

B10-08

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

R.E. 46B

TRABALHO DE LICENCIATURA

TÍTULO:

ESTUDO DAS PREFERÊNCIAS ALIMENTARES DOS MOSQUITOS
ANOFELINOS NOS BAIROS DA MATOLA "A" E BOANE

Autor: Emilita Agostinho Mutimba

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TRABALHO DE LICENCIATURA

TÍTULO:

ESTUDO DAS PREFERÊNCIAS ALIMENTARES DOS MOSQUITOS
ANOFELINOS NOS BAIROS DA MATOLA "A" E BOANE

Supervisor: Dr. Chandana Mendis

Co-supervisor: dr. Bernardo Muatinte

Maputo, Julho de 1997



AGRADECIMENTOS

O autor expressa o seu agradecimento ao Dr. Martinho Dgedge, director do Instituto Nacional de Saúde e chefe do departamento de parasitologia de Sangue, pela permissão e suporte da realização deste trabalho dentro do projecto de malária financiado pela Danida.

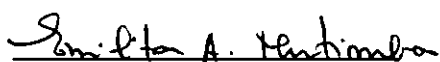
Uma referência especial aos seus supervisores: Dr. Chandana Mendis pelo incitamento, pelas sugestões e orientação para melhoria do trabalho e ao dr. Bernardo Muatinte pela co-supervisão. Ao dr. Almeida Guissamulo pelas sugestões e críticas em alguns aspectos de análise estatística e na redacção do relatório.

Ao Dr. Nelson Cuamba, chefe da secção de entomologia do departamento de parasitologia de sangue e a todos os trabalhadores deste sector, pela assistência prestada na colheita e processamento laboratorial das amostras.

Aos seus familiares e a todos os amigos ou colegas que contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Emilita Mutimba, autora do trabalho, "Estudo das preferências alimentares dos mosquitos *anofelinos* nos bairros da Matola "A" e Boane", declaro que este foi realizado por mim, com auxílio dos meus supervisores, no Departamento de Parasitologia de Sangue do Instituto Nacional de Saúde, Maputo.



Emilita Mutimba

Maputo, Julho 1997.

RESUMO

Um teste de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) foi pela primeira vez avaliado e estabilizado em Moçambique para identificação da origem de sangue em mosquitos *anofelinos* recentemente alimentados, colhidos nos bairros da Matola "A" e Boane, arredores da cidade de Maputo, em 1996 e 1997. Foram colhidos 737 mosquitos por tubo de sucção no interior das habitações, durante os meses de Maio e Junho de 1996 e 1997, dos quais 104 eram fêmeas de *A.arabiensis* e 580 de *A.funestus*. Destas, 69.2% (72/104) de *A.arabiensis* e 54.1% (314/580) de *A.funestus* estavam recentemente alimentadas.

As duas espécies estudadas, *A. arabiensis* e *A. funestus* demonstraram ser antropofágicas, com índices de sangue humano (HBI) iguais a 0.92 (47/51) e 0.87 (226/259) respectivamente.

Usando os valores de HBIs e outros parâmetros entomológicos foi estimada a capacidade vectorial de *A. funestus* e *A. arabiensis* na área de estudo. A capacidade vectorial de *A. arabiensis* foi 0.02 e de *A. funestus* de 0.05, sendo moderada quando comparada com a de outras regiões altamente endémicas na África Austral.

Os resultados obtidos neste estudo, ilustram que dado o facto do potencial de transmissão ser moderado nos bairros da Matola "A" e Boane, medidas de control anti-vectorial poderão ter um impacto significativo na redução do número de vectores.

ÍNDICE

	Pag.
1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJECTIVOS	9
3. DESENHO EXPERIMENTAL	12
3.1. Área de Estudo	12
3.1.1. Tamanho da amostra	13
3.2. Colheita de mosquitos	13
3.3. Análises laboratoriais	13
4. ANÁLISE DOS DADOS	16
4.1. Cálculo do índice sanguíneo	16
4.2. Avaliação da capacidade vectorial	16
4.3. Análise estatística	17
5. RESULTADOS	18
6. DISCUSSÃO	24
7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	27
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1. INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecciosa causada por um protozoário do gênero *Plasmodium*. Quatro espécies de plasmódio podem infectar o hospedeiro humano: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*, sendo *P. falciparum* o parasita mais comum em Moçambique (Giles e Warrell, 1993). É transmitida duns indivíduos para outros por mosquitos fêmeas do gênero *Anopheles* (Figura 1).

A Organização Mundial de Saúde (O.M.S.) (W.H.O., 1996) estima que o número de casos por malária no mundo está entre 2.6 a 2.7 milhões por ano. Ainda de acordo com a O.M.S. na África tropical aproximadamente um milhão de crianças com idade inferior a 5 anos morrem de malária ou outras doenças a esta associadas por ano (W.H.O., 1994).

Em Moçambique a malária é a segunda maior causa de óbitos registados nas unidades sanitárias após doenças respiratórias. É uma doença que assola todo o país, apresentando níveis de endemicidade diferentes de acordo com as características topográficas, climáticas e sociais de cada localidade (Martinenko, 1994).

Os vectores *Anofelinos* pertencem a ordem Diptera, sub-ordem Nematocera, família Culicidae, sub-família Culicinae, tribo Anophelini, gênero *Anopheles*. São insectos relativamente pequenos com cerca de 8mm de comprimento, voam suavemente e picam muito subtilmente do que outros insectos hematófagos, sendo activos a noite, refugiando-se em locais escuros e húmidos durante o dia (Service, 1993).

Eles diferem bastante no seu comportamento. Uns preferem picar ao homem sendo chamados antropofágicos, outros aos animais sendo designados zoofágicos, podem ainda ser exofílicos ou endofílicos se alimentarem-se fora ou dentro das habitações respectivamente,

por último, alguns podem apresentar combinações de todas as tendências alimentares (Clementes 1992 e Gillies 1988).

