



FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE

EVANILDO BEZERRA SOARES

**INFECÇÃO NATURAL DE TRIATOMÍNEOS
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE) POR
TRIPANOSOMATÍDEOS EM PALMEIRAS BABAÇU
(*Orbynia speciosa*) LOCALIZADAS EM PASTAGENS
FORMADAS POR MECANIZAÇÃO, OCORRENTES
NO MUNICÍPIO DE BURITIS – RONDÔNIA**

ARIQUEMES-RO
2013

EVANILDO BEZERRA SOARES

**INFECÇÃO NATURAL DE TRIATOMÍNEOS
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE) POR
TRIPANOSOMATÍDEOS EM PALMEIRAS BABAÇU
(*Orbynia speciosa*) LOCALIZADAS EM PASTAGENS
FORMADAS POR MECANIZAÇÃO, OCORRENTES
NO MUNICÍPIO DE BURITIS – RONDÔNIA**

Monografia apresentada ao curso de
Graduação em Farmácia da Faculdade de
Educação e Meio Ambiente – FAEMA,
como requisito parcial a obtenção do grau
de bacharel em farmácia generalista.

Profº. Orientador: Ms. Dionatas Ulises de
Oliveira Meneguetti

Evanildo Bezerra Soares

**INFECÇÃO NATURAL DE TRIATOMÍNEOS (HEMIPTERA:
REDUVIIDAE) POR TRIPANOSOMATÍDEOS EM PALMEIRAS
BABAÇU (*Orbynia speciosa*) LOCALIZADAS EM
PASTAGENS FORMADAS POR MECANIZAÇÃO,
OCORRENTES NO MUNICÍPIO DE BURITIS – RONDÔNIA**

Monografia apresentada ao curso de Graduação em Farmácia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA, como requisito parcial a obtenção do grau de bacharel em farmácia generalista.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Orientador Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti
FAEMA - Faculdade de Educação e Meio Ambiente

Prof. Ms. Leandro José Ramos
FAEMA - Faculdade de Educação e Meio Ambiente

Prof(a). Ms. Filomena Maria Minetto Brondani
FAEMA - Faculdade de Educação e Meio Ambiente

Ariquemes-RO, 22 de junho de 2013

A Deus, por ser o meu refúgio e minha referência,

A minha esposa e filhas que sofreram minha ausência como protetor, mas me apoiaram e entenderam,

A meus pais que me ensinaram valores morais insubstituíveis,

Ao meu professor orientador Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti que como um grande amigo, me orientou em todas as fases desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao professor orientador Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti, que como um grande amigo, me orientou em todas as fases desse trabalho. A minha família pela compreensão de tamanha ausência, falta de dedicação e atenção ao lar, motivados pelas viagens ao estudo. Aos meus pais, que além de todos os cuidados como pessoa, me ensinaram virtudes e valores que integram meu caráter como cidadão. Aos amigos e colegas, pelo tempo vivido juntos, pela cooperação, pela reciprocidade, pela descontração e pela união. Aos professores, pois juntos trilhamos uma etapa importante de nossas vidas, bem orientados e motivados.

A todos que, de algum modo, colaboraram para a realização e finalização deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho analisou a ocorrência, índice de contaminação natural, a classificação de gêneros, classificação de estágio de vida e índice de localização de triatomíneos (hemiptera: reduviidae) no município de Buritis-RO. Foi pesquisado em *Orbynia speciosa* (babaçu) em ambiente de pastagem formada por mecanização. As palmeiras foram derrubadas e os triatomíneos capturados, realizado esfregaço do conteúdo intestinal dos exemplares adultos, analisados em microscopia óptica e classificado o tipo de tripanosoma (*T. rangeli* e *T. cruzi*). Os jovens, preparado mostruário de exemplares nos diferentes estágios de Ninfa. Encontrado apenas uma espécie, (*Rhodnius montenegrensis*), 100% de contaminação dos adultos para tripanosomatídeos (*T. cruzi*, *T. rangeli* ou mista). O alto índice de proliferação dessa espécie e a alta taxa de contaminação sugere um estudo mais aprofundado sobre o comportamento dessa espécie no sentido de manter uma vigilância epidemiológica para prevenir riscos à saúde humana.

Palavras chaves: triatomíneos, tripanosomatídeos, *Orbynia speciosa* e doença de chagas.

ABSTRACT

This study had analyzed the occurrence rate of natural contamination, the classification of genres, the classification of stage of life and location index of *Triatoma infestans* (hemiptera: reduviidae) in the city of Buritis, Rondônia State. The *Orbynia speciosa* was searched in pasture environment formed by mechanization. Palm trees were felled and *Triatoma infestans* were captured, held smear the intestinal contents of adult specimens analyzed in optical and classified the type of trypanosome (*T. rangeli* and *T. cruzi*). In prepared sample of young specimens at different stages of Ninfa was found only one specie (*Rhodnius Montenegrense*) with 100% contamination of adults to trypanosomes (*T. cruzi*, *T. rangeli* or mixed). The high rate of proliferation of this species and the high rate of contamination suggests further study on the behavior of this species in order to maintain surveillance to prevent risks to human health.

Keywords: *Triatoma infestans*, trypanosomes, *Orbynia speciosa* and barber bug fever.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo evolutivo do <i>Trypanosoma rangeli</i> no inseto vetor	10
Figura 2 - Ciclo de vida do <i>T. cruzi</i>	15
Figura 3 - A) <i>Panstrongylus geniculatus</i> , B) <i>Eratyrus mucronatus</i> (MENEGUETTI et al., 2011b), C) <i>Rhodnius robustus</i> (ROSA et al., 2012), D) <i>Rhodnius prolixus</i> (NHM, 2012), E) <i>Rhodnius pictipes</i> (SANTOS, 2009), F) <i>Rhodnius milesi</i> (SANTOS, 2009), G) <i>Rhodnius montenegrensis</i> (ROSA et al., 2012), H) <i>Triatoma rubrovaria</i>	18
Figura 4 - Localização no estado de Rondônia do Município de Buritis	22
Figura 5 - Coleta de triatomíneos em <i>O. speciosa</i> , (A) retirada das brácteas, (B) triatomíneos em cópula, (C) captura de triatomíneo	23
Figura 6 - Coleta de triatomíneos no município de Buritis	24
Figura 7 - (A) Retirada do Conteúdo da Ampola retal; (B) Diluição da Ampola retal; (C) <i>T. rangeli</i>	25
Figura 8 - Espécie <i>Rhodnius montenegrensis</i> , imagem superior de casal adulto	28
Figura 9 - Triatomíneos do Gênero <i>Rhodnius montenegrensis</i> , observado o dorso ventral de um casal adulto. A- fêmea; B- Macho	29
Figura 10 - Gráfico dos exemplares coletados nos diferentes meses do ano, no período da coleta	30
Figura 11 - Número total de triatomíneos capturados por estágio	31
Figura 12 - <i>Trypanosoma rangeli</i> observado em microscópio óptico, em objetiva de 40x com lâmina e lamínula	32
Figura 13 - <i>Trypanosoma cruzi</i> ,	33

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 BREVE HISTÓRICO	12
2.2 EPIDEMIOLOGIA	13
2.3 AGENTE ETIOLÓGICO	14
2.4 TRANSMISSÕES	16
2.5 DISTRIBUIÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS	17
2.6 ECÓTOPOS NATURAIS	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 ÁREAS DE ESTUDO	22
4.2 COLETA	22
4.3 MÉTODOS DE COLETA E IDENTIFICAÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS	23
4.4 ISOLAMENTO E CULTURA DOS TRIPANOSOMATÍDEOS	24
4.5 EXTRAÇÃO DO DNA DE TRIPANOSOMATÍDIOS	26
4.6 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)	26
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

INTRODUÇÃO

Os triatomíneos também conhecidos por barbeiros, são insetos conhecidos pelas populações rurais de várias regiões do Brasil, com tamanhos e cores variáveis muitas vezes são confundidos com outros reduvídeos. São insetos largamente difundidos nas Américas, encontrados desde o sul dos Estados Unidos até o sul da Argentina, são de grande importância, pois pode transmitir a Tripanossomíase Americana também denominada doença de Chagas (MENEGUET et al., 2011).

Os triatomíneos ou “barbeiros” são insetos que pertencem a um dos poucos grupos da Ordem Hemiptera que se alimentam do sangue de vertebrados, sendo responsáveis pela transmissão do *T. cruzi*, agente etiológico da Doença de Chagas (GALVÃO et al., 2003). Na América Latina, essa doença figura entre as quatro principais endemias, sendo um dos seus maiores problemas sanitários (ARGOLO et al., 2008). A transmissão da infecção ocorre principalmente pela deposição de fezes do vetor sobre os tecidos cutâneos e mucosas (MASSARO et al., 2008). Além de se infectarem com o *T. cruzi*, os triatomíneos, principalmente as espécies do gênero *Rhodnius*, podem se infectar com o *T. rangeli* ou manter infecções mistas com os dois parasitos, que podem ser igualmente transmitidas ao homem e aos hospedeiros vertebrados (FERREIRA, 2013).

