



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BIOTECNOLOGIA

ALINE MARIA VASCONCELOS QUEIROZ

**PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) EM
PEQUENOS MAMÍFEROS SILVESTRES E TRIATOMÍNEOS EM ÁREA DA
CAATINGA NO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ**

MOSSORÓ

2017

ALINE MARIA VASCONCELOS QUEIROZ

**PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) EM
PEQUENOS MAMÍFEROS SILVESTRES E TRIATOMÍNEOS EM ÁREA DE
CAATINGA NO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Carla Diógenes
Suassuna Bezerra - UFERSA

Co-orientadora: Prof^a Dra. Cecília Irene Pérez
Calabuig - UFERSA

MOSSORÓ

2017

©Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

Q3p Queiroz, Aline Maria Vasconcelos.
 Pesquisa de *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) em pequenos mamíferos silvestres e triatomíneos em área de Caatinga no município de Mossoró / Aline Maria Vasconcelos Queiroz. - 2017.
 50 f. : il.

 Orientadora: Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra.
 Coorientadora: Cecília Irene Pérez Calabuig.
 Monografia (graduação) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Curso de Biotecnologia, 2017.

 1. Doença de Chagas. 2. Ambiente Rural. 3. Hospedeiros. 4. Vetor. 5. Tripanosomatídeo. I. Bezerra, Ana Carla Diógenes Suassuna, orient. II. Calabuig, Cecília Irene Pérez, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ALINE MARIA VASCONCELOS QUEIROZ

**PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) EM
PEQUENOS MAMÍFEROS SILVESTRES E TRIATOMÍNEOS EM ÁREA DE
CAATINGA NO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ**

Monografia apresentada a Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Bacharel em
Biotecnologia.

Defendida em: 09/05/2017

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra
Orientadora

Profª. Dra. Cecilia Irene Pérez Calabuig
Examinadora

Prof. Dr. Maurício Sekiguchi de Godoy
Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço por ser tão abençoada e por ter conseguido passar por tanta coisa até aqui. Deus me deu forças quando eu nem imaginava que tinha, eu sobrevivi e isso é só o começo de uma história grandiosa que vem à frente.

Agradeço a cada um da minha família que mesmo com as dificuldades sempre me apoiaram em tudo o que quis fazer. Obrigada por acreditarem em mim, posso não ter a família perfeita, mas eu tenho todo o amor que preciso. Mãe Isabel, a senhora é meu exemplo de força, Pai José o senhor é meu exemplo de sabedoria de vida. Tia Cosma, a senhora é meu exemplo de persistência. Vó Maria, obrigada por entender todas as minhas renúncias em prol de um objetivo maior.

Meu eterno agradecimento a minha Vózinha e meu Tio que já faleceram. Vó Socorro, isso é por você que acreditou tanto em mim e me ajudou com tudo que pôde. Tio Neno, obrigada por desde antes acreditar no meu potencial e no meu sonho de ensino superior público e por me ajudar tanto. Vocês estarão para sempre em meu coração.

Agradeço a minha Orientadora querida Prof.^a Dr.^a Ana Carla Diógenes, muitas vezes mãe e amiga, seus ensinamentos e sua paciência são coisas que levarei sempre comigo. Infinitamente obrigada. A senhora é uma inspiração para mim, faz parte do meu crescimento profissional e pessoal. Obrigada por acreditar e confiar tanto em mim, só tenho pretensões de dar mais orgulho como aluna e pessoa pra senhora.

Agradeço a Banca Examinadora, Prof^a Dra. Cecília Calabuig e Prof. Dr. Mauricio Godoy e por toda a contribuição ao meu trabalho, por toda a paciência para me orientar para sair daqui sabendo do grande potencial que eu tenho.

Um agradecimento infinito para a pesquisadora Dra. Teresa Cristina Gonçalves da Fiocruz/RJ, a senhora é o maior exemplo que eu tenho na área que decidi seguir. Obrigada por tanto ensinamento, pelos papos maravilhosos e conselhos. Obrigada por até hoje ser presente em minha vida. Você é um anjinho que sempre vai estar em minhas orações e pensamentos. Um abraço apertado e obrigada a toda a equipe,

especialmente a Dra. Catarina Macedo Lopes, que junto com a Teresa me fizeram ter dias incríveis e com muito enriquecimento intelectual.

Aos colegas do LIPAM, pela maravilhosa convivência e bons papos. Espero que o futuro de vocês seja brilhante. Todos têm potencial pra isso.

Agradeço aos meus colegas de coleta, Luiz Clemente, Marcelo Jucá e Viviane Morlanes, foi maravilhoso trabalhar com vocês e aprender o que cada um tinha a me ensinar no campo e sobre os pequenos, as brincadeiras e toda a força que tínhamos nas coletas.

Agradeço a Prof^a Dra. Antônio Cláudia Câmara da UFRN que me ajudou nas leituras das lâminas e com muitos ensinamentos.

Agradeço aos meus amigos da vida por sempre estarem comigo, de alguma forma. Agradeço as amizades que ganhei na universidade e em Mossoró, são pessoas como vocês que somam, não vou citar, pois quem somou e soma até hoje sabem o lugar que ocupam em meu coração. Agradeço a cada um que me fez me sentir em casa em Mossoró, quando muitas vezes me senti sozinha.

Agradeço aos meus professores da graduação por compartilharem tantos conhecimentos e experiência nesses anos de graduação.

Agradeço ao meu namorado, Guilherme, por ser uma pessoa tão paciente e que me ajudou tanto nos últimos meses. Espero que você sempre seja acima de tudo o meu eterno amigo.

Agradeço a UFERSA por ser um lugar onde podemos ser um pouco mais ouvidos e compreendidos.

Enfim, obrigada a cada pessoa, perto ou longe, que contribuíram nessa etapa importante na minha vida. Muitas pessoas que nem sabem, mas às vezes uma palavra, um sorriso, um abraço me fez ter mais vontade de continuar isso tudo.

*“...o laboratório representa em
nossa terra uma esperança.
Dele esperamos esclarecidos
os inúmeros problemas de
patologia tropical, que por aí,
prevalecem obscuros,
zombando da sagacidade dos
observadores e cujas
incógnitas estão repletas das
ilações as mais benéficas ao
nosso bem-estar”*

Carlos Chagas

RESUMO

Triatomíneos e pequenos mamíferos silvestres podem albergar o agente etiológico da doença de Chagas *Trypanosoma cruzi*, participando do ciclo de transmissão em uma determinada localidade. A região Nordeste do Brasil apresenta taxas de infecção por *T. cruzi* tanto nos vertebrados quanto nos invertebrados, além da existência de casos humanos com a doença, onde no Rio Grande do Norte existe um inquérito para moradores da zona rural na mesorregião Oeste do estado que estimou a soro prevalência em 14.151 pacientes chagásicos. Estudos com esta abordagem contribuem para o entendimento do quadro epidemiológico. O presente trabalho teve como objetivo investigar a presença de infecção por este parasito em triatomíneos e pequenos mamíferos silvestres, em uma zona rural do município de Mossoró. A pesquisa foi desenvolvida durante o período de 16 meses em um fragmento de Caatinga na Estação Experimental Rafael Fernandes (latitude: 5°03'37"S; longitude: 37°23'50"O; altitude: 72 m), propriedade da Universidade Federal do Semi-Árido. As capturas dos triatomíneos foram por busca ativa e passiva no intra, peridomicílio e ambiente silvestre e os pequenos mamíferos foram capturados por meio de armadilhas no ambiente silvestre. A pesquisa para a presença de *T. cruzi* nos triatomíneos foi realizada pelo exame das fezes entre lâmina e lamínula. Nos pequenos mamíferos pela coleta de sangue e leitura de esfregaço e gota espessa. Foram capturados nove triatomíneos no ambiente silvestre e intradomicílio. Sendo identificadas as espécies *Triatoma pseudomaculata* (33,3%) e *Rhodnius nasutus* (66,6%). Foram capturados 30 pequenos mamíferos silvestres pertencentes aos gêneros *Didelphis* (3,3%), *Gracilinanus* (46,6%), *Monodelphis* (13,3%), *Rattus* (23,3%), *Thrichomys* (3,3%) e *Wiedomys* (10%). Os invertebrados e vertebrados tiveram resultados negativos para a presença tripanosomatídeos. A presença de hospedeiros vertebrados e invertebrados evidencia o potencial para existência do ciclo silvestre e o achado de formas adultas de triatomíneos no município evidencia o potencial de invasão e possível domiciliação dessas espécies, alertando para o risco do ciclo e a necessidade de medidas de vigilância na região.

Palavras-chave: Doença de Chagas, Ambiente Rural, Hospedeiros, Vetor, Tripanosomatídeo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Carlos Chagas, médico que descobriu a doença de Chagas.....	15
Figura 2 - Inquérito de soro prevalência em doença de Chagas dos moradores da zona rural no Oeste Potiguar, no estado do Rio Grande do Norte.....	18
Figura 3 - Ciclo biológico do protozoário <i>Trypanosoma cruzi</i> demonstrando seu parasitismo nos hospedeiros e no vetor.....	19
Figura 4 - <i>Triatoma infestans</i> (Klug, 1834) e sua distribuição no Brasil.....	21
Figura 5 - <i>Triatoma rubrofasciata</i> (De Geer, 1773) e sua distribuição no Brasil.....	22
Figura 6 - <i>Triatoma pseudomaculata</i> (Corrêa & Espínola, 1964) e sua distribuição no Brasil.....	22
Figura 7 - <i>Panstrongylus megistus</i> (Burmeister, 1835) e sua distribuição no Brasil.....	24
Figura 8 - <i>Triatoma brasiliensis</i> (Neiva, 1911) e sua distribuição no Brasil.....	24
Figura 9 - <i>Triatoma sordida</i> (Stål, 1859) e sua distribuição no Brasil.....	25
Figura 10 - <i>Rhodnius nasutus</i> (Stål, 1859) e sua distribuição no Brasil.....	25
Figura 11 - <i>Panstrongylus lutzi</i> (Neiva & Pinto, 1923) e sua distribuição no Brasil.....	25
Figura 12 - Imagem via satélite da Estação Experimental Rafael Fernandes, utilizada para pesquisa de <i>Trypanosoma cruzi</i> em vetores e hospedeiros silvestres.....	29
Figura 13 – Mapa da disposição dos 100 pontos para instalação de armadilhas para captura dos pequenos mamíferos.....	30
Figura 14 - Coleta do sangue por punção na veia caudal ventral.....	31
Figura 15 - Busca ativa dos triatomíneos.....	32
Figura 16 - Busca passiva dos triatomíneos.....	34
Figura 17 - Identificação das espécies dos triatomíneos com uso da classificação de Lent & Wigodzinski (1979) em um estereomicroscópio.....	34
Figura 18 - Processo de compressão do abdômen para exame a fresco das fezes dos triatomíneos.....	35
Figura 19 - Mamíferos capturados para análise de <i>T. cruzi</i> : <i>Didelphis</i> (A), <i>Gracilinanus</i> (B), <i>Monodelphis</i> (C), <i>Wiedomys</i> (D).....	36
Figura 20 - Sete dos nove triatomíneos que foram capturados (Quatro <i>Rhodnius nasutus</i> e Três <i>Triatoma pseudomaculata</i>).....	38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Número de pequenos mamíferos capturados em relação à precipitação mensal.....	37
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais espécies de triatomíneos registradas no Brasil, de acordo com o ambiente.....	22
Tabela 2 - Pequenos mamíferos capturados no fragmento de Caatinga na Estação Experimental Rafael Fernandes, Alagoinha, Mossoró.....	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	15
2.1	DOENÇA DE CHAGAS.....	15
2.1.1	Fatos históricos.....	15
2.1.2	Descrição da Patologia, Distribuição geográfica e Epidemiologia.....	16
2.2	<i>Trypanosoma cruzi</i>	19
2.3	VETORES DA DOENÇA DE CHAGAS.....	20
2.4	PRINCIPAIS HOSPEDEIROS E IMPORTÂNCIA COMO RESERVATÓRIOS..	26
2.4.1	Domésticos.....	26
2.4.2	Silvestres.....	27
3	OBJETIVOS.....	28
3.1	OBJETIVO GERAL.....	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	AUTORIZAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL.....	29
4.2	ÁREA DE ESTUDO.....	29
4.3	CAPTURA DOS PEQUENOS MAMÍFEROS.....	30
4.3.1	Coleta de sangue.....	31
4.3.2	Análise da presença de infecção por <i>T. cruzi</i>	31
4.4	COLETA DOS TRIATOMÍNEOS.....	32
4.4.1	Busca ativa.....	32
4.4.2	Busca passiva.....	33
4.4.3	Identificação dos vetores coletados.....	34
4.4.4	Análise da presença de infecção por <i>T. cruzi</i>	35
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1	PEQUENOS MAMÍFEROS SILVESTRES.....	36
5.2	TRIAATOMÍNEOS.....	38
6	CONCLUSÕES.....	41
	REFERÊNCIAS.....	42

1 INTRODUÇÃO

Doença de Chagas é uma tripanossomíase mundialmente conhecida que atinge seres humanos e outras espécies animais, como os mamíferos silvestres, considerados reservatórios do parasito *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) (BEZERRA, 2013). Foi descoberta em 1909 pelo médico e cientista brasileiro Carlos Chagas e considerada importante problema médico e social nos países afetados, especialmente os em desenvolvimento (DIAS, 1994). Acomete principalmente hospedeiros da área rural devido à prevalência do vetor ser facilitada pelas condições ambientais (MACHINER, 2012). Aproximadamente 100 espécies de mamíferos participam do ciclo de transmissão do *T. cruzi* (REZENDE, 1994), com destaque para os inseridos nos ecossistemas naturais (MARTINS; OLIVEIRA, 1998) considerados transmissores de patologias aos seres humanos (KATZ et al., 2001).

