

REAÇÕES DA PRECIPITINA EM ALGUNS CULICIDAS (*)

POR JANDYRA P. DO AMARAL & ARACY A. AGUIAR

(Do Laboratório de Bacteriologia do Instituto Butantan e Serviço de Profilaxia da Malária,
S. Paulo, Brasil)

No estudo dos mosquitos hematófagos as provas de precipitina apresentam interesse, pois indicam a preferência, ou mesmo a exclusividade de certas espécies em sugar êste ou aquele animal, ou mesmo o homem, minúcias de importância para os trabalhos epidemiológicos em geral.

Nas pesquisas do serviço de malária este teste é usado com muita frequência pois selecionando as fêmeas que se alimentam de sangue humano estabelece a base para os estudos da transmissão e profilaxia da moléstia.

A técnica clássicamente usada, a que se encontra descrita em quase todos os trabalhos sobre o assunto, insiste sobre estes detalhes: "Selecionam-se somente fêmeas engorgitadas recentemente e com abdomen cheio e vermelho indicando terem se alimentado há pouco tempo. Os espécimens são capturados pela manhã evitando desta maneira o mais possível a digestão do sangue. Logo após a coleta cada espécimen é amassado em um papel de filtro, devidamente fichado, e enviado ao laboratório para que se processem as reações" (1).

Esta técnica tão simples a primeira vista apresenta algumas dificuldades para o nosso meio pois a mutilação do mosquito necessitando ser feita no momento da captura, as mais das vezes em lugares distante do laboratório central, traz como consequência prejuizo para certos estudos entomológicos que só poderão ser realizados nos laboratórios centrais. Tendo em vista esta questão, seria interessante a captura do mosquito nas zonas a estudar e a remessa íntegra dos mesmos ao laboratório central.

Tentando uma idéia sobre êste detalhe resolvemos verificar, se era possível a realização das provas de precipitinas com mosquitos conservados íntegros durante um prazo de tempo razoável para serem remetidos ao laboratório, mesmo se capturados à distância e desta maneira estudados sob outros aspectos antes de serem inutilizados para as provas.

Entregue para publicação em 23 de maio de 1950.

(*) Trabalho apresentado á Sociedade de Biologia, em reunião de 12-4-1950.

Verificamos ainda da possibilidade do mosquito ser conservado vivo durante um tempo mais ou menos longo após o repasto, sem prejudicar a positividade do teste, demonstrando a proteína humana mesmo depois de digerida.

Esta é a finalidade da presente comunicação.

Parte experimental:

Foram criados no laboratório (Serviço de Profilaxia da Malária; Laboratório de Entomologia) e alimentados com sangue humano exclusivamente, fêmeas de mosquitos que são mortas 12 horas após o repasto. Selecionam-se as engorgitadas.

Divididas em 20 lotes serviam para as provas de precipitinas em intervalos de tempo variáveis a saber: 12-24-48-72 horas — 10-20-30-35-40-45 dias e 3-4-5-6-7-8-9-10-11-12 meses.

Os mosquitos devidamente fichados foram conservados íntegros só sendo triturados no dia da prova em tubo com 0,5 cm³ de solução fisiológica. Este triturado depois de permanecer 1 hora à temperatura ambiente era passado em papel de filtro obtendo-se então um líquido absolutamente transparente.

As reações foram efetuadas em tubos de 0,5 x 4 cm com partes iguais do antígeno e do soro anti-humano (0,05 + 0,05).

O soro empregado foi preparado por nós (Laboratório de Bacteriologia do Instituto Butantan) em coelhos, aos quais foram injetados por via endovenosa uma média de 18 cm³ de soro humano em 10 injeções, iniciando-se com 0,1 e terminando-se com 4 cm³ e intervaladas de 3 dias. O menor título de soro aproveitado foi de 1:20.000.

O soro era colocado na parte inferior do tudo e o antígeno cuidadosamente escorrido pelas paredes do mesmo de maneira a se formar uma zona de união e na qual se verifica a formação de anel leitoso indicando a positividade da reação. As leituras foram feitas entre 5 e 10 minutos e para as reações positivas já com 5 minutos dá-se o aparecimento de anel bem nítido que se acentua até 10 minutos. Em alguns casos os tubos foram levados à estufa a 37° até 20'; em alguns tubos verifica-se a intensificação do anel, mas julgamos esta etapa absolutamente óbvia pois as leituras podem ser feitas com toda a segurança até 10 minutos. O quadro No. 1 especifica os resultados obtidos:

Pela verificação do quadro No. 1 nota-se que até 1 ano (o máximo tempo examinado) é possível se conservar o mosquito íntegro sem afetar a positividade da reação que para todos os casos se mostrou absolutamente típica e de fácil leitura.

