

Determinação das fontes alimentares de *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, pelo teste de precipitina*

Blood-meal sources of Anopheles aquasalis (Diptera: Culicidae) in a South-eastern State of Brazil

Carmen Flores-Mendoza, Rodolfo A. Cunha, Dayse S. Rocha e Ricardo Lourenço-de-Oliveira

Laboratório de Transmissores de Hematozoários do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ - Brasil (C. F. M., R. L. O.), Laboratório Nacional e Internacional de Taxonomia de Triatomíneos do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ - Brasil (R. A. C., D. S. R.)

Resumo

Anopheles aquasalis é um mosquito ora encarado como antropofílico, ora como zoofílico ou eclético. Realizou-se estudo em Guapimirim, Estado do Rio de Janeiro, de maio a novembro de 1992, com o intuito de se verificar a fonte alimentar preferida desse anofelino através de teste imunológico de precipitina. De 1.366 fêmeas capturadas em abrigos naturais, 725 estavam ingurgitadas. O conteúdo digestivo de apenas 473 delas reagiu no teste de precipitina, sendo que em 75,3% dos casos foi identificada apenas uma fonte alimentar. Mais da metade dessas fêmeas havia se alimentado em boi (52,2%), enquanto poucas tinham sugado homem (1,1%). Por outro lado, 24,7% dos espécimes haviam se alimentado em mais de uma fonte sanguínea, principalmente boi e cavalo. Conclui-se que *An. aquasalis* é zoófilo nessa região do País, utilizando grande variedade de hospedeiros, porém preferindo se alimentar em animais de grande porte, especialmente o boi e cavalo.

***Anopheles*. Preferências alimentares. Ecologia de vetores.**

Abstract

Anopheles aquasalis has shown local variations in blood-host preference in Brazil: it seems to be anthropophilic in the northeast and zoophilic or opportunistic in the Amazon and other regions. A study was carried out in Guapimirim county, State of Rio de Janeiro, from May to November 1992, for the purpose of identifying the blood meal source of this anopheline by capillary tube precipitin test. A total of 1,366 females were captured at natural resting-places, 725 of which were blood-fed. The gut content of 473 blood fed females reacted to the antisera used (human, cow, horse, pig, dog and chicken). The majority of the females — 356 (75.3%) — had blood from

* Subvencionado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico/CNPq/FIOCRUZ e pelo convênio Fundação Nacional de Saúde/FIOCRUZ/BIRD-027/93.

Parte da Dissertação de Mestrado de C. Flores-Mendoza, apresentada à FIOCRUZ.

Correspondência para/Correspondence to: Carmen Flores-Mendoza - Laboratório de Transmissores de Hematozoários do Instituto Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365 - 21045-900 Rio de Janeiro, RJ - Brasil. Fax: (021)290.9339 E-mail: ffrl@DCC001.CICT.FIOCRUZ.BR

Recebido em 2.6.1995. Aprovado em 9.1.1996.

only one source. A substantial bovine preference was observed — 52.2% had fed on cows, 29.8% on horses, 10.7% on pigs, 4.5% on chickens and 1.7% on dogs, but only few had fed on man (1.1%) and none on rats. On the other hand, 24.7% of the females had fed on more than one host, mainly on cows and horses. It was assumed that *An. aquasalis* is zoophilic in southeastern Brazil, feeding on a wide variety of animals, the cow being the primary host.

Anopheles. Food preferences. Ecology, vectors.

INTRODUÇÃO

Um dos parâmetros mais utilizados na compreensão da epidemiologia e no estudo da dinâmica da transmissão do paludismo é a determinação da capacidade vetorial (CV) (Dye¹⁷, 1986). É indispensável, na equação que define a CV, conhecer-se a proporção de fêmeas da espécie encontradas naturalmente ingurgitadas com sangue humano e de outros animais. De acordo com essa equação, quanto menor a proporção de fêmeas de uma dada espécie encontradas com sangue humano, menor será a sua capacidade vetorial e vice-versa (Garret e Jones²⁵, 1964).