Dos mamíferos silvestres mais susceptíveis podem-se destacar: os marsupiais do gênero *Didelphis* sp. Linnaeus, 1758 (Didelphimorphia: Didelphidae) e *Monodelphis* sp. Burnett, 1830 (Didelphimorphia: Didelphidae) (RIBEIRO; BARRETO, 1972) além de roedores dos gêneros *Rattus* sp. Fischer de Waldheim, 1803 (Rodentia: Muridae) e *Thrichomys* sp. Trouessart, 1880 (Rodentia: Echimyidae) que exercem papel comprovado como reservatórios do protozoário (SCHMIDT; OSTFELD, 2001). Nesse contexto, entre os protozoários de doenças mundialmente conhecidas, *T. cruzi* se destaca: pela facilidade adaptativa, por apresentar diferentes graus de virulência para animais, pelas variações na sensibilidade às drogas (BRENER et al., 2000), e por ser transmitido por vetores conhecidos popularmente por barbeiros.

Os triatomíneos, vetores da doença, apresentam cinco estádios ninfais no seu desenvolvimento até chegar à fase adulta, em que as ninfas só precisam de uma única alimentação para mudar de fase dentro do ciclo do primeiro ao terceiro estágio, enquanto do quarto em diante é necessário maior número de repastos (TEIXEIRA, 2007). Ao se alimentarem as espécies defecam, o que facilita a transmissão do parasito para o interior do hospedeiro (GREEN, 2006).

No estado do Rio Grande do Norte, os principais vetores capturados foram das espécies *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), *T. pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), *Panstrongylus lutzi* Neiva & Pinto, 1923 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), *P. megistus*

Burmeister, 1835 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) e *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) (FONSECA et al., 2010). O bioma Caatinga tem como principais vetores de transmissão *T. brasiliensis* que habita naturalmente o ambiente silvestre, em acúmulos de pedras e tocas de roedores, *T. pseudomaculata* habita cascas e ocos de árvores, enquanto *R. nasutus* está associado às palmeiras de carnaúba e aos ninhos de aves (TEIXEIRA, 2007).

A pesquisa do vetor em ambiente rural e o monitoramento dos pequenos mamíferos silvestres podem auxiliar no conhecimento da transmissão entre os animais da região e apresentam-se como uma medida importante de saúde pública que podem vir a evitar o aparecimento de casos da doença em humanos (CORTEZ et al., 2007). Nesse contexto, considerando a ausência de pesquisas relacionadas na região do estudo e a participação dos hospedeiros silvestres no ciclo do agente etiológico da doença de Chagas no bioma Caatinga do estado do Rio Grande do Norte, esse estudo se propõe a realizar diagnósticos parasitológicos para detecção de infecção por *T. cruzi* em pequenos mamíferos silvestres e triatomíneos, em uma área de Caatinga do município de Mossoró.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

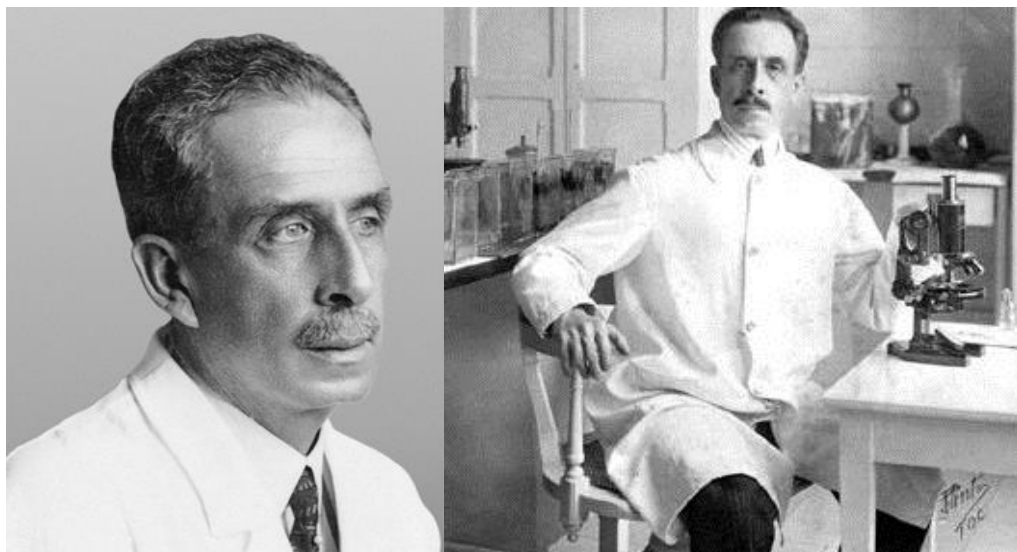
2.1 DOENÇA DE CHAGAS

2.1.1 Fatos históricos

A doença de Chagas existe há milhões de anos como uma enzootia em animais silvestres, que passou a se transmitir ao homem acidentalmente quando este invadiu os ecótopos silvestres (COURA, 2008). No ano de 1909, Carlos Chagas (Figura 1) fez um marco na história da medicina, colocando a doença em um dos achados mais importante na relação de patologias que acometem homens e animais, descobrindo também o agente etiológico, o vetor, os reservatórios (domésticos e silvestres) suscetíveis à infecção (BRASIL, 2008).

Chagas, ao examinar o tubo digestivo do inseto vetor da doença, constatou a existência de um parasito, o qual nomeou *Trypanosoma cruzi* para homenagear Oswaldo Cruz (NEVES, 2005). O primeiro relato da doença em humanos foi de uma criança de dois anos que apresentava sintomas como febre alta e edema no rosto (WENDEL; BRENER, 1992), assim a doença de Chagas passou a ser considerada uma patologia infecciosa emergente (WOLFE et al., 2007).

Figura 1 - Carlos Chagas, médico que descobriu a doença de Chagas.



Fonte: Scielo, 2002.

2.1.2 Descrição da Patologia, Distribuição geográfica e Epidemiologia

A tripanossomíase americana é considerada uma antroponose, podendo acometer o homem a partir de um reservatório geralmente rural. No entanto, mudanças nas áreas silvestres, migrações para as cidades, o aumento da pobreza no meio urbano, transformaram a doença em fenômeno igualmente urbano (BRICEÑO-LEON; MÉNDEZ-GALVÁN, 2007). Aproximação e colonização dos vetores nas habitações humanas rurais fizeram com que houvesse a utilização dos mamíferos que ali residem, incluindo o homem, como fonte de alimentação do vetor e como consequência sendo incorporados ao ciclo da enfermidade (BEZERRA, 2013).

A transmissão natural é relatada por Machiner (2012) quando ocorre a contaminação da pele ou mucosas pelas fezes dos vetores com formas infectantes de *T. cruzi* (CHAGAS, 1909). Porém, a patologia foi descrita com outras formas de transmissão como: via transfusional, congênita, oral, em transplante de órgãos e de forma acidental, mais frequente na manipulação de material contaminado em laboratório (BRASIL, 2005). É uma doença caracterizada por um quadro clínico agudo sintomático ou assintomático que tende a evoluir para cronicidade, fase pela qual indivíduos infectados podem continuar a apresentar a forma assintomática ou desenvolver sintomas, caracterizando as formas cardíacas (FERREIRA et al., 1997).

Há descrições que evidenciam a tripanossomíase como patologia antiga, em que se relatam lesões intestinais e cardíacas compatíveis com as da doença de Chagas em corpos mumificados (ROTHHAMMER et al., 1985). Além disso, estudos histopatológicos em múmias incas peruanas mostraram ninhos de formas de amastigotas de *T. cruzi* em fibras cardíacas (FORNACIARI et al., 1992), confirmando a teoria de que a infecção humana começou há cerca de 6.000 anos atrás (FERREIRA et al., 2011).

No Brasil, acredita-se que a doença foi introduzida no período colonial simultaneamente com a chegada do *Triatoma infestans* Klug, 1834 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), que se adaptou às habitações feitas de barro e pique (DIAS et al., 2000). Porém, dados obtidos com ferramentas moleculares (AUFDERHEIDE et al., 2004; LIMA et al., 2008) mostraram que tanto no Brasil como em outras partes do continente Americano a entrada de humanos no ciclo de transmissão zoonótica do *T. cruzi* provavelmente começou logo que chegou ao continente americano (ARAÚJO et al., 2009).

Apesar de ser endêmica na América Latina, tem superado as fronteiras, podendo ser encontrada nos Estados Unidos, Canadá, Europa, Japão e Austrália (SCHMUNIS; YADON,

2010), tornando-se gradativamente um problema de saúde global devido à migração de indivíduos da América Latina para os países desenvolvidos. A doença de Chagas nas Américas pode ser separada em quatro grupos de acordo com os ciclos (silvestre, peridoméstico e doméstico), a situação da infecção humana e a doença (COURA et al., 2009).

O grupo I – inclui Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Equador, Paraguai, Peru e Venezuela – é caracterizado por ciclos silvestres, peridomiciliares e domiciliares com zonas de alta prevalência da infecção, sendo o ciclo silvestre frequentemente encontrado em vários ambientes tanto neste grupo como em outros grupos de países, incluindo *T. infestans*, na Bolívia e no Peru. Uruguai, Chile e Brasil receberam o certificado pela OPAS (Organização Panamericana de Saúde) do controle sobre a transmissão da infecção pelo *T. infestans*. Mas, no Brasil, ainda há dois focos isolados dessa espécie, no Rio Grande do Sul e na Bahia. Argentina e Paraguai ainda estão trabalhando para atingir o objetivo de controle total, mas até agora não foram capazes de eliminar *T. infestans* como principal vetor na região do Gran Chaco (GORLA et al., 2013).

Grupo II – inclui Colômbia, Costa Rica e México – tem ciclos peridomiciliares e domiciliares, com a presença da cardiopatia chagásica crônica, ocorrência de doadores de sangue infectados por *T. cruzi* e um controle iniciante dos vetores, naturalmente de ciclos silvestres (COURA et al., 2014).

Grupo III – inclui El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua e Panamá – tem ciclos silvestres, peridomiciliares e domiciliares, com informação muito limitada sobre as formas clínicas da doença. Com ações de controle do vetor em andamento em El Salvador, Guatemala, Honduras e Nicarágua (HASHIMOTO; SCHOFIELD, 2012).

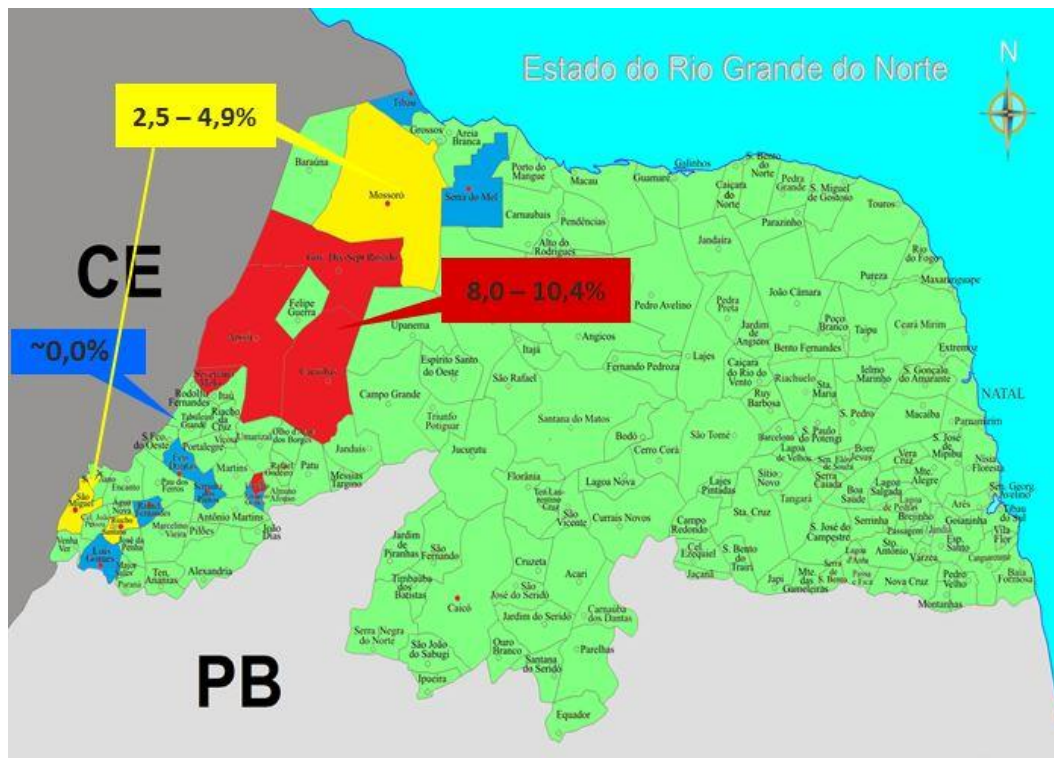
Grupo IV – inclui as Antilhas, Bahamas, Belize, Cuba, Estados Unidos da América, Guiana, Guiana Francesa, Haiti, Jamaica e Suriname – tem o ciclo silvestre predominante, com vários casos entre os imigrantes de países endêmicos que vivem nos Estados Unidos da América (SCHMUNIS, 2007; COURA; ALBAJAR-VIÑAS, 2010), o controle sobre os doadores de sangue está no início e sendo ampliado. Há relatos também de casos por transfusão sanguínea (ZELEDÓN et al., 2012).

