiam futuramente participar da fundamentação de estratégias de controle deste ectoparasito.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características morfológicas gerais de *Dermanyssus gallinae*

Moss (1968) desenvolveu uma chave dicotômica de identificação específica das fêmeas do gênero *Dermanyssus* sp. de todo o mundo. Inicialmente este autor diferencia estas espécies de ácaros daquelas do gênero *Liponysoides sp.*, também pertencente à família Dermanyssidae.

No Brasil, D. gallinae pode ser diferenciado das demais espécies de ácaros hematófagos parasitos de aves de postura por apresentar abertura anal no terço posterior do escudo anal, escudo genitoventral arredondado posteriormente, escudo dorsal truncado posteriormente e quelícera em forma de estilete. As demais espécies presentes no pertencentes ao gênero Ornithonyssus sp., possuem abertura anal no terço anterior do escudo anal, escudos genitoventral e dorsal posteriormente e quelícera com duas quelas na extremidade distal (Faccini, 1987).

Sikes e Chamberlain (1954) realizaram a pesagem e a mensuração do comprimento e largura médios do corpo dos *D. gallinae*, sem considerar a extensão das peças bucais e das patas. Os ovos deste artrópode medem, em média, 0,39 milímetros de comprimento e 0,26 milímetro de largura. As larvas têm o mesmo comprimento médio dos ovos e 0,24 milímetro de largura. As protoninfas não alimentadas têm largura igual à das larvas,

comprimento igual a 0,4 milímetro e pesam 0,01 miligrama. Após a alimentação, este estádio aumenta de tamanho e peso, 0,55 passando a medir milímetro longitudinalmente, 0.32 milímetro transversalmente e peso médio de 0,033 miligrama. As deutoninfas em jejum apresentam 0,59 milímetro de comprimento, 0,33 milímetro de largura e 0,024 miligrama. Depois de alimentadas, estas ninfas passam a pesar 0,076 miligrama e a medir, respectivamente, 0,75 e 0,39 milímetro de comprimento e largura. As ingurgitadas possuem, em média, um milímetro de comprimento, 0,64 milímetro de largura e 280 miligramas de massa.

2.2 Ciclo biológico, etologia e fisiologia de *D. gallinae*

2.2.1 Ciclo biológico de D. gallinae

Sikes e Chamberlain (1954) realizaram trabalhos sobre os ciclos biológicos, medidas corporais, volumes sanguíneos ingeridos por repasto sangüíneo e hospedeiros susceptíveis de D. gallinae, O. sylviarum e O.bursa. Observou-se que estas espécies possuem os mesmos instares em biológicos, seus ciclos següencialmente ovos, larvas, protoninfas, deutoninfas e adultos, machos e fêmeas. Com cinco dias. 80% dos ovos e larvas de D. gallinae mudam para o estádio de protoninfa, sendo que um período de um a dois dias foi necessário para a eclosão dos ovos. As larvas não se alimentam e passam, següencialmente, para o estádio protoninfa. Em pouco mais de um dia, as protoninfas alimentadas mudam para o estádio de deutoninfa. O ciclo biológico completa-se em oito a nove dias. Ninfas e adultos se alimentam melhor à noite ou em salas escuras, mas podem se alimentar durante o dia sob condições de baixa iluminação. Se criado isolado em câmaras, este ácaro adquire a necessidade de se alimentar após poucos dias.

Trata-se de uma espécie que se ingurgita completamente após um único repasto sanguíneo e, sob este aspecto, difere de *O. bursa* e *O. sylviarum* (Sikes e Chamberlain, 1954). Após a alimentação, *D. gallinae* abandona o hospedeiro e forma colônias em materiais fornecidos como abrigo. Parte dos ácaros se perde ou morre neste intervalo (Sikes e Chamberlain, 1954; Tucci, 2004).

No Brasil, as primeiras observações sobre o ciclo biológico de D. gallinae foram realizadas no Estado do Rio de Janeiro por Hamann (1990), após colocar espécimes em contato permanente com o hospedeiro. Esse pesquisador observou 15 repetições compostas por 30 fêmeas de D. gallinae e aves isoladas em baldes plásticos. Foram feitas observações a cada 24 horas. Na primeira observação foram notados adultos e poucos ovos depositados nas frestas das tampas dos baldes. Em 48 horas, havia uma maior quantidade de ovos, além de poucas larvas e adultos. Verificou-se grande quantidade de ovos, larvas e adultos. Havia protoninfas 72 horas após o início das observações. Em 96 horas, os adultos foram retirados, sendo observada a presença de exemplares neste estádio com 168 horas de observação.

Tucci e Guimarães (1998) estudaram o ciclo biológico e a longevidade de D. gallinae em condições laboratoriais. Eles constataram que a oviposição das fêmeas começou por volta de 24 a 72 horas (em média 45,2 horas) após a alimentação, com um total de dois a oito ovos por fêmea. O período de incubação dos ovos durou de 48 a 84 horas. A viabilidade dos ovos foi de 98,1%, sendo inviáveis morfologicamente ovos diferentes dos demais. O estádio de larva durou de 15 a 39 horas, com uma viabilidade de 96,1%. As protoninfas mudaram para deutoninfas após um período médio de 29,2 horas, com uma amplitude de variação de 24 a 72 horas. A muda das deutoninfas para o estádio adulto ocorreu de 24 a 72 horas após o repasto sangüíneo. A duração média do

ciclo biológico desse parasito foi de 189,6 horas. Sob 25,4±1,7°C e 72,5 ± 8,8% o período máximo de sobrevivência em jejum foi de 68 dias.

2.2.2 Biologia reprodutiva de *D. gallinae*

Oliver Junior (1966)observou comportamento reprodutivo de D. gallinae, Ophionyssus natricis, Ornithonyssus bacoti e O. sylviarum. Verificou-se que a alimentação de D. gallinae não é afetada pelo comportamento de monta, além de que muitas fêmeas cruzadas de D. gallinae não realizam a oviposição antes do primeiro repasto sanguíneo. A monta desta espécie de ácaro pode ocorrer no hospedeiro ou fora dele e os ovos produzidos possuem cariótipos haplóides e diplóides, sendo estes em quantidades semelhantes. Não foi verificado nenhum tipo de estímulo para que as fêmeas começassem a ovipor, embora a postura seja feita fora do hospedeiro.

Pond e Oliver Junior (1976) descreveram a morfologia das estruturas reprodutivas e a espermatogênese de D. gallinae. Constatouse que o trato genital da fêmea pode ser dividido em dois subsistemas. O primeiro é responsável pela recepção e estocagem dos espermatozóides bem como. fertilização. O segundo subsistema apresenta estruturas responsáveis pela oogênese, oviposição e proteção. Já o sistema reprodutivo do macho consiste em um testículo com uma projeção germinativa, um ducto deferente, uma vesícula seminal, acessórias. glândulas um aparato ejaculatório e um poro genital. Durante a espermatogênese são produzidas espermatogônias haplóides.

Hutcheson e Oliver Junior (1988) estudaram a espermiogênese e biologia reprodutiva de *D. gallinae* e verificaram que esta espécie realiza fecundação podospermal. Portanto, a cópula é realizada com o uso de uma estrutura denominada espermatodáctilo,

localizada nos palpos. Os machos produzem seus gametas e os acumula em uma estrutura chamada espermatóforo. Durante a monta, a fêmea eleva a parte posterior de seu corpo, o macho se dirige para o ventre da fêmea e ambos assumem uma posição ventre-aventre. Ocorrem dois ciclos consecutivos de preenchimento do espermatodáctilo inserção deste em poros específicos, localizados posteriormente à coxa III da fêmea. A primeira inserção é precedida pelo posicionamento do macho em uma posição oblíqua e consecutivo posicionamento do gnatossoma do macho para a altura do terceiro par de coxas da fêmea. Neste momento, ocorre a produção de um espermatóforo com 200 µm de diâmetro e contendo entre 250 e 300 espermatozóides. Esses comportamentos são repetidos, o que constitui um segundo ciclo. Após essa repetição, os casais se separam. Os espermatozóides são encontrados no trato reprodutivo da fêmea a partir de quatro dias.

Experimentos de Hutcheson e Oliver Junior (1988) também revelaram que cada macho é capaz de fecundar quatro fêmeas em intervalos regulares de tempo. Sob temperatura ambiente de aproximadamente 23,5°C, descobriu-se que a oviposição ocorre 48 horas após a monta.

No Brasil, Tucci, Prado e Araújo (2005) estudaram a fecundidade de fêmeas de *D. gallinae* isoladas e mantidas a 27°C, 80% de umidade relativa do ar, 12 horas de fotofase, e alimentadas a cada três dias. Nesse experimento, as fêmeas de *D. gallinae* realizaram sete oviposições com uma produção média total de 25 ovos por ácaro. Notou-se que a maioria das fêmeas começa a ovipor após o primeiro repasto sanguíneo, persistindo com este tipo de comportamento até depois da sétima alimentação. Também foi verificado um padrão de postura declinante.

Sabe-se que o jejum influencia na fecundidade de fêmeas de *D. gallinae* mantidas a 27°C, 80% de umidade relativa

do ar e 12 horas de fotofase. O número médio de ovos por fêmea e a percentagem de fêmeas em oviposição não diferem entre fêmeas submetidas a um, dois ou três dias de iejum. Sob ausência de alimentação por quatro ou cinco dias, a frequência de oviposição declina significativamente, quando comparadas com fêmeas em intervalos de um a três dias sem alimentação. A percentagem de oviposição declina ainda mais quando as fêmeas são submetidas a intervalos de seis a onze dias sem alimentação. O número médio de ovos por fêmea após o repasto não apresenta diferenças significativas entre ácaros submetidos a períodos de jejum de um a nove dias (Tucci, 2004).

2.2.3 Fatores que influenciam o ciclo biológico de *D. gallinae*

Kirkwood (1963) estudou a longevidade de D. gallinae em jejum sob três diferentes regimes de temperatura. Os ácaros foram isolados e mantidos constantemente a 10°C, sob temperatura da sala ou mantidos a temperatura do ambiente externo, que variava entre -10°C e 32,7°C. Verificou-se que 3% dos ácaros sobreviveram por 20 semanas sob temperatura de 10°C e 1% sobreviveu por 34 semanas sob a temperatura do ambiente externo. Trinta por cento das deutoninfas mantidas a 10°C sobreviveram em jejum por quatro semanas. Sob condições de temperatura ambiente, a taxa de sobrevivência das deutoninfas foi de 2% após 32 semanas de jejum. Apenas 5% das protoninfas mantidas em jejum e em temperatura ambiente resistiram por 28 semanas.

Entrekin, et al. (1987) submeteram protoninfas de *D. gallinae* a radiação gama e verificaram efeitos desta no desenvolvimento, esterilidade, fecundidade e proporção sexual. Eles certificaram que doses de um quilorad não impedem que protoninfas se desenvolvam até o estádio adulto e doses de três Krad reduzem o

número de protoninfas capazes de se tornarem adultas. Doses de seis Krad impediram todos os ácaros de continuar o ciclo biológico. Não foram verificadas diferenças na proporção sexual de adultos provenientes de estádios imaturos irradiados e não-irradiados.

Gomes e Guimarães (1988) realizaram um levantamento dos inimigos naturais de *D. gallinae* em aviários de postura no Estado de São Paulo. Após a realização de coletas, verificou-se laboratorialmente que insetos da ordem dermaptera, das espécies *Lambidura riparia*, *Strongylopsalis mathurinii* e *Euborellia anulipes*, são predadores de larvas, ninfas e de adultos de *D. gallinae*. Estes insetos são encontrados em grande quantidade nas frestas, fendas e colunas das instalações, onde os ácaros são encontrados com freqüência.

Maurer e Baumgärtner (1992) verificaram que o ciclo biológico de D. gallinae se completa em 7,7 dias quando mantido constantemente a 25°C. Nesta temperatura, as fêmeas realizam sua oviposição nas três primeiras semanas após a mudança para o estádio adulto e apenas 5% delas sobrevive o 15° dia. Quando mantidos constantemente sobre temperaturas entre 5°C e 40°C em laboratório, ovos e larvas apresentam taxas de sobrevivência constantes para cada estádio, sendo de 96,9% para os ovos e 79,4% para larvas. Acima de 40°C, estes estádios não se desenvolveram. Também foram realizados estudos para verificar a influência da temperatura na oviposição de fêmeas de D. gallinae. Quando fêmeas foram criadas a 25°C, a postura obteve um padrão do tipo declinante, no qual ocorre o aumento do número de ovos por fêmea após cada repasto até atingir um número máximo de ovos após a terceira alimentação. Após este período a postura tende, então, a decrescer nos períodos subsequentes. O número máximo de ovos no intervalo de um dia foi igual a seis. Verificou-se que a oviposição foi

realizada sob todas as temperaturas de 5°C a 40°C, sendo a maior produção de ovos realizada a 28.6°C.

Nordenfors, Höglund e Uggla (1999) efeitos diferentes estudaram os de temperaturas e diferentes umidades na oviposição, mudas e longevidade de D. gallinae. Diferentes estádios foram mantidos nas temperaturas de -20°C, 5°C, 25°C, 45°C e 65°C sem controle da umidade, ou a 20°C e em umidade relativa do ar de 30%, 45%, 70% ou 90%. O número diário de ovos produzidos por fêmea foi maior quando fêmeas foram mantidas a 25°C. Todos os ácaros mantidos a -20°C, 45°C ou 65°C morreram após 24 horas. O número de ovos e o período de oviposição não foram diferentes quando fêmeas foram mantidas em ambientes com diferentes umidades. O desenvolvimento dos ovos não ocorreu sobtemperatura de 5°C. O período necessário para a morte da metade das fêmeas ou das protoninfas foi significativamente diferente quando foram comparados ácaros mantidos em ambientes com diferentes umidades relativas do ar, sendo maior quando a umidade relativa do ar é mais alta.

Tucci (2004) estudou o ciclo biológico e a longevidade de D. gallinae sob 20°C, 25°C, 30°C e 35°C. A melhor temperatura para o desenvolvimento destes ácaros foi de 30°C, apresentando maior viabilidade diferentes fases e o menor tempo de desenvolvimento. A duração do ciclo diminuiu sensivelmente com o aumento da temperatura, indo de 29 dias a 15°C para seis dias sob 30°C. Foram obtidas baixas taxas de viabilidade do ciclo a 35°C. É importante observar que o período de préoviposição não variou nas temperaturas estudadas.

2.2.4 Fisiologia e comportamento de *D. gallinae*

Entrekin e Oliver Junior (1982) estudaram o comportamento de "agregação" de D.

gallinae. Para isso, foram realizados conjuntos de experimentos. No primeiro conjunto, grupos do ácaro foram colocados em placas fechadas de Petri com seis centímetros de diâmetro. Foram testados grupos formados por estádios mistos ou por um único estádio. Em testes com todos os ínstares simultaneamente, a formação de um ou dois conjuntos de ácaros reunidos (clãs) foi iniciada pela reunião de fêmeas alimentadas, seguidas da junção de estádios imaturos. Os machos apenas tocaram os clãs, mas não se reuniram a eles. A maioria dos indivíduos se reuniu em um clã após 45 a 50 minutos. A formação dos clãs em apenas placas contendo protoninfas alimentadas ocorreu em uma hora e meia. As protoninfas não alimentadas realizaram este mesmo comportamento em trinta horas. Deutoninfas se agregaram em 45 minutos quando alimentadas e em 24 horas quando não alimentadas.

conjunto de bioensaios segundo realizados por Entrekin e Oliver Junior (1982), verificou-se que fêmeas alimentadas, virgens ou cruzadas, formaram clas em 30 minutos. Machos alimentados ou em jejum demoram 24 horas para se reunir. Fêmeas de D. gallinae, alimentadas ou em jejum, foram colocadas juntamente com grãos de areia ou esferas de vidro com 0,18mm e de diâmetro médio para verificação da mobilidade. Estas não reduziram sua movimentação ao tocar nestes produtos. Quando foram colocados discos de papel filtro com seis milimetros de diâmetro, os ácaros tenderam a permanecer sobre ou sob os discos. Os machos apresentam respostas semelhantes às das fêmeas quando colocados em contato com estes materiais.

No terceiro conjunto de bioensaios realizados por Entrekin e Oliver Junior (1982), foram feitas duas séries de experimentos. Na primeira série, os bioensaios objetivavam verificar a existência de feromônios de agregação ou reunião. Para isso, diferentes estádios foram expostos a

discos de papel filtro contendo solução salina, extratos de ácaros imersos em solução salina ou macerados de ácaros em solução salina. Os testes com fêmeas virgens alimentadas evidenciaram comportamento de reunião significativamente maior nos discos contendo os extratos em relação aos discos de solução salina. Machos se reuniram em maior número sobre os discos contendo extratos de fêmeas do que sobre discos com extratos de machos co-específicos. Nos casos em que houve atração, discos contendo macerados induzem maior reunião em relação aos discos de extratos por lavagem de ácaros co-específicos. Na segunda série, verificou-se que fêmeas alimentadas de D. gallinae foram atraídas para os mesmos locais onde previamente agregados de fêmeas, possivelmente devido à deposição de feromônios nos locais onde grupos do ácaro se reuniram.

No quarto conjunto de bioensaios realizados por Entrekin e Oliver Junior (1982), a volatilidade dos feromônios foi testada. Discos de papel-filtro impregnados com macerados de fêmeas alimentadas ou machos em solução salina foram capazes de induzir a reunião de machos e fêmeas mesmo sem estes entrarem em contato direto com os discos.

No quinto conjunto de testes, constatou-se que estes ácaros se agregam em discos de papel filtro contendo nerodiol ou guanina e não se agregaram em discos contendo 2,6-diclorofenol e farnesol.

Oliver Junior et al. (1985) realizaram experimentos para evidenciar a existência de um composto que atuasse na reprodução de *D. gallinae* e que fosse semelhante ao Hormônio Juvenil. Para isso, fêmeas alimentadas foram expostas a dois miligramas de Precoceno-2, uma substância inibidora do Hormônio Juvenil III. Esta exposição foi realizada por 24 horas, 48

horas, 72 horas e 96 horas. Fêmeas dessa espécie de ácaro também foram expostas a 0.25 miligrama; 0.5 miligrama; um miligrama; dois miligramas e quatro miligramas desse composto por 24 horas. Em todos os ensaios, a progênie das fêmeas expostas foi menor que a das fêmeas dos grupos controle. A capacidade reprodutiva das fêmeas expostas ao Precoceno-2 foi significativamente restaurada após essas serem tratadas com Hormônio Juvenil III de insetos sem, contudo, propiciar a geração de progênies tão grandes quanto à das fêmeas dos grupos controle.

Chambers et al. (1996) realizaram a titulação de ecdisteróides de extratos metanólicos de protoninfas e deutoninfas de D. gallinae utilizando técnicas de radioimunoensaio. Constatou-se que os títulos desses esteróides aumentaram do momento da alimentação até 24 horas após os ácaros realizarem repasto sanguíneo. Os títulos de ecdisteróides de protoninfas com 24 horas depois de alimentadas aumentaram até quatro vezes, quando comparados com os títulos de ácaros desse estádio que não estavam alimentados. Nesse mesmo estudo, o uso da técnica de cromatografia líquida de alto desempenho associada ao radioimunoensaio revelou que estes ecdisteróides são 20-hidroxiecdisona e ecdisona. Os títulos daquele esteróide são cinco vezes mais altos que deste. A adição esterases e sulfatases a extratos metanólicos de protoninfas e deutoninfas alimentadas aumentou os títulos ecdisteóides, o que sugere que estes compostos estejam conjugados com outras substâncias.