Anopheles (Nys.) aquasalis, importante vetor litorrâneo da malária em diversas localidades do Brasil (Fig. 1) e Américas (Senior-White³³, 1952; Gabaldón & Guerrero²³, 1959; Rachou²⁹, 1958; Grossi, 1960 (apud Cova-Garcia e col.¹², 1964); Deane¹⁴, 1986; Berti e col.⁴, 1993), vem apresentando comportamento alimentar bastante variável. Em Belém, na Amazônia brasileira, onde o clima é equatorial, o mosquito é preferentemente zoófilo (Galvão e col.²⁴, 1942), ao passo que no Nordeste, de clima semi-árido, é mais antropófilo (Deane e col.¹⁵, 1948; Rachou e col.³⁰, 1950). Já no Sudeste do Brasil, cujo clima é semi-tropical, tem sido observado ora atacando o homem ora os animais domésticos ao ar livre (Coutinho^{7,8,9}, 1942, 1943, 1946; Ramos³¹, 1943; Coutinho e Ricciardi¹¹, 1943; Lourenço-de-Oliveira e Heyden²⁷, 1986). Na Guiana e no Oeste panamenho, verificou-se que é um mosquito muito zoófilo, não sendo encarado como de importância epidemiológica (Curry¹³, 1932; Giglioli²⁶, 1940; Rozeboom³², 1942).

Em vista das divergências no hábito hematofágico de *An. aquasalis* no País, decidiu-se verificar qual é a sua principal fonte alimentar em uma localidade na Baixada Fluminense, região Sudeste, onde esse é o único anofelino abundante, tendo sido considerado vetor potencial durante pequenas epidemias de malária ali registradas nas duas últimas décadas (Flores-Mendoza¹⁹, 1994)*.

MATERIAL E MÉTODO

As coletas foram realizadas numa propriedade rural, com atividade pecuária leiteira — fazenda “Meia Noite” — em Guaraí, (22°41’S 42°57’W), no Município de Guapimirim, Estado do Rio de Janeiro, duas ou três vezes por mês, no período de maio a novembro de 1992, no horário das 9:00 às 13:00 h.

Os mosquitos foram procurados e capturados fora do perímetro de 500m do conjunto da casa e o pequeno estábulo da fazenda, em locais com características semelhantes às descritas para os abrigos de mosquitos por Shannon³⁴ (1935), Barnes² (1945), Bates³ (1949) e Forattini²¹ (1962).

Três ecótopos foram identificados como os mais utilizados como abrigos (Flores-Mendoza e Deane¹⁸, 1993; Flores-Mendoza¹⁹, 1994) por *An. aquasalis* na área: moitas de capim, bananal e troncos de árvores caídos. Utilizou-se tubo aspirador manual, puçá e aparelho de sucção tipo aspirador (Natal e Marucci²⁸, 1984).

Os mosquitos eram postos em gaiolas de papelão, rotuladas segundo a procedência e a técnica de coleta e acondicionados em caixa de isopor de modo a transportá-los vivos ao laboratório. Após triagem e identificação das fêmeas, aquelas ingurgitadas eram imediatamente armazenadas em refrigerador (4°C), para impedir que se continuasse a digestão do sangue ingerido.

O conteúdo intestinal era colhido em uma tira de papel-filtro Watman nº 1, numerada, posta a secar, embrulhada com papel celofane e mantida em refrigerador até a análise pela prova de precipitina. Para esse teste, o papel-filtro contendo a amostra era mergulhado em solução salina (NaCl 0,85%) e o eluato daí obtido examinado pela reação imunológica de precipitina, através da técnica dos tubos capilares, segundo Siqueira³⁵ (1960).