QUADRO 1

Reações de precipitinas em mosquitos mortos 12 horas após o repasto (sangue humano) e triturados no momento da prova.

Mosquitos examinados depois de	N.ºs de exemplares	Leitura da reação		
		5'	10'	Estufa 37º 20'
12 horas	15	4+11+++	15++	
24 horas	8	3+5++	5++3+++	
48 horas	8	3+5++	3++5+++	
72 horas	10	10+++		
10 dias	10	1++9+++	1++9+++	
20 dias	4	1++3+++	1++3+++	
30 dias	12	1++11+++	12+++	
35 dias	7	1++6+++	1++6+++	
40 dias	10	2++8+++	1++9+++	
45 dias	10	1+3++6+++	2++8+++	
2 meses	12	1+2++9+++	1+2++9+++	
3 meses	10	4+6++	4+6++	3+5++2+++
4 meses	15	15+	10+5++	9+6++
5 meses	14	13+1++	11+3++	11++3+++
6 meses	30	29+1++	19+11++	3+23++4+++
7 meses	25	19+6++	11+14++	3+16++6+++
8 meses	10	7+3++	7++	1+8++1+++
9 meses	29	22+7++	2++9++	16+8++4+++
10 meses	16	16+	16+	14+2++
11 meses	14	14+	14+	1+8++5+++
12 meses	45	37+8++	35+10++	20+21++4+++
Total exs.	314			
Total exs. positivos ..	314			

Legenda + = anel pouco intenso
 ++ = anel intenso
 +++ = anel muito intenso

O segundo aspecto da questão estudada foi se o mosquito conservado vivo por tempo maior que 12 horas após o repasto, poderia revelar a proteína humana em seu organismo, mesmo após a digestão do sangue ingerido.

Mosquitos alimentados exatamente como para o primeiro lote foram sacrificados após 24-36-48-64 horas e 3 dias após o repasto e as reações feitas pela mesma técnica citada. O quadro No. 2 mostra os resultados encontrados:

Examinando-se o quadro N.º 2 chega-se à conclusão que ainda com 3 dias após a alimentação (máximo de tempo de verificação) a proteína humana é revelada pelos testes. Devemos porém chamar a atenção que nesta segunda série de reações, isto é, com mosquitos mortos 24 horas ou mais, após o repasto, aparece com frequência, uma turvação na parte líquida superior ao anel, turvação esta que não foi notada em nenhuma das reações do primeiro lote de mosquitos mortos 12 horas depois de terem sido alimentados.

QUADRO 2

Trestes de precipitina realizados para mosquitos alimentados com sangue humano e mortos em tempos variáveis

Tempo de vida aós o repasto	N.º de exemplares	Leitura da reação		
		5'	10'	Estufa 37° 20
24 horas	48	40+6+++2++++	35+10+++3+++	20+19+++9+++
36 horas	24	9+15++	9+15++	5+15+++4+++
48 horas	22	18+3+++1+++	18+3+++1+++	12+8+++2+++
64 horas	5	3+2++	3+2++	1+2+++3+++
3 dias	11	11+	11+	5+++3+++
Total exs.	110			
Total exs. positivos ..	110			

Esta turvação não prejudica a leitura dos testes pois o anel é bem nítido como se poderá verificar pela fotografia em anexo.

Frizamos porém esta observação, que poderá trazer dúvidas ao técnico pouco acostumado às leituras. Não podemos discutir do carácter da mesma, deixando sómente assinalado o fato.

RESUMO E CONCLUSÕES

1) Trabalhando com mosquitos criados no laboratório e alimentados com sangue humano conclue-se que os testes de precipitina podem ser feitos com mosquitos mortos 12 horas após o repasto e conservados secos e íntegros até 1 ano (o maior tempo de verificação).

2) As reações, absolutamente típicas, são lidas com facilidade já com 5 minutos.

3) Com aumento de tempo de vida do mosquito após o repasto (24 horas até 3 dias), as reações ainda se mostram nítidas, aparecendo porém uma zona de turvação na parte superior do anel.