O *Trypanosoma rangeli* é um parasita hemoflagelado que infecta diversas espécies de hemipteros hematófagos e mamíferos, inclusive o homem. Este protozoário não é considerado patogênico para hospedeiros vertebrados que são infectados pela picada do vetor, principalmente por triatomíneos do gênero *Rhodnius* (RAMIREZ et al., 1998). O ciclo de vida do parasito no hospedeiro invertebrado se inicia com a ingestão de formas tripomastigotas sanguíneas durante o repasto em vertebrados infectados (FERREIRA, 2013). Atualmente, recomenda-se a utilização de diversas metodologias laboratoriais para identificar e caracterizar os isolados primários de *T. rangeli*, bem como para diferenciá-lo do *T. cruzi*, já que podem apresentar reações sorológicas cruzadas (RAMIREZ et al., 1998). O *tripomastigota sanguineo* é a única forma evolutiva do *T. rangeli* detectável no hospedeiro vertebrado (Figura 1) (MORETO, 2007).

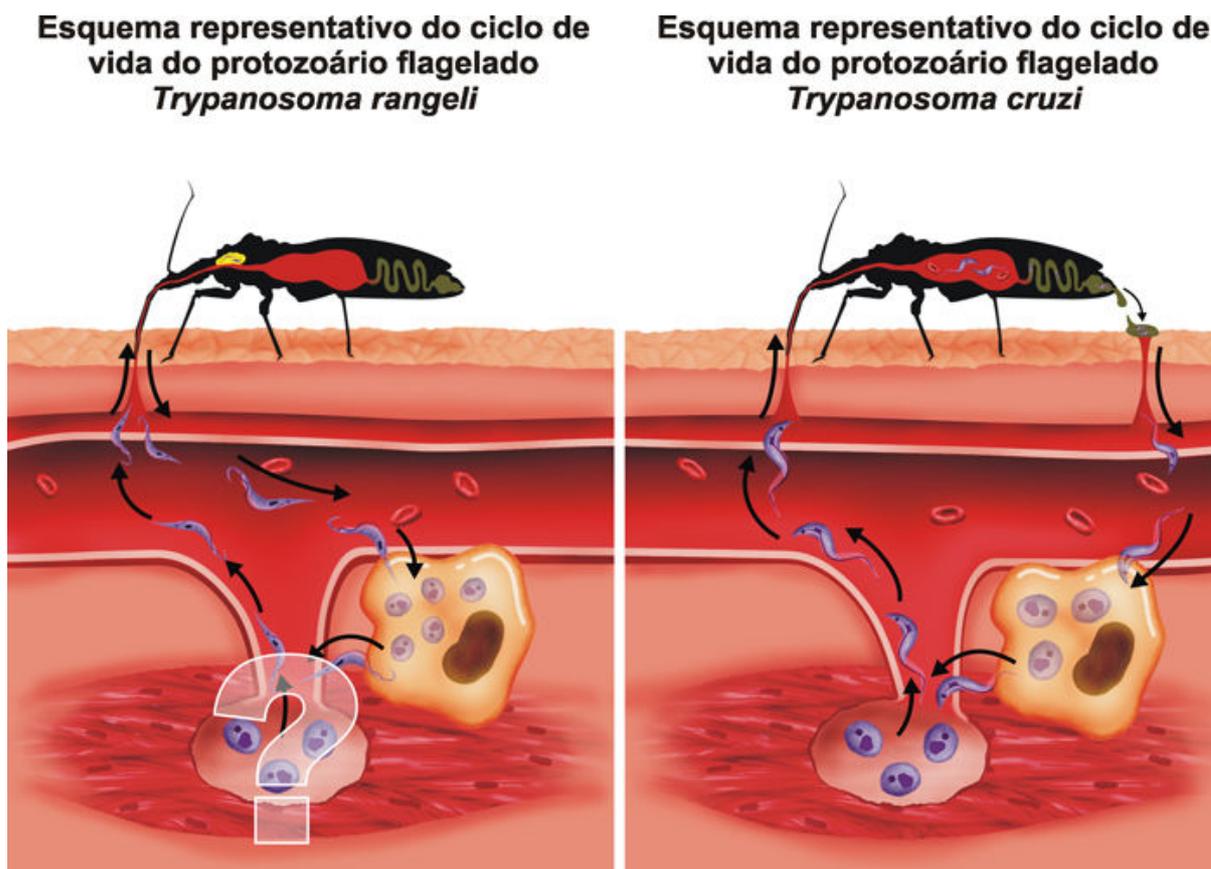


Figura 1- Ciclo evolutivo do *T. rangeli* no inseto vetor

Fonte: (GARCIA et al., 2009)

A doença de Chagas é causada pelo protozoário flagelado, *Trypanosoma cruzi*, de curso clínico crônico, tem como principal vetor o inseto, popularmente, chamado de “barbeiro” ou “chupão”, enquanto os hospedeiros são o homem e os mamíferos domésticos e silvestres (OLIVEIRA, 2008).

Descrita por Carlos Chagas em 1909, a tripanossomíase americana ou doença de Chagas (DC) passou a constituir problema como doença humana na Amazônia, a partir de 1969 e com maior ênfase, a partir de 1996 (PINTO et al., 2007). Há anos, a comunidade científica vem relatando e discutindo as possibilidades de emergência e dispersão da doença de Chagas humana (DCH) na Amazônia, mercê de ampla circulação do *Trypanosoma cruzi* em focos silvestres onde várias espécies de vetores e reservatórios infectados têm sido descritas (DIAS et al., 2002).

Segundo o Ministério da Saúde, a ocorrência de doença de Chagas aguda tem sido observada em diferentes estados (Bahia, Ceará, Piauí, Santa Catarina, São Paulo), com maior frequência de casos e surtos registrados na região da Amazônia

Legal (Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Amapá, Pará, Tocantins), onde a transmissão oral tem sido registrada com maior frequência. Nos anos de 2000, 2001 e 2004, ocorreram 57 casos de doença de Chagas aguda, por transmissão oral; no período de 2005 a 2007, esses números somaram 301 casos. Em 2008, foram diagnosticados 111 casos de DCA na região Amazônica e esses casos estavam envolvidos em transmissão oral (BRASIL, 2013).

A destruição das palmeiras (babaçu) pode mudar o ciclo desses insetos, aproximando-os do homem em busca de alimento e habitat em decorrência do desmatamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 BREVE HISTÓRICO

Os triatomíneos, popularmente denominados de barbeiros, são insetos conhecidos pelas populações rurais de várias regiões do Brasil. Com tamanhos e cores variáveis, muitas vezes são confundidos com outros reduvídeos. São insetos largamente distribuídos nas Américas, encontrados desde o sul dos Estados Unidos até o sul da Argentina. São de grande importância, pois podem transmitir o protozoário *T. cruzi*, causador da Tripanossomíase Americana, também denominada doença de chagas (DIAS et al., 1989).

Embora a descrição da primeira espécie (*Cimex rubrofasciatus*, agora *Triatoma rubrofasciata* De Geer, 1773) tenha ocorrido no final do século XVIII, o contato desse inseto com o homem é bastante anterior (PERFETTI, 2007).

O primeiro relato, que se tem notícia sobre o aspecto e os hábitos de triatomíneos ocorreu em 1590 e foi feito pelo padre Reginaldo de Lizárraga, quando fazia uma viagem de inspeção a conventos do Peru e Chile (GALVÃO, 2013).

Darwin também observou esses insetos em sua viagem a América do Sul a bordo do H.M.S. Beagle em 1835 (GALVÃO, 2007; GALVÃO, 2013).

A doença foi descoberta em 1908 pelo médico brasileiro Carlos Chagas e coube ao mesmo diagnosticar e estudar clinicamente o primeiro caso humano da tripanossomíase em uma criança no ano de 1909 (CAUTINHO; DIAS, 1999; JURBERG et al., 2004). A doença de Chagas é o único exemplo da história em que o agente causal foi descoberto antes da doença propriamente dita (TARTAROTTI et al., 2004).

Com a descoberta Carlos Chagas homenageou o epidemiologista Oswaldo Cruz com o seu nome no agente causador *T. cruzi* (FIOCRUZ, 2000).

O *T. cruzi* induz três processos patológicos fundamentais no tecido dos vertebrados: a resposta inflamatória, as lesões celulares e a fibrose. Estes processos, que são sequenciais e, o que é mais habitual, simultâneos e inter-relacionados, podem localizar-se em qualquer tecido ou órgão. Entretanto, o coração, o tubo digestivo e o sistema nervoso constituem suas sedes mais frequentes e importantes (LOPES; CHAPADEIRO, 1997).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Considerada endêmica em países da América Latina e Central, a doença de Chagas vem se disseminando também em outras partes do mundo como resultado da imigração. São cada vez mais frequentes os registros da doença nos Estados Unidos, em países da Europa, na Austrália e no Japão (SCHMUNIS; YADON, 2010).

Em todo o mundo, mais de 14 milhões de pessoas estão infectadas pelo parasito causador da doença de Chagas (FIOCRUZ, 2013), sendo estimado que cerca de 100 milhões de pessoas ainda correm o risco de contrair esta doença (GUHL; VALLEJO, 1999; TARTAROTTI et al., 2004; OYAFUSO et al., 2008). A incidência anual é de 200 mil novos casos registrados em vários países (MOREL; LAZDINS, 2003; MARIANA et al., 2009). Essa grande distribuição ocorre devido o *T. cruzi* ser transportado com os movimentos populacionais de regiões endêmicas para países não endêmicos, como na América do Norte (Estados Unidos e Canadá), e no oeste do Pacífico (especialmente Japão e Austrália) e mais recentemente, na Europa (sobretudo a Bélgica, Espanha, França, Itália, Reino Unido e Suíça, e em menor grau, Alemanha, Áustria, Croácia, Dinamarca, Holanda, Luxemburgo, Noruega, Portugal, Romênia e Suécia). Estima-se que há mais de 300.000 indivíduos infectados nos Estados Unidos, 5.500 no Canadá, 80.000 na Europa e na região do Pacífico ocidental, 3.000 no Japão e 1.500 em Austrália (COURA; VIÑAS, 2010).