4.3 A importância de *D. gallinae* para a medicina veterinária e para a saúde pública

4.3.1 Hospedeiros susceptíveis

D. gallinae pode parasitar um grande número de espécies. Quando mantidos sem

alimentação em condições laboratoriais, os adultos podem realizar o repasto sanguíneo em frangos, coelhos, camundongos e em seres humanos. (Sikes e Chamberlain, 1954). Entretanto, ácaros ingurgitados que se alimentam em frangos apresentam maior percentagem de adultos que realizam oviposição quando comparados a coespecíficos que utilizam camundongos como hospedeiros (Sikes e Chamberlain, 1954). alimentar em coelhos, a Após percentagem de fêmeas ingurgitadas que botaram ovos é ainda menor que a observada após se alimentar em camundongos. Poucos espécimes chegam a se ingurgitar quando se alimentam em humanos. (Sikes Chamberlain, 1954). Já Freitas (1973) cita brevemente presença deste ácaro como parasito de canários.

Ewing (1911) descreve uma série de casos em que D. gallinae foi encontrado em pardais na região de Illinois, nos anos de 1905 a 1910. No ano de 1905, realizou-se a captura e morte de nove pardais de forros de um celeiro, que continha pombos e ninhos de pardais, para constatar a presença de grande quantidade de D. gallinae. Na cidade de Arcola, em 1909, esse mesmo autor encontrou espécimes deste ácaro em um pardal debilitado caído na grama do campus da Universidade de Illinois. Em 1910, foram coletados espécimes desse ectoparasito em um ninho abandonado que foi construído por pardais. O pesquisador então inoculou espécimes do parasito em uma galinha isolada em uma caixa e verificou a multiplicação dos ácaros. Posteriormente, retirou espécimes da caixa e inoculou em um pardal em confinamento, para verificar o parasitismo nesta ave.

Levantamentos sobre os artrópodes parasitos de pombos, *Columba livia*, realizados em Boston, nos Estados Unidos da América, revelaram a presença de *D. gallinae* nessas aves. Nesse estudo, as aves no ninho mostraram uma menor percentagem de ectoparasitos, exceto no caso de *D. gallinae*,

uma vez que este habita os ninhos das aves (Brown, 1971).

Na República Eslovaca, um estudo foi realizado durante os anos de 2000 a 2004 para verificar os parasitos que acometem faisões (Phaisianus colchicus) criados em sistemas de confinamento. Descobriu-se que, dentre os ectoparasitos, foram diagnosticados D. gallinae e O. sylviarum (Goldová et al., 2006). Deve-se ressaltar que trabalho não foram feitas nesse considerações clínicas ou epidemiológicas decorrentes da infestação desses ácaros hematófagos.

Brockis (1980) relatou um caso clínico de infestação de *D. gallinae* acometendo um cão e gatos com lesões cutâneas.

Posteriormente, Leone e Albanese (2007) descreveram clinicamente a infestação de *D. gallinae* acometendo duas gatas de 40 dias de idade, que viviam em uma fazenda, em contato com galinhas. Foram encontrados sinais clínicos de magreza, letargia, anemia, desidratação e prurido intenso. Apesar de não encontrar lesões cutâneas, espécimes de coloração branca foram encontrados na superfície da pele. Exames laboratoriais revelaram uma marcada anemia normocítica e normocrômica.

Um caso de dermatite em um cavalo associado ao ácaro vermelho das galinhas foi relatado na Bélgica por Mignon e Losson (2007). O animal acometido apresentava perda de peso no inverno, associada à ocorrência de lesões de pele, prurido e perda de pêlos secundária na região da cabeca e pescoço. O contato direto com galinhas durante a estabulação no período de inverno e a presença do parasito nestas aves e no ambiente próximo foram considerados fatores responsáveis pela ocorrência do caso durante os períodos de inverno. O tratamento do animal foi realizado com quatro aplicações de solução com 2% de permetrina, intervaladas de uma semana. A

prevenção da recorrência da dermatite foi conseguida com sucesso com aplicações preventivas de permetrina no cavalo, associada à limpeza e aplicação de Amitraz no estábulo antes do período de confinamento do animal, no inverno.

2.3.1.1 Casos humanos de acarioses causadas por ácaros hematófagos das aves

Relatos de casos do ataque de *D. gallinae* acometendo pessoas de uma família em Danvers, nos Estados Unidos da América, foram realizados por Dunkan em 1957.

Posteriormente, Shenone (1959) relatou casos de dermatites pruriginosas produzidas por D. gallinae em onze pessoas de três diferentes famílias no Chile. Todos os casos observados ocorreram no início do verão. O sintoma predominante foi prurido intenso e, algumas vezes, insuportável, especialmente em crianças. Em "vários" pacientes pode-se observar, em diversas partes da pele, a presença de pápulas avermelhadas com aproximadamente cinco milímetros de diâmetro, isoladas ou agrupadas em número não maior que cinco. Algumas dessas pápulas possuíam um pequeno halo hemorrágico em seu centro. Todas as famílias não possuíam aves domésticas em suas residências, embora tenha ocorrido o aumento da população de pardais (Passer domesticus). Após o início do tratamento pacientes, 0 prurido reduz-se apreciavelmente e as lesões começam a empalidecer, desaparecendo em três a cinco

Auger et al. (1979) relatam a ocorrência de acarioses cutâneas causadas por *D. gallinae* em um hospital acometendo 10 pessoas, entre pacientes e empregados, com lesões cutâneas similares àquelas observadas na escabiose. A infestação era caracterizada pela presença de prurido que durava de uma a três semanas e não afetava os familiares das pessoas acometidas. As lesões observadas foram pápulas, usualmente em

pouca quantidade, localizadas no tórax e nos braços. Os indivíduos acometidos foram tratados com anti-histamínicos e esteróides administrados topicamente. A provável fonte de manutenção dos ácaros era a presença de pombos nas galerias de passagem de ar. A eliminação dessas aves foi efetuada e, a partir de então, não foram observados novos casos. Os relatores realizaram também uma revisão da literatura sobre casos de acarioses em seres humanos causados por ácaros hematófagos das aves e finalizam seu trabalho fazendo considerações a respeito do reduzido número de citações a esse respeito em livros médicos e de doenças infecciosas.

Ortom et al. (2000) relatam um caso de dermatite em uma mulher causada pelo parasitismo de *O. sylviarum*. Ao longo do relato, foram feitas comparações entre características do ciclo biológico de *O. sylviarum* e *D. gallinae*, que auxiliam no diagnóstico e no controle das dermatites. Para Ortom et al. (2000), nos casos de infestação por *D. gallinae*, a remoção dos ninhos das aves e o tratamento do ambiente são suficientes, ao passo que nas infestações por *O. sylviarum* o habitat e as aves precisam ser tratados simultaneamente.

Rosen et al. (2002) descreveram casos de dermatite humana associada com ácaros *Pyemotes tritici*, *D. gallinae*, *O.bacoti* e *Androlaelaps casalis* em Israel. Eles associaram os casos de dermatite por *D. gallinae* a pardais (*Passer domesticus*) e galinhas (*Gallus gallus*).

Um caso de dermatite em uma mulher de 58 anos de idade e em seu gato por *D. gallinae* foi associado à presença de ácaros no ambiente externo. Como o gato tinha acesso ao ambiente externo e interno, sugeriu-se que o felino tivesse carreado o parasito para o ambiente onde a mulher vivia (Guin, 2005).

2.3.2 Efeito do parasitismo por *D. gallinae* nos hospedeiros

Kirkwood (1967) realizou estudos com o objetivo de verificar se o parasitismo por D. gallinae era capaz de causar anemia em galinhas jovens e frangos. Para isso, esse pesquisador introduziu 10.000 ácaros e um frango de seis semanas em caixas isoladas, sob condições controladas de foto-período e temperatura. As aves foram utilizadas para estabelecer a colônia de ácaros e, após um determinado tempo, foram substituídas pelas "aves experimentais". Estimou-se, a partir desse momento, o número de ácaros presentes, os valores de hematócrito e a contagem de eritrócitos. Foram utilizadas vinte e uma aves, das quais seis foram galos com dois anos de idade, duas aves com 14 semanas e o restante eram constituídas de frangas com sete semanas. As contagens estimadas de ácaros passaram de 10.000 para 165.000 em cada ave jovem e para 956.000 por galo adulto. Os valores de hematócrito e contagem de eritrócitos reduziram da primeira para a última mensuração em todas as aves analisadas. Entretanto, o número de aves de controle não foi especificado. A contagem de ácaros foi estimada a partir de apenas duas gaiolas. O número de dias entre a primeira coleta de sangue e a segunda não foi uniforme. Seis aves de sete semanas de idade não tiveram seus parâmetros sangüíneos analisados por morrerem com até 16 horas após terem sido colocadas em contato com os ácaros.

Keçeci et al. (2004) analisaram os efeitos da infestação por D. gallinae nos valores hematológicos e no ganho de peso de galos da linhagem "Hyline". Durante todo o experimento, não foram verificadas diferenças significativas nas contagens de eosinófilos, basófilos e monócitos. No primeiro dia de infestação, esses ácaros causaram quedas no número de eritrócitos, níveis de hemoglobina, hematócrito e contagem de linfócitos. Também foi verificado o aumento no número de

trombócitos e heterófilos, assim como a perda de peso dos animais parasitados em relação aos não parasitados. Entretanto, todas estas alterações hematológicas de peso reduzem e se tornaram similares aos do grupo controle após dois tratamentos intervalados de 15 dias com Propoxur a 1% e Fenetrina a 12,5%.

Os efeitos da infestação de D. gallinae e saúde Ascaridia galli na comportamento de galinhas da linhagem Isa Brown foram estudados por Kilpinen et al. (2005). Nesse estudo, foram utilizadas três salas. Cada uma foi dividida em dois cercados. Grupos de 15 galinhas foram alocados em cada cercado, sendo que em uma sala foram colocados dois grupos controle, em outra, dois grupos contendo aves infectadas com A. galli e, na última sala, dois grupos infestados com D. gallinae. No caso dos grupos infestados com D. gallinae, foram feitas duas tentativas de estabelecimento dos ácaros. Depois de estabelecidos, houve um rápido aumento da população em duas semanas, o que gerou populações superiores a um milhão de ácaros. Esse fato ocasionou a morte de 13 das aves em um dos dois grupos infestados e 30% no outro grupo. Uma semana antes da maior contagem de ácaros, percebeu-se a redução significativa no volume globular médio. Ao se aproximar do período final dos experimentos, os valores do parâmetro hematológico aumentavam, mas ainda eram baixos. Ao término dos experimentos, todas as variáveis sanguíneas estudadas não mostraram diferenças significativas. No pico de infestação por ácaros hematófagos, as galinhas chegaram a perder mais de 100 gramas de peso em uma semana, ao passo que o grupo controle teve um ganho de 159 ±81 gramas nesse mesmo período. As características comportamentais das galinhas foram avaliadas a cada 10 minutos por meio de câmeras noturnas e apresentaram grande variação. Entretanto, as aves parasitadas por A. galli não apresentaram comportamento diferente das não parasitadas. Já as galinhas

dos grupos que continham *D. gallinae* aumentaram a limpeza das penas, as bicadas sobre as penas e a reação de limpeza da cabeça durante o período diurno. Durante a noite, as galinhas aumentaram a freqüência de limpeza das penas (Kilpinen *et al.*, 2005).

No Estado de São Paulo, Brasil, Tucci et al. (1996) verificaram que as granjas infestadas com *D. gallinae* apresentavam aves com sinais clínicos de anemia, verificada principalmente pela coloração das cristas e barbelas. Os proprietários informavam que os prejuízos com a queda na postura atingiam até 30%, baseado em boletins de acompanhamento de produção.

2.3.3 Papel de *D. gallinae* na transmissão e manutenção de doenças aos seres humanos e a outros animais

Em 1944, o vírus da Encefalite de Saint Louis foi detectado em espécimes de *D. gallinae* através a técnica de soroneutralização em camundongos. Os ácaros utilizados para o isolamento eram provenientes da região de Saint Louis, onde havia de ocorrência de surtos da doença e galinhas haviam sido diagnosticadas como soropositivas para o esse vírus (Smith, Blattner e Heys, 1944).

Posteriormente, experimentos demonstraram que exemplares de *D. gallinae* são capazes de se infectar com o vírus da Encefalite de Saint Louis após se alimentar em galinhas positivas para esse vírus. Demonstrou-se também que *D. gallinae* era capaz de mantêlo em seu organismo e realizar a transmissão trans-ovariana para sua progênie e infectar galinhas até então não infectadas (Smith, Blattner e Heys, 1946; Smith, Blattner e Heys, 1947).

Smith, et al. (1948) realizaram uma série de experimentos e verificaram que o mosquito *Culex pipens* transmitia o agente causador da Encefalite de Saint Louis 4 a 27 dias após realizar um repasto sangüíneo em galinhas

com viremia produzida a partir da picada de *D. gallinae*. Constatou-se também que *C. pipens*, *Culex quinquefaciatus*, *Anopheles punctipenis*, *Aedes aegypti* e *Aedes vexans* transmitiam essa estirpe viral para galinhas após realizarem repastos sanguíneos em aves infectadas através de *D. gallinae*.

Sulkin (1945) isolou o vírus da Encefalite Eqüina do Leste de espécimes de *D. gallinae* oriundos de locais onde casos da doença ocorreram.

Experimentos demonstram que o vírus da Encefalite Equina do Leste pode ser galinhas entre por transmitido artrópode. Nesses ensaios, foram feitas quatro repetições sendo que, em cada uma, 500 a 600 fêmeas desse ácaro foram colocadas para se alimentar em frangas inoculadas com 10⁴ Unidades Formadoras de Colônia (UFC's) do vírus. Dos ácaros alimentados, uma parte foi separada e colocada para se alimentar em 20 aves novas, das quais duas tornaram-se positivas para o vírus. Constatou-se que 62% dos ácaros tornaram se portadores do vírus no mesmo dia em que foi realizado o repasto sangüíneo. Destas fêmeas de D. gallinae, 42% mantiveram o vírus após 30 dias do repasto sangüíneo em aves infectadas (Durden et al., 1993).

Uma série de experimentos foi realizada para se verificar a capacidade de transmissão do vírus da Encefalite Egüina Venezuelana por Laelaps kochi e D. gallinae entre camundongos. Descobriu-se que L. kochi falha em se contaminar, manter e transmitir vírus após este se alimentar camundongos artificialmente infectados e em viremia. Entretanto, parte dos espécimes de D. gallinae mantém o vírus por até 16 horas após se alimentar. Após este ácaro receber inoculação intracelomática, o vírus pode ser recuperado após três dias pela técnica de contagem direta em placas e por sete dias quando se realiza uma técnica de amplificação viral antes da contagem.

Portanto, *D. gallinae* é capaz de manter o vírus e transmiti-lo, embora este não se replique em seu organismo (Durden et al., 1992).

Durden e Turell (1993) verificaram laboratorialmente a capacidade de transmissão mecânica do vírus de Langat (família Flaviviridae, gênero *Flavivirus* pertencente a um complexo de encefalites virais transmissíveis por carrapatos) entre camundongos por meio do repasto sanguíneo de *D. gallinae* e *O. bacoti* (Hirsth).

Verificou-se o isolamento deste vírus em apenas 20% dos espécimes de *D. gallinae* imediatamente após realizarem repasto sanguíneo em um camundongo com viremia. Passados de 1 a 18 dias, não foi possível isolar o vírus dos ácaros. Não foi verificada a transmissão do vírus entre camundongos pela alimentação de *D. gallinae. O. bacoti* foram capazes de transmitir essa flavivirose para um camundongo um dia após realizar o repasto sanguíneo em camundongos com viremia.

A bactéria Erysipelothrix rhusiopathiae foi isolada a partir do tegumento e do conteúdo interno de D. gallinae provenientes de três fazendas na Holanda. Os sorotipos da bactéria isolados (1a e 1b) eram iguais àqueles que foram encontrados em aves com erisipela (Chirico et al., 2003). Mazaheri et al. (2005) estudaram a patogenicidade de E. rhusiopathiae para aves de postura. As bactérias utilizadas neste estudo foram isoladas de aves de postura com 34 semanas de idade, criadas em sistema de produção extensivo em uma fazenda na Alemanha. Nessa propriedade, ocorreram casos de bacteriose por E. rhusiopathiae e os pesquisadores verificaram presença constante de D. gallinae.

A infecção de *D. gallinae* por *Salmonella* enterica enterica foi estudada experimentalmente por Valiente Moro et al.

(2007a). Notou-se que, quando previamente expostos à contaminação por contato (contaminação cuticular), cerca da metade dos ácaros foi contaminada com esta bactéria. Ouando OS ácaros foram alimentados com sangue contaminado com este microrganismo (cerca de 2x10⁴ bactérias por ácaro), 29% apresentaram crescimento de Salmonella enterica enterica em meios seletivos. A multiplicação deste microrganismo no ácaro foi demonstrada pelo aumento considerável da porcentagem de indivíduos positivos para Salmonella sp. no meio de cultura com o passar do tempo. Notou-se que fêmeas positivas originavam protoninfas também positivas e que parte destas realizava transmissão transestadial para as deutoninfas. Ácaros contaminados também foram capazes de transmitir o microrganismo para o sangue utilizado na alimentação in vitro em um segundo repasto sangüíneo. Deve-se ressaltar que um menor número de fêmeas realiza oviposição, quando contaminadas, sem alterar o número de ovos por indivíduo.

O diagnóstico da infecção de *D. gallinae* por *Salmonella* sp. também pode ser realizado por meio da técnica Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR). Porém, esta técnica apresenta a limitação de necessitar de 2 x 10⁴ bactérias por ácaro (Valiente Moro et al., 2007b).

Laison (1958) realizou algumas observações sobre o ciclo biológico de protozoários do gênero Atoxoplasma. Após isolar tecidos de pardais contendo esse protozoário, foram feitas inoculações em canários, com o objetivo de reproduzir a doenca nesta espécie. Os canários foram colocados isolados e próximos de gaiolas contendo pardais sem Atoxoplasma spp. Entretanto, a transmissão desse protozoário entre os dois grupos de aves ocorreu devido à presença de D. gallinae acometendo ambas as espécies de aves neste local. Não foi demonstrado nenhum sinal do desenvolvimento deste embora protozoário nestes ácaros,

aglomerados do protozoário tenham sido detectados em seu interior após esses serem esmagados.

2.4 Distribuição geográfica e prevalência no Brasil e em outras partes do mundo

Torres et al. (1974) realizaram estudos preliminares para verificar espécies de parasitos de *Gallus gallus domesticus* na província de Valdívia, no Chile. A presença de *D. gallinae* foi notada sobre a superfície corporal de uma das 37 aves examinadas. A presença deste parasito também foi assinalada por Hernandez-Divers et al. (2006) no Equador por meio de levantamentos sobre a ocorrência de uma série determinada de patógenos das aves.

