



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E
SOCIEDADE

**PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* EM CÃES E
TRIATOMÍNEOS EM ÁREA RURAL DO MUNICÍPIO DE
MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

YANNARA BARBOSA NOGUEIRA FREITAS

Mossoró – RN
Fevereiro – 2016

YANNARA BARBOSA NOGUEIRA FREITAS

**PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* EM CÃES E TRIATOMÍNEOS EM ÁREA RURAL
DO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, Campus Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

Orientadora: Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amóra

Co-orientadora: Celeste da Silva Freitas de Souza

Mossoró – RN
Fevereiro – 2016

© 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 tomar-se-á de domínio público após a data da defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu(a) respectivo(a) autor(a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
BIBLIOTECA ORLANDO TEIXEIRA - CAMPUS MOSSORÓ
Setor de Informação e Referência

F866p Freitas, Yannara Barbosa

Pesquisa de Trypanosoma cruzi em cães e triatomíneos em área rural do município de Mossoró, Rio Grande do Norte / Yannara Barbosa Nogueira Freitas. - Mossoró, 2016.
95f: il.

Orientador: Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amóra
Co-Orientador: Profa. Dra. Celeste da Silva Freitas de Souza

Dissertação (MESTRADO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA E SOCIEDADE) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

1. Doença de Chagas. 2. Transmissão vetorial. 3. Vigilância entomológica. 4. Cães - Trypanosoma cruzi. 5. Mossoró/RN- Zona rural.
I. Título

RN/UFERSA/BOT039

CDD 616.9363

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Às 14:30 horas do dia 23 de fevereiro de 2016, no auditório do Prédio da Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação/PROPPG da Universidade Federal Rural do Semi-árido/UFERSA, sob a presidência da Prof.^a Dr.^a Sthenia Santos Albano Amóra, reuniu-se a banca examinadora de defesa de dissertação, de autoria de Yannara Barbosa Nogueira Freitas, aluna do Programa de Pós-graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade/PPGATS desta Universidade com o título: Pesquisa de *Trypanosoma cruzi* em cães e triatomíneos em área rural do Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. A banca examinadora ficou assim constituída: Prof.^a Dr.^a Sthenia Santos Albano Amóra, presidente da banca e orientadora, Prof.^a Dr.^a Celeste da Silva Freitas de Souza, Prof. Dr. Fabiano Borges Figueiredo e Prof. Dr. Wogelsanger Oliveira Pereira, como examinadores. Não foram registradas ocorrências. Concluída a defesa, foram reatizadas as arguições e algumas sugestões feitas e acatadas. Em seguida procedeu-se ao julgamento pelos membros da banca examinadora, tendo a dissertação sido aprovada. E, para constar, eu, *Sthenia Santos Albano Amóra*, presidente da banca examinadora, lavrei a presente ata que, após lida e achada conforme, foi assinada por mim e demais membros.

Mossoró-RN, 23 de fevereiro de 2016.

Prof.^a Dr.^a Sthenia Santos Albano Amóra – UFERSA
Presidente da banca e orientadora

Dr.^a Celeste da Silva Freitas de Souza - FIOCRUZ
Membro externo à Instituição

Prof. Dr. Fabiano Borges Figueiredo - FIOCRUZ
Membro externo à Instituição

Prof. Dr. Wogelsanger Oliveira Pereira- UERN
Membro externo à Instituição

YANNARA BARBOSA NOGUEIRA FREITAS

**PESQUISA DE TRIATOMÍNEOS E CÃES SORORREAGENTES PARA
Trypanosoma cruzi EM ÁREA RURAL DO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ, RIO
GRANDE DO NORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semiárido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

Data de aprovação: 23/02/16

BANCA EXAMINADORA

Prof.^ª. Dr.^ª. Sthenia Santos Albano Amóra

Presidente/Orientadora

Dr.^ª. Celeste da Silva Freitas de Souza - FIOCRUZ

Co-orientadora

Prof. Dr. Fabiano Borges Figueiredo - FIOCRUZ

MEMBRO

Prof. Dr. Wogelsanger Oliveira Pereira- UERN

MEMBRO

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, essencial em minha vida, meu guia e socorro na angústia, sem Ele eu não teria forças para essa longa jornada.

Aos meus pais, Francisco de Assis e Maria Luzia, e às minhas irmãs, Larissa e Lyara.

“O que eu defendo não é que a crença em Deus seja tão razoável quanto qualquer outra crença, ou um pouco ou infinitamente mais provável do que qualquer outra crença; o que defendo é que a menos que você creia em Deus, você não pode racionalmente crer em mais nada. ”

Cornelius Van Til.

PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* EM CÃES E TRIATOMÍNEOS EM ÁREA RURAL DO MUNICÍPIO DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE

RESUMO

Acometendo o homem e diversos animais e ocorrendo, predominantemente, na zona rural, a doença de Chagas (DC) é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* e tem os cães como os principais reservatórios no ciclo doméstico da doença. Dessa forma, objetivou-se pesquisar a presença e infecção por *T. cruzi* em triatomíneos. E, paralelamente, pesquisar cães sororreagentes aos antígenos de *T. cruzi* e analisar possíveis indicadores de risco para a infecção em cães. A pesquisa foi realizada na área rural do município de Mossoró, Nordeste do Brasil, em 11 propriedades com histórico de captura de triatomíneos. Foi realizada pesquisa entomológica ativa com identificação dos insetos e pesquisa de *T. cruzi* utilizando as técnicas de isolamento em cultura e Reação em cadeia da polimerase (PCR). Para o mapeamento dos vetores foi utilizado software Quantum GIS 2.8.3. O diagnóstico sorológico canino foi realizado utilizando Ensaio de imunoabsorção enzimática (EIE) e Imunofluorescência indireta (IFI). Foi confirmada a presença de vetores em oito das 11 propriedades rurais do estudo. Foram capturados 68 triatomíneos, sendo 25 ninfas e 43 insetos adultos identificados como *Triatoma brasiliensis brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Rhodnius nasutus* e *Panstrongylus lutzi*. Todos os espécimes examinados (51 exemplares) foram negativos para infecção por *T. cruzi* pela técnica de hemocultivo, e desses, 41,17% (21/51) foram positivos, especificado por 90,48% (19/21) ninfas e 9,52% (2/21) *T. b. brasiliensis*. Onze por cento (25/218) dos cães avaliados foram sororreagentes em ambos os testes, mas não houve associação entre os cães soropositivos com a presença e infecção por *T. cruzi* em triatomíneos ou com fatores como sexo, idade, função, presença de abrigo para os cães e contactantes. O mapeamento definiu as áreas de maior risco de transmissão vetorial do parasito. Dessa forma, confirmou-se presença de espécies vetores de DC na área rural do município de Mossoró, destacando-se a espécie *T. b. brasiliensis* como vetor potencial do parasito na região. Portanto, na área estudada, a manutenção do ciclo da doença por transmissão vetorial é clara e possível, uma vez que, há vetores e reservatórios domésticos infectados em área domiciliar, potencializando o risco de transmissão aos seres humanos

Palavras-chave: Doença de Chagas, vigilância epidemiológica, vetor, reservatório doméstico.

ABSTRACT

Affecting humans and various animals and occurring predominantly in rural areas, Chagas disease (CD) is caused by the protozoan *Trypanosoma cruzi* and has dogs as the main reservoirs in the domestic cycle of the disease. Thus, it aimed to investigate the presence and *T. cruzi* infection in triatomine. And, in parallel, to seek dogs seropositive to *T. cruzi* antigens and analyze possible risk factors for infection in dogs. The survey was conducted in the rural area of the municipality of Mossoró, Northeast Brazil, in 11 propriedades with triatomine capture history. Was performed active entomological research and identification of insects and *T. cruzi* research using the techniques of isolation in culture and polymerase chain reaction (PCR). For the mapping of vectors was used Quantum GIS 2.8.3 software. Was performed serological diagnosis canine using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect immunofluorescence (IIF). Was confirmed the presence of vectors in eight of the 11 property in the study. Were captured 68 insects, 25 nymphs and 43 adult insects identified as *Triatoma brasiliensis brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Rhodnius nasutus* and *Panstrongilus lutzi*. All examined specimens (51 specimens) were negative for *T. cruzi* infection by isolation technique in culture, and of these, 41.17% (21/51) were positive, specified by 90.48% (19/21) nymphs and 9 52% (2/21) *T. b. brasiliensis*. Eleven percent (25/218) of evaluated dogs were seropositive in both tests, but there was no association between seropositive dogs with the presence and *T. cruzi* infection in triatomine or factors such as gender, age, function, presence of shelter for dogs and contacts. The mapping identified the areas of greatest risk transmission of the parasite. Thus, it was confirmed the presence of CD vector species in the rural area of the municipality of Mossoro, highlighting the species *T. b. brasiliensis* as potential vector of the parasite in the region. Therefore, in the study area, the maintenance cycle of disease transmission vector is clear and possible, since there are vectors and reservoirs infected domestic in the home area, increasing the risk of transmission to humans.

Keywords: Chagas disease, epidemiological surveillance, vector, domestic reservoir.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Modelo de tabela de contingência para obtenção do coeficiente *Kappa*. 33

Tabela 2 - Relação entre os valores de *Kappa* encontrados e os respectivos tipos de concordância entre os testes analisados. 34

CAPÍTULO

Tabela 1 - Pesquisa de *T. cruzi* e identificação de triatomíneos, e pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* em cães de comunidades rurais do Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. 56

Tabela 2 - Locais de captura de espécimes de triatomíneos, segundo os moradores rurais, no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. 58

Tabela 3 - Associação de soropositividade de cães de área rural endêmica para doença de Chagas com a presença e infecção por *T. cruzi* em triatomíneos 58

Tabela 4 - Associação de soropositividade de cães de área rural endêmica para doença de Chagas vetores e com o sexo, a idade, a função, a presença de abrigo e os contactantes dos cães. 59

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Forma tripomastigota sanguínea de *Trypanosoma cruzi* em teste parasitológico direto com sangue a fresco. 16
- Figura 2 - Ciclo do *Trypanosoma cruzi* em humanos e outros mamíferos. 18
- Figura 3 - Exemplar de triatomíneo da espécie *Triatoma brasiliensis brasiliensis* e vista lateral da porção anterior de hemípteros hematófagos através de microscopia eletrônica. A seta azul indica a região do pescoço e a seta vermelha, o ápice do rostro. 20
- Figura 4 - Aplicação de inseticida piretróide para controle vetorial da doença de Chagas. 24
- Figura 5 - Localização das propriedades rurais do Município de Mossoró, Rio Grande do Norte com histórico de captura de triatomíneos entre os anos de 2008 a 2012. 28

CAPÍTULO

- Figura 1 - Gel de Agarose 1,5% mostrando as bandas diagnósticas de 166 pb após amplificação pela PCR de triatomíneos. Os controles negativo e positivo estão representados pelos símbolos (-) e (+), respectivamente. As faixas numeradas representam amostras positivas para presença de kDNA de *Trypanosoma cruzi*. 61
- Figura 2 - Mapeamento das comunidades rurais do Município de Mossoró-RN com histórico de captura de triatomíneos com destaque das comunidades onde houve captura entomológica ativa de triatomíneos e infecção por *T. cruzi* nos mesmos. 62

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Indicadores entomológicos e valores relativos para áreas de captura de triatomíneos em áreas em risco de transmissão de DC no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. 32

Quadro 2 - Fórmulas para Proporção de concordância observada e concordância esperada para obtenção do coeficiente *Kappa* a partir dos resultados obtidos na tabela de contingência. 33

CAPÍTULO

Quadro 1 - Indicadores entomológicos em áreas em risco de transmissão de doença de Chagas no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte. 56

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 DEFINIÇÃO DA DOENÇA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA	16
2.2 MECANISMOS DE TRANSMISSÃO	17
2.3 VETORES E SUA IMPORTÂNCIA NA MANUTENÇÃO DA DOENÇA EM UMA DETERMINADA ÁREA	20
2.4 PAPEL DO RESERVATÓRIO CANINO NO CICLO URBANO E RURAL DA DOENÇA DE CHAGAS	22
2.5 PREVENÇÃO E CONTROLE	23
3 JUSTIFICATIVA	26
4 OBJETIVOS	27
4.1 OBJETIVO GERAL	27
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
5 METODOLOGIA	28
CAPÍTULO	
Infecção natural por <i>Trypanosoma cruzi</i> (kinetoplastida: trypanosomatidae) em triatomíneos e soropositividade de cães de área rural e endêmica para doença de Chagas no Nordeste do Brasil	35
6 CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64
APÊNDICES	76
ANEXOS	79

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) é uma antroponose parasitária causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1916; SOUZA et al., 2008). Essa doença é transmitida, principalmente, por insetos vetores conhecidos popularmente como barbeiros, pertencentes à família Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) (RAMOS JÚNIOR et al., 2009).

Atualmente, a DC é uma doença negligenciada, endêmica em 21 países da América Latina, embora, com a globalização, casos já tenham sido registrados na Europa e na Ásia (DNDI, 2015). No Brasil, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, mais de um milhão de pessoas estão infectadas, e cerca de 6 mil morrem anualmente (DEUS; STOBBAERTS, 2015), além disso, predominam os casos crônicos da doença no país (LOPES, 2015) demonstrando que o controle de grandes endemias como a DC ainda constitui um grave desafio na Saúde Pública (DIAS, 2000).

Com relação aos vetores do parasito, os gêneros *Panstrongylus*, *Triatoma* e *Rhodnius* se destacam no Brasil (BRASIL, 2015; GALVÃO, 2009). Os insetos apresentam ampla distribuição espacial e potencial invasivo, facilitando sua adaptação a domicílios e áreas circundantes (ARGOLO et al., 2008). Porém, sua presença pode ser facilitada também em resposta a forma como a população ocupa e explora o ambiente em que vive (GRIJALVA; TERÁN; DANGLES, 2014), logo, constantes alterações no meio natural provocadas por atividades antrópicas, principalmente em áreas rurais, acarretam desequilíbrios nos ecossistemas levando a modificações no comportamento dos insetos vetores que passam a adentrar o ambiente domiciliar à procura de abrigo e alimento (BUSTAMANTE et al., 2014).

Dessa forma, as pessoas mais afetadas pela DC são as que vivem em ambientes com características predominantemente rurais (DIAS et al., 2000; DIAS et al., 2011; MARTINS, 1968; NOIREAU et al., 2005). Nesse contexto, o ciclo epidemiológico do parasito em áreas rurais é representado pelos ciclos silvestre, doméstico e peridoméstico. Sendo o ciclo doméstico de maior importância epidemiológica na transmissão por permitir a manutenção da infecção em seres humanos (DIAS et al., 2008). Desse modo, os animais domésticos, principalmente cães, têm importante papel epidemiológico podendo servir como um elo entre os ciclos doméstico e silvestre de *T. cruzi* (PASCON et al., 2010; TOME et al., 2011).

Sendo assim, o cão é identificado como uma importante sentinela da doença (PASCON et al., 2010; TOME et al., 2011; GURTLE et al., 2014), tendo sido observado que em residências com cães infectados o padrão de soropositividade dos membros da residência é

maior do que de pessoas que residem em casas cujos animais não estão infectados (MOTT et al., 1979; ALMEIDA et al., 2013). Logo, os cães destacam-se como reservatórios do *T. cruzi* e estão diretamente relacionados com a maioria dos casos de infecção humana (GURTLE; CARDIAL 2015; MENDES et al., 2013; UMEZAWA et al., 2009).

Todavia, para uma melhor compreensão da epidemiologia dessa doença, não só a infecção nos animais precisa ser estudada, como também a identificação dos insetos vetores. O estudo dos vetores apresenta-se como uma medida essencial, por permitir entender aspectos da sua biologia e comportamento em diferentes regiões (ARGOLO et al., 2008, FERREIRA; SOUTO, 2013). Além disso, a pesquisa da infecção do vetor é crucial para avaliar o risco de transmissão para os seres humanos e seus animais domésticos (HERRERA et al., 2015). Uma ferramenta que atualmente vem sendo usada no desenvolvimento de estudos epidemiológicos de doenças vetoriais é o mapeamento da distribuição dos seus vetores, a partir de sistemas de informações geográficas, permitindo identificar áreas mais vulneráveis por intermédio da observação da distribuição espacial de situações de risco a ocorrência desses insetos (PASSOS et al., 2012).

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi realizar levantamento e mapeamento da fauna e pesquisa da infecção por *T. cruzi* em triatomíneos, além de avaliar sorologicamente a presença de anticorpos anti-*T. cruzi* em cães domiciliados, em área rural do Nordeste do Brasil, bem como analisar possíveis indicadores de risco para a infecção chagásica em cães.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DEFINIÇÃO DA DOENÇA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

A doença de Chagas (DC) é em uma antropozoonose que apresenta como agente etiológico o protozoário hemoflagelado *T. cruzi* (Figura 1) (CHAGAS, 1916; SOUZA et al., 2008), sendo transmitida principalmente através das fezes de insetos vetores da família Triatominae (Hemíptera: Reduviidae), conhecidos como barbeiros (RAMOS JÚNIOR et al., 2009; SANTANA, 2011). Um dos motivos mais relevantes para a transmissão da doença é o comportamento que estes triatomíneos têm de defecar durante ou logo após a hematofagia, sendo comum a deposição de suas fezes contaminadas com *T. cruzi* sobre a região da picada (TARTAROTTI et al., 2004).

Figura 1. Forma tripomastigota de *Trypanosoma cruzi* (seta) em esfregaço sanguíneo para teste parasitológico direto com sangue a fresco.



(Fonte: Ministério da Educação, 2006).

Atualmente, a DC é endêmica em 21 países da América Latina, como Honduras, Nicarágua, Guatemala, Brasil, Colômbia, Paraguai, México e Bolívia, afetando entre seis e sete milhões de pessoas com 12.500 óbitos a cada ano (DNDI, 2015). No Brasil mais de um milhão de pessoas estão infectadas, de acordo com a Organização Mundial da Saúde, e cerca de 6 mil morrem anualmente (DEUS; STOBBAERTS, 2015).

Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil predominam os casos crônicos da doença, (LOPES, 2015) apesar dos surtos de DC aguda relacionados à ingestão de alimentos contaminados, como caldo de cana (GONTIJO; SANTOS, 2013) açai (BARBOSA et al., 2012;

PASSOS et al., 2012; GONTIJO; SANTOS, 2013) e bacaba (DIAS, 2011; MENEGUETTI et al., 2012) terem sido relatados nos últimos anos.

Ainda de acordo com o Programa de Controle da DC da Fundação Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, o Nordeste foi classificado como a segunda região com maior índice de contaminação (BARACHO, 2013), sendo o Norte a região com a situação mais crítica no País (BRASIL, 2013). O Nordeste tem sua ocorrência agravada também pelos altos índices de infestação triatomínica, sendo o vetor amplamente distribuído, nos Estados do Ceará (COUTINHO et al., 2014), Paraíba (MENDES et al., 2013), Pernambuco (COSTA et al., 2011), Rio Grande do Norte (BRITO et al., 2012) e Sergipe (LIMA et al., 2012) o que aumenta o risco de contrair a infecção, visto que as formas habituais de transmissão da DC são aquelas ligadas diretamente ao vetor (LUNARDERLLI et al., 2007).