Na América Latina, a doença afeta cerca de oito milhões de pessoas (RASSI, Jr et al., 2010), figurando entre as quatro principais endemias, sendo um dos seus maiores problemas sanitários (ARGOLO et al., 2008). Há uma maior prevalência nas populações dos países pobres do continente americano (FILHO; LIMA, 2008). Os países endêmicos compreendem países da América do Sul como Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Brasil, Bolívia, Chile, Uruguai, Argentina, e da América Central o México (GUHL; SCHOFIELD, 1996; TARTAROTTI et al., 2004).

Até o início de 1990, a doença de Chagas foi classificada pelo Banco Mundial como a mais séria das doenças parasitárias na América Latina, com um impacto socioeconômico (medido como DALY - Disability-Adjusted Life Years) consideravelmente maior do que os efeitos combinados de todas as outras infecções parasitárias (OXFORD, 1993; DIAS et al., 2002).

No Brasil a estimativa é que existam aproximadamente 1,6 milhões de pessoas infectadas, por doença de chagas (RASSI Jr et al., 2010), tendo baixado na última década a proporção de óbitos de quase quatro em cada grupo de 100 mil por ano para menos de três (FAPESP, 2012). Apesar do Brasil ter sido declarado livre da transmissão vetorial da DC por *T. infestans*, casos agudos ainda têm sido registrados devido a transmissão por espécies de triatomíneos nativas. Atualmente, novos casos e surtos da doença de Chagas aguda (DCA) têm sido mais registrados na região da Amazônia Legal (Amazonas, Maranhão, Mato Grosso, Amapá, Pará, Tocantins). Entre 2007 e 2011, ocorreram 849 casos de DCA no Brasil, a maioria por transmissão oral (70%); destes casos, 611 (72%) foram diagnosticados no estado do Pará (BRASIL, 2013).

A tripanossomíase americana passou a causar problemas como doença humana na Amazônia a partir de 1969, com maior ênfase a partir de 1996 (FERREIRA et al., 1997; VALENTE et al., 1997; CONSENSO, 2005; PINTO et al., 2007).

Na Amazônia foram encontradas 18 espécies de triatomíneos, 10 infectadas com *T. cruzi*, em Rondônia poucos são os dados científicos em relação à doença de Chagas. Um dos primeiros estudos sobre infecção de triatomíneos por *T. cruzi* foi realizado na região de Monte Negro, onde obteve se aproximadamente 23,7% de infecção (MASSARO et al., 2008). As espécies *R. robustus*, *R. pictipes*, *R. prolixus* e *R. milesi* foram encontradas associadas ao babaçu (MASSARO et al., 2008). Em Ouro Preto do Oeste o índice foi de 35.6% de infecção, contando todos os tripanossomatídeos, sem especificar o *T. cruzi* (MENEGUETTI et al., 2012).

2.3 AGENTE ETIOLÓGICO

O *T. cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, é um protozoário flagelado, seu ciclo de vida inclui a passagem obrigatória por hospedeiros de várias classes de mamíferos inclusive o homem e insetos hemípteros hematófagos, comumente chamados de barbeiros (Figura 2) (COURA, 2003).

Doença de Chagas: Ciclo de Vida do *Trypanosoma cruzi*

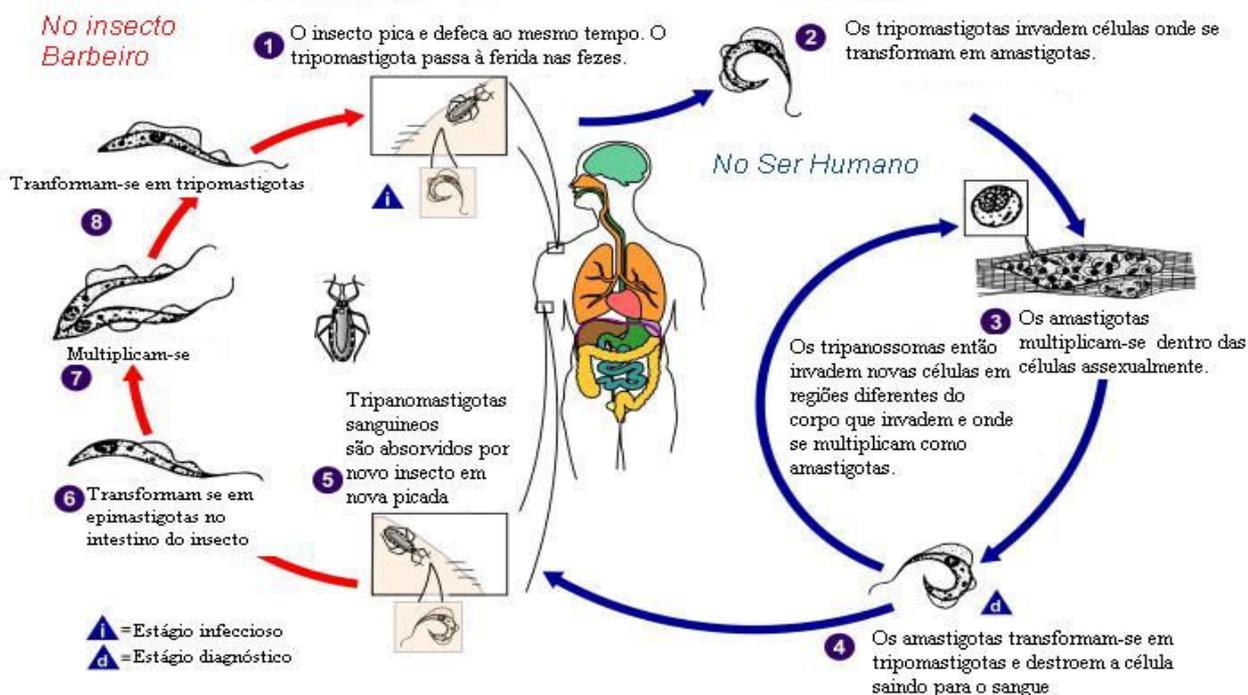


Figura 2 - Ciclo de vida do *T. cruzi*

Fonte: (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009)

Diversos animais silvestres são hospedeiros do *T. cruzi*, com destaque para alguns mamíferos como quatis, gambás (mucura, cassacos ou sarigues) e tatus, todos endêmicos do Brasil em especial da região amazônica. Porém hoje os hospedeiros não se limitam a apenas animais silvestres, pois animais domésticos como os cachorros, gatos e suínos, já estão tendo uma importância significativa no ciclo biológico do *T. cruzi*. Já as aves e os vertebrados de sangue frio são refratários ao parasito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

No sangue dos mamíferos, o *T. cruzi* apresenta-se na forma de tripomastigota que é extremamente móvel e nos tecidos como amastigota. No tubo digestivo dos triatomíneos, ocorre à transformação do parasito dando origem à forma infectante, presente nas fezes do inseto (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

A região amazônica vem sofrendo nos últimos anos com as altas incidências de pessoas que contraíram doença de Chagas, principalmente através da transmissão oral, esses casos ocorreram principalmente em famílias carentes onde as condições sanitárias são inadequadas.

Entre os estados da região amazônica o estado de Rondônia pode ser considerado como um dos estados de menor investimento em pesquisas nessa área, a população desconhece a ocorrência dos vetores e as autoridades não sabem como agir. Recentemente foram confirmados dois casos no município de Ariquemes – RO, de contaminação de crianças através da amamentação, tendo as mães relatado que não sabiam que eram infectadas. Ocorreram também relatos de triatomíneos em residências carentes nos municípios de Ouro Preto do Oeste, Monte Negro, Ariquemes, Vilhena e Porto Velho, porém sem a comprovação de domiciliação. Esses fatos mostram a necessidade da realização de estudos para uma melhor compreensão da distribuição dos vetores e da sua interação com a população local.

2.4 TRANSMISSÕES

A transmissão da infecção ocorria principalmente pela deposição de fezes e urina do vetor sobre os tecidos cutâneos, mucosa ou ferimento causado pelo aparelho bucal dos triatomíneos. Outras vias menos frequentes eram transfusões sanguíneas, por via oral, via transplacentária, acidentes de laboratório, manipulação de animais infectados e transplante de órgãos (MASSARO et al., 2008).

A contaminação por via oral que era considerada menos frequente ou até mesmo rara teve um aumento significativo de casos positivos, principalmente na região amazônica. De junho de 2006 a junho de 2007, 116 pessoas contaminaram-se com a doença no estado do Pará após ingerir sucos típicos da região (principalmente açaí e bacaba) triturados com o barbeiro (REIS, 2013). De acordo com o Instituto Evandro Chagas de 1968 a 2005, foram registrados em média 12 casos de contaminação por ano na região amazônica por via oral, ou seja, houve um aumento de 867%, comparado ao período de junho de 2006 a junho de 2007 (REIS, 2013).