Höglund et al. (1995) realizaram estudos na Suécia para verificar a prevalência de ácaros hematófagos em três diferentes categorias de sistemas de produção de ovos de galinha: em "Deep Litter", "fundo de quintal" ou baterias de gaiolas. Foram feitos dois levantamentos, sendo o primeiro por meio de envio de questionários a produtores e o segundo por meio de visitas a diferentes propriedades. Os resultados entre as duas técnicas não foram comparados, embora os valores prevalências de ácaros tenham sido menores na pesquisa por questionários. D. gallinae foi o único ácaro detectado, e estava presente em todas as categorias de sistemas de produção analisadas. A prevalência foi menor no sistema de produção em gaiolas, sendo de 6% através do método de visitação e 20% por meio de questionários. Os valores de prevalência em propriedades com criação em fundo de quintal foram de 61% e 67%, obtidas respectivamente por questionários e inspeções dos pesquisadores.

Guy et al. (2004) estudaram a prevalência de *D. gallinae* em 29 propriedades produtoras de ovos da região norte da Inglaterra. Para isto, as propriedades foram divididas em três categorias de sistemas de produção e foram

realizadas capturas por meio de armadilhas de papel corrugado. As contagens médias de ninfas e adultos por armadilha foram maiores nas propriedades sistemas onde as galinhas são criadas extensivamente do que nas propriedades onde estas são mantidas em celeiros ou em gaiolas. Descobriu-se também que este ácaro estava presente em 71% das criações em gaiolas, 4% das propriedades com criação em celeiros e 25% das propriedades onde as aves são mantidas extensivamente.

Mungube et al. (2008) estudaram a prevalência de parasitos de galinhas criadas extensivamente na divisão Yathui do distrito de Machakos, no Kenia. Foram examinadas 360 aves provenientes de 60 propriedades. Constatou-se uma prevalência de 60% (54% a 65%) de *D. gallinae*, encontrados sobre toda a superfície corporal das aves.

Em 1935, Fonseca (1937) realizou um trabalho de descrição de Dermanyssus brasiliensis, atualmente conhecido como Ornithonyssus brasiliensis. O autor afirmou que, no Brasil, as referências feitas sobre representantes do gênero Dermanyssus não inspiravam confiança, por não partirem de especialistas que conhecessem o grupo. Segundo ele, esse fato provinha de uma confusão entre D. gallinae e Ornithonyssus bursa, ambos parasitos de aves domésticas. Ainda em 1935, Vaz cita a presença de D. gallinae em uma lista de ectoparasitos observados no Estado de São Paulo e depositados na Coleção de "Artrópodes Parasitas de Animais do Instituto Biológico de São Paulo". A confirmação da presença deste parasito no Estado de São Paulo (SP) foi feita por confirmada por Reis (1939). No Rio Grande do Sul, a ocorrência desta espécie artrópode foi relatada primeiramente por Oliveira em 1972.

Em 1988, na cidade de Bastos (SP), um levantamento realizado em 31 propriedades avícolas de postura revelou que 16,1% das propriedades apresentavam *D. gallinae*

38,7% apresentavam *O. sylviarum* e 38,7% das propriedades apresentavam ambos os ácaros (Tucci, Guimarães e Bruno, 1988).

Posteriormente, a ocorrência deste parasito foi pesquisada em 43 aviários industriais de postura de todo o Estado de São Paulo. que 25,6% das Constatou-se granjas 13.9% apresentavam D. gallinae, apresentavam O. sylviarum e 34,9% possuíam, ambas as espécies. Verificou-se também que D. gallinae é capaz de formar colônias em instalações constituídas de madeira; metal e madeira; e metal. Das 43 propriedades, foi constatado que, em 19, os piretróides. proprietários utilizavam organofosforados e carbamatos disponíveis no mercado e informaram que as populações deste parasito aumentavam num período muito curto após cada aplicação, ou até nem chegavam a desaparecer. Tal fato sugere que D. gallinae seja resistente aos diferentes grupos químicos utilizados no seu controle. Como método alternativo, 15.4% dos granjeiros começou a pulverizar óleo diesel nas granjas, obtendo resultados satisfatórios por até três meses no controle. Dos outros proprietários, 73,1% utilizavam somente produtos químicos e 11,5 utilizavam a associação entre este óleo e outros produtos químicos (Tucci et al., 1996).

2.5 Dinâmica populacional de D. gallinae

Um estudo sobre a dinâmica populacional de *D. gallinae* foi realizado na Suécia, de 1994 a 1997 por Nordenfors e Höglund (2000). Foram feitas capturas de ácaros em armadilhas de papel corrugado colocadas sobre diferentes localizações em dois diferentes sistemas de criação de poedeiras. Um dos sistemas era do tipo OLI Free[®], com uma população galinhas das linhagens Shaver ou LSL. O outro aviário, com outro sistema de produção, possuía galinhas da linhagem ISA Brown criadas em sistema de produção Oli voletage[®]. Capturas foram realizadas ao longo de cinco meses antes de

se iniciar qualquer tipo de interferência sobre a população de ácaros. Na propriedade com sistema Oli voletage® procedimentos de limpeza e aspiração de ácaros não causaram a queda da população de ácaros capturados. Já a aplicação de solução contendo 0,15% de metrifonato¹ por meio de Spray levou a reduções nas capturas por apenas dois meses. As contagens de ácaros nas armadilhas colocadas em diferentes posições também revelaram que a aplicação de spray de metrifonato levou ao deslocamento da população nos extratos mais próximos do solo do sistema. Na ausência de tratamento, as populações destes ácaros tendem a serem mais altas nos extratos mais distantes do solo (médio e superior). Na propriedade com sistema de produção OLI Free ® a limpeza ocasionou a redução nas capturas por um período muito curto de tempo, voltando nos quatro meses subsegüentes. O uso de armadilhas plásticas contendo permetrina² ocasionou a redução da população por, pelo menos, um ano. A proporção de ácaros capturados também é maior nos extratos mais altos na ausência de medidas de controle ou com o uso de armadilhas com acaricidas. A aplicação dos procedimentos de limpeza e aspiração levou à equalização das populações no extrato inferior, no médio e no superior. Ainda sobre os resultados, durante todo o estudo, as populações de ácaros nas duas propriedades foram menores no inverno que no verão.

Maurer e Baumgärtner (1994) validaram um modelo matemático para descrever a população de *D. gallinae*. Ele foi desenvolvido a partir de tabulações de estudos retrospectivos conduzidos sobre condições de temperatura entre 10°C e 25°C. A validação destes modelos foi feita a partir de capturas de ácaros de diferentes pontos de dois grupos independentes de um sistema de criação de galinhas poedeiras. As

-

¹ Neguvon[®]

² NoMite Strip[®]

densidades e a estrutura dos diferentes estádios da população de ácaros preditas nos modelos neste sistema de produção foram próximas aos valores observados após 32 e 11 semanas, respectivamente.

Arkle et al. (2004) realizaram estudos sobre os efeitos do controle químico de D. gallinae pela aplicação de soluções de Bendiocarb sob a forma de spray em um sistema extensivo de criação de poedeiras. A estimativa da população foi realizada pela captura de ácaros por armadilhas construídas de dois canudos presos em uma peça retangular de papel. A aplicação destas armadilhas foi feita semanalmente durante as 13 semanas de condução do experimento. A aplicação de acaricidas no ambiente foi realizada no início da quarta e da décima semana. Não foram verificadas diferenças nas contagens de larvas durante todo o experimento. A contagens de adultos e ninfas foi diferente entre a primeira semana e a quarta ou décima semana e a contagem de ovos de D. gallinae foi diferente entre a primeira e a décima semanas.

Tucci (2004)realizou experimentos laboratoriais visando estimar as exigências térmicas de D. gallinae no Estado de São Paulo, Brasil. Para isso, espécimes desse artrópode foram coletados de granjas avícolas deste estado e mantidos laboratorialmente em câmaras climatizadas a 15, 20, 25, 30, e 35°C, sob 12 horas de fotofase, e 60% a 85% de umidade relativa do ar. A partir dos dados obtidos destas criações em laboratório e de dados de isotermas médias anuais de São Paulo nos anos de 2000 a 2003, descobriu-se que, nesta unidade da federação, o ciclo biológico de D. gallinae se desenvolve continuamente ao longo do ano, com uma diminuição na população nos meses de inverno. Verificouse também que este ectoparasito é capaz de realizar de 15 a 42 gerações por ano neste estado.

Meyer-Kühling et al. (2007) avaliaram a epidemiologia e a dinâmica populacional de D. gallinae em dois diferentes sistemas de produção com histórico de infestação persistente por estes ácaros. Em um dos aviários, as aves foram criadas soltas em um sistema "Big Dutchman Natura". Eles continham apenas um andar de piso e ripas de plástico. No outro aviário as galinhas poedeiras foram criadas soltas em um sistema "Big Dutchman Natura" com quatro andares de piso com ripas plásticas. Os dados foram obtidos durante um ano a partir de capturas com armadilhas de papel cartão. Durante este período, foram feitas quatro aplicações de spray de solução com 2.000 PPM de Phoxin nos dias 227, 234, 278 e 285. Constatou-se que a população destes ácaros aumentou gradualmente da primeira semana até a primeira aplicação deste acaricida. No sistema de criação com vários andares, esta prática levou a uma redução da população de ácaros de 90% a 99,3% dos ácaros. No sistema com apenas um andar de piso ripado a redução da população situou-se entre 94,5% e 97%. Não houve evidência de quedas na taxa diária de postura dos plantéis com o aumento gradual da população de ácaros.

2.6 Manutenção de colônias de *D. gallinae* em laboratório

Smith et al. (citados por Chamberlain e Sikes, 1950) afirmam que conseguiram manter colônias em latas altas e com tampas, cujo centro continha uma malha. Essas latas foram cercadas com creosoto para impedir a fuga dos ácaros. A alimentação dos ácaros foi realizada introduzindo-se uma ave na lata por uma ou duas noites, intervaladas semanalmente. Um abrigo de madeira localizado no fundo do balde foi utilizado como abrigo para os ácaros.

Posteriormente, Chamberlain e Sikes (1950) desenvolveram uma técnica para a criação de *D. gallinae*, *O. bursa* e *O. sylviarum* a partir de métodos de criação do *O. bacoti*.

Este método de criação consiste em criar estes ácaros juntamente com uma galinha nova dentro de uma caixa de metal (30,48 centímetros de largura, 38,10 centímetros de comprimento, e 44,45 centímetros de altura). Em um dos lados mais estreitos, são acoplados dois compartimentos para o fornecimento de água e comida para a ave. O teto da caixa é coberto com um tecido (malha nº 40), para impedir a fuga da ave, e a borda de cima da caixa possui um fosso (2,54 centímetros de largura) preenchido com água, funcionando como uma barreira que impede a fuga dos parasitos. Capim seco autoclavado é preso no fundo da caixa com o auxílio de fitas adesivas. No caso de D. gallinae, são colocadas três a quatro placas de papel corrugado com 10,16 cm x 15,24 cm, para servir como abrigo para os ácaros. A retirada de indivíduos desta espécie é feita por aspiração, quando os ácaros deixam seus abrigos três ou quatro dias após a retirada da ave hospedeira. Os ácaros são aspirados para um cilindro de vidro cuja extremidade mais próxima do aspirador possui uma malha e a outra extremidade possui um fino tubo de vidro. Apesar de eficaz para criar D. gallinae, O. bursa e O. sylviarum, houve problemas devido a uma invasão e proliferação por coleópteros do gênero *Tribolium* spp. no interior da caixa.

Uma técnica de criação em gaiolas para manter colônias de *D. gallinae* associada galinhas hospedeiras foi desenvolvida por Camin e Ehrlich (1960). Um recipiente metálico externo cilíndrico, similar àquele desenvolvido por Chamberlain e Sikes (1950), foi utilizado para circundar uma gaiola triangular, cujo fundo possuía um recipiente para armazenar as excretas da ave.

Para o estudo da biologia de *O. sylviarum* e *D. gallinae*, Hamann (1990) utilizou baldes com tampas. No fundo, foi colocada uma grade telada de arame com malha de 14 cm. Os baldes foram colocados em pratos de plástico. Na alimentação dos pintos foram utilizados comedouros e bebedouros de

gaiolas de passarinhos, acoplados por fora dos baldes. Entretanto, o trabalho dele não especifica se há algum tipo de barreira que impeça a fuga dos ácaros, nem a existência de abrigos para a manutenção de *D. gallinae*.

Um método laboratorial para criação, manutenção e alimentação de colônias de D. gallinae em pipetas, tipo Pasteur, com fundo coberto com telas de nylon na extremidade mais larga foi desenvolvido por Tucci (1997). A introdução dos ácaros para o interior da pipeta foi feita pela sucção destes parasitos, após acoplar esse sistema a um aspirador. A alimentação foi realizada durante uma noite, e os ácaros eram aspirados para novas pipetas com fundo contendo malhas de nylon. Após a captura dos ácaros, a ponta da pipeta é fechada por aquecimento em bico de Bunsen. Para a alimentação da colônia, uma galinha nova imobilizada foi colocada em um cesto plástico contendo papel toalha como forro no fundo do recipiente e na extremidade superior externa como abrigo. O cesto foi colocado dentro de uma bandeja contendo líquido que atuem como barreira, para evitar a fuga dos ácaros. Foram testados óleo mineral, vaselina líquida, água e água com detergente líquido. Essa última associação foi o líquido mais eficiente para impedir a fuga dos ácaros. O uso de água sem detergente como barreira foi contraindicado, uma vez que alguns espécimes deste ectoparasito conseguiram andar sobre este líquido. A pipeta contendo os ácaros é quebrada, liberando estes parasitos no recipiente com a ave.

Bruneau et al. (2001) utilizaram um sistema de alimentação *in vitro* capaz de manter até sete gerações consecutivas de *D. gallinae*. Este sistema consiste em uma pipeta de Pasteur, que serve como uma câmara de manutenção dos ácaros, e um reservatório de sangue. Nesse estudo foram testadas peles de pato, peru, galinha, de pinto de um dia e membranas artificiais. Os espécimes de *D. gallinae* são aspirados com ajuda de uma

bomba de sucção e uma peça de papel-filtro seja utilizada como barreira para impedir que os espécimes aspirados saiam da pipeta pela extremidade mais larga. No momento da alimentação uma membrana quadrada com dois centímetros de aresta é esticada na abertura larga da pipeta, e um reservatório de sangue com anticoagulantes é acoplado ao conjunto, membrana-pipeta. Não foi verificada a alimentação em membranas artificiais ou pele de pato. A pele de pintos de um dia propiciou melhores taxas de alimentação, sobretudo de protoninfas. Também foram testados três tipos de anticoagulantes, sendo a heparina (0,02%) o produto que proporcionou melhores taxas de sobrevivência de fêmeas adultas. As peles de pintos utilizadas como membranas de alimentação podem ser frescas ou conservadas a -20°C por menos de três dias. Sistemas de alimentação artificial de D. gallinae também foram utilizados em experimentos realizados por Zeman (1988), contudo sem realizar a manutenção de colônias deste artrópode com estes sistemas.

2.7 Princípios de ecologia química no comportamento de reunião de ácaros de importância médicoveterinária

2.7.1 Terminologia e conceitos básicos

2.7.1.1 Conceitos básicos para estudos em olfatometria

O vento é o principal responsável pela dispersão dos estímulos olfativos até os insetos e estes se utilizam dele para se orientarem até a fonte de odor. Quando o inseto se orienta na direção do vento, chamamos de "anemotaxia", que pode ser "anemotaxia positiva", quando o inseto se orienta contra o vento predominante, e "anemotaxia negativa", quando a favor do vento (Eiras e Mafra Neto, 2001).

Já a **ortoquinese** é o movimento ou freqüência de atividade do inseto dependente da intensidade do estímulo. Tem-se também a **clinoquinese** que é o aumento da freqüência de giros na orientação dependendo da intensidade do estímulo. Ambas podem ocorrer a longas e curtas distâncias. A eficiência das quineses como mecanismos de orientação diminui com o aumento da distância da fonte de odor (Eiras e Mafra Neto, 2001).

A resposta **clinoquinética direta** consiste em "dobrar curvas" (do inglês *turning*) ao acaso quando o inseto entra na pluma de odor. Já a resposta **clinoquinética inversa** consiste em um retorno (do inglês *casting*, mudança de direção) ao acaso quando o inseto deixa a zona de odor (Eiras e Mafra Neto, 2001).

2.7.1.2. Terminologia utilizada para descrever compostos químicos em relação às respostas comportamentais geradas por estes nos artrópodes

Arrestantes: são substâncias químicas que fazem com que os artrópodes se agreguem ao entrar em contato com ela. Um arrestante pode reduzir a progressão linear de artrópodes pela redução da velocidade de locomoção ou pelo aumento do *turning* deste artrópode ao mesmo local. Este conjunto de comportamentos é denominado arrestamento. Acredita-se que o sufixo "-ante" é derivado do francês antigo e o radical "arrest" provém, presumidamente, da palavra do latim vulgar arrestare (do latim ad +restare) (Dethier et al., 1960).

Estimulador da Locomoção: substância química que, por um mecanismo cinético, causa uma maior dispersão de artrópodes de um local quando comparado com um local onde não existe a substância. Esta classe de produtos químicos pode agir aumentando a velocidade de locomoção ou reduzindo o

turning a um determinado local (Dethier et al., 1960).

Atraente: substância que leva os artrópodes a realizar um movimento orientado na direção da fonte de produção desta substância (Dethier et al., 1960).

Repelente: substância que leva os artrópodes a realizar um movimento orientado de afastamento da fonte de produção do produto químico (Dethier et al., 1960).

Estimuladores da alimentação, oviposição e acasalamento: substâncias que estimulam o acasalamento, a alimentação ou a oviposição de um artrópode (Dethier et al., 1960).

Deterrente: tradução da palavra inglesa "deterrent". Substância que inibe a alimentação ou a oviposição de um artrópode. Em sua ausência, os artrópodes se alimentam e realizam oviposição normalmente (Dethier et al., 1960).

2.7.1.3 O termo "Infoquímico"

O termo "semioquímico" designa qualquer substância química envolvida na interação entre organismos (Nordlund e Lewis 1976, citado por Dicke e Sabelis, 1988). Dicke e Sabelis (1988) consideraram esta definição muito ampla, uma vez que o termo se refere não somente às substâncias químicas responsáveis pelo fornecimento informação, como também às toxinas e nutrientes. O termo "infoquímico" foi então criado por Dicke e Sabelis, 1988 para se referir a qualquer produto químico que, em contexto expresse natural, informação de interação entre indivíduos, evocando no receptor da informação uma resposta comportamental ou fisiológica que é adaptativa para um dos indivíduos envolvidos na comunicação ou adaptativa para ambos.

Aleloquímicos: infoquímicos que mediam uma interação entre dois indivíduos de espécies diferentes, e podem ser subdivididos em três categorias: sinomônios, cairomônios e alomônios (Dicke e Sabelis, 1988).

Cairomônio: aleloquímico pertinente à biologia de um organismo (organismo 1) que, quando em contato com um indivíduo de outra espécie (organismo 2), evoca no receptor uma resposta comportamental ou fisiológica que é adaptativamente favorável ao organismo 1, mas não ao organismo 2 (Dicke e Sabelis, 1988).

