UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

Investigação de fontes alimentares de culicídeos coletados
em parques municipais de São Paulo pela técnica de
Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Gabriela Cristina de Carvalho

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Saúde Pública para
obtenção do título de Mestra
em Ciências.

Área de Concentração:
Epidemiologia.

Orientador: Dr. Mauro
Toledo Marrelli.

São Paulo

2013

Investigação de fontes alimentares de culicídeos coletados em parques municipais de São Paulo pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Gabriela Cristina de Carvalho

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Saúde Pública para
obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Área de Concentração:
Epidemiologia.

Orientador: Dr. Mauro
Toledo Marrelli.

São Paulo

2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da tese/dissertação.

DEDICATÓRIA

A meu namorado e melhor amigo

Leandro Ucela Alves por todo

apoio, carinho, atenção e amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todos os momentos.

Ao Professor Dr. **Mauro Toledo Marrelli** pela amizade, orientação e confiança.

Aos Doutores **Paulo Roberto Urbinatti** e **Walter Ceretti Junior**, pela amizade, companheirismo e ensinamentos tanto acadêmicos como para a vida, desde a época da FUNDAP.

Ao Professor **Délsio Natal**, pelas contribuições no período de exame de qualificação, bem como pelas excelentes aulas ministradas e a amizade construída.

A Doutora **Rosely dos Santos Malafronte** e à Mestre **Lícia Natal Fernandes**, pelas fundamentais contribuições para a realização desse trabalho, bem como a paciência e amizade nascida durante as etapas de bancada no laboratório.

A Doutora **Ana Maria Duarte Ribeiro**, pelas excelentes contribuições á esse trabalho, desde o período da qualificação, pré-banca e defesa.

A Doutora **Marcia Bicudo de Paula**, pelas contribuições dadas á esse trabalho no período de pré-banca e defesa, além da enorme paciência em me ensinar a identificar as fêmeas de mosquitos, assim como ao senhor **Aristides Fernandes**, o meu muito obrigada!

Agradeço enormemente as contribuições do Doutor **Andrey Andrade** pelo auxílio em analisar e discutir meu trabalho, incrementando-o com ideias e críticas construtivas, assim como a amizade construída.

Aos meus amigos de aulas do departamento de Epidemiologia ingressos em 2011, pela amizade, por alegrar os momentos tensos e difíceis, em especial a **Denise Cristina Sant'Anna**, **Érika Flauzino**, **Lilian Dias Orico**, **Márcia Taiul**, **Naiá Ortelan** e **Silvania Caribé Andrade**, pelo companheirismo em todas as horas e ocasiões.

Aos meus amigos de laboratório, **Antônio Ralph Medeiros de Souza**, **Claudia Scinachi**, **Daniel Pagotto Vendrami**, **Marcio Lage** e **Marco Marchi**, pelas horas de descontração, pela amizade e alegria constante, pelo auxílio, compreensão e encorajamento sempre!

As amigas **Natasha França** e **Fernanda Maria Braga de Mello** pela amizade construída, as divertidas histórias de bandeirão e de noites do pijama!

As minhas florzinhas do Laboratório de Protozoologia IMT-USP, **Karina Sant'Anna** e **Lívia Rocha**, pela amizade, apoio e auxílio durante as etapas de

PCR e géis, sem contar nos inúmeros momentos divertidos e legais no laboratório e fora dele!

A todas as pessoas da equipe do **Centro de Controle de Zoonoses (CCZ)** e da equipe do **Depave-03** pela colaboração nas coletas

Ressalto aqui também, meu agradecimento a Doutora **Carmen Beatriz Taipelagos da Costa**, que desde a época da graduação sempre me incentivou a seguir os caminhos da Entomologia Médica, o meu imenso obrigada!

A meus pais **Sandra** e **Wagner**, e ao meu irmão **Anderson** pelo apoio e presença constante em minha formação profissional e como pessoa.

A minha avó **Maria Vitória da Matta**, a qual é um dos meus maiores exemplos de como ser uma grande pessoa, e a quem sempre me apoiou, vibrou e me ilumina rumo às minhas conquistas.

Ao meu namorado e melhor amigo **Leandro Ucela Alves**, por sua atenção, companheirismo, paciência, por sorrir e chorar comigo em todas as etapas, além do encorajamento sempre!

A **Faculdade de Saúde Pública** e ao **Instituto de Medicina Tropical**, representando todos os professores, alunos e funcionários que conviveram comigo durante um longo período de tempo.

A **CAPES** e a **FAPESP** pela bolsa de pós-graduação e por financiarem os recursos necessários para a pesquisa.

Enfim, a todos os mencionados ou não, que ajudaram e contribuíram para a realização desse trabalho, seja de forma a dar ideias, a conversar sobre PCR's, ou nos momentos de descontração, aqui fica o meu imenso e sincero muito obrigada !

Um beijo a todos e obrigada por tudo!

O Mosquito Escreve

O mosquito pernívelongo
trança as pernas, faz um M,
depois treme, treme, treme,
faz um O bastante oblongo,
faz um S.

O mosquito sobe e desce.
Com artes que ninguém vê,
faz um Q,

faz um U, e faz um I.
Este mosquito esquisito
cruza as patas, faz um T.

E aí,
se arredonda e faz outro O,
mais bonito.

Oh!
Já não é analfabeto,
esse inseto,
pois sabe escrever seu nome.

Mas depois vai procurar
alguém que possa picar,
pois escrever cansa,
não é, criança?
E ele está com muita fome.

Cecília Meireles. Poesias Completas. Rio de Janeiro

Editora Nova Aguillar, 1994.

CARVALHO, G. C. Investigação de fontes alimentares de culicídeos coletados em parques municipais de São Paulo pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). São Paulo, 2013. [Dissertação de Mestrado-Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo–FSP/USP]

RESUMO

O estudo das fontes alimentares em culicídeos possui evidentes significados ecológicos e epidemiológicos, pois auxilia na identificação de animais possivelmente envolvidos na manutenção de surtos epidêmicos das doenças transmitidas por vetores, oferecendo informações para a indicação de potenciais reservatórios de patógenos. Entre os métodos utilizados para avaliar o possível grau de atração exercido por certas fontes de alimentação em relação às fêmeas de culicídeos, a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) se destaca como sendo uma das técnicas mais eficientes na detecção de repastos sanguíneos devido à alta sensibilidade e especificidade. O objetivo desse estudo foi descrever o perfil alimentar das fêmeas de culicídeos capturadas nos parques Alfredo Volpi, Anhanguera, Carmo, Chico Mendes, Ibirapuera, Santo Dias e Shangrilá, situados na cidade de São Paulo, investigando possíveis associações entre as espécies de mosquitos e suas respectivas fontes alimentares, analisando assim o comportamento no âmbito alimentar dessas espécies em diferentes localidades da cidade, durante os meses de Fevereiro de 2011 à Fevereiro de 2012. A identificação do repasto sanguíneo foi realizada por meio da técnica de PCR para os seguintes hospedeiros: aves, cães, gatos, humanos, primatas (não humanos) e roedores em 510 fêmeas ingurgitadas distribuídas em 14 espécies capturadas pelas técnicas de aspiração, CDC copa, CDC solo e armadilha de Shannon. Dos vertebrados, apenas o hospedeiro gato não foi encontrado como sendo fonte de repasto, as demais têm sido utilizadas como fontes de alimentação para os culicídeos nos parques estudados. Baseando-se em testes estatísticos não se encontrou nenhuma tendência de associação entre as espécies de culicídeos capturadas ingurgitadas e as fontes utilizadas para repasto, evidenciando assim, padrões aleatórios por parte dos mosquitos em se alimentarem de fontes sanguíneas mais abundantes ou mais fáceis de serem abordadas, reforçando a característica oportunista das fêmeas de culicídeos em busca das suas fontes de alimentação sanguíneas. Sendo de fundamental importância tais informações em contexto epidemiológico, afim de, identificar novos possíveis hospedeiros e reservatórios de patógenos em cadeias de transmissão de doenças transmitidas por culicídeos.

Palavras-chave: Repasto alimentar, culicídeos, hospedeiros, PCR, epidemiologia.

CARVALHO, G C. Investigation of blood meal sources of mosquitoes collected in Municipal Parks of São Paulo, by Polymerase Chain Reaction (PCR) technique. São Paulo, 2013. [Dissertação de Mestrado- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo–FSP/USP]

ABSTRACT

The study of the blood meal sources in culicids has evident ecological and epidemiologic meanings, because assists in the identification the possible animals involved in maintenance of epidemic outbreaks of the vector-borne diseases, offering information to indicate the potential pathogen reservoirs. Among the methods used to evaluate the possible degree of attraction exercised by certain source of meals relative to culicid females, the Polymerase Chain Reaction (PCR) stands out, because it is a more efficient technique in blood meals detected, due to the high sensitivity and specificity. The aim of this study was to describe the food profile of culicid females captured in the Alfredo Volpi, Anhanguera, Carmo, Chico Mendes, Ibirapuera, Santo Dias and Shangrilá parks, located in São Paulo city, investigating possible associations between mosquito species and their blood meal sources, analyzing the feeding behavior of these species in different localities of city, during the months February 2011 and February 2012. The identification of blood meals was realized by PCR technique for the following vertebrate hosts: avian, dogs, cats, humans, primates (non-human) and rodents in 510 engorged females distributed in 14 species captured by aspirator technique, cup CDC, soil CDC and Shannon trap. Of vertebrates, only cats were not found as source of meal, while the others have been used as blood meals for mosquitoes in the parks. Based in statistical tests, there was no trend of association between culicid engorged species captured and sources of meals, thus evidencing random patterns of mosquitoes to feed on blood meal sources more abundant or easiest to be addressed, reinforcing the opportunistic characteristic of the mosquito females in searching blood meals. Being of fundamental importance such information in epidemiological context, in order to identify new hosts and pathogen reservoirs in chains of transmission of vector borne diseases.

Descriptors: Blood meals, culicids, hosts, PCR, epidemiology.

ÍNDICE

1 Introdução	11
1.1 Culicídeos e a urbanização	12
1.1.1 Os parques municipais inseridos na cidade de São Paulo	14
1.2 Culicídeos e a investigação do hábito alimentar	17
1.3 Alimentação e metabolismo das fêmeas adultas de mosquitos	19
1.4 Idade cronológica e idade fisiológica	21
1.5 Determinação da fonte alimentar de insetos hematófagos	21
2 Objetivos	24
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3 Material e Métodos	25
3.1 Local de estudo	25
3.1.1 Caracterização dos parques estudados	27
3.2 Coleta de culicídeos	33
3.2.1 Técnicas de capturas e identificação morfológica dos espécimes	34
3.3 Extração de DNA em fêmeas ingurgitadas	36
3.3.1 Reação em Cadeia da Polimerase	37
3.4 Eletroforese em gel de agarose	39
3.5 Análise estatística	40
3.5.1 Teste de qui-quadrado	40
3.5.2 Análise de Cluster	41
4 Resultados	43
4.1 Parque Alfredo Volpi	44
4.2 Parque Anhanguera	46
4.3 Parque do Carmo	49
4.4 Parque Chico Mendes	51
4.5 Parque Ibirapuera	53
4.6 Parque Santo Dias	56
4.7 Parque Shangrilá	58
4.8 Todos os parques estudados	61
5 Discussão	66
6 Conclusões finais	82
7 Referencias	84
Anexos	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagem de satélite mostrando os sete fragmentos de área verde	26
Figura 2: Município de São Paulo com a indicação dos setes parques estudado	26
Figura 3: Trilha inserida na Alameda do Parque Alfredo Volpi	27
Figura 4: Área de recreação próxima à administração no Parque Anhanguera	28
Figura 5: Lago represado no Parque do Carmo	29
Figura 6: Trilha em meio à mata no Parque Chico Mendes	30
Figura 7: Alameda central no Parque Ibirapuera	31
Figura 8: Trilha inserida na mata do Parque Santo Dias	32
Figura 9: Vegetação existente no Parque Shangrilá	33
Figura 10: Técnicas utilizadas para captura dos culicídeos	35
Figura 11: Aparência externa do abdome de fêmeas ingurgitadas	36
Figura 12: Esquematização da leitura do Cluster	42
Figura 13: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de captura para o parque Alfredo Volpi	45
Figura 14: Cluster para o Parque Alfredo Volpi	45
Figura 15: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de captura para o parque Anhanguera	46
Figura 16: Cluster para o Parque Anhanguera	47
Figura 17: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de captura para o parque do Carmo	49
Figura 18: Cluster para o Parque do Carmo	50
Figura 19: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de captura para o parque Chico Mendes	51
Figura 20: Cluster para o Parque Chico Mendes	52
Figura 21: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de captura para o parque Ibirapuera	54
Figura 22: Cluster para o Parque Ibirapuera	54
Figura 23: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de captura para o parque Santo Dias	56
Figura 24: Cluster para o Parque Santo Dias	57
Figura 25: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de captura para o parque Shangrilá	58
Figura 26: Cluster para o Parque Shangrilá	59
Figura 27: Contribuição de cada parque e de cada técnica de captura em relação à quantidade de ingurgitadas	61
Figura 28: Distribuição da frequência das espécies de culicídeos durante o período de estudo	62
Figura 29: Distribuição da frequência dos hospedeiros fontes de alimentação durante o período estudado	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ordem específica dos grupos de <i>primers</i> e espécies usadas em identificação do repasto alimentar	38
Tabela 2: Reagentes utilizados na PCR para identificação do repasto alimentar de culicídeos (25 µl).	39
Tabela 3: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Anhanguera	48
Tabela 4: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Chico Mendes.	53
Tabela 5: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Ibirapuera	55
Tabela 6: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Santo Dias.	58
Tabela 7: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Shangrilá.	60
Tabela 8: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas nos parques estudados	64

1 INTRODUÇÃO

Até o início do século XIX, os mosquitos foram encarados apenas como seres desagradáveis. Porém, desde os séculos XVII e XVIII, a sua existência mereceu atenção por ser comumente encontrada no ambiente humano. A partir do século XIX foram levantadas as primeiras hipóteses sobre o papel desses insetos como transmissores de doenças. Assim, o papel epidemiológico dos culicídeos como vetores biológicos teria sua primeira comprovação com as observações de Manson, em 1877 na China, quando descobriu o crescimento e desenvolvimento de vermes nematóides de *Wuchereria bancrofti* no interior de mosquitos fêmeas que haviam realizado repasto sanguíneo em seres humanos infectados, caracterizando assim a filariose bancroftiana, como uma doença a qual o patógeno é veiculado por mosquitos do gênero *Culex*. Com isso, teve-se o nascimento, como ciência, da entomologia médica (CLEMENTS, 1992 ; FORATTINI, 2002).

Os culicídeos são insetos pertencentes à ordem Diptera, sub-ordem Nematocera, família Culicidae, conhecidos também como mosquitos, pernilongos, muriçocas ou carapanãs. Os adultos são alados, possuem pernas e antenas longas, enquanto que as fases imaturas são aquáticas (SOUTO & PIMENTEL, 2005).

Atualmente, reconhece-se a existência de cerca de 3600 espécies de mosquitos, as quais se acham distribuídas por aproximadamente 40 gêneros (SOUTO & PIMENTEL, 2005).

A ampla diversidade desse táxon sugere alta adaptabilidade das espécies aos diferentes ambientes, desde florestas até áreas urbanizadas.

Muitos estudos trazem fatores contribuintes ao conhecimento de mosquitos no Brasil, um exemplo é o de FORATTINI et al. (1986a) que relacionam seus hábitos com o desmatamento. FALAVIGNA- GUILHERME et al. (2005) relacionam os hábitos com a formação de açudes para fins de geração de energia. Há ainda, de acordo com estudos de TADEI et al. (1998), TADEI & TATCHER (2000), CASTRO et al. (2006), e de VITTOR et al. (2006), relações entre a forma de utilização do espaço pelo homem e a adaptação dos vetores, destacando minerações, rodovias e os processos de urbanização.

1.1 Culicídeos e a urbanização

Nos últimos 50 anos, o Brasil apresentou intensas modificações em relação ao seu estabelecimento de moradia. Como consequência da alta migração da população de ambientes rurais para aglomerados urbanos houve alterações no espectro de doenças, tais como a redução de endemias rurais e o aumento da frequência de agravos das sociedades modernas. Esses problemas incluem cardiopatias, neoplasias, problemas secundários à poluição, acidentes e violência, podendo também destacar doenças cujos agentes etiológicos são veiculados por vetores biológicos (CHAIMOWICZ, 1997).

A crescente urbanização devido à expansão das cidades, geralmente com sérios problemas de planejamento e saneamento, tem gerado grande influência sobre a domiciliação de insetos evidenciando o caráter eclético da maior parte dos artrópodes. Eles podem adaptar-se ao ambiente urbano, dispersando-se, tornando-se pragas, provocando incômodos ou transmitindo agentes causadores de doença (TAIPE-LAGOS & NATAL, 2003).

De acordo com NEVES (2005), o crescimento das áreas urbanas e a consequente diminuição das áreas de mata preservada fortalecem a sinantropia de diversas espécies de insetos, inclusive os culicídeos, os quais são animais de fácil adaptação e de grande variabilidade genética, o que auxilia na dispersão por diferentes regiões.