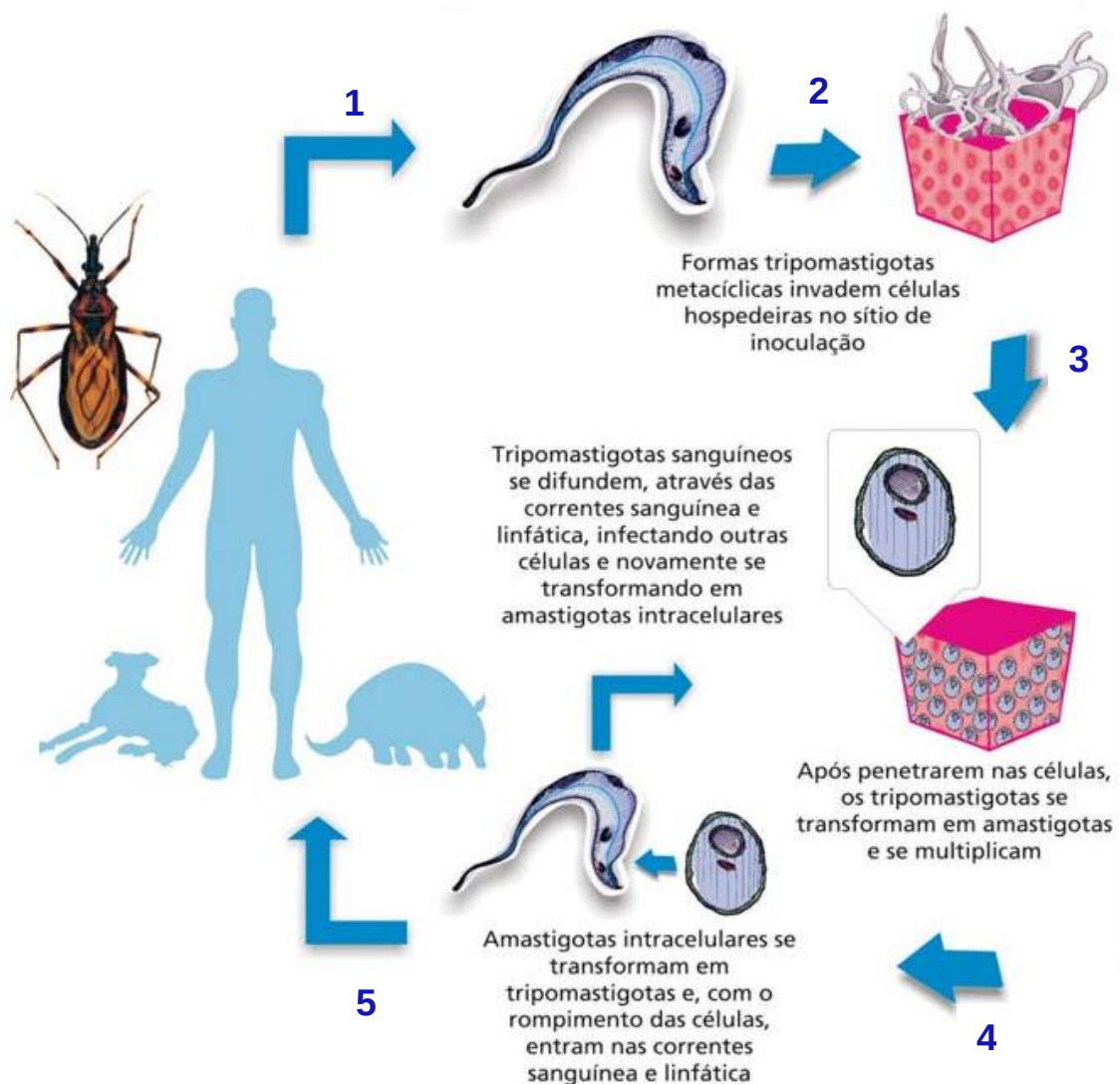
No que diz respeito ao estado do Rio Grande do Norte, houve aumento do número de casos da região no ano de 2011 para 2012, o que é agravado pelo registro de altos índices de infestação do barbeiro, responsável pela transmissão da doença, nos municípios na região do oeste, entre eles o município de Mossoró (SOUZA, 2012). O Estado está entre os dezoito estados considerados áreas endêmicas para DC no Brasil, e os municípios de Pau dos Ferros, Mossoró e Caicó são considerados áreas endêmicas no Rio Grande do Norte. De acordo com a Secretaria de Estado da Saúde Pública, estas áreas são consideradas endêmicas porque apresentam condições ambientais propícias para a sobrevivência do vetor. Só em 2011 foram notificados 30 casos de DC no Rio Grande do Norte. Destes números, oito casos estão registrados na II Regional de Saúde, em Mossoró (BRASIL, 2012). No entanto, é importante considerar que estes registros não revelam a incidência real, uma vez que, se referem à procura dos indivíduos chagásicos por tratamento disponibilizado pelo órgão público regional e não ao registro de casos como deveria ocorrer (SOUZA, 2012).

2.2 MECANISMOS DE TRANSMISSÃO

As formas habituais de transmissão da DC são aquelas ligadas diretamente ao vetor (BRASIL, 2015; CUTRIM et al., 2010), na qual a infecção pelos insetos vetores ocorre durante a sucção do sangue do hospedeiro vertebrado, e este ao realizar o repasto deposita suas fezes, contendo o parasito, na lesão da picada em um hospedeiro vertebrado (Figura 2) (GALVÃO, 2009). Sendo importante destacar que as formas infectantes não atravessam a pele íntegra, mas o próprio local da picada do inseto pode constituir a porta de entrada, bem como feridas ou

escoriações causadas pelo hábito de coçar ou ainda as mucosas, são outros pontos favoráveis para a invasão (ARAGUAIA, 2015).

Figura 2. Ciclo do *Trypanosoma cruzi* em humanos e outros mamíferos.



1. A transmissão da infecção ocorre, principalmente, pela deposição de fezes do vetor sobre os tecidos cutâneos e mucosas do homem e outros mamíferos; 2. O agente etiológico da doença de Chagas, o *Trypanosoma cruzi*, é um protozoário flagelado cujas formas infectantes presentes nas fezes penetram pelo sítio de inoculação; 3. Nos vertebrados, o *T. cruzi* circula no sangue e multiplica-se nos tecidos; 4. Nos tecidos, o parasito se multiplica formando pseudocistos que se rompem levando a reação inflamatória e necrose. Alguns parasitos, sob a forma de tripomastigota, recirculam e voltam a se localizar em outras células, reiniciando o ciclo; 5. Os pacientes podem evoluir para três tipos principais de doença: A forma cardíaca, com miocardite crônica, insuficiência cardíaca e eventualmente morte súbita, por arritmia cardíaca; A forma digestiva, com megaesôfago e megacólon e a forma mista com cardiopatia e aumento exagerado do esôfago ou cólon simultaneamente.

(Fonte: Argolo et al., 2008).

Vários fatores de risco podem influenciar na transmissão vetorial tais como: a presença de indicadores ambientais no peridomicílio que se assemelham aos encontrados em ecótopos

artificiais, como galinheiros e cercas ou em amontoados de lenha e tijolos (LIMA et al., 2012), a presença de vegetação caracterizada pelas pastagens e vegetação nativa, facilitando a aproximação do vetor a áreas domiciliares (MAEDA et al., 2012; MENDES et al., 2013a; DUMONTEIL et al., 2013), residências apresentando frestas e cavidades das falhas de reboco (MENDES et al., 2013a; HOTEZ et al., 2014) e presença de mamíferos reservatórios de *T. cruzi* próximo às populações humanas (COURA, 2003; COUTINHO et al., 2014; SILVA et al., 2010).

Existem também fatores de risco intrínsecos aos vetores como espécies de triatomíneos autóctones; idade do triatomíneo (maiores taxas de infecções nos mais velhos), os índices de infecção, o número de parasitos eliminados, o percentual de formas infectantes e sua capacidade de penetração, a intensidade do prurido causado durante a picada e à capacidade de domiciliação do triatomíneo (COURA, 1988; COURA, 2007). A dinâmica de transmissão de *T. cruzi* ainda não é totalmente compreendida, na medida em que apresenta peculiaridades regionais, que interferem na interação deste parasito com seus hospedeiros e vetores (CUTRIM et al., 2010)

Entretanto, pode haver outras formas de transmissão, como a transfusão de sangue ou órgãos contaminados, que representam riscos de transmissão mínimos no Brasil, tendo sido estimados entre três e vinte ocorrências no contexto de mais de 4 milhões de transfusões anuais (DIAS, 2006). O controle dessa forma de transmissão consiste na fiscalização das unidades de hemoterapia, para que se garanta a qualidade do sangue a ser transfundido através da triagem sorológica de todos os doadores, com, pelo menos, duas técnicas de alta sensibilidade (RAMOS JUNIOR et al., 2009; BRASIL, 2012).

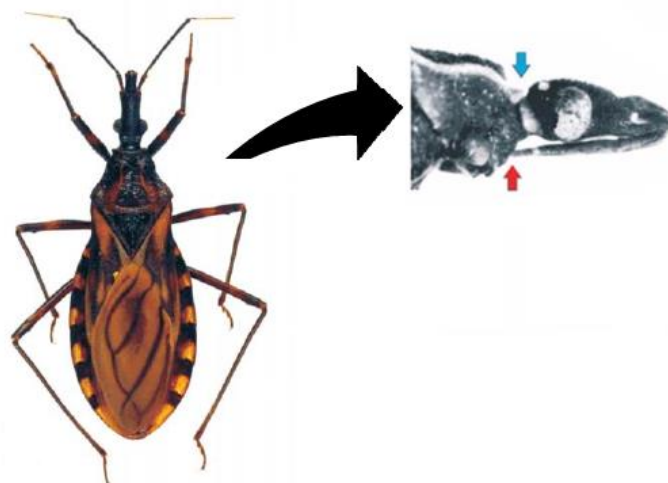
A transmissão por via oral ocorre através da ingestão, por mamíferos suscetíveis, de vetores e reservatórios infectados. No caso do homem, essa transmissão ocorre através de alimentos contaminados com o parasito, principalmente a partir de triatomíneos ou de suas dejeções (PASSOS et al., 2012; BARBOSA et al., 2012; GONTIJO; SANTOS, 2013) e, desde 2006, é considerada como potencial risco para a saúde pública no Brasil. Os casos mais recentes de transmissão da DC por alimento, no Brasil, estão relacionados ao consumo do suco de açaí fresco. Em 2007, 100 ocorrências da doença foram registradas no país, todas na região Norte (PASSOS et al., 2012). Pode ocorrer, também, através da ingestão de carne contaminada crua ou mal cozida de animais decorrentes da caça (RAMOS JUNIOR et al., 2009; GONTIJO; SANTOS, 2013).

Ademais, pode haver ainda transmissão por via acidental em laboratório, em caso de manipulação incorreta do agente etiológico ou na ausência de utilização de equipamentos de proteção individual (AMÓRA, 2004) e, ainda, pela transmissão congênita, que no Brasil oscila em torno de 1%, ampliando-se esta proporção para 4% e até 12% em outros países latino-americanos. Sua incidência tende francamente à redução nas áreas com controle vetorial e transfusional implementados. Por exemplo, dados controlados em Minas Gerais, mostraram prevalência acima de 30% em mulheres na década de 1950, baixando para 9% nos anos 1970 e para menos de 1% em 2006. Atualmente, o inquérito nacional entre menores de 5 anos, com mais de 100 mil amostras colhidas no Brasil, demonstrou taxa de infecção infantil abaixo de 0,02% (DIAS et al., 2011).

2.3 VETORES E SUA IMPORTÂNCIA NA MANUTENÇÃO DA DOENÇA EM UMA DETERMINADA ÁREA

Em geral, os triatomíneos, vetores de *T. cruzi*, tem tamanho entre 2 e 3 cm, mas podem variar de 0,5 a 4,5 cm. Sua cabeça é longa, os olhos salientes, as antenas implantadas nas laterais da cabeça e o rostro fica dobrado sobre a mesma, sendo curto e reto, não ultrapassando o primeiro par de pernas (Figura 3) (ARGOLO et al., 2008).

Figura 3. Exemplar de triatomíneo da espécie *Triatoma brasiliensis brasiliensis* e vista lateral da porção anterior de hemípteros hematófagos através de microscopia eletrônica. A seta azul indica a região do pescoço e a seta vermelha, o ápice do rostro.



(Fonte: Modificado de Lent e Wygodzinsky, 1979).

Os gêneros que mais se destacam no Brasil correspondem a *Panstrongylus*, *Triatoma* e *Rhodnius* (BRASIL, 2015; GALVÃO, 2009). Já no Nordeste brasileiro, quatro espécies são as mais importantes, em termos de importância para a saúde pública: *Panstrongylus megistus* (BRASIL, 2015; GURGEL-GONÇALVES et al., 2012a), *Triatoma brasiliensis* e *Triatoma pseudomaculata* (BRASIL, 2015). Essas espécies são as mais importantes na região da caatinga brasileira, com ampla distribuição espacial, potencial invasivo e ocupando lugar na cadeia doméstica, peridomiciliar e silvestre da DC (DIAS et al., 2000; SARQUIS et al., 2009).

São insetos de hematofagismo restrito, mas com ecletismo alimentar o que permite melhor sobrevivência (TARTAROTTI et al., 2004). Esse fato facilitou sua adaptação a domicílios e áreas circundantes (peridomicílio), em resposta as constantes alterações no ambiente natural provocadas pelas atividades antrópicas (ARGOLO et al., 2008). O homem, não só invadiu esses ecótopos, como também ofereceu abrigos propícios à instalação dos insetos vetores (BUSTAMANTE et al., 2014) como exemplo, presença de buracos e frestas na parede das residências (HURTADO et al., 2014), a falta de reboco (SANDOVAL-RUIZ et al., 2014) e a presença de matéria orgânica e/ou entulhos no peridomicílio (CARNEIRO et al., 2001; SAUNDERS et al., 2012).

Nesse sentido, destaca-se a importância que a zona rural exerce no contexto da transmissão, considerando a destruição da vegetação nativa para a agricultura e degradação ambiental, acarretando desequilíbrios nos ecossistemas (ARGOLO et al., 2008). Além desses fatores, nessas áreas é comum a presença de características que permitem o alojamento e a colonização pelo vetor (DIAS, 2007), isso porque a maior parte da população reside em casa de má qualidade e com escassez de política pública para melhoria da higienização (COSTA et al., 2007).

Outro exemplo que predispõe a persistência de focos de triatomíneos nas áreas rurais é a presença de galinheiros, currais, pocilgas (GASPE et al., 2013; LEVINE, 1973; SILVA et al., 2012) conferindo uma grande importância epidemiológica da DC na região, pois as instalações utilizadas para os animais servem também de abrigo para os barbeiros e os animais como fontes de alimento, além do acúmulo de matéria orgânica que permite o desenvolvimento do barbeiro (MENDES et al., 2008). Além disso, alguns triatomíneos que apresentam hábitos exclusivamente silvestres, podem se alimentar nesses ecótopos artificiais que os associam ao ambiente silvestre, passando a alimentar-se de hospedeiros peridomiciliares (STEINDEL et al. 1994) que podem também albergar o parasito (GURTNER et al., 2007). Dessa forma, uma

espécie considerada exclusivamente silvestre pode tornar-se domiciliada se as condições em que vive forem alteradas (BRASIL, 2015).

A identificação desses insetos é importante para o controle da DC pelo fato de permitir uma melhor análise da epidemiologia da doença, bem como entender aspectos da biologia do vetor e assim direcionar da melhor maneira possível às ações de controle vetorial (ARGOLO et al., 2008; FERREIRA; SOUTO, 2013).

2.4 PAPEL DO RESERVATÓRIO CANINO NO CICLO URBANO E RURAL DA DOENÇA DE CHAGAS

O parasito pode infectar o homem e mais de 150 espécies de mamíferos, entre eles, cães (ALMEIDA et al., 2013; CANTILLO-BARRAZA et al., 2015; GÜRTLER; CARDINAL, 2015), gatos (ENRIQUEZ et al., 2014), marsupiais (CANTILLO-BARRAZA et al., 2015), guaxinins (HANCOCK et al., 2005) e tatus (NELSON; COUTO, 2006). Contudo, no ciclo doméstico, observa-se o cão identificado como o principal reservatório do agente e uma importante sentinela da DC em uma região (CANTILLO-BARRAZA et al., 2015; PASCON et al., 2010; TOME et al., 2011), sendo constatado que, em casas com cães infectados o padrão de soropositividade dos membros da residência é maior do que de pessoas que residem em casas cujos animais não estão infectados (ALMEIDA et al., 2013).

Normalmente a infecção natural de cães por *T. cruzi* se dá pela transmissão oral devido ao hábito desses animais lamberem o ponto irritado pela picada ou ingerirem os insetos vetores (GÜRTLER et al., 2009).

Animais domésticos como os cães, muitas vezes são criados soltos no peridomicílio e devido à sua íntima relação com o ser humano podem acabar transportando em seus pêlos triatomíneos que podem se alojar no interior das residências encontrando condições ideais para seu desenvolvimento e sobrevivência (BUSTAMANTE et al., 2014; HURTADO et al., 2014; SAUNDERS et al., 2012). Em área rural, é comum também a prática da caça pelos cães aos roedores ou animais silvestres, nesse caso comendo animais parasitados e tecidos infectados (SOUZA et al., 2008). Dessa forma, esses cães de caça funcionam como porta de entrada de cepas silvestres de *T. cruzi* no habitat doméstico (ENRIQUEZ et al., 2014; RAMÍREZ et al., 2013).

Portanto, esses animais são capazes de fazer a intersecção entre os ciclos doméstico e silvestre do parasito (PASCON et al., 2010; TOME et al., 2011). A espécie canina é a única

capaz de desenvolver alterações patológicas crônicas semelhantes às detectadas em humanos o que permite que sobrevivam vários anos albergando o protozoário (BARR et al., 1995; GÜRTLER et al., 2007; SANTANA, 2011).

Na região Nordeste, pesquisa desenvolvida em áreas rurais do semiárido identificou a participação do cão como um potencial reservatório no ciclo epidemiológico do *T. cruzi*, com uma prevalência sorológica de 4,08% no município de Patos/PB em 2013 (MENDES et al., 2013b). No Ceará, o inquérito sorológico realizado em animais domiciliares e peridomiciliares demonstrou que a proporção de infecção em cães, 38% era muito superior, quando comparada a suínos, ovinos e gatos cujo percentual não passou de 6% (BEZERRA, 2013).

Com relação à zona urbana do município de Mossoró/RN em 2003 foi demonstrada uma incidência de DC em cães de 38% na área urbana (AMÓRA, 2004). Comparativamente em 2008 outro estudo evidenciou que essa incidência se manteve em níveis similares, 36% (OLIVEIRA et al., 2009), sendo observada uma redução dessa incidência, em 2010, para 3,97% (SILVA et al., 2011). Entretanto, apesar da redução na incidência da doença, esses dados demonstram a manutenção da transmissão de DC em área urbana, incitando a necessidade de conhecimento de prevalência e incidência mais precisas e atuais da doença.

Dessa forma, o manejo dos animais domésticos, por estarem mais próximos aos humanos, deve ser levado em consideração para definição de área de risco da transmissão da DC (GÜRTLER; CARDINAL, 2015), pois conforme seu deslocamento é possível determinar o grau de exposição desses animais ao ciclo de transmissão e sua proximidade com o domicílio (BEZERRA, 2013).

2.5 PREVENÇÃO E CONTROLE

Apesar do controle feito através de inseticidas (Figura 4), a melhor maneira de minimizar as infestações e, conseqüentemente a ocorrência da DC, ainda é a prevenção (ARGOLO et al., 2008) para isso é importante a participação comunitária, permitindo alcançar melhores resultados e evitar subnotificações, no entanto faz-se necessário que a população saiba reconhecer o triatomíneo e seu papel na transmissão do *T. cruzi* (SOUZA, 2015).

Figura 4. Ilustração de aplicação de inseticida piretróide para controle vetorial da doença de Chagas. O inseticida é aplicado em faixas verticais com 75 cm de largura. As faixas devem se sobrepor em cinco centímetros. O inseticida é aplicado do teto ao assoalho, em movimentos de cima para baixo, para completar uma faixa. Após, é dado um passo para o lado e aplicar de baixo para cima, do piso para o teto.



(Fonte: Ministério da Saúde, 1996)

Nesse contexto, a educação em saúde deve ser incluída como um componente dos programas de vigilância, enfatizando-se a importância dos triatomíneos como transmissores da DC; a melhoria das condições dos domicílios (ABAD-FRANCH et al., 2011), principalmente nas áreas rurais, onde ainda existem grande número de casas com construção inacabada que servem de abrigo para o triatomíneo, e hábitos de higiene da população. Essas medidas poderiam amenizar fatores favoráveis ao surgimento do vetor. Outra medida básica e não menos importante, é o cuidado com os animais domésticos evitando a entrada desses nas casas e mantendo seus abrigos livres de sujeiras e entulhos (ARGOLO et al., 2008).

Ainda sobre a educação em saúde deve considerar o contexto social e cultural da comunidade. Falha na vigilância e/ou controle de doenças parasitárias muitas vezes ocorre porque a comunidade, mesmo tendo informações básicas e preventivas, não pratica as medidas informadas (MORAES NETO et al., 2010). Porém, a utilização de metodologias educacionais adequadas favorece a transformação do conhecimento em atitudes e práticas preventivas pela comunidade que, efetivamente, passa a colaborar na vigilância e controle das doenças (BRICEÑO-LEÓN, 1996; PEREIRA et al., 2012; REIS et al., 2006).