Alomônio: a aleloquímico pertinente à biologia de um organismo (organismo 1) que, quando em contato com um indivíduo de outra espécie (organismo 2), evoca no receptor da informação uma resposta comportamental ou fisiológica adaptativamente favorável ao organismo 2, mas não ao organismo1 (Dicke e Sabelis, 1988).

Sinomônio: aleloquímico pertinente à biologia de um organismo (organismo 1) que, quando em contato com um indivíduo de outra espécie (organismo 2), evoca no receptor da informação uma resposta comportamental ou fisiológica adaptativamente favorável a ambos, (organismos 1 e 2) (Dicke e Sabelis, 1988).

Feromônio: esse termo foi proposto por Karlson e Lüscher (1959), sendo derivado das palavras gregas pherein e hormôn que "transmitir" significam e "excitar", respectivamente. É definido como uma substância secretada por um indivíduo de uma determinada espécie e percebida por indivíduo da mesma desencadeando neste uma reação específica, por exemplo, um comportamento definido ou um processo de desenvolvimento. Por atuarem entre indivíduos de uma mesma espécie. feromônios podem diferenciados de outras classes de

substâncias. Incidentalmente, a atividade espécie-específica pode não ocorrer, e determinadas sobreposições podem ocorrer em espécies muito estreitamente relacionadas.

Sonenshine (1985) divide os feromônios de ácaros em feromônios de alarme, de reunião, de atração-agregação, sexuais arrestantes, sexuais de atração e sexuais de contato. Segundo este pesquisador, os feromônios de reunião promovem a formação de grupos de ácaros no meio ambiente, enquanto os feromônios de atração-agregação enviam informações para ácaros parasitos se agruparem no hospedeiro na fase de vida parasitária.

2.7.2 Principais feromônios de reunião de ácaros de importância médico-veterinária

Leahy et al. (1973) demonstraram que a *Argas persicus* (Acari: Argasidae) produz substâncias capazes de induzir a reunião de co-específicos. No experimento, discos de papel filtro foram colocados em contato com machos virgens ou fêmeas não cruzadas deste carrapato. Verificou-se que os discos foram capazes de induzir a reunião de machos e fêmeas co-específicos.

Leahy et al. (1975) verificaram que fêmeas Ornithodoros moubata (Acari: Argasidae) produzem um feromônio que induz a reunião de machos ou de fêmeas. Os feromônios foram extraídos de fêmeas imersas em solução aquosa de Cloreto de Sódio (0,9%), mas não puderam ser extraídos de fêmeas imersas em pentano, éter, acetona ou metanol. Quando os extratos aquosos foram estocados a -25°C por cinco meses ou aquecidos a 100°C por cinco minutos, a capacidade indutora de reunião foi mantida. Certificou-se que a remoção dos tarsos do primeiro par de patas reduziu a capacidade de reunião. A amputação dos

palpos eliminou completamente este comportamento.

comportamento de agregação Dermanyssus prognephilus foi estudado por Daves e Camin (1977). Notou-se que todos os estádios deste ácaro permaneceram acinéticos ao tocar grupos de ácaros já reunidos. Esse comportamento de acinese também foi induzido quando o ácaro tocou grãos de areia. As colônias de ácaros reunidos foram capazes de atrair coespecíficos localizados a aproximadamente centímetro um de distância. A essa distância do conjunto de ácaros reunidos, espécimes deste ácaro permaneceram acinéticos ou reduziram sua velocidade locomoção, elevando o primeiro par de patas e se os direcionando para o grupo de ácaros reunidos. Percebeu-se também que espécimes de D. prognephilus se moveram para locais onde outros indivíduos desta espécie se agregaram previamente. Em testes individuais com ácaros cujos tarsos do primeiro par de patas foram removidos, constatou-se uma menor fregüência de indivíduos acinéticos em locais onde havia, previamente, um conjunto de co-específicos. A amputação dos tarsos dos palpos eliminou completamente a ocorrência deste comportamento.

Rechav (1978) estudou a atração de machos e de fêmeas dos ixodidae Amblyomma hebraeum, A. variegatum, A. gemma, A.marmoreum, A. maculatum, Rhipicephalus evertsi, R. apendiculatus e Hyalomma marginatum rupifes a extratos etéreos contendo feromônios de reunião de A. hebraeum. Verificou-se que não houve atração de nenhuma das espécies interespecíficas por estes extratos. Machos e fêmeas de A. hebraeum foram atraídos por extratos etéreos de carrapatos co-específicos.

Hassanali et al. (1989) verificaram que o comportamento de reunião de *Argas* persicus em resposta à guanina depende da umidade do ambiente. Ninfas e machos

adultos desta espécie se reúnem em discos de papel-filtro tratados com guanina quando a umidade relativa é baixa (20-30%). A exposição destes carrapatos a discos de papel filtro contendo guanina em ambientes com alta umidade relativa do ar (80-90%) resultou em uma gradual indução de ausência de resposta à guanina.

Dusbábek Šimek e Tříska (1991) identificaram os teores de xantina, hipoxantina e guanina nas esquírolas brancas da excreta de *Argas persicus*, *Argas reflexus*, *Argas polonicus*, *Ornithodoros moubata* e *Ornithodoros tratakovskyi*.

As esquírolas brancas da excreta de Argas persicus são constituídas de 1,5% de hipoxantina; menos de 9% de xantina e 89,8-98,6% de guanina. Nas excretas das demais espécies estudadas, essa proporção de componentes é semelhante, exceto em Argas polonicus e Argas reflexus, que possuem maiores teores de hipoxantina (entre 6 e 31,6%). Também se verificou que 0,1% a 5% do peso das excretas de Argas persicus contêm ácido úrico. Discos de papel-filtro contendo hipoxantina, xantina e guanina foram capazes de induzir a reunião das espécies de argasidae estudadas. A mistura de xantina e guanina na proporção de 1: 25, respectivamente, foi mais eficaz que a guanina comercial pura na indução de reunião de espécimes das espécies estudadas.

Arlian e Vyszenski-Moher (1996) estudaram a resposta de arrestamento de Sarcoptes scabiei (Acari: Sarcoptidae) a compostos fenólicos e compostos de excretas nitrogenadas. Fêmeas e larvas deste ácaro se reúnem quando expostos à guanina, purina, adenina, alantoina, hipoxantina, xantina ácido úrico, cloreto de amônio, nitrato de amônio e sulfato de amônio. Ninfas respondem a todos estes compostos, exceto a alantoína. Machos não respondem à purina e alantoina, mas se agrupam quando expostos aos demais produtos anteriormente citados e testados em fêmeas co-específicas. As fêmeas respondem mais intensamente a compostos nitrogenados que os demais estádios testados. Todos os estádios testados respondem ao 2,6-diclorofenol, ao metil salicilato e ao 2-nitrofenol.

Dusbábek, Zahradníčkova e Šimek (1998) verificaram que a estabilidade química dos feromônios de reunião de Ornithodoros moubata e Argas persicus. A guanina presente nas esquírolas de O. moubata apresentou alta estabilidade por não se degradar ao longo de doze meses. A degradação das esquírolas de A. persicus é mais intensa que a degradação de misturas sintéticas de guanina, xantina, hipoxantina e solução salina. A presença de bactérias e fungos isolados a partir deste material pode explicar a degradação dos feromônios. Suspensões hidroclorídricas de guanina e suspensões de guanina em solução com mistura de etanol e guanina não aumentaram o período de degradação desta purina. A reunião de machos de A. persicus submetidos aos feromônios sintéticos reduz significativamente, ou desaparece, ao longo de 114 dias de estocagem deste produto.

3 HIPÓTESES

3.1 Hipótese geral

O olfatômetro discriminante poderia ser utilizado para verificar se protoninfas alimentadas de *D. gallinae* apresenta um possível comportamento de anemotaxia, bem como a existência de uma resposta de atração por diferentes extratos hexânicos e diclorometânicos de ácaros co-específicos.

3.2 Hipóteses específicas

• Após a exposição a diferentes velocidades de corrente de ar, protoninfas alimentadas de *D. gallinae* apresentariam comportamento de anemotaxia direta, ou

anemotaxia inversa, a partir de uma destas velocidades.

- O tempo de permanência de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* sobre uma determinada superfície seria diferente quando estas fossem submetidas a diferentes velocidades de corrente de ar.
- Devido à existência de uma resposta de reunião entre protoninfas alimentadas de *D. gallinae*; haveria a atração destas por extratos hexânicos ou diclorometânicos.
- Haveria diferenças na proporção de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* que atingem bordas dos septos de borracha impregnados com extratos hexânicos ou diclorometânicos com 0; 200 ou 500 equivalentes-ácaro/mL de cada um dos tipos de extrato.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Verificar se há uma resposta de atração de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* por septos de borracha impregnados com diferentes extratos de ácaros co-específicos. Conseqüentemente, pretende-se determinar padrões para a utilização do olfatômetro de arena para estudos olfatométricos de protoninfas alimentadas.

4.2 Objetivos específicos

- Verificar o comportamento de protoninfas alimentadas de D. gallinae quando submetidas a diferentes velocidades de fluxo de ar em um olfatômetro discriminante de arena.
- Verificar se há atração de protoninfas alimentadas de D. gallinae por extratos hexânicos e diclorometânicos com diferentes valores de equivalenteácaro/mL.

 Verificar também se há diferenças na proporção de protoninfas alimentadas de D. gallinae que atinge bordas dos septos de borracha impregnados com diferentes extratos de ácaros co-específicos.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Tempo e local de realização dos experimentos

A criação e manutenção da colônia de ácaros foram realizadas em uma sala no infectório da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (EV-UFMG), em Belo Horizonte, Minas Gerais. Ovos de D. gallinae retirados da colônia foram separados e mantidos em estufas de germinação tipo BOD no Laboratório de Pesquisa em Endo-Ectoparasitoses Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da EV-UFMG. Os testes e os protoninfas repastos sangüíneos das utilizadas nos bioensaios foram realizados Laboratório de Saneamento Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, da EV-UFMG.

Duas horas e vinte minutos antes dos testes, as protoninfas foram retiradas das estufas e mantidas no laboratório por 20 minutos. Em seguida, elas foram colocadas para realizar o repasto sanguíneo em frangas de duas a quatro semanas de idade, conforme metodologia semelhante à descrita por Tucci (1997). Os bioensaios foram realizados sob iluminação artificial, e sob condições monitoradas de temperatura e umidade relativa do ar.

5.2 Obtenção identificação e manutenção dos ácaros

5.2.1 Obtenção dos ácaros

Os ácaros utilizados para estabelecer colônias em laboratório foram obtidos em uma propriedade naturalmente infestada,

localizada na no município de Itaguara, Minas Gerais.

Os hospedeiros descritos pelo proprietário eram galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas de forma extensiva e semi-intensiva. Os galinheiros possuíam áreas abertas e cobertas, sendo as últimas construídas de paredes de tijolos rebocados e telas. As aves dormiam em poleiros de bambu seco e possuíam ninhos feitos de pneus e balaios de bambu com capim.

Foram encontradas colônias de *D. gallinae* nas frestas das paredes, ninhos e poleiros. Também se observou a presença de *O. bursa* e *Argas (Persicargas) miniatus* nesse ambiente, entretanto, não foram relatados casos suspeitos de borreliose nesse local.

5.2.2 Caracterização do Parasito

Após a coleta, parte dos espécimes obtidos foi imersa em solução alcoólica (70%) mantida a 60°C. Em seguida, esta foi clarificada por imersão em creosoto e preservados em Bálsamo do Canadá entre lâmina e lamínula de microscopia óptica. Tal técnica assemelha-se à técnica descrita por de Almeida Cunha, com algumas modificações (Pessoa e Martins, 1978).

A identificação foi realizada de acordo com as chaves de caracterização morfológica de Moss (1968) e Faccini (1987). Após a identificação, o restante dos espécimes foi utilizado para a formação de uma colônia.

5.2.3 Estabelecimento e manutenção da colônia

O material utilizado na manutenção da colônia é mostrado nas figuras 1 e 2. A técnica para a manutenção da colônia de *D. gallinae* consistiu na utilização de um recipiente externo de plástico, lâmina d'água com detergente e um recipiente interno

cilíndrico com paredes plásticas rígidas. Este último recipiente possuía volume igual a 40 litros e diâmetro de fundo igual a 40 cm. No piso, foi colocado um comedouro e, na parede, foi adaptado um bebedouro a 20 cm de altura. O teto do recipiente consistiu de uma cobertura de tela de metal com malhas oitavadas com lados de 1,5cm. Papeis corrugados com três milímetros de altura, 15cm de largura e 10cm de comprimento foram presos à tela para servir de abrigo para os ácaros. As aves receberam ração e água *ad libitum*.

Uma armadilha de bambu foi colocada ao lado do comedouro, no piso dentro do recipiente interno, sessenta dias antes dos testes. Essa armadilha consistiu de um colmo de bambu seco, Phyllostachys sp., previamente aquecido em estufa (100°C por 2 horas), cortado ao meio em sentido longitudinal e amarrado com barbantes de algodão. Essa armadilha foi recolhida, aberta rapidamente e agregados de ácaros com quantidade de ovos transferidos para potes cilíndricos de acrílico com quatro cm de altura, dois cm de diâmetro e fechados e com tampa contendo um tecido³ (PAF).

Cada PAF contendo os espécimes a serem separados foi colocado dentro de uma placa de Petri de vidro (10cm de diâmetro) contendo solução aquosa com 2% de detergente⁴. Em seguida, o pote foi aberto e a tampa com o tecido foi descartada em um pote contendo a mesma solução de detergente utilizada como barreira na placa de Petri. A coleta dos ovos foi feita através da agregação destes em um bastão de vidro previamente friccionado em um pedaço de flanela. Os ovos foram transferidos deste bastão para placas de Petri de vidro (quatro centímetros de diâmetro) e levados ao

_

³ Cedrofil Profissional – Cedro Cachoeira ®

⁴ Extran MA 01 Alcalino, Merk®

microscópio estereoscópio⁵. Os estádios diferentes de ovos e larvas foram mortos com o auxílio de um estilete metálico. Por fim, os ínstares remanescentes foram transferidos para um novo PAF e levados a uma estufa de germinação⁶, na qual foram mantidos por seis dias a 27 ±3°C, 14 horas de fotofase e 65-85% de umidade relativa do ar. Dessa forma, ocorreu a geração de protoninfas não-alimentadas.

5.3 Olfatômetro

A arena do olfatômetro utilizada nos bioensaios é similar às utilizadas por Borges et al. (2002) e Eiras et al. (1995). O aparelho consiste em uma caixa de acrílico com 12,5cm de comprimento, 11,5cm de largura e quatro centímetros de altura. Os lados menores não possuem acrílicos e um destes é coberto por um tecido tipo Organza. Deste tecido é produzido o fluxo laminar de ar. O piso foi coberto com cartolina quadriculada, com quadrados de 1cm², conforme observado na figura 3.

A corrente de ar que passa pelo olfatômetro no sentido longitudinal é produzida por um ventilador⁷. Ele passa por um filtro de carvão ativado⁸, infla um tubo de plástico e passa pelo tecido no fundo do olfatômetro. Para reduzir as vibrações produzidas pelo ventilador, a arena do olfatômetro, o filtro de carvão ativado e o ventilador foram colocados sobre espumas de poliuretano com densidade 20 e dois centímetros de espessura. O piso da arena foi mantido sob temperatura ambiente.

⁵ KEN A VISION®

5.4 Padronização do olfatômetro

foi Após ser montado, o aparelho padronizado para as velocidades de corrente de ar de zero cm/s; 10±2 cm/s; 20±2 cm/s e 30±2 cm/s. Com isso, verificou-se a variação da velocidade do vento contido na arena. A mensuração foi realizada com um termo-anemômetro⁹ colocado centímetro dentro da arena. dois centímetros de altura e a 5,5 centímetros da parede lateral. As velocidades foram medidas por, pelo menos 120 segundos, filmadas com uma câmera digital¹⁰ e transferidas para um computador. Esse possuía sistema operacional Windows 2000-Professional[®]. Os vídeos foram visualizados pelo programa Windows Media Player, e as velocidades foram tabuladas a cada segundo caracterizar os parâmetros estatístico-descritivos diferentes das velocidades. Os dados de mediana, moda e amplitude dos resultados foram transformados em padrões para a calibração dos testes subsequentes, uma vez que a oscilação das velocidades foi de ±2 cm/s.

Para verificar o comportamento das plumas de odor dentro da arena do olfatômetro em diferentes faixas de velocidade, foram realizados testes com fumaça de cloreto de amônio, que é visível. As plumas foram geradas em fluxos laminares de ar nas velocidades de zero cm/s; 10±2 cm/s; 20±2 cm/s e 30±2 cm/s e filmadas por um minuto. A formação deste composto foi obtida através da reação química entre solução aquosa comercial de amônia11 e ácido clorídrico P.A¹². Para isso, chumaços de algodão hidrófilo com aproximadamente cinco milímetros de altura, um centímetro de diâmetro e embebidos em solução aquosa de hidróxido de amônio foram colocados a 5; 7

9 testo® - modelo 407 V1

9

⁶ FANEN®, Modelo 347 CDG

⁷ tipo E-11 AL CD – Furação®

⁸ Filtro REAL SULMINAS EQUIPAMENTOS DE SEGURANÇA LTDA® - ref. 7500-1

¹⁰ Sony®, Modelo DSC S650

¹¹ avante Ind. Brasileira

¹² Merk ®

e 9 cm da entrada do aparelho. Em seguida, gotas de ácido clorídrico foram pingadas nos chumaços de algodão, filmadas por uma câmera digital¹³, transferidas para um computador com um monitor LCD de 17 Polegadas¹⁴ e sistema operacional Windows 2000-Professional®.

Os vídeos foram visualizados pelo programa Windows Media Player no modo de exibição em tela inteira e as trajetórias foram medidas a cada um segundo com uma transparência colocada na frente da tela do monitor.

Foram analisados a forma da pluma, a média e o desvio padrão da largura a três centímetros de distância do chumaço de algodão. A área da arena utilizada para realização dos testes foi determinada através da visualização da "pluma" de cloreto de amônio.

5.5 Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de D. gallinae submetidas a correntes de ar com diferentes velocidades em olfatômetro de discriminante

As protoninfas foram transferidas para abrigos após serem alimentadas e recolhidas em pipeta de Pasteur com fundo contendo tecido. Os abrigos eram constituídos de dois quadrados sobrepostos de papel color set preto com dois centímetros de aresta. Esses abrigos foram previamente colocados dentro de uma Placa de Petri de vidro com quatro centímetros de diâmetro, contida dentro de outra placa de Petri com 10cm de diâmetro. Nessa placa maior foi colocada uma solução aquosa de detergente semelhante àquela utilizada na fase de separação dos ovos e larvas.

Foram realizadas 10 repetições por velocidade de vento. Cada repetição consiste na colocação de uma protoninfa previamente alimentada entre quatro e 10 horas antes do bioensaio no centro da arena (ver figura 4). Cada ácaro teve uma chance para responder ao estímulo e se mover até sair da área demarcada na arena conforme a figura 4. Os ensaios foram realizados na sala sob iluminação com quatro lâmpadas fluorescentes 40 Watts¹⁵ e nenhuma outra fonte de iluminação para poder manter as condições de iluminação constantes.