As espécies de maior importância na transmissão de malária em África e em Moçambique em particular são o *A. gambiae s. s.*, o *A. arabiensis*, o *A. merus* e o *A. funestus* (Giles e Warral, 1993). *A. arabiensis* é a espécie mais predominante no sul de Moçambique (Petrarca et al., 1984).

Considerado vector de maior importância em África, o *A. gambiae s. s.* alimenta-se predominantemente em humanos pica e repousa maioritariamente dentro de casa (White, 1974). Por outro lado, *A. arabiensis*, espécie morfológicamente indistinguível do *A. gambiae*, tem grande tendência de se alimentar sobre o gado e repousar fora das casas (White, 1974). *A. funestus* alimenta-se predominantemente sobre humanos e repousa exclusivamente dentro de casa (Gillis e De Meillon 1968, Gillis e Coetzee 1987). Finalmente *A. merus* alimenta-se de preferência nos humanos e repousa muitas vezes fora das casas (Giles e Warrall, 1993).

Actualmente, as estratégias de controle da malária em várias regiões do globo, visam reduzir a morbilidade e mortalidade através do diagnóstico rápido, tratamento da doença e controle do vector (Knell 1991 e Onori et al., 1993).

Vários métodos têm sido usados para o controle do vector entre eles a redução dos criadouros através da manipulação do ambiente, uso de larvicidas químicos, biológicos, aplicação de insecticidas, entre outros (Onori et al., 1993 e Rafatjah 1988).

Deste modo, em Moçambique têm sido feitas pulverizações intradomiciliárias anuais com piretroides sintéticos tais como Deltametrina e Lambdacihalotrina nas regiões com densidade populacional elevada e ou zonas com maior importância económica (Programa Nacional de Malária, 1997).

Para uma planificação racional dos programas de controle da malária em regiões onde várias espécies de *Anopheles* coexistem, torna-se importante a incriminação dos vectores potenciais transmissores desta doença (Molineaux et al., 1988).

Os principais factores que determinam se uma espécie particular de *Anopheles* é um vector importante são a frequência com que se alimenta no Homem, a susceptibilidade do vector a infecção, a longevidade média da espécie local e sua densidade em relação ao Homem (Clementes 1992, Gillies 1988). Por conseguinte, espécies simpátricas podem diferir significativamente em relação a um ou mais dos factores supra citados o que pode afectar imenso a sua contribuição no local de transmissão (Service, 1993).

A análise da refeição sanguínea em artrópodes hematófagos é um instrumento importante pois permite calcular a capacidade vectorial de cada população de vectores através duma avaliação particular da proporção de refeições tomadas sobre o Homem (Savage et al., 1991). O índice de sangue humano (HBI) é a variável essencial neste tipo de estudos pois dá a frequência actual de contacto homem-vector e mede a probabilidade de transmissão podendo igualmente ser usado como uma medida comparativa do efeito residual de insecticidas sobre o grau de contacto vector-homem (Loyola et al., 1990 e Roy et al., 1991).

Para identificar as fontes de refeição sanguínea vários métodos serológicos foram desenvolvidos. Estes incluem teste de cristalização da hemoglobina, testes de inibição e hemaglutinação passiva, teste de aglutinação do látex e técnicas de anticorpos fluorescentes. Contudo, o mais usado é o teste de precipitina em pequenas cavidades de tubos de vidro que é simples e sensível em relação as técnicas acima citadas (Service et al., 1986). Entretanto, Savage et al., (1991) e Beier et al., (1988) consideram o ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) como o mais viável por ser não só simples e sensível mas também barato, muito específico e, por poder processar várias amostras em pouco tempo.

A proporção duma população de vectores que se alimenta no Homem pode variar com o lugar de colecção, as medidas protectivas usadas pela população, a homogeniedade dos mosquitos na selecção do hospedeiro ou suas respostas a um insecticida (Garret-Jones et al., 1980).