Para isso a comunidade precisa ter acesso a ações específicas de comunicação e educação em saúde a longo prazo (ABAD-FRANCH et al., 2011), pois a vigilância

epidemiológica participativa e permanente constitui hoje o horizonte operacional para as medidas de vigilância e controle da doença (AMARANTE, 2011). A promoção à saúde, portanto, requer um conhecimento da população, principalmente no que tange às medidas direcionadas a prevenção e controle de tal endemia (PEREIRA et al., 2012).

Dentro desse contexto, deve-se atentar para a importância de políticas públicas de saúde efetivas direcionadas para o combate e controle da endemia e isso pode ser obtido através da implementação das ações de profissionais que trabalham diretamente com a população em risco (COLOSIO et al., 2008), como por exemplo os agentes comunitários de saúde (ACS). Entretanto, observa-se que há falta de capacitação desses profissionais para trabalhar junto à população em relação à DC (SILVA et al., 2013) que, por sua vez, se agrava com o perceptível desinteresse por parte dos moradores em relação ao conhecimento sobre o controle de doenças como a DC (FALAVIGNA-GUILHERME et al., 2002). Infelizmente, a falta de qualificação do ACS é uma realidade nacional (BACHILLI et al., 2008; MARZARI et al., 2011), que necessita ser superada, para que dessa forma os objetivos propostos pelas políticas públicas de saúde possam ser alcançados, principalmente em relação às doenças endêmicas como a DC (SILVA et al., 2013).

Além disso, outra forma de profilaxia fundamental é a melhoria habitacional em áreas endêmicas. Essa ação só é recomendada nos casos em que as habitações tenham condições físicas que favoreçam a colonização de triatomíneos associados à presença de vetores reconhecidamente colonizadores, aliados à dificuldade de êxito no controle desses vetores com inseticida. Para o controle específico de vetores que colonizam domicílios, o Ministério da Saúde adota algumas medidas, como utilização de inseticidas de ação residual (BRASIL, 2015).

3 JUSTIFICATIVA

Considerando que a DC é uma zoonose endêmica no município de Mossoró, Rio Grande do Norte, a presente pesquisa se justifica pela necessidade de determinar o impacto da infecção por *T. cruzi* em cães e triatomíneos no meio rural, sendo este ambiente considerado o de maior risco, pois há dificuldade para consolidação do controle vetorial nessas áreas, agravada pela presença de características que permitem o alojamento e a multiplicação do vetor. O mapeamento das áreas rurais de Mossoró com presença de triatomíneos e a definição de fatores de riscos presentes possibilitará a identificação de áreas mais vulneráveis a infecção pelo *T. cruzi* permitindo assim a definição de estratégias de vigilância epidemiológica e entomológica para controle efetivo da enfermidade. Outro benefício será o conhecimento do padrão de resposta dos cães à diferentes testes diagnósticos utilizados como diagnóstico sorológico para futura aplicação em estudos epidemiológicos caninos para este agravo.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Caracterizar aspectos entomológicos e epidemiológicos relacionados à doença de Chagas canina em área rural no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

4.2 ESPECÍFICOS

Confirmar a presença e verificar a taxa de infecção natural por *T. cruzi* em triatomíneos capturados em área rural do Município de Mossoró com histórico de captura de triatomíneos entre os anos 2008 a 2012;

Classificar os principais gêneros e espécies de triatomíneos capturados em área rural do Município de Mossoró com histórico de captura de triatomíneos entre os anos 2008 a 2012;

Determinar a distribuição geográfica de triatomíneos nas propriedades rurais com histórico de captura de triatomíneos entre os anos 2008 a 2012;

Pesquisar a presença de anticorpos anti-*T. cruzi* em cães domiciliados na área rural do Município de Mossoró;

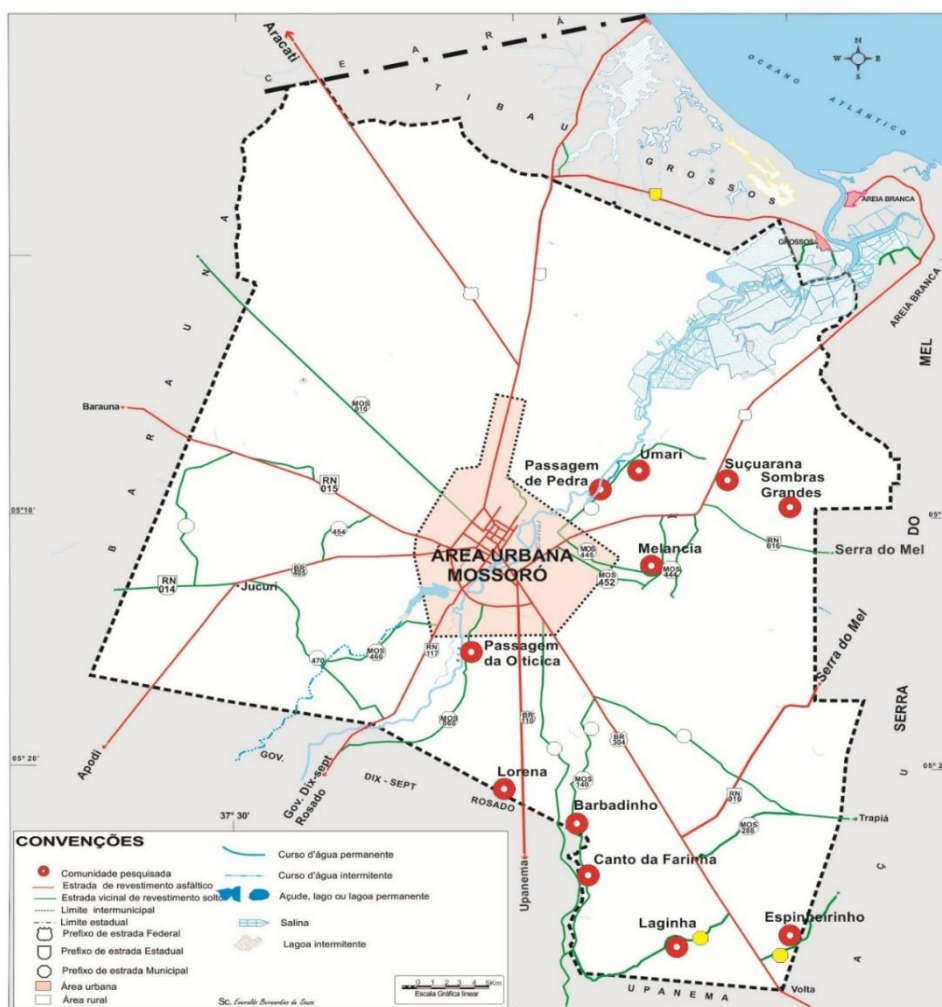
Investigar a relação entre a presença e infecção por *T. cruzi* em triatomíneos e a soropositividade dos cães domiciliados na área de estudo.

5 METODOLOGIA

5.1 ÁREA DE ESTUDO

O trabalho foi desenvolvido no Município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte, mais especificamente em 11 propriedades rurais (Figura 5) com registros de captura de triatomíneos, segundo dados da Secretaria Municipal de Vigilância à Saúde, sendo abaixo elencadas: Assentamento Sussuarana, Sítio Umari, Sítio Sombra Grande, Assentamento Melancias, Sítio Passagem de Oiticica, Assentamento Laginha, Sítio Canto da Farinha, Assentamento Lorena, Sítio Barbadinho, Assentamento Espinheirinho e Assentamento Passagem de Pedra.

Figura 5. Localização das propriedades rurais do Município de Mossoró, Rio Grande do Norte com histórico de captura de triatomíneos entre os anos de 2008 a 2012.



(Fonte: SOUZA, 2014)

5.2 PESQUISA ENTOMOLÓGICA ATIVA

A pesquisa ativa consiste em um sistema estruturado de notificação, pela própria população, da presença de triatomíneos nas habitações e, com apoio institucional regular, é considerado o método mais sensível para o monitoramento de infestação domiciliar (BRASIL, 2014).

Dessa forma, para a pesquisa e coleta dos triatomíneos nas residências, foi solicitada autorização expressa do responsável maior de 18 anos por meio da leitura e preenchimento de um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (APÊNDICE 01). Adicionalmente, esclarecimentos sobre a cadeia epidemiológica da doença e a importância de medidas pessoais de prevenção foram apresentados aos moradores de cada casa participante, além da apresentação de exemplares de espécimes de triatomíneos para facilitar o reconhecimento do inseto e captura. Os moradores também foram orientados sobre os procedimentos adequados para captura e receberam um frasco de polietileno contendo furos na tampa, para melhor preservação dos insetos e etiqueta para identificação.

Os triatomíneos capturados no intra e peridomicílio, depois de devidamente acondicionados e identificado o local de captura, eram encaminhados para Fundação Oswaldo Cruz.

5.3 IDENTIFICAÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS

A identificação das espécies de triatomíneos adultos foi realizada no Laboratório de Transmissores de Leishmanioses do Setor de Entomologia Médica e Forense do Instituto Oswaldo Cruz seguindo os critérios taxonômicos de Lent e Wygodzinski (1979). Para isso utilizou-se como critérios básicos, os caracteres morfológicos externos e cromáticos, observados através da microscopia óptica, aliados às informações da distribuição geográfica. Dessa forma, os caracteres morfológicos e morfométricos foram o ponto de partida para a identificação dos exemplares machos e fêmeas de triatomíneos.

5.4 PESQUISA DE *T. cruzi* EM TRIATOMÍNEOS

Todos os espécimes de triatomíneos capturados (adultos e ninfas) foram encaminhados para o Laboratório de Imunomodulação e Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-RJ), para pesquisa de *T. cruzi* utilizando a técnica hemocultivo e PCR seguindo os critérios do referido laboratório, conforme descrito a seguir:

5.4.1 Hemocultivo

Para o isolamento dos parasitos os espécimes recebidos foram desinfetados individualmente em solução de Hibitane® (Gluconato de clorohexedine a 5%, um sachê de 10mL diluído em 1 litro de água destilada) e, em seguida, submetidas à compressão do abdome para retirada do conteúdo da ampola retal, sob condições assépticas. Parte desse conteúdo foi diluído em 3mL meio de cultura LIT (Liver Infusion Tryptose) suplementado com 10% de soro fetal bovino e penicilina (10.000U/mL), semeado em tubos contendo meio de cultura NNN (Novy MacNeal, e Nicolle) e mantidos e estufa incubadora B.O.D (FANEM, modelo 347) a 27 °C. As culturas foram examinadas semanalmente entre lâmina e lamínula em microscópio de luz modelo Axioplan 2 (Zeiss).

5.4.2 Extração de DNA

Parte do material obtido dos insetos foi processado também para detecção de kDNA dos parasitos por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR).

Para esse procedimento o conteúdo intestinal dos insetos foi sedimentado por centrifugação a 4.000 rpm por 10 minutos, lavados duas vezes com tampão fosfato (PBS) pH 7,4 nas mesmas condições de centrifugação e o sedimento ressuspensão em tampão de lise contendo 50 mM de Tris-HCl pH 8,0; 50 mM de NaCl; 50 mM de EDTA e 1% de SDS. A essa mistura foi adicionada Proteinase K (Sigma) numa concentração final de 100µg/mL e a suspensão incubada a 56 °C por duas horas. O DNA foi purificado utilizando fenol, seguido de uma mistura clorofórmio álcool isoamílico (23:1). A seguir o DNA foi precipitado com 2volumes de etanol absoluto. A solução foi centrifugada a 13.000 rpm por 15 minutos. O DNA extraído foi seco à temperatura ambiente e diluído em água ultrapura e estocada em freezer -20 °C até a realização da PCR (SAMBROOK; RUSSELL, 2006)

5.4.3 Detecção de kDNA

As PCR foram realizadas com primers específicos para *T. cruzi* (5' ASTCGGCTGATCGTTTTCGA 3' e 5' AATTCCTCCAAGCAGCGGATA 3'). A reação foi realizada em equipamento *Step One Plus*, utilizando um protocolo rápido que consistiu de 20 segundos a 95 °C seguindo de 40 ciclos com 3 segundos a 95 °C e 30 segundos a 60 °C. Como controle negativo foi utilizada água ultrapura e o controle positivo foi feito com DNA obtido de cultura axênica de *T. cruzi* cepa Y. Os produtos amplificados foram submetidos à

eletroforese em Gel de Agarose a 1,5% e corados com GelRed™ (Biotium), usando como condutor de corrente elétrica o tampão TBE 1x.

5.5 PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*T. cruzi* EM CÃES DOMICILIADOS

Nas mesmas residências onde houve a busca do vetor e foi identificada a presença de cães domiciliados, após preenchimento do TCLE e autorização do responsável pelo cão, os animais foram submetidos à contenção física e, após a antissepsia local com álcool iodado foi coletado 5 mL de sangue por venopunção. Para obtenção de soro os tubos foram submetidos a uma inclinação de 45°, por duas horas sob refrigeração, a seguir foram centrifugados e os soros obtidos acondicionados em tubos tipo *eppendorf*, devidamente identificados e submetidos a um congelamento de -20 °C até o processamento das amostras para realização dos testes sorológicos para pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. cruzi* pelas técnicas de Imunoabsorção Enzimática (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay - ELISA) e Imunofluorescência Indireta (IFI). Os cães também foram catalogados em fichas de identificação individual (APÊNDICE 02) buscando traçar um perfil desses animais.

Os testes sorológicos foram conduzidos em parceria com o Laboratório de Imunomodulação do Departamento de Protozoologia da FIOCRUZ-RJ, seguindo os critérios do referido laboratório.

O IFI foi realizado utilizando o Kit comercial IFI-Chagas Bio-Manguinhos (FIOCRUZ, RJ, Brasil) adaptado segundo Camargo, 1966. Foram utilizadas lâminas de imunofluorescência com antígeno total de *T. cruzi*, confeccionadas no Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ/RJ). Os soros foram diluídos serialmente em uma proporção decrescente de 2x (1:10-1:320) em solução salina tamponada, como triagem da reação e, imediatamente testadas para anticorpos anti-IgG para *T. cruzi*. As reações foram reveladas usando-se um anti-anticorpo anti-çã conjugado com isotianato de fluoresceína (FITC – Sigma) e a leitura realizada em microscópio de luz ultravioleta. Havendo positividade, o soro foi novamente diluído até a última diluição onde ainda se observava fluorescência. Foram considerados positivos os títulos com fluorescência a partir da diluição 1:40, conforme sugerido pelo Ministério da Saúde.

Para o ELISA utilizamos o Kit comercial EIE-Chagas BioManguinhos (Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil), com exceção do anti-anticorpo que utilizou-se o anti-IgG de cão conjugado com peroxidase. As placas de poliestireno de 96 poços sensibilizadas com antígeno total de *T. cruzi* receberam amostras diluídas na concentração de 1/100, foi evidenciada a reação pela

adição do cromógeno tetrametilbenzidina e a leitura realizada em espectrofotômetro à 450nm. Os controles foram estabelecidos a partir de soros de cães sabidamente infectados e não infectados. Foram consideradas sororreagentes as amostras que apresentaram uma densidade óptica maior que a linha de corte (cut-off) obtida em cada reação.

Foram consideradas amostras positivas aquelas cujos soros foram reagentes em ambos os testes sorológicos.

5.6 MAPEAMENTO DA ÁREA DE CAPTURA DE VETORES

Nas propriedades rurais submetidas ao estudo, com auxílio de um Sistema de Posicionamento Global (GPS) - Garmim Etrex, foram obtidas as coordenadas geográficas de cada residência onde houve captura entomológica. As coordenadas obtidas foram convertidas com projeção UTM, DATUM WGS-84, e então foi confeccionado um mapa temático da área de estudo utilizado o software Quantum GIS 2.8.3 (BRASIL, 2015).

5.7 ANÁLISES DOS DADOS

Com a relação à captura dos triatomíneos, os dados foram expressos em forma de indicadores entomológicos, conforme preconiza o Ministério da Saúde, sendo: índice de infestação domiciliar (ID), taxa de colonização (TC) e taxa de aglomeração (TA) (Quadro 1).

Quadro 1. Indicadores entomológicos e valores relativos para áreas de captura de triatomíneos em áreas em risco de transmissão de DC no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

ID = $\frac{\text{número de UD positivas}}{\text{número de casas pesquisadas}} \times 100$	
TC = $\frac{\text{número de ninfas coletadas no intradomicílio}}{\text{número de triatomíneos coletados no intradomicílio}} \times 100$	
TA = $\frac{\text{número de exemplares capturados}}{\text{número de UD infestadas}} \times 100$	

O coeficiente *Kappa* (κ) foi utilizado para avaliar a concordância entre os testes, sendo que para a obtenção desse coeficiente, os resultados das amostras submetidas aos testes sorológicos foram organizados em uma tabela de contingência 2x2 (Tabela 1). Para determinar a validade, adotou-se como padrão ouro a técnica de ELISA (ENRIQUEZ et al., 2013; LAURICELLA et al., 1998; MORAIS et al., 2013).

Tabela 1. Modelo de tabela de contingência para obtenção do coeficiente *Kappa*.

Testes	ELISA	
	Positivo	Negativo
IFI	Positivo	VP (+, +) = (a) FP (-, +) = (b)
	Negativo	FN (+, -) = (c) VN (-, -) = (d)

(Fonte: ANDRADE; ZICHER, 1997)

Após a obtenção da tabela, foram utilizadas as fórmulas e valores citados por Andrade e Zicher (1997) apresentados abaixo. Onde: *K* = índice de concordância (*Kappa*), *P_o*: proporção de concordâncias observadas e *P_e*: proporção de concordância esperada (Quadro 2).

Quadro 2. Fórmulas para Proporção de concordância observada e concordância esperada para obtenção do coeficiente *Kappa* a partir dos resultados obtidos na tabela de contingência.

$P_o = \frac{a+d}{a+b+c+d}$
$P_e = \frac{\{(a+b)(a+c)\} + \{(d+b)(d+c)\}}{(a+b+c+d)^2}$
$K = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$

P_o: proporção de concordâncias observadas; *P_e*: proporção de concordância esperada; *K* = índice de concordância (*Kappa*).

A tabela 2 indica o tipo de concordância a ser considerada a partir dos valores de *Kappa* obtidos, segundo Andrade e Zicher (1997).

Tabela 2 - Relação entre os valores de *Kappa* encontrados e os respectivos tipos de concordância entre os testes analisados

<i>Kappa</i>	Concordância
<0,00	Ruim
0,00-0,20	Fraca
0,21-0,40	Sofrível
0,41-0,60	Regular
0,61-0,80	Boa
0,81-0,99	Ótima
1,00	Perfeita

(Fonte: ANDRADE; ZICHER, 1997)

Os dados destinados a análise estatística foram obtidos a partir da ficha de identificação dos cães, resultados da sorologia das amostras de soro sanguíneo dos cães e da captura e infecção de triatomíneos vetores por *T. cruzi*. Dessa forma, esses dados foram digitados em planilha eletrônica e transferidos para o software estatístico SPSS 21.0 (*Statistical Package for*

the Social Sciences) sendo posteriormente codificados para realização das análises. As variáveis foram avaliadas, obtendo-se *odds ratio* (OR), intervalos de confiança de 95%, e significância determinada através do teste do Qui-Quadrado (χ^2) e exato de Fisher. Este último, por sua vez, foi utilizado sempre que se verificassem valores com frequência esperada inferior a 5. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

6 QUESTÕES ÉTICAS

Os protocolos envolvendo seres humanos foram aprovados pelo Comitê em Pesquisa da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte sob registro CAAE 23070214.2.0000.5294 (ANEXO 1). Os protocolos que envolvem manejo dos animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFRSA sob parecer 62/2012 - Proc. 23091.002190/2012-75 (ANEXO 2).

Capítulo

INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) EM TRIATOMÍNEOS E SOROPOSITIVIDADE DE CÃES DE ÁREA RURAL E ENDÊMICA PARA DOENÇA DE CHAGAS NO NORDESTE DO BRASIL

Journal of Medical Entomology, Qualis B1 para a área de Ciências Ambientais

Resumo

A doença de Chagas (DC) causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* tem os cães domésticos como principais reservatórios da doença, ocorrendo, sobretudo em áreas rurais com características favoráveis a instalação e proliferação do vetor. Objetivou-se realizar um levantamento e mapeamento da fauna e pesquisa da infecção por *T. cruzi* em triatomíneos, além de inquérito sorológico para anticorpos anti-*T. cruzi* em cães em área rural com histórico de captura de triatomíneos no Nordeste do Brasil. Foi realizada pesquisa entomológica ativa e identificação dos espécimes adultos através de chave dicotômica para morfologia externa. A pesquisa de infecção natural por *T. cruzi* nos insetos foi realizada por isolamento em cultivo e PCR. A pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* em cães utilizou os métodos ELISA e IFI. Foram capturados 68 triatomíneos, com predominância da espécie *Triatoma brasiliensis brasiliensis*. O mapeamento demonstrou as áreas de maior risco para transmissão do parasito. Dos triatomíneos examinados (51 exemplares) 41,17% (21/51) foram positivos na PCR e todos negativos no cultivo. No diagnóstico sorológico, 11% (25/218) dos cães foram sororreagentes, mas não houve associação entre o resultado da sorologia com a presença e infecção por *T. cruzi* nos triatomíneos. O estudo demonstrou a circulação de *T. cruzi* na área estudada, pela presença de vetores e reservatórios domésticos naturalmente infectados. Assim, conclui-se que a área rural estudada apresenta potencial risco de transmissão de DC.