Para a liberação dos indivíduos no olfatômetro, foi utilizada uma pipeta de Pasteur, cuja ponta estava previamente fechada por aquecimento em chama de um bico de Bunsen. Após esse procedimento, essa ponta foi tocada em um ácaro para capturá-lo da placa de Petri. Imediatamente após, o ácaro foi direcionado para o interior da arena, sendo retirado da pipeta por meio do toque desta no papelão, ou por batidas desta no piso da arena.

Os indivíduos foram testados velocidades medianas de zero, 10, 20 e 30 Admitiu-se uma variação velocidade de 2 cm/s maior ou menor que cada velocidade mediana. As filmagens dos testes foram feitas com câmera digital e transferidas para um computador. Este possuía sistema operacional Windows 2000-Professional® e um monitor LCD de 17 Polegadas. Os vídeos eram visualizados pelo programa Windows Media Player no modo de exibição em tela inteira e a trajetória foi demarcada por caneta para retro projetor em transparências colocadas sobre a tela do monitor

¹⁵ Super luz do Dia - General Electric®

¹³ Sony, Modelo DSC S650

¹⁴ LG®

5.6 Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* expostas a plumas de odor produzidas em septos de borracha impregnados com soluções obtidas a partir da imersão de ácaros co-específicos em diferentes solventes

5.6.1 Procedimentos de limpeza do olfatômetro antes de cada teste

A cartolina quadriculada colocada no fundo da arena foi substituída após cada tratamento testado, ou quando o ácaro foi acidentalmente morto ao ser retirado do aparelho, ou caso ele tenha excretado no papel.

Antes de cada conjunto de bioensaios, a caixa de acrílico e o plástico a ser inflado foram imersos em solução contendo 2% de detergente ¹⁶ por seis horas. Em seguida, eles foram enxaguados em água corrente e foram secos com papel toalha por seis vezes consecutivas.

5.6.2 Produção dos extratos de protoninfas e impregnação dos septos de borracha contendo soluções utilizadas

É necessário manter a qualidade da fonte de odor. Os semioquímicos podem ser formulados em diferentes substratos como papel filtro, borracha e outros polímeros. Se o feromônio for formulado em borracha, pode-se trabalhar com a fonte de feromônio por um período de tempo maior. Isso se deve ao fato de o septo de borracha absorver mais o semioquímico e liberá-lo lentamente, enquanto que o papel de filtro libera-o rapidamente (Eiras e Mafra-Neto, 2001).

A escolha do septo de borracha neste estudo se deve à dificuldade de manipulação dos espécimes devido ao seu tamanho, velocidade de locomoção dessa espécie de ácaro e dificuldade de colocá-los na arena do olfatômetro.

No presente estudo, cada septo de borracha foi cortado em paralelepípedos aproximadamente 0,5 centímetro de arestas. Essas dimensões foram escolhidas para evitar trabalhar com volumes muito pequenos de extrato durante a formulação impregnados. septos Cada paralelepípedo utilizado foi impregnado aplicando-se o extrato sobre ele. Eles foram deixados no ambiente por 10 minutos para que grande parte do solvente evaporasse.

A produção dos extratos e a impregnação dos septos de borracha foram realizadas imediatamente antes de cada teste. Os extratos foram produzidos a partir da submersão de protoninfas alimentadas em dois diferentes tipos de solventes: hexano P.A. e diclorometano P.A. Para isso, 40 µL de um dos tipos de solvente foram colocados em um vidro cônico de um mililitro. Em seguida, 0; 8 e 20 protoninfas foram capturadas com o auxílio de uma pipeta de Pasteur com extremidade selada em chama. Os ácaros foram transferidos da extremidade selada da pipeta para a superfície do solvente, de onde afundavam e ficavam total ou parcialmente imersos dentro do solvente. Os vidros cônicos foram fechados e deixados em repouso por 5 minutos. Após esse período, no momento dos bioensaios, cada um dos recipientes foi aberto e o conteúdo foi aspirado para uma nova pipeta de 40 uL, tomando-se o cuidado de não aspirar nenhum dos ácaros presentes no recipiente. Dessa forma, foram obtidos extratos com 0; 200 e 500 equivalentesácaro/mL para cada tipo de solvente.

¹⁶ Extran MA 01 Alcalino, Merk®

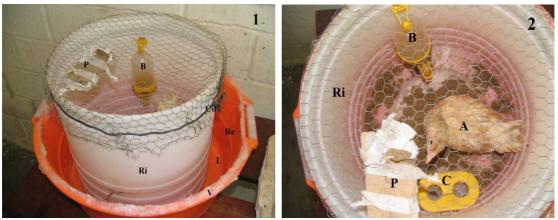


Figura 1. Equipamentos utilizados na manutenção de colônias de *D. gallinae* (à esquerda).

Figura 2. Recipiente interno utilizado na manutenção das colônias.

A: ave; B: bebedouro; C comedouro; L: Lâmina de água e detergente; P: papel corrugado; Re: recipiente externo; Ri: recipiente interno; V: camada de vaselina sólida no recipiente externo, Cd corda de algodão.

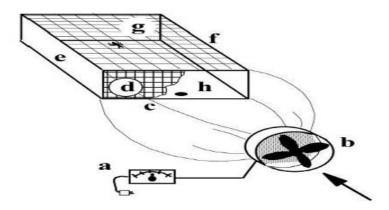


Figura 3. Representação esquemática do olfatômetro discriminante. Um resistor (a) controla a velocidade do ventilador acoplado a um filtro de carvão ativado (b), produzindo um fluxo de ar que infla o saco plástico (c). O fluxo laminar do ar é obtido após este atravessar o tecido (d), chegando então à arena (e). O teto (f) permite a visualização da arena. O piso é quadriculado (g) para orientar o artrópode e quem o observa. (Adaptado de Borges et al., 2002).

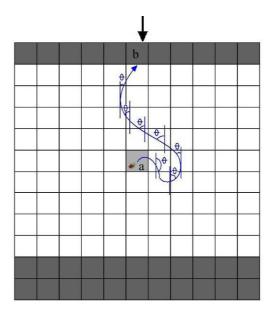


Figura 4. Representação esquemática de uma trajetória (em azul) de uma protoninfa de D. gallinae dentro do olfatômetro entre as áreas "a" e "b". Também estão representados nesta figura os ângulos (θ) de percurso. A área branca representa o local onde o comportamento do artrópode foi analisado. Nas áreas cinza-escuras do piso não foram estudados os comportamentos devido às possíveis alterações na corrente de ar nestes locais e ao risco de escape do ácaro para o acrílico. A área cinza clara (a) representa o local de liberação das protoninfas. A seta negra representa a direção do vento.

5.6.3 Procedimentos durante os bioensaios

As condições de temperatura e umidade relativa do ar na sala e na arena do olfatômetro foram apenas monitoradas antes da realização dos bioensaios. Este procedimento visava evitar a realização de bioensaios sem as protoninfas estivessem aclimatadas com as condições ambientais da arena.

Não foram observadas diferenças de temperatura entre o interior da arena e no ambiente da sala. Já as diferenças de umidade relativa do ar foram menores que 3% nestes locais.

Os bioensaios foram realizados sob iluminação constante por quatro lâmpadas de 40 Watts, com o objetivo de simular um período de fotofase. Destas lâmpadas, duas foram colocadas a dois metros de distância e as outras a quatro metros de distância do aparelho.

Foram aplicados seis tratamentos, divididos em dois conjuntos separados, de acordo com o tipo de solvente (hexano P.A. e diclorometano P.A.). Cada um dos conjuntos possuiu três tratamentos em que foram testadas as potencias de 0; 200 e 500 equivalentes-ácaro/mL de solvente.

Foram utilizadas 10 repetições por tratamento. Cada uma dessas consistiu na

liberação de uma protoninfa, previamente alimentada entre quatro e 10 horas, na arena do olfatômetro em um ponto onde esse tivesse contato com a possível pluma de odor gerada por um septo de borracha impregnado com extratos. O ponto escolhido situava-se a 1-1,5 cm de distância do septo e a 4.5-5 cm da saída da arena. Os testes foram realizados tomando-se o cuidado de iniciar com os septos de borracha impregnados com os extratos menos potentes e terminar com os mais potentes. Cada protoninfa teve uma chance de um minuto para se dirigir até o septo de borracha previamente imerso nos diferentes extratos. Para a liberação dos indivíduos dentro desta arena, foi utilizada metodologia àquela empregada semelhante bioensaios para verificação de respostas a fluxos de ar.

5.7 Análises estatísticas

No teste de padrão de comportamento dos ácaros submetidos a fluxos de ar com diferentes velocidades, foram avaliados e comparados os tempos médios decorridos para que protoninfas alimentadas de D. gallinae começassem a se locomover (também chamado de latência). Também foi verificado o tempo para que atingissem as bordas demarcadas da área de teste na quadriculada fundo cartolina no olfatômetro, conforme a figura 4. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar estes tempos. A verificação da nãoparametricidade das variáveis foi analisada por meio da montagem de histogramas, conforme descrito em Sampaio (2002).

Realizou-se a análise das trajetórias das protoninfas de 10 repetições de cada velocidade. Para isto, os ângulos de percurso de cada protoninfa foram medidos a cada um segundo, cerca de quatro vezes o comprimento de cada protoninfa. A análise destes ângulos foi realizada por meio da montagem de histogramas com os dados agrupados em classes a cada 15 graus para

demonstrar as freqüências das posições nos diferentes ângulos. Como parâmetro quantitativo de análise a trajetória de cada protoninfa, optou-se por retirar a média aritmética dos co-senos dos ângulos de percurso. Em seguida, os conjuntos destas médias foram analisados por meio pelo teste de Kruskal - Wallis.

Também foi realizada a análise das trajetórias das protoninfas de 10 repetições de cada tipo de extrato com diferentes potências. Para isto, os ângulos de percurso de cada protoninfa foram medidos a cada um segundo. cerca de quatro vezes comprimento de cada protoninfa. A análise das trajetórias durante o primeiro minuto foi realizada de forma semelhante àquela realizada no teste de padrão comportamento dos ácaros submetidos a fluxos de ar com diferentes velocidades, exceto por não considerar a área de teste posterior aos septos de borracha.

O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para verificar diferenças das médias individuais dos co-senos dos ângulos de percurso nos bioensaios realizados com protoninfas alimentadas de *D. gallinae* expostas a diferentes septos de borracha impregnados com cada tipo de extrato e apresentando três diferentes potências.

A análise destas trajetórias também foi realizada por meio da montagem de histogramas com os dados agrupados em classes a cada 15 graus para demonstrar as freqüências das posições nos diferentes ângulos.

As proporções de ácaros que chegaram a um milímetro de distância das bordas dos septos de borracha impregnados com feromônios foram comparadas entre dois diferentes tratamentos pela estatística de Qui-Quadrado e pela técnica de inferência sobre duas proporções descrita por Nogueira et al. (1997).

6 RESULTADOS

6.1 Considerações a respeito do método de criação da colônia de D. gallinae

As medidas de temperatura e umidade relativa do ar na sala do infectório utilizada para a manutenção da colônia de *D. gallinae* são mostradas no gráfico da figura 13. A temperatura máxima observada foi de 31,6°C no dia 15 de fevereiro de 2008, e a mínima foi de 19,3°C, no dia 07 de maio de 2008. A umidade relativa do ar apresentou menor índice (38%) no dia 15 de fevereiro de 2008.

A troca da água com detergente utilizada como barreira para impedir a fuga dos ácaros foi realizada a cada dois ou três dias, durante os processos de limpeza dos recipientes. Nestes processos, as excretas e demais dejetos foram ensacados e os sacos plásticos foram fechados para evitar a contaminação externa por ácaros, uma vez que a presença destes foi observada nos dejetos. Durante a limpeza do material remanescente, ocorreu à morte de pequenos grupos de ácaros reunidos em aglomerações nos bebedouros e comedouros.

Os abrigos de papelão e de bambu foram trocados a cada três meses, devido ao acúmulo de exúvias em seu interior. Este período de troca foi determinado quando se percebeu que os ácaros tiveram de buscar novas fontes de abrigo. Com isso, eles acabavam morrendo na lâmina de água com sabão ou eram bicados pelas aves imediatamente após os processos de limpeza (quando os ácaros são ativados pela vibração do recipiente e acabam deixando os grupos reunidos nos abrigos).

Contaminações da colônia por *Tyrophagus* sp. (Acari: Astigmata), *Tribolium* sp. (Coleoptera) e *Macrocheles muscaedomesticae* (Acari: Mesostigmata) ocorreram ao longo dos 12 meses de criação

da colônia. Tal fato tornou a troca dos abrigos importante também para impedir a colonização dos recipientes por estes artrópodes.

Para a realização de cada uma das fases dos bioensaios, aproximadamente mil ovos de *D. gallinae* por dia foram retirados dos abrigos de bambu durante de quatro dias. Esta retirada reduziu a população de ácaros nos abrigos, mas sem ocasionar a extinção da colônia. Após sessenta dias, a população inicial foi restabelecida em, aproximadamente, 71% das sete retiradas.

A metodologia de manutenção de *D. gallinae* em laboratório desenvolvida por Tucci (1997) foi adaptada com sucesso para alimentar e separar as protoninfas antes e após a realização dos bioensaios. Entretanto, o período de alimentação destas foi de 2 horas, o que possibilitou o ingurgitamento da maioria dos ácaros.

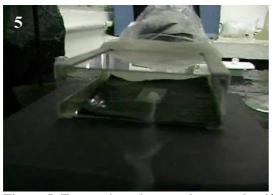
6.2 Padronização do olfatômetro discriminante (olfatômetro de arena)

As plumas de cloreto de amônio (NH₄Cl), nas velocidades de 10±2 cm/s, 20±2 cm/s ou 30±2 cm/s, apresentaram um padrão laminar, saindo dos chumaços de algodão e seguindo uma forma semi-cilíndrica até aproximadamente, 2 cm antes da saída do olfatômetro. A partir deste local, as plumas se expandiram devido à expansão do ar proveniente do interior da arena. Conforme na figura 5, as plumas observado apresentaram maior densidade nas regiões próximas do seu interior em função do fluxo laminar e da presença do piso. Isso levou a um acúmulo de material no piso do aparelho nas partes que entraram em contato constante com a pluma. A forma das plumas variou pouco em relação aos diferentes locais de locação dos chumaços de algodão emissores de NH₄Cl, conforme demonstrado nas figuras 6, 7 e 8. A configuração das plumas de NH₄Cl também mudou pouco em função da velocidade do fluxo de ar, como

pode ser observado ao se comparar às figuras 6, 9 e 10.

As mensurações das diferentes velocidades de fluxo de ar realizadas no aparelho demonstraram que a velocidade de vento apresentou uma oscilação, com variação de 5 cm/s e maior freqüência das velocidades em um valor modal. A maioria dos valores

de velocidade esteve em uma faixa de um cm/s maior ou menor que a velocidade modal. Os valores fora desta faixa foram relacionados a fatores que movimentam a parede do plástico inflado, tais como correntes de ar geradas externamente ao aparelho.



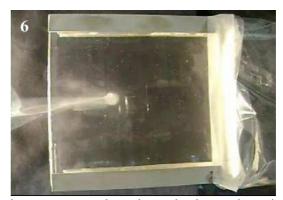
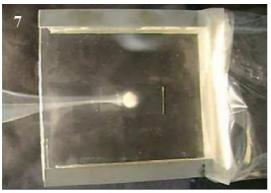


Figura 5. Foto após a abertura da arena do olfatômetro mostrando a pluma de cloreto de amônio (NH₄Cl) gerada por um chumaço de algodão colocado a cinco centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade do vento no centro do fluxo laminar de 10±2 cm/s).

Figura 6. Foto acima do teto do olfatômetro que mostra a pluma de NH₄Cl gerada por um chumaço de algodão colocado a cinco centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade do vento no centro do fluxo laminar de 10±2 cm/s).



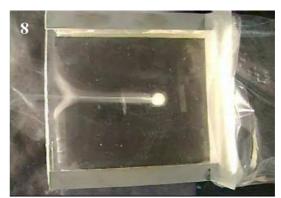
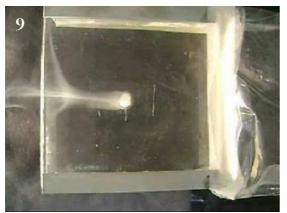


Figura 7. Foto acima do teto do olfatômetro evidenciando a pluma de NH₄Cl gerada por um chumaço de algodão colocado a sete centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade do vento no centro do fluxo laminar de 10±2 cm/s).

Figura 8. Foto acima do teto do olfatômetro mostrando a pluma de NH₄Cl gerada por um chumaço de algodão colocado a nove centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade do vento no centro do fluxo laminar de 10±2 cm/s).



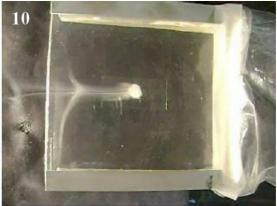


Figura 9. Foto acima do teto do olfatômetro que mostra pluma de cloreto de amônio (NH₄Cl) gerada por um chumaço de algodão colocado a cinco centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade do vento no centro do fluxo laminar de 20±2 cm/s).

Figura 10. Foto acima do teto do olfatômetro evidenciando a pluma de NH₄Cl gerada por um chumaço de algodão colocado a cinco centímetros da abertura da arena do olfatômetro (velocidade do vento no centro do fluxo laminar de 30±2 cm/s).

6.3 Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* submetidas a diferentes velocidades de correntes de ar em olfatômetro de discriminante

O tempo gasto para as protoninfas alimentadas de *D. gallinae* tocarem a borda da área de teste no piso do olfatômetro discriminante foi semelhante (p≤0,992) quando estas foram submetidas a fluxos de laminares de vento com velocidades de 0+2 cm/s; 10±2 cm/s, 20±2 cm/s ou 30±2 cm/s.

As médias aritméticas dos co-senos dos ângulos de percurso de cada ácaro na área de teste da arena do olfatômetro após exposto a 0+2; 10±2; 20±2 ou 30±2 cm/s não diferiram estatisticamente (p≤0,90).

O período de latência de protoninfas alimentadas colocadas em olfatômetro discriminante sem fontes de odor foi semelhante (p≤0,996) quando estas foram submetidas a intervalos de velocidades de vento iguais a 0+2; 10±2; 20±2 ou 30±2 cm/s. Os valores foram menores que um segundo em 36 das 40 repetições estudas. Estes resultados demonstram que este artrópode locomover tende a se imediatamente após ser colocado sobre superfícies planas. Estes resultados também não diferem (p≤0,991) quando o tempo inicial de permanência no quadrado central é subtraído do tempo total gasto para protoninfas alimentadas de D. gallinae tocarem a borda da área de teste no piso do olfatômetro discriminante.