O Ministério da Saúde aponta ao menos três razões para essa situação: a subnotificação de casos até então, o desmatamento e as queimadas na Amazônia e a falta de cuidado com a higiene no processamento artesanal da fruta (REIS, 2013).

A contaminação também pode ocorrer a partir da ingestão de carne crua e mal cozida de caça, ou alimentos contaminados por urina ou secreção anal de

marsupiais infectados e leite cru de animais contaminados (DEANE et al., 1984; PANAFTOSA, 2006).

Na transmissão oral o parasita penetra pela mucosa do esôfago, do estomago e das porções iniciais do intestino delgado (DIAS et al, 2002).

Embora se conheçam surtos deste tipo em diversos países, ambientes e localidades endêmicas, a Amazônia tem sido o ecossistema onde tal transmissão tem recolhido a maior frequência e visibilidade (PANAFTOSA, 2006).

2.5 DISTRIBUIÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS

A subfamília Triatominae está distribuída principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do hemisfério ocidental, algumas espécies ocorrem nas margens da Austrália (GALVÃO, 2007).

No mundo são conhecidas 142 espécies de triatomíneos distribuídas em 18 gêneros, (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação sistemática atual da subfamília Triatominae atualizada

Subfamília	Gênero	Nº de espécies
Triatominae	Alberprosenia	2
	Belminus	8
	Bolbodera	1
	Microtriatoma	2
	Parabelminus	2
	Carvenicola	2
	Linshcosteus	6
	Psammolestes	3
	Rhodnius	17
	Dipetalogaster	1
	Eratyrus	2
	Hermanlenticia	1
	Meccus	6
	Mepraia	2
	Nesotriatoma	3
	Panstrongylus	14
	Paratriatoma	1
	Triatoma	69*
Total	18	142

*excluindo a espécie fóssil *Triatoma dominicata* Ponair Jr., 2005

(GALVÃO, 2003; GALVÃO et al., 2003; FORERO et al., 2004; GALVÃO; ÂNGULO 2006, COSTA et al., 2006; GALVÃO, 2007; COSTA; FELIX 2007; SANDOVAL et al., 2007; MARTINEZ et al., 2007; ROSA et al., 2012).

No Brasil são descritas 62 espécies distribuídas em oito gêneros (GURGEL-GONÇALVES et al., 2004). Nos países que compõem a região amazônica são conhecidas pelos menos 27 espécies distribuídas em oito gêneros (ABAD-FRANCH; MONTEIRO 2007). Na Amazônia brasileira pelo menos 10 espécies já foram detectadas com registro de infecção por flagelados do tipo *Trypanosoma cruzi* (FÉ et al., 2009).

Em Rondônia existem registros de oito espécies de triatomíneos distribuídas em quatro gêneros, *Panstrongylus geniculatus*, *Eratyrus mucronatus*, *Rhodnius robustus*, *Rhodnius prolixus*, *Rhodnius pictipes*, *Rhodnius milesi*, *Rhodnius montenegrensis*, além de um registro isolados de *Triatoma rubrovaria* (Figura 3), porém esse relato do *T. rubrovaria* possivelmente foi devido a erros de classificação taxonômica, ou resultantes de um espécime importado, uma vez que é nativa do Urugua y e Rio Grande do Sul (MASSARO et al., 2008; MENEGUETTI et al., 2011a; MENEGUETTI et al., 2011b; MENEGUETTI et al., 2012; ROSA et al., 2012).

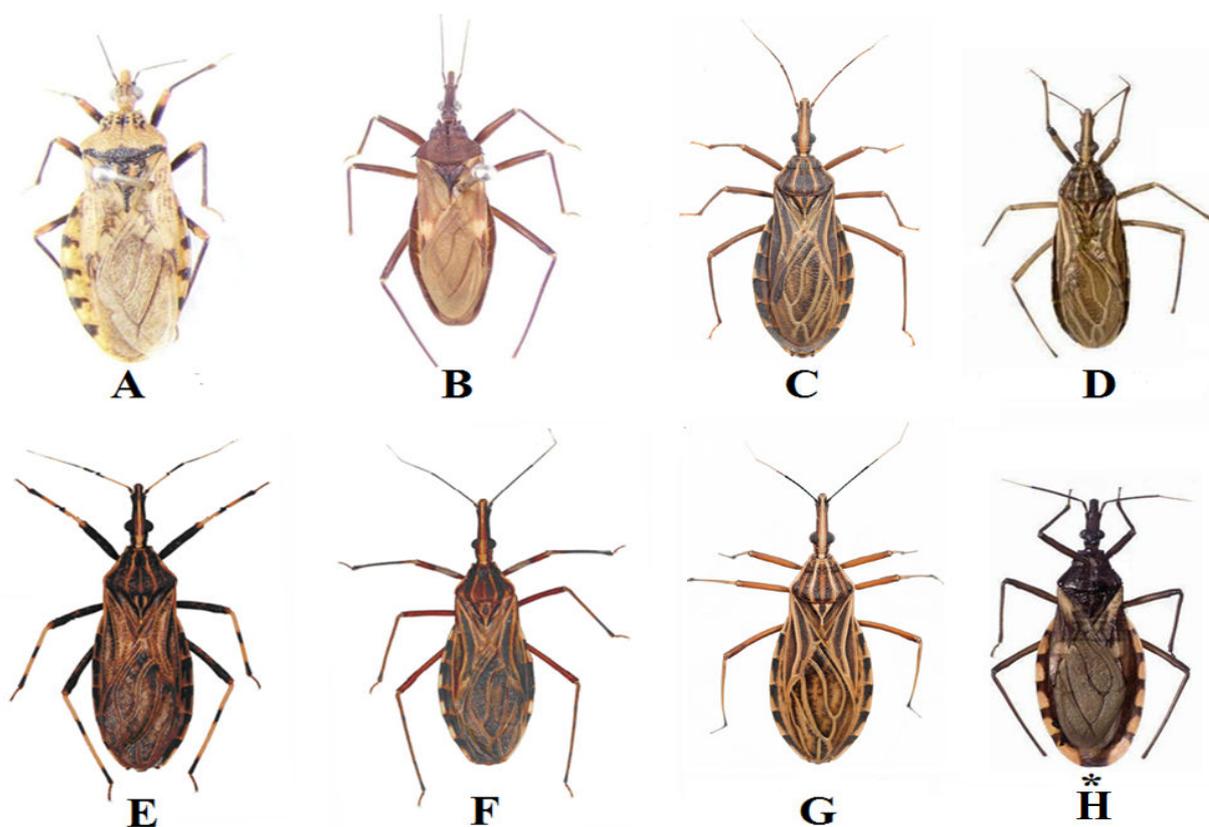


Figura 3 - A) *Panstrongylus geniculatus*, B) *Eratyrus mucronatus* (MENEGUETTI et al., 2011b), C) *Rhodnius robustus* (ROSA et al., 2012), D) *Rhodnius prolixus* (NHM, 2012), E) *Rhodnius pictipes* (SANTOS, 2009), F) *Rhodnius milesi* (SANTOS, 2009), G) *Rhodnius montenegrensis* (ROSA et al., 2012), H) *Triatoma rubrovaria*

* Erros de classificação taxonômica, ou espécime importado.

Apesar dessa biodiversidade o estado de Rondônia não é considerado de risco para a transmissão vetorial da doença de Chagas (CONSENSO, 2005), partindo do ponto em que todas as espécies de triatomíneos são consideradas vetores em potencial da doença de Chagas, mas o seu comportamento é que define sua capacidade vetorial (LENT; WYGODZINSKY, 1979; ZÁRATE, 1984; CARCAVALLO, 1997; MOLINA et al., 2000), sendo assim faz-se necessário uma reavaliação de risco sobre a transmissão vetorial no estado.

A ocorrência em especial das espécies do gênero *Rhodnius* é preocupante visto que a espécie *R. robustus*, já foi encontrada em peridomicílios e domicílio infectada pelo *T. cruzi*, sendo considerado um vetor potencial na transmissão silvestre da doença de Chagas (MENEGUETTI et al., 2012). Os registros de *R. prolixus* no estado devem ser confirmados a partir de técnicas moleculares e morfométricas, pois as evidências biogeográficas e morfométricas indicam que esta espécie não ocorre ao sul da Amazônia (ABAD-FRANCH; MONTEIRO, 2007, GURGEL-GONÇALVES et al., 2008), essa informação é epidemiologicamente importante, pois *R. prolixus* é um importante vetor para a doença de Chagas na América Central (ZELEDÓN, 2004).

A ocorrência de espécimes do gênero *Rhodnius* em palmeiras é relatada em estudos nas regiões de vegetação desmatada de Manaus – AM (NAIFF et al., 1998), Monte Negro - RO (MASSARO et al., 2008) e Ouro Preto do Oeste - RO (MENEGUETTI et al., 2012), também sendo observado sua ocorrência em residências nesse mesmo município (MENEGUETTI et al., 2011 c).

2.6 ECÓTOPOS NATURAIS

As espécies *Euterpe oleracea* (açai), *Bactris gasipaes* (pupunha), *Oenocarpus bacaba* (bacaba), *Orbynia speciosa* (babaçu) e *Mauritia flexuosa* (buriti) são palmáceas distribuídas em toda região amazônica, fazendo parte da dieta alimentar e da fonte de renda de várias comunidades. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Vários estudos têm salientado a importância de palmeiras como ecótopos naturais, pois servem de abrigo e alimento a uma fauna diversa de mamíferos como morcegos, ratos, gambá e macacos, além de serpentes, escorpiões, anfíbios e

grande variedade de insetos, representando uma combinação de abrigo e recursos alimentares para o desenvolvimento e procriação dos triatomíneos, principalmente de espécies do gênero *Rhodnius*, importantes vetores da doença de Chagas nas Américas (GURGEL-GONÇALVES et al., 2004).

