



**Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
Centro de Ciências da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas**

*Andressa Noronha Barbosa da Silva*



**Distribuição da fauna triatomínica e infecção natural pelo  
*Trypanosoma cruzi* em diferentes municípios do semiárido do  
estado do Rio Grande do Norte**

**Natal, RN  
Março/2013**

*Andressa Noronha Barbosa da Silva*

**Distribuição da fauna triatomínica e infecção natural pelo  
*Trypanosoma cruzi* em diferentes municípios do semiárido do Rio  
Grande do Norte**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas/Parasitologia

**Orientadora:** Profa. Dra. Lúcia Maria da Cunha Galvão

**Coorientadora:** Profa. Dra. Antônia Cláudia Jácome da Câmara

**Natal, RN  
Março/2013**

Catálogo da Publicação na Fonte  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

Silva, Andressa Noronha Barbosa da.

Distribuição da fauna triatomínica e infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi* em diferentes municípios do semiárido do Rio Grande do Norte / Andressa Noronha Barbosa da Silva. - Natal, 2013. 72f. il.

Orientadora: Lúcia Maria da Cunha Galvão.

Coorientadora: Antônia Cláudia Jácome da Câmara.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do CCS/UFRN, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas/Parasitologia.

1. Doença de Chagas - Dissertação. 2. *Trypanosoma cruzi* - Dissertação. 3. *T. brasiliensis* - Dissertação. 4. *T. pseudomaculata* - Dissertação. 5. Infecção natural - Dissertação. 6. PCR - Dissertação. 7. Semiárido-RN - Dissertação. I. Galvão, Lúcia Maria da Cunha. II. Câmara, Antônia Cláudia Jácome da. III. Título.

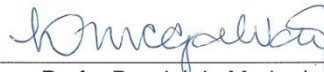
RN/UF/BSA01

CDU 616.937(813.2)

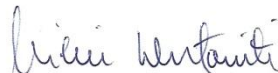
ANDRESSA NORONHA BARBOSA DA SILVA

**Distribuição da fauna triatomínica e infecção natural  
pelo *Trypanosoma cruzi* em diferentes municípios do  
semiárido do Rio Grande do Norte**

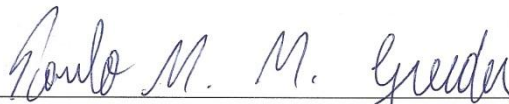
**Banca Examinadora:**



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Lúcia Maria da Cunha Galvão  
Presidente – Bolsista Pesquisadora Visitante do CNPQ/UFRN



\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Liléia Gonçalves Diotaiuti  
Examinador Externo – FIOCRUZ /MG



\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Paulo Marcos da Matta Guedes  
Examinador Interno – UFRN

Natal, 26 de março de 2013

**NATAL / RN  
2013**

## Instituições envolvidas



Dissertação de Mestrado desenvolvida no “Laboratório de Biologia de Parasitos e Doença de Chagas”, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia 2º Andar, Rua Gal. Gustavo Cordeiro de Farias, s/n, Petrópolis, 59012-570 Natal, RN, Telefone: 84 3342-9827



Departamento de Parasitologia, Laboratório de Biologia do *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas, Av. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha, Bloco L4, sala 179, 31270-901, Belo Horizonte, MG, Telefone: 31 3409-2847/2968

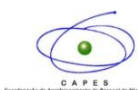


Secretarias Municipais de Saúde Pública do RN

## Apoio financeiro



Edital MCT/CNPq Nº14/2010-Universal



Bolsa de Mestrado



Programa de Incentivo a parasitologia Básica Edital Nº32/2011



Edital MCT/CNPq/CT-Saúde/MS/SCTIE No 034/2008



DCR/CNPq/FAPERN Convênio n.º 68.0025/2005/7



Ministério da  
Ciência, Tecnologia  
e Inovação



SUS

Ministério da  
Saúde

BRASIL  
PAÍS RICO E PAÍS SEM POBREZA

Chamada MCTI/CNPq/MS-SCTIE-Decit Nº 40/2012 – Pesquisa em Doenças Negligenciadas

**DEDICATÓRIA**

*Aos melhores pais do mundo, Aníbal Barbosa da Silva e Janice Noronha da Silva, que são meus exemplos de vida. Obrigada por tudo que me proporcionaram até hoje, por estarem sempre ao meu lado, me incentivando, aconselhando e sempre prontos para me acolher. Obrigada pelos ensinamentos, apoio, dedicação, carinho e amor incondicional.*

*Amo muito vocês*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por tornar tudo possível na minha vida.

A minha orientadora Dra. Lúcia Maria da Cunha Galvão, pela oportunidade, orientações diárias, discussões sobre o trabalho, dedicação, apoio, confiança, conselhos, paciência e pela fundamental sabedoria inspiradora que só acrescentou no desenvolvimento deste trabalho.

A minha coorientadora Dra. Antônia Claudia Jácome da Câmara pelas orientações, discussões sobre o trabalho, dedicação, apoio, confiança, conselhos e paciência. Gostaria de agradecê-la imensamente por ter me ensinado tudo que sei até hoje de laboratório, pela ajuda nas coletas e por ter me ajudado a superar meus medos (eu morria de medo de insetos grandes), acreditando e me fazendo acreditar que eu era capaz.

Ao mentor do nosso grupo de pesquisa, Prof. Dr. Egler Chiari, sem o qual muita coisa não seria possível. Obrigada pelas dicas e conselhos no decorrer dos nossos seminários.

Ao Prof. Dr. Paulo Roberto Medeiros de Azevedo, pela colaboração nas análises estatísticas.

Ao Prof. Adalberto Varela Freire, que não está mais entre nós, companhia e ajuda nas capturas de triatomíneos na ESEC.

Ao Prof. Dr. Guilherme por ter aberto as portas do Laboratório de Microbiologia, permitindo a realização dos exames dos triatomíneos.

Ao Prof. Dr. Paulo da Mata Guedes por ter cedido os triatomíneos utilizados para controle dos meus experimentos e por ter me acompanhado em algumas coletas de campo.

Ao Carlos Alberto Freire, pela ajuda nas capturas de triatomíneos na Estação Ecológica, receptividade, conversas divertidas e pelos registros em cada coleta (fotos).

Aos membros da banca de qualificação Prof. Dr. Paulo da Mata Guedes e Dra. Ana Claudia, pelas sugestões e críticas construtivas.

A todos os agentes de endemia das localidades onde foram realizadas as capturas de triatomíneos, que ajudaram na execução deste trabalho. Agradeço a receptividade, gentileza e ajuda.

A todos os moradores das localidades trabalhadas que permitiram a execução deste trabalho em suas propriedades, sempre prestativos e receptivos.

A companheira de laboratório e amiga Daniela Ferreira Nunes, pela amizade, carinho atenção, força, ajudas em experimentos, companhia diária, leitura do manuscrito, por ter aguentado nos meus momentos de desesperos, choros e ótimas risadas, pelas conversas (mesmo que recicladas), enfim, por sempre está tão presente e disposta a me estender a mão.

Ao meu companheiro de experimentos e amigo-irmão Kiev Martins, por sempre está disposto a estar comigo no laboratório a qualquer horário do dia para que eu não ficasse só, por sempre me entender nos meus momentos de chatices, pelo amor, carinho e dedicação que tem a minha pessoa.

Ao meu querido amigo Pedro Igor Câmara de Oliveira pela ajuda intensa na realização da PCR e Eletroforese, por ter me ajudado a escrever os abstracts da qualificação, congressos e da dissertação, além das companhias diárias, muitas risadas, carinho e atenção, mesmo estando longe neste momento.

Aos Amigos do LABIOPARCHAGAS Giovani Lavieri e Ana Vanessa Julião, pelo companheirismo e amizade.

A Fábria e Aureliana, secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, por serem atenciosas e prestativas em relação às informações e orientações necessárias.

Aos Professores do mestrado pela colaboração intelectual.

A CAPES, pelo apoio financeiro.



A minha irmã Adriele Noronha, meu cunhado Hudson Paulinelli e minha sobrinha linda, Yasmim Paulinelli que sempre me deram força e coragem para continuar.

A minha amiga que tanto estimo Raquel Bandeira de Melo, pelo carinho, amizade, força, orações. Muito obrigada pelas vezes que foi me buscar no laboratório quando precisei sair muito tarde, por ter sido tão presente a cada dia desta etapa da minha vida.

A minha querida amiga Yasminie Midlej, pela companhia em noites e madrugadas de estudo, confecção do mapa do meu trabalho, leituras do meu manuscrito, momentos de descontração e principalmente por sua amizade.

As minhas grandes amigas Magali, Sylvia, Dani, Ilana, Luara, Marana, Anthonieta, Sara, Geísa e Rafaela, por se fazerem presente sempre e estarem comigo em mais uma etapa profissional da minha vida.

Ao amigo Kley Anderson, que sempre fala que o mestrado me envelheceu cinco anos e me deixou mais estressada, mas nunca deixou de me incentivar nas minhas escolhas e se fazer presente na minha vida.

Aos amigos Renato Gondim e Felipe Xavier, sempre tão presentes e essenciais nessa jornada da minha vida.

A Luanda e Mariana do Laboratório de Microbiologia, pela amizade, companhia nas disciplinas, almoços na copa, conversas divertidas e força. Obrigada por estar sempre à disposição para me ajudar.

A todos que tornaram possível a realização deste trabalho.

## RESUMO

A distribuição da fauna triatomínica e a infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi* foram avaliadas visando compreender a dinâmica de transmissão deste parasito na zona rural do estado do Rio Grande do Norte, além da pesquisa do *Trypanosoma rangeli*. As capturas de triatomíneos foram realizadas no ambiente silvestre, peridomiciliar e domiciliar de diferentes municípios das mesorregiões central e oeste desse estado. Os insetos foram identificados e examinados pelo método direto, xenocultura e PCR para a identificação do *T. cruzi*. A detecção do *T. rangeli* foi realizada pelo exame direto da hemolinfa de espécimes de triatomíneos e a PCR multiplex a partir do conteúdo intestinal de 151 espécimes infectados pelo *T. cruzi*. Dos 824 insetos capturados 66,4% foram de *T. brasiliensis*, 18,2% de *T. pseudomaculata*, 12,7% de *Panstrongylus lutzi* e 2,7% de *Rhodnius nasutus*, e o *T. brasiliensis* foi encontrado na maioria dos municípios. As espécies foram capturadas nos estágios de ninfa e adulto, exceto *P. lutzi*, exclusivamente no estágio adulto. No ambiente silvestre foram capturadas as espécies *T. brasiliensis* (57%), *P. lutzi* (28%) e *T. pseudomaculata* (15%). No ambiente peridomiciliar foram identificadas *T. brasiliensis* (74%), *T. pseudomaculata* (21%) e *R. nasutus* (5,0%), enquanto no intradomicílio somente o *T. brasiliensis*. O índice de infecção dos triatomíneos pelo *T. cruzi* foi 30,4%, sendo *P. lutzi* a espécie mais infectada (78,0%), seguida do *T. brasiliensis* (24,4%), *T. pseudomaculata* (22,6%) e *R. nasutus* (4,5%). Os índices de triatomíneos infectados nos ambientes silvestre, peridomiciliar e domiciliar foram 41,8%, 20,1% e 50,0%, respectivamente. O *T. rangeli* foi detectado apenas pela PCR multiplex em 2,6% (4/151). A infecção pelo *T. rangeli* foi observada em 4,4% (3/67) dos exemplares do *T. brasiliensis* e 1,5% (1/63) do *P. lutzi*. Os dados mostraram que a positividade do *P. lutzi* aliada a sua capacidade de invadir o domicílio atraído pela luz, sugere uma provável participação deste inseto no intercâmbio entre os ciclos epidemiológicos de transmissão do *T. cruzi*. O *T. brasiliensis* foi única espécie presente em todos os ambientes, o que reforça sua importância em relação à capacidade de adaptação ao ambiente doméstico, potencial como vetor e manutenção dos ciclos de transmissão silvestre e doméstico no semiárido indicando a necessidade de ações contínuas na vigilância epidemiológica. A ocorrência do *T. rangeli* em *T. brasiliensis* e *P. lutzi* foi registrada pela primeira vez na zona rural deste estado, ampliando a área de ocorrência deste protozoário no nordeste do Brasil.

**Palavras-chave:** *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* infecção natural, PCR, semiárido

**ABSTRACT**

The triatomine fauna distribution and the natural infection by *Trypanosoma cruzi* was evaluated aiming the comprehension of the transmission dynamics of this parasite in the countryside of the State of Rio Grande do Norte. Additionally, the research for *Trypanosoma rangeli* was also investigated. The captures of triatomines were performed at sylvatic, peridomicile and domicile environments at different municipalities of the central and western mesoregions of this state. The insects were identified and examined by direct method, xenoculture and PCR to detect *T. cruzi*. The detection of *T. rangeli* was performed by direct examination of the hemolymph and multiplex PCR of 151 positive specimens for *T. cruzi*. Of 824 captured insects, the species were distributed in *Triatoma brasiliensis* (66.4%), *Triatoma pseudomaculata* (18.2%), *Panstrongylus lutzi* (12.7%) and *Rhodnius nasutus* (2.7%), and *T. brasiliensis* was found in most of the evaluated municipalities. The species were captured at nymph and adult stages, except *P. lutzi*, exclusively in adult stage. In the sylvatic environment were captured *T. brasiliensis* (57%), *P. lutzi* (28%) and *T. pseudomaculata* (15%) species. At the peridomicile environment were identified *T. brasiliensis* (74%), *T. pseudomaculata* (21%) and *R. nasutus* (5.0%), while in the intradomicile was found only *T. brasiliensis*. The infection rate of triatomines by *T. cruzi* was 30.4%, *P. lutzi* showed highest rate (78%), followed by *T. brasiliensis* (24.4%), *T. pseudomaculata* (22.6%) and *R. nasutus* (4.5%). Infected triatomines indexes at silvatic, peridomicile and domicile environments were of 41.8%, 20.1% and 50.0%, respectively. *T. rangeli* was only detected by multiplex PCR in 2.6% (4/151) of examined insects, of these 4.4% (3/67) were *T. brasiliensis* and 1.5% (1/63) *P. lutzi* species. The data showed that the positivity of *P. lutzi* allied to its ability to invade domicile attracted by light, suggests a likely participation of this insect between epidemiological transmission cycles of *T. cruzi*. *T. brasiliensis* was the only specie present in all environments, what reinforces its importance related to the capacity for adapting to the domestic environment, potential as a vector, and maintenance of sylvatic and domestic transmissions cycles in the semiarid, indicating the necessity of continuous epidemiological surveillance. The presence of *T. rangeli* in *T. brasiliensis* and *P. lutzi* was first recorded in rural zone of this State, broadening the area of occurrence of this protozoan in northeastern Brazil.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease, *Triatoma brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, natural infection, PCR, semiarid

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa do Brasil e em destaque o Estado do Rio Grande do Norte mostrando em detalhe cinza escuro, os municípios situados nas mesorregiões central e oeste, onde foram capturados os triatomíneos	27
Figura 2	Ecótopos naturais das capturas dos triatomíneos silvestres no município de Apodi. A: folhas da carnaúba; B: ninho de pássaros	29
Figura 3	Ecótopos naturais (folha da carnaúba e afloramento de rochas) das capturas de triatomíneos silvestres no município de Caraúbas	29
Figura 4	Ecótopo natural (afloramento de rochas) da captura de triatomíneos silvestres no município de Serra Negra do Norte	30
Figura 5	Ecótopos peridomiciliares onde foram capturados triatomíneos nos diferentes municípios	30
Figura 6	Captura de triatomíneos no ambiente domiciliar	31
Figura 7	Espécies de triatomíneos capturadas no semiárido potiguar. A: <i>T. brasiliensis</i> ; B: <i>T. pseudomaculata</i> ; C: <i>P. lutzi</i> ; D: <i>R. nasutus</i>	35
Figura 8	Dispersão geográfica da fauna triatomínica por município nas mesorregiões oeste (1 a 7) e central (8 e 9) do estado do Rio Grande do Norte	37
Figura 9	Distribuição das espécies de triatomíneos em diferentes ambientes, silvestre, peridomiciliar e domiciliar das mesorregiões central e oeste do Rio Grande do Norte	38
Figura 10	Distribuição das espécies de triatomíneos nos diversos ecótopos dos ambientes silvestre e peridomiciliar nas mesorregiões central e oeste do Rio Grande do Norte	39

11

Gel de poliacrilamida 7,5% corado pelo nitrato de prata, representativo da amplificação do DNA pela PCR multiplex nas amostras isoladas de diferentes espécies de triatomíneos. PM: marcador de peso molecular 100 pares de bases (pb); Controles: DNA do *T. cruzi* I do clone Col 1.7G2 da cepa Colombiana fragmento 250pb; cepa JG correspondente a *T. cruzi* II, fragmento 265pb; cepa do *T. rangeli* fragmento de 210pb. CN: controle negativo

43

**LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS**

Tabela 1	Distribuição das espécies de triatomíneos capturados em duas mesorregiões do estado do Rio Grande do Norte	35
Tabela 2	Infecção natural das espécies de triatomíneos pelo <i>T. cruzi</i> por diferentes métodos em nove municípios do estado do Rio Grande do Norte	40
Tabela 3	Comparação de proporção da positividade de três métodos usados para a detecção do <i>T. cruzi</i> em diferentes espécies de triatomíneos capturados no semiárido potiguar	41
Tabela 4	Infecção natural dos triatomíneos pelo <i>T. cruzi</i> capturados nas duas mesorregiões e em diferentes ambientes	42
Tabela 5	Distribuição das amostras de <i>T. rangeli</i> , <i>T. cruzi</i> por espécies de triatomíneo	44
Gráfico 1	Triatomíneos capturados por mesorregião no estado do Rio Grande do Norte	36

**LISTA DE ABREVIATURAS**

DNA Ácido - Desoxirribonucléico

dNTP - Deoxinucleotídeos trifosfato

EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetracético

ESEC Seridó - Estação Ecológica do Seridó

FNS/ FUNASA - Fundação Nacional de Saúde

fmol - femtomol

HCl - Ácido clorídrico

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente

IDEMA-RN - Instituto de Desenvolvimento Econômico e Meio Ambiente do Rio Grande do Norte

Kb - Kilobases

KCl - Cloreto de Potássio

kDNA - DNA do cinetoplasto

Km - Kilometro

Km<sup>2</sup> - Kilometro quadrado

LIT - *Liver Infusion Tryptose*

m - metro

M - Molar

µg - Micrograma

MgCl<sub>2</sub> - Cloreto de magnésio

mL - Mililitro

µL – Microlitros

mM – Milimolar

NaOH - Hidróxido de sódio

ng – Nanograma

pmoles - Picomoles

pb - Pares de bases

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

pH - Potencial hidrogeniônico

rpm - Rotação por minuto

v/v - Volume por volume

U - Unidade



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>16</b>
1.1	O gênero <i>Trypanosoma</i>	16
1.2	Sobreposição entre <i>Trypanosoma cruzi</i> e <i>Trypanosoma rangeli</i>	18
1.3	A interrelação entre os ambientes na transmissão do <i>T. cruzi</i>	19
1.4	Aspectos epidemiológicos da infecção pelo <i>T. cruzi</i>	20
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>25</b>
2.1	Objetivo geral	25
2.2	Objetivos específicos	25
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>26</b>
3.1	Delineamento experimental	26
3.2	Área de estudo	26
3.3	Captura e identificação de vetores	28
3.4	Infecção natural dos triatomíneos pelo <i>T. cruzi</i>	31
3.4.1	Exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos	31
3.4.2	Reação em cadeia da polimerase (PCR)	32
3.4.2.1	Condições da PCR	32
3.5	Infecção natural de triatomíneos pelo <i>Trypanosoma rangeli</i>	33
3.5.1	Exame da hemolinfa dos triatomíneos	33
3.5.2	PCR multiplex	34
3.6	Análise estatística	34
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>35</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>56</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 O gênero *Trypanosoma*

O gênero *Trypanosoma* é um dos mais importantes dentro da família Trypanosomatidae, o qual inclui várias espécies como agentes etiológicos de infecções e/ou doenças humanas relevantes em relação à saúde pública: o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas; *Trypanosoma rhodesiense* e *Trypanosoma gambiense*, agentes da doença do sono; e de animais o *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma equiperdum* e *Trypanosoma equinum*. O ciclo biológico destes parasitos envolve passagens por hospedeiros invertebrado e vertebrado (HOARE, 1972; STEVENS *et al.*, 2001). Os tripanossomas são transmitidos por diversos insetos hematófagos que estão associados aos hospedeiros vertebrados e seus ecótopos, circulando no ambiente silvestre como uma enzootia (HOARE, 1972). Na América do Sul e Central as espécies de tripanossomas encontradas infectando o homem são *T. cruzi* (CHAGAS, 1909) e *Trypanosoma rangeli* (TEJERA, 1920) que não é patogênica para os seres humanos e diversos mamíferos (D' ALESSANDRO & SARAIVA, 1992, SOUTO *et al.*, 1999, VALLEJO *et al.*, 2003).

O *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* é um parasito digenético, polifilético e amplamente distribuído na natureza, circulando entre o inseto vetor e mamíferos silvestres (BRENER, 1973). A principal forma de transmissão deste parasito ao homem e outros mamíferos é a vetorial, essencialmente contaminativa (DIAS *et al.*, 1945) que está ligada diretamente ao contato das fezes dos triatomíneos contendo formas infectantes do parasito com a pele lesada ou por mucosa ocular ou oral íntegras. Além disso, os mecanismos de transmissão transfusional e congênita contribuem para o processo da infecção e também apresentam importância epidemiológica (BRASIL, 2005).