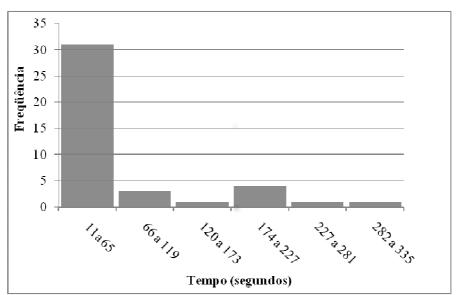


Figura 11. Histograma dos tempos médios para protoninfas de *D. gallinae* saírem da área de teste do piso da arena do olfatômetro discriminante (olfatômetro de arena) considerando o tempo de permanência inicial no quadrado central do piso. Belo Horizonte, 2008

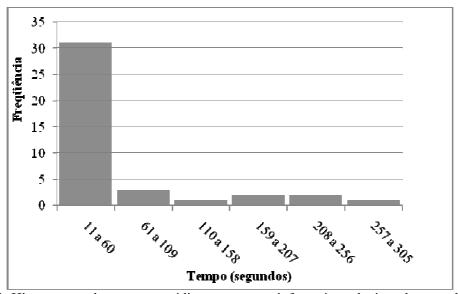


Figura 12. Histogramas dos tempos médios para protoninfas saírem da área de teste do piso da arena do olfatômetro discriminante cujo tempo de permanência inicial no quadrado central do piso foi subtraído do tempo total. Belo Horizonte, 2008

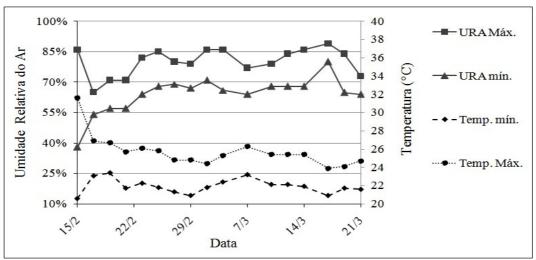


Figura 13. Medidas de temperatura e umidade relativa do ar (URA) da sala utilizada para a manutenção de colônias de *D. gallinae* no período de 15 de fevereiro de 2008 a 24 de março de 2008.

6.4 Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas \boldsymbol{D} . de submetidas a odores de gallinae extratos hexânicos 011 extratos diclorometânicos de ácaros coespecíficos em olfatômetro discriminante

Os co-senos médios dos ângulos de percurso de cada um dos ácaros expostos aos septos de borracha impregnados com 0, 200 e 500 equivalentes-ácaro/ mL de extratos diclorometânicos não diferiram estatisticamente (p≤0,99). Os co-senos médios dos ângulos de percurso de ácaros expostos aos septos de borracha impregnados com extratos hexânicos com 0, 200 e 500 equivalentes-ácaro/ mL também não foram diferentes (p≤0,99).

A análise dos histogramas sugere uma clara diferença de resposta de protoninfas submetidas aos diferentes tipos de extrato. Os extratos hexânicos (figuras 17, 18 e 19) apresentaram uma distribuição de ângulos de percurso mais uniforme que os ensaios com extratos diclorometânicos. O

histograma da figura 19 apresenta valores concentrados nos ângulos entre 31° e 105°, mas este número de ângulos é pequeno e não pode ser atribuída a nenhum fator atraente ou repelente. Os histogramas dos ângulos de percurso dos ácaros submetidos a plumas de odor de diclorometano P.A. e extratos diclorometânicos com equivalentes-ácaro/mL apresentam padrões desuniformes de distribuição, com maior número de ângulos de deslocamento, mas não indicam uma direção predominante (figuras 14 e 15) de deslocamento. Os histogramas dos ângulos de percurso dos ácaros desafiados com diclorometânicos com 500 equivalentesácaro/mL (figura 16) apresentam uma grande proporção de ângulos de um até quinze graus, o que sugere que os ácaros se deslocaram em direção ao septo de borracha impregnado com o extrato.

As proporções de ácaros que atingiram a distância de até um milímetro das bordas dos septos de borracha são demonstradas na tabela 1 e mostram diferença nessa proporção quando submetida a extratos com zero ou 500 equivalente-ácaro/mL. Os histogramas com as freqüências dos

ângulos protoninfas de percurso de alimentadas submetidas septos de borracha impregnados com extratos hexânicos e diclorometânicos feitos com protoninfas alimentadas outras coespecíficas são mostrados nos histogramas das figuras 14 a 19.

Tabela 1: Proporção de protoninfas alimentadas que atingiram até um milímetro das bordas dos septos de borracha impregnados diferentes extratos com em olfatômetro discriminante

		CONCENTRAÇÃO	
TIPO DE	0 equivalente-	200 equivalentes-	500 equivalentes-
EXTRATO	ácaro/mL de solvente	ácaro/mL de solvente	ácaro/mL de solvente
	(controle)		
Hexânico			
	40% $^{\mathrm{a}}$	60% ^a	50% ^a
Diclorometânico		1	1
	20% $^{\mathrm{a}}$	50% ^{ab}	80% ^b

Na mesma linha, letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente pelo teste de qui-quadrado ou pela técnica de inferência sobre duas proporções descrita por Nogueira et al. (1997). Nível de significância de 1%.

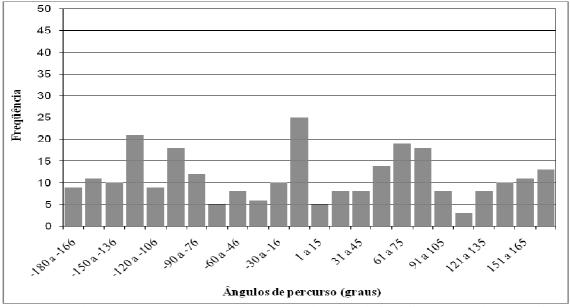


Figura 14. Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* submetidas a septos de borracha impregnados com diclorometano P.A. em olfatômetro discriminante.

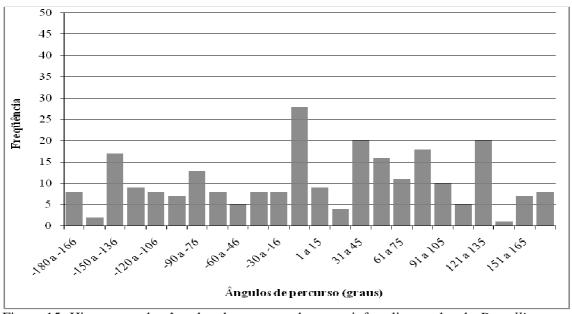


Figura 15. Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* em olfatômetro discriminante quando estas foram submetidas a septos de borracha impregnados com extratos diclorometânicos com 200 equivalentes-ácaro/mL.

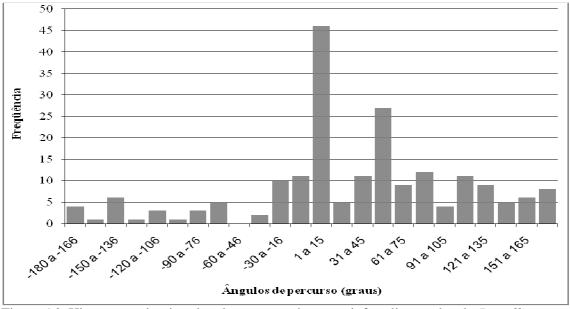


Figura 16. Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* em olfatômetro discriminante quando estas foram submetidas a septos de borracha impregnados com extratos diclorometânicos com 500 equivalentes-ácaro/mL.

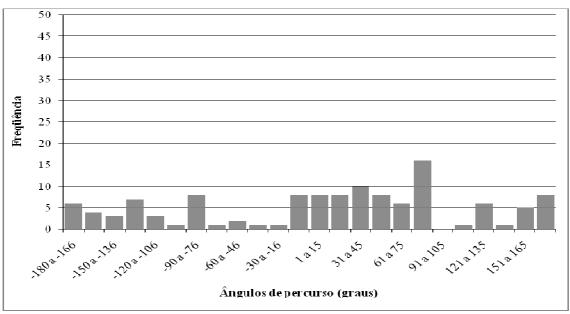


Figura 17. Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* em olfatômetro discriminante desafiadas com septos de borracha impregnados com hexano P.A

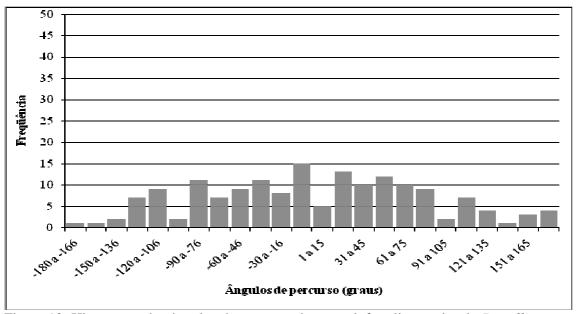


Figura 18. Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* em olfatômetro discriminante desafiadas com septos de borracha impregnados com extratos Hexânicos com 200 equivalentes-ácaro/mL

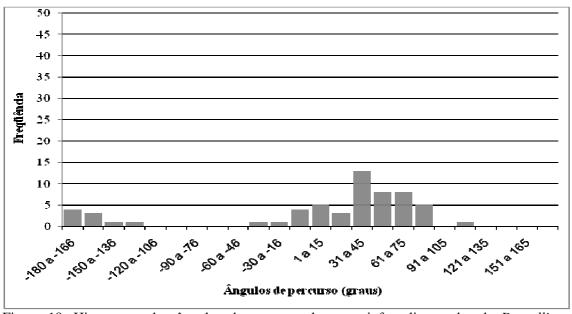


Figura 19. Histograma dos ângulos de percurso de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* submetidas a septos de borracha impregnados com extratos hexânicos com 500 equivalentes-ácaro/mL em olfatômetro discriminante.

7 DISCUSSÃO

7.1 Criação e manutenção da colônia de *D. gallinae*

O método de manutenção de colônias de D. gallinae no presente trabalho apresenta semelhanças com o método desenvolvido por Durden e Linthcum (1992) para a criação laboratorial dos ácaros Mesostigmata Androlaelaps fahrenholzi, Haemogamasus liponyssoides, Laelaps kochi e Ornithonyssus bacoti. Além das espécies de ácaros, as principais diferenças são as espécies de hospedeiro utilizadas para a realização dos repastos sangüíneos e a localização dos abrigos para os ácaros. A troca do hospedeiro foi realizada para evitar a redução do potencial reprodutivo de D. devido gallinae à alimentação camundongos, conforme demonstrado por Sikes e Chamberlain (1954). As peças de papel corrugado utilizadas como abrigo para os ácaros no presente estudo foram

colocadas no alto da tela para evitar que a ave destruísse este abrigo ao bicá-lo ou ao ciscar.

O material utilizado na metodologia de manutenção de D. gallinae desenvolvida no presente estudo apresenta menor número de locais utilizados alternativamente como abrigo pelo D. gallinae quando comparado ao material utilizado no método de manutenção de colônias de D. gallinae descrito por Camin e Ehrlich (1960). Com um menor número de locais onde os ácaros possam se reunir, a atenção aos grupos de ácaros reunidos nos abrigos deve ser intensificada. A obstrução destes por exúvias, grãos de ração ou algum outro material pode induzir a formação de colônias em locais pouco seguros ou mesmo levar um grande número de indivíduos à morte ao tentarem transpor as barreiras utilizadas para isolá-los do restante da sala. Estes fatores levam à perda de muitos ácaros e acabam impedindo a permanência da colônia. A lâmina de água com detergente em recipientes externos foi efetiva como isolamento para evitar a fuga de *D. gallinae* durante a manutenção da colônia e imediatamente antes dos bioensaios, conforme dados publicados previamente por Tucci (1997). Porém, esta barreira leva à morte de um grande número de exemplares de ácaros.

A metodologia desenvolvida por Tucci (1997) para a manutenção de D. gallinae em laboratório foi utilizada com sucesso para separar as protoninfas alimentadas antes e após a realização dos bioensaios. Entretanto, este método é trabalhoso para manter o ácaro em laboratório. Um grande inconveniente observado nesta metodologia foi o risco da ave lançar ácaros no ambiente ao se debater durante a noite. Outro maior problema observado foi ııma mortalidade de parte destes artrópodes durante a sucção para o interior das pipetas de Pasteur quando a pressão de sucção é maior que 50 cm de Hg ou quando o número de ácaros é maior que 500 por pipeta.

O intervalo de contato com hospedeiro de duas horas realizado no presente trabalho foi suficiente para que as protoninfas realizassem o repasto sangüíneo e deixassem o hospedeiro, sem necessariamente se reunirem para formar colônias em frestas nos baldes ou no papel tolha fornecido como abrigo. Este comportamento pode auxiliar na compreensão dos resultados obtidos por Stafford et al. (2006), que evidenciaram que ciclos intermitentes de 2,5 horas de escotofase e 3.5 horas de fotofase ocasionaram um menor número de ácaros capturados em armadilhas de monitoramento quando comparado com fotoperíodos de 20 horas de escotofase e 4 horas de fotofase. Portanto, mais experimentos precisam ser realizados para se verificar o tempo necessário para que esta espécie de ácaro realize seu repasto sangüíneo no hospedeiro e para que procure abrigo após a sua alimentação.

Uma grande vantagem do método de criação dos ácaros utilizados no presente trabalho, quando comparado ao método de criação *in vitro* desenvolvido por Bruneau et al. (2001), é a menor mortalidade de ácaros durante a fase inicial de implantação da colônia. Isto impede a seleção de espécimes em função de características relacionadas ao processo de busca pelo hospedeiro e à alimentação. Deve-se ressaltar que não existem estudos realizados com o objetivo de verificar a interferência destes processos de seleção de indivíduos nas características químicas e ecológicas.

Por tratar-se de um método de manutenção de D. gallinae sob temperatura e umidade ambientais, estes parâmetros devem ser monitorados (ou controlados) para evitar a redução da população de ácaros devido a quedas ou aumentos de temperatura que limitem a reprodução destes artrópodes. O monitoramento da temperatura e umidade das salas utilizadas para a manutenção da colônia mostra que a variação temperatura e a variação da umidade relativa do ar nestes locais permaneceram sempre dentro das faixas de temperatura que possibilitam a reprodução do ácaro. Estas observações concordam com os dados experimentais obtidos por Nordenfors, Höglund e Uggla (1999), Tucci (2004) e Maurer e Baumgärtner (1992). Este fato sugere que mais estudos sobre a prevalência e incidência deste artrópode devem ser realizados em Minas Gerais, levando em consideração as características climáticas deste estado.

As infestações dos abrigos da colônia por *Tribolium* sp. e *Tyrophagus* sp. provavelmente ocorreram pela introdução destes artrópodes pela ração fornecida às aves. A presença de *Macrocheles muscaedomesticae* possivelmente ocorreu devido à presença de artrópodes foréticos não identificados na sala do infectório e devido à presença de moscas em outras salas

deste local. A infestação por *Tribolium* sp. também foi relatada como um contaminante na manutenção laboratorial de colônias de *D. gallinae* pela técnica descrita por Chamberlain e Sikes (1950).

Além das limitações referentes contaminações da colônia por outros artrópodes, às condições de temperatura e umidade relativa do ar ambientes e a necessidade de troca dos constantemente. Outra grande dificuldade observada na presente metodologia de manutenção de colônias de D. gallinae refere-se ao impedimento do escape deste ácaro para o meio ambiente. Para evitar a disseminação deste artrópode, as excretas das aves e todos os efluentes devem ser rigorosamente monitorados, acondicionados e fechados em sacos plásticos devidamente identificados. Um escape ocorreu em fevereiro de 2008, possivelmente devido a uma infestação de camundongos (Mus musculus) no infectório, proveniente do ambiente externo à sala de manutenção da colônia. Para o controle de roedores, foram instaladas barreiras físicas nas possíveis entradas dos camundongos. Uma destas barreiras foram telas com um centímetro de malha colocadas nos exaustores e janelas da sala. Outra barreira foi a colocação de frisos entrada. de **Após** procedimentos, as saídas da sala receberam uma fina camada de vaselina sólida e foram instaladas armadilhas de papel corrugado semelhantes às descritas por Nordenfors e Chirico (2001) para controle do escape e vigilância de possíveis escapes dos ácaros. Os parasitos em questão remanescentes neste ambiente foram controlados por meio do uso de óleo mineral, conforme metodologia descrita por Tucci e Guimarães (1992).

7.2 Avaliação da resposta de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* submetidas a diferentes velocidades de correntes de ar em olfatômetro de discriminante

A ausência períodos de latência maiores que um segundo demonstra que este artrópode permanece ativo independentemente da velocidade de vento. Estes resultados são semelhantes àqueles observados experimentos de Kilpinen (2005) para fêmeas alimentadas de D. gallinae, embora o autor tenha realizado os bioensaios no período de escotofase e não tenha detalhado a velocidade do vento aplicada sobre as unidades experimentais. Nos experimentos deste pesquisador, a resposta a correntes de ar contendo 5% de dióxido de carbono reduziu ou paralisou as fêmeas, o que justifica o uso de filtros de carvão ativado no olfatômetro discriminante. A ativação de fêmeas pela vibração da superfície em que se encontram também foi observada pelo autor, por isso espumas de poliuretano foram colocadas sob o suporte da arena e sob o ventilador do olfatômetro. Como não houve diferenças significativas na ativação dos ácaros, possivelmente os resultados não foram influenciados pela vibração das hélices do ventilador.

O fato de não haver diferenças entre tempo total e tempo total subtraindo-se o tempo no quadrado central demonstra que o ponto exato de liberação da protoninfa não influencia na comparação dos tempos necessários para que as protoninfas saiam do aparelho. Os gráficos das figuras 11 e 12 demonstram claramente que a maioria das protoninfas toca as bordas da área de teste do piso do aparelho em até um minuto. Baseado nas respostas de latência e tempo para sair da arena, nota-se que este artrópode é bastante ativo. Esta distribuição justifica o uso de intervalos de um minuto na metodologia de estudo da exposição de ácaros co-específicos.

A presença de garras e de pulvilos nas apóteles dos ácaros nos bioensaios sobre vento pode explicar a habilidade do artrópode em se deslocar na superfície de cartolina, uma vez que estas estruturas são capazes de aderir a superfícies lisas ou crespas. Estudos com velocidades diferentes poderiam apresentar resultados diferentes, pois isto limitaria a capacidade de locomoção e fixação dos ácaros na cartolina. O peso das protoninfas é relativamente grande para ser carreado pelo vento a baixas velocidades.

O vento é o principal fator envolvido na transmissão de voláteis. Logo, se nele não há latência, este fator não atua isoladamente como um ativador das protoninfas alimentadas. Este fator deve ser levado em consideração ao se realizar ensaios olfatométricos que envolvam a ativação do ácaro pelo vento. A ausência de diferenças nas respostas a diferentes velocidades de correntes de ar sugere que as sensilas tarsais com características de mecanorreceptores, observadas por Cruz et al. (2005), não estão envolvidas na percepção da velocidade de vento por protoninfas alimentadas de D. gallinae.

