



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS - UEA
ESCOLA NORMAL SUPERIOR - ENS
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

INGRID COSTA LUNA

**SUSCEPTIBILIDADE E SOBREVIVÊNCIA DE *Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata*
À INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi* APÓS XENODIAGNÓSTICO DE
PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS**

Manaus – AM

2022

INGRID COSTA LUNA

**SUSCEPTIBILIDADE E SOBREVIVÊNCIA DE *Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata*
À INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi* APÓS XENODIAGNÓSTICO DE
PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS**

Trabalho de Conclusão de Curso para
obtenção de grau de Licenciado em Ciências
Biológicas da Universidade do Estado do
Amazonas (UEA).

Orientadora: Prof.^a Dra. Maria das Graças Vale Barbosa Guerra.

Manaus – AM

2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

L961ss Luna , Ingrid Costa Luna

SUSCEPTIBILIDADE E SOBREVIVÊNCIA DE *Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata* À INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi* APÓS XENODIAGNÓSTICO DE PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS / Ingrid

Costa Luna Luna . Manaus : [s.n], 2022. 26 f.: color.; 23 cm.

TCC - Licenciatura em Ciências Biológicas - Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2022. Inclui bibliografia

Orientador: Guerra, Maria das Graças Vale Barbosa

1. Triatomíneos . 2. hematofagia . 3. infecção por *T. cruzi* . I. Guerra, Maria das Graças Vale Barbosa (Orient.).

II. Universidade do Estado do Amazonas. III. SUSCEPTIBILIDADE E SOBREVIVÊNCIA DE *Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata* À INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi* APÓS XENODIAGNÓSTICO DE PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS

Dedicatória

Dedico esse trabalho aos meus pais, Altamir Ferreira de Luna e Raimunda Suely Costa Luna. Aos meus avós, Raimunda dos Santos Costa e Antônio Santos da Costa (in memoriam).

EPÍGRAFE

“Não importa quanto a vida possa ser ruim, sempre existe algo que você pode fazer, e triunfar. Enquanto há vida, há esperança.”

Stephen Hawking

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiro a Deus por ter me concedido o dom da vida, sem Ele não seria possível realizar este trabalho, por ter me ajudado e mostrado quem está ao meu lado em todos os momentos.

À minha família, Altamir Ferreira de Luna, Raimunda Suely Costa Luna e Lincoln Costa Luna, por serem meu apoio e por ter me amado todos os dias, mesmo naqueles dias mais difíceis. Obrigada por todas as oportunidades e por serem acreditarem em mim. Sem vocês eu não teria conquistado nada. E, ao mesmo tempo, peço desculpas por qualquer coisa.

Aos meus avós, Raimunda dos Santos Costa e Antônio Costa, já falecidos, mas que estão presentes sempre em meu coração, durante todos os dias da minha vida. Nunca senti uma dor tão grande quando a senhora partiu, vó. Saiba que essa conquista é sua também. Obrigada por todas as histórias, fiz o meu melhor enquanto estive o seu lado. Jamais esquecerei de vocês.

Aos meus professores, que passaram pela minha vida e me mostraram que o estudo é a melhor opção na vida de uma pessoa. Em especial, as minhas queridas professoras responsáveis pelas disciplinas de estágio supervisionado, Prof^a. Dra. Rosilene Gomes e Prof^a. Dra. Hileia Maciel, que acreditaram no meu potencial e sempre me trataram com muito carinho. Obrigada por todas as oportunidades, conselhos e me fazerem admirar a educação de uma forma que nem eu mesmo nem saberia que seria possível.

À minha orientadora, Prof^a. Dra. Maria das Graças Vale Barbosa Guerra, que me abriu as portas da Entomologia e me acolheu. Obrigada pelo incentivo e orientação durante os projetos de iniciação científica e neste trabalho.

Aos meus colegas do Grupo de Pesquisa em Doença de Chagas e Leishmaniose, Dr. João Macias Frade, da Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado. Em especial ao Rubens Celso da Silva Junior, Débora Sousa e Jessica Ortiz pela ajuda nos procedimentos de biologia molecular, as análises estatísticas durante meus projetos de iniciação científica.

Ao Sr. Flávio Fé pelo acolhimento no insetário de triatomíneos e todo aprendizado com manejo e alimentação no insetário. Em especial, ao meu grande amigo Gabriel Dias por aprendizado, conselhos, puxões de orelha e companhia, meu eterno agradecimento por tudo.

Aos meus amigos da turma de Ciências Biológicas de 2017, da Universidade do Estado do Amazonas, unidade Normal Superior. Ao Vinicius Medeiros, por ter sido minha primeira dupla no PIBID, nos trabalhos acadêmicos e na vida. À Katharine Duarte por todos os conselhos e por se fazer presente, mesmo não sendo pessoalmente, sempre estava ali para fazer uma piadinha sem graça e me ouvir nos momentos complicados.

Ao meu parceiro, Daniel Vitor, essa graduação nunca teria sido completa e especial se você não estivesse comigo para absolutamente tudo. Obrigada por ser meu apoio em todos os choros, risadas, trabalhos, dores de cabeça, comemorações e companhia, sou muito grata em ter você comigo. Sempre eu e tu, amigo! Te amo eternamente.

À minha amiga, Lilian Caroline, do Instituto Federal do Amazonas, na minha primeira aprovação na graduação no curso de Biologia em 2017, obrigada por ter ficado perto durante todo esse tempo, espero que a vida me conceba sempre com a sua amizade. Estarei aqui para qualquer coisa.

À Fapeam, pelo financiamento nos experimentos e as bolsas de estudo de iniciação científica

E a todos que me ajudaram de forma indireta e diretamente ao longo desta trajetória, minha enorme gratidão.

Introdução: Os triatomíneos são insetos hematófagos, hemimetábolos, que vivem em colônias predominantemente nos ambientes silvestres. Sua disponibilidade de fonte alimentar favorece seu ciclo de vida, hábito que os insere no ciclo biológico do *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da Doença de Chagas – DC. São importantes vetores para saúde pública pois apresentam espécies consideradas vetores na transmissão do agente etológico. **Objetivo:** Descrever o fitness de *Rh. robustus* e *T. maculata* utilizados no xenodiagnóstico (XD) de pacientes com DC e investigar sua susceptibilidade à infecção pelo *T. cruzi*. **Materiais e Métodos:** Foram observadas 360 ninfas de III estágio, por 90 dias, após serem utilizadas no período de 30 minutos no xenodiagnóstico de 18 pacientes com suspeita de Doença de Chagas Aguda (DCA). Dois grupos de triatomíneos contendo 180 ninfas III estágio de *Rh. robustus* e 180 *T. maculata* foram separados. No grupo G1, 108 ninfas foram utilizadas para avaliar o fitness entre as espécies utilizadas no XD. As variáveis observadas foram quantidade de sangue ingerido; lapso de defecção; tempo entre a muda, e taxa de mortalidade. No grupo G2 108 ninfas foram submetidas para avaliação da susceptibilidade ao *T. cruzi*, estimando-se a taxa de infecção através da compressão abdominal e visualização de formas flageladas em microscópio óptico. As ninfas foram pesadas antes e depois do repasto, a avaliação de tempo de desenvolvimento foram calculados utilizando o teste T de Student e a positividade para *T. cruzi* com o teste exato de Fisher, que apresenta valor significativo com $p < 0.05$ e intervalo de confiança 95%. **Resultados:** Observou-se diferença entre as médias de sangue ingerido pelas duas espécies. *Rh. robustus* (0.116 ± 0.095) e *T. maculata* (0.101 ± 0.052) ($p > 0.563$); A defecção de *Rh. robustus* ocorreu simultaneamente após a alimentação, enquanto que em *T. maculata*, foi após 10-15 minutos, com diferença na quantidade de fezes e urina entre as duas espécies. O tempo entre a mudança de estágio foi semelhante nos dois grupos, *Rh. robustus* apresentou mudança de estágio de 12-14 dias e *T. maculata* 16-21 dias. A taxa de mortalidade no G1 variou entre 33,3% aos 7 dias e 100% aos 90 dias de observação para ambas espécies. No G2 detectou-se infecção por *T. cruzi* em ambas espécies, aos 7 dias pós alimentação. Em *T. maculata* - 7d(50%), 30d(33.3%), 60d(23.5%) e 90d(16.7%) enquanto que em *R. robustus* aos 7d(33.3%), 30d(17.6%), 60d(5.6%) e 90d(27.8%). *T. maculata* apresentou-se mais susceptível 29/126 (23,01%) em relação *Rh. robustus* 23/126 (18,25%). **Conclusão:** *Rh. robustus* ingeriu maior quantidade de sangue, com defecção imediata, com intervalo de mudança de estágio mais acelerado; ambas espécies demonstraram susceptibilidade ao *T. cruzi* com pequena diferença na taxa de infecção. *T. maculata* apresentou emergência mais tardia, e lapso de defecção mais lento, entretanto, observa-se que pela sua maior taxa de susceptibilidade, pode ser utilizado no xenodiagnóstico.