Este protozoário hemoflagelado caracteriza-se principalmente pela presença de uma estrutura mitocondrial rica em DNA (ácido desoxirribonucléico) denominada cinetoplasto, que representa 20-25% do total de DNA da célula. É composto de aproximadamente 50 cópias de maxicírculos em torno de 20kb (kilobases) e 5.000-10.000 cópias de minicírculos de 1,4kb (SIMPSON, 1987). Os minicírculos do *T. cruzi* representam 95% do DNA total do cinetoplasto-kDNA (SIMPSON & SILVA, 1971) e exibem múltiplas sequências de classes características dentro de uma mesma célula. Apresentam 10% de seu tamanho constituído por quatro regiões conservadas de 118 pares de bases (pb) com 80% de homologia entre elas, situadas a intervalos de 90° dentro de um minicírculo denominadas *mini repeats*, essas regiões são intercaladas por quatro regiões de sequências variáveis de aproximadamente

330pb (LEON *et al.*, 1980; MACINA *et al.*, 1986; DEGRAVE *et al.*, 1988).

Em relação aos hospedeiros, o *T. cruzi* não se desenvolve no sangue de aves, anfíbios ou répteis, no entanto, é capaz de infectar uma variedade de espécie de mamíferos de oito ordens e um grande número de espécies de triatomíneos, sendo considerado um dos parasitos de mais sucesso adaptativo (BRENER, 1973). O *T. cruzi* pode infectar mais de 200 espécies e subespécies de mamíferos e mais de 70 espécies de triatomíneos (DEANE, 1961, 1964; BARRETTO & RIBEIRO, 1979; SHERLOCK *et al.*, 1997).

O *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* foi descrito no conteúdo intestinal de *Rhodnius prolixus* (TEJERA, 1920) e, posteriormente vários autores relataram o parasito em quase todos os países da América do Sul (GRISARD *et al.*, 1999; GUHL & VALLEJO, 2003). É um parasito não patogênico para os seres humanos e exibe características biológicas bastante particulares tais como, a patogenicidade do parasito para o vetor (MARINKELLE, 1968; WATKINS, 1971), maior susceptibilidade às espécies do gênero *Rhodnius* (D'ALESSANDRO & SARAVIA, 1992, 1999), a reação sorológica cruzada com *T. cruzi* (GUHL *et al.*, 1985; 1987), resistência dos flagelados à lise mediada pelo complemento (GUHL & VALLEJO, 2003), entre outras.

Este protozoário é o segundo deste gênero que infecta os seres humanos, mamíferos silvestres e domésticos (GRISARD *et al.*, 1999; GRISARD, 2002). A transmissão do *T. rangeli* ocorre por via inoculativa por algumas espécies de triatomíneos (principalmente do gênero *Rhodnius*) e compartilha frequentemente hospedeiros com o *T. cruzi* (HOARE, 1972; D'ALESSANDRO, 1976; D'ALESSANDRO & SARAVIA, 1992). Durante os últimos anos, a caracterização biológica, bioquímica e molecular de vários isolados do *T. rangeli* revelou a plasticidade genômica e antigênica do parasito, para o qual o ciclo de vida do hospedeiro mamífero é ainda desconhecido (GRISARD *et al.*, 1999).

No Brasil, a infecção natural pelo *T. rangeli* vem sendo relatada tanto em hospedeiros vertebrados quando em vetores. Na região Norte a infecção foi detectada em mamíferos *Didelphis marsupialis* no estado do Pará (DEANE, 1958) e em *R. neglectus* no Tocantins (DIOTAIUTI *et al.*, 1992). Steindel *et al.* (1991) demonstraram a ocorrência deste parasito em roedores (*Echimyus dasythrix*) na região Sul do país e Ramirez *et al.* (2002), em *Didelphis albiventris* no Sudeste. Na região Nordeste a ocorrência do *T. rangeli* foi relatada nas fezes do *Panstrongylus megistus* no estado de Alagoas (LUCENA & VERGUETTI, 1973), em *Rhodnius domesticus* no estado da Bahia (BARRETT & OLIVEIRA, 1977) e, mais recente,

em *Rhodnius nasutus* no estado do Ceará (DIAS *et al.*, 2007). O *T. rangeli* também foi detectado em humanos na Amazônia (COURA *et al.*, 1996) e no estado da Bahia (DE SOUZA *et al.*, 2008). Uma vez que as infecções humanas por *T. rangeli* têm sido descritas em vários países, a ocorrência de infecções simples e/ou mistas com *T. cruzi* deve ser considerada em áreas onde estes parasitos são simpátricos (GRISARD *et al.*, 1999; GRISARD, 2002).

### **1.2 Sobreposição entre *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli***

O *T. cruzi* e o *T. rangeli* apresentam ampla distribuição nas Américas Central e do Sul, possibilitando a ocorrência de infecções simples ou mistas em hospedeiros invertebrados e vertebrados (D'ALESSANDRO, 1976; GRISARD *et al.*, 1999; GUHL & VALLEJO, 2003). O primeiro caso de infecção mista por *T. cruzi* e *T. rangeli* foi detectado em *R. robustus* na Venezuela (CARCAVALLO *et al.*, 1975) e, outros autores também a detectaram em *R. pallescens* no Panamá (PINEDA *et al.*, 2008). No Brasil foi observada em mamíferos (gambás) e triatomíneos das espécies *R. neglectus* e *P. megistus* no Sudeste (RAMIREZ *et al.*, 2002) e, no Nordeste em *R. nasutus* no Ceará (DIAS *et al.*, 2007).

A infecção mista é muito comum, dificulta a identificação de ambos os parasitos por serem morfológicamente semelhantes (VALLEJO *et al.*, 1988) e devido à similaridade dos antígenos de superfície (URDANETA-MORALES & TEJERO, 1992). Esta semelhança antigênica entre o *T. cruzi* e o *T. rangeli* induz a reatividade cruzada em métodos sorológicos de diagnóstico da infecção humana (GUHL & MARINKELLE, 1982; GROGL & KUHN 1984; BRONZINA *et al.*, 1980; AFCHAIN *et al.*, 1979; GUHL *et al.*, 1985; GUHL *et al.*, 1987; BASSO *et al.*, 1989; ZUÑIGA *et al.*, 2007).

O método clássico para o reconhecimento do *T. rangeli* é encontrá-lo na hemolinfa ou nas glândulas salivares dos triatomíneos (HOARE, 1972; D'ALESSANDRO, 1976). O método tradicional para avaliar a infecção de vetores por tripanossomas como, o exame direto por microscopia, não é capaz de distinguir facilmente a infecção pelos *T. cruzi* e *T. rangeli*. Assim, várias técnicas usando a reação em cadeia da polimerase (PCR) têm sido desenvolvidas (ACOSTA *et al.*, 1991; MURTHY *et al.*, 1992; CAMPBELL *et al.*, 1993; BRITTO *et al.*, 1995; SALDAÑA & SOUZA, 1996; SOUTO *et al.*, 1999; VALLEJO *et al.*, 1999; VARGAS *et al.*, 2000; CHIURILLO *et al.*, 2003; GUHL *et al.*, 2002; ALIAGA *et al.*, 2011). A PCR é recomendada como diagnóstico diferencial devido a sua sensibilidade e especificidade (GRISARD *et al.*, 1999). Os minicírculos presentes no kDNA são excelentes alvos para detecção do *T. cruzi* por PCR, devido o grande número de cópias (WINCKER *et*

*al.*, 1994; JUNQUEIRA *et al.*, 2005). Além desses, outros métodos tais como, a lise pelo complemento de epimastigotas de cultura (SCHOTTELIUS, 1982), padrões isoenzimáticos (KREUTZER & SOUZA, 1981; MILES *et al.*, 1983; EBERT, 1986), lectinas (SCHOTTELIUS & MULLER, 1984; MIRANDA-SANTOS & PEREIRA, 1984) e anticorpos monoclonais (GIOVANNI-DE-SIMONE, *et al.*, 1987; HUDSON *et al.*, 1987) podem diferenciar o *T. cruzi* do *T. rangeli*.

A dificuldade na identificação dessas duas espécies constitui um sério problema do ponto de vista epidemiológico e aponta o *T. rangeli* como um parasito de importância humana na América Latina (GUHL & VALLEJO, 2003). Apesar da semelhança morfológica e da relação entre o *T. cruzi* e o *T. rangeli* compartilhando os mesmos hospedeiros vertebrados e vetores, estudos filogenéticos e marcadores moleculares separam estas duas espécies, sugerindo vias evolutivas diferentes (STEVENS *et al.*, 1999).

### **1.3 A interrelação entre os ambientes na transmissão do *T. cruzi***

A infecção chagásica é uma enzootia silvestre amplamente distribuída na América Latina, transmitida na natureza entre triatomíneos e animais, que passou a ser uma antropozoonose a partir de modificações antrópicas realizadas no ambiente natural (CHAGAS, 1909; COURA, 1988). O processo destrutivo desse ambiente desencadeou a dispersão dos triatomíneos, expandindo o ciclo de transmissão do parasito (FORATTINI, 1980) e, incluindo o homem e os animais domésticos no ciclo epidemiológico da doença de Chagas (DIAS & COURA, 1997). A susceptibilidade do homem e dos animais domésticos ao *T. cruzi* e a proliferação dos triatomíneos nas habitações propiciaram a disseminação do parasito, passando o ciclo doméstico a ter importância fundamental na expansão da infecção chagásica (BARRETTO, 1967) e podendo existir independentemente do ciclo silvestre (FERNANDES *et al.*, 1994).

Do ponto de vista ecológico, a doença de Chagas é típica de ambientes rurais, onde o inseto vetor interage com animais dos ambientes silvestre, peridomiciliar e domiciliar, transmitindo o *T. cruzi* (OLIVEIRA-LIMA *et al.*, 2000). No ciclo de transmissão do ambiente silvestre, a circulação do parasito envolve a interação entre hospedeiros invertebrados (triatomíneos) e vertebrados (marsupiais, carnívoros, roedores, primatas, mamíferos silvestres dentre outros animais), em ecótopos naturais do continente americano.

A transmissão do *T. cruzi* nos ambientes peridomiciliar e domiciliar são resultantes da interação entre o homem e o vetor, como consequência de modificações sociais e ecológicas

provocadas pelo próprio homem, permitindo assim a colonização de ecótopos artificiais pelos triatomíneos (DIAS, 1992). A adaptação dos triatomíneos ao domicílio é o fator determinante para o estabelecimento da infecção humana. A transmissão no peridomicílio envolve animais domésticos que atuam como reservatórios do *T. cruzi* e triatomíneos silvestres atraídos às residências pela luz em busca de alimento. O ambiente peridomiciliar é muito importante do ponto de vista epidemiológico, pois atua como elo entre os ambientes silvestre e domiciliar (DIAS, 2000). Além disso, alguns animais reservatórios, devido aos seus hábitos sinantrópicos, também apresentam um papel importante na transmissão do *T. cruzi* ao homem, interligando ambos os ambientes em um único ciclo epidemiológico (FERNANDES *et al.*, 1989). O ciclo epidemiológico do *T. cruzi* envolve o homem, os triatomíneos e grande número de mamíferos naturalmente infectados (CHAGAS, 1909; BARRETTO, 1979; COURA, 1988; DIAS, 1992; FERNANDES *et al.*, 1998; SILVEIRA, 2000) interligando os ambientes silvestre e domiciliar de forma dinâmica e complexa. Assim, o fluxo de interação que predomina é unidirecional no sentido silvestre-doméstico, com poucas situações de retorno (BARRETTO, 1979).

#### **1.4 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo *T. cruzi***

Os programas bem sucedidos de controle ao vetor domiciliado, o *T. infestans*, têm demonstrado que a estimativa atual de prevalência na América Latina é de 7,7 milhões de indivíduos infectados pelo *T. cruzi* e 25 milhões expostos em áreas de risco e, no Brasil, ainda há estimativa de aproximadamente dois milhões de infectados (SALVATELLA, 2007). A redução da transmissão do *T. cruzi* pelo vetor foi bastante significativa e de grande impacto na prevalência da infecção em crianças de baixa idade relatada em inúmeros inquéritos sorológicos realizados em várias regiões do país, na diminuição da mortalidade, e índices de gestantes e doadores de sangue infectados, evidenciando o controle da transmissão vetorial, transfusional e congênita (VINHAES & DIAS, 2000; MONCAYO, 2003). No entanto, o problema do controle da doença de Chagas no Brasil ainda não está totalmente solucionado, uma vez que é fundamental a vontade política e competência técnica para o controle da doença, além do risco de diminuição da participação popular nas estratégias de combate (DIAS, 2000).

Dentre as mais de 100 espécies de triatomíneos descritas nas Américas algumas merecem maior atenção da saúde pública. Essas são as que efetivamente foram capazes de colonizar os ecótopos artificiais e, responsáveis pela maioria de casos humanos da doença de

Chagas: *Triatoma infestans* (Cone Sul e Peru), *T. dimidiata* (Colômbia, Equador e América Central), *Rhodnius prolixus* (Colômbia, Equador, Venezuela, América Central e México), *P. megistus* (Nordeste e Centro-Sul do Brasil) e *T. brasiliensis* (Nordeste do Brasil). Outras espécies como, *T. sordida* e *T. pseudomaculata* (Brasil), *T. maculata* (Venezuela), ou *T. barberi* e *T. longipenis* (México), apresentam um grau de importância crescente devido ao seu potencial de domiciliação em circunstâncias especiais (WHO 1991; DIAS, 1992).

Diante da situação epidemiológica atual da doença de Chagas no Brasil e perspectivas em relação ao controle da transmissão vetorial devem ser consideradas as seguintes ações: (i) o esgotamento das populações da principal espécie vetora, o *T. infestans*, alóctone e exclusivamente domiciliar; (ii) o controle da colonização intradomiciliar de espécies autóctones com importância na transmissão, que atualmente é residual por algumas espécies nativas, como o *T. brasiliensis*, *P. megistus* e menos provavelmente por *T. pseudomaculata* e *T. sordida*; (iii) a domiciliação de algumas espécies consideradas de hábito silvestre, diretamente relacionadas ao ciclo enzoótico de transmissão, com risco de atuar como vetores do parasito em algumas áreas, tais como, o *T. rubrovaria* no estado do Rio Grande do Sul e *P. lutzi* na região Nordeste (SILVEIRA & DIAS, 2011).

Os fatores bioecológicos e político-sociais definem a localização da endemia em áreas pobres e rurais, resultando na domiciliação de triatomíneos infectados em vivendas de baixa qualidade (FORATTINI, 1980). No Brasil, a região Nordeste é considerada uma das mais pobres, com elevado índice de habitações de baixa qualidade na zona rural, propícias para abrigar triatomíneos (DIAS *et al.*, 2000). Apesar do programa de controle para a eliminação do *T. infestans* realizado por países do Cone Sul, alguns triatomíneos silvestres continuam a invadir o ambiente domiciliar, colonizando-o, o que pode desencadear uma nova perspectiva epidemiológica da doença de Chagas na região (COSTA & LORENZO, 2009).

No contexto epidemiológico da doença de Chagas, a região Nordeste apresenta importância acentuada, tendo sido a segunda em número de infectados e de índices de infestação de triatomíneos no primeiro inquérito nacional de prevalência e distribuição dos vetores realizados (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979). No segundo inquérito, em 1996, esta região apresentou o número mais elevado de triatomíneos capturados, que correspondeu a 69,2% do total de insetos e, as espécies *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* foram as mais frequentes no ambiente domiciliar, representando 43,12% e 37,47%, respectivamente (SILVEIRA & VINHAES, 1998). Nessa região, o controle dos triatomíneos domiciliados

apresenta problemas no presente e futuro, por ser o centro de dispersão e de maior concentração de *T. brasiliensis*, atualmente a espécie mais preocupante e mais difícil de controlar em todo o país (FORATTINI, 1980; ALENCAR, 1987; DIAS & COURA, 1997; SILVEIRA & VINHAES, 1998). Além das espécies *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata*, o *P. megistus* também apresenta importância à saúde pública (DIAS *et al.*, 2000).

O *T. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata* são espécies nativas do semiárido com ampla distribuição territorial e apesar de terem sido reduzidas, ainda se mantêm com ampla dispersão territorial e populações colonizando o intradomicílio (PIRAJÁ-DA-SILVA, 1913; LUTZ & MACHADO, 1915; LUCENA, 1952; LUCENA, 1958; LUCENA, 1959; ALENCAR & SHERLOCK, 1962; FORATTINI, 1980; ALENCAR, 1987; CARCAVALLO *et al.*, 1999; DIAS *et al.*, 2000; SILVEIRA, 2000; GALVÃO *et al.*, 2003). Estas são as principais vetoras do *T. cruzi* no Nordeste, capturados em ambientes peridomiciliar e domiciliar que reinvasem a partir dos ecótopos naturais (DIAS, 1988) e são encontrados em todos os estados desta região (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA & VINHAES, 1998; DIAS *et al.*, 2000; COSTA *et al.*, 2003; SILVEIRA, 2011).

Estudos pioneiros realizados nesta região apontaram o *T. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata* como os mais frequentes nos ambientes silvestre, peridomiciliar e domiciliar nos estados da Paraíba (LUCENA & COSTA, 1954), Ceará (ALENCAR, 1965), Piauí (COURA *et al.*, 1996) e no Rio Grande do Norte (LUCENA, 1959; CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; DIAS *et al.*, 2000). No estado da Paraíba, Lucena & Costa (1954) chamaram a atenção para a predominância do *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* no sertão, com índices de infecção pelo *T. cruzi* de 17,1% e 2,8%, respectivamente, porém com baixa infestação domiciliar. A presença do *T. brasiliensis* em unidades domiciliares na caatinga do Piauí foi predominante, mas sem infecção. No entanto, o índice de infecção dessa espécie pelo *T. cruzi* foi de 5,5% (COURA *et al.*, 1996). No estado do Ceará foi registrada como espécie predominante, com 15,4% de infecção pelo *T. cruzi* em 2.837 exemplares capturados (ALENCAR, 1965). Sarquis *et al.* (2004) também detectaram elevados índices de infecção em *T. pseudomaculata* (18%), *R. nasutus* (27,2%) e *T. brasiliensis* (15,3%) capturados em vários ambientes no município de Jaguaruana. Diotaiuti *et al.* (2000) avaliaram o processo de domiciliação e reinfestação do *T. brasiliensis* em 227 unidades domiciliares e encontraram 48% de casas infestadas. Após o tratamento com inseticidas peritróides os resultados foram satisfatórios no controle das populações domésticas, porém com rápida reinfestação dos



ecótopos peridomiciliares, atribuindo a abundância desta espécie no ambiente silvestre.

Dados recentes em vários estados do Nordeste mostraram que o *T. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata* continuam sendo as espécies mais capturadas, com diferentes perfis ecoepidemiológicos (LUQUETTI *et al.*, 2011). Várias espécies de triatomíneos foram capturadas em 138 municípios de Pernambuco, sendo o *T. pseudomaculata*, *T. brasiliensis* e *P. lutzi* as espécies mais frequentes no estado. A infecção natural pelo *T. cruzi* foi detectada em 17,8% de *P. lutzi*, 8,0% de *T. pseudomaculata* e 6,5% de *T. brasiliensis* (SILVA *et al.*, 2012). No Piauí, o *T. brasiliensis* foi o mais frequente, com 65% dos 22.896 triatomíneos capturados e 28% do *T. pseudomaculata* (GURGEL-CONÇALVES *et al.*, 2010). No Ceará, em localidades rurais do município de Morada Nova foram capturados 730 insetos em todos os ambientes, sendo aproximadamente 90% de *T. brasiliensis*, além de *T. pseudomaculata* e *R. nasutus*. Os índices de infecção natural do *T. brasiliensis* e *R. nasutus* foram 11,6% e 2,8% respectivamente, e nenhum espécime do *T. pseudomaculata* infectado (SARQUIS *et al.*, 2012).

A fauna triatomínica do estado do Rio Grande do Norte é bastante variada, podendo ser encontrada as espécies: *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. rubrofasciata*, *T. melanocephala*, *P. diasi*, *P. lutzi*, *P. megistus* e *R. nasutus*, sendo as duas primeiras as mais frequentes em unidades domiciliares (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA, 2011). Um estudo pioneiro realizado por Lucena (1959) relatou uma vasta área do RN sem importância epidemiológica, uma vez que nas zonas litorânea e salineira não havia indícios da presença de triatomíneos e indivíduos infectados. Por outro lado, nas demais as condições de transmissão eram severas, onde grande parte dos municípios era infestada com potencial para transmitir o *T. cruzi*.

No estado do Rio Grande do Norte, o programa de controle da doença de Chagas iniciou nos anos 70 com o Departamento Nacional de Endemias Rurais e, de forma mais organizada no Seridó estendendo-se posteriormente até a área serrana se expandindo para outros municípios. Este programa de combate ao inseto vetor vem ocorrendo de forma descontínua devido à falta de recursos humanos, produtos químicos e insumos (FUNASA, 1996).

