

SAU-06

ESTUDOS DE PREFERÊNCIA ALIMENTAR DE FLEBOTOMÍNEOS (DIPTERA:PSYCHODIDAE: PHLEBOTOMINAE): 1. OTIMIZAÇÃO DO TESTE DE PRECIPITINA

Caetano Carloni Camargo⁽¹⁾, Antonia Maria R. Franco⁽²⁾, Liliane Coelho da Rocha Nery⁽³⁾,
⁽¹⁾ Bolsista PIBIC/CNPq, ⁽²⁾ Orientador CPCS/INPA, ⁽³⁾ Co-Orientador CPCS/INPA.

A cidade de Manaus é um dos municípios do Estado do Amazonas onde o número de casos humanos de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é considerado um dos mais elevados do Brasil. Em sua região e áreas próximas existe uma grande riqueza de espécies de flebotomíneos, muitos destes encontrados em fragmentos de floresta existentes na cidade de Manaus. Devido a grande incidência desta doença, este trabalho surgiu da necessidade de se conhecer a preferência alimentar dos flebotomíneos através de testes de precipitina realizados em fêmeas ingurgitadas. Para tal, torna-se necessário para este teste a produção de anti-soros (Ig totais) gênero/espécie específicos de diversos grupos de mamíferos, a serem obtidos em coelhos através da imunização com proteínas precipitadas de soros recolhidos de diferentes espécies de mamíferos que circulam na região. No processo de imunização foram utilizados dois coelhos para cada soro (Primata: *Homo sapiens*; Rodentia: *Proechimys guyanensis*, Carnívora: *Poto flavus*; Marsupialia: *Didelphis marsupialis*). Para a imunização dos animais os soros foram previamente precipitados com sulfato de amônio saturado, as proteínas quantificadas (método de Bradford) e o precipitado inoculado nos coelhos. No esquema de imunização, foram realizadas quatro injeções (a primeira intramuscular e as outras subcutâneas) com diferentes concentrações protéicas (total de 2,4 mg proteína/coelho). Nas duas primeiras doses utilizou-se adjuvante de Freund completo e incompleto, respectivamente. Durante a imunização foi coletado o sangue dos coelhos para testes de imunodifusão dupla radial a fim de observar o padrão de identidade da resposta imune nos animais imunizados. Após o período de imunização (39 dias) foi realizada sangria total, mediante punção cardíaca, e o soro estocado a -20°C. Seguiu-se a este processo a titulação dos anti-soros, verificação de reações cruzadas e por último um teste preliminar de preferência alimentar através de reação de precipitação. Os insetos utilizados no teste foram coletados em base de árvore no fragmento florestal da Universidade Federal do Amazonas e as fêmeas ingurgitadas foram identificadas utilizando-se a chave taxonômica de Young & Duncan (1994). Dez exemplares de *Lutzomyia umbratilis* foram triturados individualmente em tubos contendo 100µL de salina e deixados por 12 horas a 4°C. Posteriormente

centrifugados a 1800 rpm por cinco minutos. O eluato obtido foi testado em tubo de vidro capilar frente aos quatro anti-soros obtidos na imunização. A titulação obtida para cada um dos anti-soros foi: humano = 1: 10000, roedor = 1:10000, carnívoro = 1:5000 e marsupial = 1:5000. Não houve reatividade cruzada entre os anti-soros e soros não homólogos. Quanto ao resultado do teste de precipitina nenhum anti-soro reagiu com as proteínas do sangue dos insetos testados. No controle positivo onde os anti-soros foram testados com um composto formado por 1 μ L de soro homólogo+ 1 μ L de eluato+ 78 μ L de solução salina houve reação em todos os capilares. Em estudo realizado por Nery *et al.* (2003) na área do campus da UFAM verificou-se que *L. umbratilis* apresentou preferência alimentar por roedor seguido de preguiça, no entanto, os resultados negativos aqui apresentados para os 10 exemplares de flebotomíneos testados não exclui a eficácia do teste, apenas demonstra que estes não haviam realizado o repasto sanguíneo em animais relacionados aos anti-soros ensaiados. Sendo assim, é necessário ampliar o número de anti-soros de várias espécies da região, com o intuito de se obter um teste com maior disponibilidade de reações, além de, adequar o teste de precipitina (reação de precipitação) para métodos mais sensíveis, rápidos e que possibilitam realizar um número maior de testes, como as reações imunoenzimáticas (Enzyme Linked Immunosorbent Assay – ELISA).

Nery, L.C.R.; Lorosa, E. S.; Franco, A.M.R. 2004. Feeding Preference of the Sand Flies *Lutzomyia umbratilis* and *L. spathotrichia* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in an Urban Forest Patch in the City of Manaus, Amazonas, Brazil. *Mem. Inst Oswaldo Cruz*, 99(6): 571-574.

Young, D.G.; Duncan, M.A. 1994. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). *Memoirs of the American Entomological Institute*, nº 54, Associated Publishers, Gainesville, 881pp.