Acredita-se que o desmatamento, associado à perda de habitat dos triatomíneos, pode aumentar a frequência de vetores em contato com humano.

O sistema de vigilância epidemiológica, principalmente nas regiões centro-nordeste e norte do Brasil devem priorizar paisagens desmatadas onde palmeiras ocorrem próximas às residências (ABAD-FRANCH et al., 2009).

A maioria das espécies do gênero *Rhodnius* encontra-se predominantemente associadas às palmeiras, enquanto as espécies do gênero *Triatoma* e *Panstrongylus*, vivem preferencialmente em associação com hospedeiros terrestres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Algumas poucas espécies, ao longo de seu processo evolutivo adaptaram-se aos domicílios e às estruturas construídas no peridomicílio, como galinheiros e chiqueiros e tornaram-se mais importantes na transmissão da doença ao homem (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a infecção natural de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) por *T. cruzi* e *T. rangeli* em palmeiras babaçu (*Orbynia speciosa*) localizadas em pastagens formadas por mecanização, ocorrentes no município de Buritis – Rondônia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar as espécies de triatomíneos ocorrentes nas coletas realizadas em palmeiras babaçu (*Orbynia speciosa*) localizadas em pastagens formadas por mecanização, ocorrentes no município de Buritis – Rondônia.
- Relacionar os triatomíneos encontrados no município com os ocorrentes nos estados da região Amazônica;
- Identificar os principais veículos de transmissão e hospedeiros na região Amazônica;
- Analisar a contaminação dos triatomíneos capturados em seu estágio adulto por *T. cruzi*;
- Analisar a contaminação dos triatomíneos em seu estágio adulto por *T. rangeli*;

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ÁREAS DE ESTUDO

O estado de Rondônia está localizado na região norte do Brasil e faz divisa ao norte com o estado do Amazonas, a leste com o estado do Mato Grosso, ao sul com a república da Bolívia, e a oeste com o estado do Acre. O município de Buritis possui uma população de pouco mais de 32 mil habitantes e está localizado a leste do estado de Rondônia, conforme (Figura 4).

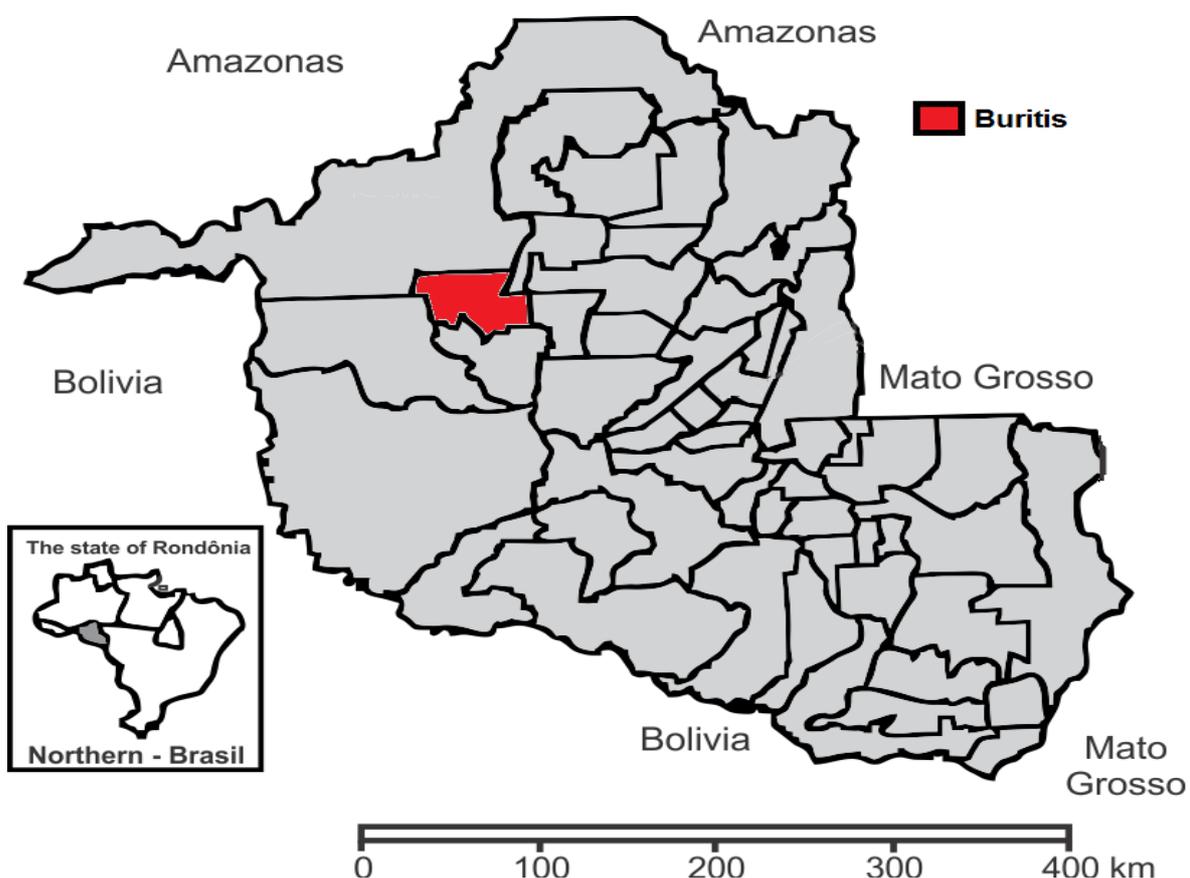


Figura 4 - Localização no estado de Rondônia do Município de Buritis

Fonte: (COSTA, 2012)

4.2 COLETA

Foram realizadas coletas mensais (Licença permanente IBAMA, nº: 14934-1 para captura de insetos), de Junho a Dezembro de 2012 (Latitude 9°57'32,3" S – Longitude 64°08'05,2"W).

4.3 MÉTODOS DE COLETA E IDENTIFICAÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS

Coletas em palmeiras (*Orrbignya speciosa*): Os exemplares foram derrubados com auxílio de uma moto serra, em seguida as brácteas (onde podem se alojar uma grande quantidade de invertebrados e pequenos vertebrados), foram retiradas uma por vez na busca de triatomíneos (Figura 5 e 6), estas que serão selecionadas aleatoriamente conforme descrito por (MENEGUETTI et al., 2012).



Figura 5 - Coleta de triatomíneos em *O. speciosa*, (A) retirada das brácteas, (B) triatomíneos em cópula, (C) captura de triatomíneo
Fonte: (MENEGUETTI et al., 2011 b)

Os trabalhos de procura e captura dos triatomíneos foram realizados por equipe previamente orientada e supervisionada pelo professor Ms. Dionatas Ulises de Oliveira Meneguetti, conforme (Figura 6).



Figura 6 - Coleta de triatomíneos no município de Buritis

Fonte: Arquivo pessoal do autor

Os triatomíneos coletados foram identificados com base em Lent e Wygodzinsky (1979) e separados de acordo com seu estágio ninfal, sendo encaminhados em caixas térmicas, em temperatura ambiente para o laboratório de parasitologia da FAEMA, Ariquemes-RO, para sua identificação.

4.4 ISOLAMENTO E CULTURA DOS TRIPANOSOMATÍDEOS

O experimento foi realizado com parceria do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (ICB-5-USP), onde os espécimes foram desinfetados individualmente em solução de Hibitane® (ICI) (Gluconato de clorhexedine a 5%, um sachê de 10 ml diluído em 1 litro de água destilada), sendo em seguida, submetidos à compressão do abdome para retirada do conteúdo da ampola retal, posteriormente foi diluído em uma solução mista (Composta de Solução 1- bicloreto de mercúrio - HgCl_2 0,025 g, cloreto de sódio - NaCl 0,65 g, HCl

concentrado 0,125 ml, etanol absoluto 25 ml e água destilada 75 ml) e solução 2- (antibióticos: penicilina 5.000.000 UI, gentamicina 40 mg/ml; e fungicida: 5-fluorocitosina 1mg/ml, diluída em água destilada e protegida da ação da luz) e examinado entre lâmina e lamínula, com objetiva 40x e ocular de 16x, para pesquisa de flagelados semelhantes a *T. cruzi*. Quando positivo, o material foi semeado em 6 tubos de meio bifásico de cultura de Hoff's (DIFCO, Laboratories USA) sendo as culturas positivas transferidas para meio monofásico (RPMI 1640, Roswell Park Memorial Institute - Divisão de Antígenos, GIBCO Laboratories USA) e/ou LIT (Liver Infusion Tryptose) para crescimento, identificação e obtenção de extratos para caracterização dos parasitos. Os mesmos triatomíneos foram depois dissecados, e do material obtido, preparados esfregaços em lâminas e corados por kit Panótico Rápido LB (que é composto de três soluções: primeira triarilmetano a 0,1%, segunda xantenos a 0,1% e terceiro tiazinas a 0,1%), para identificação (Figura 7).