As alterações causadas pela ação do homem no ambiente natural tende a gerar um ecossistema artificial, o qual pode ser enriquecido por novas introduções, como de animais sinantrópicos, a qual possui grande proximidade e interação com o homem (URBINATTI et al., 2001).

Destacando as doenças urbanas, tem-se a febre amarela, tendo como agente o vírus amarílico, que circulava nas cidades até a década de 40 do último século e refugiou-se na floresta em outros reservatórios. Seu vetor urbano *Aedes aegypti*, considerado erradicado na época, voltou a se dispersar pelas cidades passando a veicular o vírus da dengue a partir dos anos 80, representando hoje, no Brasil, grande desafio para a Saúde Pública (MONDET et al., 1996, MONDET, 2001, LOURENÇO-DE-OLIVEIRA et al., 2004). Outra doença de destaque é a filariose, que traz a *Wuchereria bancrofti* como seu agente etiológico, sendo esse verme veiculado pelo mosquito *Culex quinquefasciatus*, o qual está associado às águas residuais poluídas por matéria orgânica, o mesmo é referido como um fator de incômodo à população das grandes cidades na atualidade, como no caso da cidade de São Paulo (NATAL et al., 1991, LAPORTA et al., 2006, MORAIS et al., 2006).

Ao se refletir sobre tais situações, fica patente a importância da Entomologia Médica Urbana. São necessárias, na atualidade, pesquisas sobre vetores que se concentrem no ambiente urbano e focalizem espécies

relacionadas à transmissão de patógenos. Ainda que possa se contar com estudos produzidos a respeito de mosquitos exóticos como *Aedes aegypti*, *Aedes scapularis* e *Culex quinquefasciatus*, pouco se conhece sobre culicídeos urbanos autóctones no Brasil (TAIPE-LAGOS & NATAL, 2003).

1.1.1 Os parques municipais inseridos na cidade de São Paulo

A cidade de São Paulo tem atualmente a população estimada em 11,2 milhões de habitantes. Ao se considerar os municípios que compõem a Grande São Paulo, sua população alcança a cifra de 20,5 milhões de habitantes nesta metrópole (IBGE, 2011).

Em São Paulo há parques municipais que preservam resquícios da vegetação original, comportam lagos e servem de abrigo para aves e mamíferos. Esses pontos são visitados continuamente pela população como ambientes de lazer (MEDEIROS et al., 2013). Estes parques, “ilhas verdes”, inseridas na metrópole têm condições de manter populações de algumas espécies de mosquitos e servem de refúgio para espécies exóticas que infestam as áreas densamente habitadas da malha urbana como o *Aedes aegypti* e o *Culex quinquefasciatus* (NATAL et al., 1991).

Devido à pressão cada vez mais intensa do homem sobre os ambientes naturais, há um crescente risco de contato com agentes patogênicos provenientes desses meios. As arboviroses estão entre os agravos que mais ameaçam as áreas urbanas, como o ocorrido no passado com a febre amarela urbana e com a dengue no presente (PEREIRA et al., 2001). O vírus do Nilo Ocidental (VNO) emergiu nos Estados Unidos da América em 1999,

apresentando casos em humanos em áreas densamente povoadas no Estado de Nova Iorque. A partir daí, dispersou-se por todo o território americano e, para o norte em direção ao Canadá e ao sul para a América Central (NATAL & UENO, 2004). Foram registrados surtos da doença por esse vírus em cavalos na Argentina (MORALES et al., 2006) e na Colômbia (MATTAR et al., 2005), indicando a possibilidade do vírus se dispersar para o território brasileiro.

A preocupação com arboviroses emergentes e sua circulação em ambiente antrópico, juntamente com o papel desempenhado por mosquitos na veiculação destes agentes, justificam o desenvolvimento de estudos sobre a fauna de culicídeos associada às áreas verdes utilizadas para lazer no interior da malha urbana. Reforça-se que a Mata Atlântica brasileira, região onde está inserida a cidade de São Paulo, é incluída entre os 25 “hotspots” do planeta, locais que devem ser prioritariamente investigados (MYERS et al., 2000).

Apesar dos poucos estudos feitos sobre a fauna de mosquitos da cidade de São Paulo, trabalhos em áreas periféricas indicam abundância destes em parques (NATAL et al., 1991).

Estudos feitos no Parque Ecológico do Tietê mostram que a partir de 53.496 exemplares coletados identificou-se 25 espécies, destacando-se *Aedes scapularis*, *Culex quinquefasciatus* e *Culex declarator* (TAIPE-LAGOS & NATAL, 2003). Estudos nos contornos urbanos na Serra da Cantareira identificaram 11 gêneros comportando 21 espécies (MONTES, 2005).

Como a problemática da proliferação do *Culex quinquefasciatus* nas águas ricas em material orgânico, como as águas do Rio Pinheiros, há um sério problema a ser enfrentado por órgãos responsáveis pelo controle (Centro de Zoonoses da Prefeitura de São Paulo-CCZ). Muitos estudos investigativos

estão voltados a essa espécie (NATAL et al., 2004 LAPORTA et al., 2006, MORAIS et al., 2006,).

Pesquisas da década de 1970 sobre mosquitos *Culex* na cidade de São Paulo, coletados em oito pontos que representam áreas distintas do município constataram, além de *Culex quinquefasciatus*, as seguintes espécies: *Culex chidesteri*, *Culex dolosus* e *Culex bidens* (FORATTINI et al., 1973). Atualmente, de acordo com dados não publicados do CCZ, nas rotinas de vigilância de culicídeos em vários pontos da cidade, contatou-se a presença de outras espécies, além dos conhecidos mosquitos urbanos exóticos, sendo identificadas por esse serviço: *Aedes fluviatilis*, *Aedes scapularis*, *Culex bidens*, *Culex chidesteri*, *Culex lygrus*, *Coquillettidia venezuelensis*, *Anopheles evansae*, *Mansonia* spp. e *Uranotaenia* spp. Esses registros de serviços nunca foram analisados sob o ponto de vista epidemiológico ou ecológico, mas sugerem que os mosquitos tenham subsistido ao processo de urbanização na Grande São Paulo.

Segundo o site da Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, o programa “100 Parques para São Paulo”, lançado em 2008, fez um levantamento das áreas a serem transformadas em parques em diversas regiões da cidade. A cidade apresentava 34 parques em 2005 (15 milhões de m² de área protegida municipal), passando para 60 parques em 2009 (24 milhões de m²), sendo a meta chegar em 100 parques por toda a cidade de São Paulo (50 milhões de m²), com o intuito de preservar a diversidade do ambiente natural na cidade paulistana (PORTAL DA PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2012).

1.2 Culicídeos e a investigação do hábito alimentar

Segundo LEITE (2007), uma apropriada interpretação das variáveis ecológicas relacionadas aos culicídeos desponta como temática de suma importância na atualidade em função do caráter antropofílico de alguns insetos, das transformações antrópicas que modificam o ambiente, das grandes variações climáticas e também em função do papel relevante que o estudo deste assunto faz presente na elaboração dos Programas Nacionais de Saúde Pública. Isso ocorre em função de alguns culicídeos serem veiculadores de agentes patogênicos ao homem que acabam por causar grandes transtornos à sociedade, gerando epidemias, como as que ocorrem com a dengue, endemias de malária, filarioses e encefalites. Doenças essas, que vitimam um grande contingente de pessoas proporcionando prejuízos pessoais e gastos exorbitantes do ponto de vista de Saúde Pública (FORATTINI, 2002).

Considerando que as doenças podem se espalhar de um continente a outro e que os culicídeos estão relacionados a essa difusão, evidencia-se a importância de conhecer seus hábitos e traçar uma relação entre esses costumes e a transmissão de agentes causadores de zoonoses. Segundo MARASSÁ et al. (2008) é importante estudar os comportamentos alimentares de mosquitos, pois suas refeições são parâmetros significantes para a determinação de suas adaptações, para a avaliação da capacidade vetorial e para a compreensão do ciclo de transmissão de parasitoses. GARCEZ-REJON et al. (2010) e LOROSA et al. (2010), concordam com essa visão e a complementam quando colocam que o conhecimento do hábito alimentar

possibilita o monitoramento de vetores e o planejamento de estratégias eficientes no seu controle.

A fonte alimentar dos culicídeos dependerá do ambiente em que se encontram e da densidade de hospedeiros disponíveis (KELLY, 2001; FORATTINI, 2002). Mudanças no comportamento alimentar de mosquitos explicam-se pela pressão de seleção e a tentativa de adaptação para localizar, discriminar e obter sucesso frente a novos hospedeiros (EDMAN, 2003).

Assim como MARASSÁ (2009a), MURIU et al. (2008) traça um paralelo entre a alimentação e os parâmetros de adaptações. A escolha da fonte alimentar pode ser feita de acordo com fatores ambientais, podendo variar com as exigências nutricionais, densidade de vetores, disponibilidade de hospedeiros e suas necessidades intrínsecas.

Apesar das variações ambientais negarem padrões, existem características que podem ser destacadas. Diante de observações científicas da fauna culicidiana, evidenciou-se que a evolução proporcionou apenas as fêmeas a hematofagia e que algumas espécies possuem “preferências” alimentares por determinados hospedeiros. Tal “preferência” inclui ainda horários de alimentação e pode ser influenciada pelos hábitos dos hospedeiros vertebrados (GUIMARÃES, 1997).

Desta forma, a identificação do repasto alimentar de insetos hematófagos fornece informações dos hospedeiros em condições naturais. A relação antropofílica (porcentagem de repastos realizados em humanos) é um componente essencial para avaliar a capacidade vetorial, além de fornecer o conhecimento de outros hospedeiros, os quais podem participar como reservatórios de determinados patógenos (BOAKEY et al., 1999).

Sendo assim, o estudo do comportamento do padrão do hábito alimentar do artrópode pode mostrar a evolução entre a especificidade dos hospedeiros vertebrados e de seus ectoparasitas, bem como a “escolha” do inseto hematógafo pelo sangue do hospedeiro, o que influenciará diretamente na transmissão de patógenos, além de impactos econômicos e na Saúde Pública (WELLS & STEVENS, 2008).

1.3 Alimentação e metabolismo das fêmeas de mosquitos adultos

As fêmeas de mosquitos se alimentam de sangue pra obterem proteínas para o desenvolvimento do ovário, porém ressalta-se que ambos os sexos requerem o néctar vegetal como fonte de energia, sendo este a maior fonte de alimento para os mosquitos (CLEMENTS, 1992).

O sangue ingerido pelas fêmeas de mosquitos é usado principalmente para produção dos ovos e há evidências que esta também sirva como fonte energética. A relação entre o desenvolvimento dos ovos e o sangue se dá devido à função proteica do sangue. A produção de ovos não é aumentada ou melhor viabilizada quando há apenas a adição na dieta alimentar de vitaminas, ácidos nucleicos ou esteróis. Porém, a adição de íons de potássio e sódio pode levar ao dobro da produção de ovos quando são incluídos na alimentação (CLEMENTS, 1992).

Estudos indicam a necessidade de pelo menos dez aminoácidos essenciais na dieta para que ocorra a produção normal de ovos: arginina, L-isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, histidina e metionina (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

Segundo CLEMENTS (1992), para a espécie *Aedes aegypti*, o aminoácido L-isoleucina é um fator limitante para a produção de ovos, quando o mesmo ingere sangue de certos vertebrados, como de bovinos ou ovelhas, pois esses hospedeiros apresentam a L-isoleucina em baixa quantidade. Para outros mosquitos e diferentes hospedeiros vertebrados, existem outros aminoácidos que podem ser limitantes.

Há indícios de que em algumas espécies de mosquitos o tipo de sangue ingerido pode influenciar o tamanho da desova (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

Muitas espécies de culicídeos se alimentam em mamíferos e aves, mas pequena parcela regularmente faz seus repastos em répteis, anfíbios e peixes (CLEMENTS, 1992), sendo que os gradientes de temperatura e/ou a umidade de extrema importância para determinar o local onde o mosquito irá pousar no hospedeiro para se alimentar (GILLOTT, 2005).

Em geral, as fêmeas de mosquitos ingerem mais sangue que o próprio peso, podendo consumir de duas a quatro vezes o peso do próprio corpo, de acordo com a espécie de mosquito, o que em microlitros representa valores entre 5-9 μl (GILLOT, 2005).

Na ausência de repasto sanguíneo, geralmente ocorre uma parada no desenvolvimento do ovaríolo (diapausa ovariana) sendo o crescimento retomado após o repasto sanguíneo, que funciona como fator estimulante (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

1.4 Idade cronológica e idade fisiológica

Define-se a idade cronológica pelo intervalo de tempo, medido em dias, vivido pelo inseto. Vários métodos, tais como as medidas de desgaste das asas ou da escamação do corpo podem ser descritas para avaliação da sobrevivência na natureza. A idade fisiológica das fêmeas é avaliada pela paridade das mesmas e pela observação das características das traquéias ovarianas e dos ovários, onde se é possível observar a idade fisiológica a nível populacional, constituindo um dado importante na determinação do potencial vetorial de uma população de mosquitos (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

Assim, quando existe concordância gonotrófica e um intervalo de tempo razoavelmente constante entre os repastos sanguíneos e as posturas, pode-se calcular a idade cronológica aproximada a partir da idade fisiológica (CONSOLI & LOURENÇO DE OLIVEIRA, 1994).

1.5 Determinação da fonte alimentar de insetos hematófagos

A habilidade para identificar o repasto sanguíneo em artrópodes hematófagos revolucionou o entendimento da interação hospedeiro-vetor e a ecologia das doenças infecciosas (KENT et al, 2009).

Existem várias técnicas para identificação do hábito alimentar de insetos, dentre elas destacam-se: a reação de precipitina, a cristalização da hemoglobina, as reações de aglutinação, o teste de hemaglutinação passiva e o método imunohistoquímico de imunofluorescência e a reação da cadeia da polimerase (PCR) (DEUS, 2011; BOAKEY et al., 1999).

O teste de reação de precipitina consiste em uma reação direta do sangue ingerido, suspenso em um diluente, com um antisoro, entretanto, é uma técnica que oferece diversas limitações, principalmente a baixa sensibilidade e a necessidade de grandes quantidades de amostras (TEMPELIS, 1975).

O teste imunoenzimático ELISA consiste em um ensaio heterogêneo que detecta antígenos ou anticorpos através de uma coloração medida em absorbância por espectrofotômetro (BEIER et al., 1988). Tal método pode ser realizado de duas formas: sendo o método direto, mais rápido e permite que um grande número de amostras sejam processadas (EDRISSIAN et al., 1985) e o método indireto, mais complexo, requerendo da utilização de um anticorpo para cada hospedeiro testado (BEIER et al., 1988).

Técnicas moleculares, como a PCR, foram adaptadas à identificação das possíveis fontes alimentares de insetos vetores, dentre eles, os culicídeos (KENT & NORRIS, 2005). A PCR que utiliza marcadores de genes mitocondriais, tais como o gene *CYTB* que codifica a proteína citocromo b, para detecção de hábito alimentar de vários vetores tem a vantagem destes estarem localizados no genoma mitocondrial (que não sofre recombinação), tendo uma taxa de evolução lenta, além da disponibilidade de sequências completas no “*Genbank*” (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), que permite uma comparação extensa entre as espécies (CHOW et al., 1993), apontando, por vezes, reservatórios não esperados (CHOW et al., 1993; HAOUAS et al., 2007).

Nesse sentido, a identificação de repastos sanguíneos de fêmeas ingurgitadas pela PCR é eficiente, pois permite que os genes sejam clonados direta e rapidamente, sem que haja a necessidade da construção de bibliotecas de DNA. A técnica apresenta vantagens em relação à sua rapidez e

sensibilidade, pois utiliza poucas horas para sua efetividade e pode detectar uma única molécula de DNA em uma amostra (WALTER, 2006).

Diante do exposto, justifica-se a realização de estudo da “preferência” alimentar da fauna urbana de culicídeos associadas às áreas protegidas utilizadas para lazer na cidade de São Paulo, pois a identificação do sangue ingerido por vetores hematófagos é importante no estudo da disseminação de antropozoonoses endêmicas e emergentes. Investigando os aspectos ecológicos e epidemiológicos de possíveis organismos envolvidos nos ciclos das doenças transmitidas por patógenos, os quais são carregados por vetores biológicos.

Salientando-se que os resultados obtidos poderão contribuir para as possíveis ações de controle e monitoramento em ações epidemiológicas, uma vez que essa pesquisa pode servir como apoio e referência para futuros trabalhos nesta linha.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a fauna Culicidae nos parques: Alfredo Volpi, Anhanguera, Carmo, Chico Mendes, Ibirapuera, Santo Dias e Shangrilá na cidade de São Paulo e descrever o comportamento alimentar das espécies de culicídeos capturadas.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar os espécimes de culicídeos coletados;
- Detectar o repasto sanguíneo em fêmeas ingurgitadas pela técnica da PCR;
- Investigar se há associação entre as espécies de mosquitos e as fontes alimentares por meio do teste de qui-quadrado;
- Agrupar as espécies de fêmeas ingurgitadas em relação ao repasto alimentar por meio da ferramenta “cluster”;
- Verificar o método de captura de fêmeas ingurgitadas mais eficiente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de estudo

Foram estudados sete parques distribuídos pela cidade de São Paulo.