Palavras-chave: Triatomíneos, hematofagia, infecção por *T. cruzi*.

Figura 1. Imagens representativas dos gêneros <i>Panstrongylus</i> , <i>Triatoma</i> e <i>Rhodinus</i>	12
Figura 2. Imagens representativas dos gêneros <i>Panstrongylus</i> , <i>Triatoma</i> e <i>Rhodinus</i>	12
Figura 3. Imagens representativas dos gêneros <i>Panstrongylus</i> , <i>Triatoma</i> e <i>Rhodinus</i>	12
Figura 4. Morfologia geral de um barbeiro.....	13
Figura 5. Vista dorsal e vista lateral da cabeça de um triatomíneo.....	14
Figura 6. Vista dorsal e vista lateral da cabeça de um triatomíneo.....	14
Figura 7. Vista dorsal e vista lateral da cabeça de um triatomíneo.....	14
Figura 8. Vista dorsal do abdômen evidenciando o dimorfismo sexual.....	14
Figura 9. Imagem representativa do ciclo hemimetábolo de <i>Rhodnius</i>	16
Figura 10. Avaliação de susceptibilidade das espécies de triatomíneos utilizados no xenodiagnóstico.....	26
Figura 11. Lapso entre a primeira defecação e o desenvolvimento ninfal das espécies representados em dias.....	26

LISTA DE SIGLAS

CAAE – Certificado de Apresentação de Apreciação Ética

DC – Doença de Chagas

DCA – Doença de Chagas Aguda

FMT-HVD – Fundação de Medicina Tropical – Dr. Heitor Vieira Dourado

G1 – Grupo 1

G2 – Grupo 2

N – Nífa

T – Triatoma

T. cruzi – Trypanosoma cruzi

R – Rhodnius

XD – Xenodiagnóstico

WHO – Organização Mundial da Saúde

% - Porcentagem

µL – Microlitros

Sumário

1.	INTRODUÇÃO	1
----	------------------	---

1.1	DOENÇA DE CHAGAS.....	1
1.2	AGENTE ETIOLÓGICO.....	1
1.2.1	CICLO BIOLÓGICO DO <i>T. CRUZI</i>	2
1.3	TRANSMISSÃO DA DOENÇA AO HOMEM	2
1.4	MANIFESTAÇÃO CLÍNICA	2
1.5	DIAGNÓSTICO.....	3
1.6	TRATOMÍNEOS.....	4
1.6.1	<i>Classificação dos triatomíneos</i>	4
1.6.2	<i>Morfologia dos vetores</i>	5
1.6.4	<i>Comportamento e habitat dos triatomíneos</i>	8
1.6.5	<i>Ciclo de vida</i>	9
1.6.6	<i>Distribuição geográfica dos triatomíneos</i>	10
1.7	DOENÇA DE CHAGAS NA AMAZÔNIA	10
1.4.5.1	DOENÇA DE CHAGAS NO AMAZONAS	11
2.	JUSTIFICATIVA	12
3.	OBJETIVOS	12
3.1	GERAL	12
3.2	ESPECÍFICOS.....	12
4	MATERIAL E MÉTODO	13
4.1	TIPO E LOCAL DE ESTUDO	13
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA PESQUISA	13
4.3	PROCEDIMENTOS	13
4.3.1	<i>Observações do fitness de triatomíneos</i>	13
4.3.2	<i>Taxa de sangue ingerido</i>	Erro! Indicador não definido.
4.4.2	COMPORTAMENTO ALIMENTAR	14
4.4.3	INVESTIGAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE	14
4.5	ANALISE DOS DADOS.....	14
5.	RESULTADO	15
5.1	AVALIAÇÃO DO FITNESS DAS DUAS ESPÉCIES POR GRUPO	15
5.2	TAXA DE INFECÇÃO DAS DUAS ESPÉCIES APÓS XENODIAGNÓSTICO	15
6.	DISCUSSÃO	17
5.	CONCLUSÃO	19
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	20

1. INTRODUÇÃO

1.1 Doença de Chagas

A Tripanossomíase Americana, mais conhecida como doença de Chagas, é uma enfermidade endêmica da América Latina, que tem se dispersado para outros continentes, se tornando um problema para a saúde pública mundial (Who, 2020).

Descoberta em 1909 (Chagas, 1909), estima-se que cerca de 6 a 7 milhões de indivíduos estejam infectados pelo *T. cruzi*, em especial na América do Sul (Who, 2020). Mudanças epidemiológicas ocorreram ao longo de várias décadas por meio de campanhas de controle de transmissão vetorial e transfusional em países endêmicos e, com resultados positivos resultaram na redução expressiva de surgimentos de novos casos (Rassi et al., 2010; Monyaco et al., 2009; Dias, et al., 2022).

1.2 Agente etiológico

O agente etiológico da doença de Chagas é um protozoário flagelado, digenético, do grupo Stercoraria, denominado de *Trypanosoma cruzi*, de ciclo evolutivo complexo, desenvolvido em mais de 100 espécies de hospedeiros vertebrados onde realiza uma fase de multiplicação intracelular - homens e outros mamíferos - primariamente os animais silvestres, como os tatus, gambas, primatas não humanos e morcegos (aves, reptéis e anfíbios são refratários a infecção), e cerca de 150 espécies de hospedeiros invertebrados - insetos hematófagos denominados de triatomíneo - onde desenvolve uma fase de multiplicação extracelular. Cerca de 20 das 150 espécies de triatomíneos, conhecidas como barbeiros, vivem em colônias nos ambientes intra e peridomiciliares (Dias et al., 2016; Jansen et al., 2018), podendo ser realizado em várias espécies de mamíferos domésticos, sendo as de maior importância epidemiológica, aquelas que coabitam ou estão próximos ao homem, tais como, cães, porcos entre outros (Schofield, 1994).

O caráter eclético do *T. cruzi* e a sua capacidade de adaptação aos diferentes hospedeiros redundam em ampla diversidade genética. Atualmente, são conhecidos 7 genótipos denominados de DTU (Unidade Discreta de Tipagem) - *T. cruzi* I–VI e Tc Bat (Zingales et al., 2009; 2012).

1.2.1 Ciclo biológico do *T. cruzi*

O hospedeiro vertebrado se contamina quando a forma infectante tripomastigota metacíclica presente nos dejetos do vetor adentram através da pele ou mucosas do hospedeiro, onde o parasito invade células e tecidos e se diferencia em amastigota, que transformam-se em tripomastigota liberadas na corrente sanguínea. Essas formas podem infectar células adjacentes, atingir outras células hospedeiras ou serem ingeridos pelo triatomíneo e dar assim continuidade ao ciclo de multiplicação no inseto vetor, ao ser ingerido durante um repasto sanguíneo. No tubo digestivo do inseto as formas tripomastigota transformam-se em formas esferomastigotas e em epimastigotas, e ao atingirem o reto se diferenciam em tripomastigotas metacíclicas eliminadas com as dejeções do inseto (Brener, 1977).

O ciclo evolutivo do *T. cruzi* no vetor é influenciado por vários fatores, tais como: a espécie do inseto, a linhagem do parasita, número de parasitas ingeridos e fatores ambientais. Alguns triatomíneos são parcial ou totalmente refratários à infecção pelo *T. cruzi*, fenômeno que tem sido atribuído à presença no tubo digestivo do inseto de um fator hemolítico que lisa as hemácias e reduz a população parasitária (Brener e Andrade, 2000).

1.3 Transmissão da doença ao homem

A infecção pelo *T. cruzi* pode ser adquirida a partir de transmissão vetorial, transfusão de sangue, transplante de órgãos, transmissão transplacentária, acidentes laboratoriais ou oral por gêneros alimentícios contaminados por fezes de triatomíneos infectados. Entre os fatores determinantes para a transmissão e aproximação do *T. cruzi* ao homem, está a degradação ambiental, alterações climáticas, migração humanas para áreas não controladas, maior concentração da população em áreas urbanas e precariedade de condições socioeconômicas (Dias et al., 2016).