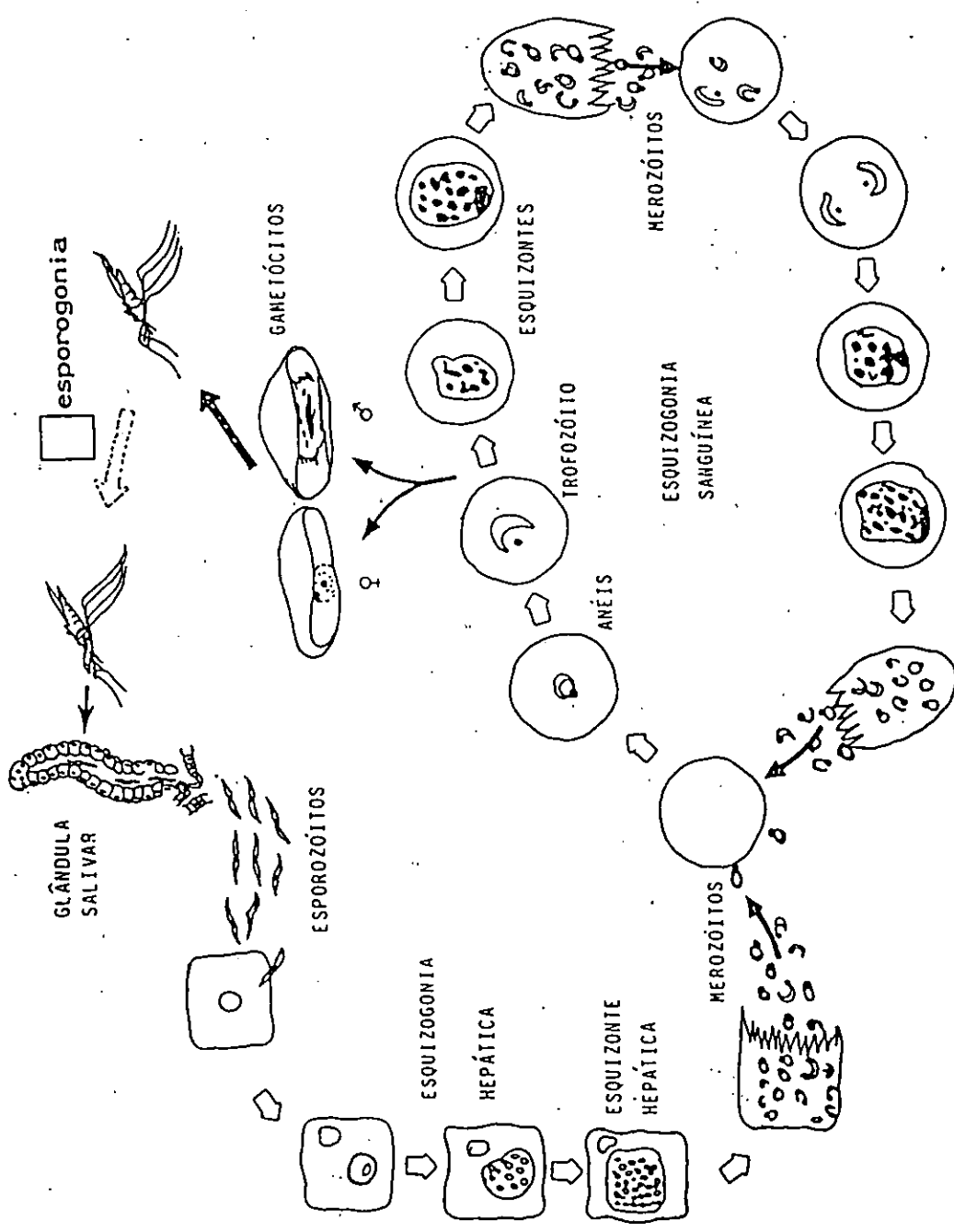
India?
no

Num estudo dos padrões do comportamento alimentar de mosquitos anofelinos de dois estados da Índia, verificou-se que o aumento da população de gado levou ao decréscimo do índice de sangue humano em mosquitos (Kenawy et al., 1990 e Roy et al., 1991). O que indica que o comportamento alimentar das espécies em causa é seriamente afectado pela disponibilidade de animais domésticos.

Com o presente trabalho pretende-se conhecer as tendências alimentares dos mosquitos anofelinos dos bairros da Matola "A" e Boane, arredores da cidade de Maputo. Os resultados permitirão estabelecer o potencial de transmissão da malária e a frequência actual de contacto homem-mosquito, o que poderá ajudar num futuro delineamento de estratégias mais racionais de controle do vector.

2. OBJECTIVOS

1. Determinar as tendências alimentares das espécies de mosquitos anofelinos nos bairros da Matola "A" e Boane, usando a técnica de ELISA directo.
2. Avaliar a capacidade vectorial dos mosquitos em estudo.



CICLO DE VIDA NO HOMEM

Figura 1: Ciclo de vida dos Plasmodios

3. DESENHO EXPERIMENTAL

3.1. Área de estudo

O presente estudo foi realizado nos bairros da Matola "A", área suburbana localizada a aproximadamente 15km da cidade de Maputo e Boane área rural localizada à 30km da cidade de Maputo.

O clima das duas áreas é semelhante, tropical húmido, com uma precipitação anual de 800-1000mm e uma temperatura média anual de 22-28°C (dados do Instituto Nacional de Meteorologia). São zonas baixas susceptíveis a inundações, condições básicas para um elevado potencial para a reprodução dos mosquitos.

As casas construídas de caniço e palha são as mais comuns, facilitam o movimento dos mosquitos de e para o interior das casas.

A densidade da população de *Anopheles gambiae* s.l. tem sofrido flutuações durante o ano conforme a quantidade de chuvas pois influem na formação dos criadouros desta espécie, tornando sazonal a transmissão de malária (Mendis et al., 1997 e Cuamba et al., 1997).

Enquanto Matola por ser uma área semi-urbana tem as casas bastante próximas umas das outras, pouca vegetação ao redor e sem condições para criação de gado. Boane é uma área semi-rural com casas relativamente mais dispersas que a Matola e com vegetação a volta, o que permite a criação de animais domésticos de grande porte (gado bovino e suíno).

Foram critérios de escolha da área os altos índices de parasitemia por malária que variam de 20% a 50% na Matola (Mendis et al., 1997) e de 60% a 70% em Boane (Dgedge et al., 1997) e por serem áreas de monitorização entomológica do Instituto Nacional de Saúde a vários anos o que permite uma colaboração da população.

3.1.1. Tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi de 737 mosquitos, dos quais 522 colhidos na Matola e 215 em Boane. Uma vez que se pretende obter uma percentagem de HBI (índice de sangue humano) superior a 30% para afirmar com segurança que a principal fonte alimentar desta espécie anofelina é o sangue humano. Para o cálculo da capacidade vectorial foram estudados 540 mosquitos anofelinos colhidos pelo método de isca humana.

3.2. Colheita de mosquitos

Os mosquitos foram capturados em áreas residenciais junto aos criadouros existentes em cada bairro, no interior e no exterior das casas, através dos seguintes métodos: captura por tubo de sucção ✓ (nas paredes, tectos e móveis) para determinação do Índice de Sangue Humano (HBI) e colheita por meio de isca humana ✓ das 18:00 as 6:00 horas do dia seguinte para determinação da capacidade vectorial. os métodos de captura acima citados encontram-se descritos em Service (1977).