A seleção dos parques baseou-se em facilidade de acesso á localidade e nos aspectos de riqueza, diversidade, abundância e dominância das espécies de culicídeos presentes no ambiente (MEDEIROS et al., 2013).

Dessa forma, os parques estudados foram: Anhanguera, Shangrilá, Santo Dias, Alfredo Volpi, Chico Mendes, Carmo e Ibirapuera.

Tais parques estão inseridos na malha urbana da cidade de São Paulo, com exceção do Parque Anhanguera, localizado na região rural do município. Estes parques servem como áreas de lazer, recreação e cultura á população (Figura 1).

Destaca-se que esses parques estão distribuídos por todas as zonas regionais da cidade de São Paulo (Figura 2).

Figura 1: Imagens de satélite mostrando sete fragmentos de área verde (parques) situados na cidade de São Paulo: **A** = Anhanguera, **B** = Shangrilá, **C** = Santo Dias, **D** = Alfredo Volpi, **E** = Chico Mendes, **F** = Carmo e **G** = Ibirapuera. **Fonte:** Google Earth™, 2012.

Figura 2: Município de São Paulo com indicações dos sete Parques Municipais referenciados como potenciais pontos de coleta de mosquitos. **Fonte:** Prefeitura do Município de São Paulo, Secretaria do Verde e do Meio Ambiente, 2007. **(Adaptado).**

3.1.1 Caracterização dos parques estudados

- Parque Alfredo Volpi: Ocupa a área de 142,4 km². Foi criado em 02 de Abril de 1971 (CENTRO DE PESQUISAS DE HISTÓRIA NATURAL-CPNH, 1985-88) e é um remanescente da área verde de Mata Atlântica em estágio médio de sucessão, que preservou o capão de mata de gleba. Apresenta relevo de declividade acentuada formando um pequeno vale, onde existem pequenos lagos e uma nascente. Toda área é recoberta por denso bosque implantado e áreas ajardinadas. A fauna existente no parque foi relatada em 110 espécies de vertebrados (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO-SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

Na Figura 3 é possível visualizar um trecho de trilha inserida no parque, utilizado para caminhadas pela população, local onde foram realizadas algumas aspirações para o presente trabalho.

Figura 3: Trilha inserida nas alamedas do Parque Alfredo Volpi.

Foto: Maria Helena Silva Homem de Mello, 2011.

- Parque Anhanguera: Com 9.500 km² de área, situa-se entre os quilômetros 25 e 29 da Rodovia Anhanguera, tendo como limites os municípios

de Cajamar e Caieiras. Eucaliptos ocupam 39% da área, plantados pelo Grupo Abdala para comercialização até 1964 (CPHN, 1985-88). Além de eucaliptos e *Pinus* sp., existem espécies nativas da flora em remanescentes de vegetação ripária, existindo o plano de recomposição que pretende substituir gradualmente, por espécies autóctones, o eucaliptal. Atualmente, pode-se observar que espécies nativas formaram um variado sub-bosque sob os eucaliptos e remanescentes de Mata Atlântica ao longo do curso d'água. O Parque encontra-se próximo a duas zonas núcleos da Reserva da Biosfera do Cinturão Verde do Estado de São Paulo, a Serra da Cantareira, distando 5 km, e a Serra do Japi, distando 20 km. A fauna consiste em 230 espécies de vertebrados relatadas, das quais 146 são aves. O Parque Anhanguera abriga o Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO- SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

Na Figura 4 é possível observar a área de recreação do parque com quiosques para uso da comunidade, sendo essa margeada de eucaliptos.

Figura 4: Área de recreação próxima a administração do Parque Anhanguera.

Foto: Paulo R. Urbinatti, 2011.

- Parque do Carmo: Inaugurado em setembro de 1976, foi instalado nas antigas terras desapropriadas da Fazenda do Carmo, ocupando uma área de 2.388,9 km². Na área do Parque as inúmeras nascentes foram represadas, formando um grande lago, com 15 km² de superfície. Predominam áreas gramadas, remanescentes de Mata Atlântica e mata ciliar, campos antrópicos e brejos, sendo que o pequeno vale na porção oeste é ocupado por reflorestamento de eucaliptos. Sobre a fauna existente no parque foram relatadas 135 espécies de vertebrados. (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO- SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

A Figura 5 mostra parte do lago represado no Parque do Carmo, bem como o remanescente de mata instalada no parque.

Figura 5: Lago represado no Parque do Carmo, em destaque a vegetação de mata ciliar e trecho de mata, locais onde foram realizadas aspirações.

Foto: Paulo R. Urbinatti, 2011.

- Parque Chico Mendes: Foi criado em junho de 1989, em área desapropriada em 1988, na antiga Chácara Figueira-Grande, tendo em vista a

preservação de uma mata natural remanescente. O Parque possui 61,7 km², com topografia acidentada (desnível de 8%), abrigando um vale, um córrego e um pequeno lago. Um bosque de eucaliptos, maciço de frutíferas e ornamentais foram plantados pelos antigos proprietários. A área verde ocupa cerca de 80% do terreno. A fauna foi relatada com 26 espécies de vertebrados, nas quais 40 são aves (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO- SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

Na Figura 6 pode-se visualizar uma trilha existente no parque em meio a vegetação.

Figura 6: Trilha em meio a mata no Parque Chico Mendes.

Foto: Paulo Roberto Urbinatti, 2011.

- Parque Ibirapuera: Teve sua construção iniciada nas primeiras décadas do século XX, nos campos alagadiços da várzea Santo Amaro. O Parque ocupa 1.584 km², e a área dos quatro lagos interligados corresponde a aproximadamente 157 km² (CPHN, 1985-88). Apresenta diversos tipos de vegetação, como bosque de eucaliptos, bosques plantados de espécies nativas e exóticas, áreas gramadas e jardins. Ressalta-se que o Parque Ibirapuera é o principal parque da cidade recebendo em média 1 milhão de visitantes por

mês. Em relação á fauna foram relatadas 183 espécies de vertebrados no parque (SÃO PAULO, 1998a; PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO- SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

A Figura 7 ilustra uma das alamedas do Parque, local de lazer e de práticas de esporte para a população.

Figura 7: Alameda central no Parque Ibirapuera.
Foto: Paulo R. Urbinatt, 2011.

- Parque Santo Dias: Foi implantado em novembro de 1992. Com área de 134 km², abriga remanescentes de mata do cinturão verde ao redor de São Paulo. A topografia é de acentuada declividade, recoberta por mata, e uma clareira central, com revestimento de capoeira baixa (área de 17,5 km²). O Parque faz divisa com conjuntos habitacionais (Cohab), a Industria Superbom, do Instituto Adventista de Ensino, e um córrego (TAKAHASHI et al., 1993). Abrigando uma nascente em suas dependências, no Parque foram relatadas 84 espécies de vertebrados, dentre as quais 75 são aves (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO- SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

A Figura 8 ilustra a vegetação inserida no parque.

Figura 8: Trilha inserida na mata existente no Parque Santo Dias.

Foto: Paulo R. Urbinatti, 2011.

- Parque Shangrilá: Implantado próximo a Represa Billings, o Parque fica dentro da Área de Proteção Ambiental Bororé-Colônia. Objetivando preservar o patrimônio ambiental da cidade a partir da aquisição de áreas verdes potenciais e estratégicas, implantando um sistema de gestão adequado, preservando e enriquecendo a biodiversidade da cidade e protegendo a represa, dentro da Operação Defesa das Águas. A fauna é bastante heterogênea, composta de 109 espécies, distribuídas entre invertebrados (mosquitos, borboletas e aranha), anuros e répteis, marsupiais e primatas e 90 espécies de aves. A vegetação é composta por áreas ajardinadas e eucaliptal com sub-bosque onde foi realizado plantio de mudas de árvores (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO- SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

Na Figura 9 se visualiza uma parte da mata existente no Parque.

Figura 9: Vegetação existente no Parque Shangrilá (local onde foram realizadas as aspirações).

Foto: Paulo R. Urbinatti, 2011.

3.2 Coleta dos culicídeos

O período estudado compreendeu coletas mensais entre Fevereiro de 2011 à Fevereiro de 2012, realizando-se 13 coletas em cada parque.

Para a realização das coletas, foi feita uma parceria entre os pesquisadores do Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP), a equipe do Departamento de Parque e Áreas Verdes-3 da Secretaria do Verde e do Meio Ambiente da cidade de São Paulo (DEPAVE-3) e o Laboratório de Fauna Sinantrópica do Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura do Município de São Paulo (CCZ- PMSP). Este apoio técnico do DEPAVE-3 e CCZ facilitou o trabalho de campo, como o acesso aos parques, permitindo a coleta do material biológico.

Todos os culicídeos obtidos nas coletas foram acondicionados adequadamente, em caixas entomológicas com sílica para o transporte até o laboratório para identificação.

3.2.1 Técnicas de capturas e identificação morfológica dos espécimes coletados

Mosquitos adultos foram capturados no interior dos parques, mediante o uso de aspiradores, armadilhas automáticas do tipo CDC e armadilhas de Shannon (BUSTAMANTE & PIRES 1951, GOMES et al., 1985), como mostra a Figura 10.

Os culicídeos foram coletados com o auxílio de aspiradores movidos a baterias (12 V), à luz do dia em áreas de vegetação, as quais servem de abrigo às fêmeas de mosquitos que estão em repouso após a realização da hematofagia (FORATTINI, 2002), perfazendo um total de três aspirações distribuídas nos períodos matutino e vespertino, como descrito por NASCI (1981).

As armadilhas do tipo CDC com luz, acrescidas de gelo seco como atrativo, foram instaladas nos ecótopos: área construída, área aberta e área com cobertura arbórea, sendo instaladas tanto em copas das árvores quanto no solo (altura de 1 metro), compreendendo seis armadilhas instaladas. Essas armadilhas foram acionadas no início do crepúsculo vespertino e mantidas por três horas.

Simultaneamente à operação das armadilhas CDC, foi instalada, em local definido, uma armadilha de Shannon com luz de lampião a gás e com três indivíduos coletores, iniciando a captura no horário do crepúsculo vespertino e mais duas horas pós-crepusculares. Os coletores, munidos de aspiradores elétricos manuais (6 V) ou tubos mortíferos contendo clorofórmio, efetuaram a captura nas superfícies da armadilha.

Figura 10: Técnicas utilizadas para a captura de culicídeos. **A:** CDC luminosa na copa; **B:** CDC luminosa no solo, **C:** Aspiração e **D:** Armadilha de Shannon.
Foto: Paulo R. Urbinatti, 2011.

A identificação e catalogação de espécies de mosquitos foram feitas no Laboratório de Culicidologia da FSP-USP. A identificação morfológica foi feita em microscopia estereoscópica realizada segundo FORATTINI (2002) e CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA (1994).

As espécies nesse presente trabalho identificadas como *Culex* (*Cux.*) spp., na realidade tratam-se de espécies que formam o complexo críptico da subespécie *Culex*, não sendo possível a identificação à nível de espécie apenas com a fêmea ingurgitada.

Todas as fêmeas que continham em seu abdome vestígio parcial ou completo de sangue, o que denotava ter realizado repasto sanguíneo, foram identificadas com no prazo máximo de 24 horas após coleta e colocadas em

álcool isopropílico (C_3H_8O), tendo suas respectivas identificações anotadas em microtubos e banco de dados.

Sendo estabelecido o tempo, em horas, do repasto sanguíneo das ingurgitadas por meio da quantidade de sangue contida no abdome de cada fêmea, padronizado segundo CHRISTOPHERS (1911) (Figura 11).

Figura 11: Aparência externa do abdome de fêmea de mosquito mostrando os diferentes estádios de desenvolvimento dos ovos.

Fonte: Christophers, 1911.

3.3 Extração de DNA em fêmeas ingurgitada e identificação do repasto sanguíneo

A extração do DNA genômico foi realizada com o Kit “*DNeasy Blood and Tissue Handbook*” (Quiagen®), utilizando o protocolo de Purificação de DNA de sangue ou fluidos corpóreos (*Spin Protocol*), seguindo recomendações do fabricante.

Ressalta-se que a extração foi realizada individualmente para cada espécime de mosquito coletado, tendo no final da extração 25 µl de solução (*Buffer solution*) contendo DNA diluído.

As fêmeas ingurgitadas foram processadas para determinação do repasto sanguíneo pela técnica de PCR no Laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo (IMT-USP).

3.3.1 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Para a escolha dos *primers* a serem utilizados no presente trabalho, foi realizada uma pesquisa sobre a fauna de vertebrados existente em cada parque estudado. Dessa forma a investigação para o repasto sanguíneo dos mosquitos abrangeu os seguintes grupos de animais: aves, cão, gato, humano, primatas e roedores (PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO-SECRETARIA MUNICIPAL DO VERDE E DO MEIO AMBIENTE, 2007).

O diagnóstico do repasto alimentar foi realizado utilizando a técnica de PCR com *primers* específicos para cada espécie estudada, os quais amplificaram o gene *CYTB* (CHANG et al., 2008). Dessa forma, foi possível a determinação de repastos sanguíneos realizados pelo mesmo mosquito em diferentes hospedeiros.

Para a validação da amplificação do material gênico provindo do repasto sanguíneo do mosquito, foi utilizado em cada reação um controle positivo extraído do sangue do hospedeiro a ser investigado e um controle branco (com água ao invés do DNA) para eliminar o viés de contaminação de reagentes.

A Tabela 1 descreve as sequências específicas utilizadas nos *primers* utilizados bem como a temperatura de hibridação envolvida e o tamanho da amplificação do produto (pb) (CHANG et al., 2008).

Os reagentes necessários para a mistura de PCR (mix) podem ser vistos na Tabela 2.

Os parâmetros para o termociclador (Mastercycler Gradient, Eppendorf®) consistem nas seguintes etapas: as reações iniciaram-se com uma desnaturação inicial de 94°C por 02 minutos; seguidas por 35 ciclos (exceto para a investigação de repasto em aves, que foram utilizados 30 ciclos) constituídos de desnaturação a 94°C por 30 seg, hibridação a 60-74°C por 30 seg (variando de acordo com cada *primer*, como descritos na Tabela 1) e extensão a 72°C por 30 seg; seguido de extensão final a 72°C por 10 min.

Tabela 1: Ordem específica dos grupos de *primers* e espécies usadas em identificação do repasto alimentar

Animal testado	Sequência do <i>primer</i> (5' – 3')	Temp. de hibridação (°C)	Produto da amplificação (pb)
AVE	F: CAAATATCNTTCTGAGGNGCYAC R: GGGTGTTCDACDGGTTGGCTNCC	64	508
CÃO	F: GAACTAGGTCAGCCCGGTACTT R: CGGAGCACCAATTATTAACGGC	67	153
GATO	F: TTCTCAGGATATACCCTTGACA R: GAAAGAGCCCATTGAGGAAATC	72	180
HUMANO	F: TTCGGCGCATGAGCTGGAGTCC R: TATGCGGGGAAACGCCATATCG	70	228
PRIMATA	F: AGTTGCYCACATYACCCG R: GTRTARTAGGGRTGRAATC	72	480
ROEDOR	F: CGGCCACCCAGAAGTGTACATC R: GGCTCGGGTGTCTACATCTAGG	60	196

Fonte: CHANG et al., 2008 (adaptado).

Tabela 2: Reagentes utilizados na PCR para identificação do repasto alimentar de culicídeos (25 µl).

Reagentes	Quantidade (µl)
Água de injeção (estéril)	13,8
Tampão (Buffer) 10X	2,5
Cloreto de Magnésio (MgCl) à 50Mm	1,5
Dntp's à 10mM	0,5
Iniciador (<i>Primer foward</i>) à 10mM	0,75
Iniciador (<i>Primer reverse</i>) à 10mM	0,75
Platinum Taq DNA polimerase (Invitrogen)	0,2
DNA	5

Fonte: CHANG et al., 2008 (adaptado).

Salienta-se a modificação do *primer* de primatas, o qual foi desenhado para primatas do novo mundo (sequência essa descrita na Tabela 1), substituindo a sequência de *primers* para primatas do velho mundo desenhadas por CHANG et al., (2008).

Após o termino da reação de PCR, os produtos foram armazenados em freezer -20°C, até a sua visualização por meio de eletroforese em gel de agarose.

3.4 Eletroforese em gel de agarose

O produto da PCR foi submetido a eletroforese em gel de agarose a 2% preparado com tampão Tris-Borato-EDTA (TBE). O gel foi coberto com tampão TBE e corado em brometo de etídeo. Utilizou-se de 2µl de tampão carregador de amostra (glicerina e azul de bromofenol) para cada amostra a ser analisada. Pipetou-se 10µl de *amplicon* em cada poço do gel. Utilizou-se o marcador de

massa molecular 100 pb DNA *Ladder* (Invitrogen) e intensidade de corrente de 124 mA e tensão de 6v/cm.