Estudos recentes têm demonstrado a presença de triatomíneos infectados mesmo após a atuação do programa de controle da doença de Chagas e elevados percentuais de soroprevalência em determinadas áreas do estado. Nos municípios de Caicó, Caraúbas e Serra

Negra do Norte a infecção natural pelo *T. cruzi* foi 28,3% em *P. lutzi* e 7,5% em *T. brasiliensis* e 6,9% de indivíduos sororreativos (CAMARA, 2008; CÂMARA *et al.*, 2010). No inquérito nacional de soroprevalência foi detectada a infecção pelo *T. cruzi* em uma criança no município de Várzea (LUQUETTI *et al.*, 2011) e, a estimativa de soroprevalência (6,5%) foi mais elevada em municípios da mesorregião oeste enquanto no município de Caicó na mesorregião central foi 3,3% (BRITO *et al.*, 2012).

Como podemos notar, a doença de Chagas ainda permanece um problema de saúde pública em muitas áreas geográficas, pelo menos em parte, devido a potencial invasão e recolonização das habitações por triatomíneos silvestres, mesmo após a eliminação de espécies domiciliadas por meio de inseticida (GUHL *et al.* 2009). Um grande obstáculo para a consolidação do controle efetivo dessa endemia em longo prazo é a ocorrência de espécies de triatomíneos sinantrópicas que são autóctones e podem reinvasir e reinfestar casas após o controle com inseticidas (FORATTINI, 1980; DIOTAIUTI *et al.*, 2000; MILES *et al.*, 2003, SCHOFIELD, *et al.*, 2006; COURA, 2007). Por outro lado, também não é possível eliminá-las definitivamente de habitações humanas vulneráveis à infestação (SILVEIRA, 2000; SILVEIRA & DIAS, 2011). A ocorrência de novos casos de infecção chagásica em crianças, a maior parte proveniente da região Nordeste, está provavelmente associada à transmissão domiciliar por espécies nativas de triatomíneos que têm comportamento ubíquo, com grande ecletismo alimentar podendo por isso colonizar, indiferentemente, a casa e anexos do peridomicílio (LUQUETTI *et al.*, 2011).

Diante da situação atual do controle vetorial, aliada à emergência de algumas espécies de triatomíneos anteriormente com hábitos estritamente silvestres ou com baixa capacidade invasiva em relação aos ecótopos artificiais e, candidatas a condição de possíveis transmissoras do *T. cruzi* no ambiente peri e intradomiciliar, neste trabalho foi avaliada a fauna triatomínica, os aspectos ecológicos, a infecção natural pelo *T. cruzi* e a presença ou não do *T. rangeli* na zona rural de municípios nas mesorregiões central e oeste inseridos na área endêmica do estado do Rio Grande do Norte.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

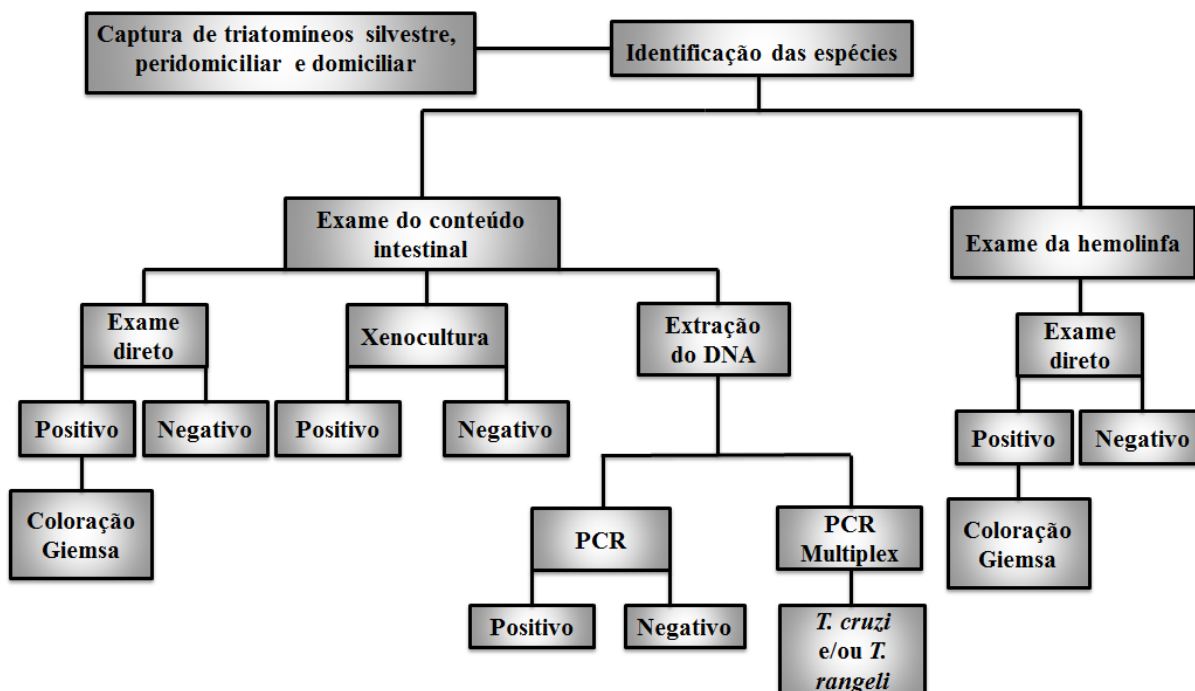
Avaliar a distribuição da fauna triatomínica e a infecção natural pelo *Trypanosoma cruzi* e *T. rangeli* desses insetos em diferentes ambientes na zona rural das mesorregiões central e oeste do estado do Rio Grande do Norte.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Capturar e identificar a triatomofauna presente nos ambientes silvestre, peridomiciliar e domiciliar;
- ✓ Identificar as espécies de triatomíneos e associação aos diferentes ecótopos existentes nos ambientes silvestre e peridomiciliar;
- ✓ Determinar a infecção natural dos triatomíneos pelo *T. cruzi* por métodos parasitológico e molecular;
- ✓ Comparar a positividade dos diferentes métodos que permitem a identificação do *T. cruzi*;
- ✓ Investigar a infecção das espécies de triatomíneos pelo *T. rangeli*.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

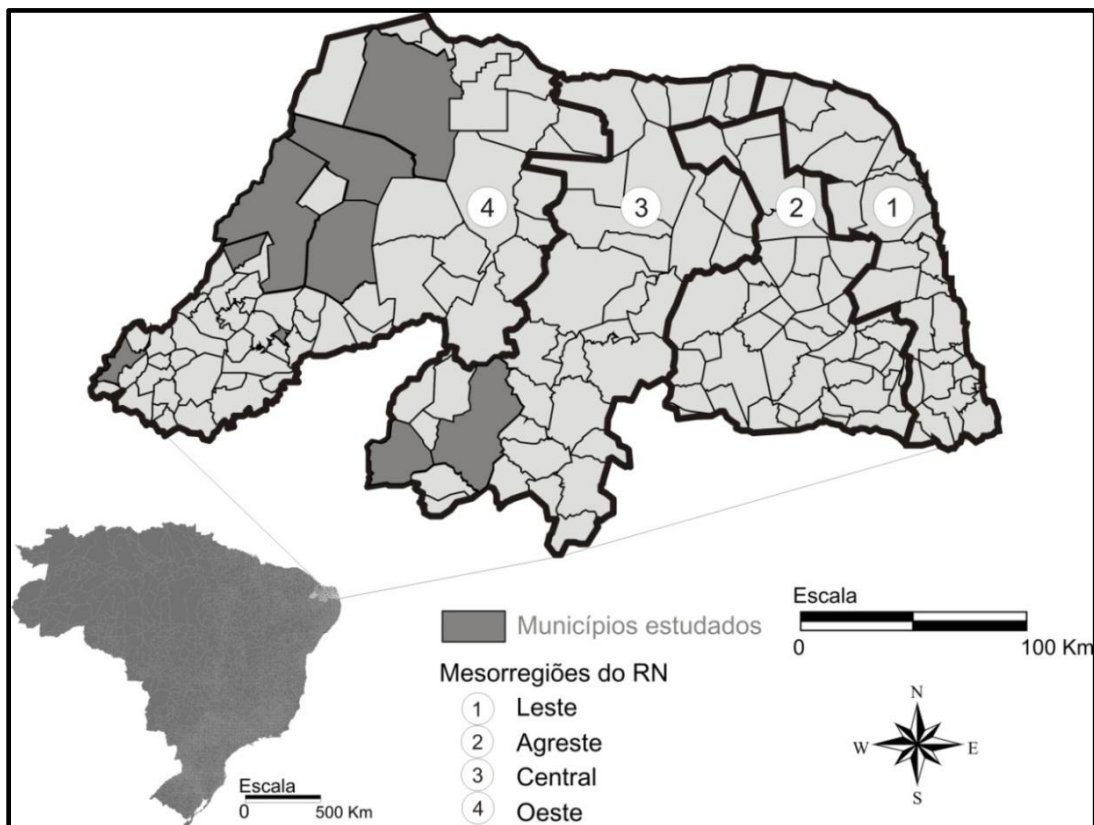
#### 3.1 Delineamento experimental



#### 3.2 Área de estudo

O estado do Rio Grande do Norte (RN) apresenta uma extensão territorial de 52.810,7km<sup>2</sup> correspondendo a 0,62% do território nacional e representa 3,14% da região Nordeste. O RN está dividido politicamente em 167 municípios, agrupados em quatro mesorregiões: oeste, central, agreste e leste (Figura 1) e aproximadamente 90% do território está incluído no semiárido que abrange desde o sertão até o litoral.

Nas mesorregiões central e oeste a vegetação predominante é a caatinga hiperxerófila, caracterizada por ser densa e apresentar estrutura irregular, muitas vezes formando moitas e descobrindo parcialmente o solo. O solo característico dessas áreas é o cambissolo eutrófico, com relevo plano a fortemente ondulado. A temperatura média anual é de 25,5°C, sendo a máxima de 31,1°C e a mínima de 21,1°C. O clima semiárido ocorre de forma contínua nessa área e se estende até o litoral setentrional (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO RN, 2010).



**FIGURA 1** - Mapa do Brasil e em destaque o Estado do Rio Grande do Norte mostrando em detalhe cinza escuro, os municípios situados nas mesorregiões central e oeste, onde foram capturados os triatomíneos.

Fonte: Modificado pela autora a partir da base cartográfica do IBGE Disponível em <[http://www.ibge.gov.br/cidadesat/ufs/download/mapa\\_e\\_municipios.php?uf=rn](http://www.ibge.gov.br/cidadesat/ufs/download/mapa_e_municipios.php?uf=rn)> Acesso em 13 jun 2012.

A mesorregião central abrange uma área correspondente a 15.810,436 Km<sup>2</sup>, que está dividida em cinco microrregiões: Macau, Angicos, Serra de Santana, Seridó Ocidental e Seridó Oriental. Esta mesorregião é constituída de 37 municípios, as capturas de triatomíneos foram realizadas em dois deles, Caicó e Serra Negra do Norte (Figura 1). No município de Serra Negra do Norte, a captura no ambiente silvestre ocorreu na Estação Ecológica do Seridó (ESEC Seridó-ICMBio), Unidade de Conservação criada pelo decreto 87.222 de 31/05/1982, Lei N.º. 6.902 de 27/04/1982.

A mesorregião oeste ocupa uma área de 21.167,13km<sup>2</sup> subdividida em sete microrregiões (Mossoró, Chapada do Apodi, Médio Oeste, Vale do Açu, Serra de São Miguel, Pau dos Ferros e Umarizal) e constituída de 62 municípios. Nesta mesorregião, as buscas por triatomíneos ocorreram na zona rural dos municípios de Lucrécia, Governador Dix-Sept Rosado, Mossoró, São Miguel, Severiano Melo, Apodi e Caraúbas.

Os municípios e as comunidades rurais foram selecionados por sorteio aleatório realizado no inquérito soropidemiológico no estado do RN (BRITO *et al.*, 2012) e, este estudo foi realizado em paralelo

### **3.3 Captura e identificação de vetores**

As capturas de triatomíneos foram realizadas nos ambientes peridomiciliar e domiciliar de todos os municípios estudados, nos períodos diurno e noturno. Em ambiente silvestre foram incluídos os municípios de Apodi, Caraúbas e Serra Negra do Norte. O critério para a escolha destes municípios foi baseado na melhor acessibilidade e segurança a determinados ecótopos, disponibilidade de tempo e dos recursos financeiros. Em Apodi, os ecótopos naturais pesquisados foram folhas de carnaúbas (n=10) (*Copernicia prunifera*) e ninhos de pássaros (n=3) (Figura 2). Em Caraúbas as buscas por triatomíneos também foram realizadas em um carnaubal (n=4), além de afloramentos de rochas (n=5) (Figura 3). No município de Serra Negra do Norte os triatomíneos foram capturados em afloramentos de rochas (n=4), cerca de pedras e na parte externa do alojamento da ESEC Seridó (Figura 4). O critério para a escolha dos ecótopos foi aleatório e, a área correspondente ao alojamento foi classificada como ecótopo indeterminado devido à ausência de moradores e abrigos de animais utilizados como fontes de alimentos para os triatomíneos.

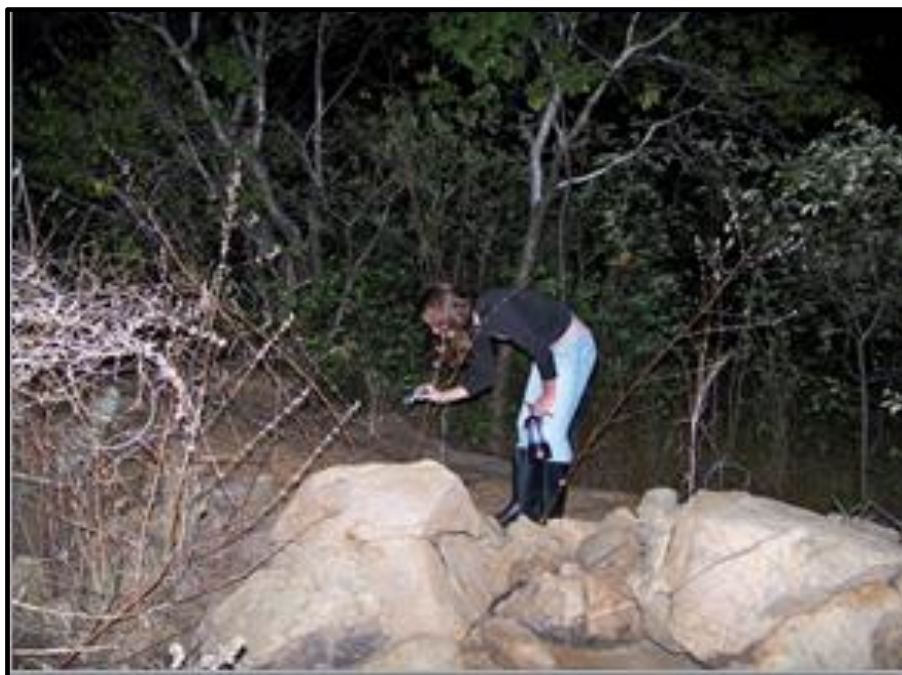
No ambiente peridomiciliar as capturas de triatomíneos ocorreram em ecótopos artificiais localizados até 100m de distância do domicílio (SARQUIS *et al.*, 2006) tais como, galinheiros, currais, chiqueiros, empilhamento de telhas e tijolos, palha seca da carnaúba e alguns anexos fechados como igrejas e escolas (Figura 5). No domicílio, as buscas foram realizadas em todos os cômodos e móveis do ambiente (Figura 6).



**FIGURA 2** – Ecótopos naturais das capturas dos triatomíneos silvestres no município de Apodi. A: folhas da carnaúba; B: ninho de pássaros.  
Fonte: Acervo próprio, 2012.



**FIGURA 3** – Ecótopos naturais (folha da carnaúba e afloramento de rochas) das capturas de triatomíneos silvestres no município de Caraúbas.  
Fonte: Acervo próprio, 2012.



**FIGURA 4** – Ecótopo natural (afloramento de rochas) da captura de triatomíneos silvestres no município de Serra Negra do Norte.  
Fonte: Acervo próprio, 2011.



**FIGURA 5** – Ecótopos peridomiciliares onde foram capturados triatomíneos nos diferentes municípios.  
Fonte: Acervo próprio, 2009-2011.





**FIGURA 6** – Captura de triatomíneos no ambiente domiciliar.  
Fonte: Acervo próprio, 2012.

Os triatomíneos foram capturados manualmente com auxílio de pinça e acondicionados em frascos de vidros, devidamente etiquetados (com data, ambiente, ecótopo e município de origem). No laboratório de biologia de parasitos e doença de Chagas/DACT/CCS, os insetos foram identificados conforme os parâmetros da chave de identificação (CARCAVALLO *et al.*, 1998) e quantificados. Em seguida, o conteúdo intestinal dos insetos foi analisado por exame direto, xenocultura e PCR para a identificação do *T. cruzi*. A PCR multiplex também foi realizada em todas as amostras positivas para *T. cruzi* e amostras negativas para a possível detecção do *T. rangeli*. A hemolinfa da perna dos insetos foi examinada para a detecção do *T. rangeli*.

### **3.4 Infecção natural dos triatomíneos pelo *T. cruzi***

#### **3.4.1 Exame do conteúdo intestinal dos triatomíneos**

Os triatomíneos foram colocados em solução *White* por 30min e lavados com solução salina a 0,9% estéril. Em seguida, em ambiente estéril, cada espécime foi examinado individualmente. O exame consistiu em remover a cutícula em torno do abdome e retirar o conteúdo intestinal colocando-o numa placa de 24 poços contendo 500 $\mu$ L de solução salina estéril (BRONFEN *et al.*, 1989). Após a maceração, a suspensão foi dividida em três partes:

(1<sup>a</sup>) para o exame direto, uma pequena alíquota foi colocada entre lâmina e lamínula para identificação de formas com ou sem mobilidade do parasito. Posteriormente, foram realizados esfregos da suspensão em lâminas e corados pelo Giemsa por 30min, examinados ao microscópio óptico em aumento de 100× e 400×; (2<sup>a</sup>) para a xenocultura foram utilizados aproximadamente 300µL da mistura de cada amostra semeados em tubo plástico estéril contendo os meios de cultura *Liver Infusion Tryptose-LIT* (CAMARGO, 1964) + McNeal Novy e Niccole (NNN) ou Ágar sangue. Os tubos foram incubados a temperatura de 28°C e uma alíquota de cada amostra foi examinada aos 15, 30 e 60 dias ao microscópio óptico com aumento de 400×. As amostras positivas foram semeadas em meio LIT para o cultivo do *T. cruzi* por curto período de tempo e criopreservadas em Nitrogênio líquido a -196°C; (3<sup>a</sup>) uma parte desta mistura foi diluída (v/v) em solução de Guanidina-HCl 6M/EDTA 0,2M, mantida 5-7 dias a temperatura ambiente e fervidas a 100°C por 15min. Esta clivagem física lisa e preserva o DNA em temperatura ambiente permitindo a linearização dos minicírculos e sua liberação da rede do kDNA (DNA do cinetoplasto) promovendo uma distribuição homogênea de sequências alvos (BRITTO *et al.*, 1993). As amostras foram armazenadas a 4°C até o momento da extração do DNA (GOMES *et al.*, 1998).

#### **3.4.2 Reação em cadeia da polimerase (PCR)**

A extração do DNA foi realizada com 200µL da amostra em microtubo de 1,5mL e adicionados de 100µL de fenol Tris pH 8,0 e 100µL de clorofórmio. A mistura foi homogeneizada lentamente durante 2min e centrifugada a 6.000rpm (Microcentrífuga *Eppendorf* modelo 5418, *Hamburg, Germany*) por 5min. O sobrenadante foi removido para o microtubo 2 e, ao sedimento foram adicionados 200µL de água MiliQ estéril e centrifugado nas mesmas condições anteriores com transferência do sobrenadante para o microtubo 2. Na próxima etapa foram adicionados 300µL de clorofórmio ao sobrenadante, centrifugado por 5min a 6.000rpm, seguida da precipitação do DNA em banho de gelo durante 15min em presença de 100mM de acetato de sódio, 40µg de glicogênio (*Boehringer, Mannheim, Germany*) e dois volumes de etanol absoluto. Após a centrifugação a 13.000rpm por 15min, o sobrenadante foi descartado, volatilizado o etanol e o DNA foi ressuscendido em 20µL de H<sub>2</sub>O miliQ estéril e armazenado a 4°C até o momento de uso (GOMES *et al.*, 1998).

##### **3.4.2.1 Condições da PCR**

Nas reações da PCR, as sequências da região constante dos minicírculos do kDNA constituíram o alvo da reação, amplificando um fragmento de 330pb (pares de base) com os iniciadores: 121 (5'-AAATAATGTACGGG(G/T)GAGATGCATGA-3') e 122 (5'-GGT

TCGATTGGGGTTGGTGTAATATA-3') (DEGRAVE *et al.*, 1988). As reações foram realizadas em duplicata, em um volume final de 20µL contendo Tris-HCl 10mM (pH 9.0), Triton X-100 0,1%, KCl 75mM, MgCl<sub>2</sub> 3,5mM, 0,2mM de cada deoxinucleotídeo (dATP/dTTP/dGTP/dCTP, *Sigma Chemical Company, Missouri, USA*), 1U de *Taq* DNA polimerase (*Promega, USA*), 25pmoles de cada iniciador da reação e 2µL do DNA. Para a mistura da reação foram adicionados 30µL de óleo mineral (*Sigma, USA*) para evitar a evaporação. O programa de amplificação foi constituído de uma desnaturação inicial a 95°C (5min), 35 ciclos de desnaturação a 95°C (1min), anelamento a 65°C (1min), extensão a 72°C (1min) e extensão final por 10min em termociclador (*Mastercycler gradient-Eppendorf, Hamburg, Germany*). As etapas de extração do DNA e mistura da reação da PCR sempre foram monitoradas com controles positivos e negativos. Como controles positivos da reação de PCR foram utilizados 2µL de DNA de cultura acelular de *T. cruzi* da cepa CL (1ng/1 µL) em um tubo separado com a mesma mistura da reação. Para evitar contaminações, cada etapa da reação foi realizada em ambientes separados, utilizando reagentes e equipamentos destinados exclusivamente para cada uma delas.