1.4 Manifestação clínica

No homem, a DC, pode apresentar duas fases clínicas distintas: uma inicial denominada de fase aguda e uma fase crônica. A fase aguda é caracterizada pela presença da forma

tripomastigotas sanguíneas no homem e elevação de anticorpos IgM anti-*T. cruzi*. Os indivíduos desta fase podem ser assintomáticos ou apresentarem sintomas de infecção, como: febre, mal-estar, anorexia e hepatoesplenomegalia (Benziger; Carmo; Ribeiro, 2017; Lidani et al., 2017; Groom; Protopapas; Zochios, 2017). Por essa razão, muitos indivíduos não são identificados, uma vez que não procuram cuidados médicos. É caracterizada como uma fase benigna e inaparente. Após cerca de 2 a 4 meses da infecção inicial, ocorre a fase crônica podendo ser “indeterminada” ou “inaparente”, associando-se a ausência de sintomatologia clínica. Apresenta elevação de anticorpos classe IgG anti-*T. cruzi*, ou apresentar manifestações clínicas mais severas, como aumento do músculo cardíaco, complicações digestivas ou cardiodigestivas. Após anos, aproximadamente 20% dos indivíduos infectados desenvolvem essa fase (CONITEC, 2018).

1.5 Diagnóstico

De acordo com Dias et al., (2016), o diagnóstico a DC é realizado através da avaliação clínica, quando se identifica a fase da doença e encaminhamento para o diagnóstico laboratorial conforme a seguir:

- a) Na fase aguda, devido a evidência de parasitemia se recomendam exames parasitológicos diretos como por exemplos gota espessa e esfregaço, associados a sorologia.
- b) Na fase crônica se recomendam exames sorológicos associados a exames parasitológicos indiretos.

Entre os métodos de diagnóstico parasitológicos indireto para doença de Chagas está o xenodiagnóstico-XD. Consiste em alimentar barbeiros normais em supostos portadores da infecção e determinar-se, depois, se eles adquirem ou não o parasitismo. É usado como exame complementar, sobretudo, na fase crônica da doença, quando os parasitos circulantes são escassos no sangue de indivíduos sorologicamente positivos. É usado também no controle ou acompanhamento da eficácia do tratamento específico e para o isolamento de cepas do *T. cruzi* (Dias, 1940).

Esse método, por ser de procedimento biológico complexo, sofre influência de vários fatores, apresentando uma série de variações conforme o objetivo que se pretende. Em estudo recente, de 447 exames de XD realizados, foi possível verificar em 163/447(36%) a

positividade de triatomíneos para infecção pelo *T. cruzi* (TAVARES, 2017). Observou-se também que nos XD realizados com duas espécies simultaneamente houve uma variação entre 2% e 1% de infecção por *T. cruzi* respectivamente.

O XD tem estimulado investigações com a finalidade de melhorar a sensibilidade deste exame, devido a sua utilização tanto para diagnosticar a tripanossomíase americana, no homem e em outros mamíferos, quanto para demonstrar a parasitemia circulante, na experimentação com drogas tripanossomicidas (SILVA; SALHA, 1994). Estudos comparativos com emprego de ninfas de espécies diferentes, têm sido realizados, visando encontrar a melhor espécie a ser aplicada ao exame (MOREIRA; PERLOWAGORA, 1997; PERLOWAGORA et al 1990).

1.6 Triatomíneos

Os triatomíneos são um grupo de insetos hematófagos de grande importância dentro de saúde pública por englobarem espécies que se inserem no ciclo biológico de *T. cruzi*. Vivem em média entre um a dois anos, com grande capacidade de reprodução e, dependendo da espécie, grande resistência ao jejum, existindo espécies que ficam mais de seis meses sem alimentação (Jubert et al 2004). Sem o repasto sanguíneo não ocorrerá desenvolvimento, isto é, não há evolução do ciclo biológico e as fases imaturas denominadas de ninfas farão no máximo uma ecdise (muda). Quando houver uma nova alimentação sanguínea a muda volta a acontecer normalmente (Galvão, 2014).

A relação de triatomíneos com o homem foi descoberta pelo médico brasileiro Carlos Chagas, em 1907, em Lassance - Minas Gerais, durante um trabalho de combate à malária. Naquela ocasião ele foi alertado para a presença de um inseto que “picava as pessoas”, principalmente no rosto, nominado de “barbeiro”, encontrados no interior das habitações humanas. Esse fato levou Carlos Chagas a realizar uma investigação sobre esses insetos. Em 1909 estava descoberta uma nova parasitose denominada de tripanossomíase americana mais conhecida como doença de Chagas-DC, uma nova espécie de parasito, nominada de *Trypanosoma cruzi*, e sua principal forma de transmissão ao homem (Chagas, 1909).

1.6.1 Classificação dos triatomíneos

Os triatomíneos pertencem ao Filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Hemiptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae. A subfamília Triatominae está distribuída em cinco tribos, 18 gêneros, 152 espécies e três fósseis. A identificação dos gêneros e das espécies, baseiam-se na descrição de características relacionadas com a forma, o tamanho e a coloração de várias estruturas do corpo dos insetos (Poinar et al., 2019). Destacam-se os gêneros *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* (Figura 1) de grande importância na saúde pública (Silveira & Rezende, 1994; Schofield & Dias, 1999; Vinhaes & dias, 2000).

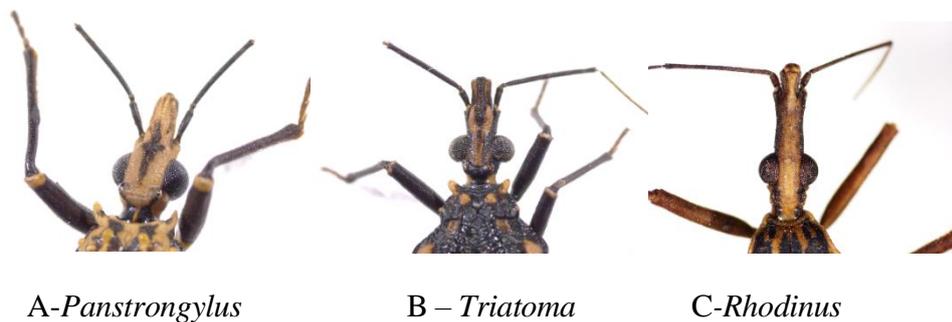


Figura 1. Imagens representativas dos três gêneros de importância médica

Fonte: Silva Junior et al., 2021.

1.6.2 Morfologia dos vetores

Os triatomíneos, como os demais insetos, possuem a divisão do corpo em três segmentos: cabeça, tórax e abdômen (Figura 2). A ordem Hemiptera, pertencente a Classe Insecta, apresenta características exclusivas de sua ordem, como a presença do aparelho bucal picador-sugador e a morfologia de suas asas, que os difere de outras ordens (Galvão, 2014).

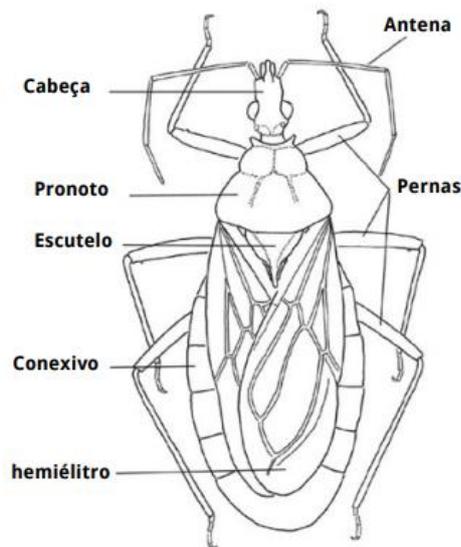


Figura 2. Morfologia geral de um barbeiro.

Fonte: GALVÃO, 2014

A cabeça dos triatomíneos divide-se em três regiões (Figura 3): anteocular, ocular e pós-ocular. Encontram-se também o clipeo, genas, jugo, olhos compostos, ocelos, labros, rostro e antenas. As antenas estão localizadas em uma estrutura denominada tubérculo antenífero e sua localização é fundamental para diferenciação nos principais gêneros de grande importância médica: *Rhodnius*, *Triatoma* e *Panstrongylus*.