Palavras-chave: Doença de Chagas, vigilância epidemiológica, vetor, reservatório doméstico.

A doença de Chagas (DC) é uma antropozoonose causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1916, Souza et al. 2008), essa doença é considerada um problema de saúde pública com consequências diretas sobre a saúde do homem e animais em diversos países (Borchhardt et al. 2010). O ciclo de vida do parasito inclui a passagem obrigatória por um hospedeiro mamífero e um invertebrado, sendo este parasito transmitido, principalmente, através de triatomíneos, insetos vetores da família Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), conhecidos como barbeiros (Reis et al. 2012). Esse mecanismo de transmissão vetorial ocorre pela contaminação da pele ou mucosas pelas fezes contaminadas desses insetos hematófagos (Almeida et al. 2013).

As espécies de triatomíneos responsáveis pela transmissão de DC no Brasil apresentam ampla distribuição espacial e potencial invasivo, facilitando sua adaptação a domicílios e áreas circundantes (Argolo et al., 2008). A presença do vetor pode ser ainda facilitada em resposta a forma como a população ocupa e explora o ambiente em que vive (Grijalva; Terán; Dangles, 2014). Alterações constantes no meio natural provocadas por atividades antrópicas, principalmente em áreas rurais, acarretam desequilíbrios nos ecossistemas levando a modificações no comportamento dos insetos vetores que passam a adentrar o ambiente domiciliar à procura de abrigo e alimento (Bustamante et al., 2014).

Dessa forma, as pessoas mais afetadas pela DC são as que vivem em ambientes com características predominantemente rurais (Dias et al., 2000; Dias et al., 2011; Martins, 1968; Noireau et al., 2005). Nesse contexto, o ciclo doméstico do parasito em áreas rurais é o de maior importância epidemiológica na transmissão da DC por permitir a manutenção da infecção humana (Dias et al., 2008). Desse modo, os animais domésticos, principalmente cães, tem importante papel epidemiológico porque podem servir como um elo entre os ciclos doméstico e silvestre de *T. cruzi*, além de serem identificados como importantes sentinelas da doença (Pascon et al., 2010; Tome et al., 2011; Pascon et al., 2010; Tome et al., 2011; Gurtler et al., 2014). Em residências com cães infectados o padrão de soropositividade dos moradores é maior do que o observado em residências cujos animais não estão infectados (Mott et al., 1979; Almeida et al., 2013). Segundo alguns autores, os cães destacam-se como reservatórios do *T. cruzi*, estando e estão diretamente relacionados com a maioria dos casos de infecção humana (Gurtler; Cardial 2015; Mendes et al., 2013; Umezawa et al., 2009).

Todavia, para uma melhor compreensão da epidemiologia dessa doença, não só a infecção nos animais precisa ser estudada, como também se têm a identificação dos insetos vetores como uma medida essencial, por permitir entender aspectos da biologia e

comportamento dos vetores de cada região (Argolo et al., 2008, Ferreira; Souto, 2013). Além disso, a pesquisa da infecção do vetor é crucial para avaliar o risco de transmissão da doença para humanos e animais domésticos (Herrera et al., 2015). Uma ferramenta que atualmente vem sendo usada no desenvolvimento de estudos epidemiológicos de doenças vetoriais é o mapeamento da distribuição dos seus vetores, a partir de sistemas de informações geográficas, permitindo identificar áreas mais vulneráveis por intermédio da observação da distribuição espacial de situações de risco a ocorrência desses insetos (Passos et al., 2012).

Dessa forma, no presente estudo objetivou realizar o levantamento da fauna e pesquisa da infecção por *T. cruzi* em triatomíneos e anticorpos anti-*T. cruzi* em cães em área rural do Nordeste do Brasil, bem como mapear a distribuição desses vetores na área estudada e analisar possíveis indicadores de risco para a infecção chagásica em cães.

Material e Métodos

Área de Estudo e Definição da Amostra

A pesquisa foi realizada na área rural do município de Mossoró, situado no interior do estado do Rio Grande do Norte, na mesorregião do Oeste Potiguar e microrregião homônima, Região Nordeste do Brasil. A área rural estudada equivale a 11 propriedades rurais que apresentam histórico de captura de triatomíneos entre os anos de 2008 a 2012, segundo o Departamento Municipal de Vigilância à Saúde do município.

Foram visitadas 279 residências das comunidades rurais no período de março a julho de 2014, e nas residências cujos responsáveis aceitaram participar da pesquisa, foi solicitada a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelo morador responsável ou maior de 18 anos presente, autorizando a realização dos procedimentos metodológicos.

O projeto foi aprovado pelo Comitê em Pesquisa da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (CAAE 23070214.2.0000.5294) e pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (Parecer 62/2012 - Proc. 23091.002190/2012-75).

Pesquisa Entomológica Ativa

A coleta entomológica consistiu em um sistema de notificação e coleta realizado pela própria população, sobre a presença de triatomíneos nas habitações, portanto esse método

permitiu realizar o monitoramento da infestação domiciliar através da colaboração da comunidade local (Brasil 1980).

Antes do início das coletas foi apresentada população exemplares de diferentes espécimes de triatomíneos para facilitar o reconhecimento do inseto e sua captura. Além disso, os moradores foram orientados sobre os procedimentos adequados para a coleta. Nas residências cujos responsáveis aceitaram participar da pesquisa foi entregue um frasco de polietileno contendo furos na tampa, para melhor preservação dos insetos.

Identificação dos Vetores

Os triatomíneos, devidamente acondicionados, foram encaminhados para o Laboratório de Transmissores de Leishmanioses do Setor de Entomologia Médica e Forense da Fundação Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/RJ e identificados pela observação de seus caracteres morfológicos externos, utilizando a chave dicotômica segundo Lent & Wygodzinsky (1979).

Pesquisa da Infecção Natural por *T. cruzi*

Para a detecção de *T. cruzi*, os conteúdos intestinais dos triatomíneos obtidos por compressão abdominal foram diluídos em solução salina tamponada pH 7.0 e processados para realização das técnicas de isolamento do parasito em cultura e PCR, no Laboratório de Imunomodulação e Protozoologia da FIOCRUZ/RJ.

Para o isolamento, o conteúdo obtido foi semeado em tubos contendo meio de cultura bifásico Novy-McNeal-Nicole (NNN) + Liver Infusion Tryptose (LIT) suplementado com 10% de soro fetal bovino e penicilina (10.000U/mL). Os tubos foram mantidos em estufa incubadora B.O.D. (FANEM, modelo 347) a 27 °C. As culturas foram examinadas semanalmente entre lâmina e lamínula em microscópio de luz modelo Axioplan 2 (Zeiss®), por quatro meses para verificação de positividade.

Para a detecção de DNA de *T. cruzi*, no momento da dissecação dos insetos, alíquotas das suspensões fecais foram colocadas, individualmente, em tubos tipo “*eppendorfs*”, armazenadas a -20 °C e, posteriormente, processadas para realização da técnica de PCR. O DNA foi extraído pela técnica fenol clorofórmio (Sambrook e Russell 2006) e em seguida submetido a PCR com primers específicos para *T. cruzi* (5’ ASTCGGCTGATCGTTTTTCTGA 3’ e 5’ AATTCCTCCAAGCAGCGGATA 3’). A reação foi realizada em equipamento *Step One Plus*, utilizando um protocolo rápido que consistiu de 20 segundos a 95 °C seguindo de 40 ciclos com 3 segundos a 95 °C e 30 segundos a 60 °C. Como controle negativo foi utilizada

água ultrapura e o controle positivo foi feito com DNA obtido de cultura axênica de *T. cruzi* cepa Y. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em Gel de Agarose a 1,5% e corados com GelRed™ (Biotium), usando como condutor de corrente elétrica o tampão TBE 1x.

Pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* em cães domiciliados

Foram coletadas amostras de sangue de 218 cães domiciliados provenientes de 135 residências em onze comunidades da área rural do Município de Mossoró, RN. As amostras, após centrifugação para obtenção do soro, foram armazenadas em tubos e acondicionadas à temperatura de -20 °C até o momento da realização dos testes. Foram realizados os testes de ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunofluorescência indireta (IFI) no Laboratório de Imunomodulação e Protozoologia da FIOCRUZ/RJ.

Na pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. cruzi* por IFI foram utilizadas lâminas de imunofluorescência com antígeno total de *T. cruzi*, confeccionadas no Laboratório de Biologia de Tripanosomatídeos do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ/RJ). Soro canino, previamente testado, sabidamente positivo e soros de cães oriundos de área não endêmica para a doença foram utilizados como controle positivo e controle negativo, respectivamente. Utilizou-se como conjugado anti-IgG de cão (FITC, Sigma™). A técnica foi realizada de acordo com Camargo (1966). Foram considerados positivos soros com titulação $\leq 1:40$.

Para o ELISA foi utilizado o kit comercial produzido por BioManguinhos, FIOCRUZ e o conjugado anti-IgG de cão (Peroxidase, Sigma™). Foram consideradas sororreagentes as amostras que apresentaram uma densidade óptica (DO) maior que a linha de corte (cut-off) obtida em cada reação.

Conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde para o diagnóstico da DC humana foram consideradas positivas as amostras reagentes nos dois testes sorológicos.

Análise dos Dados

Os dados destinados à análise estatística foram obtidos a partir da ficha de identificação dos cães, resultado da sorologia das amostras de sangues dos cães e da presença e infecção natural por *T. cruzi* em triatomíneos vetores.

Para validação dos testes sorológicos, os resultados do teste IFI foram comparados com os de um teste padrão e a análise de concordância foi baseada no coeficiente *kappa* (κ)

(Andrade; Zicher, 1997). Adotou-se como padrão ouro a técnica ELISA (Enriquez et al., 2013; Lauricella et al., 1998; Moraes et al., 2013).

Os dados foram digitados em planilha eletrônica e foram transferidos para o software estatístico Statistical Package for the Social Sciences versão 21.0 sendo posteriormente codificados para realização das análises. O resultado das variáveis foi contabilizado por residência, obtendo-se odds ratio (OR), intervalos de confiança de 95%, e significância determinada através do teste do Qui-Quadrado (χ^2). Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos.

Mapeamento das Áreas de Captura de Triatomíneos

A distribuição espacial dos triatomíneos se deu a partir da obtenção das coordenadas geográficas (latitude e longitude) dos locais de captura dos mesmos utilizando um Sistema de posicionamento global (GPS) – Garmim Etrex no sistema Universal Transverso de Mercator (UTM), usando o WGS-84 (ou SIRGAS 2000). Para elaboração do mapa temático da área de estudo foi utilizado o software livre Quantum GIS 2.8.3 (Brasil 2015).

Indicadores Entomológicos

Os indicadores entomológicos utilizados são expressos através do índice de infestação domiciliar (ID), taxa de colonização (TC) (Brasil 1980) e taxa de aglomeração (TA) (Quadro 1), sendo este último indicativo da concentração de exemplares no domicílio (Silva et al. 2007).

Resultados

Foram visitadas 279 residências, nas quais foram capturados 68 espécimes de triatomíneos e coletado 218 amostras de sangue de cães domiciliados.

Dos triatomíneos capturados, 25 correspondiam a ninfas de estágio não determinado e 43 adultos, sendo identificados como: 69,76% (30/43) *Triatoma brasiliensis brasiliensis* (Neiva 1911), 23,25% (10/43) *Triatoma pseudomaculata* (Corrêa e Espínola 1964), 4,65% (2/43) *Rhodnius nasutus* (Stal 1859) e 2,32% (1/43) *Panstrongylus lutzi* (Neiva e Pinto 1923), conforme demonstrado na tabela 1. Com relação à coleta dos triatomíneos a Tabela 2 mostra os locais onde, segundo os moradores, foram realizadas as capturas de vetores. Dos 68 espécimes capturados, 51 (75%) estavam em condições adequadas para obtenção de conteúdo intestinal

para pesquisa de *T. cruzi* pelas técnicas de isolamento em cultura e PCR, sendo 24 exemplares adultos de *T. b. brasiliensis*, um exemplar de *T. pseudomaculata*, um de *R. nasutus* e 25 ninfas. As tentativas de isolamento de *T. cruzi* em cultura foram negativas em todos os espécimes de triatomíneos examinados, contudo, 41,17% (21/51) das amostras foram positivas pela PCR (Figura 1).

O resultado dos testes sorológicos dos cães domiciliados, mostra que foram avaliadas 218 amostras provenientes de 135 residências. Destas, 25 (11%) foram sororreagentes pelos dois testes (ELISA e IFI). Na análise de concordância o valor do índice *kappa* foi de 0,27 o que traduz uma concordância sofrível entre os testes, segundo Andrade e Zicher (1997).

Não foi observada associação entre o resultado sorológico e a presença e infecção por *T. cruzi* em triatomíneos (Tabela 3). O mesmo foi observado em relação a fatores como o sexo, a idade, a função, a presença de abrigo para os cães e os contactantes dos mesmos (Tabela 4).

Os vetores estavam distribuídos em oito das 11 propriedades rurais incluídas no estudo, conforme pode ser evidenciado na figura 2.

Discussão

A transmissão da DC é, sem dúvida, influenciada por fatores socioculturais, políticos, econômicos, ambientais e históricos (Catalá et al. 2004 e Ventura-Garcia et al. 2013). Portanto, a ocorrência dessa doença reflete a forma como a população ocupa e explora o ambiente em que vive (Grijalva et al. 2014). Estudos apontam que o conhecimento sobre o vetor da DC em área endêmica é frequentemente pobre e isso implica em ineficácia de programas de intervenção (Freitas et al. 2014, Maeda e Gurgel-Gonçalves 2012, Sousa et al. 2011, Sousa 2015, Urioste-Stone et al. 2015). Portanto, a atuação das equipes dos programas de controle nessas áreas deve ter foco em medidas preventivas e educativas adaptadas ao contexto local (Freitas et al. 2014), esclarecendo a importância do trabalho de captura e notificação no combate ao vetor para controle da doença (Villela et al. 2009).

As espécies encontradas no presente estudo encontram-se também distribuídas em outros estados do Brasil (Argolo et al. 2008, Costa et al. 2011, Gurgel-Gonçalves et al. 2010), mas a região nordeste do Brasil é considerada o epicentro de dispersão de *T. brasiliensis* e de *T. pseudomaculata* (Rocha et al. 2007). Já a distribuição geográfica de *R. nasutus* e *P. lutz* é restrita para algumas regiões do Nordeste do país, sendo *R. nasutus* frequentemente capturado no peridomicílio de residências (Vasconcelos 2013). Enquanto *P. lutz* ocorre comumente no

ambiente doméstico e silvestre (Silva et al. 2012), sendo apontada por fazer interseção entre os ciclos de transmissão silvestres e domésticos do parasito (Martins et al. 2015).

Estudos demonstram que *T. brasiliensis* é o vetor de *T. cruzi* mais importante na região nordeste do Brasil, com elevados índices de infecção (Costa et al. 2011, Coutinho et al. 2014 e Valença-Barbosa et al. 2014). Esse fato está atribuído à adaptabilidade dessa espécie às condições de temperatura e umidade da região Nordeste, caracterizando um clima quente e seco, com chuvas em poucos meses no ano (Souza et al. 2015). Essa espécie de triatomíneo apresenta alta adaptabilidade ao habitat humano, sendo classificado como espécie doméstica pela presença domiciliar de adultos e ninfas, ovos e exúvias, tendo ainda ampla distribuição geográfica no Brasil (Waleckx et al. 2015b), corroborando com o presente estudo, no qual observou a presença intradomiciliar e peridomiciliar da mesma espécie. Como espécie doméstica compreende-se que a adaptabilidade dessa espécie à área domiciliar pode também restringir sua fonte alimentar às espécies domésticas ou de produção presentes no peridomicílio e animais sinantrópicos (Waleckx et al., 2015b). Portanto, a infecção por *T. cruzi* nessa espécie de vetor pode ser determinante para o estabelecimento da infecção em seres humanos e animais domésticos.

Triatoma pseudomaculata, por sua vez, também registrado nas capturas deste estudo apresenta grande importância para a vigilância epidemiológica da doença, sendo a espécie mais frequente, após *T. brasiliensis* (Gurgel-Gonçalves et al. 2010, Mendes et al. 2013). Essa espécie costuma abrigar-se em telhados e outros locais da residência que recebem mais sol (Coutinho et al. 2014) estando bem adaptado as altas temperaturas observadas na região estudada, tornando essas áreas mais vulneráveis à transmissão do *T. cruzi* (Vinhaes et al. 2014). Vale ressaltar que conforme constatado pelo presente estudo, a espécie foi capturada no intradomicílio e em ecótopos artificiais presentes no peridomicílio, como galinheiros, cercas e/ou em amontoados de lenha e tijolos, corroborando com dados mostrados por Lima et al., 2012.

No que diz respeito aos testes para detecção de *T. cruzi* em triatomíneos o resultado negativo expresso pelo isolamento em cultura pode estar associado a ausência de parasitos viáveis nas amostras inoculadas, estando esse fato diretamente ligado a dificuldade de manipulação e morte de triatomíneos (Bezerra e Neto 2010), ainda, pode estar associada a contaminação do meio de cultura inibindo o crescimento do parasito (Braz et al. 2013) e outra possibilidade é que algumas cepas de *T. cruzi* tenham um crescimento fastidioso em cultura (Castro et al. 2002). Contudo, a infecção dos triatomíneos ainda foi confirmada pela detecção

de DNA do parasito pela PCR em 41,17% das amostras analisadas, logo podemos inferir que o uso isolado da técnica de isolamento em cultura para investigação da presença de *T. cruzi* em amostras provenientes do trato intestinal de triatomíneos não é recomendado.

Contudo, o resultado da taxa de infecção natural de triatomíneos obtido na técnica molecular nessa pesquisa foi relativamente baixo quando comparado a outras áreas endêmicas, como na Colômbia, onde em estudo realizado na área rural de dois municípios foram capturados 116 triatomíneos da espécie *Triatoma maculata* e 71,6% deles estavam infectados (Cantillo-Barraza et al. 2015). Já nos Estados Unidos, 78% das amostras de triatomíneos correspondentes as espécies *Triatoma gerstaeckeri*, *Triatoma indictiva*, *Triatoma protracta* e *Triatoma sanguisuga* estavam infectadas por *T. cruzi* (Kjos et al. 2013) e em ambos estudos, na análise de fonte alimentar dos vetores, foi detectado ampla gama de espécies animais hospedeiras silvestres e domésticos e também seres humanos.

A variação no percentual da taxa de infecção por *T. cruzi* do presente estudo pode estar associado ao vetor predominante em cada região, uma vez que, cada gênero de triatomíneo possui preferência à determinados ecótopos naturais ou mesmo artificiais (Coutinho 2010, Coutinho et al. 2014) que podem torna-los mais susceptíveis a infecção. Por exemplo, Coutinho et al. (2014) observaram que há maior infecção natural por *T. cruzi* em triatomíneos abrigados em pilhas de madeira, pois esses locais funcionam como tocas de pequenos animais, como roedores e marsupiais que são reservatórios silvestres de *T. cruzi*. Esses animais, por sua vez, apresentam alta capacidade de contaminar o vetor quando estão infectados (Peterson et al. 2015), enquanto cães, gatos e seres humanos exibem infecciosidade muito menor ao triatomíneo (Enriquez et al. 2014).