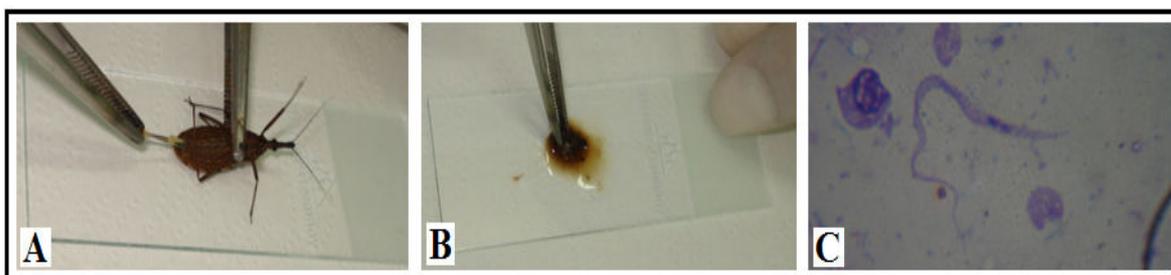


Figura 7 - (A) Retirada do Conteúdo da Ampola retal; (B) Diluição da Ampola retal; (C) *T. rangeli*

Fonte: Arquivo pessoal do autor

Posteriormente os parasitos foram cultivados em tubos de ensaio de poliestireno estéreis e descartáveis com parede chata onde se acrescentava 0,1 ml de sobrenadante de cultura em 2 ml de meio de cultura RPMI 1640 e/ou LIT suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado a 55°C. Quando os cultivos in vitro apresentarem crescimento exponencial de 1×10^6 parasitos por mm^3 contados em câmara de Neubauer (7 a 10 dias), o meio será transferido para garrafas de cultura de 25 ml com o mesmo meio para a produção de massa parasitária. O cultivo foi realizado em 100 ml de meio suplementado com 5% de soro fetal bovino inativo, a 28°C, por 7 a 10 dias.

4.5 EXTRAÇÃO DO DNA DE TRIPANOSOMATÍDIOS

O DNA dos parasitos foi extraído de amostras do abdômen e das fezes dos triatomíneos com o Kit de Extração de DNA da Qiagen.

4.6 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)

A análise foi realizada em parceria com a (ICB-5-USP), onde a identificação e genotipagem dos isolados foram realizadas por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR-multiplex), segundo Fernandes 2001. Esta reação amplifica especificamente uma parte do espaçador não transcrito do gene de mini-exon que varia com as espécies de Trypanosomatídeos (*T. cruzi* e *T. rangeli*) e com as linhagens de *T. cruzi* e *T. rangeli*. Os fragmentos gerados variando entre 100 e 250 pares de bases. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados nas reações de PCR apresentam as seguintes sequências:

TCI: (200 pb) (5'-ACACTTTCTGGCGCTGATCG)

TCII: (250 pb) (5'-TTGCTCGCACACTCGGCTGCAT)

Z3: (150 pb) (5'-CCGCGCACAACCCCTATAAAAATG)

TR: (100 pb) (5'-CCTATTGTGATCCCCATCTTCG)

EXON: (5'-TACCAATATAGTACAGAACTG)

A reação é constituída por 100 pmol de cada iniciador, 150 µM de dNTPs, num tampão de 10 mM de Tris-HCl (pH 8,3), 1,5 mM de MgCl₂, 25 mM de KCl, 0,1 mg/mL de albumina bovina e 2,5 U de TaqDNA Polimerase. Aproximadamente 10 ng de DNA genômico serão acrescentados e as reações realizadas num volume final de 50 µL com água Tipo I. O perfil térmico consistiu de um passo inicial de 5 minutos a 95°C, seguidos de 34 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 55°C e 30 segundos a 72°C, com uma extensão final de 10 minutos a 72°C. Em cada reação de PCR foram utilizadas como controle as seguintes cepas de referência: TC1 X10 Clone 1, TC2 Cepa Y, Z3 Esmeraldo Clone 1 e *T. rangeli* R1625. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, a 100 volts por 1 hora. Após a eletroforese o DNA foi revelado com brometo de etídio e visualizado

sob luz ultravioleta. Para controle do tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado um marcador molecular de 50 pares de base.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi coletada uma única espécie de triatomíneo *Rhodnius Montenegrensis*, conforme pode ser observado na (Figura 8 e 9).

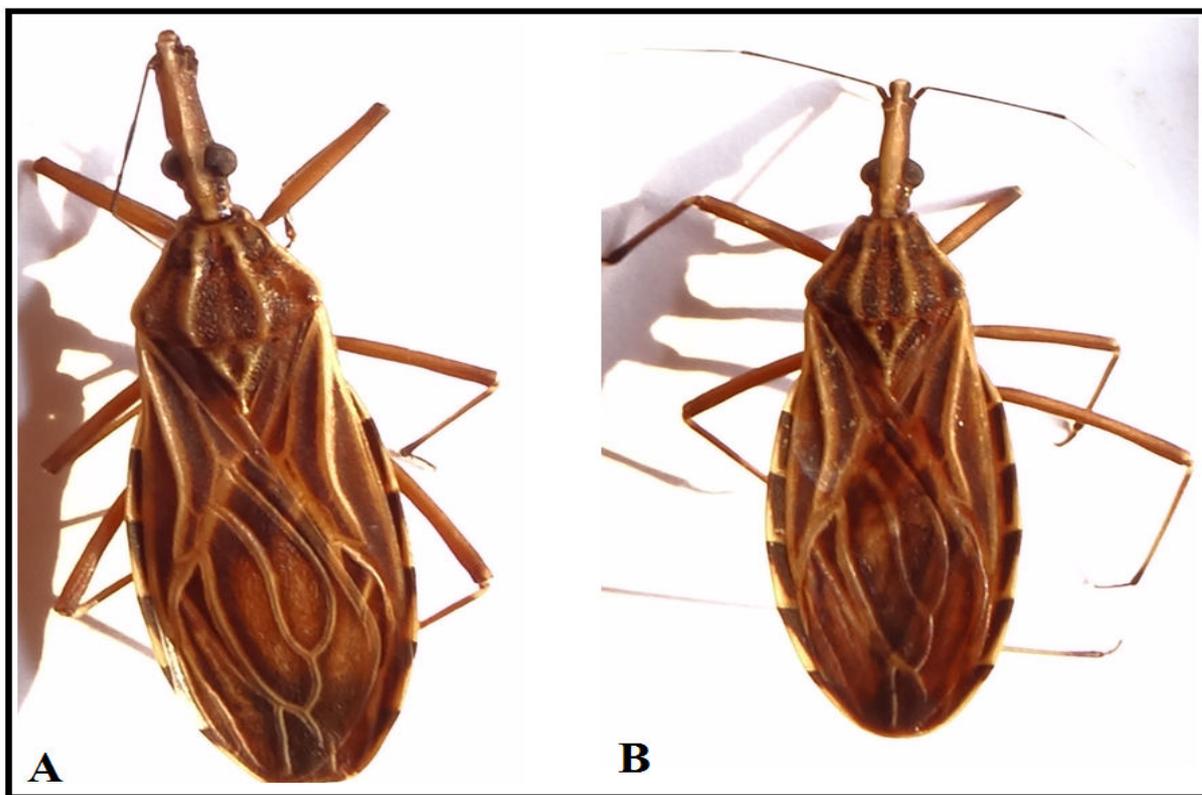


Figura 8 - Espécie *Rhodnius montenegrensis*, imagem superior de casal adulto
A- Fêmea; B- Macho
(Fonte: Arquivo pessoal do autor)

Foram derrubadas duas (2) palmeiras por mês, somando um total geral de 14 palmeiras e coletado um total de cento e vinte (120) exemplares de triatomíneos, somando uma média de 8,57 capturas mês.



Figura 9 - Triatomíneos do Gênero *Rhodnius montenegrensis*, observado o dorso ventral de um casal adulto. A- fêmea; B- Macho
(Fonte: Arquivo pessoal do autor)

A - A fêmea apresenta um abdômen um pouco mais avantajado, com um orifício ovulatório na parte posterior-inferior.

B - O macho possui um abdômen menos avantajado e de forma mais oval.

Possivelmente boa parte dos vetores identificados em nossa região como *Rhodnius robustus* sejam *Rhodnius montenegrensis*, pois essa espécie só foi catalogada em 2012 (ROSA et al, 2012). Segundo Massaro 2008, o gênero *Rhodnius* representa 100% dos triatomíneos coletados em palmáceas no estudo da fauna de triatomíneos e da ocorrência de doença de Chagas em Monte Negro e também de acordo com os resultados descritos em outras regiões do Brasil, porém é importante observar que os trabalhos publicados anteriormente foram todos em datas anteriores a 2012, ano de catalogação do *Rhodnius montenegrensis*, sugerindo um estudo mais aprofundado e atualizado nessa região.

Em municípios vizinhos como Monte Negro – RO, que faz divisa com Buritis é possível que seja uma mesma espécie que mantém ampla proliferação, pois 100% dos triatomíneos capturados em Buritis são do gênero *Rhodnius montenegrensis* e a identificação dos exemplares coletados e identificados nesse município vizinho

(Monte Negro) como *R. robustus*, é possível que não o seja já que a catalogação desse novo gênero até aquela data não havia ocorrido.

A quantidade adquirida mensalmente não deixa dúvida da predominância do gênero na região. (figura 10).