A pesquisa das fontes sanguíneas foi realizada fazendo-se o eluato do material colhido em papel-filtro reagir contra anti-soros, dos seguintes grupos de vertebrados: (a) mamíferos: homem (*Homo*), boi (*Bos*), cavalo (*Equus*), cão (*Canis*), porco (*Sus*) e roedor (*Rattus*) e (b) ave (*Gallus*). A preparação dos anti-soros e a avaliação de sua titulação e especificidade foram feitas de acordo com Siqueira³⁵ (1960). A titulação desses anti-soros foi realizada fazendo-os reagir com diluições crescentes

*Acrescente-se a comunicação pessoal de P. Santana, em 1995.

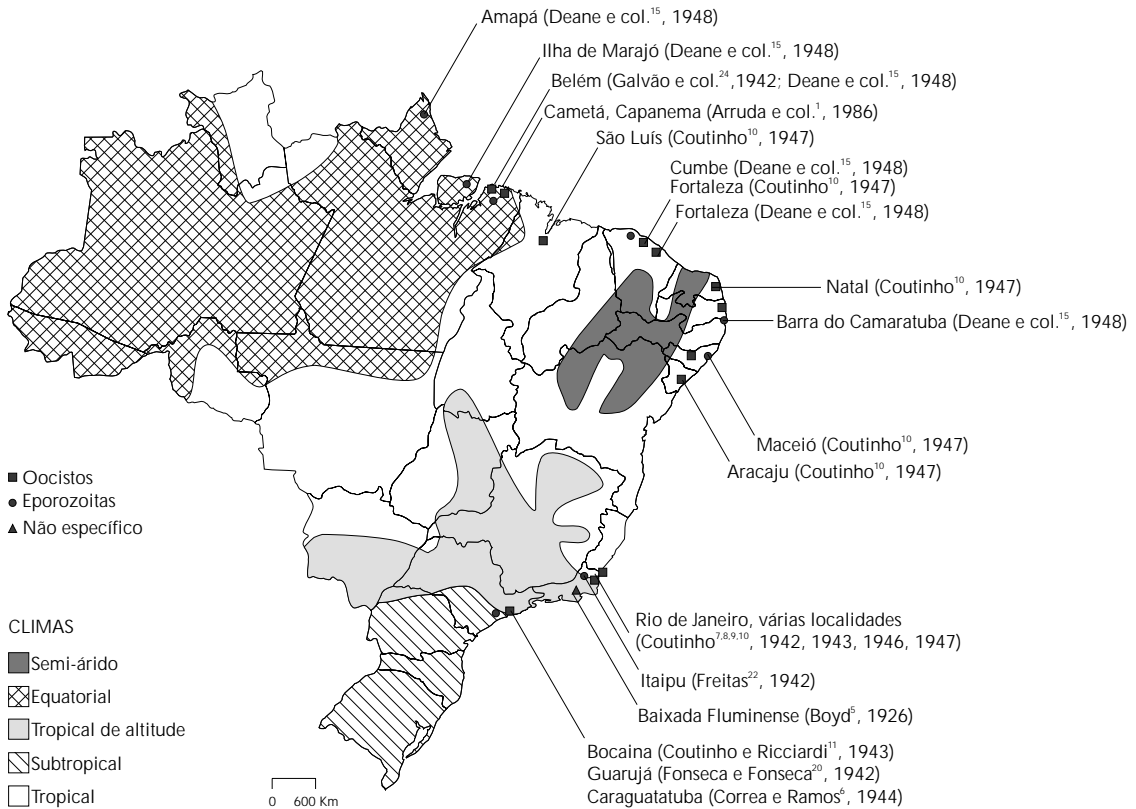


Figura 1 - Dados sobre o encontro de infecção natural, por *Plasmodium*, em *Anopheles aquasalis*, no Brasil.

dos soros homólogos de 1:5.000 a 1:12.000. Após absorção, pela adição de uma mistura de antígenos heterólogos em 100 partes de cada anti-soro, sua titulação final foi a seguinte: homem (1:7.000), ave (1:10.000), cão (1:10.000), cavalo (1:10.000), boi (1:9.000), porco (1:10.000) e roedor (1:10.000). A especificidade de cada anti-soro foi avaliada com ensaios usando-se *An. aquasalis* criados em laboratório, alimentados em uma ou mais fontes sangüíneas conhecidas.