Os produtos amplificados pela PCR foram visualizados por eletroforese em géis de poliacrilamida a 6%, revelados pela prata (SANTOS *et al.*, 1993) e o tamanho das bandas amplificadas foi monitorado pela utilização de marcador de peso molecular 100pb (*Ladder, Invitrogen, California, USA*). Os géis foram fixados com solução de etanol a 10% e ácido acético a 0,5% por 10min com agitação constante. Após a coloração com o nitrato de prata a 0,2%, os géis foram lavados rapidamente em H<sub>2</sub>O destilada, seguida de uma lavagem posterior por 2min. A revelação foi com a solução de NaOH 0,75M e formaldeído 0,1M sob agitação até o aparecimento das bandas. Os géis foram transferidos para solução fixadora e fotografados para documentação.

### **3.5 Infecção natural de triatomíneos pelo *Trypanosoma rangeli***

#### **3.5.1 Exame da hemolinfa dos triatomíneos**

A hemolinfa foi coletada de uma das pernas seccionada de cada triatomíneo e uma microgota colocada entre lâmina e lamínula para exame direto ao microscópio óptico em aumento de 100× e 400×, para a identificação das formas evolutivas móveis ou não do *T. rangeli*. Esse exame foi realizado em 152 espécimes de triatomíneos, 117 de *T. brasiliensis*, seis de *T. pseudomaculata*, oito de *P. lutzi* e 21 de *R. nasutus* no estágio adulto ou quinto estágio ninfal.

### 3.5.2 PCR multiplex

Para o diagnóstico diferencial do *T. cruzi* e do *T. rangeli* esta reação foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Souto *et al.* (1999), utilizando os seguintes iniciadores:

D72 (5'-TTTGAATGGTCACCGAACAGT-3')

D75 (5'-GATGCACTTGGTTGGCGTAG-3')

RG3 (5'-GGC CAA AGG GTA AGG CTC-3')

As reações foram realizadas em um volume final de 22µL contendo Tris-HCl 10mM (pH 9.0), Triton X-100 0,1%, MgCl<sub>2</sub> 3,5mM, 0,4mM de cada deoxinucleotídeo (dATP/dTTP/dGTP/dCTP, *Sigma, USA*), 5U de Platinum® *Taq* DNA polimerase (*Invitrogen Life Technologies, Califórnia, USA*), 17pmoles de cada iniciador da reação e 2µL de DNA molde. Para a mistura da reação foram adicionados 30µL de óleo mineral para evitar a evaporação. O programa de amplificação foi constituído de uma desnaturação inicial a 94°C (4min), 30 ciclos de desnaturação a 94°C (1min), anelamento a 60°C (1min) e extensão a 72°C (1 min) e, extensão final por 7min em termociclador (*Mastercycler Gradient-Eppendorf, Hamburg, Germany*). As etapas de mistura da reação da PCR sempre foram monitoradas com controles positivos e negativos. Como controles positivos da reação de PCR foram utilizados 2µL de DNA de cultura acelular de *T. cruzi* das cepas Colombiana (*T. cruzi* I), JG (*T. cruzi* II) e *T. rangeli* (1ng/1 µL) em tubo separado com a mesma mistura da reação.

Os produtos amplificados pela PCR foram visualizados por eletroforese em géis de poliacrilamida a 7,5% segundo o protocolo de Fernandes *et al.* (2001) e revelados pela prata (SANTOS *et al.*, 1993). O tamanho das bandas amplificadas foi monitorado pela utilização de marcador de peso molecular 100pb (*Ladder, Invitrogen, USA*).

### 3.6 Análise estatística

O teste paramétrico de comparação de proporções foi aplicado para verificar a positividade das três técnicas de detecção do *T. cruzi* entre as espécies de triatomíneos e comparar a positividade das diferentes espécies em relação às mesorregiões. O teste não paramétrico do Qui-quadrado foi utilizado para verificar a associação das espécies de triatomíneos e do índice de infecção destes insetos pelo *T. cruzi* em relação ao ambiente onde foram capturados. Os testes foram considerados significativos quando o valor de p foi igual ou maior que 0,05 ( $p \leq 0,05$ ). Para as análises foi usado o Sistema R (versão 2.14).

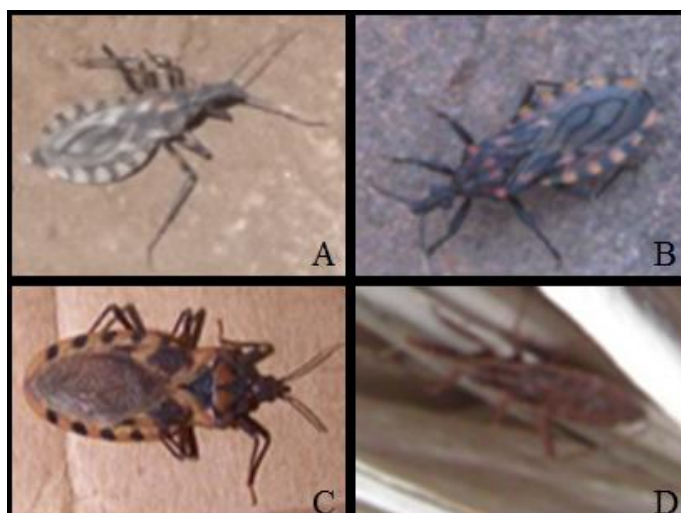
#### 4 RESULTADOS

As capturas de triatomíneos foram realizadas em diferentes municípios das mesorregiões oeste e central do estado do Rio Grande do Norte e foram pesquisadas cerca de 350 unidades domiciliares, além do ambiente silvestre. Do total de 824 espécimes capturados, 66,4% (547/824) foram da espécie *T. brasiliensis*, 18,2% (150/824) de *T. pseudomaculata*, 12,7% (105/824) de *P. lutzi* e 2,7% (22/824) de *R. nasutus* (Tabela 1). Na mesorregião oeste foram capturados 64,6% (532/824) dos insetos, enquanto na central 35,4% (292/824) (Gráfico 1). As espécies de triatomíneos capturadas nas diferentes localidades podem ser visualizadas na figura 7.

TABELA 1 - Distribuição das espécies de triatomíneos capturados em duas mesorregiões do estado do Rio Grande do Norte

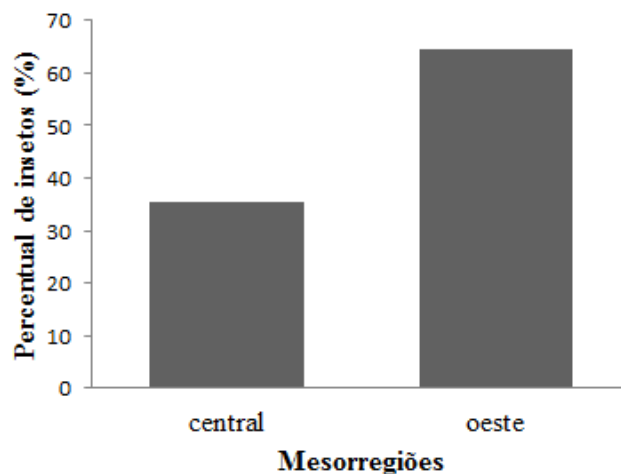
Espécies de triatomíneo	Mesorregiões				Total de espécimes	
	Central		Oeste		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
<i>T. brasiliensis</i>	148	50,7	399	75,0	547	66,4
<i>T. pseudomaculata</i>	38	13,0	112	21,1	150	18,2
<i>P. lutzi</i>	105	36,0	-	-	105	12,7
<i>R. nasutus</i>	1	0,3	21	3,9	22	2,7
<b>Total</b>	<b>292</b>	<b>100</b>	<b>532</b>	<b>100</b>	<b>824</b>	<b>100</b>

Nº: número; %: percentual



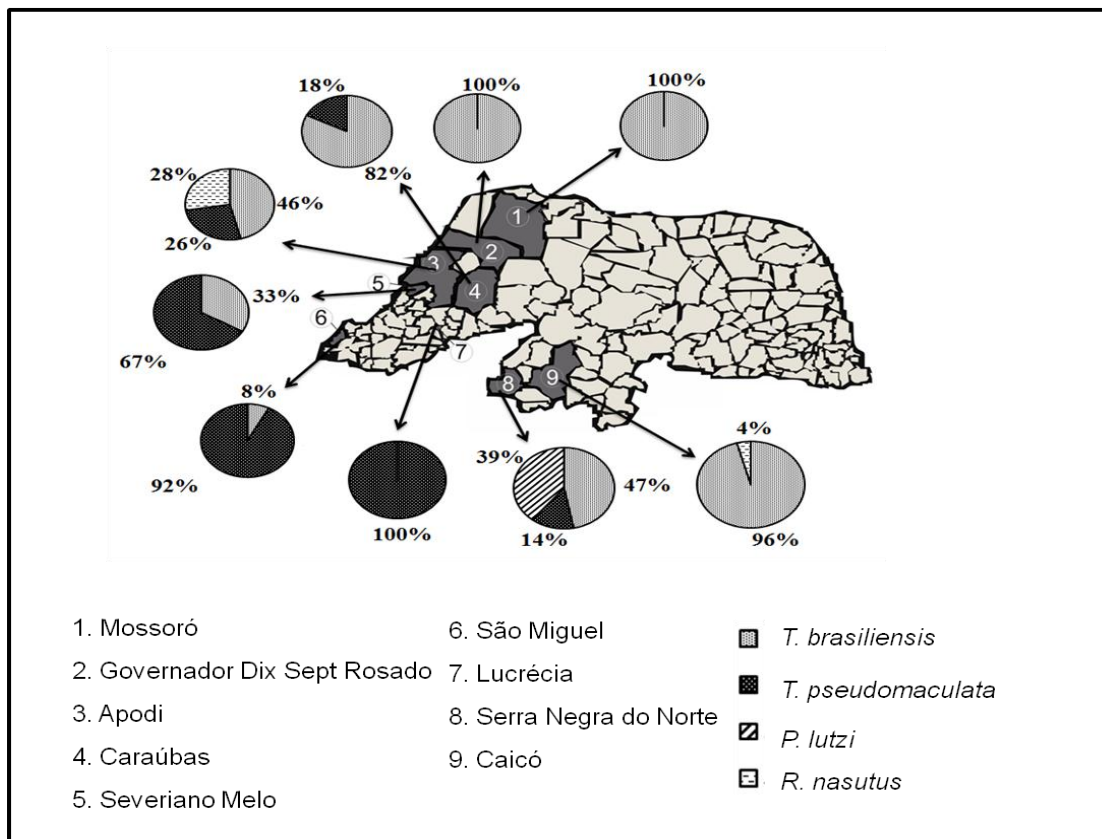
**FIGURA 7** – Espécies de triatomíneos capturadas no semiárido potiguar. A: *T. brasiliensis*; B: *T. pseudomaculata*; C: *P. lutzi*; D: *R. nasutus*

Fonte: Acervo próprio, 2012



**GRÁFICO 1** – Triatomíneos capturados por mesorregião no estado do Rio Grande do Norte  
 Fonte: Elaborado pela autora com base em dados da presente pesquisa, 2012.

As espécies *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* e *R. nasutus* foram observadas em ambas as mesorregiões, sendo o maior número de espécimes capturado na oeste. Na mesorregião oeste, o *T. brasiliensis* foi capturado na maioria dos municípios, exceto em Lucrécia, onde foram encontrados somente exemplares do *T. pseudomaculata*. Além disso, o *T. brasiliensis* foi exclusivo em Mossoró e Governador Dix Sept Rosado, predominante em Apodi (46% - 35/76) e em Caraúbas (82% - 306/371). O *T. pseudomaculata* foi mais frequente em Severiano Melo (67% - 8/12) e São Miguel (92% - 12/13). O *R. nasutus*, com distribuição territorial restrita, foi observado somente no município de Apodi. Na mesorregião central, o *T. brasiliensis* foi capturado em Serra Negra do Norte e Caicó, enquanto o *P. lutzi* e o *T. pseudomaculata* foram capturados exclusivamente no município de Serra Negra do Norte e, o *R. nasutus* em Caicó (Figura 8).



**FIGURA 8** - Dispersão geográfica da fauna triatomínica por município nas mesorregiões oeste (1 a 7) e central (8 e 9) do estado do Rio Grande do Norte.

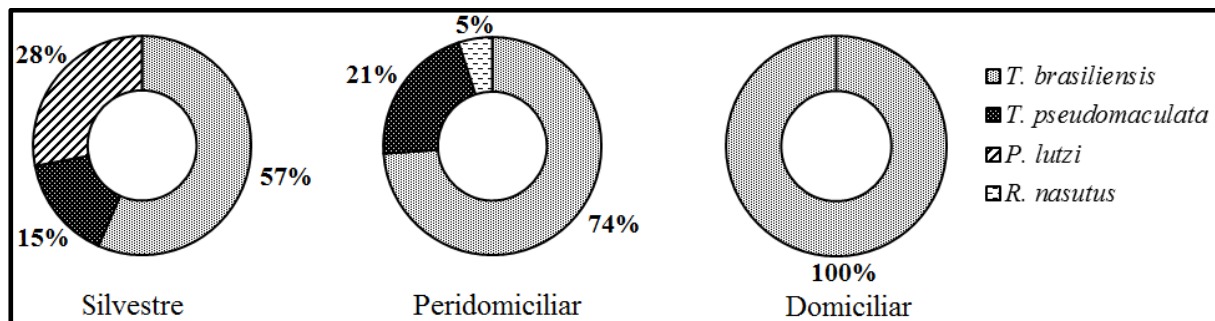
Fonte: Modificado pela autora, com base em dados da presente pesquisa, a partir da base cartográfica do IBGE Disponível em

<[http://www.ibge.gov.br/cidadesat/ufs/download/mapa\\_e\\_municipios.php?uf=rn](http://www.ibge.gov.br/cidadesat/ufs/download/mapa_e_municipios.php?uf=rn)> Acesso em 13 jun 2012.

Os triatomíneos foram capturados em vários ambientes, sendo mais frequente no peridomicílio com um elevado percentual de capturas (53,0% - 437/824), seguido do silvestre (45,5% - 375/824) e domiciliar (1,5% - 12/824). A espécie *T. brasiliensis* foi predominante e a única presente em todos os ambientes. O *T. pseudomaculata* foi encontrado no ambiente silvestre e peridomiciliar, enquanto que o *P. lutzi* e o *R. nasutus* foram exclusivamente silvestre e peridomiciliar, respectivamente (Figura 9).

No ambiente silvestre foram capturados 375 espécimes, sendo 57% (212/375) do *T. brasiliensis*, 28% (105/375) do *P. lutzi* e 15% (58/375) do *T. pseudomaculata*. Neste ambiente foram identificados ninfas e adultos das espécies *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata*, enquanto do *P. lutzi*, exclusivamente espécimes adultos. Em relação aos 437 insetos capturados no ambiente peridomiciliar, 74% (323/437) foram do *T. brasiliensis*, 21% (92/437) do *T. pseudomaculata* e 5% (22/437) do *R. nasutus*, todos nos estágios de ninfa e adulto. No

ambiente domiciliar foram identificadas 12 exemplares adultos da espécie *T. brasiliensis* (Figura 9).



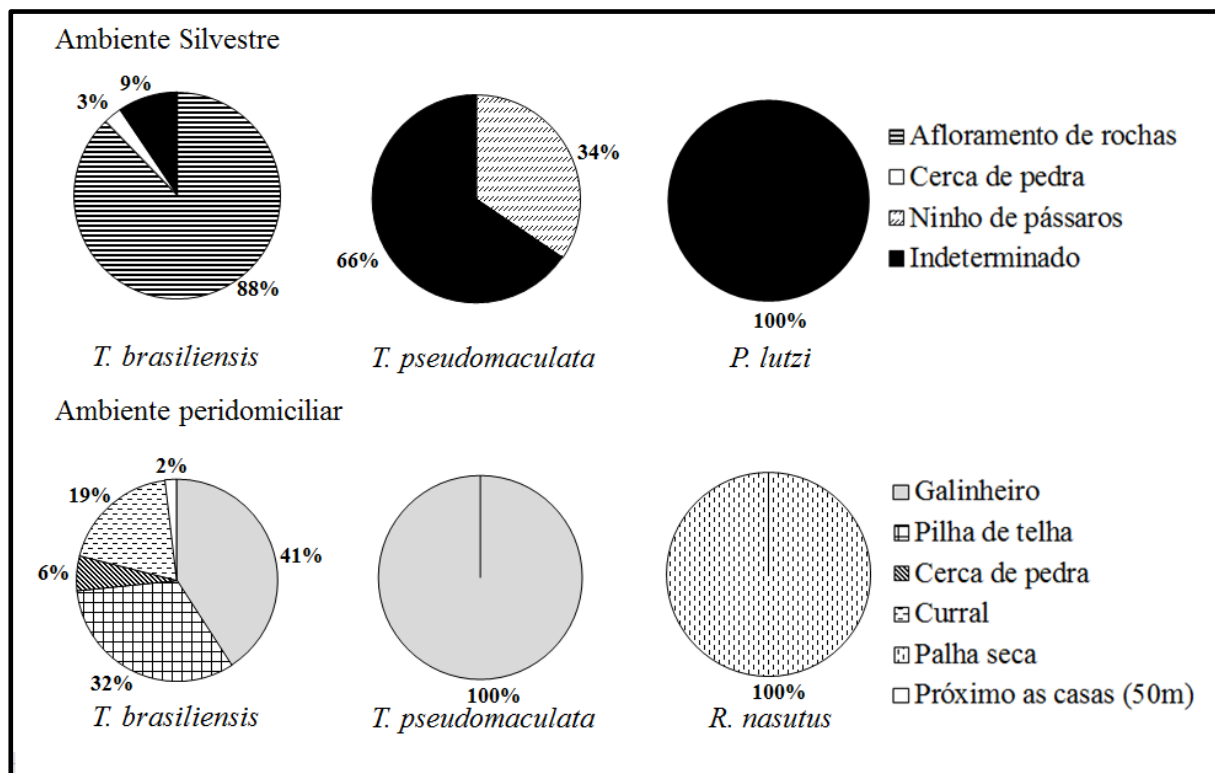
**FIGURA 9** - Distribuição das espécies de triatomíneos em diferentes ambientes, silvestre, peridomiciliar e domiciliar das mesorregiões central e oeste do Rio Grande do Norte.

Fonte: Elaborado pela autora com base em dados da presente pesquisa, 2012.

No ambiente silvestre 88% (186/212) dos exemplares do *T. brasiliensis* foram capturados em afloramentos de rochas, 3% (6/212) em cerca de pedras e 9% (20/212) no prédio do alojamento da reserva ecológica, considerado um ecótopo indeterminado neste trabalho. Neste ecótopo também foram capturados todos os exemplares do *P. lutzii* e 66% (38/58) dos espécimes de *T. pseudomaculata*, provavelmente atraídos pela luz. Alguns espécimes do *T. pseudomaculata* também foram capturados em um dos três ninhos de pássaros analisados. Neste ambiente os insetos foram pesquisados em 15 carnaúbas, porém, nenhum exemplar foi encontrado (Figura 10).

No ambiente peridomiciliar, o *T. brasiliensis* foi observado em uma variedade de ecótopos, 41% (132/323) dos insetos associados ao galinheiro, 32% (105/323) a pilhas de telhas e 19% (62/323) ao curral. O *T. pseudomaculata* e o *R. nasutus* foram as espécies capturadas exclusivamente em galinheiros e palhas secas, respectivamente (Figura 10).





**FIGURA 10** – Distribuição das espécies de triatomíneos nos diversos ecótopos dos ambientes silvestre e peridomiciliar nas mesorregiões central e oeste do Rio Grande do Norte  
Fonte: Elaborado pela autora com base em dados da presente pesquisa, 2012.

A infecção natural dos triatomíneos pelo *T. cruzi* determinada pela análise do conteúdo intestinal de todos os exemplares capturados foi 30,4% (251/824), avaliada por exame direto, xenocultura e PCR. O percentual de infecção mais elevado (78,0% - 82/105) foi encontrado no *P. lutzi*, seguido de *T. brasiliensis* (24,4% - 134/547), *T. pseudomaculata* (22,6% - 34/150) e *R. nasutus* (4,5% - 1/22) (Tabela 2). A análise isoladamente de cada técnica demonstrou que a PCR amplificou o kDNA do parasito em 29,2% (241/824) dos espécimes, com elevada positividade quando comparada aos métodos do exame direto e xenocultura. O exame direto e a xenocultura detectaram o parasito em 5,5% (46/824) e 2,0% (17/824), respectivamente. No *T. brasiliensis* a infecção pelo *T. cruzi* variou entre 0,3% (2/547) obtido por xenocultura a 24,3% (133/547) detectada pela PCR. No *T. pseudomaculata* essa variação foi de 0,6% (1/150) no exame direto e xenocultura a 22,6% (34/150) na PCR. A infecção do *P. lutzi* foi mais elevada tanto na PCR (69,5% - 73/105) quanto no exame direto (35,2% - 37/105) e na xenocultura apenas 13,3% (14/105). A infecção do *R. nasutus* pelo *T. cruzi* foi detectada exclusivamente pela PCR (Tabela 2).