Os géis foram visualizados utilizando o transiluminador em fonte de luz ultravioleta de 302 nm. A captura da imagem foi realizada com o programa “*Alpha Imager*”. As amostras que apresentaram os produtos de amplificação mencionados na Tabela 1 foram consideradas positivas para a presença de sangue dos respectivos hospedeiros animais.

3.5. Análise estatística

A busca por associação entre os culicídeos e a fonte alimentar foi realizada pelos métodos de qui-quadrado (Item 3.5.1) e pela análise de cluster (Item 3.5.2).

3.5.1 Teste Qui-quadrado (teste associativo)

Foi realizado o teste de qui-quadrado para os parques, de forma individual e coletivamente, a nível de significância de α de 0,05, um teste não paramétrico para dados qualitativos, sendo aplicável para análise de pequenas amostras ($n < 30$) onde se considerou as hipóteses: H_0 , como não havendo uma “predileção” por sangue de determinado hospedeiro pelas as espécies de mosquitos, sendo de caráter aleatório e H_1 ; como havendo uma associação entre determinada espécie de mosquito e sua fonte alimentar (FONSECA & MARTINS, 2011; MARASSÁ, 2009a), utilizando-se das ferramentas do programa EXCEL 2010.

Esse teste preconiza que para uma associação melhor fundamentada entre suas variáveis, o ideal é que os valores inferior a 5 não totalizem menos que 20% das caselas na tabela dos valores esperados. Ressalta-se que para nossa análise isso não foi possível, devido que nosso n amostral não foi o mesmo para todas as espécies coletadas (FONSECA & MARTINS, 2011). Porém, o cálculo foi realizado para a maioria dos parques, mesmo com tais limitações, para averiguar alguma tendência entre fonte alimentar e determinada espécie de culicídeo.

3.5.2 Análise de Cluster

A análise de cluster foi realizada para cada parque afim de, constituir grupos em que os elementos sejam os mais próximos entre si e entre os mais distantes entre si, utilizando-se do programa estatístico PAST (*Palaeontological Statistics*) na versão 2011, um programa de *download* gratuito na internet, fornecido por HAPPER et. al (2012).

A leitura do cluster é dada de forma agrupada, sendo que na árvore onde se encontra as fontes alimentares se tem o valor atribuído de quantas vezes tal hospedeiro foi tido como fonte de alimentação por determinado mosquito.

Na árvore inferior onde se há o agrupamento entre as espécies de mosquitos, as espécies que formam o mesmo clado estão agrupadas pois tiveram as mesmas fontes alimentares, as espécies que estão mais distantes na árvore tiveram apenas um hospedeiro em comum ou uma fonte alimentar diferente dos demais culicídeos (HAPPER et al., 2001).

Uma maneira ilustrativa de como compreender a leitura dos clusters é mostrada na Figura 12.

Figura 12: Esquematização de como se é realizada a leitura dos clusters.

4 RESULTADOS

Os resultados da padronização do repasto alimentar dos culicídeos capturados nos sete parques estudados compreendeu o total de 510 fêmeas ingurgitadas de 17106 mosquitos capturados durante o estudo. Foi possível a detecção do repasto alimentar em 447 das amostras processadas, tendo como amostras de repasto misto (dois ou mais hospedeiros na mesma fêmea ingurgitada) em 109 fêmeas, salientando-se que os repastos mistos variaram entre humanos, aves, roedores e cães.

Do total de amostras processadas, 63 foram dados inconclusivos, não havendo amplificação alguma do material genético para as fontes alimentares estudadas, tal indicativo pode ser interpretado pelo fato das fêmeas ingurgitadas terem sido colocadas no álcool com o tempo superior à 24 horas, ou na realidade, o vestígio de sangue, proveio de outra fonte alimentar que não foi abrangida nessa pesquisa.

Ressalta-se que o vertebrado “gato”, foi excluído das análises de cluster, pois não houve nenhum resultado positivo nas amostras processadas.

Para a análise do qui-quadrado, as amostras que foram positivas, provindas de coletas pela armadilha de Shannon, foram retiradas da análise, na tentativa de se eliminar o viés existente de que o sangue humano identificado não seja o sangue dos próprios capturadores durante a coleta.

Por considerar a abordagem de cluster de maneira descritiva, aqui foram considerados os resultados positivos provindos da captura da armadilha de Shannon.

A apresentação dos resultados obtidos se encontra de forma separada por parque e depois uma análise geral, a qual une todos os parques como sendo um “ecótopo” único, com o intuito de se analisar as áreas de inserção de vegetação em meio à cidade de São Paulo e a influência sobre a dinâmica dos mosquitos e os respectivos repastos alimentares.

Ao se desconsiderar as características intrínsecas de cada parque, salienta-se que tanto o Parque Anhanguera quanto o Parque Shangrilá, obtiveram maiores valores em relação à variedade de fontes para repastos e em número de fêmeas ingurgitadas por se tratarem de ambientes mais diferenciados em questão de vegetações e presença da represa (no caso do Shangrilá). Podendo ser locais que apresentam melhores adaptações para a instalação e manutenção da biologia dos culicídeos, sendo áreas que apresentam certo potencial de disponibilidade de fontes alimentares.

4.1 Parque Alfredo Volpi.

No Parque Alfredo Volpi, foram coletadas nove fêmeas ingurgitadas de um total de 1151 mosquitos coletados. A eficiência de cada técnica de captura utilizada pode ser vista na Figura 13.

Figura 13: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de armadilha utilizada no Parque Alfredo Volpi.

É visível que a maior parte das fêmeas ingurgitadas capturadas no Parque Alfredo Volpi foram coletadas pela técnica de Shannon, representando 90% da coleta.

Foram capturadas duas espécies de culicídeos, sendo essas distribuídas em dois gêneros. As espécies ingurgitadas, bem como o hospedeiro utilizado para o repasto sanguíneo são observadas na Figura 14.

Figura 14: Cluster para o Parque Alfredo Volpi, agrupando as duas espécies de culicídeos e os dois hospedeiros que foram detectados como fonte para o repasto sanguíneo.

Aedes fluviatilis e *Culex (Mel.)* seção Melanoconion tiveram o humano como fonte de alimentação, sendo que um espécime de *Ae. fluviatilis* realizou repasto em cão.

Para as amostras coletadas no Parque Alfredo Volpi não foi detectado repastos mistos e nenhum dado foi inconclusivo.

Como o número de ingurgitadas capturadas no Parque Alfredo Volpi foi pequeno durante o período estudado e a técnica de captura mais efetiva para a coleta foi à armadilha de Shannon, para esse parque não foi calculado valores de qui-quadrado, de forma a não superestimar os valores reais encontrados.

4.2 Parque Anhanguera

No Parque Anhanguera foram capturadas 144 fêmeas ingurgitadas do total de 3631 mosquitos capturados. A eficiência de cada técnica de captura utilizada pode ser vista na Figura 15.

Figura 15: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de armadilha utilizada no Parque Anhanguera.

É visível que a maior parte das fêmeas ingurgitadas capturadas no Parque Anhanguera foram coletadas pela técnica de aspiração, sendo essas capturadas em repouso no ambiente.

Foram capturadas oito espécies, distribuídas em três gêneros, de mosquitos ingurgitadas durante o período de estudo. As espécies de mosquitos, bem como seus hospedeiros utilizados para o repasto, podem ser observados na Figura 16.

Figura 16: Cluster para o Parque Anhanguera, agrupando as oito espécies de culicídeos e os cinco hospedeiros que foram detectados como fonte para o repasto sanguíneo.

Dentre tais espécies, destacamos que apenas o *Aedes albopictus* não se alimentou de sangue humano. Nota-se que o comportamento tanto do *Culex nigripalpus* quanto do *Culex quinquefasciatus* tiveram o mesmo padrão, alimentando-se de humanos, cães, aves e roedores.

Os primatas serviram como fonte alimentar para as espécies de *Culex* (*Cux.*) spp. e de *Psorophora ferox*, no parque em questão, pois foram coletados

próximos ao Centro de Reabilitação de Animal Selvagem (CRAS), no qual existem macacos bugios (*Alouatta alouatta*) em recintos de reabilitação.

O hospedeiro humano serviu como fonte alimentar para praticamente todas as espécies de mosquitos, sendo fonte alimentar exclusiva das espécies *Aedes scapularis* e *Culex (Cux.)* gp. Coronator.

Entre as 144 fêmeas ingurgitadas, foram identificados 215 repastos sanguíneos, dos quais 69 repastos foram mistos variando entre humanos e roedores, humanos e cães e humanos e aves, não tendo dados inconclusivos.

Objetivando encontrar a associação entre a espécie de mosquito e sua fonte alimentar, o uso do qui-quadrado pode ser analisado na Tabela 3.

Tabela 3: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Anhanguera.

Espécies	AVE	CÃO	HUMANO	ROEDORES	PRIMATAS	TOTAL
<i>Ae. albopictus</i>	0	1	0	0	0	1
<i>Ae. scapularis</i>	0	0	3	0	0	3
<i>Ae. serratus</i>	1	0	1	0	0	2
<i>Cx. nigripalpus</i>	17	15	44	11	0	87
<i>Cx. (Cux.) spp.</i>	5	4	26	10	4	49
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	2	12	45	3	0	62
<i>Ps. ferox</i>	0	2	4	0	1	7
TOTAL	25	34	123	24	5	211

O qui-quadrado para as amostras capturadas no Parque Anhanguera, teve o resultado de $p=0,07875$. Ao se considerar a representação de $\alpha=0,05$, podemos inferir que há aleatoriedade em relação à oferta de repasto sanguíneo e o culicídeo ingurgitado capturado.

Como os valores de repastos em primatas foram inferiores ao número de repastos realizados em outras fontes alimentares, e essa fonte alimentar foi

exclusiva do Parque Anhanguera, realizou-se um qui-quadrado, excluindo o hospedeiro primata, assim como as espécies de culicídeos, as quais tiveram apenas um espécime capturado, afim de, encontrar algum padrão associativo entre as espécies de mosquitos e as outras fontes alimentares. Porém novamente não se teve nenhum padrão associativo entre os parâmetros, sendo que o valor de p encontrado foi de 0,17871, demonstrando novamente aleatoriedade entre mosquito e fonte de alimento (baseado em $\alpha=0,05$).

4.3 Parque do Carmo

No Parque do Carmo foram capturadas 12 fêmeas ingurgitadas do total de 837 mosquitos coletados. A eficiência de cada técnica de captura utilizada pode ser vista na Figura 17.

Figura 17: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de armadilha utilizada no Parque do Carmo.

Assim como no Parque Alfredo Volpi, o Parque do Carmo teve a maioria das fêmeas capturadas pela técnica de armadilha de Shannon, representando 75% das amostras coletadas.

Foram capturadas durante o período de coletas quatro espécies, representadas em três gêneros. A relação entre as espécies de mosquitos fêmeas ingurgitadas e os hospedeiros, fonte do repasto sanguíneo, está representado na Figura 18.

Figura 18: Cluster para o Parque do Carmo, agrupando as quatro espécies de culicídeos e os três hospedeiros que foram detectados como fonte para o repasto sanguíneo.

Como nos parques acima mencionados, no Parque do Carmo também é visível a presença de sangue humano no repasto sanguíneo por parte das espécies de culicídeos.

Culex quinquefasciatus foi a única espécie capturada tendo sua fonte alimentar realizada em humanos somente, as demais espécies, como o *Culex (Cux.)* spp. e *Coquillettidia venezuelensis*, foram evidenciadas de se

alimentarem de humanos e cães. A espécie *Aedes scapularis*, dentre os dados obtidos, foi à espécie com o comportamento mais eclético, realizando repastos em humanos, cães e aves.

Das 12 espécimes de culicídeos capturadas no Parque do Carmo, não foi detectado nenhum repasto misto, e nenhum dado inconclusivo.

Como o número de ingurgitadas capturadas no Parque do Carmo, assim como o do Parque Alfredo Volpi, foi pequeno durante o período estudado e a técnica de captura mais efetiva para a coleta foi à armadilha de Shannon, para esse parque não foi calculado valores de qui-quadrado, de forma a não superestimar os valores reais que encontramos.

4.4 Parque Chico Mendes

No Parque Chico Mendes foram capturadas 42 fêmeas ingurgitadas de 4416 mosquitos coletados. A eficiência de cada técnica de captura pode ser vista na Figura 19.

Figura 19: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de armadilha utilizada no Parque Chico Mendes.

É notável que no Parque Chico Mendes as armadilhas de Shannon e aspiração tiveram quase a mesma eficiência em capturar as ingurgitadas (45% e 50% respectivamente), tendo também a participação das CDC tanto de copa quanto de solo nas capturas.

Um total de cinco espécies, distribuídas em três gêneros, foram coletadas no Parque Chico Mendes. A relação entre a espécie de culicídeo capturada e o seu referente hospedeiro pode ser vista na Figura 20.

Figura 20: Cluster para o Parque Chico Mendes, agrupando as cinco espécies de culicídeos e os três hospedeiros que foram detectados como fonte para o repasto sanguíneo.

Aedes scapularis e *Culex quinquefasciatus* tiveram comportamento alimentar semelhantes, se alimentando de humanos e cães. *Culex (Cux.) spp.*, foi a espécie que teve os hábitos alimentares mais ecléticos, fazendo repastos em três hospedeiros diferentes, humanos, cães e roedores. Duas espécies

coletadas fizeram o repasto em apenas um hospedeiro sendo o *Anopheles strodei* em cães e o *Aedes fluviatilis* em humanos.

Dos 42 espécimes capturados, foi detectado 37 repastos alimentares, tendo quatro repasto mistos (entre humanos e cães) e seis dados inconclusivos.

Objetivando encontrar a associação entre a espécie de mosquito e sua fonte alimentar, o uso do qui-quadrado pode ser analisado na Tabela 4.

Tabela 4: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Chico Mendes.

Espécies	CÃO	HUMANO	TOTAL
<i>Ae. scapularis</i>	1	9	10
<i>Cx. (Cux.) spp.</i>	2	8	10
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1	2	3
TOTAL	4	19	23

O teste de qui-quadrado para as amostras capturadas no Parque Chico Mendes, teve o resultado de $p=0,987413$. Ao se considerar a representação de $\alpha=0,05$, podemos inferir que há aleatoriedade em relação à oferta de repasto sanguíneo e o culicídeo ingurgitado capturado.

4.5 Parque Ibirapuera

No Parque Ibirapuera foram capturadas 39 fêmeas ingurgitadas de 552 mosquitos coletados. A eficiência de cada técnica de captura utilizada pode ser vista na Figura 21.

Figura 21: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de armadilha utilizada no Parque Ibirapuera.

Assim como no parque Anhanguera, o Parque Ibirapuera teve sua maioria das fêmeas ingurgitadas capturadas pela técnica de aspiração (perfazendo 72% das coletas).

Foram capturadas sete espécies, distribuídas em dois gêneros no Parque Ibirapuera. A relação entre a espécie de culicídeo capturada e o seu referente hospedeiro pode ser vista na Figura 22

Figura 22: Cluster para o Parque Ibirapuera, agrupando as sete espécies de culicídeos e os quatro hospedeiros que foram detectados como fonte para o repasto sanguíneo.

Culex (Cux.) spp. foi a espécie que teve o padrão mais eclético em relação ao seus repastos, se alimentando dos 4 hospedeiros encontrados, humanos, cães, aves e roedores. As espécies *Culex quinquefasciatus*, *Aedes scapularis* e *Culex nigripalpus* tiveram as mesmas fontes de alimentação sendo elas: cães, aves e humano e as espécies *Aedes scapularis*, *Aedes albopictus* e *Culex chidesteri*, tiveram apenas o humano como fonte alimentar.

Entre os 39 espécimes capturados, foi possível a detecção de 49 repastos alimentares, sendo assim, 10 repastos mistos (entre humanos e cães, humanos e aves e humanos e roedores) e nenhum dado inconclusivo.

Assim como feito no Parque Anhanguera e Chico Mendes, o emprego do qui-quadrado para o Parque Ibirapuera pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Ibirapuera.

Espécies	AVE	CÃO	HUMANO	ROEDORES	TOTAL
<i>Ae. albopictus</i>	0	0	1	0	1
<i>Ae. fluviatilis</i>	1	0	5	0	6
<i>Ae. scapularis</i>	0	0	2	0	2
<i>Cx. nigripalpus</i>	1	1	6	0	8
<i>Cx. (Cux.) spp.</i>	2	2	12	2	18
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1	3	4	0	8
<i>Cx. chidesteri</i>	0	0	1	0	1
TOTAL	5	6	31	2	44

O qui-quadrado para as amostras capturadas no Parque Ibirapuera teve o resultado de $p=0,999582$. Ao se considerar a representação de $\alpha=0,05$, podemos inferir há aleatoriedade em relação à oferta de repasto sanguíneo e o culicídeo ingurgitado coletado.

4.6 Parque Santo Dias

No Parque Santo Dias foram capturadas 23 fêmeas ingurgitadas do total de 1563 mosquitos coletados. A eficiência de cada técnica de captura utilizada pode ser vista na Figura 23.

Figura 23: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de armadilha utilizada no Parque Santo Dias.