Na região Nordeste do Brasil, o inquérito nacional apresentou a prevalência geral de 3,05% da infecção chagásica na população geral rural. Apesar da redução de populações triatomínicas domiciliadas nessa região e, conseqüente queda dos níveis de transmissão, esta é a localidade que mais deve se preocupar devido às espécies nativas *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* serem remanescentes e apresentarem potencial invasivo e de difícil controle (DIAS et al., 2000). Em 1996, o Programa de Controle da Doença de Chagas da Fundação

Nacional de Saúde apreendeu 290.576 exemplares de triatomíneos em todo o Brasil, sendo 69,2% destes capturados no Nordeste, tornando esta a região de maior incidência de espécies triatomínicas do país (DIAS et al., 2000).

Em relação ao Rio Grande do Norte, a doença é endêmica em cerca de 115 municípios dos quais 12 passaram à fase de vigilância epidemiológica em 1995 (FUNASA, 1995). Foi observado que, no período entre 1993-1996, não houve mudança em relação ao número de triatomíneos capturados nas unidades domiciliares, permanecendo a prevalência das espécies *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* (SILVEIRA; VINHAES, 1998). Os principais vetores capturados nos anos de 2005 a 2006 foram *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *P. lutzi*, *P. megistus* e *R. nasutus* (FONSECA et al., 2010). Existe um quarto inquérito, sendo esse restrito para moradores da zona rural na mesorregião Oeste do Rio Grande do Norte (Figura 2) que estimou a soro prevalência em 14.151 pacientes chagásicos, onde os municípios na cor vermelha têm entre 8,0 – 10,4% de infecção por *T. cruzi*, seguida da cor amarela que indica os municípios que tem entre 2,5 – 4,9%, onde está incluído o município de Mossoró e os municípios em azul apresentam aproximadamente 0% (BRITO et al., 2012).

Figura 2 - Inquérito de soro prevalência em doença de Chagas dos moradores da zona rural no Oeste Potiguar, no estado do Rio Grande do Norte.



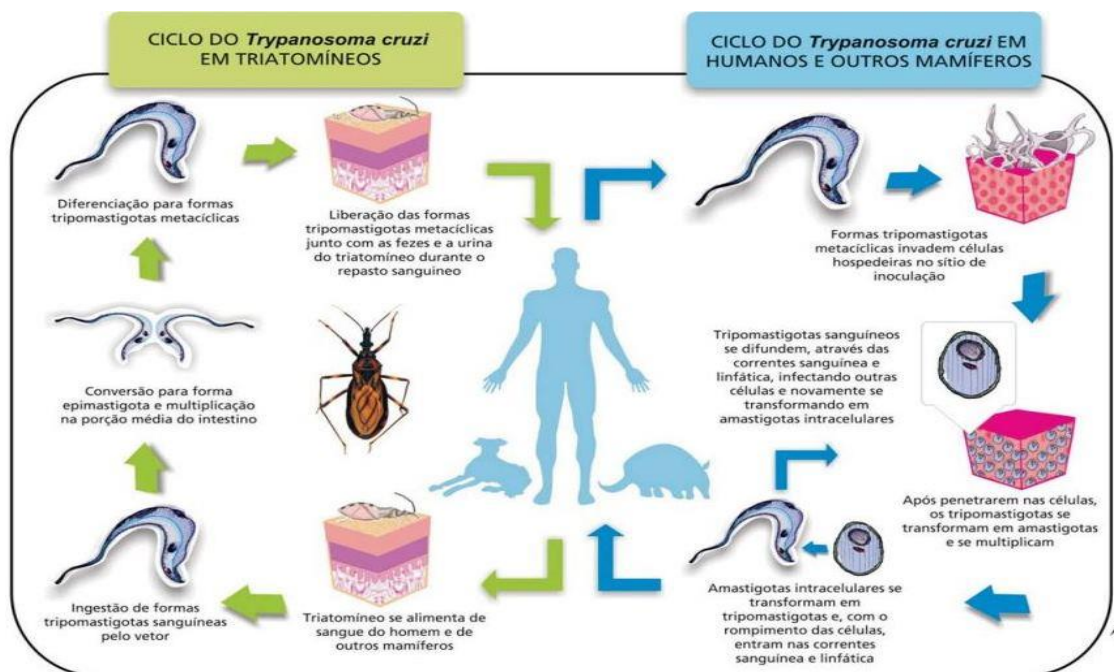
Fonte: Brito et al., 2012.

2.2 *Trypanosoma cruzi*

A doença de Chagas é uma infecção de evolução essencialmente crônica causada pelo protozoário hemoflagelado, denominado *Trypanosoma cruzi*, que é transmitido naturalmente ao homem e a outros animais pelo seu vetor, o triatomíneo (CHAGAS, 1909). Esse protozoário, pertencente à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae, infecta em condições naturais mais de 100 espécies de mamíferos (DEVERA et al., 2003).

T. cruzi tem uma grande variabilidade intraespecífica verificada pela morfobiologia, o que possibilitou uma ampla distribuição geográfica na América Continental e em diversidade de hospedeiros (DEANE, 1961; SHERLOCK et al., 1997). O ciclo (Figura 3) possui duas fases, uma no tubo digestivo do vetor e a outra no seu hospedeiro vertebrado. Sua replicação acontece por divisão binária, na qual as formas epimastigotas estão presentes no tubo digestivo do vetor e as formas amastigotas no interior das células de mamíferos (BEZERRA, 2013). As formas não replicativas e infectantes, os tripomastigotas metacíclicos, são encontradas nas fezes e urina do vetor e os tripomastigotas circulantes no sangue de mamíferos (DIAS et al., 2000). A fase inicial da infecção permanece por 4 a 8 semanas e a fase crônica persiste por toda a vida (DIAS, 1984; WHO, 2002).

Figura 3 - Ciclo biológico do protozoário *Trypanosoma cruzi* demonstrando seu parasitismo nos hospedeiros e no vetor.



Fonte: Ribeiro, ICICT/Fiocruz, 2008.

Os tecidos mais infectados vão variar de acordo com o animal que sofreu a infecção, podendo ser rápida ou apenas ser detectada muito tempo depois (TANOWITZ et al., 1992; REY, 2008; COURA, 2008), com afinidade pelo miocárdio, levando a lesão em todos os tecidos constitutivos do coração (VIANNA, 1991). Em roedores infectados em laboratório, a fase aguda é fulminante e resulta em morte da maioria dos indivíduos, mas animais de vida livre, cuja infecção é natural, apresentam sintomatologia branda, apesar da elevada carga parasitária (COELHO, 2013).

O *T. cruzi* pode ser associado aos ciclos silvestres e domésticos da transmissão, sendo encontrado ao longo da distribuição dos barbeiros, com registros em 52 gêneros de mamíferos encontrados naturalmente infectados e onde as ordens mais destacadas na literatura são Marsupialia e Rodentia (BEZERRA, 2013). Dentre os protozoários, destaca-se o seu sucesso adaptativo por apresentar diferentes graus de virulência para animais e humanos, variações na sensibilidade às drogas, possuindo mais de 100 espécies de mamíferos como hospedeiros (BRENER, 2000).

2.3 VETORES DA DOENÇA DE CHAGAS

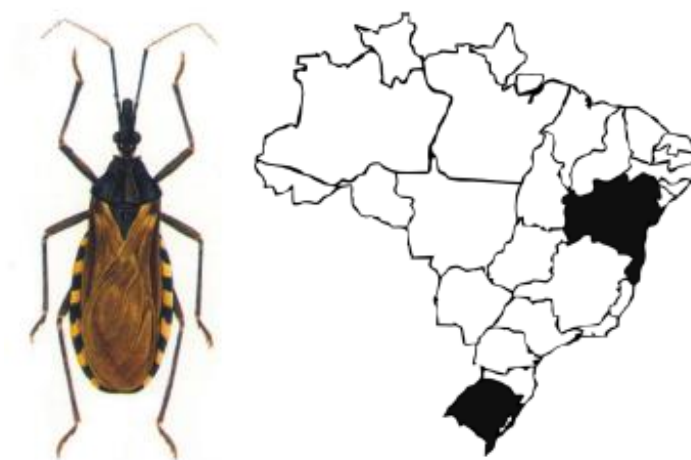
A Caatinga é um dos maiores biomas, ocupando 11% do território brasileiro, sendo o Nordeste a região que abriga a maior parte da sua extensão, tornando-se uma das localidades que mais preocupa em relação ao risco de transmissão da doença de Chagas, em razão do alto índice de habitações favoráveis para a colonização dos triatomíneos, devido ao subdesenvolvimento regional; tendo responsabilidade pela dispersão desses vetores (DIAS et al., 2000). A doença de Chagas tem uma ampla distribuição geográfica devido a seus vetores, encontrados desde os Estados Unidos até o sul da Argentina (LENT; WYGODZINSKY, 1979).

Triatoma sp. é o principal vetor da tripanossomíase americana, inseto pertencente ao reino Animalia, filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Hemiptera, família Reduviidae, subfamília Triatominae. Possui hábito noturno e hematófago, no período diurno permanece escondido em cascas de árvores, ninhos de aves, puleiros de galinha, tocas de morcegos e roedores, entre rochas e debaixo de pedras; confirmando a existência de espécies silvestres, domiciliares e peridomiciliares. *Triatoma* sp., *Panstrongylus* sp. e *Rhodnius* sp., são os três gêneros da subfamília Triatominae, os quais todos servem como vetor para *T. cruzi* (GREEN, 2006; TEIXEIRA, 2007; TAVARES; MARINHO, 2007).

A forma e o número de segmentos do rostró é uma característica utilizada para distinguir os barbeiros de outros percevejos. Por serem hematófagos, os barbeiros possuem rostró reto com três segmentos, já os percevejos predadores também possuem rostró com três segmentos, mas curvo e os fitófagos tem quatro segmentos (JURBERG et al., 2014).

Frei Reginaldo de Lizarraga foi o primeiro a descrever os aspectos e hábitos dos triatomíneos, provavelmente *T. infestans* (Figura 4) em 1590, quando inspecionava conventos do Peru ao Chile (VELAZCO; RIVAS, 2008). O primeiro triatomíneo foi formalmente descrito em 1773 por De Geer como *Cimex rubrofasciatus*, 60 anos mais tarde esta espécie foi classificada como do gênero *Triatoma* por Laporte (1832-1833). Depois, duas espécies foram classificadas como *Reduvius dimidiatus* e *R. geniculatus*, ambas do Equador (LATREILLE, 1811). KLUG (1834) descreveu *T. infestans* no sudeste da América do Sul. Entretanto, Burmeister (1835) foi o primeiro entomologista a chamar atenção para o hábito hematofágico do vetor.

Figura 4 - *Triatoma infestans* (Klug, 1834) e sua distribuição no Brasil.

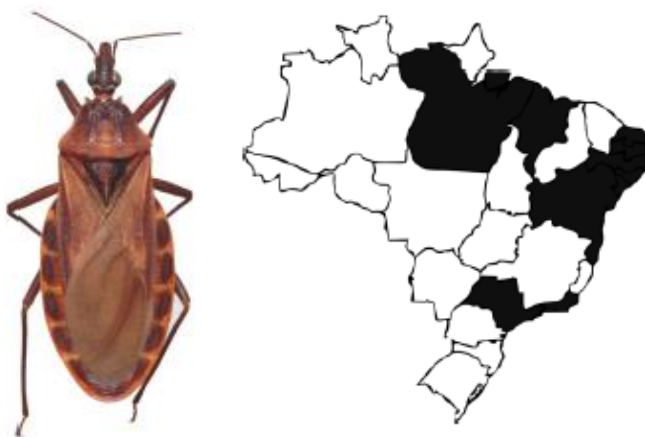


Fonte: Jurberg et al., 2014.