TABELA 2 – Infecção natural das espécies de triatomíneos pelo *T. cruzi* por diferentes métodos em nove municípios do estado do Rio Grande do Norte

Espécies	Total coletado	Exame direto %	Xenocultura %	PCR %	Infecção*	
					Nº	%
<i>T. brasiliensis</i>	547	1,4	0,3	24,3	134	24,4
<i>T. pseudomaculata</i>	150	0,6	0,6	22,6	34	22,6
<i>P. lutzii</i>	105	35,2	13,3	69,5	82	78,0
<i>R. nasutus</i>	22	0,0	0,0	4,5	1	4,5
<b>Total</b>	<b>824</b>	<b>5,5</b>	<b>2,0</b>	<b>29,2</b>	<b>251</b>	<b>30,4</b>

Nº - Número; % - Percentual; PCR- Polymerase Chain Reaction; \* Triatomíneos positivos em exame direto, xenocultura e/ou PCR

Na análise estatística usando o teste de comparação de proporções dois a dois, a positividade dos métodos de detecção do *T. cruzi* foi comparada entre as espécies de triatomíneos capturadas. A positividade do *P. lutzii* quando comparada ao *T. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata*, com os três métodos de detecção do parasito, mostrou diferença significativa ao nível de 5%, onde o valor de p foi menor que 0,0001. Quando o *T. brasiliensis* foi comparado ao *R. nasutus*, a positividade foi significativa somente na xenocultura (p=0,0195). Em relação ao *T. pseudomaculata*, a positividade do *T. brasiliensis* foi significativa no exame direto (p =0,0013) e na PCR (p< 0,0001). Na comparação com o *R. nasutus*, a proporção da positividade do *T. brasiliensis* foi significativa somente na PCR (p=0,0298). A positividade do *T. pseudomaculata* também foi significativa na PCR quando comparada ao *R. nasutus* (p=0,0410). O exame direto e a PCR não mostrou diferença na positividade quando o *P. lutzii* foi comparado ao *T. brasiliensis*, assim como no exame direto e na xenocultura entre o *T. brasiliensis* e o *R. nasutus* e, entre o *T. pseudomaculata* e *R. nasutus*, (p>0,05) (Tabela 3).

TABELA 3 – Comparação de proporção da positividade de três métodos usados para a detecção do *T. cruzi* em diferentes espécies de triatomíneos capturados no semiárido potiguar

Espécies de triatomíneos	Exame direto	Xenocultura	PCR
<i>P. lutzi</i> versus <i>T. brasiliensis</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<i>P. lutzi</i> versus <i>T. pseudomaculata</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<i>P. lutzi</i> versus <i>R. nasutus</i>	0,2193	0,0195	0,7989
<i>T. brasiliensis</i> versus <i>T. pseudomaculata</i>	0,0013	0,0759	<0,0001
<i>T. brasiliensis</i> versus <i>R. nasutus</i>	0,6382	0,6382	0,0410
<i>T. pseudomaculata</i> versus <i>R. nasutus</i>	0,6376	1,0000	0,0298

Comparação significativa: p-valor  $\leq$  0,05

Na mesorregião central o percentual de triatomíneos infectados foi 48,2% (141/292) enquanto que na mesorregião oeste 20,6% (110/532). O índice de infecção das espécies na área central do estado foi mais elevado para o *P. lutzi* (78,0% - 82/105) seguido de *T. brasiliensis* (33,7% - 50/148) e o *T. pseudomaculata* (23,6% - 9/38). Na mesorregião oeste também foram detectados elevados índices de infecção em *T. pseudomaculata* e *T. brasiliensis*, 22,3% (25/112) e 21,0% (84/399), respectivamente. O teste realizado para comparar a proporção de insetos infectados entre as mesorregiões mostrou diferença significativa para o *T. brasiliensis* (p=0,0018), enquanto para o *T. pseudomaculata* não foi observado (p=0,7990). Esse teste não foi realizado para o *P. lutzi* e *R. nasutus* devido ao fato de não terem sido encontrados exemplares infectados nas mesorregiões oeste e central, respectivamente (Tabela 5).

A infecção natural de cada espécie de triatomíneo pelo *T. cruzi* também foi verificada quanto aos ambientes onde foram capturadas. O percentual de infecção dos triatomíneos foi mais elevado nos insetos capturados no ambiente domiciliar, com 50% (6/12) dos exemplares infectados e da espécie *T. brasiliensis*. O percentual de infecção dos insetos no ambiente silvestre também foi bastante elevado (41,8% - 157/375). Neste ambiente, a infecção do *P. lutzi* foi 78,0% (82/105), sendo o mais elevado, seguido do *T. brasiliensis* e do *T. pseudomaculata*, com 31,1% (66/212) e 15,5% (9/58), respectivamente. O índice de infecção mais baixo foi detectado em insetos do ambiente peridomiciliar (20,1% - 88/437), onde a espécie mais infectada foi *T. pseudomaculata* (27,1% - 25/92), seguida do *T. brasiliensis* (19,1% - 62/323) e *R. nasutus* (4,5% - 1/22). O teste do Qui-quadrado demonstrou que há indícios de associação entre as espécies de triatomíneos, os índices de infecções destas e o ambiente onde foram capturadas, com valor de  $p < 0,00001$  (Tabela 4).

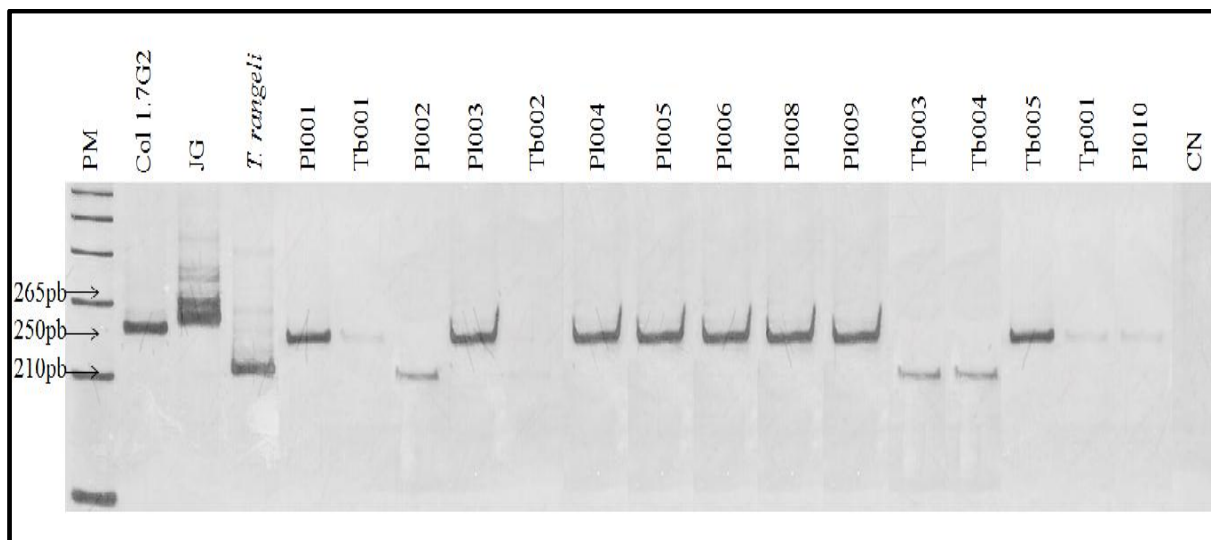
TABELA 4 – Infecção natural dos triatomíneos pelo *T. cruzi* capturados nas duas mesorregiões e em diferentes ambientes

Espécie	Central		Oeste		Silvestre <sup>c</sup>		Peridomiciliar <sup>c</sup>		Domiciliar <sup>c</sup>	
	Nº	%I	Nº	%I	Nº	%I	Nº	%I	Nº	%I
<i>T. brasiliensis</i> <sup>a</sup>	148	33,7	399	21,0	212	31,1	323	19,1	12	50,0
<i>T. pseudomaculata</i> <sup>b</sup>	38	23,6	112	22,3	58	15,5	92	27,1	0	-
<i>P. lutzi</i>	105	78,0	-	-	105	78,0	0	0,0	0	0,0
<i>R. nasutus</i>	1	-	21	4,7	0	0,0	22	4,5	0	0,0
<b>Total</b>	<b>292</b>	<b>48,2</b>	<b>532</b>	<b>20,6</b>	<b>375</b>	<b>41,8</b>	<b>437</b>	<b>20,1</b>	<b>12</b>	<b>50,0</b>

Nº: Número; %I: percentual de infectados; <sup>a</sup>p-valor=0,0018; <sup>b</sup>p-valor=0,7990 (Teste estatístico de comparação de proporção)

<sup>c</sup>p-valor<0,00001 (Teste estatístico Qui-quadrado)

O *T. rangeli* não foi identificado pelo exame da hemolinfa em 151 espécimes de triatomíneos, mas foi possível amplificar o DNA deste protozoário pela PCR multiplex, a partir do conteúdo intestinal de insetos positivos para *T. cruzi* no exame direto, xenocultura e/ou PCR. Os fragmentos amplificados foram de 210pb ou 250pb, indicando a presença do DNA do *T. rangeli* ou do *T. cruzi*, respectivamente (Figura 11).



**FIGURA 11** - Gel de poliacrilamida 7,5% corado pelo nitrato de prata, representativo da amplificação do DNA pela PCR multiplex nas amostras isoladas de diferentes espécies de triatomíneos. PM: marcador de peso molecular 100 pares de bases (pb); Controles: DNA do *T. cruzi* I do clone Col 1.7G2 da cepa Colombiana fragmento 250pb; cepa JG correspondente a *T. cruzi* II, fragmento 265pb; cepa do *T. rangeli* fragmento de 210pb. CN: controle negativo.

Fonte: Acervo próprio, 2012.

Nota - Código das amostras do *T. cruzi* e *T. rangeli*: *P. lutzi* (Pl), *T. brasiliensis* (Tb) e *T. pseudomaculata* (Tp).

O DNA do *T. rangeli* foi amplificado pela PCR multiplex em 2,6% (4/151) das amostras enquanto o do *T. cruzi* em 25,8% (39/151). O *T. rangeli* foi detectado em 4,4% (3/67) de *T. brasiliensis* capturados no ambiente peridomiciliar em Severiano Melo e 1,5% (1/63) do *P. lutzi* capturados em ambiente silvestre no município de Serra Negra do Norte. O DNA do *T. cruzi* foi detectado em 46,0% (29/63) espécimes do *P. lutzi*, 13,4% (9/67) do *T. brasiliensis* e 5,0% (1/20) do *T. pseudomaculata* (Tabela 5).

TABELA 5 – Distribuição das amostras do *Trypanosoma rangeli* e *Trypanosoma cruzi* detectadas pela PCR multiplex por espécie de triatomíneo

Espécie de triatomíneo	Amostras Nº	<i>T. rangeli</i>		<i>T. cruzi</i>	
		Nº	%	Nº	%
<i>T. brasiliensis</i>	67	3	4,4	9	13,4
<i>T. pseudomaculata</i>	20	-	-	1	5,0
<i>P. lutzii</i>	63	1	1,5	29	46,0
<i>R. nasutus</i>	1	-	-	-	-
<b>Total</b>	<b>151</b>	<b>4</b>	<b>2,6</b>	<b>39</b>	<b>25,8</b>

Nº - Número; % - Percentual

## 5 DISCUSSÃO

A fauna triatomínica e a infecção natural pelo *T. cruzi* e o *T. rangeli* foram avaliadas em diferentes ambientes da zona rural nas mesorregiões central e oeste, áreas consideradas endêmicas no semiárido do estado do Rio Grande do Norte (RN). Os dados mostraram que as espécies *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *P. lutzi* e *R. nasutus* continuam sendo capturadas nestas áreas, porém, em número mais baixo quando comparados aos obtidos anteriormente por diferentes autores devido a eficiência dos programas de controle ao vetor (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA *et al.*, 1984; SILVEIRA & VINHAES, 1998; COSTA *et al.*, 2003).

Estudo realizado na região Nordeste, buscando conhecer a fauna triatomínica, a infestação de ecótopos artificiais e a infecção dos triatomíneos pelo *T. cruzi* relatou a presença das espécies *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. petrochii*, *P. lutzi* e *R. nasutus* no estado do RN (LUCENA, 1959). Os inquéritos e levantamentos entomológicos realizados posteriormente demonstraram também as espécies, *T. melanocephala*, *P. megistus* e *R. neglectus* (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA & VINHAES, 1998; COSTA *et al.*, 2003).

O *T. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata* foram capturados na maioria dos municípios estudados, permanecendo como as principais espécies no semiárido potiguar. Esses dados corroboram os descritos na literatura desde a década de 50 em vários estados do Nordeste do Brasil (LUCENA, 1959, CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA *et al.*, 1984; SILVEIRA & VINHAES, 1998; COSTA *et al.*, 2003; SARQUIS *et al.*, 2004, 2006; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012). Essas espécies se distribuem essencialmente nos domínios da caatinga e são endêmicas da região Nordeste, a partir da qual se dispersam para outras regiões (FORATTINI, 1980).

Dados de inquéritos triatomínicos no Brasil reforçam o reconhecimento das espécies por ordem de importância: *T. infestans*, *P. megistus*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* e *T. sordida* como, comprovadamente vetores do *T. cruzi* no ambiente domiciliar (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1973; SILVEIRA *et al.*, 1984; SILVEIRA, 2011). O avanço na dispersão de *T. infestans* também foi observado, vetor alóctone capturado em estados do Nordeste onde não havia sido encontrado, enquanto *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* com centro de endemismo na caatinga do semiárido nordestino; *T. sordida* no cerrado e, *P. megistus* na mata atlântica, ainda que disperso pelo interior do país ao longo de matas galeria (SILVEIRA & DIAS, 2011).

Corroborando ainda os nossos achados foi demonstrado recentemente que as espécies *T. pseudomaculata*, *T. brasiliensis* e *P. lutzi* são as predominantes em 18.029 espécimes de 138 municípios do estado de Pernambuco (SILVA *et al.*, 2012).

O *P. lutzi* e o *R. nasutus* também são espécies comuns nos estados do Nordeste do Brasil e nativas da caatinga (LUCENA, 1959; GALVÃO *et al.*, 2003). Os municípios onde foram realizadas as capturas dos triatomíneos no RN estão inseridos numa área que apresenta vegetação característica do domínio de caatinga, localizada no semiárido, o que justifica a presença dessas espécies neste estudo. O *R. nasutus* foi capturado nos municípios de Apodi (mesorregião oeste) e Caicó (mesorregião central), zonas fisiográficas de incidência desta espécie anteriormente relatada (LUCENA, 1959). O *P. lutzi*, apresentou distribuição territorial mais restrita, sendo encontrado apenas em ambiente silvestre no município de Serra Negra do Norte.

A presença de estágios de ninfa e adulto da maioria das espécies de triatomíneos confirma a colonização nos diferentes ambientes, exceto para o *P. lutzi* que foi encontrado apenas em estágio adulto. Esta espécie é considerada silvestre e menos frequente em unidades domiciliares no semiárido do RN (LUCENA, 1959) e, a presença de ninfas do *P. lutzi* ainda não foi relatada (LUCENA, 1959; CÂMARA, 2008) sugerindo que a sua biologia e habitat natural ainda permanecem desconhecidos neste estado. No entanto, fêmeas adultas do *P. lutzi* foram observadas em troncos ocos de pau branco (*Auxemma oncocalyx*) (GARCIA *et al.*, 2005) e algumas ninfas foram encontradas associadas à tocas de tatu, ecótopo propício a colonização desta espécie de triatomíneo, em pedras habitadas por *Kerodon rupestris* (mocó) e sob a casca de *Auxemma oncocalyx* (Allemao) (DIAS-LIMA *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2003).

No presente estudo, nenhum exemplar de *P. lutzi* foi encontrado nos ambientes peridomiciliar e domiciliar, porém há relatos de espécimes adultos invadindo casas de alguns municípios do semiárido potiguar (LUCENA, 1959) e dos inquéritos e levantamentos entomológicos (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA *et al.*, 1984; SILVEIRA & VINHAES, 1998; COSTA *et al.*, 2003). Nos estados de Pernambuco (SILVA *et al.*, 2012) e Ceará (GONÇALVES *et al.*, 2009) exemplares adultos desta espécie foram encontradas no intradomicílio. Todavia, o *P. lutzi* foi considerado uma espécie triatomíneo de ambiente peridomiciliar, tendo como habitat galinheiros e, ocasionalmente ocorrendo no ambiente domiciliar (SALVATELLA *et al.*, 1998). No estado do Ceará, o encontro dessa espécie no peridomicílio sugere que, a proximidade das casas com o ambiente silvestre pode favorecer a atração dos



triatomíneos devido à diversidade de fontes alimentares (FREITAS *et al.*, 2004a). A domiciliação deste inseto tem sido assinalada no estado de Pernambuco, justificando esse fenômeno com a hipótese de uma possível redução de *T. pseudomaculata* e *T. brasiliensis* (SILVEIRA & DIAS, 2011). O ecletismo alimentar do *P. lutzi* tem sido relatado sugerindo sua circulação em diversos ecótopos e as fontes de alimentos são animais silvestres e domésticos (CARANHA *et al.*, 2006).

A colonização do *T. brasiliensis* em ambiente silvestre foi observada em afloramento de rochas e cercas de pedras, enquanto uma densa colônia do *T. pseudomaculata* foi encontrada associada a ninho de pássaros, corroborando os dados da literatura. Esta espécie é frequentemente encontrada em rochas, geralmente desenvolvendo colônias associadas a pequenos roedores com elevadas taxas de infecção pelo *T. cruzi* (COSTA *et al.*, 1998) enquanto o *T. pseudomaculata* tem sido encontrado em cascas de árvores e ninhos de pássaros (CARCAVALLO *et al.*, 1998).

As espécies capturadas no ambiente peridomiciliar foram observadas em todos os estágios evolutivos, sendo esta colonização mais evidente do que a observada no ambiente silvestre. Esses achados são similares aos descritos por diferentes autores que encontraram número mais elevado de triatomíneos no peridomicílio (SARQUIS *et al.*, 2004; MARCET *et al.*, 2006; GONÇALVES *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2012).

A disponibilidade de alimento tem sido sugerida como um fator crucial para determinar o tamanho da população nos diferentes ecótopos (SCHOFIELD, 1980). Nesse contexto, os ambientes artificiais observados na zona rural dos municípios avaliados podem estar proporcionando uma grande disponibilidade de alimentos, visto que as colônias de *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* presentes no peridomicílio foram encontradas associadas aos abrigos de animais. O ambiente peridomiciliar pode desempenhar papel fundamental na dinâmica do *T. brasiliensis* em todos os ambientes (BORGES *et al.*, 2005). O *T. brasiliensis* foi capturado em diversos ecótopos quando comparado às outras espécies, sendo mais frequente em pilhas de telhas e currais associado a vários animais e galinheiro, e o *T. pseudomaculata* encontrado exclusivamente em galinheiro. Dados semelhantes foram obtidos em áreas rurais do município de Independência, no Ceará, onde os ecótopos mais frequentemente infestados foram poleiros de galinhas, galinheiros, currais e pilhas de telhas (DIOTAIUTI *et al.*, 2000). Os habitats naturais dessas espécies podem estar interligados com ecótopos artificiais constituindo um único ambiente em que os triatomíneos se beneficiam de uma boa fonte alimentar, fornecida por animais domésticos,

principalmente galinhas, e ainda vivendo em seus substratos naturais (SARQUIS *et al.*, 2012). Os animais domésticos como cabras, galinhas, porcos e cães são excelentes fontes alimentares para colônias de triatomíneos no ambiente peridomiciliar (SARQUIS *et al.*, 2012). Isto está relacionado com o cenário ecoepidemiológico do Nordeste do Brasil, onde as espécies *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* apresentam potencial epidemiológico (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2000; FREITAS *et al.*, 2004b; CARBAJAL *et al.*, 2007). O controle vetorial mais eficiente nas unidades domiciliares das áreas avaliadas é necessário a fim de eliminar a colonização peridomiciliar e evitar novos focos de triatomíneos oriundos do ambiente silvestre. Em relação ao *T. brasiliensis* tem sido sugerido o aumento da pressão inseticida acompanhada da vigilância epidemiológica, de maneira a obter controle efetivo e rápido sobre os novos focos, abrindo espaço igualmente para atividades educativas, que contemplem a melhoria física e manejo dos ecótopos peridomiciliares, em especial, aqueles que melhor e mais comumente albergam os triatomíneos em questão (DIOTAIUTI *et al.*, 2000).