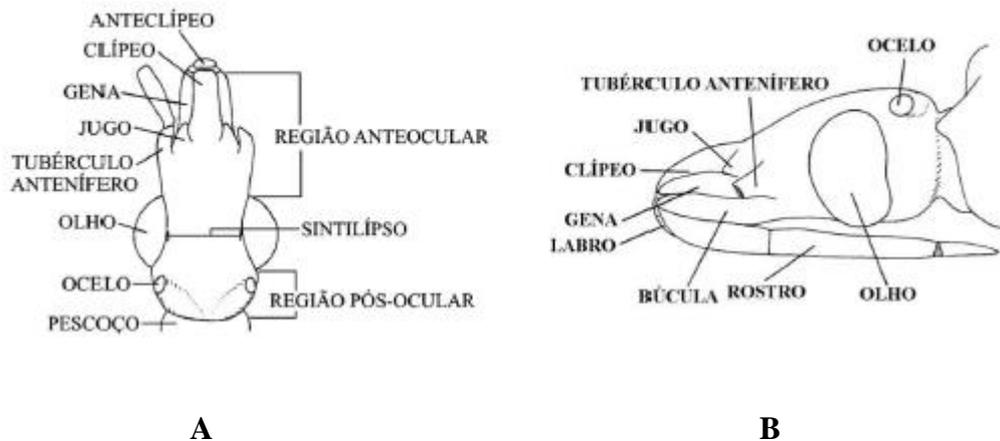


Figura 3 – A=Vista dorsal e B=vista lateral da cabeça de um triatomíneo.

Fonte: GALVÃO, 2014

O tórax é formado por três segmentos, denominados (Figura 4): protórax (anterior), mesótórax (mediano) e metatórax (posterior). Encontram-se os apêndices locomotores, com as divisões dos três pares de patas e os dois pares de asas. A região dorsal de cada segmento é chamada de noto, a parte lateral de pleura e a ventral de esterno. O pronoto dos triatomíneos é bem desenvolvido e suas divisões constituem em dois lobos, com diversas estruturas importantes utilizadas na sistemática. Após a localização de um segmento triangular, chamado de escutelo, se inicia os primeiros segmentos abdominais.

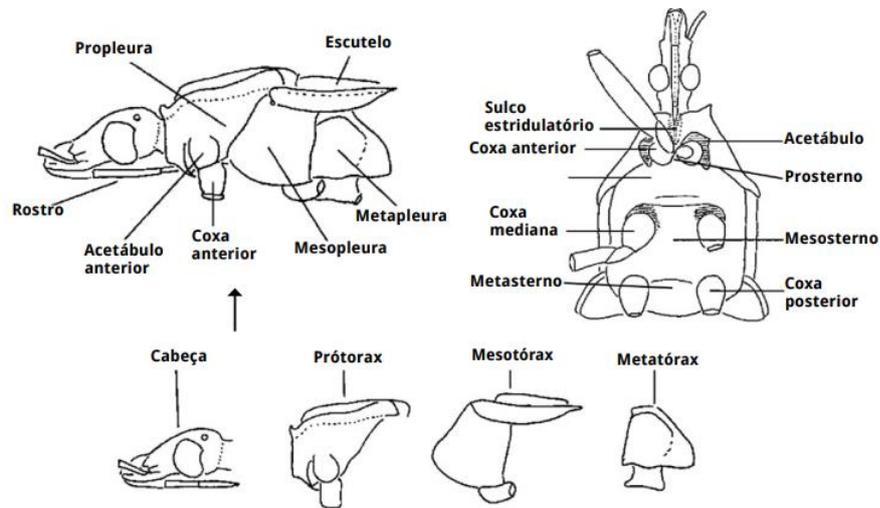


Figura 4. A=Vista dorsal e B=vista lateral do torax de um triatomíneo.

Fonte: GALVÃO, 2014

O abdome é a região mais longa do corpo, dividida em nove a dez segmentos. Suas placas dorsais são chamadas de tergitos e as ventrais de esternitos. Na porção lateral do corpo, entre as placas dorsais, é possível encontrar os conectivos. Estão geralmente visíveis em vista dorsal as asas. Sua coloração e distribuição das machas são características essenciais na identificação das espécies de triatomíneos. É nesta região onde encontram-se as genitálias dos machos e fêmeas, cuja diferenciação é possível no 5º estágio, permitindo a diferenciação do sexo (Figura 5).

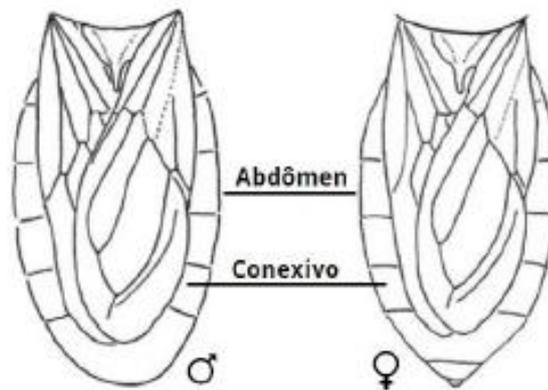


Figura 5. Vista dorsal do abdômen evidenciando o dimorfismo sexual.

Fonte: GALVÃO, 2014

1.6.4 Comportamento e habitat dos triatomíneos

A maioria das espécies está restrita a ambientes silvestres onde colonizam ninhos de aves, que não são susceptíveis ao *T. cruzi*, e tocas de mamíferos (Lent; Wygodzinsky 1979). Habitam também ninhos de gambás, tocas de tatu, apresentando preferência por abrigos em pedras, tocas de animais no solo e palmeiras (Costa et al., 2008). Algumas espécies estão associadas à ecótopos artificiais, especialmente os domicílios, e também se adaptaram aos ambientes domésticos e peridomésticos (como galinheiros, chiqueiros e currais) tais como *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus*, *Panstrongylus megistus* e *Triatoma brasiliensis* (Galvão, 2014).

Apresentam fotofobia, termotropismo positivo, e hábitos noturnos quando realizam repastos sanguíneos demorados, mesmo que sejam eventualmente ocasionais, lhes permitindo suportar longos períodos sem alimentação (Friend; Smith 1985). Embora sejam insetos noturnos, possuem picos bimodais diários de atividade locomotora: ao amanhecer, buscam abrigo e ao anoitecer, buscam o hospedeiro e se dispersam pelo voo (Lazzari 1992; Lorenzo; Lazzari 1998). Possuem aparelho bucal adaptado para penetrar na pele do hospedeiro, encontrar os vasos sanguíneos e sugar o sangue sem ser percebido, devido a substâncias anticoagulantes e anestésicas na saliva. Exercem a hematofagia durante todas as fases de desenvolvimento para poder realizar a muda nos diferentes estádios. Os adultos, de ambos os sexos também precisam se alimentar de sangue para sua sobrevivência e produção de ovos férteis (Buxton, 1930). Tal

hábito permite um estreito relacionamento com animais reservatórios silvestres e domésticos (Dias, 2005).

Embora todas as espécies de triatomíneos sejam vetores em potencial do *T. cruzi*, apenas aquelas que colonizam o domicílio e ou peridomicílio reúnem condições necessárias para transmitir o parasito causador da doença de Chagas (Silveira, 2000), uma vez que se encontram próximos ao homem. As diferentes espécies dependem de um maior grau de antropofilia e metaciclogênese (produção de um maior número de formas infectantes de *T. cruzi*), e de um menor tempo entre repasto sanguíneo e dejeção (Silveira; Martins, 2014). Assim, somente algumas espécies se tornam vetores efetivos, ou seja, as espécies que defecam durante ou logo após a alimentação; outras, no entanto, defecam após abandonar a fonte de alimento, longe do local da sucção. Este fato classifica as diferentes espécies como “boas ou más” transmissoras da doença (Lazzari, 2014).

De maneira geral, utilizam o vôo para dispersão na fase adulta (Noireau et al 2001), entretanto podem se dispersar transportados de maneira passiva, juntamente com pertences humanos ou ainda através da deposição de ovos em penas ou pelos de animais (Schilman et al 1996; Galvão et al 2001). Embora sejam insetos com pequena capacidade de dispersão pelo vôo, diante das pressões antropológicas, tais como os desmatamentos, queimadas e outras agressões ecológicas, que destroem seus habitats naturais, se as fontes de alimento se tornarem escassas, eles podem fazer longos voos para atingir um novo habitat (Lehane; Schofield, 1981), durante os quais mostram uma atração especial por luzes artificiais. Do ponto de vista epidemiológico, essa atração para a luz desempenha um importante papel na chegada de triatomíneos às habitações humanas (Lazzari, 2014).