Todos os mosquitos colectados foram colocados em copos de papel com a abertura superior protegida por uma ligadura húmida, conservados em caixas isotérmicas e transportados para o laboratório de Entomologia do Instituto Nacional de Saúde para processamento.

3.3. Análises laboratoriais

3.3.1 Identificação da espécie e determin^ação da paridade

Após a colheita, os mosquitos foram identificados morfológicamente para determinação da espécie usando o método descrito por Gilles e De Meillon (1968) e Gilles e Coetzee (1987).

na
Para estimar a probabilidade de sobrevivência diária dos mosquitos (p_1) foram dissecados os ovários das fêmeas capturadas para determinação de paridade, através do método de Detinova (1962). Este método tem como base de classificação as características do sistema traqueolar do ovário, se este apresenta-se enovelado designa-se nulíparu e sem novelos paru.

3.3.2 Preparação de amostras para ELISA

A população de mosquitos testados por ELISA, foi constituída por fêmeas anofelinas recentemente alimentadas, para garantir maior sucesso na determinação da fonte alimentar (Burkot et al., 1981).

Cada mosquito foi preparado individualmente por trituração em poços de placas de microtitulação de 96 poços contendo 50 μ l de tampão fosfato salino. As placas foram conservadas a - 20 graus centígrados até a altura do teste.

3.3.3. Identificação da refeição sanguínea - ELISA

ELISA é uma técnica imunológica onde um anticorpo ou antígeno marcado com enzima é usado para realçar a reação antígeno-anticorpo (Pluzek 1981). Tem como princípio a adsorção do antígeno ou anticorpo a uma superfície sólida (interior de um tubo teste, poço duma placa de microtitulação ou superfície de gotas de celulose) permitindo que a combinação antígeno-anticorpo permaneça ligada a esta durante as fases de lavagem subsequentes (Beier et al., 1988 e Roitt 1991).

Para identificar a fonte do alimento sanguíneo usou-se a modificação da técnica de ELISA descrita por Beier et al., (1988). A técnica de ELISA directo usa anticorpos específicos para o hospedeiro conjugados com enzimas para dectetar anticorpos IgG homólogos presentes nas amostras de sangue a testar.

Neste estudo, foram usados anticorpos monoclonais contra humanos, bovinos, caprinos e galinhas, seleccionados com base no conhecimento do tipo de animais presentes na área de estudo.

Para cada triturado previamente preparado, foi feita uma diluição de 1:50 em 0,01M de tampão fosfato salino (PBS). Para identificação de cada fonte de alimento acima citado, foi usada uma placa de microtitulação.

Em cada cavidade da placa foram adicionados 100 μ l de cada solução de mosquito:PBS. Estas foram cobertas e encubadas a temperatura ambiente durante 3,00 horas, para permitir a fixação do antígeno à placa. Cada cavidade foi lavada duas vezes com PBS contendo 0.5% duma solução de Tween 20 (PBS-Tw 20). A seguir fez-se a adição de 100 μ l de conjugado IGg específico para cada hospedeiro marcado com peroxidase e incubou-se durante uma hora. Depois de uma tripla lavagem adicionaram-se 100 μ l do substrato ortho-phenylene diamine (OPD) que reage com o enzima peroxidase ilustrando a reacção antígeno-anticorpo. Incubou-se durante 30 minutos e de seguida procedeu-se à leitura dos resultados por observação da coloração dos poços. Estes resultados foram posteriormente confirmados por leitura num espectrofotómetro a 490 nanómetros.

Em cada placa, em simultâneo com as amostras de mosquitos a testar, foi testada uma amostra de mosquitos não alimentados como controle negativo. Depedendo da fonte de alimento sanguíneo a testar, foram usados como controles positivos amostras de soro humano, bovino, caprino e de galinha.

Foram também testados mosquitos alimentados de sangue humano em insectário, para controlar a qualidade do teste.

Os resultados foram considerados positivos, se o valor de absorvância exceder a média mais 3 vezes o desvio padrão de todos controles negativos.

4. ANÁLISE DOS DADOS

4.1. Cálculo do índice sanguíneo

Para determinar a principal fonte alimentar de cada espécie foi determinado o índice de sangue humano (HBI), de acordo com a fórmula: $HBI = \frac{N^\circ \text{ de poços positivos para sangue humano}}{N^\circ \text{ de poços positivos para sangue (humano + animal)}}$.

4.2. Avaliação da capacidade vectorial

A avaliação da capacidade vectorial permite espessar o risco de transmissão ou a receptividade da malária numa determinada zona sendo ainda um indicador que pode ser usado para avaliação da eficácia dos métodos de control do vector (Molineaux et al., 1998).

A capacidade vectorial dos espécimes colhidos foi calculada de acordo com a equação de Molineaux et al., (1998):

$$C = \frac{ma^2p^n}{(-\log_e p)}$$

onde:

"C" - é capacidade vectorial

"ma"- densidade de vectores em relação ao homem, estimada a partir do número de picadas obtidas em colheitas nocturnas pelo método de isca humana. O número de picadas foi estimado usando dois indivíduos como isca, um localizado no interior e outro no exterior das habitações por noite e por indivíduo.

"a" - número de refeições sanguíneas tomadas sobre o homem por vector por dia.

(p) - probabilidade de sobrevivência diária

"n" - período de incubação de *Plasmodium* nos mosquitos *Anofelinos*, que é de 12 dias a uma temperatura ambiente média de 22°C (Macdonald, 1957).

A probabilidade de sobrevivência diária (p) foi estimada com base no índice de paridade de acordo com a equação de Macdonald (1957), na qual se assume que a probabilidade de sobrevivência diária em mosquitos fêmeas é independente da idade:

$$p = \sqrt[n]{p_1}$$

onde:

p - é a probabilidade de sobrevivência diária

p_1 - é o índice de paridade ou número de mosquitos parus pelo total dos dissecados.