RESULTADOS

Foram capturadas 1.366 fêmeas de *An. aquasalis* em abrigos naturais, das quais 1.211 (88,6%) foram coletadas com tubo aspirador de Castro, 143 (10,5%) com aparelho de sucção tipo aspirador e 12 (0,9%) com puçá. Desse total, 725 fêmeas (53,1%) estavam ingurgitadas. O maior número de fêmeas ingurgitadas — 618 (85,2%) — foi pego em moitas de capim (Tabela 1). O conteúdo intestinal de somente 473 (65,2%) reagiu ao teste de precipitina, enquanto o de 252 (34,8%) não reagiu com os anti-soros utilizados.

Tabela 1 - Número de fêmeas não ingurgitadas e ingurgitadas, de *An. aquasalis*, coletadas por tipo de abrigo natural, em Guarai, RJ, de maio a novembro de 1992.

Abrigo	Não ingurgitadas		ingurgitadas	
	Nº	%	Nº	%
Moitas de capim	77	12,0	618	85,2
Bananal	379	59,1	87	12,0
Tronco de árvores	185	28,9	20	2,8
Total	641	100,0	725	100,0

Dentre os espécimes reagentes, 356 (75,3%) haviam se alimentado em apenas uma fonte sangüínea (Fig. 2): mais da metade deles havia se alimentado com sangue bovino — 186 (52,2%) — e apenas 4 (1,1%) com sangue humano. Nenhuma das amostras reagiu com o anti-soro de roedor. O conteúdo intestinal de 117 espécimes (24,7%) reagiu com mais de uma fonte sangüínea (Tabela 2), sendo mais freqüente a combinação boi + cavalo (83,7%), seguida de longe por homem + boi (5,1%), dentre outras.

Tabela 2 - Identificação do sangue ingerido por fêmeas de *An. aquasalis*, que haviam se alimentado em mais de uma fonte sangüínea, coletadas em abrigos naturais, em Guaraf, RJ, de maio a novembro de 1992.

Repastos	Nº	%
Homem + boi	6	5,1
Homem + cavalo	2	1,7
Boi + cavalo	98	83,7
Boi + porco	2	1,7
Boi + cão	2	1,7
Cavalo + cão	3	2,5
Cavalo + porco	1	0,9
Homem + boi + cavalo	1	0,9
Cavalo + porco + ave	1	0,9
Boi + cavalo + cão + porco	1	0,9
Total	117	100,0

DISCUSSÃO

An. aquasalis é considerado um anofelino dotado de variável comportamento alimentar quanto à fonte sangüínea, tendo algumas vezes sido encarado como eclético ou oportunista, variando no tempo e no espaço o seu principal hospedeiro, como verificou Senior-White³³ (1952), em Trinidad.

Vimos que, na área aqui estudada, *An. aquasalis* é capaz de sugar, espontaneamente, qualquer dos animais cujos anti-soros foram usados no teste, isto é, homem, boi, cavalo, porco, cão e aves, exceto roedor. Um total de 292 fêmeas (82,0%) desse anofelino haviam se alimentado em boi ou cavalo (Fig. 2), demonstrando a sua preferência por animais de grande porte, já observada por outros autores (Boyd⁵, 1926; Deane e col.¹⁵, 1948).