A importância epidemiológica do ambiente peridomiciliar como foco de algumas espécies de triatomíneos tais como, *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* tem sido cada vez mais enfatizada (FORATTINI, 1980). O processo de adaptação do *T. pseudomaculata* a ecótopos artificiais vem sendo relatado há alguns anos com crescente índice de colonização peridomiciliar em vários estados (FORATTINI *et al.*, 1981; DIAS, 1991, 1992; DIOTAIUTI *et al.*, 1998; GUARNERI *et al.*, 2000). A elevada densidade de animais encontrada no ambiente peridomiciliar, a grande quantidade de anexos construídos e o acúmulo de telhas, madeiras e tijolos são importantes para manter os vetores próximos ao homem e animais domésticos. Como descrito por Lorenzo *et al.* (2000) as telhas e tijolos, por serem feitos de argila úmida, apresentam uma textura espessa funcionando como isolantes térmicos e criam ambientes microclimáticos propícios a habitação dos triatomíneos. A associação entre os triatomíneos, abrigos favoráveis a sua sobrevivência e a diversidade de alimentos, podem estar proporcionando a colonização do ambiente peridomiciliar por *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* nas comunidades rurais dos municípios das duas mesorregiões. Oliveira-Lima *et al.* (2000) avaliando os riscos de colonização por estas espécies em áreas rurais do Ceará, observaram que as colônias desses insetos eram mais frequentes em anexos que abrigavam animais e pilhas de telhas e tijolos, corroborando os nossos achados.

A espécie *R. nasutus* considerada silvestre (SILVEIRA *et al.*, 1984) tem seu habitat natural associado a palmeiras e ninhos de pássaros (ALENCAR, 1987; CARCAVALLO *et al.*, 1999; ROMANA *et al.*, 1999; LIMA *et al.*, 2008). Todavia, encontramos um foco de colonização peridomiciliar desta espécie também em um monte de palhas secas da carnaúba no município de Apodi, provavelmente originado do transporte passivo destas pelos moradores que trabalham com artesanato e também residem em área com intensa atividade de plantio e extração da carnaúba. Este fato também foi relatado por outros autores que observaram a utilização da palha da carnaúba para a construção de telhados de galinheiros e confecção de utensílios manufaturados (SARQUIS *et al.*, 2006). A presença de *R. nasutus* em unidades domiciliares pode ocorrer devido a proximidade com palmeiras, sendo o inseto atraído pela luz (SARQUIS *et al.*, 2004). Há relatos de que esta espécie também tem sido capturada no ambiente domiciliar no estado do Ceará (SARQUIS *et al.*, 2006, 2012; DIAS *et al.*, 2011).

No nosso trabalho não encontramos nenhuma das espécies capturadas colonizando o domicílio, apesar de intensa infestação e colonização do ambiente peridomiciliar, sugerindo que o peridomicílio pode está funcionando como barreira, impedindo a infestação e colonização dos triatomíneos no intradomicílio. A grande quantidade de animais no peridomicílio pode ser um ponto favorável que justifique o baixo número de insetos infestando o domicílio e a ausência de colonização neste ambiente (DIOTAIUTI *et al.*, 1998; DIAS, 2000). A única espécie capturada no ambiente domiciliar foi o *T. brasiliensis* e todos os espécimes no estágio adulto, que provavelmente foram atraídos pela luz às vivendas humanas em busca de fontes alimentares. Isso sugere que esta espécie ainda invade frequentemente as casas, com o risco de colonizá-las. Estes dados reforçam os relatos de que o *T. brasiliensis* é capaz de explorar diferentes ecótopos na mesma região (BORGES *et al.* 2005). A presença do *T. brasiliensis* colonizando o domicílio também foi relatada nos estados do Ceará (DIOTAIUTI *et al.*, 2000; SARQUIS *et al.*, 2004; 2006; 2012), Piauí (GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2010) e Pernambuco (SILVA *et al.*, 2012).

A infecção natural dos triatomíneos pelo *T. cruzi* foi bastante elevada detectada por diferentes métodos de diagnóstico. Os índices de infecção variaram entre as espécies e a PCR revelou a positividade mais elevada e o único método que detectou o parasito em *R. nasutus*. A superioridade desta reação na detecção do DNA do parasito nas fezes de triatomíneos tem sido demonstrada independente do procedimento

metodológico e condições utilizadas (RUSSOMANDO *et al.*, 1996; SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 1996; DORN *et al.*, 1999; PIZARRO *et al.*, 2007; ZULANTAY *et al.*, 2011).

Em estudo comparando a PCR e o exame direto na detecção do *T. cruzi* nas fezes do *T. infestans* na Bolívia, Pizarro *et al.* (2007) obtiveram positividade de 81,1% e 55,5%, respectivamente. A PCR também revelou positividade elevada (84%) em comparação ao exame direto (26%) nas fezes do *T. infestans* oriundos de áreas endêmicas do Paraguai (RUSSOMANDO *et al.*, 1996). No entanto, Brenière *et al.* (1995) demonstraram que o exame direto foi o método mais sensível, identificando o parasito em 53,9% das amostras de fezes do *T. infestans* enquanto a PCR detectou 48,3%. Esta reação também é eficiente para detectar o DNA do parasito em amostras de insetos mortos, no qual muitas vezes a microscopia mostra-se inadequada (DORN *et al.*, 1999). A PCR pode ser também realizada após um período longo de o conteúdo intestinal ter sido obtido do inseto, diferentemente do exame direto (PIZARRO *et al.*, 2007).

O exame microscópico direto do conteúdo intestinal ou dissecação e análise de todo o triatomíneo tem sido relatado como método tradicional de diagnóstico bastante confiável para a detecção do *T. cruzi* (D'ALESSANDRO & SARAVIA, 1991; MOSER *et al.*, 1989; PIZARRO *et al.*, 1996). Entretanto, neste estudo este método apresentou sensibilidade limitada revelando baixos índices de infecção nos triatomíneos, além de ser pouco específico devido à infecção com outros tripanosomatídeos, tais como, *T. rangeli* (CHIURILLO *et al.*, 2003). Levando em consideração somente o exame direto, nossos dados mostraram que a infecção natural do *P. lutzii* pelo *T. cruzi* foi superior à descrita em inquéritos nacionais (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA & VINHAES, 1998), uma vez que se trata de espécie silvestre relacionada com uma variedade de hospedeiros silvestres que apresentam elevados índices de infecção pelo *T. cruzi*. A infecção do *T. brasiliensis* foi mais baixa do que a observada no primeiro inquérito (CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979) e semelhante a que foi relatada no segundo inquérito (SILVEIRA & VINHAES, 1998), o que pode ser resultado do sucesso do programa de controle ao vetor realizado no estado que apesar de descontínuo proporcionou a redução do número de insetos nos ambientes, domiciliar e peridomiciliar, diminuindo o índice de insetos infectados pelo *T. cruzi*. Em relação ao *T. pseudomaculata* e ao *R. nasutus* praticamente não houve alteração em todos esses anos,

mantendo o índice de infecção pelo parasito sempre baixo como descrito anteriormente (SILVEIRA & VINHAES, 1998).

Os índices de infecção natural de triatomíneos pelo *T. cruzi* variam consideravelmente com a espécie e com a intimidade que apresentam em relação aos reservatórios do parasito e o meio onde se encontram (COURA, 1988). O elevado percentual de infecção do *P. lutzi* pelo *T. cruzi* no ambiente silvestre pode ser explicado pela associação deste inseto a tocas de tatu (DIAS-LIMA *et al.*, 2003). Estudos realizados no estado do Ceará sobre fontes alimentares revelaram os espécimes de *P. lutzi* com elevados índices de infecção e haviam também se alimentado de gambá (CARANHA *et al.*, 2006). A infecção natural deste vetor indica um alerta para o risco real de invasão de ecótopos artificiais por esta espécie como sugerido por Silveira & Vinhaes (1998) e, também tem sido demonstrada no estado de Pernambuco (SILVA *et al.*, 2012).

A espécie *T. brasiliensis* foi a única a apresentar espécimes infectados pelo *T. cruzi* nos ambiente silvestre, peridomiciliar e domiciliar. Como demonstrado por Moncayo e Silveira (2009), a sobreposição entre ecótopos naturais e habitações humanas aumenta potencialmente a possibilidade de interação entre os vetores e os habitantes, aumentando o risco de transmissão humana do *T. cruzi*.

No ambiente silvestre, o índice de infecção natural do *T. brasiliensis* pelo *T. cruzi* pode ser devido a sua associação a pequenos roedores que apresentam elevadas taxas de infecção (COSTA *et al.*, 1998). Todavia, o índice de infecção pelo parasito em populações silvestres do *T. brasiliensis* no Ceará foi relativamente baixo o que contrasta com os nossos resultados. Isso pode ser explicado devido às diferenças nas fontes alimentares que implica em perfis de infecção distintos desta espécie pelo *T. cruzi*, variando em relação aos diferentes ecótopos (SARQUIS *et al.*, 2010). Em áreas endêmicas, espécies como *T. brasiliensis* são capazes de se adaptar a ecótopos distintos, agindo como um elo na transmissão do *T. cruzi* entre os ambientes naturais e artificiais (BORGES *et al.*, 2005). No ambiente peridomiciliar a infecção foi baixa quando comparada aos outros ambientes, o que pode ser devido ao fato da maioria dos espécimes terem sido encontrados associados às aves (ALENCAR, 1965; ALENCAR *et al.*, 1974; BENTO *et al.*, 1989; GONÇALVES *et al.*, 1997; FREITAS *et al.*, 2005). É importante ressaltar que embora esses animais sejam fontes alimentares para os triatomíneos, não são considerados reservatórios uma vez que são refratários à infecção pelo parasito (NERY-GUIMARÃES *et al.*, 1974), mas representam uma importante e

abundante fonte alimentar para estes insetos. O encontro de ninfas infectadas capturadas em galinheiros e até exemplares adultos sugere que estes insetos podem estar se alimentando também de animais sinantrópicos que adentram o ambiente peridomiciliar em busca de alimentos ou de animais domésticos que estejam funcionando como reservatório do parasito. Alguns animais silvestres tem um papel importante na epidemiologia da infecção chagásica, uma vez que circulam do ambiente silvestre para o peridomicílio ou domicílio em busca de alimentos (COURA, 1988). Em relação a este estudo, o animal sinantrópico observado circundando o peridomicílio foi o preá (*Cavia aperea*). Além disso, os animais domésticos também podem invadir o ambiente silvestre e infectar-se via oral, trazendo a infecção para o peridomicílio e domicílio (COURA, 1988).

A positividade mais elevada de infecção natural do *T. brasiliensis* pelo parasito foi em ambiente domiciliar. Esta espécie é epidemiologicamente importante no nordeste do Brasil, devido às suas características genéticas e biológicas, ampla distribuição territorial, índices elevados de infecção e capacidade para se adaptar e colonizar ecótopos artificiais (LUCENA, 1959; SILVEIRA & VINHAES, 1998; SARQUIS *et al.*, 2004). É também encontrada em densidade elevada com variados índices de infecção natural pelo *T. cruzi* e requer atenção especial em seis estados da região nordeste incluindo o Rio Grande do Norte. A infecção do *T. brasiliensis* no intradomicílio tem sido relatada nos estados do Ceará, Piauí e Pernambuco (SARQUIS *et al.*, 2004; SARQUIS *et al.*, 2006; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2012) e no Rio Grande do Norte (LUCENA, 1959, CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA & VINHAES, 1998; COSTA *et al.*, 1998; COSTA *et al.*, 2003).

A infecção do *T. pseudomaculata* pelo *T. cruzi* foi observada tanto nos espécimes capturados no ambiente silvestre quanto no peridomiciliar. O percentual mais elevado foi observado em espécimes do peridomicílio, sugerindo a associação dessa espécie com animais domésticos infectados presentes ou animais sinantrópicos, além de aves. Estes resultados mostram a crescente importância epidemiológica do *T. pseudomaculata* no semiárido potiguar, uma vez que esta espécie pode estar atuando no ciclo de transmissão peridomiciliar, com reais riscos de invasão de espécimes adultos infectados ao intradomicílio, aumentando as chances de transmissão do *T. cruzi* para os moradores desta área. Nossos dados divergem daqueles descritos por Sarquis *et al.* (2004), que não encontraram infecção desta espécie capturada em ambiente silvestre e similares aos relatados no peridomicílio. Os baixos índices de infecção do *T. pseudomaculata*

encontrados nos municípios do Rio Grande do Norte têm sido relatados em diferentes décadas (LUCENA 1959; CASTRO-FILHO & SILVEIRA, 1979; SILVEIRA & VINHAES, 1998; COSTA *et al.*, 2003).

No ambiente peridomiciliar, o índice de infecção do *R. nasutus* foi baixo quando comparado ao das outras espécies no mesmo ambiente. Esta espécie tem sido frequentemente encontrada colonizando o peridomicílio e, algumas vezes infectada pelo *T. cruzi* (SILVEIRA & VINHAES, 1998; SARQUIS *et al.*, 2004).

O risco de transmissão do *T. cruzi* em áreas endêmicas rurais depende principalmente da densidade de triatomíneos e da prevalência da infecção pelo *T. cruzi* nos vetores, humanos e reservatórios animais (COHEN & GURTLER, 2001). Os elevados índices de infecção aqui revelados, aliados à elevada soroprevalência humana em alguns municípios da mesorregião oeste e Caicó na mesorregião central (BRITO *et al.*, 2012) e, a presença de uma criança infectada no município de Várzea (LUQUETTI *et al.*, 2011) apontam que essa área, mesmo após os programas de controle ao vetor, continua sendo uma área de risco na transmissão do *T. cruzi* para os animais e o homem. Portanto, necessita de contínua vigilância entomológica (SILVEIRA & DIAS 2011), com ações sistemáticas para o controle de vetores, a fim de evitar a transmissão do *T. cruzi* nos municípios.

Devido à sobreposição da distribuição geográfica das espécies *T. cruzi* e *T. rangeli*, a ocorrência de infecção mista em hospedeiros vertebrados e invertebrados e, o pleomorfismo do *T. rangeli* torna-se necessário o uso de técnicas moleculares para a identificação de espécies de tripanossomatídeos. Isto se deve a dificuldade de distinguir pelo exame direto se a infecção é por *T. cruzi* ou *T. rangeli*, ou por ambos e, várias técnicas de PCR foram desenvolvidas para melhorar a identificação e/ou diferenciação destes protozoários (MURTHY *et al.*, 1992; SOUTO *et al.*, 1996, 1999; VALLEJO *et al.*, 1999; FERNANDES *et al.*, 2001; PAVIA *et al.*, 2007). A PCR tem sido descrita como método mais sensível do que a microscopia óptica para a detecção e caracterização específica desses tripanossomas em triatomíneos, principalmente quando há possibilidade de infecção mista (MACHADO *et al.*, 2000).

Neste trabalho, a infecção pelo *T. rangeli* não foi detectada pelo exame direto da hemolinfa. No entanto, Dias *et al.* (2007) analisaram a hemolinfa do *R. nasutus* capturados na Chapada do Araripe, no Ceará, e encontraram 7,7% dos exemplares infectados pelo *T. rangeli* e também infectados pelo *T. cruzi*. Diotaiuti *et al.* (1992) examinando as fezes de triatomíneos que infestavam palmeiras no município de Ponte

Alta do Norte, em Tocantins, detectaram a presença de um parasito morfológicamente identificado como *T. rangeli like* em *R. neglectus*. Por outro lado, 117 espécimes do *R. neglectus* capturados no Distrito Federal, região Centro-Oeste, tiveram as glândulas salivares e as fezes examinadas e em nenhum exemplar foi identificado o *T. rangeli* (GURGEL-GONÇALVES & CUBA, 2007).

A distinção entre o *T. cruzi* e o *T. rangeli* ou a ocorrência de infecção mista foi avaliada pela PCR multiplex no conteúdo intestinal dos triatomíneos e a infecção pelo *T. rangeli* foi detectada em poucos exemplares das espécies *T. brasiliensis* e *P. lutzi*. Este protozoário também foi identificado no conteúdo intestinal de diferentes espécies como, *R. prolixus* (TEJERA, 1920), *P. megistus* (LUCENA & VERGETTI, 1973) e *R. pallens* (VASQUEZ *et al.*, 2004). Índícios de infecção mista foram observados neste estudo em dois exemplares do *T. brasiliensis*. Este dado reforça a necessidade do uso outras técnicas moleculares para comprovar a infecção. A inconsistência no diagnóstico da infecção mista obtida para os genes miniexon pode haver em função da baixa parasitemia do *T. rangeli* em relação ao *T. cruzi* (RAMIREZ *et al.*, 2002). Estes autores analisando a sensibilidade deste ensaio verificaram que o excesso de uma espécie torna indetectável a presença da outra e recomendaram que pelo menos dois alvos moleculares para estabelecer e/ou confirmar a infecção simples ou mista. Estudos filogenéticos de cepas do *T. rangeli* de várias regiões geográficas podem colaborar para esclarecer uma possível rota migratória que culminou na ocorrência deste parasito no Nordeste brasileiro (DIAS *et al.*, 2007). A identificação do *T. rangeli* aqui descrita reforçam a ideia de que resultados falso-positivos no diagnóstico sorológico da infecção pelo *T. cruzi* são possíveis como relatados anteriormente (GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2004).

Os nossos dados sugerem que a vigilância epidemiológica deve ser constante mesmo não tendo sido observada colonização no ambiente domiciliar, a fim de assegurar que as espécies *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* frequentemente encontradas nos ambientes artificiais ambas com elevados índices de infecção natural pelo *T. cruzi*, não se tornem um grave problema de saúde pública nos municípios do semiárido do estado do RN. A ampliação deste estudo na área endêmica do semiárido potiguar é fundamental para verificar a ocorrência de colonização domiciliar e peridomiciliar por triatomíneos em outros municípios, além de avaliar a infecção de cada espécie pelo *T. cruzi* e *T. rangeli*, determinar as fontes alimentares dos insetos infectados para identificar os animais que estão servindo como reservatório destes



parasitos e, a busca de novos ecótopos naturais a fim de verificar a presença de outras espécies de triatomíneos. Estudos ecoepidemiológicos são importantes para alertar a vigilância epidemiológica e contribuem com dados para auxiliar na escolha da melhor estratégia de controle em relação às espécies de triatomíneos identificadas, uma vez que ainda permanece o risco de transmissão do *T. cruzi* ao homem. Além disso, contribui para comprovar a extensão da ocorrência do *T. rangeli* no semiárido potiguar ampliando o conhecimento em relação à distribuição geográfica deste protozoário no Nordeste. Por fim, demonstra a necessidade de mais atenção ao diagnóstico sorológico da infecção chagásica humana abrindo perspectivas para novas abordagens na área.

## 6 CONCLUSÕES

- ✓ A espécie *Triatoma brasiliensis* está amplamente distribuída em todos os ambientes e na maioria dos ecótopos dos municípios investigados;
- ✓ A colonização peridomiciliar por triatomíneos foi evidente para o *Triatoma brasiliensis* e o *Triatoma pseudomaculata*, a associação destas espécies a ambientes artificiais sugere que estão adaptadas e, devido aos elevados índices de infecção pelo *Trypanosoma cruzi* necessitam de atenção constante por parte da vigilância epidemiológica;
- ✓ No semiárido potiguar, vários ecótopos são favoráveis ao ciclo de transmissão do *Trypanosoma cruzi* nos ambientes silvestre e peridomiciliar e podem ser usados como nichos por triatomíneos;
- ✓ O habitat natural e ecótopos do *Panstrongylus lutzi* continuam desconhecidos no Rio Grande do Norte;
- ✓ O *Triatoma brasiliensis* é a única espécie presente em todos os ambientes reforçando sua importância como potencial vetor devido a sua capacidade de adaptação ao ambiente domiciliar e atuação no intercâmbio entre os ciclos de transmissão do parasito no semiárido potiguar indicando a necessidade de ações contínuas na vigilância epidemiológica;
- ✓ A infecção natural dos triatomíneos pelo *Trypanosoma cruzi* foi bastante elevada e a do *Panstrongylus lutzi* se mostrou superior comparada às outras espécies;
- ✓ A PCR mostrou ser uma ferramenta eficiente e superior ao método direto e a xenocultura na detecção do parasito na maioria dos triatomíneos vivos, mortos ou com baixa carga parasitária, com elevado potencial em estudos epidemiológicos;
- ✓ A identificação do *Trypanosoma rangeli* em triatomíneos das espécies *Triatoma brasiliensis* e *Panstrongylus lutzi* foi registrada pela primeira vez na zona rural do semiárido potiguar ampliando a área de ocorrência deste protozoário no Nordeste do Brasil;

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA, L.; ROMANHA, A. J.; COSENZA, H.; KRETTLI, A. U. Trypanosomatid isolates from Honduras: differentiation between *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 44, n. 6, p. 676-683, 1991.
- AFCHAIN, D.; LE RAY, D.; FRUIT, J.; CAPRON, A. Antigenic make-up of *Trypanosoma cruzi* culture forms: identification of a specific component. *J. Parasitol.*, v. 65, p. 507-514, 1979.
- ALENCAR, J. E. Estudos sobre a epidemiologia da doença de Chagas no Ceará. III Região do Baixo Jaguaribe. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, v. 17, n. 2, p. 149-158, 1965.
- ALENCAR, J. E. História natural da doença de Chagas no Estado do Ceará, Imprensa Universitária, Fortaleza, CE, p. 341, 1987.
- ALENCAR, J. E.; SHERLOCK, V. A. Triatomíneos capturados em domicílio no Estado do Ceará, Brasil. *Bol. Soc. Ceará Agron.*, v. 3, p. 49-54, 1962.
- ALENCAR, J. E.; ALMEIDA, Y. M.; SANTOS, A. R.; FREITAS, L. M. Epidemiology of Chagas disease in State of Ceará, Brazil. IV: The role of dogs and cats as domestic reservoir. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, v. 75, p. 5-26, 1974.
- ALIAGA, C.; BRENIÈRE, S. F.; BARNABÉ, C. Further interest of miniexon multiplex PCR for a rapid typing of *Trypanosoma cruzi* DTU groups. *Infect. Genet. Evol.*, v. 11, p. 1155-1158, 2011.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO RIO GRANDE DO NORTE 2010. Disponível em <<http://www.idema.rn.gov.br>> Acesso em 10 de janeiro de 2013.
- BARRETT, T. V.; OLIVEIRA, T. S. A *Trypanosoma*, indistinguishable from *Trypanosoma rangeli*, in the haemolymph of *Rhodnius domesticus* from Brazil. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 71, n. 5, p. 445-446, 1977.
- BARRETTO, M. P. Estudos sobre reservatórios e vetores naturais do *Trypanosoma cruzi*. XVII. Contribuição para o estudo dos focos naturais da Tripanosomose Americana, com especial referência à região nordeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Res. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 1, p. 23-35, 1967.
- BARRETTO, M. P. Epidemiologia. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. A (Eds.). *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. p. 289-291.
- BARRETTO, M. P.; RIBEIRO, R. D. Reservatórios silvestres do *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* Chagas 1909. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 39, p. 25-36, 1979.
- BASSO, B.; MORETTI, E. R.; DFRONTELA, S.; VOTTERO-CIMA, E. *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* and *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. II. Overlapping of antigenic spectrum. *Rev. Latinoam. Microbiol.*, v. 31, p. 141-146, 1989.