" n " - é a duração do período de oviposição em dias, 3 determinado em insectario (Mendis, 1997 comunicação pessoal).

4.3. Análise estatística

A análise dos resultados foi feita usando o programa estatístico EPinfo 6.1. (ref?)

Foram tomadas em consideração as seguintes variáveis:

- Espécie Anofelina.
- Bairros.
- HBI (índice de sangue humano).
- ABI (índice de sangue animal).
- Capacidade vectorial.

Para analisar a [↗]existência de diferenças significativas nas preferências alimentares e na probabilidade de sobrevivência diária entre as espécies e os bairros de estudo foi usado o teste X^2 . Foram considerados significativos valores de p inferiores a 0.05.

5. RESULTADOS

Foram capturados 737 mosquitos anofelinos dos quais 53 machos, 59 fêmeas não alimentadas, 386 fêmeas recentemente alimentadas e 239 grávidos (tabela 1).

Do total de mosquitos capturados, 684 eram fêmeas, das quais 386 estavam recentemente alimentadas. A percentagem de mosquitos recentemente alimentados para *A. funestus* foi comparativamente idêntica nos dois bairros de estudo (tabela 1), sendo a diferença estatisticamente não significativa ($p > 0.05$).

Dos mosquitos recentemente alimentados, 339 foram testados por ELISA para identificação da fonte sanguínea, sendo 57 (6,8%) de *A. arabiensis* e 282 (83,2%) de *A. funestus*. Da amostra testada a fonte sanguínea foi identificada em 89,5% (51/57) e 90,1% (254/282) respectivamente (tabela 2).

Os resultados do ELISA, de acordo com a espécie, e por bairro de estudo estão ilustrados na Tabela 2. Em ambas áreas de estudo as fêmeas reagentes haviam se alimentado em apenas uma fonte sanguínea, sendo a maior fonte alimentar identificada a humana. Foram também identificadas fontes de sangue bovino e caprino. Nenhuma das amostras reagiu com anti-soro de galinha.

Os índices de sangue humano obtidos para *A. funestus* e *A. arabiensis* foram relativamente idênticos (tabela 3) sendo a diferença entre as espécies não significativa ($X^2 = 0.01$, $p = 0.52$ para Matola e $X^2 = 0.57$, $p = 0.22$ para Boane).

Para *A. funestus*, comparando os HBI por bairros, observou-se que na Matola o HBI foi maior (0.93) em relação a Boane (0.76), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($X^2 = 28.9$, $p = 0.0001$).

Tabela 1. Distribuição das amostras por espécie e por bairro de estudo.

Caracterizações mosquitos	Área de estudo					
	Matola - Junho 96			Boane - Junho 97		
	<i>A. arabiensis</i>		<i>A. funestus</i>	<i>A. arabiensis</i>		<i>A. funestus</i>
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Machos	13	12.4	31	7.4	1	3.96
Fêmeas não alimentadas	6	5.7	18	4.3	3	15.8
Fêmeas recentemente alimentadas	63	60.0	206	49.4	9	53.5
Grávidos	23	21.9	162	38.8	-	26.7
Total	105	100	417	100	13	~100

Tabela 2. Resultados do ELISA para avaliação do índice de sangue humano e animal nos vectores anofelinos.

Descrição das amostras	Matola		Boane	
	<i>A. arabiensis</i>	<i>A. funestus</i>	<i>A. arabiensis</i>	<i>A. funestus</i>
Colectados	105	417	13	202
Testados	48	176	9	106
Reagiram	46	166	5	88
Positivos humanos	43	159	4	67
Positivos Bovino	2	4	1	15
Positivo caprino	1	8	0	6

Os índices sanguíneos foram maiores para sangue humano em relação aos de sangue animal em ambas espécies e nos dois bairros (tabela 3).

Tabela 3: Índices sanguíneos dos mosquitos anofelinos da Matola e Boane

	Matola 1996		Boane 1997	
	<i>A. arabiensis</i>	<i>A. funestus</i>	<i>A. arabiensis</i>	<i>A. funestus</i>
HBI	0.93	0.96	0.8	0.76
ABI	0.065	0.072	0.2	0.24

Para avaliar a capacidade vectorial foram dissecados 540 mosquitos capturados durante colheitas nocturnas por isca humana. Os valores de probabilidade de sobrevivência para as duas espécies foram comparativamente idênticos para Matola "A" ($X^2 = 0.05$, $p = 0.83$) (tabela 4). Em Boane foram dissecados poucos *A. arabiensis* o que não permitiu comparar a probabilidade de sobrevivência das duas espécies.

Tabela 4. Probabilidade de sobrevivência dos vectores anofelinos.

Bairro	Período de tempo	<i>A. arabiensis</i>				<i>A. funestus</i>			
		Nº dissecados	Nº parus	p1	(P)	Nº dissecados	Nº parus	p1	(P)
Matola "A"	Maio 1996	67	30	0.45	0.73	60	28	0.47	0.76
	Junho 1996	68	37	0.54	0.78	130	65	0.50	0.79
Boane	Maio 1997	5	4	0.80	0.93	134	56	0.42	0.75
	Junho 1997	-	-	-	-	76	37	0.49	0.78

(P) : Probabilidade de sobrevivência diária (vêr cálculo no capítulo 4.2).

p1 : Proporção de mosquitos parus.

'-' : Não foram apanhados mosquitos neste período.

Observou-se uma redução do número de picadas por noite por homem (ma) em ambas espécies nos dois bairros, de Maio a Junho. Consequentemente a capacidade vectorial também reduziu-se neste período (tabela 5 e figura 2).