1.6.5 Ciclo de vida

São insetos hemimetabolos, pertencem à ordem Hemiptera, subordem Heteroptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae. Seu ciclo de vida envolve uma metamorfose incompleta que passa de ovo e evolui por cinco fases ninfais (Figura 6) até chegar à fase adulta (Galvão, 2014). Vivem em média entre um a dois anos, com grande capacidade de reprodução e, dependendo da espécie, grande resistência ao jejum, existindo espécies que ficam mais de seis meses sem alimentação (Jubert et al., 2004). Sem o repasto sanguíneo não ocorrerá desenvolvimento, isto é, não há evolução do ciclo biológico e as fases imaturas denominadas

de ninfas farão no máximo uma ecdise (muda). Quando houver uma nova alimentação sanguínea a muda volta a acontecer normalmente (Galvão, 2014).

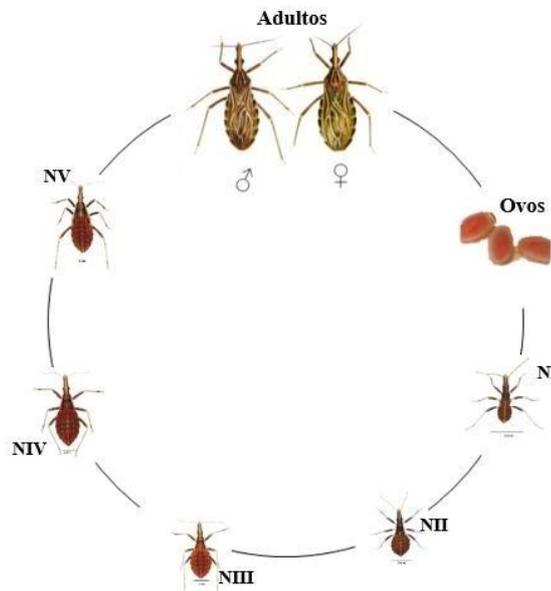


Figura 6. Imagem representativa do ciclo hemimetábolo de *Rhodnius*

Fonte: Adaptado de GALVÃO, 2014

1.6.6 Distribuição geográfica dos triatomíneos

Possuem ampla distribuição geográfica nas Américas podendo ser encontrados desde os Estados Unidos até o sul do Chile e Argentina. Algumas espécies podem ser encontradas em ambientes fora do continente americano, associadas a diferentes espécies de animais principalmente pássaros e mamíferos (Schofield et al., 1999).

1.7 Doença de Chagas na Amazônia

A região Amazônica foi por muito tempo considerada livre da DC, no entanto, as populações apresentam vulnerabilidade por viverem próximo ao ciclo biológico silvestre do *Trypanosoma cruzi* (Dias et al., 2016; Barbosa et al., 2015).

Nas duas últimas décadas passou a registrar surtos e micro-surtos pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente o suco de açaí, demandando mudanças na forma de

vigilância epidemiológica. A transmissão de *T. cruzi* ocorre por via oral, é um mecanismo primário, em especial no ciclo silvestre (Dias; Amato Neto, 2011), através da ingestão de vetores infectados, por mamíferos susceptíveis (Opas, 2019).

Nessa região há registro de pelo menos 25 espécies de triatomíneos silvestres, das quais, em 10 já foram encontradas formas flageladas de *T. cruzi*, entretanto, apresenta peculiaridades, distintas das áreas originalmente de risco para transmissão vetorial da doença de chagas - DC no país (Coura et al., 2002; Abad-Franch et al., 2006), uma vez que diferente das áreas endêmicas, não há registro de triatomíneos colonizando o domicílio, com exceção de um único encontro de colônia de *Panstrongylus geniculatus* na ilha de Marajó no Pará e *Triatoma maculata* em Boa Vista - Roraima, todas as espécies de triatomíneos encontradas, tem hábitos silvestres, essencialmente zoófilos, com pequena capacidade de dispersão pelo vôo.

1.4.5.1 Doença de Chagas no Amazonas

No Amazonas, o primeiro relato de DC foi realizado em 1977, quando Ferraroni et al., relataram a ocorrência de seis casos humanos, reativos para a DC crônica, na região de Barcelos (Alto Rio Negro). Anos depois a aquela região ficou conhecida como área de transmissão vetorial, pelo fato de que populações extrativistas da fibra da piaçaba vivem em contato constante com o *Rhodnius brethesi* (Coura et al., 1994). Nesse estado em menos de duas décadas 9 surtos por transmissão oral foram registrados (Sousa, 2019).

Amplamente distribuídas na Américas, as linhagens TcI, TcIII e TcIV tem sido registrada no Amazonas (Santana et al., 2014; Magalhães et al., 2021).

A Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT- HVD), é uma autarquia do governo do Estado e tem sido a referência no atendimento para os casos de DC no estado do Amazonas. Possui em sua estrutura organizacional o laboratório de entomologia onde são mantidas colônias de insetos e entre eles triatomíneos, utilizados na realização do XD, no suporte a confirmação do diagnóstico da DC bem como para os estudos sobre a interação parasito-vetor.

2. JUSTIFICATIVA

Na Amazônia a ocorrência de casos da doença de chagas tem aumentado progressivamente. No Amazonas a FMTHVD tem sido a referência no atendimento para os casos de DC possuindo em sua estrutura organizacional o laboratório de entomologia onde são mantidas colônias de triatomíneos, utilizados na realização do XD, como suporte a confirmação do diagnóstico da DC bem como para os estudos sobre a interação parasito-vetor. Entretanto, do ponto de vista epidemiológico, é importante conhecer as características biológicas dos triatomíneos, sendo realizada a observação diária do vetor nas colônias de laboratório. O xenodiagnóstico é essencial para diagnóstico da doença pois visualiza as formas flageladas de *T. cruzi* em casos agudos ou crônicos, como exame complementar em pacientes portadores da DC.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar a susceptibilidade de *Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata* à infecção pelo *Trypanosoma cruzi* após alimentação no xenodiagnóstico em pacientes com doença de Chagas aguda

3.2 Específicos

Descrever o fitness (tempo de evolução, fecundidade, mortalidade, sobrevivência) de *Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata* após submissão ao xenodiagnóstico em pacientes com doença de Chagas;

Estimar a taxa de infecção por *Trypanosoma cruzi* em *Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata* utilizados no xenodiagnóstico;

Comparar as duas espécies quanto a taxa de susceptibilidade e capacidade de sobrevivência, após o xenodiagnóstico.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Tipo e local de estudo

Esse estudo teve um caráter retrospectivo e prospectivo e faz parte de um projeto guarda-chuva submetido e aprovado pelo Comitê de ética em pesquisa com humanos da FMT-HVD, CAAE: 96950118.5.0000.0005 sob título: Triatomíneos do estado do Amazonas: distribuição espacial, bio-ecologia e importância epidemiológica.

4.2 Caracterização da Pesquisa

Para alcançar os objetivos propostos, foram incluídos dois grupos de triatomíneos (*Rhodinus robustus* e *Triatoma maculata*), utilizados no xenodiagnóstico realizados entre agosto de 2019 a maio de 2020.

4.3 Procedimentos

4.3.1 Observações do fitness de triatomíneos

Para estabelecer o fitness das duas espécies, foram observadas ninfas de duas espécies de triatomíneos utilizadas em XD, em dois grupos acompanhadas conforme o protocolo do laboratório, realizados no período entre setembro/2020 até outubro/2021, seja de paciente com a doença de Chagas aguda ou crônica. Em cada exame foram utilizadas 20 ninfas (Figura 7). Grupo 1 – composto de 108 ninfas (54 cada uma das duas espécies), seguindo o protocolo estabelecido na rotina de laboratório da entomologia que consiste em acompanhar as ninfas sem oferta de uma nova alimentação. Grupo 2 – composto de 252 ninfas (126 cada uma das duas espécies, e seguindo o protocolo que consistiu em acompanhar as ninfas ofertando uma nova alimentação a cada 15 dias após o xenodiagnóstico seguindo o protocolo da colônia de triatomíneos.