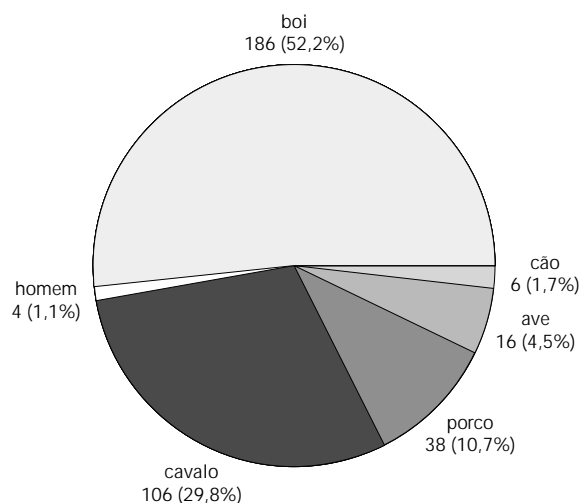


Figura 2 - Identificação do sangue ingerido por fêmeas de *An. aquasalis* que haviam se alimentado em apenas uma fonte sangüínea, coletadas em abrigos naturais, em Guaraf, Rio de Janeiro, de maio a novembro de 1992, através da prova de precipitina.

Deane e col.¹⁶ (1949), numa experiência feita com 1.215 *An. aquasalis*, procedentes de criação e soltos em uma gaiola onde pernoitaram diferentes iscas, obtiveram os seguintes resultados através de provas de precipitina: 684 (56,3%) foram positivos para anti-soros de boi, 284 (23,4%) para cavalo, 132 (10,9%) para homem, 69 (5,7%) para cão, 36 (3,6%) para porco, 22 (1,8%) para carneiro, 21 (1,7%) para gato e três (0,4%) para galinha. De acordo com tais resultados, Deane e col.¹⁶ (1949) demonstraram que *aquasalis* é capaz de sugar qualquer dos animais a ele expostos, mostrando um grau de antropofilia muito pequeno em comparação a sua preferência pelo sangue de boi e de cavalo.

Lourenço-de-Oliveira e Heyden²⁷ (1986), trabalhando no Rio de Janeiro, verificaram a nítida preferência alimentar de *An. aquasalis* pelo sangue de boi, ao realizarem capturas comparativas e simultâneas em cavalo, carneiro, galo e sapo. Só coletaram o anofelino em boi (93,4%) e em cavalo (6,6%). Aliás, Boyd⁵ (1926), comparando os hábitos de *An. aquasalis* com os de *An. darlingi* na Baixada Fluminense, considerou a primeira espécie mais zoófila que a segunda.

Avaliando a preferência alimentar de *An. aquasalis*, em Belém, através de provas de precipitina feitas com de 596 exemplares capturados no domicílio, Deane e col.¹⁶ (1949) verificaram que 428 (71,8%) foram positivos para anti-soro de homem, 58 (9,7%) para cão, 23 (3,9%) para cavalo, sete (1,2%) para galinha, três (0,5%) para boi e um (0,2%) para porco. Esses autores mostraram, com suas duas experiências, que a origem do material analisado em provas de precipitina é importante, podendo resultar em falsas interpretações, pois de acordo apenas com o exame dos espécimes, coletados no domicílio, a espécie poderia ser encarada como de elevado grau de antropofilia.

No presente estudo, para evitar esse tipo de influência nos resultados, só foi analisado o conteúdo digestivo de *An. aquasalis* capturados fora do perímetro de 500m da casa e dos abrigos dos animais domésticos (curral, pocilga, galinheiro).

Estimamos-se o número oscilante de fontes alimentares sangüíneas disponíveis na área, no período de realização do presente estudo, em: 5 a 10 humanos, 20 a 30 bovinos, 1 a 3 eqüinos, 2 a 4 cães, 1 gato, 5 a 8 galinhas e 2 a 4 porcos. Não foi quantificada a frequência de animais silvestres, alguns dos quais comumente avistados na área, como aves, nem o número de roedores sinantrópicos.

Não se descarta a possível influência exercida nos resultados pela maior proporção de bovinos dentre os

outros animais locais. Porém, deve-se considerar a preferência que *An. aquasalis* mostra pelo sangue de bovinos, mesmo quando na presença de outros animais em mesmo número, como viram Deane e col.¹⁶ (1949) e Lourenço-de-Oliveira e Heyden²⁷ (1986).