Com relação ao diagnóstico da DC canina, o presente estudo optou utilizar testes sorológicos, pois, apesar da infecção primária por *T. cruzi* incluir uma fase inicial com alta parasitemia, essa fase dura curto período de tempo (Balan et al. 2011, Lauricella et al. 1996), ao passo que os anticorpos para *T. cruzi* persistem por longos períodos a níveis detectáveis (Enriquez et al. 2014, Gürtler et al. 2007). Todavia, atualmente, nenhum dos testes sorológicos é considerado como padrão ouro para esta enfermidade (Castillo-Neyra et al. 2015, Enriquez et al. 2013), portanto a utilização de duas técnicas na busca de um único diagnóstico permite a execução de uma sorologia confiável (Sessa et al. 2002) sendo empregado no presente estudo as técnicas ELISA e IFI. A variação na concordância entre os testes sorológicos pode ocorrer pela incidência de reatividade entre tripanossomatídeos intimamente relacionados, tais como *Trypanosoma rangeli* e *Leishmania sp.* (Matos et al. 2015, Morais et al. 2013, Nieto et al. 2009,

Umezawa et al. 2009) ou por outros fatores associados ao estado de saúde dos cães, como a má nutrição ou imunossupressão que pode refletir diretamente na titulação de anticorpos inespecíficos (Balan et al., 2011).

Dessa forma, a soropositividade do presente estudo (11,46%) mostrou-se inferior a encontrada em áreas com a presença de triatomíneos vetores sabidamente infectados, como no estudo de Cantillo-Barraza et al. (2015), citado anteriormente, que detectou 71,6% de cães soropositivos através das técnicas ELISA e IFI e no estado do Ceará, Brasil, Bezerra et al., (2014) observaram 38% de positividade pelos mesmos testes. Enquanto resultados semelhantes ao desse estudo foram observados no Peru, onde a soropositividade de cães foi 12,3% pelas técnicas ELISA e TESA-blot e o principal vetor apontado como potencial transmissor do parasito na região foi *Triatoma infestans* com taxa de infecção de 17,4% (Castillo-Neyra et al., 2015) e na Costa Norte do Chile a soropositividade obtida foi 10,34% pela técnica de ELISA com o vetor *Mepraia gajardoi* apresentando taxa de infecção 5,8% (González et al., 2015). A diferença na soropositividade dos estudos pode estar associada a abundância de determinadas espécies de vetor em cada região, baseado nas condições climáticas, ambientais e geográficas ideais para sobrevivência e reprodução de cada espécie (Barbabosa-Pliego et al., 2011). Assim sendo, a espécie de triatomíneo, a prevalência de *T. cruzi* e comportamento do cão podem influenciar o risco de infecção para os cães (Jimenez-Coello et al., 2010).

Os estudos mostram que a quantidade de cães soropositivos esteve proporcionalmente maior em áreas com elevada taxa de infecção de triatomíneos, demonstrando que vetores domésticos e silvestres, utilizam o cão como fonte alimentar, entretanto no presente estudo os cães domésticos podem não ser hospedeiros reservatórios competentes, visto o percentual de cães soropositivos frente à taxa de infecção dos triatomíneos. Na área estudada a falta de supervisão veterinária, fornecimento de dieta mal balanceada e parasitismo é comum, resultando em desnutrição crônica, anemia, principalmente em filhotes. Sendo assim, o índice corporal do animal refletido pela saúde e o estado nutricional poderia estar interferindo na titulação de anticorpos apresentada (Enriquez et al. 2014, Petersen et al. 2001). Portanto, para avaliação do ciclo de *T. cruzi* em áreas domiciliares é preciso considerar as diferentes condições sociais e econômicas de cada região. O índice de privação socioeconômica e o risco de infecção estão diretamente relacionados (Estrada-Franco et al. 2006, Fung et al. 2014).

No presente estudo não foi verificada associação entre presença de cães soropositivos e presença e infecção de triatomíneos vetores. Entretanto, esses fatores não podem ser descartados, pois se sabe que a domiciliação dos triatomíneos e a circulação de *T. cruzi* entre

humanos e animais domésticos e silvestres são determinantes para o estabelecimento da infecção (Coura 2007). Todavia, a disponibilidade de hospedeiros domésticos em domicílios pode afetar diretamente na escolha da fonte alimentar do vetor, reduzindo as taxas de contato humano-vetor e transmissão do parasito (Gürtler et al. 2014).

Apesar da ausência de associação relatada no presente estudo, não se deve desconsiderar o papel que estes animais exercem no ciclo de transmissão da enfermidade, considerando sua importância como reservatórios e/ou hospedeiros de *T. cruzi* (Cantillo-Barraza et al. 2015, Pascon et al. 2010, Tome et al. 2011) e sua presença em áreas endêmicas para a doença e o encontro de espécies vetores naturalmente infectados pelo *T. cruzi*.

A distribuição dos vetores observada no mapa (figura 2), possibilitou a observação da distribuição espacial de áreas de risco de infecção por *T. cruzi* corroborando com Passos et al. (2012). Contudo, a dinâmica da localização geográfica dos insetos vetores (Rodriguero e Gorla 2004), demonstra que as espécies de triatomíneos podem mudar a sua distribuição com frequência, fazendo com que haja uma rotatividade de áreas de risco para a transmissão da doença (Costa et al. 2014, Garza et al. 2014). Fato este que se faz uma das preocupações mais importantes sobre a transmissão de DC. Esse tipo de estudo permite um importante resgate do papel da atmosfera socioambiental na produção e reprodução da doença e, em última análise, mediante seus resultados, permite capacitar os serviços de saúde para o controle e a vigilância da doença (Passos et al. 2012).

O mapeamento tem sido amplamente aplicado para compreender aspectos epidemiológicos sobre o vetor da DC, incluindo a caracterização das áreas onde há sua presença (Costa et al. 2014, Garza et al. 2014, Medone et al. 2015) e a relação entre sua distribuição e de reservatórios (Gurgel-Gonçalves et al. 2012, Mendes et al. 2013, Peterson et al. 2002). O que reforça a importância dos dados observados no presente estudo. Dessa forma, a disposição espacial dos triatomíneos reafirma, em algumas propriedades rurais, a presença do vetor da DC conforme anteriormente observado pela Secretaria de Vigilância e Saúde local.

Com base no exposto, pode-se concluir que a área rural estudada apresenta potencial risco de transmissão vetorial de DC, mediante a presença de triatomíneos vetores no ambiente domiciliar, sendo essa situação favorecida pela confirmação de infecção natural por *T. cruzi* nesses insetos e ainda pelo diagnóstico de cães sororreagentes nas áreas. Ainda que não tenha sido observada associação entre os cães sororreagentes e a presença e infecção de triatomíneos vetores assim como com características inerentes ao cão ou ao ambiente que vivia, na área estudada, o ciclo doméstico da doença é claro e possível

Esses resultados ressaltam a importância do monitoramento e vigilância epidemiológica da doença, visto que a saúde dos animais domésticos, principalmente cães, pela sua íntima relação com os seres humanos, reflete à saúde e o nível de exposição dos moradores locais ao vetor. Portanto, a compreensão da maneira pela qual os seres humanos, animais domésticos e vetores interagem para promover a transmissão de *T. cruzi* na área estudada ainda é necessária e útil para direcionar o desenvolvimento de estratégias eficazes de prevenção e controle da doença e, conseqüentemente, na redução da infecção humana nas áreas avaliadas.

Referências

- Almeida, A. B. P. F., Paula, D. A. J., Otton, M. L. P., Jaune, F. W., Cruz, R. A. S. D., Madeira, M. D. F., Sousa, V. R. F. 2013. Natural infection by *Trypanosoma cruzi* in one dog in central western Brazil: A case report. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, 55:287-289.
- Andrade, A. L. S. S., Zicker, F. 1997. Avaliação de testes diagnósticos. Métodos de Investigação Epidemiológica em Doenças Transmissíveis. 1rd ed. Brasília: OPAS FNS/CNE.
- Argolo, A. M., Felix, M., Pacheco, R., Costa, J. Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil. Imperial Novo Milênio: Fundação Oswaldo Cruz: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, 2008. 67p.
- Balan, L.U., Yerbés, I. M., Piña, M. A. N., Balmes, J., Pascual, A., Hernández, O., Monteón, V. 2011. Higher seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs than in humans in an urban area of Campeche, Mexico. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 11:843-844.
- Barbabosa-Pliego, A., Gil, P. C., Hernández, D. O., Aparicio-Burgos, J. E., de Oca-Jiménez, R.M., Martínez-Castañeda, J.S. 2011. Prevalence of *Trypanosoma cruzi* in dogs (*Canis familiaris*) and triatomines during 2008 in a sanitary region of the State of Mexico, Mexico. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11:151–156.
- BRASIL. 2015. Comunidade QGIS Brasil. <http://qgisbrasil.org>
- Bezerra, R. C. e Neto, V. A. 2010. *Trypanosoma cruzi*, hemocultura: uma abordagem prática. *Rev. Bras. Clin. Med.* 8: 205-7.
- Borchhardt, D. M., Mascarello, A., Chiaradia, L. D., Nunes, R. J., Oliva, G., Yunes, R. A., Andricopulo, A. D. 2010. Biochemical evaluation of a series of synthetic chalcone and hydrazide derivatives as novel inhibitors of cruzain from *Trypanosoma cruzi*. *J. Braz. Chem. Soc.* 21: 142-150.

Brasil, 1980. Manual de normas técnicas da campanha de controle da doença de Chagas. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) Divisão de Doença de Chagas. Brasília, BR.

BRASIL, 2015. Ministério da Saúde. **Portal da Saúde**. www.saude.gov.br

BRASIL. Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Vigilância em saúde: zoonoses**

http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_saude_zoonoses_p1.pdf

Braz, L. M. A., Dias, S. K. M., Gakiya, E., Bezerra, R. C., das Dores Cruz, F., Ayub-Ferreira, S. M., Neto, V. A. 2013. Análise de técnicas parasitológicas utilizadas no seguimento de pacientes com doença de Chagas e tratados por meio do transplante cardíaco. Rev. Pat. Trop. 42: 56-63.

Bustamante, D. M., Urioste-Stone, S. M., Juárez, J. G., Pennington, P. M. M. 2014. Ecological, social e biological risk factors for continued *Trypanosoma cruzi* transmission by *Triatoma dimidiata* in Guatemala. PLOS Negl Trop Dis. 9:1-10.

Bezerra CM, Cavalcanti LP, Souza RD, Barbosa SE, Xavier SC, Jansen AM, Ramalho RD, Diotaiuti L. Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonised by *Triatoma brasiliensis*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 2014; 109:887-898.

Carneiro, M.; Moreno, E. C. Antunes, C. M. F. 2001. Nested case-control study in a serological survey to evaluate the effectiveness of a Chagas disease control programme in Brazil. Bull. World Health Organization. 79:409-4414.

Catalá, S. S., Crocco, L. B., Muñoz, A., Morales, G., Paulone, I., Giraldez, E. e Ripol, C. 2004. Entomological aspects of Chagas' disease transmission in the domestic habitat, Argentina. Rev. de Saúde Púb. 38:216-222.

Camargo, M. E. Fluorescent antibody test for serodiagnosis of American Trypanosomiasis. Technical modification employing preserved forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 1966: 8: 227-234.

Chagas, C. 1916. Tripanosomíase americana: Forma aguda da moléstia. Mem. do Inst. Osw. Cruz, Rio de Janeiro. 8:37-60.

Costa, J., Dornak, L. L., Almeida, C. E. e Peterson, A. T. 2014. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. Parasit. Vectors. 7: 238.

- Costa, M. M. R., do Nascimento Barbosa, R. e Sousa, M. C. N. 2011. Contribuições do sertão Pajeú – Pernambuco /Brasil, para o quadro nacional da doença de Chagas. *Rev. Saúde e Biol.* 6:66-71.
- Coutinho, C. F. S., Souza-Santos, R., Teixeira, N. F. D., Georg, I., Gomes, T. F. e Boia, M. N. 2014. Investigação entoepidemiológica da doença de Chagas no Estado do Ceará, Nordeste do Brasil. *Cad. Saude Publica.* 30:785-793.
- Costa, M. M. R., Barbosa, R.N., Sousa, M. C. N. 2011. Contribuições do sertão do Pajeú – Pernambuco/Brasil, para o quadro nacional da doença de Chagas. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 6:66-71.
- Coutinho, C. F. C. Fatores associados ao risco para doença de Chagas em área rural do município de Russas – Ceará, Brasil: Abordagem espacial. [Doctor's Thesis]. [Rio de Janeiro]: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca. Fundação Oswaldo Cruz; 2010. 75 p.
- Dias-Lima, A. G., Menezes, D., Sherlock, I. e Noireau, F. 2003. Wild Habitat and Related Fauna of *Panstrongylus lutzi* (Reduviidae, Triatominae). *J. Med. Entomol.* 40:989-990.
- Enriquez, G.F., Bua, J., Orozco, M.M., Wirth, S., Schijman, G., Gürtler, R.E., Cardinal, M.V. 2014 High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats as major sources of parasites for domestic transmission. *Infection, Genetics and Evolution*, 25:36–43.
- Enriquez, G.F., Cardinal, M.V., Orozco, M.M., Lanatti, L., Schijman, A.G. e Gurtler, R.E. 2013. Discrete typing units of *Trypanosoma cruzi* identified in rural dogs and cats in the humid Argentinean Chaco. *Parasitology*, 140:303–308.
- Estrada-Franco, J.G., Bhatia, V., Diaz-Albiter, H., Ochoa-Garcia, L., Barbabosa, A., Vazquez-Chagoyan, J.C., Martinez-Perez, M.A., Guzman-Bracho, C. e Garg, N. 2006. Human *Trypanosoma cruzi* infection and seropositivity in dogs, Mexico. *Emerg Infect Dis*, 12:624–630.
- Ferreira, R. M. A. e Souto, R. N. P. 2013. Ocorrência de tritomíneos (Reduviidae: Triatominae) no estado do Amapá, Brasil. *Biota Amazônia*. 3:144-146.
- Ferreira, I.L.M. e Silva, T.P.T. 2006. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* no Brasil: um fato histórico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39:507-509.
- Fung, H.L., Calzada, J., Saldaña, A., Santamaria, A.M., Pineda, V., Gonzalez, K., Chaves, L.F., Garner, B. e Gottdenker, N. 2014. Domestic dog health worsens with socio-economic deprivation of their home communities. *Acta Trop*, 135:67–74.

- Freitas, Y. B. N., Amóra, S. S. A, Souza, C S F, Gonçalves, T. C. M., Sousa, M. L. R, Kazimoto, T. A., Alves, N. D., Magalhães, J. M., Freitas, L. B.N. e Melo, A. E. C. S. Conhecimento da população rural sobre o vetor da doença de Chagas. pp 1. Em Proceedings: 41º Congresso Brasileiro de Medicina veterinária, 7-10 agosto, 2014, Gramado, RS.
- Garza, M., Arroyo, T. P. F., Casillas, E. A., Sanchez-Cordero, V., Rivaldi, C. L. e Sarkar, S. 2014. Projected future distributions of vectors of *Trypanosoma cruzi* in North America under climate change scenarios. PLoS Negl. Trop. Dis. 8:1-8.
- Gomes, T.F., Freitas, F.S., Bezerra, C.M., Lima, M.M. e Carvalho-Costa, F.A. 2013. Reasons for persistence of dwelling vulnerability to Chagas disease (American trypanosomiasis): a qualitative study in northeastern Brazil. World Health Popul, 14:14-21.
- González, C.R., Reyes, C., Canals, A., Parra, A., Muñoz, X. e Rodríguez, K. 2015. An entomological and seroepidemiological study of the vectorial-transmission risk of Chagas disease in the coast of northern Chile. Medical and veterinary entomology, 29:387-392.
- Grijalva, M. J., Terán, D. e Dangles, O. 2014. Dynamics of sylvatic Chagas disease vectors in coastal Ecuador is driven by changes in land cover. PLoS Negl Trop Dis, 8:1-10.
- Gurgel-Gonçalves, R., Galvao, C., Costa, J. e Peterson, A. T. 2012. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. Journal of tropical medicine, 2012:1-15.
- Gurgel-Gonçalves, R., Pereira, F. D. C. A., Lima, I. P. e Cavalcante, R. R. 2010. Distribuição geográfica, infestação domiciliar e infecção natural de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) no Estado do Piauí, Brasil, 2008. Revista Pan-Amazônica de Saúde, 1:57-64.
- Gürtler, R. E., Cardinal, M. V. 2015. Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. Acta tropica, 151:32-50.
- Gürtler, R. E., Cecere, M. C., Vázquez-Prokopec, G. M., Ceballos, L. A., Gurevitz, J. M., Del Pilar Fernández, M., Cohen, J. E. 2014. Domestic animal hosts strongly influence human-feeding rates of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Argentina. PLoS neglected tropical diseases, 8:1-12.
- Gürtler, R., Cecere, M., Lauricella, M., Cardinal, M., Kitron, U., Cohen, J. 2007. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. Parasitology. 134:69–82.
- Herrera, C. P., Licon, M. H., Nation, C. S., Jameson, S. B. e Wesson, D. M. 2015. Genotype diversity of *Trypanosoma cruzi* in small rodents and *Triatoma sanguisuga* from a rural area in New Orleans, Louisiana. Parasit. Vectors. 8: 123.

- Hurtado, L., Calzada, J. E., Pineda, V., González, K., Santamaría, A. M., Cáceres, L. e Saldaña, A. 2014. Conocimientos y factores de riesgo relacionados con la enfermedad de Chagas en comunidades panameñas donde *Rhodnius pallescens* es el vector principal. *Biomédica*. 34:260-270.
- Kjos, S. A., Marcet, P. L., Yabsley, M. J., Kitron, U., Snowden, K. F., Logan, K. S. e Dotson, E. M. 2013. Identification of bloodmeal sources and *Trypanosoma cruzi* infection in triatomine bugs (Hemiptera: Reduviidae) from residential settings in Texas, the United States. *Journal of medical entomology*. 50:1126-1139.
- Lauricella, M.A., Castañera, M.B., Gürtler, R.E. e Segura, E.L. 1998. Immunodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* (Chagas' disease) infection in naturally infected dogs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 93:501-507.
- Lent, H. e Wygodzinski, P. W. 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin American Museum Natural History*. 163:123-520.
- Lima, A. F. R., Jeraldo, V. D. L. S., Silveira, M. S., Madi, R. R., Santana, T. B. K. e Melo, C. M. D. 2012. Triatomines in dwellings and outbuildings in na endemic area of Chagas disease in northeastern Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*. 45:701-706.
- Maeda, M.H. e Gurgel-Gonçalves, R. 2012. Conhecimentos e práticas de moradores do Distrito Federal, Brasil, em relação à doença de Chagas e seus vetores. *Rev. Patol. Trop*. 41:15-26.
- Martins, K., de Mesquita Andrade, C., Barbosa-Silva, A. N., do Nascimento, G. B., Chiari, E., da Cunha Galvão, L. M. e da Câmara, A. C. J. 2015. *Trypanosoma cruzi* III causing the indeterminate form of Chagas disease in a semi-arid region of Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*, 39:68-75.
- Matos HJD, Pinto AYDN, Miranda AMM, Silva FLC, Ramos FLDP. Reação cruzada nos testes sorológicos entre doença de Chagas e leishmaniose visceral em regiões endêmicas para ambas as doenças. *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 2015; 6:65-68.
- Mendes RS, Santana LV, Jansen AM, Xavier SCC, Vidal IF, Rotondano TEF, Souza ALP. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas canina no semiárido paraibano. *Pesq. Vet. Bras* 2013; 33:1459-1465.
- Medone P., Ceccarelli S., Parham P. E., Figuera A. e Rabinovich J. E.. 2015. The impact of climate change on the geographical distribution of two vectors of Chagas disease: Implications for the force of infection. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci*. 370: 20130560.

Mendes Pereira J., Silva De Almeida P., Vieira De Sousa A., Moraes De Paula A., Machado R. B., Gurgel-Gonçalves R. 2013. Climatic factors influencing triatomine occurrence in Central-West Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 108:335–341.

Morais AN, Sousa MG, Meireles LR, Kesper Jr N, Umezawa ES. Canine visceral leishmaniasis and Chagas disease among dogs in Araguaina, Tocantins. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 2013; 22:225-229.

Mott, K. E., Mota, E. A., Sherlock, I., Hoff R, Muniz TM, Oliveira TS, Draper CC. *Trypanosoma cruzi* infection in dogs and cats and household seroactivity to *T. cruzi* in a rural community in northeast Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1978; 27:1123-1127.

Nieto, P. D., Boughton, R., Dorn, P.L., Steurer F, Raychaudhuri S, Esfandiari J, Malone JB. Comparison of two immunochromatographic assays and the indirect immunofluorescence antibody test for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs in south central Louisiana. *Veterinary parasitology* 2009; 165:241-247.