4.3.2 Taxa de sangue ingerido

Cada ninfa foi pesada antes e após a realização do xenodiagnóstico para estimativa do cálculo de quantidade de sangue ingerida que será aferida pela diferença de seu peso antes e após o repasto sanguíneo. Os dados foram tabulados e analisados no teste T de student, utilizando o software BioStata.

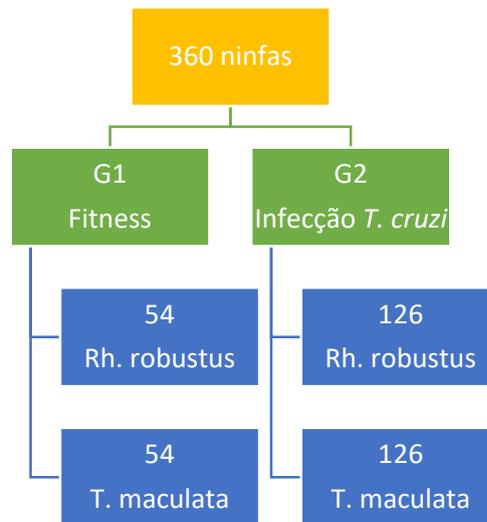


Figura 7 – Fluxograma representando os grupos de triatomíneos estudados

4.4.2 Comportamento alimentar

A avaliação dos aspectos do comportamento alimentar dos triatomíneos duas espécies foram sendo observadas diariamente para estabelecer o período de desenvolvimento dos estádios ninfais, percentual de mortalidade, tempo total do repasto sanguíneo, lapso entre o final do repasto e a primeira defecação e quantidade de sangue ingerido.

4.4.3 Investigação da susceptibilidade

A investigação da susceptibilidade foi feita através da leitura das fezes de triatomíneos utilizados no xenodiagnóstico, de portadores ou suspeitos da DC. Realizou-se a técnica de compressão abdominal, seguindo o protocolo da rotina do laboratório. Em triatomíneos utilizados em pacientes com doença de Chagas Aguda, as leituras foram realizadas a partir do 7º e a cada 15 dias até completar 90º dia pós infecção. Nos casos crônicos, foram realizadas a partir do 15º, e a cada 30 dias até 180 dia.

4.5 Análise dos dados

Para avaliação da média de positividade, os dados foram submetidos o teste T exato de Fisher ($p < 0.05$) e intervalo de confiança de 95%, usando o software BioStat.

5. RESULTADO

5.1 Avaliação do fitness das duas espécies por grupo

De acordo com os resultados referentes as taxas de sangue ingerido durante o repasto no período de 30 minutos se observou que *Rh. robustus*, apresentou média de 0.116 ± 0.095 e *T. maculata* 0.101 ± 0.052 ($p > 0.563$).

Quanto a mudança de estágio ninfal todas apresentaram mudança de III estágio para o IV após o xenodiagnóstico e ao final de 180 dias observou-se 100 de mortalidade.

No G1 36/54 (66,7%) ninfas de *Rh. robustus* e 18 (33,3%) de *T. maculata* realizaram a muda após uma única oferta alimentar;

No G2 108/126 (85,71%) ninfas de *Rh. robustus* com media 12.777 ± 0.878 de ingestão de sangue no 12º a 14º dia e 98/126 (77,78%) de *T. maculata* entre os 16º e 21º dias 17.470 ± 1.841 ($p < 0.001$).

5.2 Taxa de infecção das duas espécies após xenodiagnóstico

Na avaliação da susceptibilidade das espécies de triatomíneos do G2 ao *T. cruzi*, detectou-se positividade em 23/126 (18,25%) ninfas de *Rh. robustus* e 29/126 (23,01%) de *T. maculata*.

Observou-se positividade para *T. cruzi* no 7º. dia após o xenodiagnóstico em 33.3% das ninfas de *Rh. robustus* e de 50% *T. maculata*

Espécies	No de ninfas	Positividade para <i>T. cruzi</i>				
		Total	Dia 7	Dia 30	Dia 60	Dia 90
<i>Triatoma maculata</i>	126	29	50%	33%	24%	17%
<i>Rhodnius robustus</i>	126	23	33%	18%	6%	27%

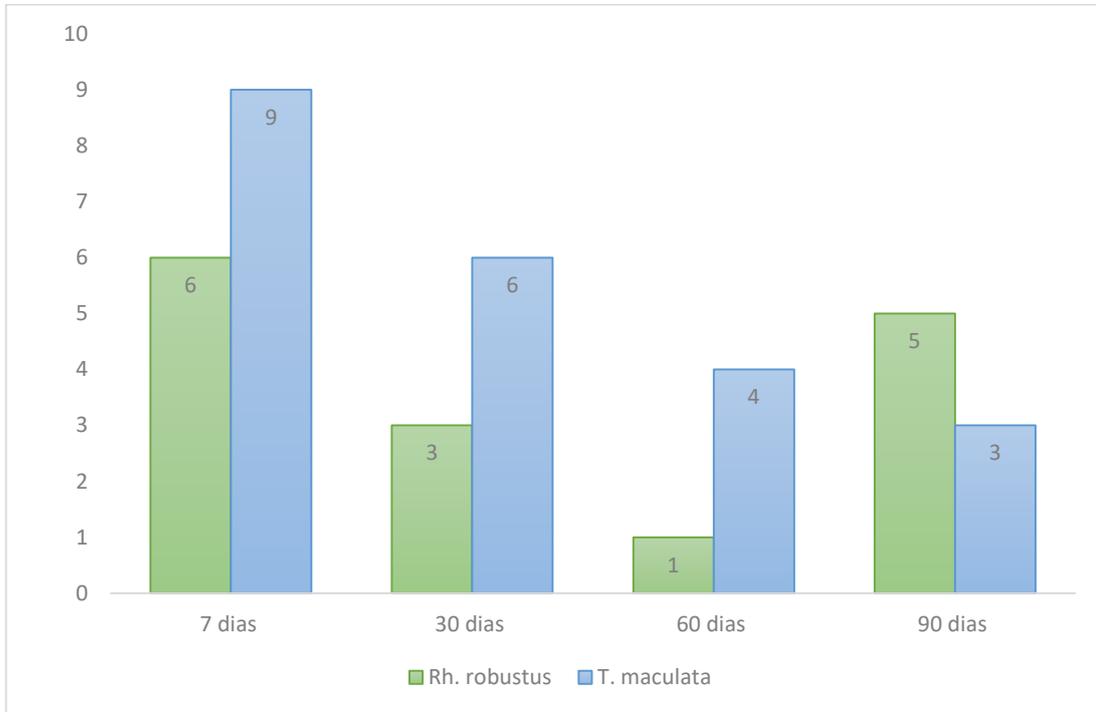


Figura 10 – Avaliação de susceptibilidade das espécies de triatomíneos utilizados no xenodiagnóstico.

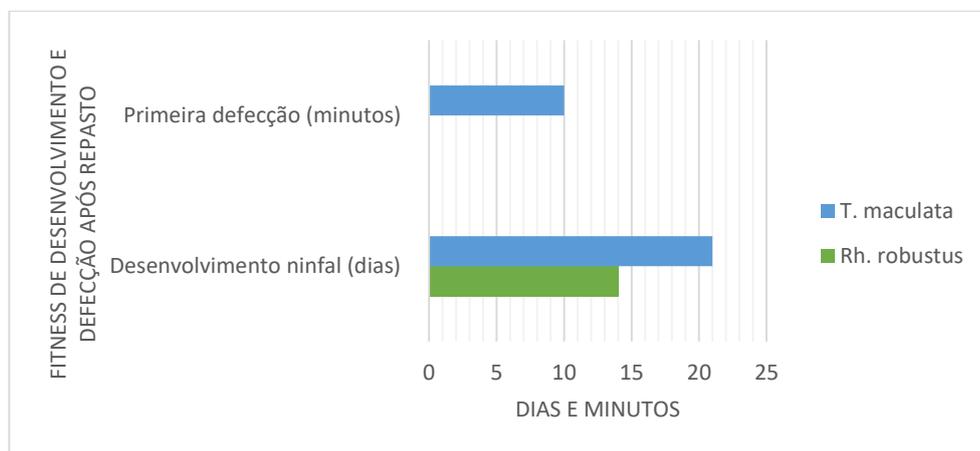


Figura 11 – Lapso entre a primeira defecação e o desenvolvimento ninfal das espécies representados em dias.

Tabela 1 – Avaliação do fitness e taxa de susceptibilidade de *Rh. robustus* e *T. maculata* após xenodiagnóstico.