BENTO, D. N.; FREITAS, M.; PINTO, A. S. Epidemiologia da doença de Chagas nos municípios de Castelo do Piauí e Pedro II, Estado do Piauí, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 22, p. 73-79, 1989.

BORGES, E. C.; DUJARDIN, J. P. ; SCHOFIELD, C. J.; ROMANHA, A. J.; DIOTAIUTI, L. Dynamics between sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) in Ceará State, Northeastern Brazil. *Acta Trop.*, v. 93, p. 119-126, 2005.

BRASIL. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Rev. Soc. Bras. Méd. Trop.* v. 38, n.3, p. 1-29, 2005.

BRENER, Z. Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Annu. Rev. Microbiol.*, v. 27, p. 347-382, 1973.

BRENIÈRE, S. F.; BOSSENO, M. F.; TELLERÍA, J.; CARRASCO, R.; VARGAS, F.; YAKSIC, N.; NOIREAU, F. Field application of Polymerase Chain Reaction diagnosis and strain typing of *Trypanosoma cruzi* in Bolivian triatomines. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 53, p. 179-184, 1995.

BRITO, C. R. N.; SAMPAIO, G. H. F., CÂMARA, A. C. J.; NUNES, D. F.; AZEVEDO, P. R. M.; CHIARI, E.; GALVÃO, L. M. C. Seroepidemiology of *Trypanosoma cruzi* infection in the semiarid rural zone of the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 45, n. 3, p. 346-352, 2012.

BRITTO, C.; CARDOSO, M. A.; WINCKER, P.; MOREL, C. M. A simple protocol for cleavage of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA present in blood samples and its use in polymerize chain reaction (PCR)-based diagnosis of chronic Chagas' disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 88, p. 171-172, 1993.

BRITTO, C.; CARDOSO, M. A.; VANNI, C. M.; HASSLOCHER-MORENO, A.; XAVIER, S. S.; OELEMANN, W.; SANTORO, A.; PIRMEZ, C.; MOREL, C. M.; WINCKER, P. Polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples as a tool for diagnosis and treatment evaluation. *Parasitology*, v. 110, n. 3, p. 241-247, 1995.

BRONFEN, E.; ROCHA, F. S. A.; MACHADO, G. B. N.; PERILLO, M. M.; ROMANHA, A. J.; CHIARI, E. Isolamento de amostras de *Trypanosoma cruzi* por xenodiagnóstico e hemocultura de pacientes na fase crônica da doença de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 84, n. 2, p. 237-240, 1989.

BRONZINA, A. A.; D'ALESSANDRO, A.; SEGURA, E. L. Diferencias y similitudes antigênicas entre *T. rangeli* y *T. cruzi*. *Medicina (Buenos Aires)*, v. 40, p. 45-49, 1980.

CÂMARA, A. C. J. Variabilidade genética de amostras do *Trypanosoma cruzi* isoladas no semiárido potiguar, RN. 2008. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CÂMARA, A. C. J.; VARELA-FREIRE, A. A.; VALADARES, H. M. S.; MACEDO, A. M.; D'ÁVILA, D. A.; MACHADO, C. R.; LAGES-SILVA, E.; CHIARI, E.;

GALVÃO, L. M. C. Genetic analyses of *Trypanosoma cruzi* isolates from naturally infected triatomines and humans in northeastern Brazil. *Acta Trop.*, v. 115, n. 3, p. 205-211, 2010.

CAMARGO, E. P. Growth and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I- Origin of metacyclic trypanosomes in liquid media. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 6, p. 93-100, 1964.

CAMPBELL, D. C.; GONZALEZ, I.; JARAMILLO, C.; MONTILLA, M.; ROJAS, W.; LABRADA, L. A.; LOPEZ, W.; OSORIO, Y.; SANTRICH, C. Resumen del taller sobre El uso de La reacción em cadena de la polimerasa (PCR) para distinguir entre *Trypanosoma cruzi* y *Trypanosoma rangeli*. *Biomédica*, v. 13, p. 94-101, 1993.

CARANHA, L.; LOROSA, E. S.; ROCHA, D. S.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. Feeding sources evaluation of *Panstrongylus lutzi* (Neiva & Pinto, 1923) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in the State of Ceará. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 39, n. 4, p. 347-351, 2006.

CARBAJAL DE LA FUENTE, A. L.; MINOLI, S. A.; LOPES, C. M.; NOIREAU, F.; LAZZARI, C. R.; LORENZO, M. G. Flight dispersal of the Chagas disease vectors *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in northeastern Brasil. *Acta Trop.*, v. 101, p. 115-119, 2007.

CARCAVALLO, R.U.; MARTÍNEZ-SILVA, R.; OTERO, M. A. A.; TONN, R. J. Infección natural de *Rhodnius robustus* Larrousse y *Rhodnius pictipes* Stal 1872 por *T. cruzi* y *T. rangeli* en Venezuela. *Bol. Dir. Malariol. San. Amb.*, v. 15, p. 117-120, 1975.

CARCAVALLO, R. U.; RODRÍGUEZ, M. E. F.; SALVATELLA, R.; SUSANA, I. CURTO DE CASAS, S. I.; SHERLOCK, I. S.; GALVÃO, C.; ROCHA, D. S.; GALÍDEZ-GIRÓN I.; OTERO, M. A.; AROCHA, O.; MARTINEZ, A.; DA ROSA, J. Á.; CANALE, D. M.; FARR, T. H.; BARATA, J. M. S. Habitats and related fauna. In: CARCAVALLO, R. U.; GALINDÉZ-GIRÓN, I.; JURBERG, J.; LENT, H. (Eds.). *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1998. p. 561-600.

CARCAVALLO, R. U.; CURTO DE CASAS, S. I.; SHERLOCK, I. A.; GIRÓN, I. G.; JUBERG, J.; GALVÃO, C.; MENA SEGURA, C. A. Geographical distribution and alti-latitudinal dispersion. In: CARCAVALLO, R. U.; GIRÓN, I. G.; JUBERG, J.; LENT, H. (Eds.). *Atlas of Chagas Disease Vectors in the Americas*. Vol. 3. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1999. p. 747-792.

CASTRO-FILHO, J.; SILVEIRA, A. C. Distribuição da Doença de Chagas no Brasil. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, v. 31, p. 85-89, 1979.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíaze humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 1, p. 159-218, 1909.

CHIURILLO, M. A.; CRISANTE, G.; ROJAS, A.; PERALTA, A.; DIAS, M.; GUEVARA, P.; AÑEZ, N.; RAMÍREZ, J. L. Detection of *Trypanosoma cruzi* and

*Trypanosoma rangeli* infection by duplex PCR assay based on telomeric sequences. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, v. 10, n. 5, p. 775-779, 2003.

COHEN, J. E.; GURTLER, R. E. Modeling household transmission of American Trypanosomiasis. *Science*, v. 293, p. 694-698, 2001.

COSTA, J.; LORENZO, M. Biology, diversity and strategies for the monitoring and control of triatomines - Chagas disease vectors. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 1, p. 46-51, 2009.

COSTA, J.; ALMEIDA, J. R.; BRITO, C.; DUARTE, R.; MARCHON-SILVA, V.; PACHECO, R. S. Ecotopes, natural infection and trophic resources of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 93, p. 7-13, 1998.

COSTA, J.; ALMEIDA, C. E.; DOTSON, E. M.; LINS, A.; VINHAES, M.; SILVEIRA, A. C.; BEARD, C. B. The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a Chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 4, p. 443-449, 2003.

COURA, J. R. Epidemiologic determinants of Chagas' disease in Brazil: the infection, the disease and its morbidity/mortality. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 88, n. 1, p. 392-402, 1988.

COURA, J. R. Chagas disease: what is known and what is needed – A background article. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 102, n. 1, p. 113-122, 2007.

COURA, J. R.; FERNANDES, O.; ARBOLEDA, M.; BARRETT, T. V.; CARRARA, N.; DEGRAVE, W.; CAMPBELL, D. A. Human infection by *Trypanosoma rangeli* in Brazilian Amazon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 90, n. 3, p. 278-279, 1996.

D'ALESSANDRO, A. Biology of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. In LUMSDEN, W. H. R.; EVANS, D. A. (Eds.). *Biology of Kinetoplastida*. Vol. 1. New York, NY: Academic Press, 1976. p. 327-493.

D'ALESSANDRO, A.; SARAVIA, N. *Trypanosoma rangeli*. In: KREIER, J. P.; BAKER, J. R. (Eds.). *Parasitic Protozoa*. San Diego, CA: Academic Press, 1991. p. 1-5.

D'ALESSANDRO, A.; SARAVIA, N. G. *Trypanosoma rangeli*. In: KREIER, J. P. (Ed.). *Parasitic Protozoa*. Vol. 2. San Diego, CA: Academic Press, 1992. p. 1-54.

D'ALESSANDRO, A.; SARAVIA, N. G. *Trypanosoma rangeli*. In: GILLES, H. M. (Ed.). *Protozoal Diseases*. London: Arnold Press, 1999. p. 398-412.

DEANE, L. M. Finding of *Trypanosoma* of the rangeli type in opossums of the species *Didelphis marsupialis marsupialis* in the state of Para. *Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.*, v. 10, p. 451-458, 1958.

DEANE, L. M. Tripanosomídeos de mamíferos da região Amazônica. I. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 3, p. 15-28, 1961.

DEANE, L. M. Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. *Rev. Bras. Malariol. Doenças Trop.*, v. 16, p. 27-48, 1964.

DEGRAVE, W.; FRAGOSO, S. P.; BRITTO, C.; VAN HIEUVERSWYN, H.; KIDEANE, G. Z.; CARDOSO, M. A. B.; MUELLER, R. U.; SIMPSON, L.; MOREL, C. M. Peculiar sequence organization of kinetoplast DNA minicircles from *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, v. 27, p. 63-70, 1988.

DIAS, E.; LARANJA, F. S.; NOBREGA, G. Doença de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 42, n. 3, p. 495-581, 1945.

DIAS, F. B. S.; DIOTAIUTI, L.; ROMANHA, A. J.; BEZERRA, C. M.; MACHADO, E. M. M. First report on the occurrence of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 in the state of Ceara, Brazil in naturally infected triatomine *Rhodnius nasutus* Stal, 1959 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 102, n. 5, p. 643-645, 2007.

DIAS, F. B. S.; PAULA, A. S.; BELISÁRIO, C. J.; LORENZO, M. G.; BEZERRA, C. M.; HARRY, M.; DIOTAIUTI, L. Influence of the palm tree species on the variability of *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Infect. Genet. Evol.*, v. 11, p. 869-877, 2011.

DIAS, J. C. P. Epidemiological surveillance of Chagas disease. *Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 2, p. 43-59, 2000.

DIAS, J. C. P. Controle de vetores da doença de Chagas no Brasil e riscos da reinvasão domiciliar por vetores secundários. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 83, n. 1, p. 387-391, 1988.

DIAS, J. C. P. Control of Chagas disease in Brazil: which strategy after the attack phase? *Ann. Soc. Bélge Med. Trop.*, v. 71, n. 1, p. 75-86, 1991.

DIAS, J. C. P. Epidemiology of Chagas' disease. In: WENDEL, S.; BRENER, Z.; CAMARGO, M. E.; RASSI, A. (Eds.). *Chagas' Disease (American Trypanosomiasis): Its Impact on Transfusion and Clinical Medicine*. São Paulo: International Society of Blood Transfusions, 1992. p. 49-80.

DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. Epidemiologia. In: DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. (Orgs.). *Clínica e terapêutica da doença de Chagas*. Uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1997. p. 33-66.

DIAS, J. C. P.; MACHADO, E. M. M.; FERNANDES, A. L.; VINHAES, M. C. General situation and perspectives of Chagas disease in Northeastern region, Brazil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 2, p. 13-34, 2000.

DIAS-LIMA, A. G.; MENEZES, D.; SHERLOCK, I.; NOIREAU, F. Wild habitat and related fauna of *Panstrongylus lutzi* (Reduviidae, Triatominae). *J. Med. Entomol.*, v. 40, n. 6, p. 989-990, 2003.

DIOTAIUTI, L.; SILVEIRA, A. C.; ELIAS, M.; STEINDEL, M. The possibility of occurrence of *Trypanosoma rangeli* in the State of Tocantins, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 87, n. 3, p. 451, 1992.

DIOTAIUTI, L.; BORGES, E. C.; LOROSA, E. S.; ANDRADE, R. E.; CARNEIRO, F. F. C.; FARIA-FILHO, O. F.; SCHOFIELD, C. J. Current transmission of Chagas disease in the State of Ceará, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 93, n. 2, p. 65-66, 1998.

DIOTAIUTI, L.; FARIAS-FILHO, O. F.; CARNEIRO, F. C. F.; DIAS, J. C. P.; PIRES, H. H. R.; SCHOFIELD, C. J. Operational aspects of *Triatoma brasiliensis* control. *Cad. Saúde Pública*, v. 16, n. 2, p. 61-67, 2000.

DORN, P. L.; ENGELKE, D.; RODAS, A.; ROSALES, R.; MELGAR, S.; BRAHNEY, B.; FLORES, J.; MONROY, C. Utility of the polymerase chain reaction in detection of *Trypanosoma cruzi* in Guatemalan Chagas' disease vectors. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 60, n. 5, p. 740-745, 1999.

EBERT, F. Isoenzymes of *Trypanosoma rangeli* stocks and their relation to other trypanosomes transmitted by triatomine bugs. *Trop. Med. Parasitol.*, v. 37, n. 3, p. 251-254, 1986.

FERNANDES, A. J.; DIOTAIUTI, L.; DIAS, J. C. P.; ROMANHA, A. J.; CHIARI, E. Infecção natural das glândulas anais de gambás (*Didelphis albiventris*) pelo *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí, Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 84, n. 1, p. 87-93, 1989.

FERNANDES, A. J.; DIOTAIUTI, L.; DIAS, J. C. P.; ROMANHA, A. J.; CHIARI, E. Inter-relações entre os ciclos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 10, n. 4, p. 473-480, 1994.

FERNANDES, O.; SOUTO, R. P.; CASTRO, J. A.; PEREIRA, J. B.; FERNANDES, N. C.; JUNQUEIRA, A. C.; NAIFF, R. D.; BARRETT, T. B.; DEGRAVE, W.; ZINGALES, B.; CAMPBELL, D. A.; COURA, J. R. Brazilian isolates of *Trypanosoma cruzi* from human and triatomines classified into two lineages using mini-exon and ribosomal RNA sequence. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 58, n. 6, p. 807-811, 1998.

FERNANDES, O.; SANTOS, S. S.; CUPOLILLO, E.; MONDONGA, B.; DERRE, R.; JUNQUEIRA, A. C. V.; SANTOS, L. C.; STURM, N. R.; NAIFF, R. D.; BARRETT, T. B.; CAMPBELL, D. A.; COURA, J. R. A mini-exon multiplex polymerase chain reaction to distinguish the major groups of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 95, n. 1, p. 97-99, 2001.

FORATTINI, O. P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 14, p. 265-299, 1980.



FORATTINI, O. P.; BARATA, J. M. S.; SANTOS, J. L. F.; SILVEIRA, A. C. Hábitos alimentares, infecção natural e distribuição de triatomíneos domiciliados na Região Nordeste do Brasil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 15, p. 113-64, 1981.

FREITAS, S. P. C.; FREITAS, A. L. C.; GONÇALVES, T. C. M. Ocorrência de *Panstrongylus lutzi* no peridomicílio, Estado do Ceará. *Rev. Saúde Públ.*, v. 38, n. 4, p. 579-580, 2004a.

FREITAS, S. P. C.; FREITAS, A. L.; PRAZERES, S. do M.; GONÇALVES, T. C. Influence of anthropic habits in the dispersion of *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 through *Mimosa tenuiflora* (Willdenow) (Mimosaceae) in the State of Ceará, Brazil. *Cad Saude Publica*, v. 20, n. 1, p.333-336, 2004b.

FREITAS, S. P. C.; LOROSA, S. L.; RODRIGUES, D. C. S.; FREITAS, A. L. C.; GONÇALVES, T. C. M. Fontes alimentares de *Triatoma pseudomaculata* no Estado do Ceará, Brasil Feeding patterns of *Triatoma pseudomaculata* in the state of Ceará, Brazil. *Rev. Saúde Públ.*, v. 39, n. 1, p. 27-32, 2005.

FUNASA, Fundação Nacional de Saúde. Coordenação Regional do Rio Grande do Norte. Projeto de Controle de Doenças Endêmicas no Nordeste. Rio Grande do Norte, 1996.

GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; ROCHA, D. S.; JUBERG, J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*, v. 202, p. 1-36, 2003.

GARCIA, M. H. H. M., SOUZA, L., SOUZA, R. C. M.; PAULA, A. S.; BORGES, E. C.; BARBOSA, S. E.; SCHOFFIELD, C. J.; DIOTAIUTI, L. Occurrence and variability of *Panstrongylus lutzi* in the State of Ceará, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 38, n. 5, p. 410-415, 2005.

GIOVANNI-DE-SIMONE, S.; PONTES DE CARVALHO, L. C.; OLIVA, O. F.; ANDRADE, S. G.; GALVÃO-CASTRO, B. *Trypanosoma cruzi* strain specific monoclonal antibodies: identification of Colombian strain flagellates in the insect vector. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 81, n. 5, p. 750-754, 1987.

GOMES, M. L.; MACEDO, A. M.; VAGO, A. R.; PENA, S. D. J, GALVÃO, L. M. C.; CHIARI, E. *Trypanosoma cruzi*: optimization of polymerase chain reaction for detection in human blood. *Exp. Parasitol.*, v. 88, n. 1, p. 28-33, 1998.

GONÇALVES, T. C. M.; CUNHA, V.; OLIVEIRA, E.; JUBERG, J. Alguns aspectos da biologia de *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964, em condições de laboratório (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 2, p. 275-280, 1997.

GONÇALVES, T. C. M.; FREITAS, A. L. C.; FREITAS, S. P. C. Surveillance of Chagas disease vectors in municipalities of the state of Ceará, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 8, p. 1159-1164, 2009.

GRISARD, E. C. Salivaria or Stercoraria? The *Trypanosoma rangeli* dilemma. *Kinetoplastid Biol. Dis.*, v. 1, 2002.

GRISARD, E. C.; STEINDEL, M.; GUARNERI, A. A.; EGER-MANGRICH, I.; CAMPBELL, D. A.; ROMANHA, A. J. Characterization of *Trypanosoma rangeli* strains isolated in Central and South America: an overview. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 94, n. 2, p. 203-209, 1999.

GRÖGL, M.; KUHN, R. E. Identification of antigens of culture forms of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* recognized by sera from patients with chronic Chagas disease. *J. Parasitol.*, v. 70, n. 5, p. 822-824, 1984.

GUARNERI, A. A.; PEREIRA, M. H.; DIOTAIUTI, L. Influence of the blood meal source on the development of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma sordida*, and *Triatoma pseudomaculata* (Heteroptera, Reduviidae). *J. Med. Entomol.*, v. 37, n. 2, p. 373-379, 2000.

GUHL, F.; MARINKELLE, C. J. Antibodies against *Trypanosoma cruzi* in mice infected with *T. rangeli*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, v. 76, n. 3, p. 361, 1982.

GUHL, F.; VALLEJO, G. A. *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920: an updated review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 4, p. 435-442, 2003.

GUHL, F.; HUDSON, L.; MARINKELLE, C. J.; MORGAN, S. J.; JARAMILLO, C. Antibody response to experimental *Trypanosoma rangeli* infection and its implications for immunodiagnosis of South American trypanosomiasis. *Acta Trop.*, v. 42, n. 4, p. 311-318, 1985.

GUHL, F.; HUDSON, L.; MARINKELLE, C. J.; JARAMILLO, C. A.; BRIDGE, D. Clinical *Trypanosoma rangeli* infection as a complication of Chagas' disease. *Parasitology*, v. 94, n. 3, p. 475-484, 1987.