Concluiu-se que *An. aquasalis* tem hábitos zoófilos, com preferência pelo sangue de boi e ca-

valo, no Estado do Rio de Janeiro. Tais hábitos certamente influenciam de forma negativa em sua capacidade vetorial na região Sudeste do País. Seu melhor desempenho como transmissor da malária é justificado, principalmente, por sua elevada densidade em certas épocas do ano (Deane¹⁴, 1986; Rachou²⁹, 1958).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARRUDA, M.; CARVALHO, M.; NUSSENZWEIG, R. S.; MARACIC, M.; FERREIRA, W.; COCHRANE, A. Potential vectors of malaria and their different susceptibility to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in Northern Brazil identified by immunoassay. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **35**: 873-81, 1986.
2. BARNES, C. R. *Anopheles walkeri* in diurnal shelters in Massachusetts. *J. Econ. Entomol.*, **38**: 145, 1945.
3. BATES, M. *The natural history of mosquitoes*. New York, Macmillan Company, 1949.
4. BERTI, J.; ZIMMERMAN, R. H.; AMARISTA, J. Spatial and temporal distribution of anopheline larvae in two malarious areas in Sucre State, Venezuela. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **88**: 353-62, 1993.
5. BOYD, M. F. Studies of the epidemiology of malaria in the coastal lowlands of Brazil, made before and after execution of control measures. *Am. J. Hyg. Monogr. Ser.*, **5**, 1926.
6. CORREA, R. R. & RAMOS, A. S. Os anofelinos da Ilha de Santo Amaro. *Arq. Hig. Saúde Pública*, **8**: 9-16, 1944.
7. COUTINHO, J. O. Contribuição ao estudo dos transmissores de malária no Distrito Federal, Brasil. *Arq. Hyg.*, **12**: 7-14, 1942.
8. COUTINHO, J. O. Contribuição para o estudo do *An. (N.) tarsimaculatus* no Distrito Federal, Brasil. *Arq. Hyg.*, **13**: 65-78, 1943.
9. COUTINHO, J. O. Anofelinos do Rio de Janeiro (Distrito Federal) com referência aos transmissores de malária. *O Hospital*, **30**: 651-62, 1946.
10. COUTINHO, J. O. Contribuição para o estudo da distribuição geográfica dos anofelinos do Brasil. São Paulo, 1947. [Tese — Faculdade de Medicina da USP].
11. COUTINHO, J. O. & RICCIARDI, I. Transmissão da malária pelo *An. tarsimaculatus* Goeldi, 1905 em Bocaina no Litoral de São Paulo, Brasil. *Arq. Hig. R. Janeiro*, **13**: 27-32, 1943.
12. COVA-GARCIA, P.; PULIDO, J.; AMARISTA, R. J. *Anopheles (Nyssorhynchus) emilianus* Komp, 1941 en Venezuela. *Rev. Venez. Sanid. Asist. Soc.*, **29**: 27-32, 1964.
13. CURRY, D. P. Some observations on the *Nyssorhynchus* group of the *Anopheles (Culicidae)* of Panama. *Am. J. Hyg.*, **15**: 566-72, 1932.
14. DEANE, L. M. Malaria vectors in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **81** (supl. II): 5-14, 1986.
15. DEANE, L. M.; CAUSEY, O. R.; DEANE, M. P. Notas sobre a distribuição e a biologia dos anofelinos das Regiões Nordeste e Amazônica do Brasil. *Rev. Serv. Esp. Saúde Pública*, **1**: 827-963, 1948.
16. DEANE, L. M.; VERNIN, S. C.; DAMASCENO, R. G. Avaliação das preferências alimentares das fêmeas de *Anopheles darlingi* e *Anopheles aquasalis* em Belém, Pará, por provas de precipitina. *Rev. Serv. Esp. Saúde Pública*, **2**: 793-808, 1949.
17. DYE, C. Vectorial capacity: must we measure all its components? *Parasitol. Today*, **2**: 203-9, 1986.
18. FLORES-MENDOZA, C. & DEANE, L. M. Where are the resting-places of *Anopheles aquasalis* males? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **88**: 501-2, 1993.
19. FLORES-MENDOZA, C. Um estudo sobre alguns aspectos comportamentais, morfológicos e bioquímicos de *Anopheles aquasalis* Curry, 1932. Rio de Janeiro, 1994. [Dissertação de Mestrado - Instituto Oswaldo Cruz].
20. FONSECA, J. A. B. & FONSECA, F. Transmissão da malária humana por anofelinos da Série *Tarsimaculatus*. *Mem. Inst. Butantan*, **16**: 93-124, 1942.
21. FORATTINI, O. P. *Entomologia médica*. São Paulo, Ed. Univ. São Paulo, 1962. v. 1.
22. FREITAS, G. Pesquisas sobre a transmissão da malária na Baixada Fluminense. *Rev. Med. Cirur. do Brasil*, **50**: 15-20, 1942.
23. GABALDON, A. & GUERRERO, L. An attempt to malaria by the weekly administration of pyrimethamine in areas of out-of-doors transmission in Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **8**: 433-9, 1959.
24. GALVÃO, A. L. A.; DAMASCENO, R. G.; MARQUEZ, A. P. Algumas observações sobre a biologia dos anofelinos de importância epidemiológica de Belém, Pará. *Arq. Hig. R. Janeiro*, **12**: 51-111, 1942.
25. GARRET-JONES, C. Prognosis for the interruption of malaria transmission through assessment of the mosquito's vectorial capacity. *Nature*, **204**: 1173-5, 1964.
26. GIGLIOLI, G. Malaria in British Guiana. *Report. Dir. Med. Serv. (1938)*, Appendix II: 118-39, 1940.
27. LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. & HEYDEN, R. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (*Diptera: Culicidae*) de uma área de planície (Granjas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. IV. Preferências alimentares quanto ao hospedeiro e frequência domiciliar. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **81**: 15-27, 1986.