ABSTRACT

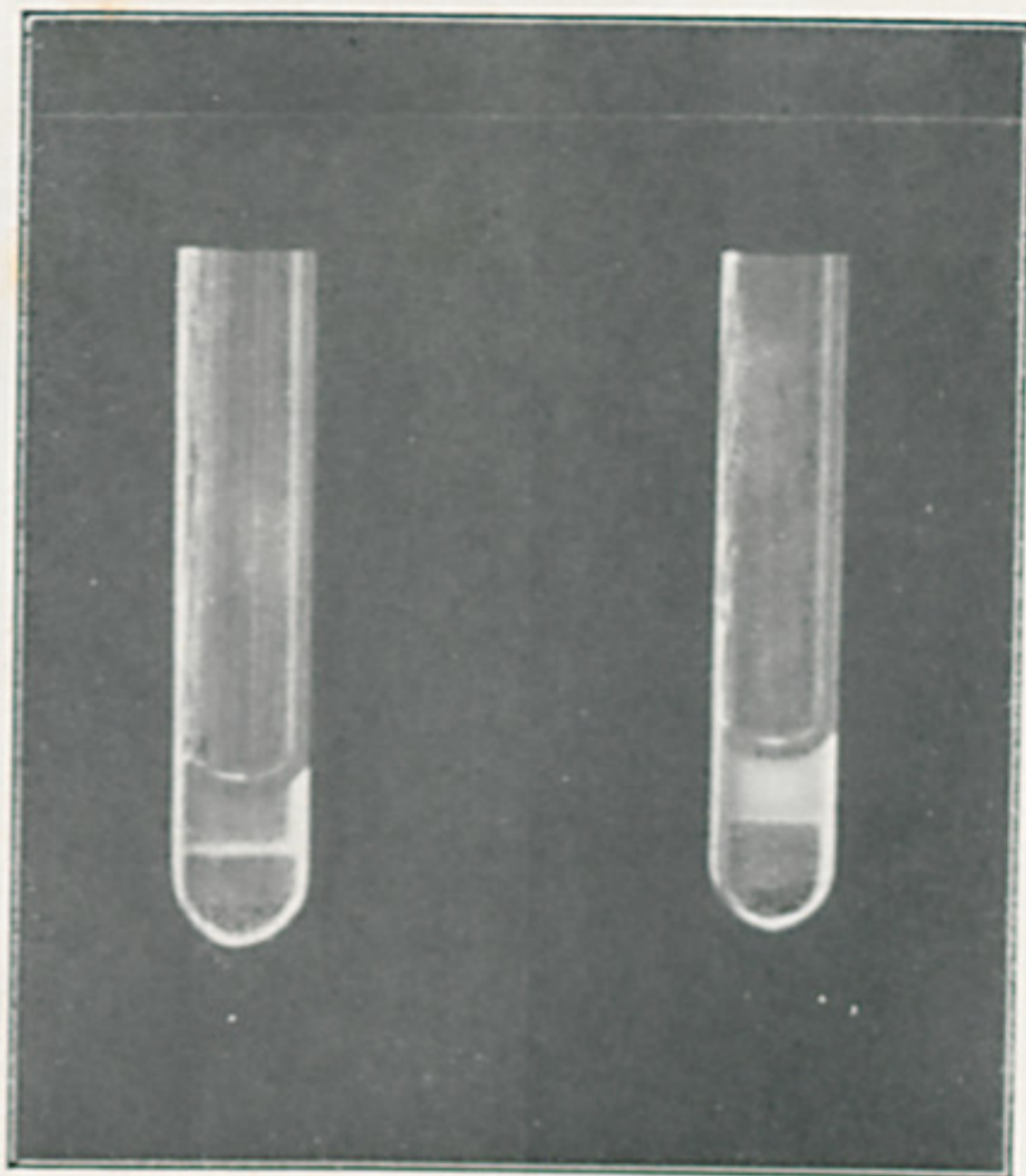
In laboratory bred mosquitoes, fed with human blood, the precipitin tests are positive in samples killed 12 hours after feeding and preserved in dried state one year (the largest period observed in the present work).

Typical reactions are easily read within 5 minutes.

Mosquitoes killed 24 hours to 3 days after the blood meal still show clear out reactions, though presenting a zone of turbidity on the upper part of the ring.

BIBLIOGRAFIA

1. *Arnold, E. H.; Simons, S. H. and Fancett, D. G. — Public Health Reports 61:1244, 1946.*
2. *Lloyd, R. B.; Napier, L. E. and Smith, R. O. A. — Indian Journal of Medical Research 12:811, 1924.*
3. *Ferreira, F. Cruz e Ferreira, T. — An. Med. Trop. 1:289, 1943-44.*
4. *Raynal, J. — Bull. Soc. Path. Exotique 29:56, 1936.*



Tubo 1 — Reação típica para tests de pricipitina em mosquitos mortos 12 horas após o repasto e conservados secos e integros até um ano.

Tubo 2 — Reação onde se nota uma zona de turvação acima do anel, que aparece com o aumento de vida do mosquito após o repasto.



★ Impreso na ★
EMPRESA GRÁFICA DA
"REVISTA DOS TRIBUNAIS" LTDA.
★ São Paulo. ★