GUHL, F.; JARAMILLO, C.; CARRANZA, J. C.; VALLEJO, G. A. Molecular characterization and diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Arch. Med. Res.*, v. 33, n. 4, p. 362-370, 2002.

GUHL, F.; PINTO, N.; AGUILERA, G. Sylvatic triatominae: a new challenge in vector control transmission. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 104, n. 1, p. 71-75, 2009.

GURGEL-GONÇALVES, R.; CUBA, C. A. C. Estrutura de populações de *Rhodnius neglectus* Lent e *Psammolestes tertius* Lent & Jurberg (Hemiptera, Reduviidae) em ninhos de pássaros (Furnariidae) presentes na palmeira *Mauritia flexuosa* no Distrito Federal, Brasil. *Rev. Bras. Zool.*, v. 24, n. 1, p. 157-163, 2007.

GURGEL-GONÇALVES, R.; RAMALHO, E. D.; DUARTE, M. A.; PALMA, A. R. T.; ABAD-FRANCH, F.; CARRANZA, J. C.; CUBA CUBA, C. A. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 46, n. 6, p. 323-330, 2004.

GURGEL-GONÇALVES, R.; PEREIRA, F. C. A.; LIMA, I. P.; CAVALCANTE, R. R. Geographic distribution, domiciliar infestation and natural infection of triatomines (Hemiptera: Reduviidae, in Piauí State, Brazil, in 2008. *Rev. Pan-Amaz. Saúde*, v. 1, n. 4, p.57-64, 2010.

HOARE, C. A. The trypanosomes of mammals. A zoological monograph. Oxford: Blackwell Scientific Publications, p. 1-723, 1972.

HUDSON, L.; GUHL, F.; MARINKELLE, C. J.; RODRIGUEZ, J. Use of monoclonal antibodies for the differential detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in epidemiological studies and xenodiagnosis. *Acta Trop.*, v. 44, n. 4, p. 387-392, 1987.

JUNQUEIRA, A. C. V.; DEGRAVE, W.; BRANDÃO, A. Minicircle organization and diversity in *Trypanosoma cruzi* populations. *Trends Parasitol.*, v. 21, n. 6, p. 270-272, 2005.

KREUTZER, R. D.; SOUSA, O. E. Biochemical characterization of *Trypanosoma* spp by isoenzyme electrophoresis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 30, n. 2, p. 308-317, 1981.

LEON, W.; FRASCH, A. C.; HOEIJMAKERS, J. H.; FASE-FOWLER, F.; BORST, P.; BRUNEL, F.; DAVISON, J. Maxicircles and minicircles in kinetoplast DNA from *Trypanosoma cruzi*. *Biochim. Biophys. Acta*, v. 607, n. 2, p. 221-231, 1980.

LIMA, M. M.; COUTINHO, C. F. S.; GOMES, T. F.; OLIVEIRA, T. G.; DUARTE, R.; BORGES-PEREIRA, J.; BOIA, M. N.; SARQUIS, O. Risk presented by *Copernicia prunifera* palm trees in the *Rhodnius nasutus* distribution in a Chagas disease-endemic area of the Brazilian northeast. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 79, n. 5, p. 750-754, 2008.

LORENZO, M. G.; GUARNERI, A. A.; PIRES, H. H. R.; DIOTAIUTI, L.; LAZZARI, C. R. Microclimatic properties of the *Triatoma brasiliensis* habitat. *Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 2, p 69-74, 2000.

LUCENA, D. T. Subsídios para o estudo epidemiológico da doença de Chagas no nordeste. . *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, v. 4, p. 171-175, 1952.

LUCENA, D. T. Epidemiologia da doença de Chagas em Pernambuco. II. Notas sobre as espécies de triatomíneos. *Rev. Brasil. Biol.*, v. 18, n. 3, p. 301-315, 1958.

LUCENA, D. T. Doença de Chagas no Nordeste. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, v. 11, n. 4, p. 675-696, 1959.

LUCENA, D. T.; COSTA, L. Epidemiologia da Doença de Chagas na Paraíba. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, v. 6, p. 229-265, 1954.

LUCENA, D. T.; VERGETTI, J. G. Infecção natural de *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) por *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920), no interior do Estado de Alagoas. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 15, p. 171-178, 1973.

LUQUETTI, A. O.; PASSOS, A. D. C.; SILVEIRA, A. C.; FERREIRA, A. W.; MACEDO, V.; PRATA, A. R. The national survey of seroprevalence for evaluation of

the control of Chagas disease in Brazil (2001-2008). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 44, n. 2, p. 108-121, 2011.

LUTZ, A.; MACHADO, A. Viagem pelo Rio São Francisco e por alguns dos afluentes entre Pirapora e Juazeiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 7, p. 5-62, 1915.

MACINA, R. A.; SANCHEZ, D. O.; GLUSCHANKOF, D. A.; BURRONE, O. R.; FRASCH, A. C. Sequence diversity in the kinetoplast DNA minicircles of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, v. 21, n. 1, p. 25-32, 1986.

MACHADO, E. M. M.; ALVARENGA, N. J.; ROMANHA, A. J.; GRISARD, E. C. A simplified method for sample collection and DNA isolation for polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in triatomine vectors. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 95, n. 6, p. 863-866, 2000.

MARCET, P. L.; DUFFY, T.; CARDINAL, M. V.; BURGOS, J. M.; LAURICELLA, M. A.; LEVIN, M. J.; KITRON, U.; GÜRTLER, R. E.; SCHIJMAN, A. G. PCR-based screening and lineage identification of *Trypanosoma cruzi* directly from faecal samples of triatomine bugs from northwestern Argentina. *Parasitol.*, v. 132, n. 1, p. 57-65, 2006.

MARINKELLE, C. J. Patogenicity of *Trypanosoma rangeli* for *Rhodnius prolixus* Stal 1859 in natura. *J. Med. Entomol.*, v. 5, n. 4, p. 497-499, 1968.

MILES, M. A.; ARIAS, J. R.; VALENTE, S. A.; NAIFF, R. D.; DE SOUZA, A. A.; POVOA, M. M.; LIMA, J. A.; CEDILLOS, R. A. Vertebrate hosts and vectors of *Trypanosoma rangeli* in the Amazon Basin of Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 32, n. 6, p. 1251-1259, 1983.

MILES, M. A.; FELICIANGELI, M. D.; ARIAS, A. R. American trypanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. *BMJ*, v. 326, p. 1444-1448, 2003.

MIRANDA SANTOS, I. K. F.; PEREIRA, M. E. A. Lectin discriminates between pathogenic and non-pathogenic South American trypanosomes. *Am. J. Med. Hyg.*, v. 33, p. 839-844, 1984.

MONCAYO, A. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 98, n. 5, p. 577-591, 2003.

MONCAYO, A.; SILVEIRA, A. C. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.104, n. 1, p. 17-30, 2009.

MOSER, D. R.; KIRCHHOFF, L. V.; DONELSON, J. E. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.*, v. 27, n. 7, p. 1477-1482, 1989.

MURTHY, V. K.; DIBBERN, K. M.; CAMPBELL, D. A. PCR amplification of mini-exon genes differentiates *Trypanosoma cruzi* from *Trypanosoma rangeli*. *Mol. Cell Probes*, v. 6, n. 3, p. 237-243, 1992.

NERY-GUIMARÃES, F.; VENANCIO, I.; GRYNBERG, N. Refratariedade das galinhas ao “*Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*” III – Dissociação dos fenômenos da refratariedade e da lise dos epimastigotas pelo soro das aves. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 72, n. ½, p. 131-136, 1974.

OLIVEIRA FILHO, A. M.; MELO, M. T. V.; SANTOS, C. E.; FARIA FILHO, O. F.; CARNEIRO, F. C. F.; OLIVEIRA-LIMA, J. W.; VIEIRA, J. B. F.; GADELHA, F. V.; ISHIHATA, J. Focal and total residual insecticide spraying to control *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in Northeast Brazil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 2, p. 105–111, 2000.

OLIVEIRA-LIMA, J. W.; FARIA FILHO, O. F.; FURTADO-VIEIRA, J. B.; VIEIRA-GADELHA, F.; OLIVEIRA FILHO, A. M. Peridomestic changes and implications for *Triatoma brasiliensis* control. *Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 2, p. 75-81, 2000.

PAVIA, P. X.; VALLEJO, G. A.; MONTILLA, M.; NICHOLLS, R. S.; PUERTA, C. J. Detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* infection in triatomine vectors by amplification of the histone H<sub>2</sub>A/SIRE and the SNO-RNA-CL1 genes. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 49, n. 1, p. 23-30, 2007.

PINEDA, V.; MONTALVO, E.; ALVAREZ, D.; SANTAMARIA, A. M.; CALZADA, J. E.; SALDAÑA, A. Feeding sources and trypanosome infection index of *Rhodnius pallescens* in a Chagas disease endemic area of Amador county, Panama. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 50, n. 2, p. 113-116, 2008.

PIZARRO, J. C.; RIBEIRA, W.; AGUIRRE, A.; DE MUYNCK, A. Estudio parasitológico-entomológico de triatomíneos procedentes de La Provincia Zudañez del Departamento de Chuquisaca. *Arch. Boliv. Med.*, v. 3, n. 52, p. 29-33, 1996.

PIZARRO, J. C.; LUCERO, D. E.; STEVENS, L. PCR reveals significantly higher rates of *Trypanosoma cruzi* infection than microscopy in the Chagas vector, *Triatoma infestans*: High rates found in Chuquisaca, Bolivia. *BMC Infect. Dis.*, v. 7, p. 66-73, 2007.

PIRAJÁ-DA-SILVA, M. A. O barbeiro (*Conorhinus megistus* Burm.) na Bahia. *Arq. Bras. Med.*, v. 1, p. 627-632, 1913.

RAMIREZ, L. E.; LAGES-SILVA, E.; ALVARENGA-FRANCO, F.; MATOS, A.; VARGAS, N.; FERNANDES, O.; ZINGALES, B. High prevalence of *Trypanosoma rangeli* and *Trypanosoma cruzi* in opossums and triatomids in a formerly-endemic area of Chagas disease in Southeast Brazil. *Acta Trop.*, v. 84, p. 189-198, 2002.

ROMAÑA, C. A.; PIZARRO, J. C.; RODAS, E.; GUILBERT, E. Palm trees as ecological indicators of risk areas for Chagas' disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 93, n. 6, p. 594-595, 1999.

RUSSOMANDO, G.; ROJAS, A. A.; ALMIRON, M.; FIGUEREDO, A.; FERREIRA, M. E.; MORITA, K. *Trypanosoma cruzi*: polymerase chain reaction-based detection in dried feces of *Triatoma infestans*. *Exp. Parasitol.*, v. 83, n. 1 p. 62-66, 1996.

SALDAÑA, A.; SOUSA, O. E. *Trypanosoma rangeli*: epimastigote immunogenicity and cross-reaction with *Trypanosoma cruzi*. *J. Parasitol.*, v. 82, n. 2, p. 363-366, 1996.

SALVATELLA, R. A. Achievements in controlling Chagas disease in Latin America, WHO, Geneva, 2007.

SALVATELLA, R.; RODRIGUES, M. E. F.; CURTO DE CASAS, S. I.; BATARA, J. M.; CARCAVALLO, R. U. Ambiente humano: Habitações locais e peridomiciliares. In: CARCAVALLO, R. U.; GALÍNDEZ GIRÓN, I.; JUBERG, J.; LENT, H. (Eds.). *Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas*. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 1998.

SANTOS, F. R.; PENA, S. D. J.; EPPLEN, J. T. Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. *Hum. Genet.*, v. 90, p. 655-656, 1993.

SARQUIS, O.; BORGES-PEREIRA, J.; MAC CORD, J. R.; GOMES, T. F.; CABELLO, P. H.; LIMA, M. M. Epidemiology of Chagas disease in Jaguaruana, Ceará, Brazil. I. Presence of triatomines and index of *Trypanosoma cruzi* infection in four localities of a rural area. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 99, n. 3, p. 263-270, 2004.

SARQUIS, O.; SPOSINA, R.; OLIVEIRA, T. G.; MAC CORD, J. R.; CABELLO, P. H.; BORGES-PEREIRA, J.; LIMA, M. M. Aspects of peridomestic ecotopes in rural areas of Northeastern Brazil associated to triatomine (Hemiptera, Reduviidae) infestation, vectors of Chagas disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 101, n. 2, p. 143-147, 2006.

SARQUIS, O.; CARVALHO-COSTA, F. A.; OLIVEIRA, L. S.; DUARTE, R.; D'ANDREA, P. S.; OLIVEIRA, T. G.; LIMA, M. M. Ecology of *Triatoma brasiliensis* in northeastern Brazil: seasonal distribution, feeding resources, and *Trypanosoma cruzi* infection in a sylvatic population. *J. Vector Ecol.*, v. 35, n. 2, p. 385-394, 2010.

SARQUIS, O.; CARVALHO-COSTA, F. A.; TOMA, H. K.; GEORG, I.; BURGOA, M. R.; LIMA, M. M. Eco-epidemiology of Chagas disease in northeastern Brazil: *Triatoma brasiliensis*, *T. pseudomaculata* and *Rhodnius nasutus* in the sylvatic, peridomestic and domestic environments. *Parasitol. Res.*, v. 110, n. 4, p. 1481-1485, 2012.

SCHOFIELD, J. C. Nutritional status of domestic populations of *Triatoma infestans*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 74, n. 6, p. 770-778, 1980.

SCHOFIELD, C. J.; JANNIN, J.; SALVATELLA, R. The future of Chagas' disease control. *Trends Parasitol.*, v. 22, n. 12, p. 583-588, 2006.

SCHOTTELIUS, J. Differentiation between *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* by their different complement sensitivity. *Tropenmed. Parasit.*, v. 33, p. 147-150, 1982.

SCHOTTELIUS, J.; MÜLLER, V. Interspecific differentiation of *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma conorhini* and *Trypanosoma rangeli* by lectins in combination with complement lysis. *Acta Trop.*, v. 41, n. 1, p. 29-38, 1984.

SHERLOCK, I. A.; CARCAVALLO, R. U.; GIRÓN, I. G. List of natural and experimental flagellate infections in several triatominae species. In: CARCAVALLO, R. U.; GIRÓN, I. G.; JUBERG, J.; LENT, H. (Eds.). *Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas*. Vol. 1. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1997. p. 289-298.

SHIKANAI-YASUDA, M. A.; OCHS, D. E.; TOLEZANO, J. E.; KIRCHHOFF, L. V. Use of the polymerase chain reaction for detecting *Trypanosoma cruzi* in triatomine vectors. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 90, n. 6, p. 649-651, 1996.

SILVA, M. B. A.; BARRETO, A. V. M. S.; SILVA, H. A.; GALVÃO, C.; ROCHA, D.; JUBERG, J.; GURGEL-GONÇALVES, R. Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the State of Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma* infection rates between 2006 and 2007. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 45, n. 1, p. 60-65, 2012.

SILVEIRA, A. C. Entomological survey (1975-1983). *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 44, n. 2, p. 26-32, 2011.

SILVEIRA, A. C. Current situation with Chagas disease vector control in the Americas. *Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 2, p. 35-42, 2000.

SILVEIRA, A. C.; DIAS, J. C. P. The control of vectorial transmission. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 44, n. 2, p. 52-63, 2011.

SILVEIRA, A. C.; VINHAES, M. C. Doença de Chagas: aspectos epidemiológicos e de controle. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 31, n. 2, p. 15-60, 1998.

SILVEIRA, A. C.; FEITOSA, V. R.; BORGES, R. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período de 1975/1983, no Brasil. *Rev. Bras. Malariol. D. Trop.*, v. 36, p.15-312, 1984.

SIMPSON, L. The mitochondrial genome of kinetoplastid protozoa: genomic organization, transcription, replication and evolution. *Ann. Rev. Microbiol.*, v. 41, p. 363-382, 1987.

SIMPSON, L.; SILVA, A. Isolation and characterization of kinetoplast DNA from *Leishmania tarentolae*. *J. Mol. Biol.*, v. 56, p. 443-473, 1971.

SOUTO, R. P.; FERNANDES, O.; MACEDO, A. M.; CAMPBELL, D. A.; ZINGALES, B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.*, v. 83, p. 141-152, 1996.

SOUTO, R. P.; VARGAS, N.; ZINGALES, B. *Trypanosoma rangeli*: discrimination from *Trypanosoma cruzi* based on a variable domain from the large subunit ribosomal RNA gene. *Exp. Parasitol.*, v. 91, p. 306-314, 1999.

SOUZA, L. C.; BEZERRA, F. F.; CARNEIRO, F. F. C.; DIOTAIUTI, L.; SOUZA, A. J. Descrição de um ecótopo natural do *Panstrongylus lutzi* Neiva & Pinto, 1923 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) em Sobral, Norte do Ceará. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 36, n. 1, p. 26, 2003.

STEINDEL, M.; CARVALHO PINTO, J. C.; TOMA, H. K.; MANGIA, R. H. R.; RIBEIRO-RODRIGUES, R.; ROMANHA, A. J. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920) Isolated from a sylvatic rodent (*Echimyus dasythrix*) in Santa Catarina island, Santa Catarina State: first report of this trypanosome in southern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 86, n. 1, p. 73-79, 1991.

STEVENS, J. R.; TEIXEIRA, M. M.; BINGLE, L. E.; GIBSON, W. C. The taxonomic position and evolutionary relationships of *Trypanosoma rangeli*. *Int. J. Parasitol.*, v. 29, n. 5, p. 749-757, 1999.

STEVENS, J. R.; NOYES, H. A.; SCHOFIELD, C. J.; GIBSON, W. The molecular evolution of Tripanosomatidae. *Adv. Parasitol.*, v. 48, p. 1-56, 2001.

TEJERA, F. Un nouveau flagellé de *Rhodnius prolixus*. *Trypanosoma* (ou *Crithidia*) *rangeli* n. sp. *Bull. Soc. Path. Exot.*, v. 13, p. 527-530, 1920.

URDANETA-MORALES, S.; TEJERA, F. *Trypanosoma rangeli* (Tejera, 1920): observations upon pleomorphism. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 87, p. 511-516, 1992.

VALLEJO, G. A.; MARINKELLE, C. J.; GUHL, F.; DE SÁNCHEZ, N. Behavior of the infection and morphologic differentiation of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the intestine of the vector *Rhodnius prolixus*. *Rev. Bras. Biol.*, v. 48, n. 3, p. 577-587, 1988.

VALLEJO, G. A.; GUHL, F.; CHIARI, E.; MACEDO, A. M. Species specific detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in vector and mammalian hosts by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA. *Acta Trop.*, v. 72, n. 2, p. 203-212, 1999.

VALLEJO, G. A.; GUHL, F.; CARRANZA, J. C.; MORENO, J.; TRIANA, O.; GRISARD, E. C. Parity between kinetoplast: DNA and miniexon gene sequences supports either clonal evolution or speciation in *Trypanosoma rangeli* strains isolated from *Rhodnius colombiensis*, *R. pallescens* and *R. prolixus* in Colombia. *Infect. Genet. Evol.*, v. 3, p. 39-45, 2003.

VARGAS, N.; SOUTO, R. P.; CARRANZA, J. C.; VALLEJO, G. A.; ZINGALES, B. Amplification of a specific repetitive DNA sequence for *Trypanosoma rangeli* identification and its potential application in epidemiological investigations. *Exp. Parasitol.*, v. 96, n. 3, p. 147-159, 2000.

VASQUEZ, A. M.; SAMUDIO, F. E.; SALDAÑA, A.; PAZ, H. M.; CALZADA, J. E. Eco-Epidemiological aspects of *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli* and their vector (*Rhodnius pallescens*) in Panama. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v. 46, n. 4, p. 217-222, 2004.



VINHAES, M. C.; DIAS, J. C. P. Chagas disease in Brazil. *Cad. Saúde Públ.*, v. 16, n. 2, p. 7-12, 2000.

WATKINS, R. Histology of *Rhodnius prolixus* infected with *Trypanosoma rangeli*. *J. Invertebr. Pathol.*, v. 17, n. 1, p. 59-66, 1971.

WHO. Control of Chagas Disease. Technical Report Series 811, Geneva. 1991.

WINCKER, P.; BOSSENO, M. F.; BRITTO, C.; YAKSIC, N.; CARDOSO, M. A.; MOREL, C. M.; BRENIÈRE, S. F. High correlation between Chagas' disease serology and PCR-based detection of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA in Bolivian children living in an endemic area. *FEMS Microbiol. Lett.*, v. 124, n. 3, p. 419-423, 1994.

ZULANTAY, I.; APT, W.; VALENCIA, C.; TORRES, A.; SAAVEDRA, M.; RODRÍGUEZ, J., SANDOVAL, L.; MARTÍNEZ, G.; THIEME, P.; SEPÚLVEDA, E. Detection of *Trypanosoma cruzi* in untreated chronic chagasic patients is improved by using three parasitological methods simultaneously. *J. Antimicrob. Chemother.*, v. 66, n. 10, p. 2224-2226, 2011.

ZÚÑIGA, C.; VARGAS, R.; PALÁU, M. T.; BELLO, F.; DE DIEGO, J. A.; VERGARA, U. *Trypanosoma rangeli* infected mouse sera reactivity with *Trypanosoma cruzi* synthetic peptides. *Parasitol. Latinoam.*, v. 62, p. 3-6, 2007.