Tabela 5. Estimativa do capacidade vectorial dos anofelinos na Matola e Boane

		Picadas/ homen/ noith (ma)	Nº de refeições/ sanguineas/ homen/ vector/dia (a)	Probabilidade de sobrevivencia (P)	$1/(-\log_e P)$	Capacida de vectorial (Vc)	
Matola	<i>A. arabiensis</i>	Maio 96	3.62	0.31	0.0229	3.178	0.0080
		Junho 96	1.74	0.31	0.0507	4.025	0.0068
	<i>A. funestus</i>	Maio 96	2.45	0.32	0.0371	3.644	0.0080
		Junho 96	1.68	0.32	0.0591	4.242	0.0075
Boane	<i>A. arabiensis</i>	Maio 97	0.42	0.27	0.4186	13.779	0.0035
		Junho 97	0.17	0.27	0.4186	13.779	0.0014
	<i>A. funestus</i>	Maio 97	6.42	0.26	0.0317	3.476	0.0152
		Junho 97	4.72	0.26	0.0507	4.025	0.0154

Figura 2

Capacidade Vectorial dos Anofelinos da Matola e Boane

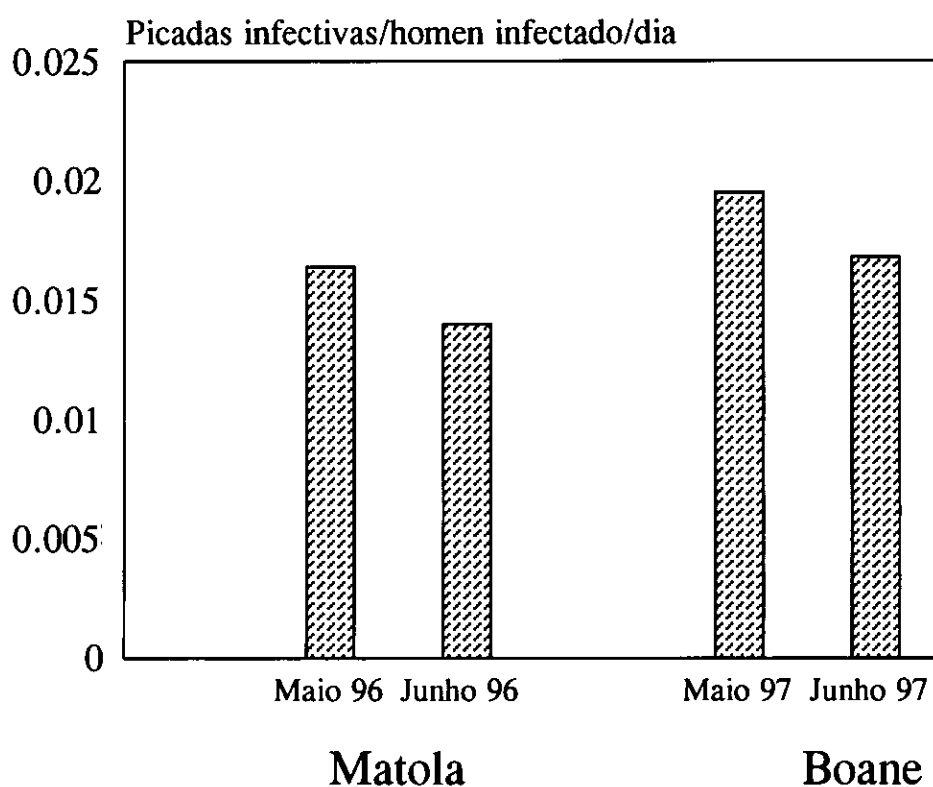


Figura 2. Capacidade vectorial de *A. arabiensis* e *A. funestus* em simultâneo nos bairros da Matola e Boane.

Capacidade vectorial (Cv) -
é a probabilidade de gerar picadas infectivas nos vectors por homens infectivos por dia.

Os valores de capacidade vectorial obtidos são baixos (inferiores a 1, tabela 5) comparativamente a resultados obtidos em outras regiões de endemecidade alta em África tais como a Nigéria e Tanzania com valores de "CV" que oscilam de 1-10 e de 1-20 picadas infectivas por homem infectado por dia respectivamente (Molineaux e Gramiccia, 1980 e Garrett-Jones e Shidrawi, 1969).

6. DISCUSSÃO

O índice de sangue humano (HBI) é uma variável essencial para conhecimento do grau actual de contacto vector-homem, ajuda a identificar a eficiência do vector (grau de zoofilia e antropofilia) e, permite determinar a capacidade vectorial ou índice de risco de transmissão da malária numa determinada zona e tempo. Variável importante para estratificação da zona ou do local para melhor controle do vector, o HBI pode também ser usado para avaliar qualquer tipo de controle antivectorial.

Para a determinação do HBI, até os anos 70, o programa de malária em Moçambique usava o teste de precipitina. No entanto este teste precisa de muito anti-soro, leva muito tempo e é menos sensível e específico em relação a outros métodos existentes actualmente tais como cristalização da hemoglobina, imunofluorescência e ELISA (Burkot et al., 1981 e Beier et al., 1988).

Neste estudo foi feita uma avaliação laboratorial da utilidade do teste de ELISA directo usando amostras de mosquitos colhidos em Moçambique. Os dados obtidos neste estudo concordam com resultados de Burkot et al., (1981), Beier et al., (1988) e Githeko et al., (1994) confirmando que o teste é uma alternativa prática e de fácil aplicação em rotina laboratorial. Entretanto, o uso de placas que devem ser exactas e semelhantes para todos os testes e reagentes difíceis de adquirir no mercado Nacional foram algumas das limitações registadas neste estudo.

Das amostras testadas, foram observados resultados positivos ao teste de ELISA directo em 89.5% para *A. arabiensis* e 90.1% para *A. funestus*. Não houve reacção em 10.5% e 9.9% respectivamente. A não reacção de alguns espécimes ao teste ELISA, pode ser explicada por uma provável degradação das Imunoglobulinas IgG presentes no sangue do mosquito durante o período de armazenamento ou ainda pela presença de antígenos de hospedeiros não testados.