Dados são descritos como média \pm DP. Em parênteses, as porcentagens do grupo total. *Teste t de Student. **Teste exato de Fisher

6. DISCUSSÃO

Neste estudo, acompanhou-se o desenvolvimento de triatomíneos, insetos hematófagos em suas fases de desenvolvimento após à infecção pelo *T. cruzi* durante o xenodiagnóstico de pacientes com DCA, onde observou-se que a quantidade de sangue ingerido, que normalmente varia de acordo com a espécie, fonte alimentar e também com relação ao seu estágio. Na busca do triatomíneo mais adequado para ser utilizado ao xenodiagnóstico, alguns trabalhos têm sido desenvolvidos, avaliando a susceptibilidade desses vetores ao *T. cruzi* (Martins et al., 2000) e, através das variáveis como estágio ninfal, capacidade de ingerir sangue, condições adequadas para uma boa sobrevivência em colônias artificiais e cepas do *T. cruzi*, demonstram as vezes, resultados contrários da relação biológica dos triatomíneos (Martins et al., 2000).

De modo geral, observou-se que *T. maculata* foi a espécie apresentou maior taxa de infecção ao *T. cruzi* comparado a *Rh. robustus*, com uma pequena diferença no quantitativo de ninfas infectadas, alimentadas posteriormente com sangue de galinhas para continuação do seu ciclo biológico. Marsden et al (1969) relatam que não é determinante somente ingestão do tripanosoma para o triatomíneo desenvolver sua capacidade de infecção, sendo observado que nem todos os triatomíneos se infectaram ao ingerirem sangue de um paciente com elevada parasitemia. Sendo assim, a quantidade de parasitas não seria necessariamente a única causa de infecção do barbeiro.

Triatomíneos do gênero *Rhodnius* contribuem para estudos da interação parasita-hospedeiro e por possuírem uma variedade de hábitos, acaba favorecendo a presença de algumas espécies em ambientes urbanos. A espécie *Rh. robustus* possui registros de invasão domiciliar, ocasionado a partir de seus habitats naturais, principalmente em palmeiras (Gurgel-Gonçalves et al., 2004) e de acordo com Perlowagora-Szumlewicz (1982) espécies silvestres de triatomíneos demonstram ser mais suscetíveis comparadas as espécies domiciliares.

Barreto (1968) afirma que triatomíneos que o gênero *Rhodinus* no seu habitat natural e a disponibilidade de fonte alimentar, pode ser um fator para a relação entre as espécies e a taxa de infecção, pois o parasita *T. cruzi* seria transmitido em gambás e ratos. De forma corroborativa, Ryckaman (1965) ressalta a adaptação biológica e geográfica no ciclo do hospedeiro, parasita e vetor no quanto isso pode interferir na sua susceptibilidade. Reafirma-se então, que é possível relacionar fatores que se relacionem as variações de susceptibilidade, sendo eles: o estágio do triatomíneo e sua espécie, a cepa do trypanosoma e a fonte alimentar (Sherlock et al., 1973).

A positividade das lâminas dos xenodiagnósticos eram variáveis durante a fase de leitura microscópica. Em certos momentos, enquanto *T. maculata* estava negativo, *Rh. robustus* estava positivo, parecer ocorrer diferentes capacidades de infecções entre as espécies. Um fator importante sobre a susceptibilidade dos triatomíneos ao *T. cruzi*, envolve as formas do tripomastigota que apresentam de forma larga, fina e suas diversas cepas, que em estudos de Brener (1971) os triatomíneos infectavam-se melhor com as cepas nas quais predominavam as formas tripomastigotas largas. De acordo com Phillips & Bertram (1967), foram encontradas diferenças significantes entre as susceptibilidades dos estágios dos triatomíneos, que declinava à medida que o inseto se desenvolvia. A hipótese para o fato foi devido a rápida ingestão de sangue vista no último estágio que seria o fator prejudicial para o desenvolvimento do tripanossoma.

O XD tem estimulado investigações com a finalidade de melhorar a sensibilidade deste exame, devido a sua utilização tanto para diagnosticar a tripanossomíase americana, no homem e em outros mamíferos, quanto para demonstrar a parasitemia circulante, na experimentação com drogas tripanossomicidas (Silva e Salha, 1994). Estudos comparativos com emprego de ninfas de espécies diferentes, têm sido realizados, visando encontrar a melhor espécie a ser aplicada ao exame (Moreira e Perlowagora, 1997; Perlowagora et al 1990).

Comparando a taxa de infecção entre as espécies no grupo G2 (com alimentação periódica com sangue de galinha), observou-se variação na taxa de parasitemia das espécies durante o desenvolvimento das ninfas até a fase adulta. A falta de positividade no XD não descarta a existência do *T. cruzi* nos triatomíneos, podendo apresentar falsos-positivos (Santana et al., 2014) e, podendo detectar a presença do parasito na forma mais sensível nas técnicas de biologia molecular. A aplicação da PCR específica, associada ou não à hibridização molecular, permite detectar a presença de infecção por *T. cruzi* diretamente de material clínico (sangue e

tecidos em humanos e outros mamíferos) e em fezes de triatomíneos (Brito et al., 2008) e sua identificação ao nível subgenérico (Pacheco et al, 1996), apresentando vantagens em relação aos métodos parasitológicos convencionais.

Durante as alimentações posteriores ao xenodiagnóstico com galinhas, não foi notado diferença comportamento dos barbeiros infectados quando submetidos a uma fonte de alimentação diferente. Phillips & Bertram (1967) mencionam que os barbeiros, quando expostos a hospedeiros infectados, ingerem quantidade necessárias de tripanosoma para o desenvolvimento do parasita, porém dependeriam da sua susceptibilidade. Contudo, diferenças discretas foram citadas por Phillips & Bertram (1967), ao observarem o comportamento de cepas de *T. cruzi* ao infectarem uma mesma espécie de triatomíneo. Entretanto, notou-se que pequenas diferenças na susceptibilidade entre raças de uma mesma espécie de triatomíneo para uma mesma cepa de tripanossoma.

Esse método, por ser de procedimento biológico complexo, sofrer influência de vários fatores, apresentando uma série de variações conforme o objetivo que se pretende. Em estudo recente, foi feita a descrição dos resultados de 447 exames de xenodiagnóstico realizados em pacientes com diagnóstico para DC, foi possível verificar em 163/447(36%) a positividade de triatomíneos para infecção pelo *T. cruzi* (Tavares, 2017). Observou-se também que nos xenodiagnósticos realizados com duas espécies simultaneamente houve uma variação entre 2% e 1% de infecção por *T. cruzi* respectivamente.

5. CONCLUSÃO

1. *Rh. robustus* foi a espécie que inferiu maior quantidade de sangue, com defecção imediata e apresentou intervalo de mudança de estadios mais acelerado. *T. macula* apresentou emergência ninfal mais tarde e, lapso de defecção mais lento durante o XD e as alimentações em sangue de galinha.
2. Notou-se semelhança entre as taxas de mortalidade nas duas espécies durante a compressão abdominal para montagem das lâminas parasitológicas, uma vez que no decorrer

dos 90 dias de leitura, em apenas uma espécie, após 60 dias, uma forma flagelada foi visualizada nas fezes. A positividade do XD foi através do conteúdo intestinal dos vetores.

3. *T. maculata* apresentou maior susceptibilidade à infecção por *T. cruzi*, manteve sua positividade durante os 90 dias, porém ambas as espécies demonstraram capacidade de infecção, apresentando uma pequena diferença na sua taxa, podendo ser consideradas boas espécies no exame.

4. Ressalta-se a importância de mais estudos para investigação da susceptibilidade, uma vez que somente a ingestão de tripanossoma não é determinada para o triatomíneo desenvolver sua capacidade de infecção.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos envolvendo o fitness e a susceptibilidade de triatomíneos, necessitam de uma colônia bem estabelecida, para que os barbeiros possam ser utilizados em outras abordagens. A importância da manutenção correta, cuidados diários, materiais necessários e investimento são fundamentais para a longevidade do insetário de barbeiros em laboratório. Estudos que ofereçam mais uma oferta alimentar, observação do ciclo biológico do *T. cruzi* são necessários para o entendimento do ciclo desta doença. Neste trabalho, afirma-se que *Rh. robustus* foi a espécie que apresentou melhor consumo de sangue durante o XD e nas alimentações periódicas com aves, teve o ciclo de desenvolvimento mais acelerado, mostrando ser um bom vetor da DC, embora *T. maculata* possa ser a espécie mais tardia, de acordo com nossos resultados, apresentou maior susceptibilidade nas leituras parasitológicas no período de 90 dias.