Pascon, J.P.E., Pereira Neto, G.B., Sousa, M.G., Paulino Júnior, D. e Camacho, A.A. 2010. Clinical characterization of chronic chagasic cardiomyopathy in dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 30:115-120.

Passos, R. A. dos, Mustafá, L. M., Pinto, R. C. e Albuquerque, B. C. Monitoreo índices de vigilancia entomológica y control de indicadores para dengue vector *aedes aegypti* en Brasil Manaus-AM, sistema en tiempo real usando el nokia data Gathering (NDG). <http://www.convencionsalud2012.sld.cu/index.php/convencionsalud/2012/paper/viewFile/754/341>

Peterson, J. K., Bartsch, S. M., Lee, B. Y. e Dobson, A. P. 2015. Broad patterns in domestic vector-borne *Trypanosoma cruzi* transmission dynamics: synanthropic animals and vector control. *Parasites e vectors.* 8:1-10.

Reis, D., Monteiro, W. M., Bossolani, G. D. P., Teston, A. P. M., Gomes, M. L., de Araújo, S. M. e Ornelas Toledo, M. J. 2012. Biological behaviour in mice of *Trypanosoma cruzi* isolates from Amazonas and Parana, Brazil. *Experimental parasitology*, 130:321-329.

Sambrook, J., Russell, D. W. 2006. Inverse PCR. *CSH Protoc*, 10-1101.

Sandoval-Ruiz, C.A., Guevara, R. e Ibáñez-Bernal, S. 2014. Household risks factors associated to infestation of *Triatoma dimidiata* the Chagas disease vector in central region of Veracruz, México. *Salud publica de México.* 56:213- 220.

- Saunders, M., Small, A., Dedicoat, M. e Roberts, L. 2012. The development e validation of risk score for household infestation by *Triatomainfestans* a bolivian vector of Chagas disease. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 106:677-682.
- Sessa, P. A., Pimentel, R.R., Ferreira, A. L., Falqueto, A. 2002. Soroprevalência da Doença de Chagas em crianças em idade escolar do estado do Espírito santo, Brasil, em 1999-2000, 2002. Cad. Saúde Pública, 18:1765-1769.
- Silva, R. A., Scandar, S. A. S., Rodrigues, V. L. C. C., Cardoso Júnior, R. P., Sei, I. A. e Wanderley, D. M. V. 2011. Cuidados do domicílio pela população em área infestada por *Triatoma sordida*. Revista Baiana de Saúde Pública, 34:267-278.
- Silva, M. B. A., Barreto, A. V. M. S., Silva, H. A. D., Galvão, C., Rocha, D., Jurberg, J. e Gurgel-Gonçalves, R. 2012. Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the state of Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma infection* rates between 2006 and 2007. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 45:60-65.
- Silva, L. F. Doença de Chagas canina: análise de fatores de risco e educação em saúde. [Master's Thesis]. [Mossoró]: Programa de Pós-Graduação em Ambiente, tecnologia e sociedade Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA. 2014. 85p.
- Silva, L. F., Sousa, M. L. R., Amorim, C. F., Costa, K. F. L., Amora, S. A. A. 2013. Conhecimento de agentes comunitários de saúde sobre doença de Chagas: um reflexo de políticas públicas de saúde no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. pp. 1-12. Em Proceedings II Encontro de Gestão Social do Programa de Educação Tutorial, 7-8 novembro 2013, Mossoró, Rio Grande do Norte.
- Silva, R. A. D., Sampaio, S. M. P., Koyanagui, P. H., Poloni, M., Carvalho, M. E. D., Rodrigues, V. L. C. C. 2007. Infestação por triatomíneos em assentamentos e reassentamentos rurais na Região do Pontal do Paranapanema, Estado de São Paulo. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 40:527-532.
- Sousa, M. L. R. 2015. Indicadores ambientais para doença de Chagas no meio rural do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Dissertação, Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró.
- Souza, A. I., Paulino-Junior, D., Sousa, M. G. e Camacho, A. A. 2008. Aspectos clínico-laboratoriais da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em cães de Mato Grosso do Sul. Ciência Rural. 38:1351-1356.

- Souza, R. D. C. M., Campolina-Silva, G. H., Bezerra, C. M., Diotaiuti, L. e Gorla, D. E. 2015. Does *Triatoma brasiliensis* occupy the same environmental niche space as *Triatoma melanica*?. *Parasites e vectors*, 8:1-14.
- Souza, F. Região de Mossoró lidera número de casos de Doença de Chagas. *Jornal De Fato*, Mossoró-RN, 27 jul. 2012. *Caderno Especial Estado*, p. 4.
- Tome, R.O., Gaio, F.C., Generoso, D., Menozzi, B.D. e Langoni, H. 2011. Active surveillance of canine visceral leishmaniasis and american trypanosomiasis in rural dogs from non-endemic area. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20:64-66.
- Urioste-Stone, S. M., Pennington, P. M., Pellecer, E., Aguilar, T. M., Samayoa, G., Perdomo, H. D. e Juárez, J. G. 2015. Development of a community-based intervention for the control of Chagas disease based on peridomestic animal management: an eco-bio-social perspective. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 109:159-167.
- Umezawa, E.S., Souza, A.I., Pinedo-Cancino, V., Marcondes, M., Marcili, A., Camargo, L. M. A. e Teixeira, M.M.G. 2009. TESA-blot for the diagnosis of Chagas disease in dogs from co-endemic regions for *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma evansi* and *Leishmania chagasi*. *Acta tropica*, 111:15-20.
- Vasconcelos, A. S. O. de B. 2013. Índice de infestação e infecção de Triatomíneos por *Trypanosoma cruzi* na região sudeste do estado do Ceará. http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/5778/1/2013_dis_asobvasconcelos.pdf.
- Valença-Barbosa, C., Lima, M.M., Sarquis, O., Bezerra, C.M. e Abad-Franch, F. 2014. Modeling disease vector occurrence when detection is imperfect II: Drivers of site-occupancy by synanthropic *Triatoma brasiliensis* in the Brazilian Northeast. *PLoS Negl Trop Dis*, 8:1-12.
- Villela, M. M., Pimenta, D. N., Lamounier, P. A. e Dias, J. C. P. 2009. Avaliação de conhecimentos e práticas que adultos e crianças têm acerca da doença de Chagas e seus vetores em região endêmica de Minas Gerais, Brasil. *Cad. saúde pública*, 25:1701-1710.
- Ventura-Garcia, L., Roura, M., Pell, C., Posada, E., Gascón, J., Aldasoro, E. e Pool, R. 2013. Socio-cultural aspects of Chagas disease: a systematic review of qualitative research. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 7:1-8.
- Vinhaes, M. C., de Oliveira, S. V., Reis, P. O., de Lacerda Sousa, A. C., e Silva, R. A., Obara, M. T. e Gurgel-Gonçalves, R. 2014. Assessing the vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis. *Acta tropica*, 137:105-110.

Waleckx, E., Depickère, S., Salas, R., Aliaga, C., Monje, M., Calle, H. e Brenière, S. F. 2012. New discoveries of sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) throughout the Bolivian Chaco. Am. J. Trop. Med. Hyg. 86:455-458.

Waleckx, E., Camara-Mejia, J., Ramirez-Sierra, M. J., Cruz-Chan, V., Rosado-Vallado, M., Vazquez-Narvaez, S. e Dumonteil, E. 2015. An innovative ecohealth intervention for Chagas disease vector control in Yucatan, Mexico. Trans R Soc. Trop. Med. Hyg. 109:143–149.a

Waleckx, E., Gourbière, S. e Dumonteil, E. 2015. Intrusive versus domiciliated triatomines and the challenge of adapting vector control practices against Chagas disease. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 110:324-338.b

Quadro 1. Indicadores entomológicos em áreas em risco de transmissão de doença de Chagas no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

$ID = \frac{\text{número de UD positivas}}{\text{número de casas pesquisadas}} \times 100$
$TC = \frac{\text{número de ninfas coletadas no intradomicílio}}{\text{número de triatomíneos coletados no intradomicílio}} \times 100$
$TA = \frac{\text{número de exemplares capturados}}{\text{número de UD infestadas}} \times 100$

ID = Infestação domiciliar; TC = Taxa de colonização; TA = Taxa de aglomeração.

Tabela 1. Pesquisa de *T. cruzi* e identificação de triatomíneos, e pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* em cães de comunidades rurais do Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

Nº de residências			
Comunidades rurais	infestadas/ Residências com triatomíneos infectados	Espécies de triatomíneos identificadas	Nº de residências com cães/Residências com cães sororreagentes
Assentamento			
Sussuarana	6/0	Ninfa <i>Triatoma brasiliensis</i> <i>brasiliensis</i> <i>Triatoma pseudomaculata</i>	28/6
Sítio Umari	2/1	Ninfa <i>T. b. brasiliensis</i>	2/0
Sítio Sombra		-	
Grande	0/0		3/0
Assentamento			
Melancias	4/1	Ninfa	4/0

		<i>T. b. brasiliensis</i>	
		<i>T. pseudomaculata</i>	
		<i>Rhodnius nasutus</i>	
Passagem de			
Oiticica	0/0		0/0
Assentamento		-	
Laginha	0/0		1/0
Sítio Canto da			
Farinha	1/1	Ninfa	1/0
Assentamento			
Lorena	3/1	<i>T. b. brasiliensis</i>	17/1
Sítio			
Barbadinho	1/1	Ninfa	3/0
Assentamento			
Espinheirinho	3/1	Ninfa	32/6
		<i>T. b. brasiliensis</i>	
		<i>Panstrongylyus lutzi</i>	

Assentamento			
Passagem de			
Pedra	3/0	<i>T. b. brasiliensis</i>	44/12
TOTAL	23/6		135/25

Tabela 2. Locais de captura de espécimes de triatomíneos, segundo os moradores rurais, no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

Espécimes	Local de captura
<i>Triatoma brasiliensis brasiliensis</i>	Intradomicilar/Peridomiciliar
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	Intradomicilar/Peridomiciliar
<i>Rhodnius nasutus</i>	Intradomiciliar
<i>Panstrongylus lutzi</i>	Intradomiciliar

Tabela 3. Associação de soropositividade de cães de área rural endêmica para doença de Chagas com a presença e infecção por *T. cruzi* em triatomíneos.

Cães soropositivos					
Variável	Positivo	Negativo (%)	OR	IC95%	p-valor
	(%)				
Presença do vetor					
Sim	01 (4,0)	17 (15,6)	0,225	0,029 – 1,78	0,194
Não	24 (96,0)	92 (84,4)	1		
Infecção por <i>T. cruzi</i> no vetor					
Sim	0 (0,0)	03 (2,8)	-	-	1,0

Não	25 (100,0)	106 (97,2)	1
-----	------------	------------	---

OR: Odds ratio; IC95%: Intervalo de confiança a 95%.

Tabela 4. Associação de soropositividade de cães de área rural endêmica para doença de Chagas vetores e com o sexo, a idade, a função, a presença de abrigo e os contactantes dos cães.

Cães soropositivos					
Variável	Positivo (%)	Negativo (%)	OR	IC95%	p-valor
Sexo					
Fêmea	15 (60,0)	46 (42,2)	2,05	0,84 – 4,98	0,123
Macho	18 (72,0)	86 (78,9)	0,688	0,25 – 1,84	0,631
Idade dos cães					
Menos de 01 ano	01 (5,6)	09 (10,1)	1,66	0,09 – 30,08	1,0
01 a 05	16 (88,9)	65 (73,0)	3,69	0,45 – 30,07	0,294
Acima de 05 anos	01 (5,6)	15 (16,9)	1		
Função dos cães					
Companhia	13 (52,0)	37 (33,9)	2,10	0,87 – 5,07	0,146
Vigia	13 (52,0)	67 (61,5)	0,67	0,28 – 1,62	0,519
Caça	04 (16,0)	17 (15,6)	1,03	0,31 – 3,38	1,0
Possui abrigo					
Sim	08 (32,0)	25 (22,9)	1,58	0,61- 4,09	0,489
Não	17 (68,0)	84 (77,1)	1		
Presença de animais domésticos					
Sim	22 (88,0)	78 (71,6)	2,91	0,814– 10,44	0,147
Não	03 (12,0)	31 (28,4)	1		
Presença de animais de produção					

Sim	13 (52,0)	56 (51,4)	1,02	0,43 – 2,44	1,0
Não	12 (48,0)	53 (48,6)	1		
Presença de animais silvestres					
Sim	03 (12,0)	12 (11,0)	1,102	0,28 – 4,24	1,0
Não	22 (88,0)	97 (89,0)	1		

OR: Odds ratio; IC95%: Intervalo de confiança a 95%.

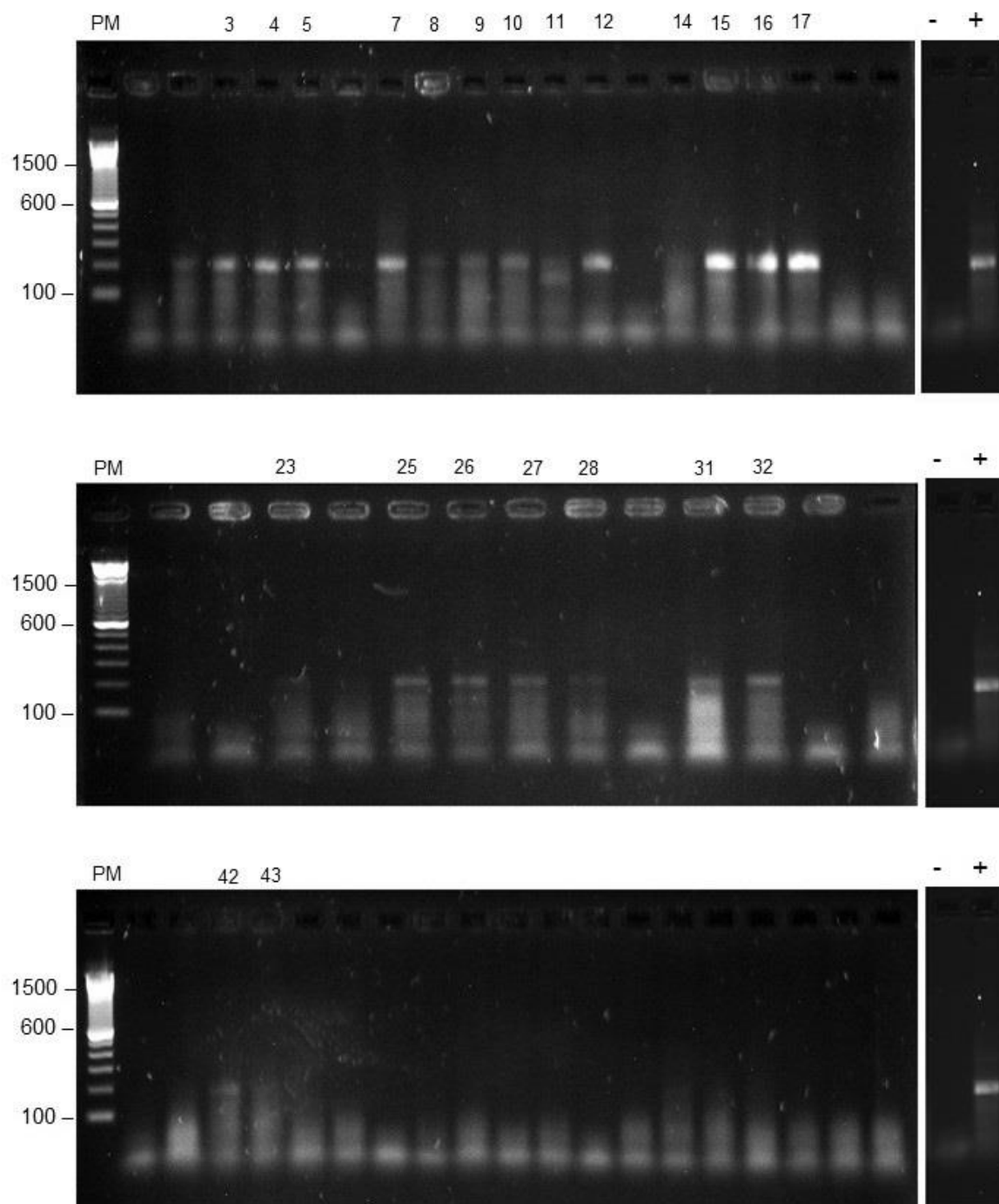


Figura 1. Gel de Agarose 1,5% mostrando as bandas diagnósticas de 166 pb após amplificação pela PCR de triatomíneos. Os controles negativo e positivo estão representados pelos símbolos (-) e (+), respectivamente. As faixas numeradas representam amostras positivas para presença de kDNA de *Trypanosoma cruzi*.
Peso molecular: Marcador.

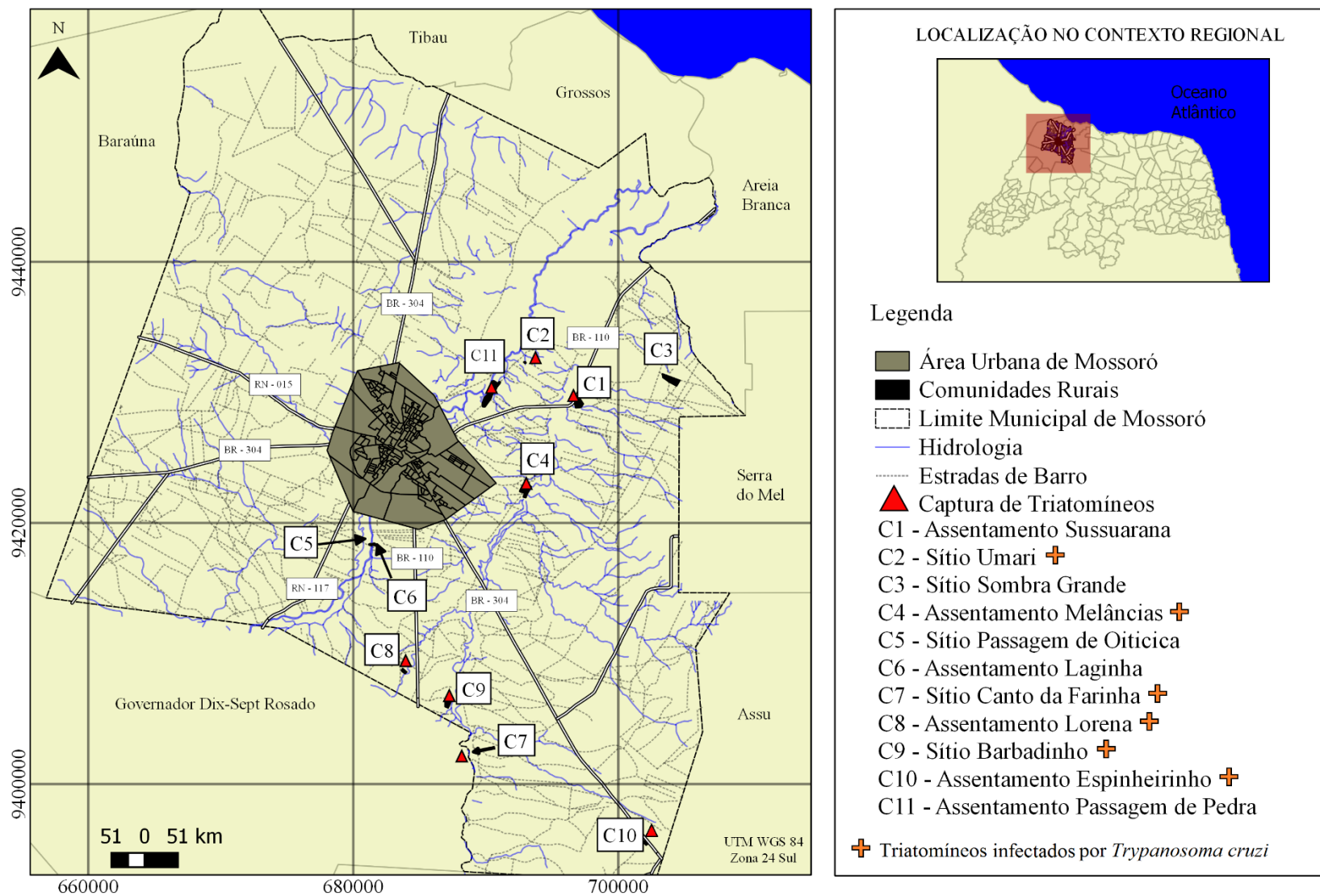


Figura 2. Mapeamento das propriedades rurais do Município de Mossoró-RN com histórico de captura de triatomíneos entre os anos 2008 a 2012, com destaque as propriedades onde houve captura entomológica ativa de triatomíneos e infecção por *Trypanosoma cruzi* nas mesmas.