Assim como nos Parques Anhanguera e Ibirapuera, a captura realizada com aspiradores foi maior no Parque Santo Dias, com 74% dos espécimes capturados no parque. Evidencia-se também a captura feita por CDC copa registrando 13% da coleta.

No Parque Santo Dias foram capturadas quatro espécies de culicídeos, distribuídas em dois gêneros. A relação entre a espécie de culicídeo capturada e o seu referente hospedeiro pode ser vista na Figura 24.

Figura 24: Cluster para o Parque Santo Dias, agrupando as quatro espécies de culicídeos e os dois hospedeiros que foram detectados como fonte para o repasto sanguíneo.

Apenas duas fontes alimentares foram detectadas no Parque Santo Dias, humanos e aves. *Culex nigripalpus* e *Aedes scapularis* realizaram seus repastos em humanos somente, sendo que *Culex (Cux.)* spp. e *Culex quinquefasciatus*, tiveram dois hospedeiros como fonte de alimentação: humanos e aves.

Dos 23 espécimes coletados, conseguiu-se a identificação de 19 repastos alimentares, tendo quatro dados inconclusivos e dois repastos mistos (entre humanos e aves).

O emprego do qui-quadrado para os valores amostrais obtidos no Parque Santo Dias, pode ser visualizado na Tabela 6.

Tabela 6: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Santo Dias.

Espécies	AVE	HUMANO	TOTAL
<i>Ae. scapularis</i>	0	3	3
<i>Cx. (Cux.) spp.</i>	1	11	12
<i>Cx. nigripalpus</i>	0	1	1
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1	2	3
TOTAL	2	17	19

O qui-quadrado para as amostras capturadas no Parque Santo Dias, teve o resultado de $p=0,974672$. Ao se considerar a representação de $\alpha=0,05$, podemos inferir que há aleatoriedade em relação à oferta de repasto sanguíneo e o culicídeo ingurgitado capturado.

4.7 Parque Shangrilá

No Parque Shangrilá foram capturadas 241 fêmeas ingurgitadas de um total de 4946 mosquitos coletados. A eficiência de cada técnica de captura utilizada pode ser vista na Figura 25.

Figura 25: Frequência relativa da contribuição de cada técnica de armadilha utilizada no Parque Shangrilá.

roedores (sendo as espécies com as condições alimentares mais ecléticas). *Culex quinquefasciatus* se aproxima ao ramo do *Culex (Cux.)* spp. e do *Cx. nigripalpus*, por sua alimentação ser realizada em humanos e cães. *Aedes fluviatilis*, *Aedes albopictus*, *Anopheles strodei* e *Psorophora ferox*, foram espécies as quais fizeram repasto exclusivamente em humanos. Por fim, as espécies *Aedes crinifer* e *Culex chidesteri*, mantiveram como fonte alimentar humanos e aves.

Dos 241 espécimes capturados, foi possível a identificação de 188 repastos alimentares tendo 24 repastos mistos (entre humanos e cães, humanos e aves e humanos e roedores) e 53 dados inconclusivos.

O emprego do qui-quadrado para os valores amostrais obtidos no Parque Shangrilá, pode ser visualizado na Tabela 7.

Tabela 7: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas no Parque Shangrilá.

Espécies	AVE	CÃO	HUMANO	ROEDORES	TOTAL
<i>Ae. albopictus</i>	0	0	2	0	2
<i>Ae. crinifer</i>	1	0	1	0	2
<i>Ae. fluviatilis</i>	0	0	4	0	4
<i>Ae. scapularis</i>	0	1	1	1	3
<i>An. strodei</i>	0	0	1	0	1
<i>Cx. (Cux.) spp.</i>	6	15	102	2	125
<i>Cx. chidesteri</i>	1	0	0	0	1
<i>Cx. nigripalpus</i>	1	2	30	1	34
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	0	2	6	0	8
<i>Ps. ferox</i>	0	0	1	0	1
TOTAL	9	20	148	4	181

O qui-quadrado para as amostras capturadas no Parque Shangrilá, teve o resultado de $p=0,160844$. Ao se considerar a representação de $\alpha=0,05$,

podemos inferir que há aleatoriedade em relação à oferta de repasto sanguíneo e o culicídeo ingurgitado capturado.

4.8 Todos parques estudados

No total foram capturados 510 fêmeas ingurgitadas distribuídas em sete parques, como mostra a Figura 27 A. Em B, a representatividade de cada técnica de captura utilizada em todos os parques.

Figura 27: Em A: a contribuição em espécimes de fêmeas ingurgitadas de cada parque estudado. Em B: a contribuição das técnicas utilizadas na captura nos parques estudados.

O Parque Shangrilá foi o local onde houve a maior contribuição com as fêmeas ingurgitadas, representando 241 fêmeas, sendo o Parque Alfredo Volpi o local onde menos se coletou fêmeas ingurgitadas, com nove espécimes.

Em relação às técnicas para captura, ressalta-se que a técnica de aspiração foi a mais representativa, capturando 84% das amostras.

No total, 14 espécies de culicídeos foram capturadas nos parques espalhados pela cidade de São Paulo. A distribuição dessas espécies segundo os 13 meses de coleta (Fevereiro de 2011 à Fevereiro de 2012) podem ser visto na Figura 28.

Figura 28: Distribuição da frequência das espécies de mosquitos ingurgitados em relação aos meses de coleta, Fevereiro de 2011 à Fevereiro de 2012.

Em relação aos meses de coleta, é visível a presença de mosquitos nos parques pelo ano (calendário) inteiro. Nota-se a frequência maior de espécies

em meses como Março e Maio de 2011, bem como nos meses de Outubro de 2011 a Fevereiro de 2012.

A espécie *Culex (Cux.)* spp. foi a mais abundante tanto em número de espécimes coletados, estando presente em praticamente todos os meses de coletas, seguida do *Culex nigripalpus* e *Culex quinquefasciatus*.

A relação do hospedeiro, fonte de alimentação e os meses durante a coleta pode ser visualizada na Figura 29.

Figura 29: Distribuição da frequência dos hospedeiros, fonte de repasto sanguíneo em relação aos meses de coleta, Fevereiro 2011 à Fevereiro 2012.

O hospedeiro humano foi fonte alimentar para as fêmeas ingurgitadas nos parques em todos os meses de captura. Sendo muitas vezes fonte exclusiva (Fevereiro e Março de 2011) ou a mais frequente (Maio, Agosto Outubro, Dezembro de 2011 e Janeiro a Fevereiro de 2012).

Assim como feito separadamente em cada Parque, alvo de estudo, o cálculo do qui-quadrado foi realizado para todos os parques em conjunto, considerando um único ecótopo (parques em geral). Para realizá-lo, somou-se as mesmas espécies coincidentes nos sete parques diferenciados, bem como

suas respectivas fontes alimentares, sendo excluído os dados referentes às capturas de espécimes pela técnica Shannon (Tabela 8).

Tabela 8: Valores observados para a coleta de culicídeos (sem a técnica de Armadilha de Shannon) e suas respectivas fontes alimentares investigadas nos parques estudados.

Espécies	AVE	CÃO	HUMANO	ROEDORES	PRIMATAS	TOTAL
<i>Ae. albopictus</i>	0	1	3	0	0	4
<i>Ae. crinifer</i>	1	0	1	0	0	2
<i>Ae. fluviatilis</i>	1	0	8	0	0	9
<i>Ae. scapularis</i>	0	2	15	1	0	18
<i>Ae. serratus</i>	0	0	1	0	0	1
<i>An. strodei</i>	0	0	1	0	0	1
<i>Cx. (Cux.) spp.</i>	14	24	163	14	4	219
<i>Cx. chidesteri</i>	1	0	1	0	0	2
<i>Cx. nigripalpus</i>	17	17	74	12	0	120
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	4	18	60	3	0	85
<i>Cx. (Mel.)sç Melanoconion</i>	0	0	1	0	0	1
<i>Ps. ferox</i>	0	2	5	0	1	8
TOTAL	38	64	333	30	5	470

O qui-quadrado para as amostras capturas em todos os parques, teve o resultado de $p=0,83495$. Ao se considerar a representação de $\alpha=0,05$, podemos inferir a existência de aleatoriedade em relação à oferta de repasto sanguíneo e o culicídeo ingurgitado.

Da mesma forma como feito com os dados do Parque Anhanguera, alguns dados (menos expressivos) foram retirados da análise, afim de, encontrar alguma associação entre a espécie de culicídeo ingurgitado e sua fonte alimentar. Retirou-se o hospedeiro primata da análise (por só ter sido constatado no Parque Anhanguera), além de excluir espécies de mosquitos que não tiveram mais que 09 exemplares coletados (dessa forma, conseguiu-se perfeitamente utilizar o que preconiza o conceito do qui-quadrado, onde no

máximo 20% das caselas do valor esperado fiquem inferiores a 5), mas mesmo com esses atributos descritos acima o valor foi de $p=0,26178$, indicando aleatoriedade entre a oferta do repasto e o culicídeo.

5 DISCUSSÃO

Nos últimos anos, as mudanças ecológicas produzidas por atividades humanas são apontadas como uma das causas que contribuem para a expansão geográfica de vetores e arboviroses (DASZAK et al., 2001; VASCONCELOS et al., 2001; KRUSE et al., 2004; PATZ et. al., 2004; SUTHERST, 2004; MARASSÁ, 2009a). Com base nisso, para a cidade de São Paulo, um grande centro urbanizado, temos os parques, como locais de lazer à população paulistana, bem como sendo um “refúgio” remanescente da flora e da fauna local, destacando-se, os culicídeos.

Recentemente MEDEIROS et al. (2013) investigaram a diversidade de culicídeos, que habitam essas áreas, bem como o papel epidemiológico de tais espécies com a transmissão de patógenos. PEREIRA et al.(2001), isolaram o arbovírus Ilhéus com potencial de infectar humanos, o qual pode ser transmitidos por potenciais espécies de culicídeos, em área densamente habitada, representada pelo Parque Ecológico do Tietê na cidade de São Paulo.

A investigação das fontes alimentares dos culicídeos capturados em parques urbanizados, como é o foco do presente estudo, se faz necessária para o entendimento das possíveis redes de transmissão de certas doenças que podem ser instaladas no ambiente urbano.

A detecção de repastos sanguíneos em artrópodes hematófagos pode ser desenvolvida por várias técnicas laboratoriais. Uma delas, que já foi realizada com sucesso no passado, é a técnica de reação de complementos, uma reação imunológica que consiste na determinação da presença ou na

quantidade de antígenos ou anticorpos, quando um dos elementos seja conhecido (CANDEIAS et al., 1980, STAAK et al., 1981). Outra técnica bastante usual nos laboratórios é a técnica imunoenzimática ELISA indireta, na qual consiste em detectar o sangue contido no abdome de fêmeas ingurgitadas, por meio de anticorpos específicos produzidos pelo sistema imunológico do animal picado pelo mosquito. No método, os anticorpos ligam-se aos anticorpos adsorvidos à placa do teste e, após essa fase, anti-imunoglobulinas marcadas com enzima ligam-se aos anticorpos específicos. A reação da enzima degrada o substrato e realça a cor, que indica reação positiva (CHOW et al., 1993; DEUS, 2011).

Muitos trabalhos de investigação de repastos alimentares de insetos hematófagos foram realizados baseados no princípio da técnica ELISA indireta, como a dissertação de LAPORTA em 2007, que estudou as fontes alimentares de mosquitos *Culex quinquefasciatus* e *Culex nigripalpus* coletados no Parque Ecológico do Tietê (região metropolitana da cidade de São Paulo), como um dos parâmetros investigativos da ecologia dessas espécies em ambientes antropizados, MARASSÁ em 2009a, padronizou e identificou os repastos alimentares por técnicas de ELISA de algumas espécies dos gêneros *Aedes*, *Culex*, *Sabethes* e *Haemagogus* coletados em área de epizootia de febre amarela na região do Rio Grande do Sul. SEI em 2009, padronizou a técnica para o encontro de 4 fontes alimentares distintas para averiguar os repastos de espécies de flebotomíneos capturados nas regiões da Serra da Cantareira, no município de Cotia e de Iporanga no Estado de São Paulo. Assim como DEUS (2011) investigou o hábito alimentar das espécies *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* na região de Marília (interior do Estado de São Paulo).

Entretanto, HUNTER & BAYLY (1991) e BOAKEY et al., em 1999, salientam que o métodos imunoenzimáticos requerem a preparação de um soro estéril contra o sangue de cada espécie hospedeira em potencial, o que pode ser uma dificuldade no processo laboratorial. Além, das etapas pré-adsorção serem necessárias para a tentativa de se eliminar reações cruzada.

Assim, análises baseadas no DNA de espécies hospedeiras podem fornecer maiores especificidades na abordagem da identificação do repasto alimentar feita pelo culicídeo (GOKOOL et al., 1993; BOAKEY et al., 1999). Para a realização desse presente estudo, os *primers* foram desenhados segundo CHANG et al. (2008), com exceção do *primer* de primatas, o qual foi modificado para primatas do novo mundo.

Em 13 meses de monitoramento em sete parques selecionados na cidade de São Paulo, foram capturadas 14 espécies de fêmeas de culicídeos ingurgitadas. Sendo a aspiração a técnica mais efetiva para as fêmeas de mosquitos ingurgitadas, onde consistiu em capturar as mesmas na vegetação, local de repouso do culicídeo após o repasto sanguíneo, corroborando a mesma técnica de captura feita por FORATTINI et al., em 1981 e em FORATTINI et al. em 1989, no estudo de hábito alimentar de mosquitos capturados no Vale do Ribeira.

Ao se tratar os dados descritivamente (uma vez que, o nosso *n amostral* se diferencia para cada espécie de mosquito coletada nos parques) a espécie *Aedes albopictus*, apareceu em três dos sete parques estudados, sendo que no Parque Anhanguera e Shangrilá, a espécie realizou repasto alimentar em cães e no Parque Ibirapuera em humanos. MARQUES & GOMES (1997) mostraram certa atratividade da espécie por sangue humano em um estudo realizado na

região do Vale do Paraíba em São Paulo, sendo que, SULLIVAN et al. (1971) e SAVAGE et al. (1993) demonstraram que no caso da alimentação a espécie tende a ser eclética com características oportunistas, salientando a importância da investigação do perfil biológico e ecológico do *Aedes albopictus*, uma vez que essa espécie é o vetor principal do vírus da dengue na região asiática, tendo sido registrado o primeiro encontro nas Américas do *Aedes albopictus* naturalmente infectado com o vírus da dengue, durante um surto da doença no México (IBANEZ-BERNAL et al., 1997; TAIUL, 2001). GOMES et al. (2008) salientam a presença dessa espécie em regiões no sul do país, onde foram registrados casos de febre amarela, elucidando a possível participação dessa espécie como vetora.

A espécie *Aedes crinifer*, por sua vez, foi encontrada ingurgitada apenas no Parque Shangrilá, tendo realizado seu repasto alimentar em humanos e aves. SILVA & LOVEZEI (1998) em um estudo em Curitiba, Paraná, utilizando-se de isca humana, verificou que *Aedes crinifer* foi à quarta espécie a apresentar alta antropofilia. MARASSÁ et al. (2009b) descreveram repastos sanguíneos nas fontes humanas, em aves e primatas em área de epizootia de febre amarela na região sul do Brasil. LOPES & LOVEZEI (1995) e GOMES et al. (2009) discutem sobre a pouca adaptação que essa espécie tem em colonizar ambientes altamente antropizados, fato que colabora o encontro dessa espécie apenas em um dos parques estudados.

Aedes fluviatilis foi capturada em 4 parques: Alfredo Volpi, Chico Mendes, Ibirapuera e Shangrilá, sendo que em todos os parques, o sangue de humano serviu de fonte de repasto, detectando no Parque Alfredo Volpi a fonte de sangue de cães e no Ibirapuera detectou-se além de humanos, o sangue de

cães e aves. LOPES & LOVEZEI (1996) em um estudo utilizando iscas humanas, discutem um baixo grau de antropofilismo por parte da espécie, estudo esse realizado em uma área preservada de Londrina, Paraná. Tal resultado se configura de forma antagônica com os nossos resultados, uma vez que os humanos foram fontes exclusivas de alimentação em 2 parques estudados e estiveram presentes em todos os parques onde tal espécie de culicídeo foi capturada ingurgitada, isso talvez possa ser compreendido baseando-se no aspecto oportunista por parte do culicídeo em se alimentar das fontes mais disponíveis no local, visto que, em todos os parques onde a captura da espécie *Aedes fluviatilis* ocorreu, os mesmos estão inseridos em uma área densamente habitada diferentemente do trabalho citado que ocorreu em área menos povoada. Em relação à epidemiologia, existe a hipótese não confirmada da atuação do *Aedes fluviatilis* na transmissão do vírus da febre amarela na natureza (FORATTINI, 2002; PECOR et al, 2002; DIBO et al, 2011), uma vez que a capacidade vetorial do mesmo já foi comprovada em laboratório (DEGALLIER et al., 2001), tendo eficácia pequena na transmissão da dirofilariose canina e podendo infectar-se com plamódios aviários em laboratório (DEGALLIER et al., 2001).