8. REFERÊNCIAS

- ABAD-FRANCH, F. Field ecology of sylvatic *Rhodnius* populations (Heteroptera, Triatominae): Risk factors for palm tree infestation in western Ecuador. **Trop Med Int Heal.** v. 10(12), p. 1258–66, 2005.
- BARBOSA, M. Chagas disease in the state of Amazonas: History, epidemiological evolution, risks of endemicity and future perspectives. **Rev Soc Bras Med Trop.** v. 48(December 2013), p. 27–33, 2015.
- BENZIGER, C. P., CARMO, G. A. L., & RIBEIRO, A. L. P. (2017). Chagas Cardiomyopathy: Clinical Presentation and Management in the Americas. **Cardiol Clin.** 35(1):31–47.
- BRENER, Z. Life cycle of *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Inst. Med. Trop.**, 13:171-178, 1971.
- BRITO, C. M. M. et al. Genetic polymorphism in *Trypanosoma cruzi* I isolated from Brazilian Northeast triatomines revealed by low-stringency single specific primer–polymerase chain reaction. **Parasitology research**, v. 103, n. 5, p. 1111-1117, 2008.
- CARCAVALLO, R.U.; J. JURBERG; D.S. ROCHA; F. NOIREAU & H. LENT. 2002. *Triatoma vandae* sp.n do complexo *oliverai* encontrado no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** 97(5): 649-654, 2001.
- CONSENSO BRASILEIRO EM DOENÇA DE CHAGAS. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. **Rev Soc Bras Med Trop**; 38 (Supl. III): 1 – 29, 2005.
- COURA, J. Doença de Chagas emergente na Amazônia Brasil. **Trends Parasit**; 18: 171 – 6, 2002.
- COSTA, J. Evidências morfológicas sugerem a hibridização homoplóide como um possível modo de especiação em Triatominae (Hemiptera, Heteroptera, Reduviidae). **Infecção, Genética e Evolução**, v. 9, n. 2, pág. 263-270, 2008
- CHAGAS C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** v. 1, p. 159–218, 1909.
- DIAS JC, SILVEIRA AC, SCHOFIELD CJ. The impact of Chagas disease control in Latin America - a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2002; 97(5): 603-12.
- DIAS, J. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio Janeiro: Guanabara Koogan. 2005
- DIAS, J; NETO, V. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Rev Soc Bras Med Trop**, 44 (3): 375-379, 2011.

FERREIRA, R.T.B Extraction of Trypanosoma cruzi DNA from food: a contribution to the elucidation of acute Chagas disease outbreaks. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v.49, n.2, p.190–195, 2014.

FERREIRA, R; BRANQUINHO, M; LEITE, P. Transmissão oral da doença de Chagas pelo consumo de açaí: um desafio para a Vigilância Sanitária. **Revista em debate em sociedade, ciência e tecnologia**, 2014.

GALVÃO, C. (Ed.). **Vetores da doença de chagas no Brasil**. SciELO-Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014.

GURGEL-GONÇALVES, Rodrigo et al. Distribuição espacial de populações de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) em palmeiras da espécie Mauritia flexuosa no Distrito Federal, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, p. 241-247, 2004

JORGE, TCA., and CASTRO, SL., orgs. Doença de chagas: manual para experimentação animal [online]. Rio de Janeiro: **Editora FIOCRUZ**, 2000. 368 p.

JURBERG, J. **Atlas iconográfico dos triatomíneos do Brasil (vetores da doença de Chagas)**. Rio de Janeiro, 2014.

LORENZO, M; LAZZARI, C. Padrão de atividade em relação à exploração de refúgio e alimentação em Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae). **Acta tropica** , v. 70, n. 2, pág. 163-170, 1998.

LENT, H; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bulletin of the American museum of Natural History**, v. 163, n. 3, p. 123-520, 1979.

MAGALHÃES-SANTOS, I, F. Transmissão oral da Doença de Chagas: breve revisão. **Rev Ciênc Méd Biol** 2014; 13(2): 226-35

MARSDEN, P, D; PRATA, A; SARNO, P; SHERLOCK, I, A. & MOTT, K. Some observations on xenodiagnosis with Rhodnius prolixus and Triatoma infestans in human in feccions with Bahian strains of Trypanosoma cruzi. **Trans. Royal. Soc. Trop. Med. Hyg.** 63: 425-426, 1969.

MARTINS, Luciamáre Perinetti Alves et al. Susceptibilidade de Rhodnius neglectus, Rhodnius robustus e Triatoma infestans (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) à infecção por duas cepas de Trypanosoma cruzi (Kinetoplastidae, Trypanosomatidae) utilizando xenodiagnóstico artificial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, p. 559-563, 2000.

MARTINS-MELO, F. Prevalência da doença de Chagas no Brasil: revisão sistemática e meta-análise. **Acta Tropical** , v. 130, p. 167-174, 2014.

Moncayo A, Silveira AC. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2009; 104(1): 17-30.

MOREIRA, C; PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. Attempts to improve xenodiagnosis: comparative test of sensitivity using *Rhodnius neglectus*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma vitticeps*, *Triatoma infestans* in endemic areas of Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 92 Supl 1:91-6, 1997.

PACHECO, R. S; THOMAZ N; BRANDÃO A, A. et al 1996. Synthetic oligonucleotide that discriminates between the subgenera *Schizotrypanum* and *Megatrypanum*. **Parasite** 3: 297-299.

PÉREZ-MOLINA, J, A; PÉREZ-AYALA, A; MORENO, S; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M, C; ZAMORA, J; LÓPEZ-VELEZ, R. Use of benznidazole to treat chronic Chagas' disease: a systematic review with a meta-analysis. **J Antimicrob Chemother.** 2009 Dec;64(6):1139-47.

PHILLIPS, N, R. & BERTRAM, D. S. Laboratory studies of *Trypanosoma cruzi* infection. IN: *Rhodnius prolixus* larvae and adults. IN: *Triatoma infestans*, *T. protracta* and *T. maculata* adults. **J. Med. Ent.** 4:1967.

RASSI, A, Jr; RASSI, A; MARIN-NETO, J, A. Chagas disease. **Lancet** 2010; 375(9723): 1388-402.

SANTANA, Rosa Amélia Gonçalves et al. *Trypanosoma cruzi* strain TcI is associated with chronic Chagas disease in the Brazilian Amazon. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2014.

SCHILMAN, P. Attributes of oviposition substrates affect fecundity in *Rhodnius prolixus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 42, n. 9, p. 837-841, 1996.

SCHOFIELD, C. *Triatominae: biology & control*. **West Sussex Eurocommunica Publ**, 1994.

SCHOFIELD, Christopher John; DIOTAIUTI, Lileia; DUJARDIN, Jean-Pierre. The process of domestication in *Triatominae*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 375-378, 1999.

SHERLOCK, Ítalo A.; ALMEIDA, Saulo P. Diferença de susceptibilidade à infecção com *T. Cruzi* entre espécies de triatomíneos alimentados em cão, tatu e camundongo infectados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 7, n. 2, p. 87-98, 1973.

SHIKANAI-YASUDA M,A; CARVALHO I, B. Oral transmission of Chagas disease. **Clin Infect Dis** 2012; 54(6): 845-52.

SILVA, I; SALHA, L. Aspectos da suscetibilidade dos triatomíneos ao *Trypanosoma cruzi* na busca de um modelo experimental. 1994.

SILVEIRA, A. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. **Cadernos de saúde Pública**, v. 16, p. S35-S42, 2000.

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ A, MULLER CA. Studies in search a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of hosts with nine triatominae species of animals with acute infections by *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 77:37- 53, 1982.

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, A. Studies in search of a suitable experimental insect model for xenodiagnosis of host with Chagas disease. The reflection of parasite stock in the responsiveness of different vector species to chronic infection with different *Trypanosoma cruzi* stocks. **Rev Saúde Pública**, 24:165-77, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease, Brazil. *Wkly Epidemiol Rec*, 75(19):153-5, 2000.

WORLD HEALTH ORGANISATION. (2020). Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). *Chagas Dis Fact Sheets* [Internet]. [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).

ZINGALES, B. et al. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 7, p. 1051-1054, 2009.