Os resultados do ELISA revelaram que a preferência alimentar das duas espécies examinadas foi a humana, indicando uma natureza antropofágica primária destes anofelinos em ambos bairros. Contrariamente a marcada tendência zoofágica do *A. arabiensis* constatada por White (1974), neste estudo esta espécie mostrou ser antropofágica similarmente ao *A. funestus*. Este facto pode ser explicado pela fraca presença de animais de grande porte observada na área de estudo.

O índice de sangue humano foi elevado nas duas espécies e nos dois bairros comparativamente aos índices de sangue animal. Os baixos índices de sangue animal encontrados mostram que nesta área de estudo, não existe interferência de animais na capacidade vectorial dos mosquitos anofelinos estudados.

Os valores de HBI de *A. funestus* comparativamente elevados observados na Matola em relação a Boane, podem ser explicados pela diferente composição de animais domésticos principalmente os de grande porte observados nos dois bairros. Os animais mais frequentes nos dois bairros foram galinhas, patos, cabritos e bovinos, sendo a proporção dos bovinos maior em Boane. De facto, como observado por Kenawy *et al.*, (1990) a presença de animais de grande porte poderá exercer influência significativa no comportamento alimentar das espécies anofelinas.

A probabilidade de sobrevivência diária dá-nos a esperança de vida infectiva dos mosquitos numa população vector. Na Matola as duas espécies apresentaram aproximadamente os mesmos níveis de sobrevivência diária.

Este facto, juntamente com o de terem valores de índice de sangue humano aproximadamente iguais, indica que provávelmente as duas espécies contribuem similarmente para a transmissão da doença neste bairro. Contudo, esta suposição apresenta limitações, dado que o índice de paridade é influenciado pelo recrutamento e pela mortalidade actual dos mosquitos, que variam de acordo com a espécie.

No entanto em Boane não foi possível comparar a probabilidade de sobrevivência das duas espécies pois a quantidade de *A. arabiensis* foi insuficiente. Nesta área, no dado período a transmissão dos plasmódios é feita pelo *A. funestus* (Mendis et al., 1997). Por outro lado o *A. funestus* prefere reservatórios de água permanentes, ricos de plantações aquáticas e sombreadas enquanto que o *A. arabiensis* procria melhor em colecções de água temporárias com iluminação, o que faz com que este último sofra bastantes flutuações com a quantidade de precipitação (Gilles e Warrell, 1993).

O número de picadas por homem e por noite tende a reduzir no período entre Maio e Junho. Esta redução pode ser atribuída totalmente as condições ambientais, particularmente ao início da época seca ou diminuição das chuvas e conseqüente redução do número de criadouros. Dado o facto do número de picadas por homem por noite ser uma variável directamente proporcional a capacidade vectorial, os valores da capacidade vectorial observados neste estudo também tenderam a diminuir. Para além disso, os valores da capacidade vectorial são comparativamente baixos em relação aos obtidos em outras regiões altamente endémicas como Nigéria (Molineaux e Gramiccia, 1980) e Tanzania (Garrett-Jones e Shidrawi, 1969). Estes valores moderados indicam que o combate antivectorial poderá ser uma medida efectiva na redução da capacidade vectorial até valores mínimos desejáveis nas áreas estudadas.

7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Através deste estudo foi possível o estabelecimento da técnica de ELISA directo para a identificação da fonte sanguínea em mosquitos.

Os resultados do ELISA permitiram concluir que a principal fonte sanguínea dos mosquitos anofelinos da área de estudo é o sangue humano.

Os valores da probabilidade de sobrevivência diária e os de capacidade vectorial obtidos são neste estudo foram aproximadamente os mesmos para ambas as espécies na Matola. Assim pode-se concluir que as duas espécies contribuem de forma similar para a transmissão da malária neste bairro. No entanto, em Boane, a transmissão é feita principalmente por *A.funestus*, sendo a prevalência de *A.arabiensis* rara durante este período.

Nos dois bairros de estudo, verificou-se uma redução no índice de risco de transmissão da malária (capacidade vectorial) de Maio a Junho, que foi demonstrada pela redução do número de picadas por homem e por noite. Para além desta tendência de diminuição, os valores da capacidade vectorial encontrados neste estudo foram moderados quando comparados com dados obtidos em outras regiões com níveis de malária idênticos aos da área de estudo. Este facto sugere que medidas de combate antivectorial poderão ser efectivas na redução da capacidade vectorial nestas áreas.

Com base nestes resultados recomenda-se que o teste de ELISA para determinação do índice de sangue humano, seja incluído nos programas de controle dos vectores da malária, uma vez que este permite determinar o nível de contacto vector-homem permitindo uma melhor orientação das medidas de controle anti-vectorial.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beier, J. C., P. V. Perkins, R.A. Wirtiz, J. Koros, D. Tiggs, T. P. Gargan e D. K. Koech (1988). Bloodmeal identification by direct enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. J. Med. Entomol. 25: 9-16.
- Burkot T.R., W.C. Goodman e G.R. Defoliart (1981). Identification of mosquito blood meals by Enzima-linked immunosorbent assay. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 30(6): 1336-1341.
- Clements A. N. (1992). Mosquitoes: Life, Biology, Disease Transmission. In: The Biology of Mosquitos. pp IX-XII. London, Chapman & Hall.
- Cuamba, N., M. Dgedge, R. Thompson, B. Hogh e C. Mendis (1997). The role of *Anopheles gambiae* and *An.funestus* in Malaria transmission in Boane Maputo province, Mozambique. First Southern Africa Malaria Conference, May 1997. abstracts pp 30.
- Detinova, T.S. (1962). Age-grouping Methods in Diptera of Medical Importance. W.H.O. Monogr. Series no. 47 W.H.O. Geneva.
- Dgedge, M., C. Mendis, J. Lines, A. Gomes, A.C. Gamage-Mendis, E. Streat R.Thompson, S. Enosse, D. Paulo, N. Cuamba, e B. Hogh (1997). Socioeconomic factors of treated bednets implemented through the primary health care system in a semi-rural area of southern Mozambique. First Southern Africa Malaria Conference, May 1997. abstracts pp 33.
- Garrett-Jones, C. e G. R. Shidrawi (1969). Malaria vector capacity of a population of *Anopheles gambiae*. Bulletin of the World Health Organization, 40: 531-545.