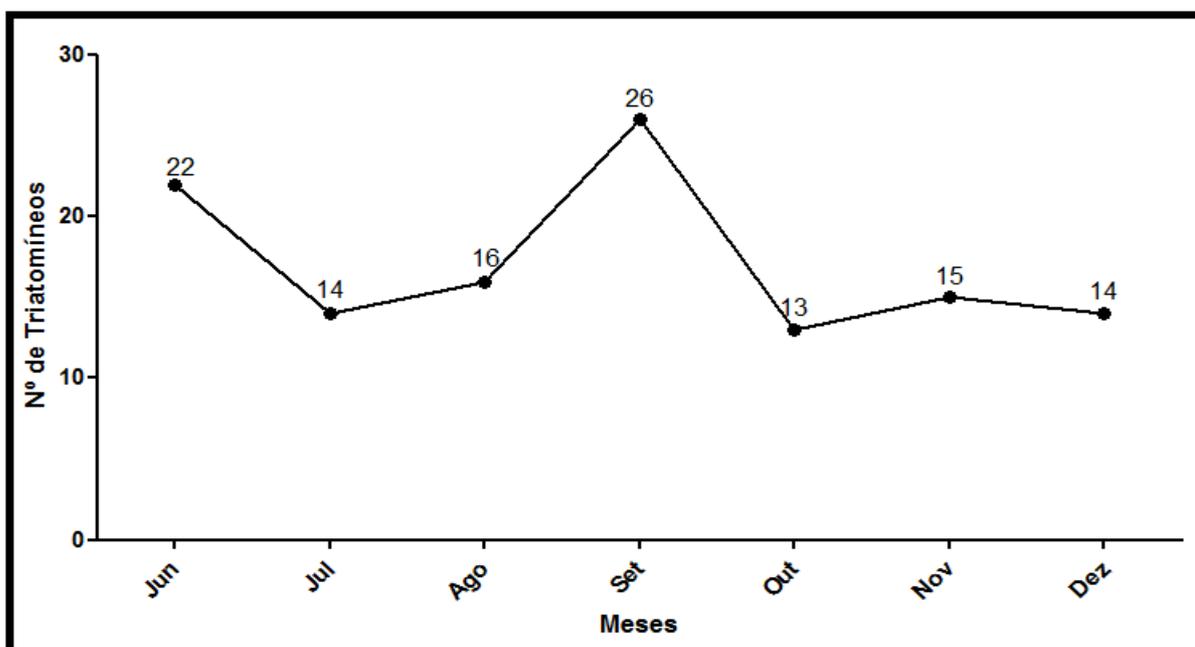


Figura 10 - Gráfico dos exemplares coletados nos diferentes meses do ano, no período da coleta

Fonte: (Arquivo pessoal do autor)

O gráfico acima demonstra a quantidade de Triatomíneos capturados nas palmeiras do gênero *Orrbignya speciosa* popularmente chamada de Babaçu na região de Buritis – RO, incluindo as ninfas de estágios N1 a N5 e adultos, não sendo necessário especificar o Gênero, devido todos pertencerem a um mesmo gênero, o *Rhodnius montenegrensis*.

Neste gráfico, observou-se uma quantidade decrescente de capturas de junho a julho e uma quantidade crescente de julho a setembro, permanecendo estável até dezembro, com isso ainda não é possível afirmar uma regressão ou progressão do número desses vetores em determinada época do ano.

Os estágios em que foram capturados também foram classificados, possibilitando uma possível determinação de predominância da espécie em determinado estágio, porém, vale ressaltar que os adultos além de serem mais hostis a presença humana, também dispõem de outro fator a eles favorável, que é a possibilidade de poderem voar.

Vários fatores podem influenciar no número de capturas desses indivíduos tais como; localização da palmeira; se próximo ou distante da floresta, altura da mesma e se com muitas ou poucas brácteas secas em decomposição entre outros fatores. Figura 11.

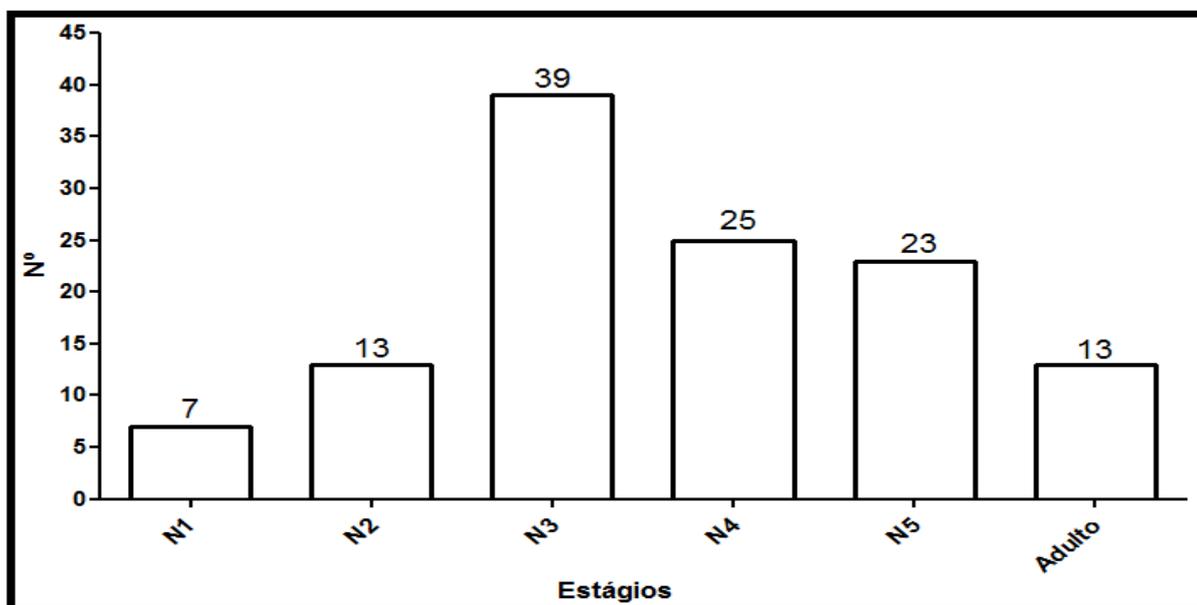


Figura 11 - Número total de triatomíneos capturados por estágio

(Fonte: Arquivo pessoal do autor)

Os dados mostram que todos os triatomíneos adultos analisados estavam contaminados com tripanosomatídeos (*T. cruzi*, *T. rangeli* ou mista), conforme pode ser observado na (Tabela 2)

Tabela 2. triatomíneos capturados em Buritis, meses de coleta, estágio e contaminação

	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
A	2/2(*)	2/2(*)	1/1(**)	_	_	4/4(3*)(1****)	4/4*
N5	1/-	2/-	1/-	5/-	6/-	6/-	2/-
N4	5/-	1/-	4/-	8/-	4/-	2/-	1/-
N3	6/-	4/-	8/-	12/-	1/-	2/-	6/-
N2	5/-	3/-	1/-	1/-	2/-	1/-	0/-
N1	3/-	2/-	1/-	_/_	_/_	_/_	1/-

(*) = contaminação por *T. Rangeli*

(**) = contaminação por *T. cruzi*

(***) = contaminação por *T. Rangeli* e *T. cruzi*

(-) = Sem contaminação.

(Fonte: Arquivo pessoal do autor)

Ao observar a tabela acima se percebe um número maior de vetores adultos infectados com *T. rangeli* que com *T. cruzi*, não sendo analisadas as ninfas.

De acordo com Ferreira (2013), além de se infectarem com o *T. cruzi*, os triatomíneos, principalmente as espécies do gênero *Rhodnius*, podem se infectar com o *T. rangeli* ou manter infecções mistas com os dois protozoários, que podem ser igualmente transmitidas ao homem e aos hospedeiros vertebrados.

Segundo Meneguetti et al (2012), em trabalho realizado no município de Ouro Preto do Oeste-RO, o índice foi de 35.6% de infecção, contando todos os tripanossomatídeos, sem especificar o *T. cruzi*.

Já Massaro et al (2008) analisou apenas a contaminação por *T. cruzi*, obtendo 23,7% de contaminação, demonstrando que parte da contaminação relatada por Meneguetti et al (2012) pode ter sido *T. rangeli*.