28. NATAL, D. & MARUCCI, D. Aparelho de sucção tipo aspirador para captura de mosquitos. *Rev. Saúde Pública*, **18**: 418-20, 1984.
29. RACHOU, G. R. Anofelinos do Brasil: comportamento das espécies vetoras de malária. *Rev. Bras. Malariol. Doenç. Trop.*, **10**: 145-81, 1958.
30. RACHOU, G. R.; MOURA-LIMA, M.; BARBOSA, A. L. Considerações sobre o *An. (N.) tarsimaculatus* Goeldi, 1905 (*An. (N.) aquasalis*, Curry, 1932) no Estado do Ceará, com especial referência ao seu encontro a 52 km da orla marítima. *Rev. Bras. Malariol.*, **2**: 57-65, 1950.
31. RAMOS, A. S. Observações sobre os anofelinos do litoral paulista *Anopheles (Nyssorhynchus) tarsimaculatus* (Goeldi, 1905), *Anopheles (Nyssorhynchus) oswaldoi* (Peryassu, 1922). *Arq. Hig. Saúde Pública*, **8**: 51-2, 1943.
32. ROZEBOOM, E. L. Subspecific variations among neotropical anopheles mosquitoes, and their importance in the transmission of malaria. *Am. J. Trop. Med.*, **22**: 235-55, 1942.
33. SENIOR-WHITE, R. A. Studies on the bionomics of *An. aquasalis* Curry, 1932. Part III. *Ind. J. Malariol.*, **6**: 31-72, 1952.
34. SHANNON, R. C. Malaria studies in Greece: The reaction of *Anopheline* mosquitoes to certain microclimatic factors. *Am. J. Trop. Med.*, **15**: 67-81, 1935.
35. SIQUEIRA, A. F. Estudos sobre a reação de precipitina aplicada à identificação de sangue ingerido por triatomíneos. *Rev. Inst. Med. Trop.*, **2**: 41-63, 1960.