Garret-Jones, C., P. F. L. Borehan e C. P. Pant (1980). Feeding habits of anophelines (Diptera: Culicidae) in 1971-78, with reference to the human blood index: a review. Bull. Ent. Res., 70: 165-185.

Giles, H. M. e D. A. Warrel. (1993). Bruce-Chwatt's Essential Malariology, third edition. London.

Gillies, M. T. (1988). Anopheline mosquitoes: vector behaviour and bionomics. In: Wernesdofer, W. H. e Sir I. Mcgregor. Malaria principles and practice of Malariology, volume 2. pp.453. London, Churchill livingstone.

Gilles, M. T. e B. De Meillon (1968). The Anophelinae of Africa South of Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). The Publication of the South African Institute for Medical Research. no 54. pp.341. Joannesburg.

Gilles, M. T. e M. Coetzee (1987). A supplement to the Anophelinae of África South of Sahara (Ethiopian Zoogeographical Region). The South African Institute for Medical Research. No. 55, pp.143. Johannsburg.

Githeko E.K. M.W. Service, C.M. Mbogo, F.K. Atieli e F.O. Juma (1994). Origin of blood meals in indoor and outdoor resting malaria vector in Western Kenya. Acta Tropica. 58(3-4): 307-316.

Kenawy, M. A., J. C. Beier, C. M. Asiago e S. El Said (1990). Factors affecting the human-feeding behavior of anopheline mosquitoes in Egyptian oases. Journal of the American Mosquito Control Association. 6(3): 447 - 451.

Knell, A. J. (1991). Malaria: A Publication of the tropical programme of the wellcome trust. pp.94. Oxford, University Press.

Loyola, E. G., M. H. Rodriguez, L. Gonzalez, J. I. Arredondo, D. N. Bown e M. A. Vaca (1990). Effect of indoor residual Spraying of DDT And Bendiocarb on the feeding Patterns of Anopheles Pseudopunctipennis in Mexico. J. Am Mosq Cont Ass. 6(1): 635-640.

Macdonald, G. (1957). The epidemiology and control of malaria. 201 pp. London, Oxford University Press.

Martinen^kKo, V. (1994). Malária em Moçambique. Direcção Nacional de Saude, Secção de Malaria (documento não publicado).

Mendis, C., B. Emilio, A.C. Gamage-Mendis, N. Cuamba, , R. Thompson, M. Dgedge, J. Barreto, R. Sinden e B. Hogh (1997). *Anopheles funestus*, the principal vector of highly focal malaria transmission in Matola, Mozambique. Submetido.

Molineaux, L. e G. Gramiccia (1980). The Garki project. Geneva, World Health Organization.

Molineaux, L., D. A. Muir, H. C. Spencer e W. H. Wernsdorfer (1988). The Epidemiology of malaria and its measurement. In: Wernsdorfer, W. H. e Sir I. Mcgregor. Malaria principles and practice of Malariology, volume 2. pp 999-1089. London, Churchill livingstone.

Onori E., P.F. Beales e H. M. Gilles (1993). From malaria eradication to malaria control: the past, the present and the future. In: Giles, H. M. e D. A. Warrel. Bruce-Chwatt's Essential Malariology, third edition. pp 267 - 281. London.

Petrarca, G. C. Carraca, M.A. Di Deco, e G. Pentrageli (1984) Osservazioni citogenetiche e biometriche sui membri decomplesso *Anopheles gambiae* in Mozambico. Parassitologia, 26:247-259.

~~Programa Nacional de malária. (Baptista, Comunicação pessoal 1997).~~

Rafatijah H. A. (1988). Malaria vector control: environmental management. In: Wernsdorfer, W. H. e Sir I. Mcgregor. Malaria principles and practice of Malariology, volume 2 .pp 1135-1173. London, Churchill livingstone.

Roitt, I. M. (1991). Essential Immunology, Seventh edition. pp. 356. Oxford, Blackwell Scientific Publications.

Roy, A., M. A. Ansari e V. P. Sharma (1991). Feeding Behavior Patterns of anophelines from Uttar Pradesh and Gujarat States of India. J. of the American Mosquito Control Association. 7(1): 11.

Savage, H. M., J. F. Ducan, D. R. Roberts e L. L. Sholdt (1991). A dipstic ELISA for rapid detection of human blood meals in mosquitoes. Journal of the American Mosquito Control Association 7(1): 16-23.

Service, M. W. (1977). A critical review of procedures for sampling population of adult mosquitoes. Bulletin of Entomological Research, 67: 343-382.

Service, M. W., A. Voller e D. E. Bidwell (1986). The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test for the identification of blood-meals of haematophagous insects. Bull. Ent. Res., 76:321-330.

Service, M. W. (1993). The Anopheles vector. In: Gilles, H. M. e D. A. Warrel. Essential Malariology, third edition. pp 96-123. London.

White, G. B. (1974). Anopheles gambiae complex and disease transmission in Africa. Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 68:278-295.

W.H.O. (1994). World malaria situation in 1990, part I. Weekly Epidemiological Record 69(42): 309-316.

W.H.O. (1996). World malaria situation in 1993, part IV. Weekly Epidemiological Record 6(71): 41-48.