A espécie *Aedes scapularis*, nos parques Anhanguera, Ibirapuera e Santo Dias apresentou perfil de se alimentar exclusivamente em humanos (antropofílicos) tal como foi descrito por FORATTINI et al em 1989 sobre a tendência em que o *Aedes scapularis* se alimenta de mamíferos de médio porte, entre eles, a espécie humana. Já nos parques Chico Mendes, Shangrilá e Carmo, além de repastos sanguíneos realizados em humanos, tal espécie foi evidenciada se alimentando em cães, roedores e aves. Em contexto

epidemiológico, tal fato deve ser levado em consideração, uma vez que, a presente espécie tem a competência em vincular e transmitir diversas arboviroses (MITCHAEAL & FORATTINI, 1984) e algumas filarioses (LABARTHE et al., 1998), posto que, LOURENÇO DE OLIVEIRA & DEANE (1995) encontraram larvas de *Dirofilaria immitis*, nos túbulos de Malpighi de *Ae. scapularis*, sugerindo que tal mosquito seja o vetor primário da dirofilariose em cães, na região litorânea do Rio de Janeiro. Em relação aos repastos em aves e roedores, VICENTIN, em 2007, registrou tais hospedeiros em baixa quantidade, no Parque Ecológico do Tietê. Além de reafirmar o indicativo que TAIPE-LAGOS & NATAL em 2003, presenciaram no Parque Ecológico do Tietê, sobre a adaptação dessa espécie em ambientes com impactos antrópicos, desprovidos de vegetação arbórea primitiva (FORATTINI et al., 1986b; FORATTINI et al., 1995). EDMAN (1985) considera tal espécie oportunista, pois faz repastos alimentares em diversos animais domésticos, além do homem.

A espécie *Aedes serratus*, foi capturada apenas no Parque Anhanguera, onde foi possível a identificação de duas fontes alimentares, sendo essa em aves e humanos. Fato que GUIMARÃES et al, descreveram em 1987 no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, no Estado do Rio de Janeiro, repastos provindos de aves, como também foi encontrado por FORATTINI et al, em 1989, no Vale do Ribeira, os repastos em aves e humanos. O papel epidemiológico do *Aedes serratus* ainda é pouco conhecido (CARDOSO et al., 2010), porém, alguns encontros de infecção natural sugerem a competência vetora dessa espécie para transmitir alguns arbovírus (VASCONCELLOS et al., 1991). E há registros em condições naturais, o *Aedes serratus* infectado com o

vírus causador da encefalite de São Luis e Oropouche na Amazônia brasileira (VASCONCELLOS et al., 1998).

Anopheles strodei foi a única espécie da subfamília Anophelinae coletada ingurgitada, sendo a mesma capturada em dois parques: Chico Mendes e Shangrilá, tendo sido encontrados os repastos em cães e humanos, respectivamente. LOPES & LOVEZEI (1996) identificaram repastos em humanos, provindos de coletas em iscas humanas e RACHOU (1958) descreveu que *Anopheles strodei* é uma espécie não-domiciliada e embora, zoófila, pode fazer repastos em humanos e pode ser encontrada intradomiciliariamente. Em relação ao impacto epidemiológico dessa espécie em ambiente urbano, como em cidades do Sudeste brasileiro, FORATTINI (2002) e REZENDE et al.(2009) salientam o fato dessa espécie ser um vetor secundário na transmissão de plasmódios causadores de malária.

A espécie *Coquillettidia venezuelensis*, foi capturada ingurgitada apenas no Parque do Carmo, é interessante ressaltar que tal espécie possui modificações estruturais esclerotizadas em seu sifão respiratório quando em fase imatura (larva), o que permite a fixação da mesma no sistema respiratório de plantas aquáticas, utilizando assim, o ar provindo dos parênquimas da vegetação (CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994) sugerindo assim, que os lagos existentes no Parque do Carmo, possam servir de abrigo para essa espécie de culicídeo. A fonte alimentar identificada na análise do repasto sanguíneo foram em cães e humanos. Estudos de FORATTINI et al. (1987) averiguaram os mesmos repastos alimentares realizados pela espécie, encontrando também repastos mistos realizados em humanos e aves. Sob contexto epidemiológico, no ano de 1955, o vírus Oropouche foi isolado em um

pool macerado de *Coquillettidia venezuelensis*, porém o papel como vetor silvestre da espécie não foi esclarecido (ANDERSON et al., 1961; HENRIQUE; 2008), FORATTINI (2002) salienta que muitas espécies do gênero *Coquillettidia* já foram encontradas infectadas por diversos arbovírus, entre os quais, o da Encefalite Equina Venezuelana, do Oeste e do Leste. Tendo as fêmeas, comportamento hematófago agressivo, o que auxilia as espécies serem vetores competentes.

Dentre o gênero *Culex*, a espécie *Culex chidesteri* foi capturada ingurgitada tanto no Parque Ibirapuera quanto no Parque Shangrilá, sendo detectado o repasto alimentar em humanos para o Ibirapuera, enquanto que, para o parque Shangrilá, as fontes hospedeiras de repasto foram humanos e aves. ALMIRÓN & BREWER (1995) em um estudo de investigação alimentar em culicídeos na cidade de Córdoba, Argentina, utilizando-se de iscas animais, verificou certa relação de “preferência” entre as fontes alimentares representadas por coelhos e galinhas por parte dos espécimes de *Culex chidesteri* coletados, indicando que tal espécie se alimenta de aves e de espécies de mamíferos, dentre os quais a espécie humana. GOMES & FORATTINI (1990) descreveram que tal espécie é altamente adaptada em ambientes urbanos. AHID & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA (1999) em um estudo no Maranhão, detectaram, nos poucos espécimes de *Culex chidesteri* capturados, repastos sanguíneos feitos apenas em humanos.

A espécie *Culex* (*Cux.*) grupo *Coronator* assim como o *Ae.serratus* foi capturada apenas no Parque Anhanguera, onde tal espécie se alimentou exclusivamente de fonte humana, contrapondo os estudos de FORATTINI et al (1986 a, 1986 b, 1987) na região do Vale do Ribeira, GOMES et al (1987)

também na região do Vale do Ribeira e LOPES & LOZOVEI (1995) na região urbana de Londrina, no Paraná, onde a espécie apresentou padrões de ornitofilia. Fato que merece atenção uma vez que, há espécies pertencentes ao complexo do grupo coronator, responsáveis pela transmissão de algumas arborviroses como o Vírus da Encefalite de São Luis e o Vírus da Encefalite Equina Venezuelana (DIBO et al., 2011).

Espécimes de *Culex nigripalpus* apresentaram quatro fontes para alimentação no Parque Anhanguera e Shangrilá: roedores, aves, cães e humanos, sendo que no Parque Ibirapuera, apenas o roedor não foi identificado e no Parque Santo Dias, apenas o hospedeiro humano foi encontrado. GUIMARÃES et al.(1987) constataram a presença de sangue de aves e humanos nos repastos realizados pela espécie e LAPORTA (2007) em um estudo no Parque Ecológico do Tietê, detectou o repasto da espécie *Culex nigripalpus* em roedores e cães, similar aos resultados encontrados por nosso grupo no Parque Anhanguera. Segundo LAPORTA et al. (2008), os roedores são reservatórios potenciais de arbovírus como o Mucambo e São Luis o que pode sustentar uma transmissão de arbovírus entre humanos e roedores, tendo como vetor o *Culex nigripalpus*.

Com as mesmas fontes hospedeiras para repasto alimentar, o *Culex quinquefasciatus* apresentou perfil alimentar idêntico ao *Culex nigripalpus* para o Parque Anhanguera, se alimentando de quatro fontes hospedeiras (aves, cães, humanos e roedores), sendo que no Parque Ibirapuera foram identificadas três fontes alimentares (aves, cães e humanos), nos Parque Chico Mendes e Shangrilá as fontes alimentares provindas de cães e humanos foram detectadas e no Parque do Carmo apenas repastos em humanos Em 1987,

FORATTINI et al. detectaram as mesmas fontes alimentares para a referida espécie de mosquito, ressaltando assim como MUTURI et al. (2008) um grau de antropofilia pela espécie. ALMIRÓN & BREWER (1995) defendem que essa espécie possui grande valência para se alimentar de diversas fontes alimentares. Essa informação é válida, uma vez que, na cidade de São Paulo, esta espécie tem grande sinantropia em ambientes urbanos, sendo fator de incomodo à população (TAIPE-LAGOS & NATAL, 2003; MORAIS et al., 2007).

Espécimes que foram identificadas como *Culex (Cux.)* spp. estiveram presente em praticamente todos os parques estudados (exceto no Parque Alfredo Volpi) e foram os mosquitos que tiveram a maior abrangência nas fontes de repasto sanguíneo, realizando-os nas seis fontes alimentares identificadas nos parques (incluindo repastos sanguíneos em primatas no Parque Anhanguera), assim como demonstra FORATTINI et al., em 1987, que encontrou mosquitos fêmeas de *Culex (Cux.)* spp. ingurgitadas com sangue de aves, humanos, cães e roedores, sendo que MARASSÁ em 2009a, verificou repastos sanguíneos realizados em primatas. Epidemiologicamente, o grupo de espécies de *Culex (Cux.)* spp. é um grupo de mosquitos o qual abrange diversas espécies potenciais vetoras de arbovírus. Em geral, podem ter padrões alimentares mais ornitofílicos, os quais podem veicular agentes virais entre hospedeiros aviários e humanos. Existindo diferenças importantes, entre a biologia do mosquito vetor e as condições ambientais, o que influencia diretamente no papel transmissor do mosquito (FORATTINI et al., 1995).

A espécie *Culex (Melanoconion)* seção *Melanoconion*, foi encontrada apenas no Parque Alfredo Volpi, sendo capturado apenas um espécime, tido o repasto sanguíneo feito em humanos. FORATTINI et al, em 1991, descrevem

as observações de domiciliação de espécies desse complexo em áreas que sofreram o impacto de alterações antrópicas, uma vez que tal espécie possui associações em ambientes não-antropizados e preservados. Na região do Vale do Ribeira, FORATTINI et al, em 1989, verificaram também repastos dessas espécies realizadas em fontes humanas, assim como o nosso achado no Parque Alfredo Volpi. A implicação epidemiológica desse achado, se dá pois MITCHELL et al (1985; 1987) verificaram que algumas espécies pertencentes a esse complexo, podem desempenhar possíveis papéis como vetores na veiculação enzoótica de alguns arbovírus, entre os quais o vírus causador da Encefalite Equina Venezuelana.

Psorophora ferox foi capturada nos Parques Anhanguera e Shangrilá, sendo encontrado repastos em humanos nos dois parques e em cães e primatas no Parque Anhanguera, dados que corroboram ao achado de FORATTINI et al (1987), que descrevem a predileção de sangue de mamíferos por parte dessa espécie. Atenção a isso deve ser dada uma vez que GOMES et al. (2010) salientaram o registro das espécies *Psorophora ferox* e *Aedes scapularis* infectados com vírus da Febre Amarela Silvestre, em áreas onde ocorreram eventos epizooticos, sem nenhuma investigação posterior dessas espécies nos focos de Febre Amarela, tendo sido isolado também o vírus Roccio em *Psorophora ferox* na Região do Vale do Ribeira (LOPES et al., 1981) em época de surto dessa doença.

Dessa forma, é visível que as fontes alimentares encontradas em nossa investigação nos sete parques espalhados pela cidade de São Paulo, já foram constatadas na literatura como sendo fontes hospedeiras de repastos para tais espécies de mosquitos mencionados.

Levando em consideração que a abordagem feita de forma descritiva dos resultados foi de forma pontual e que o número de espécimes de cada espécie não é igual ou não foram capturadas em todos os parques de forma homogênea, foi realizado o teste estatístico de associação de Qui-quadrado, afim de, tentar averiguar alguma associação estatística da “preferência” entre as espécies de culicídeos e as fontes alimentares (hipótese 1 descrita no subitem 3.5.1 dos Materiais e Métodos) ou se o fato do encontro das fontes alimentares e o repasto sanguíneo são ao acaso, fortalecendo os princípios de que as espécies de insetos hematófagos são ecléticas e oportunistas (FORATTINI, 2002; DIAS-SVERSUTTI et al., 2007; ALENCAR et al., 2005).

Assim como já mencionado nos Resultados (tópico 4 desse trabalho), para o cálculo de qui-quadrado foram estabelecidos critérios em relação a técnica de captura do espécime ingurgitado (eliminando-se assim, dados provindos de coletas da Shannon, onde o sangue dos capturadores podem gerar um viés de amostragem em relação aos repastos em humanos) e foi descartado os parques com um *n amostral* em que a maioria das capturas foi realizada pela técnica de Shannon, motivo o qual tanto o Parque Alfredo Volpi quanto o Parque do Carmo não possuem tal análise estatística.

Considerando o valor de $\alpha=0,05$, o parque que mais se aproximou da hipótese H1, foi o Parque Anhanguera com valor de $p=0,07$ quando analisamos todas as fontes alimentares e as suas respectivas espécies de culicídeos, fato o qual, pode ser explicado pela variável de repasto em primatas não humanos que foi observada apenas nesse parque e por apenas duas espécies de culicídeos, identificando cinco repastos, dos quais quatro foram de espécimes de *Culex (Cul.)* spp. Porém mesmo assim, tal valor de “p” nos informa

aleatoriedade entre os repastos realizados pelas espécies e suas fontes, entretanto, tal valor de “p” nos sugere que pode haver uma tendência associativa entre *Culex* (*Culex*) spp. e primatas, mas é necessário coletar mais espécimes para evidenciar alguma relação. Quando excluimos a variável fonte de repasto primatas da análise, a mesma obtém o valor de $p = 0,17$, o que nos reforça novamente aleatoriedade entre culicídeos e suas fontes de alimentação.

O fato de 80% dos repastos feitos em primatas sejam da espécie *Culex* (*Cux.*) spp., talvez seja explicada por esses macacos estarem presos em recintos, sendo fontes mais fáceis de serem encontradas.

O Parque Shangrilá, o qual apresentou o maior número de fêmeas ingurgitadas coletadas e além de ser o parque com maior número em espécies, apresentou um valor de $p = 0,16$ mostrando também aleatoriedade entre o repasto alimentar e a espécie de culicídeo, sendo o segundo valor mais baixo encontrado entre os qui-quadrado.

Os Parques Chico Mendes, Ibirapuera e Santo Dias apresentaram os valores de $p = 0,98$, $p = 0,99$ e $p = 0,97$, respectivamente, evidenciando a aleatoriedade entre as espécies de mosquitos e as fontes alimentares, fatos que corroboram com FORATTINI (1996) que salienta a condição oportunista por partes de inúmeras espécies de mosquitos, baseando-se nos perfis ecléticos do próprio culicídeo, entre eles, o horário da hematofagia, o tipo de voo e a agressividade no ato do repasto.

Tendo o cálculo do qui-quadrado para todos os parques, considerando os parques como sendo um ecótopo único, apresentou um valor de $p = 0,83$,

mostrando que em tal ecótopo não há associação entre a fonte alimentar e a espécie de culicídeo.

Os repastos mistos encontrados em nosso estudo foram identificados entre humanos e aves, humanos e cães e humanos e roedores, o que EDMAN & SCOTT (1987) e BRIGEL & HORLER (1993) consideram que os repastos mistos podem ser resultantes do comportamento defensivo do hospedeiro e ou do estado nutricional dos mosquitos. No que diz respeito ao comportamento das fontes hospedeiras, as aves e roedores são mais propensos à frequentes interrupções durante o repasto (FORATTINI et al., 1987).

A essas observações, de mais de uma fonte alimentar no trato digestivo do mosquito, cabe indicar que ou essas espécies não apresentaram concordância gonotrófica, ou que a ingestão de sangue foi interrompida por reação defensiva provocada pela fonte alimentar. Ressalta-se que em todos os repastos mistos foi obtido com a presença de sangue humano, o que segundo FORATTINI et al. (1987) vêm demonstrar a importância desse comportamento em estudos epidemiológicos. Tais resultados, também corroboram com os achados de MARASSÁ (2009a).

É visível que, entre os culicídeos mais frequentes, a fauna na cidade de São Paulo é homogênea, onde os parques servem de abrigo para as mesmas espécies de mosquitos.

Em relação aos 13 meses de captura, é visível que em todos os meses do ano há a presença de culicídeos em parques, tendo uma diminuição da quantidade nos meses de Junho a Setembro de 2011, voltando a ter valores mais altos nos meses que compreendem as estações mais quentes, tal fator é referido às condições ambientais nos meses que compreendem o inverno,

onde baixas temperaturas, menor número de possíveis criadouros para as larvas estão diretamente relacionados às condições da biologia do desenvolvimento e a ecologia dos mosquitos (BARNES & RUPERT,1996; CONSOLI & LOURENÇO-DE-OLIVEIRA,1994; FORATTINI, 2002; GILLOT, 2005).