As médias aritméticas dos co-senos (cosenos médios) dos ângulos de percurso usadas como parâmetro representante da trajetória das protoninfas foi satisfatório. Ouando este parâmetro é positivo e próximo de "1", há uma indicação de que o ácaro se movimentou predominantemente contra o vento. Caso a maioria dos ácaros tenha realizado trajetórias com esta característica, a maioria dos valores será próxima de "1". confirmação Entretanto, comportamento de anemotaxia só pode ser realizada após uma comparação entre grupos de ácaros submetidos à ausência de fluxos de ar ou submetidos a diferentes velocidades de correntes de ar. Este procedimento é necessário para descartar a presença de outros fatores influenciadores, tais como respostas a condições de iluminação ou à presença de substâncias atraentes ou repelentes. De forma contrária, valores próximos de "-1" indicam que ácaro se movimentou predominantemente "a favor" do vento, o que pode indicar um comportamento de "anemotaxia negativa". Valores de co-senos médios de ângulos de percurso próximos de zero indicam que o ácaro se movimentou principalmente em um trajeto perpendicular ao vento ou "dobrou curvas", realizando movimentos circulares. Portanto. trajetórias contendo principalmente movimentos de clinoquinese direta ou clinoquinese inversa, originam cosenos médios de ângulos de percurso próximos de zero. As médias aritméticas dos co-senos dos ângulos de percurso não indicam simetria de distribuição frequências valores positivos e negativos dos ângulos de percurso de um ácaro, o que limita este parâmetro em bioensaios discriminantes. Portanto, em estudos de atração por uma fonte de odor e outros estudos onde a simetria de movimentação do ácaro seja importante, a análise de histogramas deve ser realizada. Neste caso, também se deve ter atenção para controlar fatores que façam com que os artrópodes caminhem predominantemente para a direita ou para a esquerda do aparelho.

Os estudos de Kuenen e Calderone (1998) que demonstram a presença de anemotaxia de *Varroa jacobsoni* não podem ser diretamente comparados aos do presente estudo, uma vez que este comportamento do ácaro foi induzido por lufadas de vento sem fontes de odor e a velocidade da corrente de ar foi maior que dois metros por segundo. Entretanto, deve-se ressaltar que a variação de velocidade de vento detectada no olfatômetro discriminante utilizado no presente estudo não foi importante na resposta padrão.

7.3 Comportamento de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* submetidas a odores de extratos hexânicos ou diclorometânicos de ácaros coespecíficos em olfatômetro discriminante

Nos bioensaios, foi dada apenas uma chance para o ácaro responder ao estímulo gerado pelos septos de borracha. Sob este aspecto, este estudo difere metodologicamente dos bioensaios realizados por Borges et al. (2002). Este procedimento teve como objetivo evitar que ácaros fossem lesionados ao serem manipulados sucessivamente, o que impede a perda de parcelas de respostas referentes a esta mortalidade. Outro aspecto importante refere-se ao fato de não se saber se as manipulações sucessivas levariam a um condicionamento da resposta do ácaro. técnicas de manipulação Outras protoninfas de D. gallinae em olfatômetro discriminante devem ser testadas para verificar se há algum tipo condicionamento.

A análise dos histogramas contendo os ângulos de percurso sugere que este ácaro não se desloca predominantemente até os septos de borracha, quando submetido a extratos hexânicos, pois se assim ocorresse, o percurso gerado teria maior freqüência de ângulos próximos de zero grau. Estes dados também demonstram que estes ácaros apresentaram menor número de mudanças de percurso, o que fez com que suas respostas fossem mais uniformes. Este padrão de distribuição em todos os ângulos se deve ao fato destes ácaros terem andando em círculos.

A maior variação na frequência de ângulos de deslocamento de protoninfas submetidas a extratos diclorometânicos pode explicar a ausência de diferença significativa ao comparar os co-senos médios dos ângulos de percurso dos diferentes grupos testados. Esta

observação pode ser confirmada ao se verificar que as médias dos co-senos dos ângulos de percurso não diferiram estatisticamente.

A análise dos histogramas dos ângulos de deslocamento de protoninfas submetidas a diclorometânicos extratos com equivalentes-ácaro/mL revelou também uma maior frequência de ângulos de percurso positivos. Ao contrastar esta frequência com os resultados da tabela 1, fica claro que um maior número de ácaros tocou, com maior frequência, os septos de borracha, o que foi causado pela atração de protoninfas de D. ou pela interrupção gallinae movimentos de turning desses ácaros. Tal resposta evidencia a presença de, pelo menos, um feromônio volátil capaz de induzir a atração de protoninfas alimentadas dessa espécie de ácaro.

Em bioensaios cujo comportamento pode ser discriminado, observa-se que artrópodes atraídos por uma fonte de odor se deslocam em "zig-zag" ao longo da pluma de odor, aumentando a freqüência de ângulos próximos de zero grau. Este padrão de comportamento foi observado quando machos de A. nitens e machos de Periplaneta americana são atraídos por feromônios (Borges e Ribeiro, 1999; Borges et al., 2002; Tobin, Seelinger e Bell, 1981). Este tipo de movimento não foi observado no presente estudo, embora este fato não descarte a hipótese de que protoninfas de que D. gallinae alimentadas seriam atraídas pelos extratos de ácaros co-específicos testados. Deve-se ressaltar que o tamanho dos septos utilizados no presente estudo associado à distância em que os ácaros foram liberados poderia modificar discretamente este padrão de movimento por não se tratar de uma fonte pontual. Esta forma também pode fazer com que o ácaro perceba apenas parte dos possíveis feromônios liberados na pluma de odor. Porém, a concentração dos extratos é constante e liberada de forma não uniforme em qualquer pluma de odor, seja ela pontual ou não-pontual.

A partir dos resultados do presente estudo, uma série de considerações precisa ser feita a respeito dos testes realizados por Entrekin e Oliver Junior (1982), para se verificar o comportamento de "agregação" de D. gallinae. Em um dos testes, verificou-se que a formação dos grupos de ácaros reunidos em placas de Petri contendo apenas protoninfas alimentadas ocorreu em uma hora e meia. Portanto, esta resposta de reunião se deve a um comportamento de arrestamento por infoquímicos não voláteis. Tal afirmativa baseia-se nos resultados do presente estudo, que evidenciaram uma resposta de atração destes parasitos por extratos de co-específicos e também no fato de discos papel-filtro liberarem rapidamente as substâncias químicas voláteis ou parte delas (Eiras e Mafra-Neto, 2001). Mafra-Neto e Carde (1994 citado por Eiras e Mafra-Neto, 2001) sugerem a troca da fonte de feromônio em papel-filtro a cada 10 minutos, ou após o teste de 10 indivíduos para evitar a perda de qualidade e quantidade com o passar do tempo.

Outra consideração a ser feita a respeito dos testes realizados por Entrekin e Oliver Junior (1982), refere-se aos bioensaios que demonstraram que machos e fêmeas de *D. gallinae* se reuniram em áreas específicas devido à presença de voláteis arrestantes provenientes de macerados de ácaros coespecíficos. Entretanto, esta resposta não deve ser extrapolada para indivíduos de estádios imaturos, tais como as protoninfas. Outros estudos também precisam ser realizados para verificar se estes voláteis são feromônios ou se são outros semioquímicos provenientes do conteúdo do trato digestivo do ácaro, tais como o sangue ingerido.

As análises das proporções de protoninfas que atingiram a distância de um milímetro das bordas os septos de borracha sugerem que o tipo de solvente pode interferir na resposta de protoninfas de D. gallinae. O hexano é um solvente capaz de solubilizar solutos apolares ao passo que e o diclorometano é capaz de solubilizar solutos polares ou com baixa polaridade. Diferenças de resposta de reunião devido ao uso de extratos provenientes de diferentes solventes também foram observadas por Allan e Sonenshine (2002). Estes pesquisadores verificaram que ninfas de Ixodes scapularis não se reúnem em peças de papel-filtro impregnadas com extratos hexânicos de larvas co-específicas, mas se reúnem quando são utilizados extratos aquosos em peças de papel-filtro. Entretanto, o número de repetições do presente estudo é baixo para se verificar diferenças ente os extratos produzidos a partir de diferentes solventes e com diferentes valores de equivalenteácaro/mL por meio de estudos de dispersão frequência. Há uma diferenca significativa existente nas comparações entre comportamentos de protoninfas de D. gallinae expostos a odores de septos contendo extratos diclorometânicos com zero e 500 equivalentes-ácaro/mL, mas não entre zero e 200 equivalentes-ácaro/mL. Isso sugere que a potência desse último tipo de extrato influenciou as respostas arrestantes das protoninfas testadas. Portanto, mais estudos precisam ser realizados para verificar claramente este efeito por meio de estudos de dispersão de frequência, sobretudo com extratos com potências maiores que 500 equivalentes-ácaro/mL.

8 CONCLUSÕES

O olfatômetro discriminante (olfatômetro de arena) pode ser utilizado para estudar o comportamento de protoninfas alimentadas de *D. gallinae* submetidas a diferentes velocidades de fluxo de vento e septos de borracha contendo extratos de ácaros coespecíficos.

O período de latência de protoninfas alimentadas colocadas em olfatômetro discriminante sem fontes de odor é menor que um segundo, sendo semelhante quando estas são submetidas a intervalos de velocidades de vento iguais a 0+2 cm/s; 10±2 cm/s, 20±2 cm/s ou 30±2 cm/s. O tempo gasto para as protoninfas alimentadas de D. gallinae tocarem a borda da área de teste no piso do olfatômetro discriminante é semelhante quando estas são submetidas a fluxos de laminares de vento com velocidades de 0+2 cm/s; 10±2 cm/s, 20±2 cm/s ou 30±2 cm/s. Tais resultados demonstram que protoninfas alimentadas de D. gallinae não apresentam comportamento de anemotaxia (direta ou inversa) quando expostas às correntes de ar com velocidades de vento iguais a 0+2 cm/s; 10±2 cm/s, 20±2 cm/s ou 30+2 cm/s.

Em ambientes sob iluminação artificial similar ao período fotofase não há atração de protoninfas alimentadas de D. gallinae por septos de borracha impregnados com extratos hexânicos com zero, duzentos ou quinhentos equivalentes-ácaro/mililitro. Há atração de protoninfas alimentadas de D. gallinae por septos de borracha impregnados com extratos ou diclorometânicos com quinhentos equivalentes-ácaro/ mililitro. Sob estas mesmas condições, as proporções de ácaros que tocaram as bordas dos septos de borracha impregnados com extratos hexânicos com zero; 200 ou equivalentes protoninfa co-específica/mL, não foram diferentes. As proporções de ácaros que tocaram as bordas dos septos de borracha contendo extratos diclorometânicos foram diferentes entre os tratamentos com extratos diclorometânicos com zero e 500 equivalentes-ácaro/mL. Dessa protoninfas de D. gallinae produzem, no mínimo, um feromônio, solúvel em diclorometano, que é capaz de atrair e induzir a reunião de co-especificas.

Além de demonstrar a presença de feromônios responsáveis pelo comportamento de reunião das protoninfas de *D. gallinae*, o presente trabalho descreve uma metodologia simples e de custo

relativamente baixo para a manutenção de colônias dessa espécie de ácaro. O presente estudo também fornece bases metodológicas para futuras pesquisas olfatométricas sobre esta espécie de ácaro, independentemente do estádio a ser estudado. Dessa forma, ele também pode servir de base para estudos de repelentes, feromônios, alomônios e outros semioquímicos sobre *D. gallinae*.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, S.A.; SONENSHINE, D.E. Evidence of an assembly pheromone in the black-legged deer tick, *Ixodes Scapularis*. *Journal of Chemical Ecology*, v. 28, n. 1, p. 15 – 27, 2002.

ARKLE, S.; GUY, J.H.; BLACKETT, S.M.; SPARAGANO, O. Variation in the population of *Dermanyssus gallinae* in a free range laying unit and effectiveness of chemical control. '2004 Spring Meeting of the WPSA UK Branch Posters', *British Poultry Science*, v. 45, n. 2, p. S45 – S46, 2004.

ARLIAN, L.G.; VYSZENSKI-MOHER, D.L. Responses of *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) to nitrogenous waste and phenolic compounds. *Journal of Medical Entomology*, v. 33, n. 2, p. 236 – 243, 1996.

AUGER, P.; NANTEL, J.; MEUNIER, N. et al. Skin acariasis caused by *Dermanyssus gallinae* (de Geer): an in-hospital outbreak. *Canadian Medical Association Journal*, v. 120, n. 6, p. 700 – 703, 1979.

BAIÃO, N. C. Efeito do uso de gaiolas reversas e convencionais e da densidade populacional sobre o desempenho de poedeiras comerciais. 1977. 66 p. Tese (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

- BORGES, L.M.F.; RIBEIRO, M.F.B. Presence of sex pheromones in *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 36, n. 1, p. 50 54, 1999.
- BORGES, L.M.F. Feromônios Uso no controle de carrapatos. In: XIII DE CONGRESSO **BRASILEIRO** PARASITOLOGIA VETERINÁRIA & I SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETISIOSES, 2004. Ouro Preto. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13, supl. 1, p. 125 – 128, 2004.
- BORGES, L.M.F.; EIRAS, Á.E.; FERRI, P.H.; LOBO, A.C.C. The role of 2,6-dichlorophenol as sex pheromone of the tropical horse tick *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, v. 27, n. 3, p. 223 230, 2002.
- BROCKIS, D.C. Mite infestations. *The Veterinary Record*, v. 107, n. 13, p. 315 316, 1980.
- BROWN, N.S. A survey of the arthropod parasites of pigeons (*Columba livia*) in Boston. *The Journal of Parasitology*, v. 57, n. 6, p. 1379 1380, 1971.
- BRUNEAU, A.; DERNBURG, A.; CHAUVE, C.; ZENNER, L. First *in vitro* cycle of the chicken mite, *Dermanyssus gallinae* (DeGeer 1778), utilizing an artificial feeding device. *Parasitology*, v. 123, n. 6, p. 583 589, 2001. Disponível em: http://journals.cambridge.org. Acessado em: 18/08/2006.
- CAMIN, J.H.; EHRLICH, P.R. A cage for maintaining stock colonies of parasitic mites and their hosts. *The Journal of Parasitology*, v. 46, n. 1, p. 109 111, 1960.

- CHAMBERLAIN, R.W.; SIKES, R.K. Laboratory rearing methods for three common species of bird mites. *The Journal of Parasitology*, v. 36, n. 5, p. 461 465, 1950.
- CHAMBERS, C.M.; DOTSON, E.M.; OLIVER JR., J.H. Ecdysteroid titers during postembryonic development of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 33, n. 1, p. 11 14, 1996.
- CHIRICO, J. ERIKSSON, H.; FOSSUM, O.; JANSSON, D. The poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, a potential vector of *Erysipelothrix rhusiopathiae* causing erypelas in hens. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 17, n. 2, p. 232 234, 2003.
- CRUZ, M.D.S.; VEGA ROBLES, M.C.; JESPERSEN, J.B. *et al.* Scanning electron microscopy of foreleg tarsal sense organs of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Acari: Dermanyssidae). *Micron*, v. 36, n. 5, p. 415 421, 2005. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/micron>. Acessado em: 02/08/2006.
- DAVIS, J.C.; CAMIN, J.H. Aggregation behavior in the martin mite, *Dermanyssus prognephilus* (Acari: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 14, n. 3, p. 373 378, 1977.
- DETHIER, V.G.; BROWNE, L.B.; SMITH, C.N. The designation of chemicals in terms of the responses they elicit from insects. *Journal of Economic Entomology*, v. 53, n. 1, p. 134 136, 1960.
- DE VANEY, J.A. Ectoparasites. *Poultry Science*, v. 65, n. 4, p. 649 656, 1986.
- DE VANEY, J.A. A survey of poultry ectoparasite problems and their research in the United States. *Poultry Science*, v. 57, n. 5, p. 1217 1220, 1978.

- DICKE, M.; SABELIS, M.W. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds? *Functional Ecology*, v. 2, n. 2, p. 131 139, 1988.
- DUNCAN, S. *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) attacking man. *The Journal of Parasitology*, v. 43, n. 6, p. 637, 1957.
- DURDEN, L.A.; TURELL, M.J. Inefficient mechanical transmission of langat (Tickborne encephalitis virus complex) virus by blood-feeding mites (Acari) to laboratory mice. *Journal of Medical Entomology*, v. 30, n. 3, p. 639 641, 1993.
- DURDEN, L.A.; LINTHICUM, K.J.; MONATH, T.P. Laboratory transmission of Eastern Equine Encephalomyelitis virus to chickens by chicken mites (Acari: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 30, n. 1, p. 281 285, 1993.
- DURDEN, L.A.; LINTHICUM, K.J. Efficient laboratory maintenance of blood-feeding Mesostigmatid mites (Acari). *Journal of Medical Entomology*, v. 29, n. 3, p. 564 566, 1992.
- DURDEN, L.A.; LINTHICUM, K.J.; TURELL, M.J. Mechanical transmission of Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus by hematophagous mites (Acari). *Journal of Medical Entomology*, v. 29, n. 1, p. 118 121, 1992.
- DUSBÁBEK, F.; ZAHRADNÍČKOVA, H.; ŠIMEK, P. Chemical stability of assembly pheromone of argasid ticks (Ixodoidea: Argasidae). *Folia Parasitologica*, v. 45, n. 1, p. 62 66, 1998.
- DUSBÁBEK, F.; ŠIMEK, P. JEGOROV, A.; TŘÍSKA, J. Identification of xanthine an hypoxanthine as components of assembly pheromone in excreta of argasid ticks. *Experimental and Applied Acarology*, v. 11, n. 4, p. 307 316, 1991.

- EIRAS, Á.E.; MAFRA NETO, A. Olfatometria aplicada ao estudo do comportamento de insetos. In: VILLELA, E.F.; LÚCIA, T.M.C.D. *Feromônios de Insetos:* biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora Ltda, 2001, cap.3, p. 27 40.
- EIRAS, Á.E.; CAVALVANTI, M.G.; MENDONCA, F.A.C.; VILELA, E.F. Modelo de olfatômetro para avaliar o comportamento de insetos que caminham para a fonte do estimulo. In: 15° Congresso Brasileiro de Entomologia, 1995, Caxambu. Anais... Belo Horizonte: Editora "O Lutador", v. único, p. 204, 1995.
- ENTREKIN, D.L.; OLIVER JR., J.H.; POUND, J.M. Effects of gamma radiation on development, sterility, fecundity, and sex ratio of *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Acari: Dermanyssidae). *The Journal of Parasitology*, v. 73, n. 3, p. 549 554, 1987.
- ENTREKIN, D.L.; OLIVER JR., J.H. Aggregation of the chicken mite, Dermanyssus gallinae (Acari: Dermanyssidae). Journal of Medical Entomology, v. 19, n. 6, p. 671 678, 1982.
- EWING, H.E. The english sparrow as an agent in the dissemination of chicken and bird mites. *The Auk*, v. 28, n. 3, p. 335 340, 1911.
- FACCINI, J.L.H. Ácaros hematófagos: parasitos de aves de postura (*Gallus gallus*) no Brasil. Diversificação, biologia e controle. *Arquivo Fluminense de Medicina Veterinária*, v. 2, n. 1, p. 29 31, 1987.
- FONSECA, F. Notas de Acareologia XXIV. (A) Representante brasileiro do genero *Dermanyssus* Dugès, 1834 (Acari. Dermanyssidae). (B) Nota sobre o nome genérico *Paralaelaps. Memórias do Instituto Butantan*, v. 10, p. 51 59, 1937.

FREITAS, M.G.; COSTA, H.M.A.; COSTA, J.O. *Manual de Entomologia Médica e Veterinária*. Belo Horizonte: Cooperativa Veterinária de Consumo LTDA, 1973, 188 p. Ilust.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 2001, 218 p. Ilust.