Das espécies no Brasil, 48% estão na região Nordeste, com exceção de *T. rubrofasciata* De Geer, 1773 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) (Figura 5), todos os vetores estão presentes no peridomicílio e/ou ambiente silvestre. O bioma Caatinga é o terceiro em diversidade triatomínica, com 24% das espécies, sendo *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* (Figura 6) considerados os vetores mais importantes do parasito *T. cruzi* (GURGEL-GOLÇALVES et al., 2012a). Seis tribos e 138 espécies de triatomíneos já foram catalogadas (GALVÃO et al., 2003; FORERO et al., 2004; POINAR, 2005; GALVÃO;

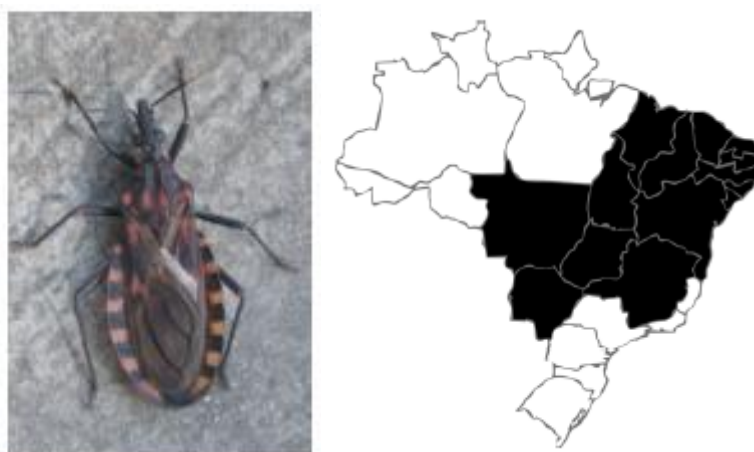
ANGULO, 2006; COSTA et al., 2006; COSTA; FELIX, 2007), a maioria destas espécies ocorre nas Américas, onde 65 espécies (Tabela 1) de triatomíneos estão registradas no Brasil (JURBERG et al., 2014).

Figura 5 - *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) e sua distribuição no Brasil.



Fonte: Jurberg et al., 2014.

Figura 6 - *Triatoma pseudomaculata* (Corrêa & Espínola, 1964) e sua distribuição no Brasil.



Fonte: Jurberg et al., 2014.

Tabela 1 – Principais espécies de triatomíneos registradas no Brasil, de acordo com o ambiente.

Ambiente	Espécies registradas
Silvestre	<i>Rhodnius brethesi</i> ; <i>Rhodnius domesticus</i> ; <i>Rhodnius milesi</i> ;

	<i>Rhodnius montenegrensis; Rhodnius paraensis; Rhodnius stali; Triatoma arthurneivai; Triatoma baratai; Triatoma oliveirai; Triatoma sherlocki; Triatoma tibiamaculata.</i>
Silvestre e domiciliar	<i>Rhodnius pictipes; Triatoma jatai; Triatoma melanica; Triatoma rubrofasciata.</i>
Domiciliar	<i>Triatoma deaneorum; Triatoma guazu; Triatoma infestans; Triatoma vandae; Triatoma williami.</i>
Silvestre e peridomiciliar	<i>Triatoma costalimai; Triatoma platensis.</i>
Peridomiciliar	<i>Triatoma jurbergi; Triatoma klugi; Triatoma pintodiasi;</i>
Silvestre, domiciliar e peridomiciliar	<i>Panstrongylus diasi; Panstrongylus geniculatus; Panstrongylus lignarius; Panstrongylus lutzi; Panstrongylus megistus; Rhodnius nasutus; Rhodnius neglectus; Triatoma brasiliensis; Triatoma delpontei; Triatoma juazeirensis; Triatoma lenti; Triatoma maculata; Triatoma petrochiae; Triatoma pseudomaculata; Triatoma rubrovaria; Triatoma sordida; Triatoma vitticeps.</i>
Desconhecido	<i>Belminus laportei; Rhodnius amazonicus; Rhodnius robustus; Rhodnius zeledoni; Triatoma matogrossensis; Triatoma wygodzinskyi.</i>

Fonte: Jurberg et al., 2014.

No Brasil, as espécies com maior importância são: *T. infestans*, *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *T. sordida* e *P. megistus* (Figura 7). A espécie *T. infestans* tem seus picos de atividade no início do dia e no início da noite (TAVARES; MARINHO, 2007). Já a espécie *T. brasiliensis* apresenta seu pico de atividade no final do dia, prefere temperaturas mais

elevadas e seu período infestante é na época de chuva e para o *P. megistus*, o período infestante é também nos meses de chuva (TEIXEIRA, 2007).

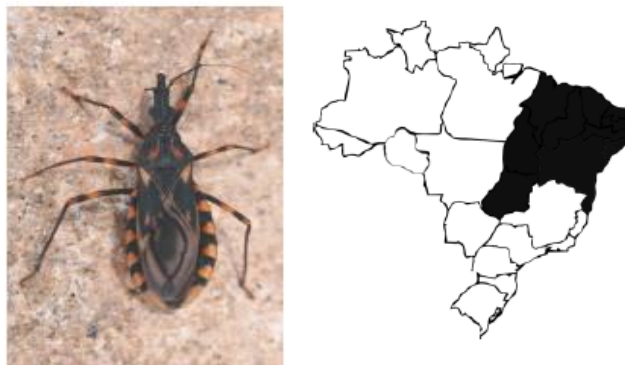
Figura 7 - *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) e sua distribuição no Brasil.



Fonte: Jurberg et al., 2014.

Na Caatinga, o principal representante é o *T. brasiliensis* (Figura 8) ocupando o ambiente silvestre, principalmente sobre acúmulos de pedras e tocas de roedores. Esta espécie triatomínea é ativa durante o dia e mesmo após pulverizações de inseticidas piretroide consegue reestabelecer colônias tão grandes quanto as que ali estavam antes da medida de controle em um intervalo de doze meses. Há ainda *T. pseudomaculata* e *T. sordida* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) (Figura 9) no Nordeste, ambos vivendo em cascas e ocos de árvores. Estas espécies se mantêm no ambiente silvestre e peridomiciliar, têm como sua principal fonte de disseminação o transporte de lenha. *R. nasutus* (Figura 10) está associado às palmeiras de carnaúba e aos ninhos de aves. *P. lutzi* (Figura 11) é encontrado apenas no Nordeste (TEIXEIRA, 2007).

Figura 8 - *Triatoma brasiliensis* (Neiva, 1911) e sua distribuição no Brasil.



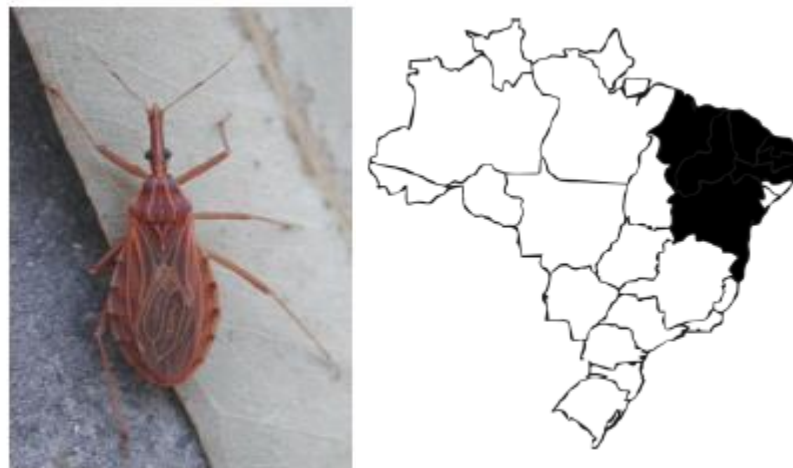
Fonte: Jurberg et al ., 2014.

Figura 9 - *Triatoma sordida* (Stål, 1859) e sua distribuição no Brasil.



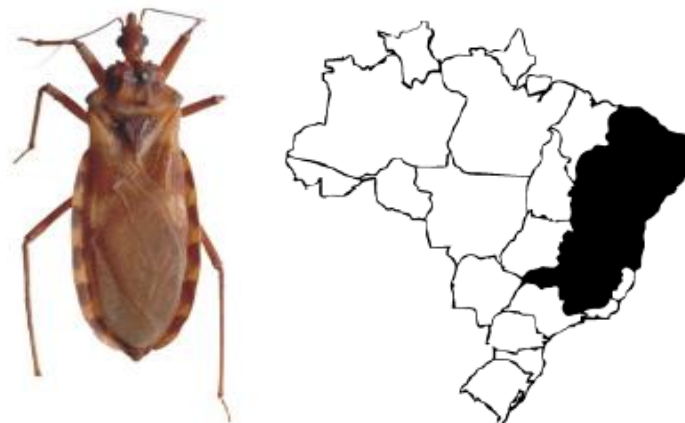
Fonte: Jurberg et al., 2014.

Figura 10 - *Rhodnius nasutus* (Stål, 1859) e sua distribuição no Brasil.



Fonte: Jurberg et al., 2014.

Figura 11 - *Panstrongylus lutzi* (Neiva & Pinto, 1923) e sua distribuição no Brasil.



Fonte: Jurberg et al., 2014.

Em seu desenvolvimento, os triatomíneos passam por cinco estádios de ninfa para atingir a fase adulta, sendo as ninfas também hematófagas. Basta uma única alimentação para as ninfas passarem do primeiro ao terceiro estágio, já do quarto em diante é necessária alimentação mais frequente (TEIXEIRA, 2007).

A entrada do *T. cruzi* se dá pelo contato das fezes do barbeiro com uma abertura na pele do hospedeiro (TAVARES; MARINHO, 2007), causada pela picada do inseto que defeca enquanto se alimenta, o que facilita essa forma de transmissão (GREEN, 2006).

2.4 PRINCIPAIS HOSPEDEIROS E IMPORTÂNCIA COMO RESERVATÓRIOS

2.4.1 Domésticos

O parasita existe na natureza em diferentes populações de hospedeiros, fato de grande importância no conhecimento da epidemiologia da doença. Neste domínio, a espécie de maior importância é a *Homo sapiens* (homem), tendo em vista sua expectativa média de vida – cerca de 60 a 70 anos – e pela manutenção da parasitemia, ainda que baixa, por longos períodos (DIAS, 1993; SIQUEIRA et al., 2011). Outros animais também atuam como reservatórios domésticos e peridomésticos, tais como o cão (*Canis familiaris*), o gato (*Felis cattus*), a cabra (*Capra hyrcus*), a ovelha (*Ovis aries*), o coelho (*Oryctolagus cuniculus*), o porquinho da índia (*Cavia porcellu*) e o rato (*Rattus norvegicus*) (FERNANDES et al., 1994; WHO, 2002). Já as aves são refratárias à infecção, sendo apenas reservatórios e fontes de disseminação da infecção (LANA; TAFURI, 2000).

2.4.2 Silvestres

No Brasil, conta-se com 701 em registros de espécies de mamíferos (PLAGIA et al., 2012) e na Caatinga, há 143 mamíferos já registrados (LEAL et al., 2008). Os pequenos mamíferos se encontram num papel importante dentro de ecossistemas naturais, ao atuar como fontes de alimentos para muitas espécies predadoras (MARTINS; OLIVEIRA, 1998) e como transmissores de doenças humanas (KATZ et al., 2001). Doença de Chagas é comumente mais estudada em humanos, mas ressalta-se que acomete animais silvestres podendo estar presente principalmente em roedores (COELHO, 2013). Sendo assim, todos os mamíferos são susceptíveis à infecção (MONTEIRO et al., 2007). O ciclo silvestre da doença

é conhecido como o ciclo primitivo do parasito *T. cruzi*, onde este protozoário é encontrado há muito tempo circulando entre vetores e hospedeiros silvestres ao longo de grande parte do continente americano (DIAS, 2000).

Bezerra (2013) descreve que todos os animais infectados por *T. cruzi* podem ser considerados hospedeiros, mas segundo Ashford (1997), a denominação reservatório é apenas para aqueles que apresentam a competência de infectar, sendo responsáveis pela manutenção de um parasita no ecossistema. Os roedores são descritos como os principais alvos de predação, o que favorece sua importância no ciclo de transmissão do *T. cruzi*, por via oral (WILSON; REEDER, 2005). Muitas espécies de roedores embora sejam silvestres frequentam ambientes domésticos e peridomiciliares, servindo assim de elo para o ciclo do parasita nesses ambientes (MILLS; CHILDS, 1998). Diversos gêneros foram descritos naturalmente infectados, mas os gêneros *Rattus* sp. e *Thrichomys* exercem papel de reservatórios (SCHMIDT; OSTFELD, 2011), os quais podem servir de alimento aos seus predadores e transmitir a infecção independente dos vetores naturais, explicando os casos da infecção em locais não ligados à presença de triatomíneos infectados (CASTRO, 2006).