Alguns picos em relação à quantidade de mosquitos capturados ingurgitados foram notados em meses como Março, Maio e em Outubro de 2011,assim como um aumento gradual em Novembro de 2011 à Fevereiro de 2012 em algumas espécies de mosquitos, tais picos nos evidenciam parâmetros ambientais propícios ao desenvolvimento e ao encontro de fontes alimentares por parte dos culicídeos, uma vez que, ao se observar as fontes alimentares em relação aos meses, os picos são coincidentes, sendo em humanos a maioria dos repastos, fato explicado, pois em dias mais quentes a quantidade de humanos utilizando os parques como locais de lazer é maior, o que auxilia na oferta de alimentos por parte das fêmeas.

O Parque Anhanguera, localizado na região Norte da cidade de São Paulo, entre os parques estudados, foi o que apresentou espécies de mosquitos que fizeram seu repasto alimentar em seis fontes hospedeiras das sete estudadas. Isso talvez possa ser entendido, pelo fato da localização do parque ficar em área mais periurbana, não havendo tanta influência de casas e presença de humanos no local, pois os demais parques estão inseridos em áreas densamente urbanizadas, o que justifica em muitos meses ter sido detectado apenas sangue provindo de humanos nos repastos analisados. Segundo FORATTINI (2002), o raio de voo de um mosquito pode chegar a 01 quilometro de distância, o que nos sugere que os mosquitos podem estar

utilizando-se de hospedeiros que estão nas casas ao entorno do parque como fontes de repasto e indo realizar a digestão e oviposição em abrigos e criadouros existentes nos parques.

Desse modo, afirmamos que as espécies de culicídeos coletadas durante os 13 meses de capturas realizadas nos parques Alfredo Volpi, Anhanguera, Carmo, Chico Mendes, Ibirapuera, Santo Dias e Shangrilá são espécies oportunistas em relação a sua fonte de alimentação, não havendo nenhuma tendência em relação à “preferência” por hospedeiros fonte, fato que merece atenção pois, mudanças na dinâmica de transmissão das doenças transmitidas por mosquitos vetores podem ser desencadeadas com a introdução de novos hospedeiros e reservatórios de patógenos na cidade de São Paulo.

6 CONCLUSÕES FINAIS

- 1 Foram identificadas 14 espécies de culicídeos ingurgitadas nos 7 parques estudados, mostrando um caráter homogêneo da distribuição das espécies de mosquitos nas áreas verdes da cidade de São Paulo.
- 2 Em relação aos hospedeiros utilizados como fontes de alimentação, destaca-se os humanos como sendo a principal fonte de alimentação dos culicídeos durante o período estudado.
- 3 Entre a associação das espécies de culicídeos e suas respectivas fontes alimentares, denotou-se aleatoriedade em todos os parques estudados, não sendo encontrada nenhuma tendência em relação espécie de culicídeo e a origem da fonte de repasto, demonstrando comportamento oportunista.
- 4 Espécies de gêneros diferentes de mosquitos possuem o mesmo perfil alimentar entre si , assim como as mesmas espécies coletadas em parques diferentes, tiveram como fonte alimentar hospedeiros semelhantes.
- 5 Dentre as técnicas de captura utilizada em parques, a nível individual ou considerando os 7 parques como um ecótopo único, a mais efetiva em capturar as fêmeas ingurgitadas foi a técnica de aspiração.
- 6 O estudo da investigação do perfil alimentar dos culicídeos em parques da cidade de São Paulo pode auxiliar na compreensão e na detecção de

possíveis implicações epidemiológicas que podem ser instaladas em ambiente urbano, bem como auxiliar em ações de práticas e manejos para controle de vetores e de insetos causadores de incomodo a população.

7 REFERÊNCIAS

AHID SMM; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA RL. Mosquitos vetores potenciais de dirofilariose canina na região Nordeste do Brasil. Rev. Saúde Pública.1999;33:560-65.

ALENCAR J; LOROSA ES; SILVA JS; GIL-SANTANA HR; GUIMARÃES AE. Fontes alimentares de *Chagasia fajardi* (Lutz, 1904) (Diptera, Culicidae) de diferentes regiões do Brasil. Rev. Brasileira de Zoociências.2005;7:181-84.

ALMIRÓN WR; BREWER MM. Preferencia de hospedadores de Culicidae (Diptera) recolectados en el centro de la Argentina. Rev. Saúde Pública.1995;29:108-14.

ANDERSON CR; SPENSE WG; DOWNS THG. Oropoche virus: a new human disease agent from Trinidad, West Indies. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.1961;10:574-78.

BARNES RD; RUPERT E. Insetos. In: Zoologia dos invertebrados. 6 ed.São Paulo: Editora Roca.1996. p 803-840.

BEIER JC, PERKINS PV, WIRTZ RA, KOROS J, DIGGS D. Bloodmeal Identification by Direct Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), tested on *Anopheles* (Diptera: Culicidae) in Kenya. Journal of. Medical Entomology.1988;25:9-16.

BOAKEY DA, TANG J,TRUC P, MERRIWEATHER A, UNNASCH TR. Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. Medical and Veterinary Entomology.1999;13:282-287.

BRIGEL H; HORLER E. Multiple blood meals as reproductive strategy in *Anopheles* (Diptera, Culicidae). Journal of Medical Entomology.1993;30:975-85.

BUSTAMANTE FM; PIRES WM. Shannon dawn trap: its use in the verification of the durability of residual toxic effects of insecticides. Folha Médica.1951;32:53-5.

CANDEIAS JAN; RÁCZ ML; BREVIGLIERI JC; ROSENBURG CP. A reação de fixação do complemento na identificação de rotavírus em humanos. Rev. Saúde Pública.1980;14:420-4.

CARDOSO JC; PAULA MB; FERNANDES A; SANTO E; ALMEIDA MAB; FONSECA DF; SALLUM MAM. Novos registros e potencial epidemiológico de algumas espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) no Estado do Rio Grande do Sul. Rev. Sociedade. Brasileira de Medicina Tropical.2010;43:552-56.

CASTRO MC; MONTEMOR RL; SAWYER DO; SINGER BH. Malaria risk on the Amazon frontier. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of American.2006;103:2452-7.

CHAIMOWICZ F. Health of Brazilian elderly just before of the 21st century: current problems forecasts and alternatives. Rev. Saúde Pública.1997;31:184-200.

CHANG MC, TENG HJ, CHEN CF, CHEN YC, JENG CR. The resting sites and blood-meal sources of *Anopheles minimus* in Taiwan. Malaria Journal.2008;9:100-05.

CHOW E, WIRTZ RA, SCOTT TW. Identification of blood meals in *Aedes aegypti* antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. Journal American Mosquitoes Control Association.1993;9:195-205.

CHRISTOPHERS S R. The development of the egg follicle in *Anopheles*. São Francisco: Editora Paludism.1911.p.73-89.

CLEMENTS AN. The biology of mosquitoes: Development, nutrition and reproduction. Editora UK Cabi Publishing.1992.p.523.

CONSOLI RAGB; OLIVEIRA RL. *Principais Mosquitos de Importância Sanitária no Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz.1994. 228p.

CPHN (Centro de Pesquisas de História Natural). *Conheça o verde*. São Paulo: Prefeitura do Município de São Paulo, 1988

DASKAZ P; CUNNINGHAM AA; HYATT AD. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Tropica*.2001;78:103-16.

DEGALLIER N; TEIXEIRA JMS; CHAIB ATM; BARBOSA HF; CARVALHO MSL; OLIVEIRA C; KNOX MB. Avaliação do risco de transmissão silvestre da dengue no Brasil. *IESUS*.2001;10:13-15.

DEUS JT. Hábito alimentar de *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* e sua importância na capacidade reprodutiva. Tese de pós- graduação da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.2011.

DIAS- SVERSUTTI AC; SCODRO RB; REINHOLD-CASTRO KR; NEITZKE HC; TEODORO U. Estudo de preferência alimentar de *Nyssomyia neivai* (Pinto) e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Diptera: Psycodidae) em área rural do Paraná. *Neotropical Entomology*.2007;36:953-59.

DIBO MR; MENEZES RMT; GHIRARDELLI CP; MENDONÇA AL; NETO FC. Presença de culicídeos em município de porte médio do Estado de São Paulo e risco de ocorrência de febre do Nilo Ocidental e outras arboviroses. *Rev. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*.2011;44:496-503.

EDMAN JD. Blood feeding behavior. In:NAYAR JK. Bionomics and physiology of *Aedes taeniorhynchus* and *Aedes sollicitans* the salt marsh mosquitoes of Florida. University Florida.1985 (Bulletin 852).

EDMAN JD; SCOTT W. Host defensive behavior and the feeding success of mosquitoes. *Insect Science and its Application*.1987;8:617-22.

EDMAN JD. Fitness advantages in multiple blood-feeding the *Ae. aegypti* example. In: Ecological Aspects for Application of Genetically Modified Mosquitoes. Editora: Kluwer Academic Publishers.2003.p.568.

EDRISSIAN GH, MANOUCHEHRY AV, HAFIZI A. Application of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for determination of the human blood index in Anopheline mosquitoes collected in Iran. *Journal American Mosquitoes Control Association*.1985;1:349-52.

FALAVIGNA-GUILHERME AL; SILVA AM; GUILHERME EV; MORAIS DL. Tetraspective study of malaria prevalence and *Anopheles* genus in the area of influence of the Binational Itaipu Reservoir. Rev. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.2005;47:81-6.

FONSECA JS; MARTINS GA. Curso de Estatística. São Paulo: Editora Atlas S.A. 2011. 6ª edição. 320 p.

FORATTINI OP.; ISHIATA GK.; RABELLO EX.; COTRIM MD. Observações sobre os mosquitos *Culex* da cidade de São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública.1973;7:315-30.

FORATTINI OP; GOMES AC; SANTOS JFL; GALATI EAB; RABELO EX; NATAL D. Observações sobre a atividade de mosquitos Culicidae em mata residual do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública.1981;15:557-586.

FORATTINI OP.; GOMES AC.; NATAL D.; SANTOS JL. The activity of Culicidae mosquitoes in plain forest and an epidemiological profile of several environments in the Ribeira Valley, São Paulo, Brazil. Rev. Saúde Pública.1986a;20:178-203.

FORATTINI OP; GOMES AC; NATAL D; KAKITANI I; MARUCCI D. Observação sobre a atividade de mosquitos Culicidae em matas primitivas da encosta no Vale do Ribeira. Rev. Saúde Pública.1986b;20:1-20.

FORATTINNI OP; GOMES AC; NATAL D; KAKITANI I; MARUCCI D. Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública.1987;2:171-87.

FORATTINI OP; GOMES AC; NATAL D; KAKITANI I; MARUCCI D. Preferências alimentares e domiciliação de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil, com especial referencia a *Aedes scapularis* e *Culex Melanoconion*. Rev. Saúde Pública.1989;23:9-19.

FORATTINI OP; GOMES AC; KAKITANI I; MARUCCI D. Observações sobre a domiciliação de mosquitos *Culex* (*Melanoconion*), em ambiente com acentuadas modificações antrópicas. Rev. Saúde Pública.1991;25:257-66.

FORATTINI OP, KAKITANI I, MASSAD E, MARUCCI D. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 10- Survey of adult behaviour of *Culex nigripalpus* and other species of *Culex* (*Culex*) in South- Eastern Brazil. Rev. Saúde Pública.1995;29:271-8.

FORATTINI OP. *Culicidologia Médica*. São Paulo. Editora: Edusp, 1996 v1. 730 p.

FORATTINI, OP. *Culicidologia Médica*. São Paulo. Editora: Edusp, 2002. v2. 860 p.

GARCEZ- REJON JEG, BLITVICH BJ, FARFAN-ALE JA, LOROÑO-PINO MA, CHI CHIM WA, FLORES-FLORES LF, ROSADO-PAREDES E, BAAK-BAAK C, PEREZ-MUTUL J, SUAREZ-SOLIS V, FERNANDEZ-SALAS I, BEATY BJ. Host-feeding preference of the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Yucatan State, Mexico. Journal of Insect Science.2010;10:32-8.

GENBANK. NIH genetic sequence database. Disponível em:< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>>. Acesso em Maio de 2011.

GILLOTT C. Entomology. Canadá. Editora: Springer, 2005. v3.p.834.

GOKOOL S; CURTIS CF; SMITH DF. Analysis of mosquitoes bloodmeals by DNA profiling. Medicine and Veterinary. Entomology.1993;17:208-15.

GOMES AC; RABELLO EX; NATAL D. A new collecting chamber for a CDC-miniature trap. Rev. Saúde Pública.1985;19:190-198.

GOMES AC; FORATTINI OP; NATAL D. Composição e atividade de mosquitos Culicidae. Emprego de armadilha CDC no Vale do Ribeira, no Estado de São Paulo. Rev. Saúde Pública.1987;21:363-70.

GOMES AC; FORATTINI OP. Abrigos de mosquitos *Culex* (*Culex*) em zona rural (Diptera:Culicidae). Rev. Saúde Pública.1990;24:394-7.

GOMES AC; TORRES MAN; GUTIERREZ MFC; LEMOS FL; LIMA MLN; MARTINS JF; COSTA ZGA. Registro de *Aedes albopictus* em áreas epizoóticas de febre amarela nas regiões Sudeste e Sul do Brasil (Diptera:Culicidae). Epidemiologia e Serviços de Saúde.2008;17:71-6.

GOMES AC; PAULA MB; NETO JBV; BORSARI R; FERRAUDO AS. Culicidae (Diptera) em área de Barragem em Santa Catarina e no Rio Grande do Sul. Neotropical Entomology.2009;38:553-555.

GOMES AC; TORRES MAN; PAULA MB; FERNANDES A; MARASSÁ AM; CONSALES CA; FONSECA DF. Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera, Culicidae) em áreas de epizootia do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil. Epidemiologia e Serviços de Saúde.2010;19:101-13.

GOOGLE EARTH. Imagens por Satélite da Região do município de São Paulo. 2012. 7 fotografias, color.

GUIMARÃES JH. Systematic database of Diptera of the America South of the United States, family Culicidae. São Paulo: Editora: Plêiade/Fapesp.1997.p.286.

GUIMARÃES AE; ARLÉ M; MACHADO RNM. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. IV: Preferência alimentar. Memórias Inst. Oswaldo Cruz.1987;82:277-285.

HAOUAS N; GORCCI M; CHARGUIN; AOUN K. Leishmaniasis in central and southern Tunisia: current geographical distribution zymodemes. Parasite.2007;14:239-246.

HAPPER DAT; HAMMER O; RYAN PD. Cluster, clustering & cluster analysis. 2001. Disponível em:< <http://www.iva.dk>> Acesso em Novembro de 2012.

HAPPER DAT; HAMMER O; RYAN PD. Paleontological statistics software package for education and data analysis. Paleontologia Electronica. 4 (1): 99 pp [downloading]. Disponível em:<.http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm> Acesso em Dezembro de 2012.

HENRIQUE DA. Caracterização molecular de arbovirus isolados da fauna Diptera Nematocera do Estado de Rondônia (Amazonia Ocidental Brasileira). Tese apresenta ao Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo ICB-USP. 2008.

HUNTER FF; BAYLY R. ELISA for identification of bloodmeals source in black flies (Diptera: Simuliidae). *Journal of Medicine Entomology*.1991;28:527-532.

IBANEZ- BERNAL S; BRISENO B; MUTEPI JP; ARGOT E; RODRIGUEZ G; MARTINEZ-CAMPOS C; PAZ R; DELA FUENTE-SAN ROMAN P; TAPIA-CONYER R; FLINDER A. First record in American of *Aedes albopictus* naturally infected with dengue virus the 1995 outbreak at Reynosa, Mexico. *Journal of Medicine and Veterinary Entomology*.1997;11:305-9.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estimativas das populações dos municípios em 2011. Disponível em:<www.ibge.gov>. Acesso em Dez 2012.

KELLY DW. Why are some people bitten more than others? *Trends in Parasitology*.2001;17:578-581.

KENT RJ; NORRIS DE. Identification of mammalian blood meal in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome b. *American Journal of Tropical and Hygiene*.2005;73:336-342.

KENT RJ; JULIUSSOM L; WEISSMANN M; EVANS S; KOMAR N. Seasonal blood feeding behavior of *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) in Weld County, Colorado, 2007. *Journal of Medicine Entomology*.2009;46:380-390.

KRUSE H; KIRKEMO AM; HANDELAND K. Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerging Infectious Diseases*.2004;10:2067-72.

LABARTHE N, SERRÃO ML, MELO FY, DE OLIVEIRA SJ, LOURENÇO-DE OLIVEIRA R. Potencial vectors of *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) in Itacoatiara, Oceanic Region of Niterói municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias Inst. Oswaldo Cruz*.1998;93:425-32.

LAPORTA GZ; URBINATTI PR; NATAL D. Aspectos ecológicos da população de *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera, *Culicidae*) em abrigos situados no Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, SP. Rev. Brasileira de Entomologia.2006;50:125-127.

LAPORTA GZ. Ecologia de *Culex quinquefasciatus* e de *Culex nigripalpus* no Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, Brasil. Dissertação de pós- graduação da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. 2007.

LAPORTA GZ; CRIVELARO TB; VICENTIN EC; AMARO P; BRANQUINHO SM; SALLUM MAM. *Culex nigripalpus* Theobald, (Diptera: *Culicidae*) feeding habitat at the Parque Ecológico do Tietê, São Paulo. Brazil. Rev. Brasileira de Entomologia.2008;54:663-68.