GOLDOVÁ, M.; PALUŠ, V.; LETKOVÁ, V. et al. Parasitoses in pheasants (*Phasianus colchicus*) in confined systems. *Veterinarski Arhiv*, v. 76, suplemento, p. S83 – S89, 2006. Disponível em: http://www.vef.hr/vetarhiv/papers/2006-76-7-11.pdf>. Acessado em: 18/01/2008.

GOMES, J.P.C.; GUIMARÃES, J.H. Inimigos naturais de *Dermanyssus gallinae* (Acari, Dermanyssidae) em aviários de postura no Estado de São Paulo. *Arquivo do Instituto Biológico*, v. 55, suplemento, p. 30, 1988.

GUY, J.H.; KHAJAVI, M.; HLALEL, M.M.; SPARAGANO, O. Red mite (*Dermanyssus gallinae*) prevalence in laying units in Northern England. '2004 Spring Meeting of the WPSA UK Branch - Papers', *British Poultry Science*, v. 45, supl. 1, p. S15 – S16, 2004.

HAMANN, W. Sensibilidade "in vitro" do Dermanyssus gallinae (De Geer, 1778) e Ornithonyssus sylviarum (Canestrini e Fanzago, 1877) (Acari: Gamasida) frente a acaricidas fosforados, piretróides e amidinas, com observações sobre o ciclo biológico. 1990. 83p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.

HASSANALI, A.; NYANDAT, E.; OBENCHAIN, F.A. *et al.* Humidity effects on response of *Argas persicus* (Oken) to guanine, an assembly pheromone of ticks. *Journal of Chemical Ecology*, v. 15, n. 3, p. 791 – 797, 1989.

HERNANDEZ-DIVERS, A.M.; VILLEGAS, P.; PRIETO, F. *et al.* A survey of selected avian pathogens of backyard poultry in Northwestern Ecuador. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, v. 20, n. 3, p. 147 – 158, 2006. Disponível em: http://www.bioone.org/ archive/1082-6742/20/3/pdf/i1082-6742-20-3-147.pdf>. Acessado em: 18/01/2008.

HÖGLUND, J.; NORDENFORS, H.; UGGLA, A. Prevalence of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*, in different types of production systems for egg layers in Sweden. *Poultry Science*, v. 74, n. 11, p. 1793 – 1798, 1995.

HUTCHENSON, H.J.; OLIVER JR., J.H. Spermiogenesis and reproductive biology of *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Parasitiformes: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 25, n. 5, p. 321 – 330, 1988.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Resultados do Censo Agropecuário 1995-1996 e primeiros resultados do Censo Agropecuário 2006, segundo variáveis pesquisadas - Brasil; Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/ economia/agropecuaria/censoagro/2006/defa ulttab_censoagro.shtm>. Acessado em: 11/04/2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Resultados do Censo Agropecuário 1995-1996 e primeiros resultados do Censo Agropecuário 2006, segundo variáveis pesquisadas - Brasil. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defa ulttab_censoagro.shtm>. Acessado em: 11/04/2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Tabela 1.1 - Confronto dos resultados dos dados estruturais dos Censos Agropecuários - Brasil - 1970/2006. Disponível em: <www.ibge.gov.br/home/estatistica/economi a/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab_censoagro.shtm>. Acessado em: 11/04/2008.

KARLSON, P.; LÜSCHER, M. 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, v. 183, n. 4653, p. 55 – 56, 1959.

KEÇECI, T.; HANDEMIR, E.; ORHAN, G. The effect of *Dermanyssus gallinae* infestation on hematological values and body weights of cocks. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, v. 28, n. 4, p. 192 – 196, 2004. Disponível em: http://www.tparazitolderg.org/pdf/pdf_TPD_168.pdf>. Acessado em: 18/01/2008.

KILPINEN, O. How to obtain a bloodmeal without being eaten by a host: the case of poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Physiological Entomology*, v. 30, n. 3, p. 232 – 240, 2005. Disponível em: http://www.blackwell-synergy.com/toc/pen/30/3>. Acessado em: 18/01/2008.

KILPINEN, O.; ROEPSTORFF, A.; PERMIN, A. et al. Influence of Dermanyssus gallinae and Ascaridia galli infections on behaviour and health of laying hens (Gallus gallus domesticus). British Poultry Science, v. 46, n. 1, p. 26 – 34, 2005.

KILPINEN, O.; MULLENS, B.A. Effect of food deprivation on response of the mite, *Dermanyssus gallinae*, to heat. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 18, n. 4, p. 368 – 371, 2004. Disponível em: http://www.blackwell-synergy.com/doi/pdf/10.1111/j.0269-283X.2004.00522.x. Acessado em: 18/01/2008.

KILPINEN, O. Activation of the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae), by increasing temperatures. *Experimental and Applied Acarology*, v. 25, n. 10–11, p. 859 – 867, 2001. Disponível em: http://www.springerlink.com/content/t20r8k381246th80/fulltext.pdf>. Acessado em: 19/12/2007.

KIRKWOOD, A. C. Anaemia of poultry infested with the mite *Dermanyssus gallinae*. *The Veterinary Record*, v. 80, n. 17, p. 514 – 516, 1967.

KIRKWOOD, A. C. Longevity of the mites *Dermanyssus gallinae* and *Liponyssus sylviarum*. *Experimental Parasitology*, v. 14, n. 3, p. 358 – 366, 1963

KUENEN, L.P.S.; CALDERONE, N.W. Positive anemotaxis by *Varroa* mites: Responses to bee odour plumes and simgle clean-air puffs. *Physiological Entomology*, v. 23, n. 3, p. 255 – 264, 1998.

LABRUNA, M.B.; LEITE, R.C.; GOBESSO, A.A.O.; GENNARI, S.M.; KASAI, N. Controle estratégico do carrapato *Amblyomma cajennense* em eqüinos. *Ciência Rural*, v. 34, n. 1, p. 195 – 200, 2004.

LAINSON, R. Some observations on the life-cycle of *Atoxoplasma*, with particular reference to the parasite's schizogony and its transmission by the mite *Dermanyssus gallinae*. *Nature*, v. 182, n. 4644, p. 1250 – 1251, 1958.

- LEAHY, M.G.; KARUHIZE, G.; MANGO, C.; GALUN, R. An assembly pheromone and its perception in the tick *Ornithodoros moubata* (Murray) (Acari: Argasidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 12, n. 3, p. 284 287, 1975.
- LEAHY, M.G.; VANDEHEY, R.; GALUN, R. Assembly pheromone(s) in the soft tick *Argas persicus* (Oken). *Nature*, v. 246, n. 5434, p. 515 516, 1973.
- LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P.R.; LOPES, C.M.L.; FREITAS, C.M.V. Alguns aspectos epidemiológicos das infestações por *Amblyomma cajennense*: uma proposta de controle estratégico. In: VERÍSSIMO, C.J.; AUGUSTO, C. *Simpósio sobre Controle de Parasitos*, 2.: controle de parasitos de eqüinos. Colina, SP: Instituto de Zootecnia, 1997. p. 9 14.
- LEONE, F.; ALBANESE, F. *Dermanyssus gallinae* infestation in two kittens. *Veterinary Dermatology*, v. 18, n. 5, p. 382, 2007. Disponível em: http://www3.interscience.wiley.com/journal/117989383/ issue>. Acessado em: 18/01/2008.
- MAURER, V.; BAUMGÄRTNER, J. A population model for *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Experimental and Applied Acarology*, v. 18, n. 7, p. 409 422, 1994.
- MAURER, V.; BAUMGÄRTNER, J. Temperature influence on life table statistics of the chicken mite *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Experimental and Applied Acarology*, v. 15, n. 1, p. 27 40, 1992.
- MAZAHERI, A.; LIERZ, M.; HAFEZ, H.M. Investigations on the pathogenicity of *Erysipelothrix rhusiopathiae* in laying hens. *Avian Diseases*, v. 49, n. 4, p. 574 576, 2005. Disponível em: http://avdi.allenpress.com. Acessado em: 13/02/2008.

- MEYER-KÜHLING, B.; HEINE, J.; MÜLLER-LINDLOFF, J.; PFISTER, K. Epidemiology of *Dermanyssus gallinae* and acaricidal efficacy of phoxim 50% in alternative housing systems during the laying period of hens. *Parasitology Research*, v. 101, supl. 1, p. S1 S12, 2007. Disponível em: http://www.springerlink.com/content/2172184106128w56/>. Acessado em: 18/01/2008.
- MIGNON, B.; LOSSON, B. Dermatitis in a horse associated with the poultry mite (*Dermanyssus gallinae*). *Veterinary Dermatology*, v. 19, n. 1, p. 38 43, 2008. Disponível em: http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/fulltext/119410609/ HTMLSTART>. Acessado em: 20/02/2008.
- MOSS, W.W. An illustrated key to the species of the acarine genus *Dermanyssus* (Mesostigmata: Laelapoidea: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 5, n. 1, p. 67 84, 1968.
- MUNGUBE, E.O.; BAUNI, S.M.; TENHAGEN, B.-A. *et al.* Prevalence of parasites of the local scavenging chickens in a selected semi-arid zone of Eastern Kenya. *Tropical Animal Health and Production*, v. 40, n. 2, p. 101 109, 2008. Disponível em: http://www.springerlink.com/content/176jr0 q86368w714/. Acessado em: 01/04/2008.
- NOGUEIRA, M.L.G.; NUNES, L.L.C. PINTO, D.; RIBEIRO, A.J.F.; SILVA, C.Q.; SIQUEIRA, A.L. *Introdução à Bioestatística*. Belo Horizonte: Departamento de Estatística do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, 1997, 215 p.
- NORDENFORS, H.; CHIRICO, J. Evaluation of a sampling trap for *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 94, n. 6, p.1617 1621, 2001.

- NORDENFORS, H.; HÖGLUND, J. Long term dynamics of *Dermanyssus gallinae* in relation to mite control measures in aviary systems for layers. *British Poultry Science*, v. 41, n. 5, p. 533 540, 2000.
- NORDENFORS, H.; HÖGLUND, J.; UGGLA, A. Effects of temperature and humidity on oviposition, molting, and longevity of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 36, n. 1, p. 68 72, 1999.
- NORDLUND, D.A.; LEWIS, W.J. Terminology of chemical-releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, v. 2, n. 2, p. 211 220, 1976.
- OLIVEIRA, C.M. Ocorrência de *Dermanyssus gallinae* no Rio Grande do Sul. *Revista de Medicina Veterinária*, v. 8, n. 1, p. 67 70, 1972.
- OLIVEIRA, P.R. Amblyomma cajenense (Fabricius, 1987) (Acari: Ixodidae): Avaliação de técnicas para estudo de dinâmica populacional e biologia e bioecologia. 1998. 117 p. enc. Tese (Doutorado em Ciência Animal) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- OLIVER JR., J.H. Notes on reproductive behavior in Dermanyssidae (Acarina: Mesostigmata). *Journal of Medical Entomology*, v. 3, n. 1, p. 29 35, 1966.
- OLIVER JR., J.H.; POUND, J.M.; SEVERINO, G. Evidence of a juvenile-hormone-like compound in the reproduction of *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 22, n. 3, p. 281 286, 1985.

- ORTON, D.I.; WARREN, L.J.; WILKINSON, J.D. Avian mite dermatitis. *Clinical and Experimental Dermatology*, v. 25, n. 2, p. 129 131, 2000. Disponível em: http://www3.interscience.wiley.com/journa/119185035/issue. Acessado em: 20/12/2007.
- PESSOA, S.B.; MARTINS, A.V. Noções sobre as principais técnicas usadas em parasitologia. In: _____. Parasitologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978, cap.70, p. 913 962.
- PETNEY, T.N.; BULL, C.M. A non-especific aggregation pheromone in two australian reptile ticks. *Animal Behaviour*, v. 29, n. 1, p. 181 185, 1981.
- PINTO, D.M.; RIBEIRO, P.B.; SILVEIRA JR., P.; BERNARDI, E. Flutuação populacional de *Whitius piger* (Pseudoscorpionida) em granja avícola em Pelotas, RS, Brasil. *Archives of Veterinary Science*, v. 10, n. 2, p. 115 118, 2005.
- POUND, J.M.; OLIVER JR., J.H. Reproductive morphology and spermatogenesis in *Dermanyssus gallinae* (DeGeer) (Acari: Dermanyssidae). *Journal of Morphology*, v. 150, n. 4, p. 825 842, 1976.
- RECHAV, Y. Specificity in assembly pheromones of the tick *Amblyomma hebraeum* (Acarina: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 15, n. 1, p. 81 83, 1978.
- REIS, J. Alguns parasitas de "Gallus gallus (L.)" verificados em São Paulo. Arquivos do Instituto Biologico, v. 10, p. 147 153, 1939.

- REYNAUD, M.C.; CHAUVE, C.M.; BEUGNET, F. *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778): reproduction expérimentale du cycle et essai de traitement par la moxidectine et l'ivermectine. *Revue de Médicine Véterinaire*, v. 148, n. 5, p. 433 438, 1997.
- ROSEN. S.: YERUHAM. I.: BRAVERMAN, Y. Dermatitis in humans associated with the mites Pyemotes tritici, Dermanyssus gallinae, Ornithonyssus bacoti and Androlaelaps casalis in Israel. Medical and Veterinary Entomology, v. 16, n. 4, p. 442 - 444, 2002. Disponível http://www3.interscience.wiley.com/journa 1/118916095/abstract>. Acessado em: 21/12/2007.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. Belo Horizonte: FEPMVZ-Editora, 2002, 265 p. Ilust.
- SCHENONE, H. Dermatitis pruriginosa producida por el ácaro *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778). *Boletín Chileno de Parasitología*, v. 14, n. 3, p. 57 58, 1959.
- SIKES, R.K.; CHAMBERLAIN, R.W. Laboratory observations on three species of bird mites. *The Journal of Parasitology*, v. 40, n. 6, p. 691 697, 1954.
- SMITH, M.G.; BLATTNER, R.J.; HEYS, F.M.; MILLER, A. Experiments on the role of the chicken mite, *Dermanyssus gallinae*, and the mosquito in the epidemiology of St. Louis encephalitis. *Journal of Experimental Medicine*, v. 87, n. 2, p. 119 138, 1948. Disponível em: http://jem.rupress.org/cgi/reprint/87/2/119.pdf>. Acessado em: 02/07/2006.

- SMITH, M.G.; BLATTNER, R.J.; HEYS, F.M. St. Louis Encephalitis: transmission of virus to chickens by infected mites *Dermanyssus gallinae* and resulting viremia as source of virus for infection of mites. *Journal of Experimental Medicine*, v. 86, n. 3, p. 229 237, 1947. Disponível em: http://www.jem.org>. Acessado em: 02/06/2006.
- SMITH, M.G.; BLATTNER, R.J.; HEYS, F.M. St. Louis Encephalitis: infection of chicken mites, *Dermanyssus gallinae*, by feeding on chickens with viremia; transovarian passage of virus into the second generation. *Journal of Experimental Medicine*, v. 84, n. 1, p. 1 6, 1946. Disponível em: http://www.jem.org. Acessado em: 02/06/2006.
- SMITH, M.G.; BLATTNER, R.J.; HEYS, F.M. The isolation of the St. Louis encephalitis virus from chicken mites (*Dermanyssus gallinae*) in nature. *Science*, v. 100, n. 2599, p. 362 363, 1944.
- SONENSHINE, D.E. *Biology of ticks*. 2. ed. Nova York: Oxford University Press, 1993, 465p. Ilust.
- SONENSHINE, D.E. Pheromones and other semiochemicals of the acari. *Annual Review of Entomology*, v. 30, p. 1 28, 1985.
- STAFFORD, K.A.; LEWIS, P.D.; COLES, G.C. Preliminary study of intermittent lighting regimens for red mite (*Dermanyssus gallinae*) control in poultry house. *Veterinary Record*, v. 158, n. 22, p. 762 763, 2006.
- SULKIN, S.E. Recovery of Equine Encephalomyelitis virus (Western type) from chicken mites. *Science*, v. 101, n. 2624, p. 381 383, 1945.

- TOBIN, T.R.; SEELINGER, G.; BELL, W.J. Behavioral responses of male *Periplaneta americana* to Periplamnone B, a synthetic component of the female sex pheromone. *Journal of Chemical Ecology*, v.7, n. 6, p. 969 979, 1981.
- TORRES, P.; FRANJOLA, R.; YÁÑEZ, L. et al. Estudio preliminar sobre helmintos y artropodos del Gallus gallus domesticus el la Provincia de Valdivia, Chile. Boletín Chileno de Parasitología, v. 29, n. 3-4, p. 115 117, 1974.
- TUCCI, E.C.; PRADO, A.C.; ARAÚJO, R.P. Fecundidade de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae) em laboratório. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 72, n. 1, p. 29 32, 2005.
- TUCCI, E.C. Biologia de Dermanyssus gallinae (De Geer. 1778) (Acari, Dermanyssidae) em condições laboratório. 2004 enc. 89p. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Biologia, Universidade Estadual Campinas, de Campinas.
- TUCCI, E.C.; GUIMARÃES, J.H. Biologia de *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari, Dermanyssidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 7, n. 1, p. 27 30, 1998.
- TUCCI, E.C. A laboratory method for the rearing of *Dermanyssus gallinae* (DeGeer, 1778) (Acari, Dermanyssidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 64, n. 1, p. 1 4, 1997.
- TUCCI, E.C.; GUIMARÃES, J.H.; BRUNO, T.V. *et al.* Ocorrência de ácaros hematófagos em aviários de postura no Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 5, n. 2, p. 95 102, 1996.

- TUCCI, E.C.; GUIMARÃES, J.H. Avaliação da eficiência do óleo mineral no controle do *Dermanyssus gallinae* (De Geer, 1778) (Acari: Dermanyssidae), em condições de campo e laboratório. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 36, n. 4, p. 859 862, 1992.
- TUCCI, E. C.; GUIMARÃES, J. H.; BRUNO, T. V. *et al.* Levantamento das espécies de ácaros hematófagos em aves de poedeiras na cidade de Bastos São Paulo, Brasil. *Arquivo do Instituto Biológico*, v. 55, suplemento, p. 30, 1988.
- VALIENTE MORO, C.; DESLOIRE, S.; CHAUVE, C.; ZENNER, L. Detection of *Salmonella* sp. in *Dermanyssus gallinae* using an FTA® filter-based polymerase chain reaction. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 21, n. 2, p. 148 152, 2007b. Disponível em: http://www3.interscience.wiley.com/journal/118540272/ abstract>. Acessado em: 18/01/2008.
- VALIENTE MORO, C.; CHAUVE, C.; ZENNER, L. Experimental infection of *Salmonella* Enteritidis by the poultry red mite, *Dermanyssus gallinae. Veterinary Parasitology*, v. 146, n. 3–4, p. 329 336, 2007a. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/vetpar>. Acessado em: 18/01/2008.
- VAZ, Z. Ectoparasitas de animaes domesticos observados no Estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biologico*, v. 6, p. 29 33, 1935.
- ZEMAN, P. Surface skin lipids of birds a proper host kairomone and feeding inducer in poultry red mite, *Dermanyssus gallinae*. *Experimental and Applied Acarology*, v. 5, n. 1–2, p. 163 173, 1988.