Os marsupiais do gênero *Dipelphis* sp. são considerados antigos reservatórios do *T. cruzi* (BEZERRA, 2013), devido às características importantes como: a) elevados índices de infecção natural; b) comportamento nômade; c) adaptabilidade ecológica em diferentes nichos. Esse gênero apresenta uma estreita história evolutiva com o parasito, ao ser capaz de manter altas taxas de infecção sem desenvolver nenhuma sintomatologia aparente de infecção, tornando assim importante relação entre o ciclo silvestre e o ciclo doméstico de transmissão do parasita, por frequentar e colonizar habitações humanas, considerando também que em seu ninho podem ser encontrados os barbeiros (JANSEN et al., 1999).

Os marsupiais pertencentes a outros gêneros como por exemplo *Monodelphis* sp. desempenham também papel na transmissão do parasito, dependendo da sua proximidade com o homem, atuando como ponte entre a transmissão silvestre e áreas peridomiciliares (RIBEIRO; BARRETO, 1972).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar pesquisa nos triatomíneos e pequenos mamíferos silvestres quanto à presença do agente etiológico da doença de Chagas *Trypanosoma cruzi*, em um fragmento de Caatinga na Estação Experimental Rafael Fernandes, localizada em Alagoinha, no município de Mossoró no estado do Rio Grande do Norte.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar o ambiente intradomiciliar, peridomiciliar e silvestre para a presença de triatomíneos, por meio de busca ativa;
- Coletar triatomíneos por busca passiva usando armadilha luminosa adaptada com LED;
- Diagnosticar a infecção por *T. cruzi* nos triatomíneos coletados;
- Capturar pequenos mamíferos silvestres por meio de armadilhas *Sherman* e *Thomahawk*;
- Diagnosticar infecção aguda por *T. cruzi* nos pequenos mamíferos silvestres capturados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

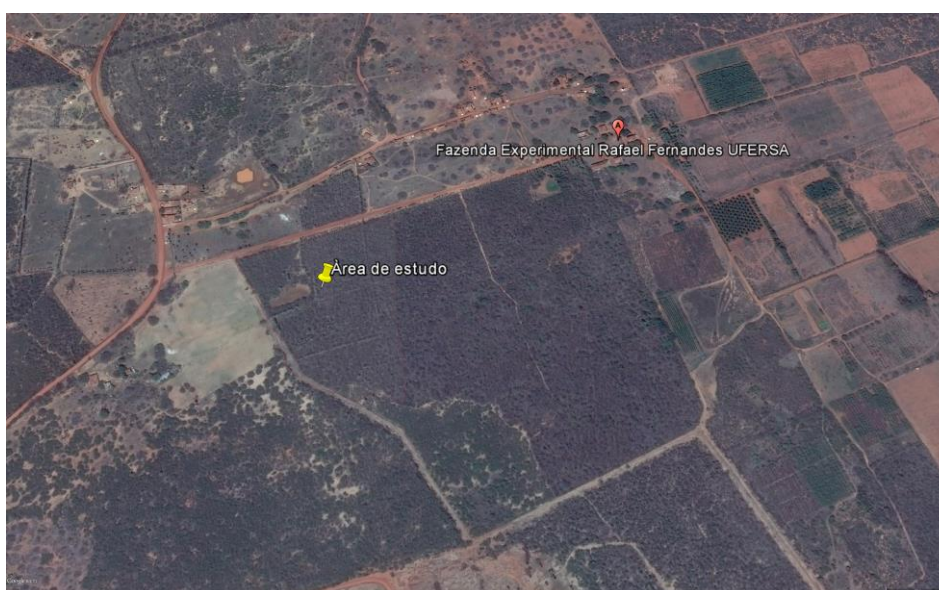
4.1 AUTORIZAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA ANIMAL

O referido projeto está em conformidade com os meios éticos e legais, apresentando parecer do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), processo N° 23091.00413/2014-21, e a licença do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) N° 41686-2.

4.2 ÁREA DE ESTUDO

As atividades foram desenvolvidas em um fragmento da Caatinga na Estação Experimental Rafael Fernandes, propriedade da Universidade Federal Rural do Semi-árido (UFERSA), distante 15,4Km da sede do município de Mossoró, localizada na comunidade rural de Alagoinha (latitude: 5°03'37"S; longitude: 37°23'50"O; altitude: 72 m), em uma área recentemente isolada do pastoreio e sem licença de desmatamento (Figura 12) com aproximadamente 400 ha, contendo uma vegetação do tipo arbóreo-arbustiva densa com zonas de carnaubal.

Figura 12 – Imagem via satélite da Estação Experimental Rafael Fernandes, utilizada para pesquisa de *Trypanosoma cruzi* em vetores e hospedeiros silvestres.



Fonte: Google Earth/Terra View, Macedo, 2016.

4.3 CAPTURA DOS PEQUENOS MAMÍFEROS

No período de junho de 2015 a setembro de 2016, mensalmente e durante cinco noites consecutivas, 100 armadilhas foram instaladas no fragmento da Caatinga, sendo 50 armadilhas *Sherman* (31 x 8 x 9 cm) com peso de 240g e 50 armadilhas *Thomahawk* (45 x 175 x 15 cm) com peso de 950g. No interior de cada armadilha colocou-se isca contendo pasta de amendoim, flocos de milho, banana e sardinha (BURGER et al., 2012), onde foram reabastecidas conforme consumidas pelos os animais, quando estavam secas ou muito molhadas (quando chovia). As armadilhas foram montadas ao entardecer, alternadamente e separadas por aproximadamente 25 metros (Figura 13), revisadas e fechadas até uma hora após o nascer do sol. A armadilha com animal aprisionado era transportada para o local onde todos os procedimentos de coleta e armazenamento de amostras acontecia. O local era montado com mesas e cadeiras, com fornecimento de água e do material que era utilizado para manipulação animal (AURICCHIO; SALOMÃO, 2002). Os pequenos mamíferos silvestres capturados foram identificados de acordo com suas características morfológicas, local de captura e marcados com brincos metálicos alfanuméricos (LOG, Brasil 5x7mm) (MANGINI; NICOLA, 2006).

Figura 13 – Mapa da disposição dos 100 pontos para instalação de armadilhas para captura dos pequenos mamíferos.



Fonte: Google Earth, Morlanes, 2014.

4.3.1 Coleta de sangue

Com auxílio de um saco de pano grosso e luvas apropriadas, retirou-se o animal da armadilha e fechou-se o saco rapidamente. Cuidadosamente, após conter o animal com as mãos na altura de sua cabeça retiraram-se as patas traseiras para aplicação da anestesia, associação quetamina e xilazina (dose dependente), intramuscularmente a fim de evitar estresse. Em seguida, realizou-se a coleta do sangue por punção na veia caudal ventral (Figura 14), considerando o peso de cada animal, o número de animais para coleta de sangue dependeu da captura por dia, com exclusão das fêmeas prenhes ou lactantes (SCHATZMAYR; LEMOS, 2007). Seguiu-se todo o protocolo de biossegurança de trabalho de campo com animais e após recuperação os mesmos foram devolvidos à natureza no local de captura. Um espécime de *Gracilinanus* sp. e um espécime de *Rattus* sp. foram eutanasiados através de uma sobredose de anestésico (xilazina e quetamina) por via intraperitoneal (PAIVA et al., 2005) e em seguida realizou-se a extração intracardíaca de sangue para exame a fresco e esfregaço.

Figura 14 - Coleta do sangue por punção na veia caudal ventral.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.3.2 Análise da presença de infecção por *T. cruzi*

Do sangue coletado realizou-se esfregaço, do qual uma gota foi colocada em uma lâmina e com outra lâmina realizou-se ligeiro movimento para trás até encostar-se à gota de

sangue, deixando que a gota se difundisse uniformemente, ao longo de toda borda por capilaridade, em um ângulo de 45° (BRASIL, 2005). Após secagem, as lâminas eram coradas com Panótico rápido para posterior visualização em microscopia óptica. Esse é um método simples e sensível para as situações em que a parasitemia está elevada, sendo realizada a pesquisa de 500 campos na lâmina no aumento de 1000 vezes utilizando óleo de imersão para se afirmar a ausência do parasito (BRASIL, 2005). O outro exame realizado foi o exame direto a fresco, através da adição de uma gota de sangue em lâmina para se analisar entre a lâmina e lamínula em microscopia óptica, em 400 vezes, a pesquisa nessa técnica é em 100 campos, sendo um exame mais sensível que o esfregaço (SIQUEIRA-BATISTA; GOMES, 2002; FIOCRUZ, 2008).

4.4 COLETA DOS TRIATOMÍNEOS

4.4.1 Busca ativa

A coleta por busca ativa foi realizada intradomiciliariamente, por meio de inspeção minuciosa em todas as dependências do alojamento da Estação Experimental Rafael Fernandes, entre fendas, buracos ou frestas que sirvam de abrigo para os triatomíneos. No peridomicílio, a busca foi feita nos locais que acomodam animais, como abrigos de cachorros e gatos, ninhos de pássaros e em áreas próximas à casa. Além de pilhas de telhas e tijolos acumulados, cercas de pedras e madeiras, onde é comum encontrar barbeiros (JURBERG et al., 2014).

Na área silvestre, realizou-se uma busca nos ambientes mais comumente ocupados pelos triatomíneos (Figura 15): tocas e ninhos de animais, cascas e troncos ocos de árvores, carnaúbas e amontoado de pedras (JURBERG et al., 2014).

Figura 15 - Busca ativa dos triatomíneos.



Fonte: Arquivo pessoal.

A busca ativa no ambiente silvestre realizou-se três dias consecutivos por mês durante um ano, ao anoitecer, com auxílio de lanternas, nos mesmos locais de captura dos mamíferos. Os triatomíneos encontrados foram acondicionados em recipientes previamente identificados e aerados, transportados ao laboratório para identificação de espécie e análise da infecção por *T. cruzi*, posteriormente foram alfinetados com etiquetas de identificação de quem coletou, onde, data e dados sobre o espécime.

4.4.2 Busca passiva

A busca passiva se caracterizou pelo uso de quatro armadilhas do tipo “*pitfall*” adaptada cada uma com uma lâmpada (Figura 16) de 30 LEDs; Potência máxima: 3W 30 x 0,1W; Fluxo luminoso de 120lm (intensidade alta) e 90lm (intensidade baixa); Dimensões 67 X 39 X 223mm; Peso: 0,24kg; e uma caixa plástica transparente com dimensões 12cm X 6,1cm X 23cm; instaladas ao anoitecer dentro da área de estudo entre os pontos 70 e 76 (Figura 13) e retiradas ao amanhecer durante três dias consecutivos ao mês. Todos os insetos capturados foram separados por local de coleta e devidamente acondicionados em álcool 70% para posterior identificação com auxílio de um estereomicroscópio.

Figura 16 - Busca passiva dos triatomíneos.

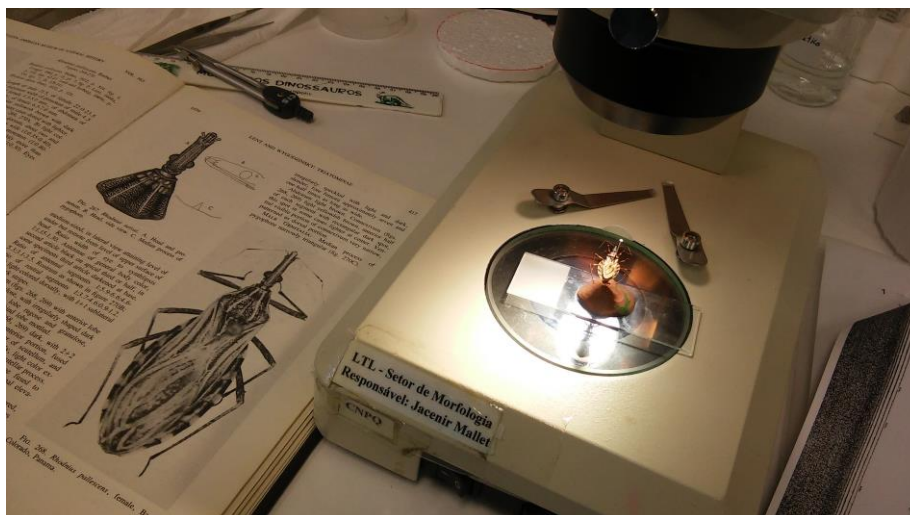


Fonte: Arquivo pessoal.

4.4.3 Identificação dos vetores coletados

Realizou-se a identificação (Figura 17) de acordo com a classificação de Lent & Wigodzinski (1979). A identificação dos espécimes coletados foi realizada no Laboratório de Imunologia e Parasitologia Molecular (LIPAM/UFERSA) e validada pela Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro.