6 CONCLUSÃO

Na área rural do município de Mossoró com histórico de captura prévia de triatomíneos ainda há presença de espécies vetores da DC. Com destaque para a espécie *T. b. brasiliensis* como vetor potencial da DC na região, com aparente adaptabilidade ao habitat humano tendo sido capturado no intra e peridomicílio.

Os exemplares de triatomíneos capturados apresentaram alta taxa de infecção natural por *T. cruzi*, principalmente para *T. b. brasiliensis*.

Com relação aos cães, foi observado um número reduzido de cães sororreagentes nos testes sorológicos, quando comparado a outras áreas endêmicas, sugerindo que os cães domésticos podem não ser hospedeiros reservatórios competentes na região, mas que a presente positividade implica na manutenção da doença entre animais presentes em área domiciliar, o que potencializa o risco de transmissão da doença para seres humanos.

Não houve associação entre os cães soropositivos com a presença e infecção de triatomíneos vetores e, tampouco com características inerentes ao cão ou ao ambiente que vivia.

Com base no exposto pode-se afirmar que o risco da manutenção do ciclo da DC é claro e possível, uma vez que, os vetores e reservatórios domésticos infectados estão presentes compartilhando do mesmo ambiente que seres humanos.

REFERÊNCIAS

- ABAD-FRANCH, F.; VEJA, M. C.; ROLON, M. S.; SANTOS, W.S.; ROJAS, D. E.; ARIAS, A. Community Participation in Chagas Disease Vector Surveillance: Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, California (US), v.5, n.4, p.112-115, jun. 2011.
- ALMEIDA, A. D. B. P. F.; PAULA, D. A. J. D.; OTTON, M. L. P.; JAUNE, F. W.; CRUZ, R. A. S. D.; MADEIRA, M. D. F.; SOUSA, V. R. F. Natural infection by *Trypanosoma cruzi* in one dog in central western Brazil: A case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 55, n. 4, p. 287-289, jul-ago. 2013.v. 55, n. 4, p. 287-289, 2013.
- AMARANTE, J. F. **Fisiopatogenia e Métodos de diagnóstico laboratorial da doença de Chagas**. 2011.53p. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em análises clínicas e gestão de laboratório) – Universidade do Vale do Rio Doce, 2011.
- AMÓRA, S. S. A. **Epidemiologia da Leishmaniose e Tripanossomíase Canina no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte**. 2004. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, 2004.
- ARAGUAIA, Mariana. **"Doença de Chagas" Brasil Escola**. Disponível em <<http://www.brasilecola.com/doencas/doenca-chagas.htm>> Acesso em: 20 out. 2015.
- ARGOLO, A. M; FELIX, M.; PACHECO, R.; COSTA, J. **Doença de Chagas e seus principais vetores no Brasil**. Imperial Novo Milênio: Fundação Oswaldo Cruz: Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro, 2008. 67p.
- ÁVILA, W. R. de; OLIVEIRA, L. C. N. **Uso do Quantum GIS e Google Earth para delimitação e análise de áreas de preservação permanentes da sub-bacia do córrego Água Branca em Goiânia**. Anais XVI Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 2013. Disponível em: <<http://www.dsr.inpe.br/sbsr2013/files/p1707.pdf>> Acesso em: 02 nov. 2014.
- BACHILLI, R. G.; SCAVASSA, A. J.; SPIRI, W. C. A identidade do agente comunitário de saúde: uma abordagem fenomenológica. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v.13, n. 1, p. 51-60, mar. 2008.
- BARACHO, M. **Série panorama das doenças negligenciadas: Nordeste é a segunda região em contaminações pela doença de Chagas**. Recife (PE): Portal DSS Nordeste; 2013. Disponível em: <<http://dssbr.org/site/2013/05/serie-panorama-das-doencas-negligenciadas-nordeste-e-a-segunda-regiao-em-contaminacoes-pela-doenca-de-chagas/>> Acesso em: 23 out. 2014.
- BARBOSA, R. L.; DIAS, V. L.; PEREIRA, K. S.; SCHMIDT, F. L.; FRANCO, R. M. B.; GUARALDO, A. M. A.; PASSOS, L. A. C. Survival in vitro and virulence of

Trypanosoma cruzi in acai pulp in experimental acute Chagas disease. **Journal of Food Protection**, v. 75, n. 3, p. 601-606, 2012.

BARR, S.C.; VAN BEEK, O.; CARLISLE, M.S.; LOPEZ, J. W.; KIRCHHOFF, L. V.; ALLISON, N.; ZAJAC, A.; DE LAHUNTA, A.; SCHLADER, D. H.; CRANDALL, W. T. *Trypanosoma cruzi* infection in Walker hounds from Virginia. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.56, n.8, p.1037-1044, ago. 1995.

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. 147 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2013.

BEZERRA, J.M; SILVA, P. C.M; MORAIS, C.T.S.L; BATISTA, R.O. Utilização de geotecnologias na determinação de áreas susceptíveis a desertificação no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Geografia Física**, Recife, v. 4, n.3, p. 543-561, set. 2011a.

BEZERRA, J.M; SILVA, P.C.M; BATISTA, R.O; FEITOSA, A.P. Uso de geotecnologias para avaliação ambiental da deterioração do município de Mossoró. **Revista de Geografia**, Recife, v.28, n.3, p. 127-140, set. 2011b.

BRASIL, Ministério da Educação. InfoEscola, navegando e aprendendo. **Cinetoplastídeos**. 2006. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/reino-protista/cinetoplastideos/>> Acesso em: 12 abr. 2016.

BRASIL, Governo do estado do Rio Grande do Norte. Secretária de Estado da Saúde Pública. **SESAP realiza capacitação em Mossoró sobre doença de Chagas**. 2012. Disponível em: <http://www.suvisa.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/sesap/imprensa/enviados/noticia_detalhe.asp?nImprensa=0&nCodigoNoticia=32755> Acesso em: 23 jul. 2014

BRASIL, Adaptado do Manual de Controle da Doença de Chagas: Diretrizes Técnicas. 1996. **Vigilância Entomológica da Doença de Chagas: Operações de Campo: Pesquisa ativa e Controle químico**. Disponível em: <http://www.saude.rs.gov.br/upload/1335550390_Vigil%C3%A2ncia%20Entomol%C3%B3gica%20da%20Doen%C3%A7a%20de%20Chagas.pdf> Acesso em: 18 mai. 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência FIOCRUZ de Notícias. **Doença de Chagas**. 2013. Disponível em: < <http://www.agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7a-de-chagas>> Acesso em: 21 jul. 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência FIOCRUZ de Notícias. **Doença de Chagas**. 2013. Disponível em: < <http://www.agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7a-de-chagas>> Acesso em: 21 jul. 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Portal Nordeste. Série panorama das doenças negligenciadas: Nordeste é a segunda região em contaminações pela doença de Chagas. 2013. Disponível em: <<http://dssbr.org/site/2013/05/serie-panorama-das-doencas->

[negligenciadas-nordeste-e-a-segunda-regiao-em-contaminacoes-pela-doenca-de-chagas/](#)> Acesso em: 23 jul. 2014

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Casos de doença de Chagas aguda (DCA): Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas, 2000 a 2011.** 2012. Disponível em: <

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Assessoria de Imprensa da Anvisa **Doença de Chagas por via oral: novo desafio para vigilância.** 2008. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/180708.htm>> Acesso em: 23 jul. 2014.

BRICEÑO-LEÓN, R. Siete tesis sobre la educación sanitaria para la participación comunitaria. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 12, n.1, p. 7-30, jan-mar. 1998.

BRITO, C. R. D. N.; SAMPAIO, G. H. F.; CÂMARA, A. C. J. D.; NUNES, D. F., AZEVEDO, P. R. M. D.; CHIARI, E.; GALVÃO, L. M. D. 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**, v. 45, n. 3, p. 346-352, jan-mai. 2012.

BUSTAMANTE, D.M; URIOSTE-STONE, S.M.; JUÁREZ, J.G; PENNINGTON, P.M. Ecological, social e biological risk factors for continued *Trypanosoma cruzi* transmission by *Triatoma dimidiata* in Guatemala. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, Buenos Aires, vol. 9, n.8, p. 1-10, 2014.

http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31454> Acesso em: 19 out. 2012.

CARNEIRO, M.; MORENO, E. C. ANTUNES, C. M. F. Nested case-control study in a serological survey to evaluate the effectiveness of a Chagas disease control programme in Brazil. **Bull. World Health Organization**, v.79, n.5, p.409-4414, set. 2001.

CÂMARA, G; SOUZA, R.C.M; FREITAS, U.M; GARRIDO, J; MITSUO, F.I. Spring: Integrating remote sensigand GIS by object – oriented data modeling. **Computers & Graphics**, v. 30, n.3, p. 395-403, may-jun. 1996.

CANTILLO-BARRAZA, O.; GARCÉS, E.; GÓMEZ-PALACIO, A.; CORTÉS, L. A.; PEREIRA, A.; MARCET, P. L.; TRIANA-CHÁVEZ, O. Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in northern Colombia reveals the importance of *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae), dogs and *Didelphis marsupialis* in *Trypanosoma cruzi* maintenance. **Parasites & vectors**, v. 8, n.1, p. 1-10, 2015.

CHAGAS, C. 1909. Nova Tripanosomíase humana e o ciclo evolutivo de *Schizotripanum cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 159-218. 1909. CHAGAS, C. Tripanosomíase americana: Forma aguda da moléstia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.8, n.2, p.37-60, 1916.

COLOSIO, R. C.; FALAVIGNA-GUILHERME, A.L; GOMES, M. L.; MARQUES, D. S. O.; LALA, E. R. P; ARAÚJO, S. M.. Conhecimento e atitudes sobre a Doença de

Chagas entre profissionais de saúde – Paraná, Brasil. **Ciência, Cuidado e Saúde**, Paraná, v. 6, supl. 2, p. 355-363, 2008.

COSTA, M. M. R., BARBOSA, R. N.; SOUSA, M. C. N. Contribuições do sertão do Pajeú–Pernambuco/Brasil, para o quadro nacional da doença de Chagas. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 6, n. 2, p.66-71, 2011.

COSTA, W. P.; COSTA, A. M. S.; VIEIRA, I. A. C.; PASSOS, A. T. B.; BATISTA, J. S. Perfil sócio-cultural-econômico dos portadores de doença de Chagas em áreas endêmicas na zona rural do município de Mossoró-RN. **Revista Verde**, v.2, n.2, p.101–106, 2007.

COSTA, W. P.; CRUZ-COSTA, A. M. S.; VIEIRA, I. A. C.; PASSOS, A. T. B.; BATISTA, J. S. Panorama atual da leishmaniose canina no município de Mossoró. In: 2º Congresso Brasileiro de Saúde Pública Veterinária, 2007, Fortaleza. **Anais do 2º Congresso Brasileiro de Saúde Pública Veterinária**, 2007.

COURA, J. R. Determinantes epidemiológicos da doença de Chagas no Brasil: a infecção, a doença e sua morbi-mortalidade. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 1, p. 392, 1988.

COURA, J. R. Origem, determinantes e morbidade da Doença de Chagas. **Revista Salus**, Carabobo, v. 11, n. 1, p. 62-66, 2007.

COURA, J. R. Tripanossomose, Doença de Chagas. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 30-33, 2003.

COUTINHO, C. F. S.; SOUZA-SANTOS, R.; TEIXEIRA, N. F. D.; GEORG, I.; GOMES, T. F.; BOIA, M. N.; LIMA, M. M. An entomoepidemiological investigation of Chagas disease in the state of Ceará, Northeast Region of Brazil Investiga  o entomoepidemiol  gica da doença de Chagas no Estado do Ceará, Nordeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 785-793, 2014.

COUTINHO, C. F. C. **Fatores associados ao risco para doença de Chagas em área rural do município de Russas – Ceará, Brasil: Abordagem espacial**. 2010.75p. Disserta  o (Mestrado em Ciências –   rea de Epidemiologia em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – Funda  o Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010.

CUTRIM, F. S. R. F.; ALMEIDA, I. A.; GONÇALVES, E.G.R.; SILVA, A. R. Doença de Chagas no Estado do Maranhão, Brasil: registro de casos agudos no período de 1994 a 2008. **Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n.6, p.705-710, 2010.

DEUS, S de; STOBBAERTS, E. Operamundi. No Dia Mundial de Combate à doença de Chagas, Brasil não tem motivos para comemorar. Disponível em: <<http://operamundi.uol.com.br/conteudo/opinia  o/40145/no+dia+mundial+de+combate+a+doença+de+chagas+brasil+nao+tem+motivos+para+comemorar.shtml>> Acesso em: 05 jul. 2015.

DIAS, F. B. S. **Aspectos ecológicos da Tripanossomíase Americana em comunidades do médio Tapajós, Pará, Brasil, e riscos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* às populações humanas da região.** 2011. Tese de Doutorado. Centro de Pesquisas René Rachou.

DIAS, J. C. P. Globalização, iniquidade e doença de Chagas. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, supl.1, p.13-22, jun. 2007.

DIAS, J. C. P.; MACHADO, E. M. M.; FERNANDES, A. L.; VINHAES, M. C. Esboço Geral e Perspectivas da Doença de Chagas no Nordeste do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, p.13-34, 2000.

DIAS, J. C. P.; PRATA, A.; COURA, J. R. Emmanuel Dias: o principal artífice do combate à doença de Chagas nas Américas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.41, n.5, p.502-504, 2008.

DIAS, J.C.P; NETO, V.A.; LUNA, E. J. A. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n.3, p.375-379, 2011.

DIAS, João C. P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 28, n. 2, p. 81-87, 2006.

DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INICIATIVE. DNDI. **Doenças Negligenciadas.** Disponível em: <<http://www.dndial.org/pt/doencas-negligenciadas/doenca-de-chagas.html>> Acesso em: 12 out. 2015.

DUMONTEIL E, NOUVELLET P, ROSECRANS K, RAMIREZ-SIERRA M.J, GAMBOA-LÉON R, CRUZ-CHAN V et al. Eco-Bio-Social determinants for house infestation by non-domiciliated *Triatoma dimidiata* in the Yucatan Peninsula, Mexico. **PLoS Negl Trop Dis.** v.7, n.9, p. 1-9, 2013.

ELOY L. J.; LUCHEIS S. B. Canine Trypanosomiasis: Etiology of Infection and Implications for Public Health. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, Botucatu, v.15, n.4, p. 589-611, 2009.

ENRIQUEZ, G.F., BUA, J., OROZCO, M.M., WIRTH, S., SCHIJMAN, A. G., GÜRTLER, R.E., CARDINAL, M. V. High levels of *Trypanosoma cruzi* DNA determined by qPCR and infectiousness to *Triatoma infestans* support dogs and cats are major sources of parasites for domestic transmission. **Infect. Genet. Evol.** v.25, n. 1, p. 36-43, 2014.

FALAVIGNA-GUILHERME, A. C.; COSTA, A. L.; BATISTA, O.; PAVANELLI, G.C.; ARAÚJO, S. M. Atividades educativas para o controle de triatomíneos em área de vigilância epidemiológica do Estado do Paraná, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, São Paulo, v.18, n.6, p. 234-235, 2002.

FERREIRA, R.M.A; SOUTO, R.N.P. Ocorrência de tritomíneos (Reduviidae: Triatominae) no estado do Amapá, Brasil. **Biota Amazônia**, Macapá, v3, n.11, p. 144-146, 2013.

FORATTINI, O. P. et al. Aspectos ecológicos da Tripanossomíase americana VIII. Domiciliação de *Panstrongylus megistus* e sua presença extradomiciliar. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, n.11, p.73-86, 1977.

GALVÃO, C. R. **Estudo dos fatores associados à infecção chagásica em área endêmica do Rio Grande do Norte**. 2009. 81p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, 2009.

GASPE, M.S; GUERVITZ, J.M; GÜRTLER, R.E; DUJARDIN, J.P. Origins of house reinfestation with *Triatoma infestans* after insecticide spraying in the Argentine Chaco using geometric morphometry. **Infection, Genetics and Evolution**, London, v. 17, p. 93-100, 2013.

GONTIJO, E.L; SANTOS, S.E. Mecanismos principais e atípicos de transmissão da doença de Chagas. FIOCRUZ. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=173>> Acesso em: 19 out. 2013.

GORLA, D. E. Variables ambientales registradas por sensores remotos como indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae). **Ecologia Austral**, vol. 12, p. 117-127, 2002.

GURGEL-GONÇALVES, R.; GALVÃO, C; COSTA, J., PETERSON, A. Geografic Distribution of Chagas Disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. **Journal of Tropical Medicine** vol. 2012, p. 1-15, 2012a.

GURGEL-GONÇALVES, R.; GALVÃO, C.; MENDONÇA, J.; COSTA NETO, E.M.; **Guia de Triatomíneos da Bahia**. Feira de Santana: UEFS Editora 2012b. 112p.

GURGEL-GONÇALVES, R.; RAMALHO, E. D.; DUARTE, M. A.; PALMA, A. R. T.; ABAD-FRANCH, F.; CARRANZA, J. C.; CUBA, C. A. C. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.46, n.6, p. 323-330, 2004.

GÜRTLER, R. E.; CECERE, M.C.; LAURICELLA, M. A.; CARDINAL, M. V.; KITRON, U.; COHEN J. E. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. **Parasitology**, v.134, n.1, p.69-82, jul-set. 2007.

GÜRTLER, R.E., CEBALLOS, L.A., STARIOLO, R., KITRON, U., REITHINGER, R. Effects of topical application of fipronil spot-on on dogs against the Chagas disease vector *Triatoma infestans*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** v.103, n.1, p. 298–304, 2009.

GÜRTLER, R. E.; CARDINAL, M. V. Reservoir host competence and the role of domestic and commensal hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. **Acta tropica**. 2015.

GUTIERREZ, F. R. S.; GUEDES, P.M.M.; GAZZINELLI, R.T.; SILVA, J. S. The role of parasite persistence in pathogenesis of Chagas heart disease. **Parasite Immunol**, v.31, n.11, p.673-685, nov. 2009.

GRIJALVA, M.J; TERÁN, D; DANGLES, O. Dynamic of sylvatic Chagas disease vectors in coastal Ecuador is driven changes in land cover. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, Buenos Aires, v. 8, p. n. 6, p. 1-10, 2014.

HANCOCK, K.; ZAJAK, A. M.; PUNG, O. J.; ELVINGER, F.; ROSYPAL, A. C.; LINDSAY, D. S. Prevalence of antibodies to *Trypanosoma cruzi* in raccoons (*Procyon lotor*) from an urban area of northern Virginia. **Journal of Parasitol**, v.91, n.2, p.470-472, abr. 2005.

HOTEZ, P. J.; DUMONTEIL, E.; WOC-COLBURN, L.; SERPA, J. A.; BEZEK, S.; EDWARDS, M. S. Chagas disease: "the new HIV/AIDS of the Americas". **PLoS Neglected Tropical Diseases**, California (US), v. 6, n. 5, p. 1498, mai, 2012.

HURTADO, L. A.; CALZADA, J. E.; PINEDA, V.; GONZÁLEZ, K.; SANTAMARÍA, A. M.; CÁCERES, L.; SALDAÑA, A. Conocimientos y factores de riesgo relacionados con la enfermedad de Chagas en dos comunidades panameñas donde *Rhodnius pallescens* es el vector principal. **Biomédica**, n. 34, v.2, 2014.

LIMA, A. F. R.; JERALDO, V. D. L. S.; SILVEIRA, M. S.; MADI, R. R.; SANTANA, T. B. K.; MELO, C. M. D. Triatomines in dwellings and outbuildings in an endemic area of Chagas disease in northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 6, p. 701-706, 2012.

LOPES, E. Ciência Hoje On-line. **Avanço no combate à doença de Chagas**. Disponível em: <<http://cienciahoje.uol.com.br/noticias/2015/02/avanco-no-combate-a-doenca-de-chagas>> Acesso em: 20 jul. 2015.

LUNARDERLLI, A.; BORGES, F. P.; MELLO, K. F.; ZEFERINO, A. S. A. Soroprevalência da doença de Chagas em candidatos a doadores de sangue. **Rev. Bras. Anal. Clin**, v. 39, n. 2, p. 139-141, 2007.

MAEDA, M. H. **Tritomíneos sinantrópicos no Distrito Federal, Brasil: Ocorrência espaço-temporal e conhecimento dos moradores em relação à doença de Chagas e seus vetores**. Brasília, DF. 2011. 144p. (Dissertação) Mestrado em Medicina Tropical, Universidade de Brasília – Faculdade de Medicina, 2011.