LEITE FL. Variáveis ecológicas de concentração e dominância de vetores culicídeos em face às transformações antrópicas. Rev. Brasileira de Zoologia.2007;25:40-48.

LOPES OS; SACCHETTA LA; FRANCY DB; JAKOB WL; CALISHER CH. Emergence of a new arbovirus disease in Brazil. III- isolation of Rocio virus from *Psorophora ferox* (Humboldt, 1819). American Journal of Epidemiology.1981;113:122-5.

LOPES J; LOZOVEI AL. Ecologia de mosquito (Diptera:*Culicidae*) em criadouros naturais e artificiais de área rural no Norte do Paraná. I: Coletas ao longo do leito do Ribeirão. Rev. Saúde Pública.1995;29:183-91.

LOPES J; LOZOVEI AL. Ecologia de mosquito (Diptera:*Culicidae*) em criadouros naturais e artificiais de área rural no Norte do Paraná. II: Coletas com isca humana. Rev. Brasileira de Zoologia.1996;13:585-596.

LOROSA ES; FARIA MS; DE OLIVEIRA LC; ALENCAR J; MARCONDES CB. Blood meal identification of selected mosquitoes in Rio de Janeiro, Brazil. Journal of the American Mosquitoes Control Association.2010;14:675-681.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA R; DEANE LM. Presumed *Dirofilaria immitis* infections in wild-caught *Aedes taeniorhynchus* and *Aedes scapularis* in Rio de Janeiro, Brazil. Memórias Inst. Oswaldo Cruz.1995;90:387-392.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA R; CASTRO MG; BRAKS MA; LOUNIBOS LP. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. *Journal Vector Ecology*.2004;29:94-100.

MARASSÁ AM, ROSA MDB, GOMES AC, CONSALES CA. Biotin/avidin sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for *Culicidae* mosquito blood meal identification. *Journal Venomous Animals and Toxins incluínd Tropical Diseases*.2008;14:303-312.

MARASSÁ AM. Identificação de fonte sanguínea em dípteros da família Culicidae, em área de epizootia de febre amarela silvestre. Tese de pós-graduação da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.2009a.

MARASSÁ AM; PAULA MB; GOMES AC; CONSALES CA. Biotin-Avidin Sandwich Elisa with specific human isotypes IgG1 and IgG4 for *Culicidae* mosquito blood meal identification from an epizootic yellow fever area in Brazil. *Journal Venomous Animals and Toxins incluínd Tropical Diseases*.2009b;15:696-706.

MARQUES GRAM; GOMES AC. Comportamento antropofílico de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. *Rev. Saúde Pública*.1997;31:125-30.

MATTAR S.; EDWARDS E.; LAGUADO J.; GONZÁLES M.; ALVAREZ J.; KOMAR N. West Nile Virus antibodies in Colombian horses. *Emerging Infectious Diseases*.2005;11:1497-8.

MEDEIROS-SOUSA A. R.; CERETTI-JR W.; URBINATTI P. R.; NATAL D.; CARVALHO G. C.; PAULA M. B.; FERNANDES A.; HOMEM DE MELO M. H. S.; OLIVEIRA R. C.; ORICO L. D.; GONÇALVES E. F. B., MARRELLI M. T. Biodiversidade de mosquitos (Diptera: Culicidae) nos parques da cidade de São Paulo I.Biota Neotrop. Jan/Mar 2013 vol.13, no. 1 endereço eletrônico. ISSN 1676-0603 (em publicação).

MITCHAEAL J, FORATTINI O. Experimental transmission of Rocio Encephalitis Virus by *Aedes scapularis* (Diptera: *Culicidae*) from the epidemic zone in Brazil. *Journal Medicine Entomology*.1984;21:34-6.

MITCHELL CJ; MONATH MS; SABATTINI MS; CROPP CB; DAFFNER JF; CALISHER CH; JAKOB WL; CHRISTENSEN HA. Arbovirus investigations in Argentina. II - Arthropod collections and virus isolations from mosquitoes, 1977-1980. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.1985;34:945-55.

MITCHELL CJ; MONATH TP; SABATTINI MS; CHRISTENSEN HA; DARSIE Jr; JAKOB WL; DAFFNER JF. Host-feeding patterns of Argentine mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected during and after an epizootic of western equine encephalitis. Journal of Medical Entomology.1987;24:260-67.

MONDET B; ROSA AP; VASCONCELOS PF. The risk of urban yellow fever in Brazil by dengue vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique.1996;89:107-13.

MONDET B. Yellow fever epidemiology in Brazil Bulletin de la Société de Pathologie Exotique.2001;94:260-7.

MONTES J. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública.2005;39:578-84.

MORAIS AS; MARRELLI MT; NATAL D. Aspectos da distribuição de *Culex* (*Culex*) *quinquefasciatus* Say (Diptera, *Culicidae*) na região do rio Pinheiros, na cidade de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Brasileira de Entomologia.2006;50:413-18.

MORAIS AS; MARRELLI MT; NATAL D. Observações do controle em ecótopo com alta infestação de *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera, *Culicidae*). Rev. Brasileira de Entomologia.2007;51: 246-51.

MORALES MA; BARRANDEGUY M.; FABBRI C.; GARCIA JB.; VISSANI A.; TRONO K.; GUTIERREZ G.; PIGRETTI S.; MENCHACA H.; GARRIDO N.; TAYLOR N.; FERNANDEZ F.; LEVIS S.; ENRÍA D. West Nile Virus isolation from equines in Argentina, 2006. Emerging Infectious Diseases.2006;12:1559-61.

MURIU SM, MUTURI EJ, SHILILU JI, MBOGO CM, MWANGANGI JM, JACOB BG, IRUNGU LW, MUKABANA RW, GITHURE JI, NOVAK RJ. Host choice and multiple blood feeding behaviour of malaria vectors and other anophelines in Mwea rice scheme, Kenya. Malaria Journal.2008;54:321-326.

MUTURI EJ; MURIU S; SHILILU J; MWANGANGI JM; JACOB BG; MBOGO C et al. Blood feeding patterns of *Culex quinquefasciatus* and other culicines and implications for disease transmission in Mweca rice schene, Kenya. Parasitology Research.2008;102:1329-1335.

MYERS N, MITTERMEIER RA, MITTERMEIER CG, FONSECA GAB, KENT J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature.2000;403:853-58.

NASCI, RS. A light weight batterypowered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. Mosquito News.1981;41:808-11.

NATAL D; PAGANELLI CH; SANTOS JLF. Composição da população de *Culex (Culex) quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) em abrigos situados no Parque Ecológico do Tietê, São Paulo, SP. Rev. Brasileira de Entomologia.1991;35:539-543.

NATAL D; ARAÚJO FAA; VIANNA RST; PEREIRA LE; UENO HM. O mosquito das águas poluídas. Saneas.2004;2:26-31

NATAL D; UENO HM. Vírus do Nilo Ocidental: características da transmissão e implicações vetorais. Entomology Vectors.2004;11:417-33.

NEVES DP. Parasitologia Humana.11 ed. São Paulo. Editora: Atheneu, 2005. 494p

PATZ JA; DASKAZ P; TABOR GM; AGUIRRE AA; PEARL M; EPSTEN J et al. Eviromenth and Health Perspect.2004;112:1092-8.

PECOR EJ, HARBACH RE, PEYTON EI, ROBERTS DR, REIMAN-KOVA E, MANGUIN S, et al. Mosquito studies in Belize, Central America: Records, Taxonomic Notes, and a Checklist of Species. Journal American Mosquitoes Control Association.2002;18:241-27

PEREIRA LE; SUSUKI A; COIMBRA TLM; SOUZA RP; CHAMELET ELB. Arbovírus Ilheus em aves silvestres (*Sporophila caerulescense* e *Molothrus bonariensis*). Rev. Saúde Pública.2001;31:119-23.

PORTAL DA PREFEITURA DA CIDADE DE SÃO PAULO. Departamento do Verde e do Meio Ambiente (site). Disponível em:< <http://www.capital.sp.gov.br>> Acesso em Junho 2012.

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO. Fauna Silvestre. Quem são e onde vivem os animais na metrópole paulistana. 2007.

RACHOU RG. Anofelinos do Brasil: comportamento das espécies vetoras de malária. Rev. Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais.1958;10:145-181.

REZENDE HR; SESSA PA; FERREIRA AL; SANTOS CB; LEITE GR; FALQUETO A. Efeitos da implantação da usina elétrica de Rosal, Rio Itabapoana nos Estados de Espírito Santo e Rio de Janeiro, sobre anofelíneos, Planorbídeos e flebotomíneos. Rev. Brasileira de Medicina Tropical.2009;42:160-64.

SAVAGE HM; NIEBYLSKI; SMITH GC; MITCHELL CJ; CRAIG JR. Host-feeding patterns of *Aedes albopictus* (Diptera:Culicidae) at temperature north American site. Journal of Medicine Entomology.1993;30:27-34.

SEI IA. Dípteros da subfamília Phlebotominae: padronização da técnica imunoenzimática (ELISA) para detecção de fontes alimentares sanguíneas. Dissertação de pós-graduação da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2009.

SILVA MAN; LOZOVEI AL. Mosquitos (Diptera, Culicidae) capturados com isca humana em área preservada de Curitiba, Paraná. Rev. Brasileira de Zoologia.1998;15:965-76.

SOUTO RNP; PIMENTEL CHC. Culicídeos (Díptera: Culicidae) da Região dos Lagos nos Municípios de Amapá, Pracuúba e Tartarugalzinho.2005. Disponível em: < http://www.iepa.ap.gov.br/probio/relatorios/Relatorio_cap08.pdf. > Acesso em: Setembro de 2012.

STAAK KC; ALLMANG UK; MEHLITZ D. The complement fixation test for the species identification of bloodmeals from tse-tse flies. Tropical Medicine and Parasitology.1981;32:97-98.

SULLIVAN MF; GOULD DJ; MANEECHAL S. Observation on the host range and feeding preferences of *Aedes albopictus* (Skuse). Journal of Medicine. Entomology.1971;6:713-6.

SUTHERST RW. Global change and human vulnerability vector-borne diseases. Clinical Microbiology Reviews.2004;17:136-73.

TADEI WP; THATCHER BD; SANTOS JM; SCARPASSA VM; RODRIGUES IB; RAFAEL MS. Ecologic observations on Anopheline vectors of malaria in the Brazilian Amazon. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.1998;52:325-35.

TADEI WP; TATCHER DB. Malaria vectors in the Brazilian Amazon: *Anopheles* of the subgenus *Nyssorhynchus*. Rev. Instituto de Medicina Tropical.2000; 42:87-94

TAIPE- LAGOS CB; NATAL D. Abundância de culicídeos em área metropolitana preservada e suas implicações epidemiológicas. Rev. Saúde Pública.2003;37:275-279.

TAIUL PL. Urbanização e ecologia da dengue. Caderno de Saúde Pública.2001;17: 99-102.

TAKAHASHI E; BARNABÉ HR; CHANG J; LAGANÁ MS. Projeto: Parque Santo Dias – SVMA. In: A questão ambiental urbana: Cidade de São Paulo. Prefeitura Município de São Paulo, Secretaria do Verde e Meio Ambiente, São Paulo.1993.

TEMPELIS CH. Review article host-feeding patterns of mosquitoes, with a review of advances in analysis of blood meals by serology. Journal of Medicine Entomology.1975;11:635-653.

URBINATTI PR; SANDACZ S; NATAL D. Imaturos de mosquitos (Diptera: *Culicidae*) em parque de área metropolitana aberta a visitação pública. Rev. Saúde Pública.2001;35:461-466.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS-DA-ROSA JFS, ROSA APA, DEGALLIER N, PINHEIRO FP, SÁ-FILHO GC. Epidemiologia das encefalites por arbovírus na Amazônia brasileira. Rev. Instituto de Medicina Tropical.1991;33:465-476.

VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS-DA-ROSA APA, PINHEIRO FP, SHOPE RE, TRAVASSOS-DA-ROSA JFS, RODRIGUES SG, et al. Arboviruses pathogenic for man in Brazil. *In*: TRAVASSOS-DA-ROSA APA, VASCONCELOS PFC, TRAVASSOS-DA-ROSA JFS. Editors an Overview of Arbovirology in Brazil and Neighbouring Countries. Instituto Evandro Chagas. 1998.p.72-99

VASCONCELOS PFC; ROSA AP; RODRIGUES SG; ROSA ES; MONTEIRO AH; CRUZ AC et al. Yellow fever in Pará State Amazon Region of Brazil, 1998-1999. Entomologic and epidemiologic findings. Emerging Infectious Diseases.2001;7:565-9.

VICENTIN EC. Identificação de sangue ingerido utilizando à técnica ELISA por fêmeas de *Aedes scapularis* no Parque Ecológico do Tietê, São Paulo. Dissertação apresentada à Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. 2007.

VITTOR AY; GILMAN RH; TIELSCH J; GLASS G; SHIEDS T; LOZANO WS; CANCINO PV; PATZ JA. The effect of deforestation on the human-biting rate of *Anopheles darlingi*, the primary vector of falciparum malaria in the Peruvian Amazon. American Journal theTropical Medicine and Hygiene.2006;74:3-11

WALTER, AJLRR. Biologia molecular da célula. Porto Alegre. Editora: Artmed. 2006.

WELLS JD, STEVENS JR .Application of DNA-based methods in forensic entomology. Annual Reviews in Entomology.2008; 53:103–120.

ANEXOS

Gabriela Cristina de Carvalho

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/1720950622546674>

Última atualização do currículo em 02/12/2012

Possui graduação em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Fundação Santo André, licenciatura plena e bacharelado (2009). Bolsista do programa de Aprimoramento Profissional em Entomologia Médica e Soroepidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (2010-2011). Atualmente é mestrandia pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo na área de concentração de Epidemiologia, seguindo a linha de estudos em Entomologia Médica (**Texto informado pelo autor**)

Identificação

Nome Gabriela Cristina de Carvalho
Nome em citações bibliográficas CARVALHO, G. C.

Endereço

Endereço Profissional Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública.
 Av. Doutor Arnaldo; Laboratório de entomologia em saude publica
 Cerqueira Cesar
 01246-904 - Sao Paulo, SP - Brasil
 Telefone: (11) 30617714

Formação acadêmica/titulação

2011 Mestrado em andamento em Saúde Pública.
 Faculdade de Saúde Pública USP.
 Título: Hábito Alimentar de mosquitos (Diptera:Culicidae) capturados nos parques municipais da cidade de São Paulo, Orientador: Mauro Toledo Marrelli.
 Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.
 Palavras-chave: vetor; culicídeos; hábito alimentar.

2010 - 2011 Aperfeiçoamento em Saude Publica. (Carga Horária: 40h).
 Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
 Título: Mosquitos (Diptera:Culicidae) capturados em armadilhas de Shannon na localidade de Valsugana Velha, município de Santa Tereza, Espírito Santo, Brasil. Ano de finalização: 2011.
 Orientador: Mauro Toledo Marrelli.
 Bolsista do(a): Fundação do Desenvolvimento Administrativo.

2009 - 2009 Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas.
 Centro Universitário Fundação Santo André, CUFSA, Brasil.
 Título: Ocorrência de mosquitos imaturos , díptera (Culicidae), associados à vigilância do Aedes (Stegomyia) aegypti em criadouros artificiais (armadilhas e pontos estratégicos) nas estações de inverno e primavera no município de Ribeirão Pires SP.
 Orientador: Carmen Beatriz Taipe-Lagos da Costa.

2005 - 2008 Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas.
 Centro Universitário Fundação Santo André, CUFSA, Brasil.

2007 - 2008 Curso técnico/profissionalizante.

Mauro Toledo Marrelli

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 2

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/6872138193111416>
Última atualização do currículo em 23/03/2013

Professor Associado do Depto. de Epidemiologia da FSP-USP (desde 2011). Possui Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Mackenzie (1990). Aperfeiçoamento em Protozoologia pelo Instituto de Medicina Tropical (FM-USP, 1992). Mestrado em Parasitologia, pelo ICB, Universidade de São Paulo (1995) e doutorado em Ciências (Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) (ICB-USP, 2000). Pós-doutorado pela Case Western Reserve University (Cleveland-OH) (2002), e pela Johns Hopkins School of Public Health (Johns Hopkins University) (Baltimore-MD) (2005). Tem experiência na área de Parasitologia e Epidemiologia de doenças transmitidas por vetores, atuando principalmente nos seguintes temas: ecologia e biologia molecular de vetores, marcadores moleculares em entomologia, controles alternativos de vetores. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Mauro Toledo Marrelli
Nome em citações bibliográficas	MARRELLI, M. T.

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Av. Dr. Arnaldo 715 Cerqueira César 01246904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617922
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2005	Pós-Doutorado. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
2003 - 2005	Pós-Doutorado. Johns Hopkins University. Bolsista do(a): Johns Hopkins University. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Parasitologia. Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Genética. Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica.
2002 - 2003	Pós-Doutorado. Case Western Reserve University. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Bioquímica. Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Genética. Grande Área: Ciências Biológicas / Área: Parasitologia.
2000 - 2002	Pós-Doutorado. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.