Figura 17 - Identificação das espécies dos triatomíneos com uso da classificação de Lent & Wigodzinski (1979) em um estereomicroscópio.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.4.4 Análise da presença de infecção por *T. cruzi*

A pesquisa do *T. cruzi* nas fezes dos triatomíneos ingurgitados foi realizada por compressão do abdômen e exame a fresco (Figura 18). Também se fez uso da técnica de dissecação do barbeiro para verificação definitiva com análise do tubo digestivo, examinando em microscópio óptico o duodeno macerado com duas gotas de soro fisiológico (MAGALLÓN-GASTÉLUM et al., 1998).

Figura 18 - Processo de compressão do abdômen para exame a fresco das fezes dos triatomíneos.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

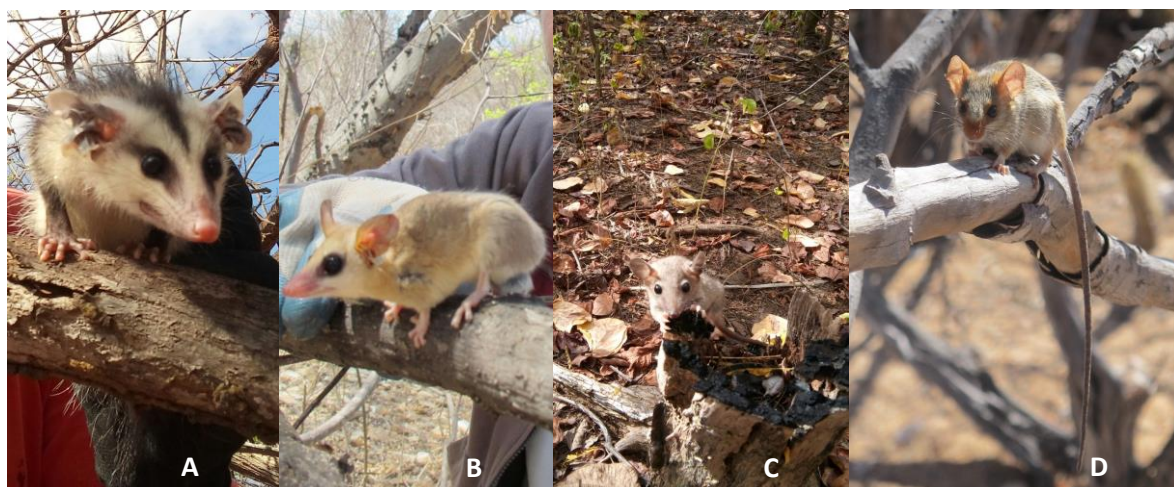
Análise descritiva com dados tabulados em planilhas no programa Excel e tabulados utilizando estatística básica com os resultados expressos em frequência simples e percentual.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PEQUENOS MAMÍFEROS SILVESTRES

Foram capturados 30 pequenos mamíferos (Figura 19), sendo 63,3% marsupiais e 36,7% roedores (Tabela 2), totalizando 39 capturas no período de coleta: junho de 2015 a setembro de 2016.

Figura 19 - Mamíferos capturados para análise de *T. cruzi*: *Didelphis* (A), *Gracilinanus* (B), *Monodelphis* (C), *Wiedomys* (D).



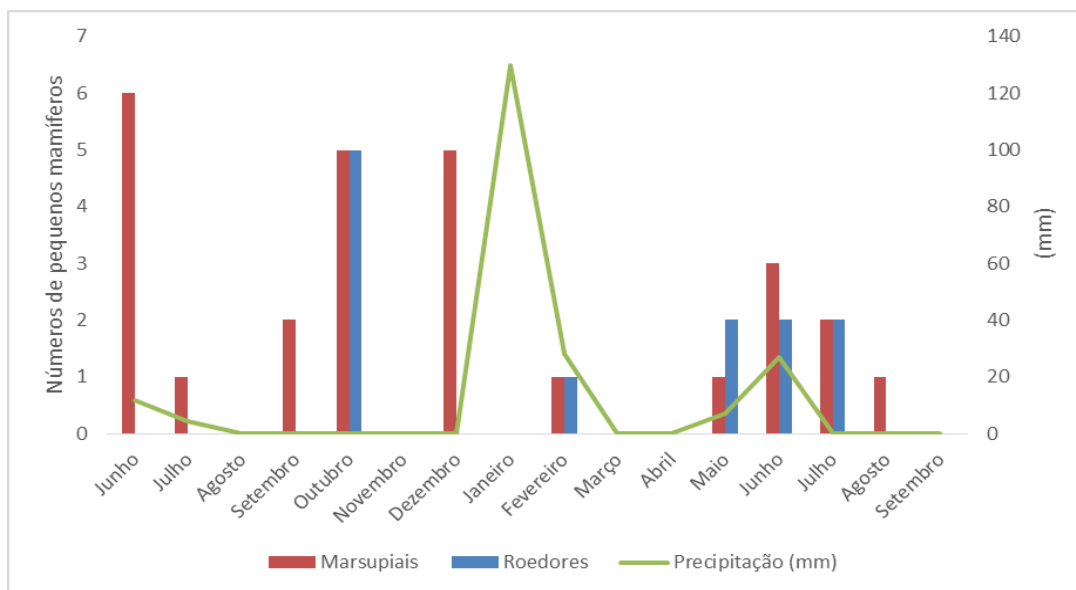
Fonte: Clemente, 2016.

Tabela 2 - Pequenos mamíferos capturados no fragmento de Caatinga na Estação Experimental Rafael Fernandes, Alagoinha, Mossoró.

Pequenos mamíferos		
Marsupiais	n	%
<i>Didelphis marsupialis</i>	1	3.3
<i>Gracilinanus agilis</i>	14	46.7
<i>Monodelphis domestica</i>	4	13.3
Roedores		
<i>Rattus rattus</i>	7	23.4
<i>Wiedomys cerradensis</i>	3	10
<i>Thrichomys laurentius</i>	1	3.3

Os pequenos mamíferos encontrados são comuns na região estudada, onde há descrição de sete espécies da ordem Didelphimorphia e 35 da ordem Rodentia no bioma Caatinga (PAGLIA et al., 2012). No presente estudo, esses mamíferos foram capturados com densidade de captura inversamente proporcional à disponibilidade de água (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Número de pequenos mamíferos capturados em relação à precipitação mensal.



A maior incidência de capturas no período seco pode ser explicada em razão da redução de recursos naturais e refúgios, fazendo com que os animais deixem de seus abrigos com maior frequência, visto que no período chuvoso ocorre diminuição da eficiência das iscas nas armadilhas e consequentemente a probabilidade de captura (MACCLEARN et al., 1994; ARAGONA; MARINHO-FILHO, 2009). Encontram-se resultados similares em outras regiões, com maior taxa de captura na época de menor precipitação (MELLO, 1980; O'CONNELL, 1989; MACCLEARN et al., 1994; VIEIRA, 2002).

Em todo o período de captura o gênero *Gracilinanus* Gardner & Creighton 1989 (Didelphimorphia: Didelphidae) destacou-se como mais frequente, a maior abundância desse animal se dá pela própria vegetação arbóreo-arbustiva densa existente na área de estudo, favorecendo a disponibilidade desse animal por ser arborícola, além da distribuição generalizada em áreas secas na Caatinga do Nordeste (COSTA et al., 2003; PARDINI, 2004). A captura do gênero *Didelphis* ocorreu próxima às cercas onde há maior intervenção humana, fato esperado em razão do hábito sinantrópico, citado como fator que os torna reservatório do protozoário *T. cruzi* (JANSEN; ROQUE, 2010; BEZERRA et al., 2014).

Foram realizados 72 esfregaços nos animais capturados e dois exames a fresco em dois animais (*G. agilis* e *R. rattus*) eutanasiados no campo. Os resultados apresentaram-se negativos para a presença de tripanosomatídeos. A ausência de tripanosomatídeos nos pequenos mamíferos silvestres examinados corrobora com os resultados obtidos pelo diagnóstico parasitológico para infecção aguda por esfregaço na região de Caatinga no estado do Ceará, onde foram examinados também os gêneros *Thrichomys*, *Rattus*, *Wiedomys*, *Didelphis* e *Monodelphis* (BEZERRA et al., 2014). Entretanto não pode excluir a possibilidade da patologia por *T. cruzi* em razão da cronicidade da doença, sugerindo a combinação de metodologias a ser utilizada em pesquisas posteriores na área estudada para contribuir com a detecção do parasito na infecção crônica por *T. cruzi* em pequenos mamíferos silvestres.

5.2 TRIATOMÍNEOS

Dos nove espécimes adultos capturados (Figura 20), dois (22,2%) foram dentro do alojamento, caracterizado como ambiente domiciliar, por busca ativa, *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 e *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964; e sete (77,8%) no fragmento da Caatinga, caracterizado como ambiente silvestre, por busca passiva, sendo cinco *R. nasutus* e dois *T. pseudomaculata*, com armadilhas colocadas perto de ecótopos reconhecidos na literatura para essas espécies.

Figura 20 - Sete dos nove triatomíneos capturados (Quatro *Rhodnius nasutus* e Três *Triatoma pseudomaculata*).



Fonte: Arquivo pessoal

O presente trabalho demonstrou a presença de vetores da doença de Chagas no fragmento de Caatinga no Estado do Rio Grande do Norte. Estudos nas mesorregiões Oeste e Central do Estado também relataram a presença de *T. pseudomaculata* e *R. nasutus* corroborando com o presente trabalho, *Triatoma brasiliensis* e *Panstrongylus lutzi* também foram capturados no ambiente silvestre (BARBOSA et al., 2016). Da mesma forma, estudos evidenciaram as espécies *T. pseudomaculata* e *R. nasutus* na região nordeste do Brasil, com hábitos alimentares associados a roedores e marsupiais (FORATTINI et al., 1981). Comprovando que triatomíneos tem hábitos alimentares diversos, com roedores e marsupiais entre as fontes de alimento, favorecendo uma maior dispersão do *T. cruzi* e consequentemente possibilidade de infecção.

O método de captura pela busca passiva apresentou melhores resultados quando comparada a busca ativa. Esse resultado pode ser explicado em razão da busca ativa nos ecótopos naturais apresentar maior complexidade no ambiente silvestre, devido dificuldade na visualização do vetor associada à baixa densidade desses triatomíneos (PIZARRO; ROMANA, 1998; CARBAJAL-DE-LA-FUENTE, 2007).

A utilização da armadilha *pitfall* adaptada com lâmpada LED demonstrou eficiência na captura dos triatomíneos, evidenciando mais uma técnica de captura no ambiente silvestre de fácil obtenção, baixo custo, que não exige a presença constante de um observador e pode ser utilizada por um longo período de tempo. Estudos com busca passiva vêm sendo realizada com armadilhas contendo isca animal (NOIREAU et al., 2002) e armadilhas luminosas, como a modelo Luiz de Queiroz (SILVEIRA NETO; SILVEIRA, 1699), com lâmpada LED (DIAS et al., 2011), demonstrando eficácia nos resultados.

A maior incidência de *R. nasutus* pode ser explicada possivelmente pela presença de carnaúbas no local pesquisado, visto que foi descrito como principal habitat para o gênero na região de Caatinga (FORATTINI et al., 1981; DIAS et al., 2008). As duas espécies capturadas *T. pseudomaculata* e *R. nasutus* habitam naturalmente ambiente silvestre, sendo encontrados em vários ecótopos como palmeiras, ninhos de aves e tocas de mamíferos (LENT; WIDODZINSKY, 1979; PIZARRO; ROMANA, 1998; DIAS et al., 2008; DE ARAÚJO et al., 2013; BEZERRA et al., 2014; BARBOSA et al., 2016) assim como em regiões de peri e intradomicílio. *T. pseudomaculata* em estudos anteriores foi o segundo triatomíneo mais coletado no intradomicílio no semiárido brasileiro (COSTA et al., 2003; SARQUIS et al., 2006), já no ambiente natural/silvestre, essa espécie, ocorreu em estudo anterior principalmente sob cascas e no oco de árvores, como a jurema (*Mimosa tenuiflora*)

(FREITAS et al., 2004). O que evidencia a presença desse vetor na área de estudo em questão que tem as mesmas características.

O achado de formas adultas no domicílio ocorreu possivelmente pela atração luminosa. No caso de *T. pseudomaculata*, as alterações climáticas e o desmatamento que ocorrem na região também podem estar influenciando no comportamento de invasão (DE ASSIS et al., 2007; DE ASSIS et al., 2009). Quanto a biogeografia desses triatomíneos, é demonstrado a restrição de *R. nasutus* à Caatinga e *T. pseudomaculata* apresenta-se com maior frequência na Caatinga e, secundariamente, nas áreas de transição (FORATTINI, 1980).