MAEDA, M. H; GURGEL-GONÇALVES, R. Conhecimentos e práticas de moradores do Distrito Federal, Brasil, em relação à doença de Chagas e seus vetores. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 41 n. 1, p. 15-26, jan-mar. 2012.

MARZARI; C. K.; JUNGES, J. R.; SELLI, L. Agentes comunitários de saúde: perfil e formação. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, Supl.1, p. 873-80, nov. 2011.

MARTINS, A. V. Epidemiologia. In.: Cançado, Jr. Doença de Chagas, Imprensa Oficial, Belo Horizonte, p. 225-260, 1968.

MENDES, P.C; LIMA, S.C; PAULA, M.B.C; SOUZA, A.A; RODRIGUES, E.A.S; LIMONGI, J.E. Doença de Chagas e a distribuição espacial de triatomíneos capturados em Uberlândia, Minas Gerais – Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, vol. 3, n.2, p. 176- 204, jun. 2008.

MENDES, P. J.; SILVA, A. P.; VIEIRA, S. A.; MORAES de P. A.; MACHADO, R. B.; GURGEL-GONÇALVES, R. Climatic factors influencing triatomine occurrence in Central-West Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.108, p. 335–341, 2013a.

MENDES, R. S.; SANTANA, L.V.; JANSEN, A.M.; XAVIER, S. C.C.; VIDAL, I.F.; ROTONDANO, T. E. F.; SOUZA, A. L. P. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas canina no semiárido paraibano. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 12, p. 1459-1465, dez. 2013b.

MENEGUETTI, D. U. D. O.; TREVISAN, O.; CAMARGO, L. M. A.; ROSA, R. M. Natural infection of triatomines (Hemiptera: Reduviidae) by trypanosomatids in two different environments in the municipality of Ouro Preto do Oeste, State of Rondônia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 3, p. 395-398, 2012.

MORAES NETO, A. H.; PEREIRA, A. P.; ALENCAR, M. D. E. F., SOUZA, P. R. JR.; DIAS, R.C.; FONSECA, J. G.; SANTOS, C. P.; ALMEIDA, J.C. Prevalence of intestinal parasites versus knowledge, attitudes, and practices of inhabitants of low-income communities of Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro State, Brazil. **Parasitol Res.** v.107, n.2, p. 295-307, 2010.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Manual de medicina interna de pequenos animais**. 3ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. Cap. 9, 104-115p.

NOIREAU, F.; CARBAJAL-DE-LA-FUENTE, A. L.; LOPES, C. M.; DIOTAIUTI, L. Some considerations about the ecology of Triatominae. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 3, p. 431-436, 2005.

OLIVEIRA, A.W. S; SILVA, I. G. Distribuição geográfica e indicadores entomológicos de triatomíneos sinantrópicos capturados no estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p. 204-208, 2007.

OLIVEIRA, P. G. M. de; PEIXOTO, G. C. X.; CALABRESE, K. da S.; SOUZA, C.; AMÓRA, S. S. A.; ALVES, N. D.; FEIJÓ, F. M. C.; FARIA, J. A. de. ANÁLISE DA PRESENÇA DE CO-INFECÇÃO ENTRE *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania chagasi* em cães de área de transmissão intensa para leishmaniose visceral na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 36º, 2009, Porto Seguro. **Anais do 36º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2009.

PASCON, J. P. da E.; PEREIRA NETO, G. B.; SOUSA, M. G.; PAULINO JÚNIOR, D.; CAMACHO, A. A. Clinical characterization of chronic chagasic cardiomyopathy in dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.115-120, 2010.

PASSOS, L. A. C.; GUARALDO, A. M. A.; BARBOSA, R. L.; DIAS, V. L. P. K.; SCHMIDT, F. L. Sobrevivência e infectividade do *Trypanosoma cruzi* na polpa de açaí: estudo in vitro e in vivo. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 21, n. 2, p. 223-232, 2012.

PEREIRA, A. P.; ALENCAR M. F.; COHEN, S. C.; SOUZA-JÚNIOR, P. R.; CECCHETTO, F.; MATHIAS, L. S.; SANTOS, C. P.; ALMEIDA, J. C.; MORAES NETO, A. H. The influence of health education on the prevalence of intestinal parasites in a low-income community of Campos dos Goytacazes. **Parasitology** **8**, Rio de Janeiro, v.139, n. 6, p. 791-801, maio. 2012.

PEREIRA, M. G. **Epidemiologia teoria e prática**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 440p.

R Development Core Team. **R version 3.0.2: A language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2013.

RAMÍREZ, J.D.; TURRIAGO, B.; TAPIA-CALLE, G.; GUHL, F. Understanding the role of dogs (*Canis lupus familiaris*) in the transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Colombia. **Vet. Parasitol.** v. 196, p. 216–219, 2013.

RAMOS JUNIOR, A. N.; CARVALHO, D. M. Os diferentes significados da certificação conferida ao Brasil como estando livre da doença de Chagas. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 6, p. 1403-1412, nov-dez. 2001.

RAMOS JUNIOR, A. N.; MARQUES, D. O. R.; CARMO, G. M.; DIAS, J. C. P.; VALENTE, S. A.; SANTOS, S. O.; GUTIERREZ, E. P. **Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos**. Rio de Janeiro: PANAFTOSA-VP/OPAS/OMS, 92 p.: il. (Série de Manuais Técnicos, 12) PAHO/HSD/CD/539.09, 2009.

RASSI, A. JR.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. **Chagas disease**. The Lancet, p. 1388-1402, apr. 2010.

REIS, D.C.; GAZZINELLI, A.; SILVA, C. A. B.; GAZZINELLI, M. F.; Health education and social representation: an experience with the control of tegumentary leishmaniasis in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n.1, p. 2301-2310, jan-mar. 2006

REIS, D.; MONTEIRO W. M.; BOSSOLANI, G. D. P; TESTON, A. P. M.; GOMES, M. L; ARAÚJO, S. M; BARBOSA, M. G. V; TOLEDO, M. J. O. Biological behaviour in mice of *Trypanosoma cruzi* isolates from Amazonas and Paraná, Brazil. **Experimental Parasitology**, Paraná, v. 130, n. 3, p. 321-329, abr. 2012.

RIZZO, N.; ARANA, B. A.; DIAZ, A; CORDON-ROSALES, C; KLEIN, R.E.; POWELL, M. R. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection among school-age children in the endemic area of Guatemala. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 68, n. 6, p. 678-682, fev. 2003.

ROSYPAL, A. C.; HILL, R.; LEWIS, S.; BRAXTON, K.; ZAJAC, A. M.; LINDSAY, D. S. *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma cruzi* Antibodies in Dogs from Virginia. **Zoonoses and Public Health**, v.57, n.7-8, p.76-80, nov. 2010.

SAMBROOK, J; RUSSELL, D. W. **Inverse PCR**. CSH Protoc, 2006; 10-1101.

SANTANA, V. L. de. **Doença de Chagas em cães naturalmente infectados em região do semiárido nordestino**. 2011. 68p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, 2011.

SANDOVAL-RUIZ, C.A; GUEVARA, R; IBÁÑEZ,-BERNAL, S. Household risks factors associated to infestation of *Triatoma dimidiata*, the Chagas disease vector in central region of Veracruz, México. **Salud publica de México**, Veracruz, v. 56, n.2, p. 213- 220, mar. – abr., 2014.

SAUNDERS, M; SMALL, A; DEDICAT, M; ROBERTS, L. The development e validation of risk score for household infestation by *Triatoma infestans* a bolivian vector of Chagas disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Hampshire, v. 106, p. 677-682, 2012.

SARQUIS, O; OLIVEIRA, T. G.; COSTA, F. A. C.; LIMA, M. M. Avaliação epidemiológica e conhecimento sobre a Doença de Chagas e seus vetores, de uma comunidade de assentados em área endêmica do Nordeste Brasileiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 5, p. 385, set-out. 2009.

SILVA, R.A.; CARVALHO, M.E.; KOYANAGUI, P. H.; POLONI, M.; SAMPAIO, S. M. P.; RODRIGUES, V. L. C. C. Pesquisa sistemática positiva e relação com conhecimento da população de assentamento e reassentamento de ocupação recente em área de *Triatoma sordida* (Hemiptera, Reduviidae) no Estado de São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n.2, p.555-561, jul. 2004.

SILVA, R.A; SAMPAIO, S.M.P; KOYANAGUI, P.H; POLONI, M; RODRIGUES, V.L.C.C. Infestação por triatomíneos em assentamentos e reassentamentos rurais na região Pontal de Paranapanema, estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Minas Gerais, v. 40, n.5, p.527-532, set-out. 2007.

SILVA, R.A; SCANDAR, S.A.S; RODRIGUES, V.L.C.C; CARDOSO JÚNIOR, R.P; SEI, I.A; WANDERLEY, D.M.V. Cuidados do domicílio pela população em área infestada por *Triatoma sordida*. **Revista Baiana de Saúde Pública**, Bahia, v.34, n. 2, p. 267-278, abr./jun ,2010.

SILVA, L. F. **Pesquisa de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* em cães no município de Mossoró, Rio Grande do Norte**. 2011. 64p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2011.

SILVA, L. F.; AMÓRA, S. S. A.; SANTOS, T. C. M.; SOUZA, C. da S. F. de; CALABRESE, K. S.; ALVES, N. D.; FEIJÓ, F. M. C.; FREITAS, E. C.; PALMEIRA, K. da S.; ARAÚJO, J. N. G. de. Anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies detection in dogs of Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. In: 23rd. International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 2011, Buenos Aires.

Proceedings of 23rd. International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, 2011.

SILVA, G.C.M; SILVA, P.C.M; MEDEIROS, W.O A. Determinação de zonas ambientalmente degradadas na mesorregião de Mossoró usando geotecnologia. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, Pombal, v. 7, n. 1, p. 101-108, jan-mar. 2012.

SILVA, L. F.; SOUSA, M. L. R.; AMORIM, C. F.; COSTA, K. F. L.; AMORA, S. A. A. Assistência às unidades agrícolas familiares produtoras de leite caprino no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. In: II Encontro de Gestão Social do Programa de Educação Tutorial. 2013, Mossoró. **Anais do II Encontro de Gestão Social do Programa de Educação Tutorial**, Mossoró, UFRSA, 2013a.

SILVA, G.C.M; SILVA, P.C.M; MEDEIROS, W.O A. Determinação de zonas ambientalmente degradadas na mesorregião de Mossoró usando geotecnologia. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, Pombal, v. 7, n. 1, p. 101-108, jan-mar. 2013b.

SILVEIRA, A.C; ARIAS, A.R; SEGURA, E; GUILLEN, G; SHECNONE, H; DIAS, J.C.P; PADILIA, J.V; LORCA, M; SALVANILLA, R. O controle da doença de Chagas nos países do cone sul da América – História de uma iniciativa internacional. 1991- 2001. **Organização Pan- americana de Saúde - OPAS**, 314p, 2002.

SOUSA, M.L.R. **Avaliação do conhecimento de Agentes Comunitários de Saúde e Agentes de Combate às Endemias sobre doença de Chagas no município de Mossoró, Rio Grande do Norte**. 2013. 56p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Semiárido, 2013.

SOUZA, A. I.; PAULINO-JUNIOR, D.; SOUSA, M. G.; CAMACHO, A. A. Aspectos clínico-laboratoriais da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em cães de Mato Grosso do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p.1351-1356, ago. 2008.

SOARES, E. N. L. 2012. Reestruturação das orientações dirigidas pelo ministério da saúde ao controle do vetor, transmissor da leishmaniose visceral, no Município de Caruaru, PE. 2012. Tese de Doutorado, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Cauaru.

SOUZA, F. Região de Mossoró lidera número de casos de Doença de Chagas. 2012. **Jornal De Fato**. Caderno Especial Estado. Disponível em: <
<http://www.defato.com/noticias/3958/regiao-de-mossoro-lidera-numero-de-casos-de-doenca-de-chagas>> Acesso em: 21 set. 2014.

STEINDEL, M.; TOMA, H. K.; CARVALHO PINTO, C. J.; GRISARD, E. C.; SCHLEMPER, J. R. B. R. Colonização de ecótopos artificiais por *Panstrongylus megistus* na Ilha de Santa Catarina, Santa Catarina, Brasil. **Revista Inst. Med. Trop.** v. 36, n.1, p.43-50, ago. 1994.

TARTAROTTI, E.; AZEREDO-OLIVEIRA, M. T. V.; CERON, C. R. Problemática vetorial da doença de Chagas. **Arquivos de Ciências da Saúde**, v.11, n.1, p.7-44, jan-mar. 2004.

TOME, R. O.; GAIO, F. C.; GENEROSO, D.; MENOZZI, B. D.; LANGONI, H. Active surveillance of canine visceral leishmaniasis and american trypanosomiasis in rural dogs from non-endemic area. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.20, n.1, p. 64-66, jan-mar, 2011.

UMEZAWA, E. S.; SOUZA, A. I.; PINEDO-CANCINO, V.; MARCONDES, M.; MARCILI, A.; CAMARGO, L. M. A.; CAMACHO, A. A.; STOLF, A. M. S.; TEIXEIRA, M. M. G. TESA-blot for the diagnosis of Chagas disease in dogs from co-endemic regions for *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma evansi* and *Leishmania chagasi*. **Acta Tropica**, São Paulo, v.111, n.1, p.15–20, 2009.

VELOSO, V. M.; GUEDES, P. M. M.; ANDRADE, I. M.; CALDAS, I. S.; MARTINS, H. R.; CARNEIRO, C. M.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; LANA, M.; GALVÃO, L. M. C.; BAHIA, M. T.; CHIARI, E. *Trypanosoma cruzi*: blood parasitism kinetics and their correlation with heart parasitism intensity during long-term infection of Beagle dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.103, n.6, p.528-534, set, 2008.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2ª ed. Atheneu, São Paulo, 2002.

VILLELA, M. M.; PIMENTA, D. N.; LAMOUNIER, P. A.; DIAS, J.C. P. Avaliação de conhecimentos e práticas que adultos e crianças têm acerca da doença de Chagas e seus vetores em região endêmica de Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 8, p. 1701-1710, ago. 2009.

VINHAES, M.C.; DIAS, J.C.P. Doença de Chagas no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ. p. 7-12, 2000.

KOLLIEN, A. H.; SCHAUB, G. A. 1990 *Tripanosoma cruzi* in the rectum of the bug *Triatoma infestans*: effects of blood ingestion by the starved vector. **Am J Trop Med Hyg** 59: 166-170. 1990.

WHO. World Health Organization. **Chagas disease – TDR strategic direction**, february, 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/tdr/disiases/chagas/direction.htm>>. Acesso em: 21 jan. 2015.

APÊNDICES

APÊNDICE 01 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Esclarecimentos

Este é um convite para você participar da pesquisa **“Doença de chagas canina e seus vetores: soroprevalência e fatores de risco”** que é coordenada pela **Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amóra** e que segue as recomendações da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares. Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

Essa pesquisa procura contribuir para a prevenção e controle da doença de Chagas do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. Caso decida aceitar o convite, você será submetido (a) ao(s) seguinte(s) procedimentos: será aplicado um roteiro estruturado para características ambientais e realizada uma pesquisa entomológica. Você também será convidado à participar de uma entrevista através de um questionário semiestruturado e, sob permissão, será obtida a amostra de sangue dos cães da residência. Os riscos envolvidos com sua participação são: medo, desconforto ou constrangimento, relacionados à aplicação do questionário, pesquisa entomológica na residência, que serão minimizados mediante as seguintes providências: esclarecimento sobre a finalidade da pesquisa e necessidade de realização dos procedimentos propostos; garantia de privacidade no momento da aplicação do questionário e do sigilo de identidade pessoal e das informações obtidas. Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: irá colaborar e adquirirá conhecimentos sobre a prevenção e o controle da doença de Chagas rural em Mossoró, Rio Grande do Norte.

Todas as informações são sigilosas e seu nome não será identificado em nenhum momento. Os dados serão guardados em local seguro e a divulgação dos resultados será feita de forma a não identificar os voluntários. Se você tiver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido, caso solicite.

Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito a indenização.

Você ficará com uma cópia desse Termo e toda dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente para a Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amóra, no endereço abaixo citado ou pelo telefone: (84) 3317-8556.

Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UERN no endereço abaixo ou pelo telefone: (84) 3315- 2180.

Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que compreendi os objetivos desta pesquisa, como ela será realizada, os riscos e benefícios envolvidos e concordo em participar voluntariamente da pesquisa **“Doença de chagas canina e seus vetores: soroprevalência e fatores de risco”**.

Participante da pesquisa:

Pesquisador Responsável:

Sthenia Santos Albano Amóra.

Endereço profissional: Av. Francisco Mota, 572, Bairro Costa e Silva, fone: (84) 3317-8556.
Comitê de Ética e Pesquisa: Antonio da Silva Neto, s/n – Aeroporto, fone: (84) 3315-2180.

APÊNDICE 02 – Ficha de identificação do cão

IDENTIFICAÇÃO DO CÃO

Ficha nº _____

Nome: _____ Pelagem _____

Idade: _____ Sexo: () Macho () Fêmea

Local/Comunidade: _____

Fatores

Função: () Vigia/guarda () Caça () Companhia

Onde dorme: _____

Presença de abrigo: () Sim () Não

Detalhar o abrigo _____

Contato com outros animais: _____

() Domésticos, quais: _____

() Silvestres, quais: _____

ANEXOS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DOENÇA DE CHAGAS E SEUS VETORES: OCORRÊNCIA ESPAÇO-TEMPORAL E CONHECIMENTO DA POPULAÇÃO

Pesquisador: Sthenia Amóra

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 23070214.2.0000.5294

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO - UFERSA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 668.258

Data da Relatoria: 27/05/2014

Apresentação do Projeto:

Este trabalho apresenta grande relevância, uma vez que pretende realizar um trabalho com intuito preventivo e de controle da transmissão da doença de Chagas no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. O trabalho será desenvolvido em áreas urbanas e rurais do município de Mossoró, a partir de um levantamento de dados realizado junto à Secretaria de Vigilância, aonde vem ocorrendo casos de DC e/ou captura de triatomíneos nos últimos 5 anos. Para tanto, serão mapeadas áreas de risco para a doença com base no diagnóstico fornecido pela Secretaria para realização de estudo de indicadores ambientais, entomológicos e busca ativa de triatomíneos nas residências para identificação taxonômica. Além disso, será aplicado um questionário estruturado aos moradores das residências visitadas, contendo perguntas sobre a DC e seus vetores, bem como a coleta de sangue de cães e gatos domiciliados que possam existir nas residências para pesquisa sorológica de anticorpos anti-T. cruzi.

Endereço: Rua Almino Afonso n°. 478

Bairro: Centro

CEP: 59.607-360

UF: RN

Município:

Telefone: (843)315-2145

Fax: (843)315-2108

E-mail: cep@uern.br; relatoria@uern.br



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Parecer de Projeto Encaminhado A CEUA-UFERSA

Parecer Nº 62/2012 PROCESSO Nº 23091.002190/2012-75

Data de Entrada: Aprovado: 26/06/2012

1. Pessoal Responsável:

Sthenia Santos Albano Amóra

2. Título do Projeto:

Epidemiologia e controle da Doença de Chagas canina e felina no Município de Mossoró, Rio Grande do Norte.

3. Objetivo:

Contribuir para o monitoramento da doença da Chagas canina e felina na cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte.

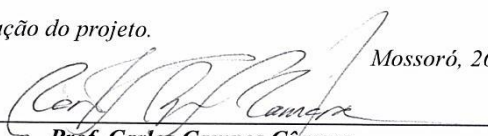
4. Considerações:

O protocolo de procedimentos está devidamente preenchido e de acordo com as especificações da Comissão de Ética no Uso Animal da UFERSA - CEUA. O problema em questão tem relevância científica. O protocolo experimental está bem discriminado e coerente. O número experimental de animais está coerente e os procedimentos experimentais não incluem eutanásia ou procedimentos cirúrgicos. Durante o desenvolvimento da pesquisa, os animais não serão submetidos à estresse ou sofrimento. Todo o procedimento de coleta de material biológico e manipulação dos animais será realizado com acompanhamento técnico especializado e com o uso de material adequado.

5. Parecer final:

FAVORÁVEL à aprovação do projeto.

Mossoró, 26 de Junho de 2012,


Prof. Carlos Campos Câmara
Presidente do CEUA