Os exames realizados entre lâmina e lamínula, apresentaram-se negativos para a presença de tripanossomatídeos em cinco espécimes, dois *R. nasutus* e três *T. pseudomaculata*. Os demais não apresentaram conteúdo estomacal com sangue/fezes, impossibilitando a análise por essa técnica. O hábito alimentar ornitófilo de *R. nasutus* (FORATTINI et al., 1981) e a baixa porcentagem de infecção natural de *T. pseudomaculata* por *T. cruzi* (GURGEL-GONÇALVES et al. 2012), podem justificar os resultados negativos para a pesquisa desse parasito no atual estudo.

Esse cenário associado à presença de triatomíneos e pequenos mamíferos chama a atenção sobre a importância da manutenção da vigilância entomológica, para evitar a colonização dos triatomíneos, bem como o possível estabelecimento do ciclo de transmissão do parasito. É notável também a importância do uso de metodologias como a armadilha *pitfall* adaptada com lâmpada LED que auxiliem de alguma forma à captura desses vetores no ambiente silvestre para possível conhecimento sobre os aspectos ecológicos, identificando focos de infecção para determinar com precisão a distribuição desses triatomíneos.

6 CONCLUSÕES

Conclui-se que com a utilização de metodologias como busca ativa e passiva é possível coletar triatomíneos para análise de infecção por *T. cruzi*. Onde a busca passiva com armadilha do tipo *pitfall* adaptada com lâmpada LED se mostrou mais eficiente com 77,8% dos triatomíneos coletados no fragmento da Caatinga, as espécies foram *Triatoma pseudomaculata* e *Rhodnius nasutus* e também encontradas no intradomicílio do alojamento da Estação Experimental Rafael Fernandes, mostrando o potencial de invasão que essas espécies têm.

Em relação aos pequenos mamíferos silvestres, as armadilhas *Sherman* e *Thomahawk* foram eficientes, com captura de 30 animais de 6 espécies, onde foram 3 espécies de marsupiais: *Didelphis marsupialis*, *Gracilinanus agilis*, *Monodelphis domestica* e 3 espécies de roedores: *Rattus rattus*, *Wiedomys cerradensis*, *Thrichomys laurentius*. Com maior abundância dos marsupiais e com densidade de captura inversamente proporcional à precipitação mensal.

Os exames parasitológicos tanto para vertebrados como invertebrados foram negativos para o agente etiológico da doença de Chagas.

REFERÊNCIAS

- ARAGONA, M.; MARINHO-FILHO, J. História natural e biologia reprodutiva de marsupiais no Pantanal, Mato Grosso, Brasil. **Zoologia**, 26(2):220-230, 2009.
- ARAÚJO, A.; JANSEN, A. M.; FERREIRA, L. F. Paleoparasitology of Chagas disease: a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 104(1):9–16, 2009.
- ASHFORD, R. W. What it takes to be a reservoir host. **Belgian Journal of Zoology**, 127: 85-90, 1997.
- AUFDERHEIDE, A.C.; SALO, W.; MADDEN, M.; STREITZ, J.; BUIKSTRA, J.; GUHL, F.; ARRIAZA, B.; RENIER, C.; WITTMERS JR, L. E.; FORNACIARI, G.; ALLISON, M. A. 9,000-year record of Chagas' disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, 101:2034–2039, 2004.
- AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M. G. **Técnicas de Coleta e Preparação de Vertebrados**. São Paulo: Instituto Pau Brasil de História Natural, 349p. 2002.
- BARBOSA-SILVA, A.N.; CÂMARA, A.C.J.D.; MARTINS, K.; NUNES, D.F.; OLIVEIRA, P.I.C.D.; AZEVEDO, P.R.M.D. et al. Characteristics of Triatomine infestation and natural *Trypanosoma cruzi* infection in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 49(1): 57-67, 2016.
- BEZERRA, C. M. **Hospedeiros domésticos, peridomiciliares e silvestres na transmissão de *Trypanosoma cruzi* pelo *Triatoma brasiliensis* em área de Caatinga no município de Tauá - CE**, 2013, 146p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública), UFC, Fortaleza - CE, 2013.
- BEZERRA, C. M.; CAVALCANTI, L.P.D.G.; SOUZA, R.D.C.M.D.; BARBOSA, S.E.; XAVIER, S.C.D.C.; JANSEN, A.M. et al. Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonised by *Triatoma brasiliensis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 109(7):887-898, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**, 6ª Edição: Brasília, 816 p. 2005.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde: Departamento de Atenção Básica. **Vigilância em saúde: zoonoses**, Brasília: Ministério da Saúde, 184p. 2008.
- BRENER, Z; ANDRADE, Z.A.; NETTO, M.B. ***Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas**. 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 431p. 2000.
- BRICEÑO-LEÓN, R.; MÉNDEZ-GALVÁN, J. The social determinants of Chagas disease and the transformations of Latin America. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 102(1):109-112, 2007.
- 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. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 45(3):346-352, 2012.

BURGER, J. R.; CHESH, A. S.; MUÑOZ, P.; FREDES, F.; EBENSPERGER, L. A.; HAYES, L. D. Sociality, exotic ectoparasites, and fitness in the plural breeding rodent *Octodon degus*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 66(1):57- 66, 2012.

BURMEISTER, H. **Handbuch der Entomologie**. Berlin, 2(1):404, 1835.

CASTRO, S. A. M.; **Hospedeiros Naturais da Doença de Chagas em populações de mamíferos silvestres na área de influência da usina hidrelétrica Corumbá IV (Goiás): Uma avaliação preliminar**, 2006, 65p. Dissertação de Mestrado. Universidade Católica de Goiás, 2006.

CARBAJAL-DE-LA-FUENTE, A. L. Eco-genética comparativa das espécies afins *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 e *Triatoma wygodzinskyi* Lent, 1951. [PhD Thesis]: [Rio de Janeiro]. **Instituto Oswaldo Cruz**, 107p. 2007.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schozotrypanum cruzi* n. gen., n. sp. Agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1(1):159-218, 1909.

COELHO, A. R. B. **Tripanossomíase Americana: uma revisão com ênfase na Medicina Veterinária**, 2013, 39p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília/Faculdade em Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2013.

CORTEZ, M. R.; EMPERAIRE, L.; PICCINALI, R. V.; GÜRTLER, R. E.; TORRICO, F.; JANSEN, A.M.; NOIREAU, F. Sylvatic *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) in the Andean valleys of Bolivia. **Acta Tropica**, 102:47-54, 2007.

COSTA, J.; ALMEIDA, C. E.; DOTSON, E. M.; LINS, A.; VINHAES, M.; SILVEIRA, A. C.; et al. The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a Chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 98:443-449, 2003.

COSTA, J.; ARGOLLO, A.; FELIX, M. Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Zootaxa**, 1385:47-58, 2006.

COSTA, J.; FELIX, M. *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 102:87-90, 2007.

COSTA, L. P.; LEITE, Y. L. R.; PATTONATTON ATTON, J. L. Phylogeography and systematic notes on two species of gracile mouse opossums, genus *Gracilinanus* (Marsupialia: Didelphidae) from Brazil. **Proceedings of the Biological Society of Washington**. 116(2):275-292, 2003.

COURA, J. R.; **Síntese das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 297p. 2008.

COURA, J. R.; ABAD-FRANCH, F.; AGUILERA, X.; DIAS, J. C. P.; GIL, E.; JUNQUEIRA, A. C. V.; FIUSA-LIMA, J.; CARVALHO-MOREIRA, C. J.; SCHALL, V. T.; SCHMUNIS, G. The initiatives for the control of Chagas disease in the Americas and in non-endemic countries: overview and perspectives. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 42(2): 106-110, 2009.

COURA, J. R.; ALBAJAR-VIÑAS, P. Chagas disease: a new worldwide challenge. **Nature**, 465(7301):6-7, 2010.

COURA, J. R.; ALBAJAR-VIÑAS, P.; JUNQUEIRA, A. C. V. Ecoepidemiology, short history and control of Chagas disease in the endemic countries and the new challenge for non-endemic countries. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, 109(7):856-862, 2014.

DE ARAÚJO, V.A.; BOITÉ, M. C.; CUPOLILLO, E.; JANSEN, A. M.; ROQUE, A.L. Mixed infection in the anteater *Tamandua tetradactyla* (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: *Trypanosoma cruzi*, *T. rangeli* and *Leishmania infantum*. **Parasitology**, 140:455-460, 2013.

DE ASSIS, G. F. M.; AZEREDO, B. V. D. M.; LA FUENTE, A. L. C.; DIOTAIUTI, L.; DE LANA, M. Domiciliation of *Triatoma pseudomaculata* (Corrêa e Espínola 1964) in the Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 40(4):391–396, 2007,

DE ASSIS, G. F. M.; AZEREDO, B. V. D. M.; GORLA, D.; DIOTAIUTI, L.; DE LANA, M. Entomological surveillance of Chagas disease in Berilo municipality, Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 42(6):615–621, 2009.

DE GEER, K. Mémoires pour servir à l’histoire des insectes. **De L’Imprimerie de L. L.**, Grefing, Estocolmo, vol.3, 1773.

DEANE, L. M. Tripanosomatídeos de mamíferos da região amazônica I. Alguns flagelados encontrados no sangue de mamíferos silvestres do Estado do Pará. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, 3:15-28, 1961.

DEVERA, R.; FERNANDES, O.; COURA, J. R. Should *Trypanosoma cruzi* be called “cruzi” complex? A review of the parasite diversity and the potential of selecting population after *in vitro* culturing and mice infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 98:1-12, 2003.

DIAS, F. B. S.; BEZERRA, C. M.; MACHADO, E. M. D. M.; CASANOVA, C.; DIOTAIUTI, L. Ecological aspects of *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in palms of the Chapada do Araripe in Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 103(8):824-830, 2008.

DIAS, J. C. P. Acute Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 79:85-91, 1984.

DIAS, J. C. P. Situación actual de la enfermedad de Chagas. In: Madorry C, Camera ML, editores. Actualizaciones en la enfermedad de Chagas, 1993. Buenos Aires: **Congreso Nacional de Medicina**, 1-29, 1993.

DIAS, J. C. P. Ecological aspects of the vectorial control of Chagas disease in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, 10:352-358, 1994.

DIAS, J. C. P.; MACHADO, E. M.; FERNANDES, A. L.; VINHAES, M. C. Esboço geral e perspectivas da Doença de Chagas no Nordeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, 16(2):13-34, 2000.

DIAS J. V. L.; AVELAR, B. A.; CIRQUEIRA JÚNIOR, H.; DIOTAIUTI, L.; PIRES, H. H. R. Capture of *Triatoma arthurneivai* (Hemiptera: Reduviidae) using a new luminous trap in Southeast Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 44:774-776, 2011.

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. **Caderno de Saúde Pública**, 10(4):473-480, 1994.

FERREIRA, M. S.; LOPES, E. R.; CHAPDEIRO, E.; DIAS, J. C. P.; CHIARI, E. Doença de Chagas. **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Editora Atheneu, 1213p. 1997.

FERREIRA, L. F.; JANSEN, A. M.; ARAÚJO, A. Chagas disease in prehistory, 2011 **Anais da Academia Brasileira de Ciências (Annals of the Brazilian Academy of Sciences)** Printed version ISSN 0001-3765 / Online version ISSN 1678-2690 www.scielo.br/aabc.

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz. **Curso de Capacitação dos microscopistas de malária e dos laboratoristas da rede pública para detecção do *Trypanosoma cruzi***. Rio de Janeiro. Módulo II, 208p, 2008.

FONSECA, Z. A. A. S.; MOURA, E. S. R.; MEDEIROS, A. M. M. M.; SOUSA, E. S. Estudo da fauna dos triatomíneos recebidos no laboratório de entomologia do centro de controle de zoonoses no Município de Mossoró/RN. Londrina: **PUBVET - Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**. 4(3):1-6, 2010.

FORATTINI, O. P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, 14:256-299, 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. **Revista de Saúde Pública**, 15:113-164, 1981.

FORERO, D.; WEIRAUCH, C.; BAENA, M. Synonymy of the reduviid (Hemiptera: Heteroptera) genus *Torrealbaia* (Triatominae) with *Amphibolus* (Harpactorinae), with notes on *Amphibolus venator* (Klug, 1830). **Zootaxa**, 670:1-12, 2004.

FORNACIARI, G.; CASTAGNA, M.; VIACAVA, P.; TOGNETTI, A.; BEVILACQUA, G.; SEGURA, E. L. Chagas' disease in a Peruvian Inca mummy. **Lancet**, 339: 128-129, 1992.

FREITAS, S.P.C.; FREITAS, A. L. C.; PRAZERES, S. M.; GONÇALVES, T. C. M. Influência de hábitos antrópicos na dispersão de *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964, através de *Mimosa tenuiflora* (Willdenow) (Mimosaceae) no Estado do Ceará, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, 20:333-336, 2004.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). Projeto de Controle de Doenças Endêmicas no Nordeste – PCDEN- **Relatório Técnico do Estado do Rio Grande do Norte**, p. 12-27, 1989 - 1995.

GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; ROCHA, D. S.; JURBERG, 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**, 202:1-36, 2003.

GALVÃO, C.; ANGULO, V. M. *Belminus corredori*, a new species of Bolboderini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from Santander, Colombia. **Zootaxa**, 1241:61-68, 2006.

GREEN. C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3ª Edição. Atheneus: Saunders. 1387p, 2006.

GORLA, D. E.; ABRAHAN, L.; HERNÁNDEZ, M. L.; PORCASI, X.; HRELLAC, H. Á.; CARRIZO, H.; CATALÁ, S. S. New structures for goat corrals to control peridomestic populations of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Gran Chaco of Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 108:352-358, 2013.

GURGEL-GONÇALVES, R.; GALVÃO, C.; COSTA, J.; PETERSON, A. Geographic Distribution of Chagas Disease Vectors in Brazil Bases on Ecological Niche Modeling. **Journal of Tropical Medicine**, 2012:1-15, 2012.

HASHIMOTO, K.; SCHOFIELD, C. J. Elimination of *Rhodnius prolixus* in Central America. **Parasites & Vectors**, 5:1-45, 2012.

JANSEN, A. M.; PINHO, A. P.; LISBOA, C.V.; CUPOLILLO, E.; MANGIA, R. H. & FERNANDES, O. The Sylvatic Cycle of *Trypanosoma cruzi*: A still Unsolved Puzzle. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 94:203-206, 1999.

JANSEN, A. M.; ROQUE. A. L. R. Domestic and wild mammalian reservoirs. In: TELLERIA, J.; TIBAYRENC, M. **American Trypanosomiasis, Chagas disease – one hundred years of research**, London: Elsevier. 249-276, 2010.

JURBERG, J.; RODRIGUES, J. M. S.; MOREIRA, F. F. F.; DALE, C.; CORDEIRO, I. R. S.; LAMAS JÚNIOR, V. D.; GALVÃO, C.; ROCHA, D. S. **Atlas Iconográfico dos Triatomíneos no Brasil (Vetores da Doença de Chagas)**, Rio de Janeiro: Fiocruz. 52p, 2014.

KATZ, G.; WILLIAMS, R. J.; BURT, M. S.; SOUZA, L. T. DE; PEREIRA, L. E.; MILLS, J. N.; SUZUKI, A.; FERREIRA, I. B.; SOUZA, R. P.; ALVES, V. A.; BRAVO, J. S.; YATES, T. L.; MEYER, R.; SHIEH, W.; KSIAZEK, T. G.; ZAKI, S. R.; KHAN, A. S.; PETERS, C. J. Hantavirus pulmonary syndrome in the State of São Paulo, Brazil, 1993-1998. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, 1(3):181-190, 2001.

KLUG, J. C. F. **Reise um die Erde, in Den Jahren 1830, 1831, und 1832, ausgeführt von F.J.F Meyen**. Berlin: C.W. Eichhoff, 1834.

LANA, M.; TAFURI, W. L. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**, São Paulo: Atheneu, 10:73-96, 2000.

LAPORTE, F. L. Essa d'une classification systematique de l'ordre des Hémipteres (Hémipteres, Hpetéroptères, Latr.). **Magazine Zoological**, 1-88, 1832.

LATREILLE, P. A. 'Insectes de l'Amérique recueillis pendant le voyage de MM. De Humboldt et 1811 Bonpland'. **Voyage aux regions équinoxiales du nouveau continent**, Paris: Chez F.Schoell et chez Du Jour, 1(2):197-397, 1803.

LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA, J. M. C. **Ecologia e conservação da Caatinga**. 3ª Edição, Recife: Editora Universitária da UFPE, 822p. 2008.

LENT, H.; WIGODZINSKY, P. Revision of the triatominae (Hemiptera: Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 163:125-520, 1979.

LIMA, V. S.; INIGUEZ, A. M.; OTSUKI, K.; FERREIRA, L. F.; ARAÚJO, A.; VICENTE, A. C.; JANSEN, A.M. Chagas disease in ancient hunter-gatherer populations. **Emerging Infectious Diseases**, 14:1001-1002, 2008.

MACCLEARN, D.; KOHLER, J.; MCGOWAN, K.J.; CEDEÑO, E.; CARBONE, L.G.; MILLER, D. Arboreal and Terrestrial Mammal Trapping on Gigante Peninsula, Barro Colorado Nature Monument, Panama. **Biotropica**, 26(2):208-213, 1994.

MACHINER, F. **Percepção de moradores sobre doença de Chagas e ocorrência de *Triatoma costalimai* (Hemiptera: Reduviidae) em áreas de cerrado, Góias: Brasil**. 2012, 128p. Dissertação (Mestre em Medicina Tropical), UNB, 2012.

MAGALLÓN-GASTÉLUM, E.; MAGDALENO-PEÑALOZA, N.C.; KATTAHAIN-DUCHATEAU, G.; TRUJILLO-CONTRERAS, F.; LOZANO-KASTEN, F.J.; HERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, R.J. Distribución de los vectores de la enfermedad de Chagas Hemiptera: Reduviidae: Triatominae en el estado de Jalisco, México. **Revista Biomédica**, 9:151-157, 1998.

MANGINI, P. R.; NICOLA, P. A. **Captura e Marcação de Animais Silvestres**. In: CULLEN JUNIOR, L.; RUDRAN, R.; PADUA, C. V. Método de Estudo em Biologia da Conservação e Manejo da Vida Silvestre. Paraná: UFPR; 91-151p, 2006.

MARTINS, M.; OLIVEIRA, M. E. Natural history of snakes in forests of the Manaus region, Central Amazonia, Brazil. **Herpetological Natural History**, 6(2):78-150, 1998.

MELLO, D. A. Estudo populacional de algumas espécies de roedores do Cerrado (Norte do Município de Formosa, Goiás). **Revista Brasileira de Biologia**, 40(4):843-860, 1980.

MILLS, J.N.; CHILDS, J. E. Ecologic studies of rodent reservoirs: their relevance of human health. **Emerging Infectious Diseases**, 4(4): 529–537, 1998.

MONTEIRO, R.V.; DIETZ, J. M.; RABOY, B.; BECK, B.; DE VLEESCHOUWER, K.; BAKER, A.; MARTINS, A.; JANSEN, A. M. Parasite community interactions: *Trypanosoma cruzi* and intestinal helminths infecting wild golden lion tamarins *Leocontopithecus rosalia* and golden-headed lion tamarins *L. chrysomelas* (Callitrichidae, L., 1766), **Parasitology Research**, 101(6):1689-98, 2007.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11º edição. São Paulo: Editora Atheneu, 34:289-298, 2005.

NOIREAU, F.; ABAD-FRANCH, F.; VALENTE, S. A. S.; DIAS-LIMA, A.; LOPES, C. M.; CUNHA, V.; et al. Trapping Triatominae in silvatic habitats. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 97: 61-63, 2002.

O'CONNELL, M. A. Population dynamics of Neotropical small mammals in seasonal habitats. **Journal of Mammalogy**, 70(3):532-548, 1989.

PAIVA, F. P. de.; MAFFILI, V. V.; SANTOS, A. C. S. Curso de manipulação de animais de laboratório. **Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz**. Salvador: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, 2005.

PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. da C.; MITTERMEIER, R. A.; PATTON, J. L. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil/Annotated Checklist of Brazilian Mammals. 2ª Edição/2nd Edition. **Occasional Papers in Conservation Biology**. Conservation International, Arlington, VA. 76p. 2012.

PARDINI, R. Effects of forest fragmentation on small mammals in an Atlantic Forest landscape. **Biodiversity and Conservation**. 13:2567-2586, 2004.

PIZARRO, J.C.N.; ROMANA, C. Variación estacional de una población silvestre de *Rhodnius pallescens* Barber 1932 (Heteroptera: Triatominae) em la costa Caribe colombiana. **Bulletin de l'Institut français d'études andines**, 27:309-325, 1998.

POINAR JR, G. *Triatoma dominicana* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), and *Trypanosoma antequus* sp. n. (Stercoraria: Trypanosomatidae). The First Fossil Evidence of Triatomine-Trypanosomatid Vector Association. **Vector-Borne and Zoonotic Disease**, 5(1):72-81, 2005.

REY, L. **Parasitologia: Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem nos Trópicos**. 4ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

REZENDE, D.F. Epidemiologia e controle da transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 27(3):5-16, 1994.

RIBEIRO, R. D; BARRETO, M. P. Estudo sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*: Infecção natural do *Sciurus (guerin-guetus) aestuans igrani* Thomas,

1901 pelo *T. cruzi*, **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, 14:352-359, 1972.

ROTHHAMMER, F.; ALLISON, M. J.; NUNEZ, L.; STADEN VAND ARRIZA, B. Chagas disease in pre-Columbian South America. **American Journal of Physical Anthropology**, 68:495-498, 1985.

SARQUIS, O.; SPOSINA, R.; OLIVEIRA, T. G.; MAC CORD, J. R.; CABELLO, P. H.; BORGES-PEREIRA, J.; et al. Aspects of peridomiciliary eco-topes in rural areas of Northeastern Brazil associated to triatomine (Hemiptera: Reduviidae) infestation, vectors of Chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 101:143-147, 2006.

SCHATZMAYR, H. G.; LEMOS, E. R. S. Trabalho com animais silvestres. **A ciência entre bichos e grilos**. Rio de Janeiro: Hucitec, p. 258-269, 2007.

SCHMIDT, K. A.; OSTFELD, R. S.; Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. **Ecology**, 82:609-619, 2001.

SCHMUNIS, G. A. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 102(1):75-85, 2007.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease, a Latin American health problem becoming a world health problem. **Acta Tropica**, 115:14-21, 2010.

SHERLOCK, I. A.; CARCAVALLO, R. U.; GIRÓN, I. G. List of material and experimental flagellate infections in several triatominae species, p. 289-298. In: CARCAVALLO, R. U.; GIRÓN, I. G.; JUBERG, J.; LENT, H. **Atlas dos vetores da Doença de Chagas nas Américas**, Rio de Janeiro: Fiocruz, 13(4):585-593, 1997.

SILVEIRA, A. C.; VINHAES, M. C. Doença de Chagas: aspectos epidemiológicos e de controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 31(2):15-60, 1998.

SILVEIRA NETO, S.; SILVEIRA, A. C. Armadilha luminosa, modelo "Luiz de Queiroz". **O Solo**, Piracicaba, 61(2):19-21, 1999.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; GOMES, A. P. **Infecção pelo *Trypanosoma cruzi*: revisitando o mal de chagas**. Rio de Janeiro: Jornal Brasileiro de Medicina, 82(5):28-41, 2002.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; GOMES, A. P.; RUBIÃO, E. C. N.; GONÇALVES, M. L. C. Moléstia de Chagas e ecologia profunda: a "luta antivetorial" em questão. **Moléstia de Chagas – Caderno de Saúde Pública**. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Rubio; 16(2):677-687, 2011.

TAVARES, W.; MARINHO, L. A. C. **Rotinas de Diagnóstico e tratamento das Doenças infecciosas e parasitárias**. 2ª Edição Ampliada e Atualizada. São Paulo: Atheneu, 1216p, 2007.

TANOWITZ, H. B.; KIRCHHOFF, L. V.; SIMON, D.; MORRIS, S. A.; WEISS, L. M.; WITTNER, M. Chagas' disease. **Clinical Microbiology Review**, 5:400-419, 1992.

TEIXEIRA, A. R. L.; **Doença de Chagas e evolução**. Brasília: Universidade de Brasília, 309p, 2007.

VELAZCO, O.C.; RIVAS, B.S. **Apuntes para la Historia de la Enfermedad de Chagas en México**. Boletín médico del Hospital Infantil de México, Vol. 65, enero-febrero, México – DF, 2008.

VIANNA, G. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da moléstia de Carlos Chagas: Esquizotripanose ou Tireoidite parasitária. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 3(2):276-294, 1911.

VIEIRA, M. C.; DIAS, J. C. P. Doença de Chagas no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 16(2):7-12, 2000.

VIEIRA, M. V. Seasonal niche dynamics in coexisting rodents of the Brazilian Cerrado. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, 38(1):7-15, 2002.

WENDEL, S.; BRENER, Z. **Historical Aspects**. In: WENDEL, S. et al. **Chagas Disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine**. São Paulo: ISBTBRASIL, 1992.

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference**. 3ª Edição. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, 2142p, 2005.

WOLFE, N. D.; DUNAVAN, C. P.; DIAMOND, J. Origins of major human infectious diseases. **Nature**, 447:279–283, 2007.

WORDL HEALTH ORGANIZATION. Control of Chagas disease. Report of a WHO Expert Committee. Geneva: WHO. **Technical Report Series Geneva**, 120p. 2002.

ZELEDÓN, R.; BEARD, C. B.; DIAS, J. C. P.; LEIBY, D. A.; DORN, P. L.; COURA, J. R. **An appraisal of the status of Chagas disease in the United States**. Amsterdam/Oxford: Elsevier, 102p, 2012.