As espécies *T. rangeli* e *T. cruzi*, podem ser observadas na (Figura 12 e 13)

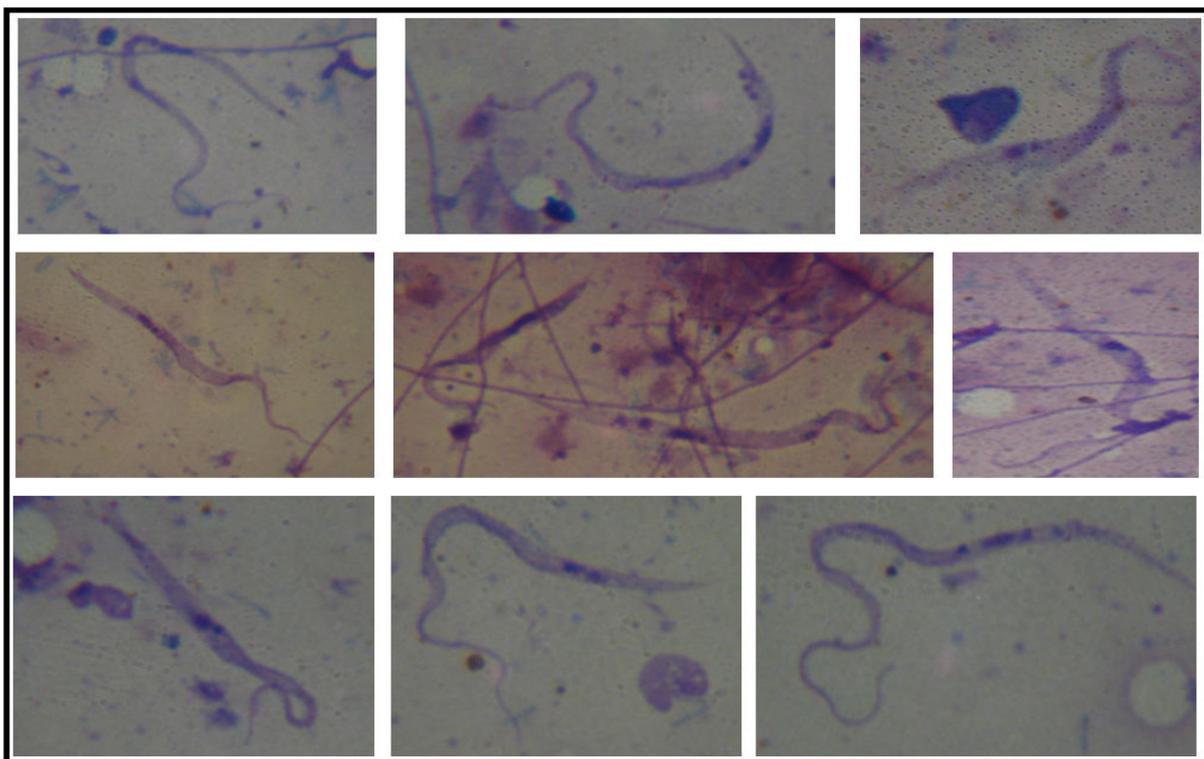


Figura 12 – *T. rangeli* observado em microscópio óptico, em objetiva de 40x com lâmina e lamínula

(Fonte: Arquivo pessoal do autor)

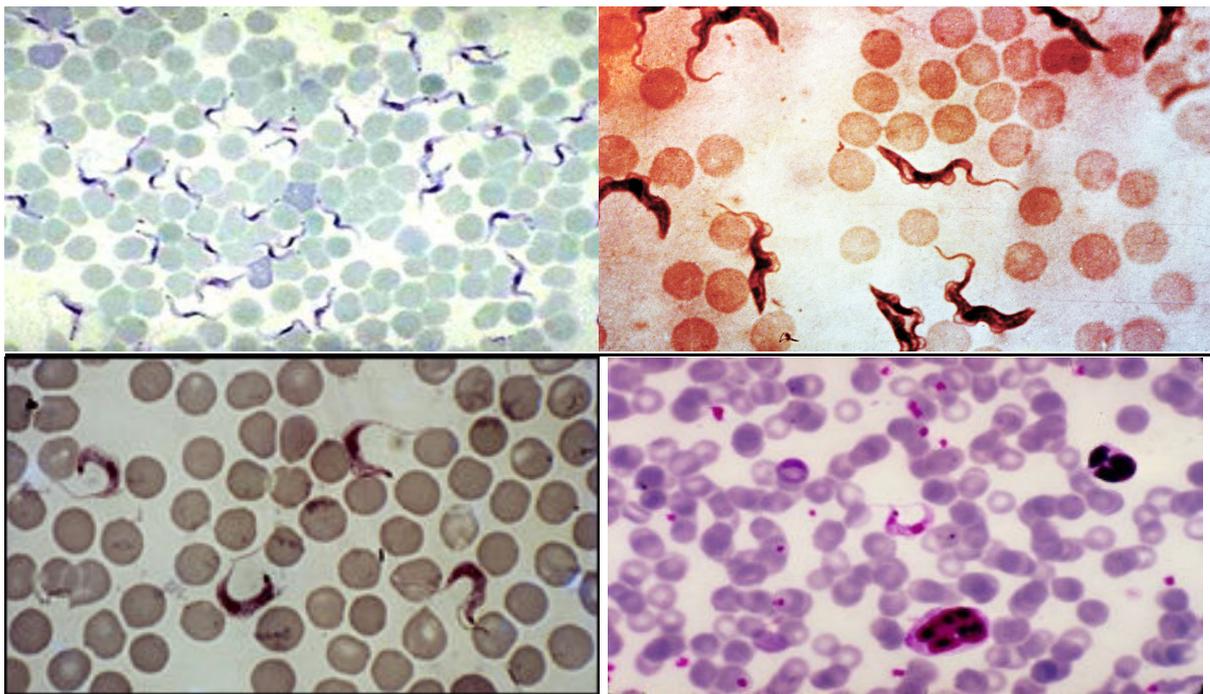


Figura 13 – *T. cruzi*,

Fonte: (QUEIROZ, 2011; OLLIARO, 2011; VASCONCELOS; GOMES; LINS, 2009)

Esse é o primeiro caso de *T. Rangeli* encontrado em triatomíneos no estado de Rondônia, não havendo publicação de trabalho anterior com registro de vetores infectados com esse tipo de protozoário em nosso estado.

Além dessa descoberta, foi capturado *R. montenegrensis* com infecção mista (*T. rangeli* e *T. cruzi*), sendo o primeiro relato de vetores dessa espécie contaminado com os dois tipos de tripanossoma.

CONCLUSÃO

Constatou-se que a espécie ocorrente no estudo é *Rhodnius montenegrensis*, essa que já é relatada em outros municípios de Rondônia (Ji-Paraná, Porto Velho, Monte Negro, Ouro Preto, Teixeirópolis, Ariquemes e agora em Buritis). Diferente dos outros municípios, onde foi encontrado mais de uma espécie, em buritis só foi encontrado essa única espécie, estando todos os exemplares adultos capturado contaminado com *T. cruzi*, *T. rangeli* ou ambos.

Observou-se também que a maior ocorrência de triatomíneos encontrados estava na fase de N3 e nos meses de agosto e setembro houve um aumento significativo no número de captura desses triatomíneos na fase de N3.

Por serem veículo de transmissão de uma doença tão importante do ponto de vista epidemiológico, somado ao alto índice de proliferação dessa espécie e a alta taxa de contaminação, sugere-se um estudo mais aprofundado sobre o comportamento dessa espécie no sentido de manter uma vigilância epidemiológica para prevenir riscos à saúde humana.

REFERÊNCIAS

ABAD-FRANCH, F., MONTEIRO, F.A., JARAMILLO, N.O., GURGEL-GONÇALVES, R., DIAS, F.B.S., DIOTAIUTI, L., **Ecology, evolution and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: A multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae)**. *Acta Trop*, v. 112, p. 159-177, 2009.

ABAD-FRANCH, F., MONTEIRO, F.A. **Biogeography and evolution of Amazonian triatomines (Heteroptera: Reduviidae): implications for Chagas disease surveillance in humid forest ecoregions**. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 102 (Suppl. I), p. 57-70, 2007.

ARGOLO, A. M., FELIX, M., PACHECO, R., COSTA, J. **Doença de chagas e seus principais vetores no Brasil**. Fundação Oswaldo Cruz. Programa Integrado de Doença de Chagas (PIDC). Instituto Oswaldo Cruz. Ação comemorativa do centenário de descoberta da doença de Chagas. Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2008.

ARGOLO, A. M. **Doença de chagas e seus Principais Vetores no Brasil**, Fundação Oswaldo Cruz, Programa Integrado de Doença de Chagas, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doença de Chagas. Aspectos epidemiológicos**. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31454> acesso em 14 de jun. 2013.

CARCAVALLO, R.U., GALÍNDEZ, I., JURBERG, J., LENT, H. **Atlas of Chagas' Disease Vectors in the Americas**. Vol I. Rio de Janeiro. p 107-244, 1997

CAUTINHO, M., DIAS, J.C.P. **A descoberta da doença de chagas**. *Cad de Ciên e Tecn*, v. 16(2), p. 11-51, 1999.

CONSENSO. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **Suplemento III**. Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde. 38 ed. Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2005.

COSTA, A. L. **Análise microbiológica de amostras de água de poços rasos localizados na zona urbana do município de Buritis, Rondônia, Amazônia Ocidental**. VII jornada Científica, CEDSA Centro de Estudos e Pesquisas Interdisciplinar em Desenvolvimento Sustentável da Amazônia, Novembro de 2012.

COSTA, J. FELIX, M. **Triatoma juazeirensis sp from the state of Bahia, Northeastern Brasil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)**. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 102, p. 87-90, 2007.

COSTA, J.M., ARGOLO, A.M., FELIX, M. **Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae).** *Zootaxa*, v. 1385, p. 47-52, 2006.

COURA, J.R. **Tripanossomose, Doença de Chagas.** *Cienc Cult*, v. 55(1), p. 30-33, 2003.

COURA, J.R., VIÑAS, P.A. **Chagas disease: a new worldwide challenge.** *Nature*, v. 465, p. 56-57, 2010.

DEANE, M.P., LENZI, H.L., JASEN, A. **Trypanosoma cruzi: Vertebrate And Invertebrate Cycles In The Same Mammal Host, The Opossum *Didelphis marsupialis*.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 79(4), p. 513-515, 1984.

DIAS, E., DIAS, J.C.P., GARCIA, A.L.R., DIAS, R.B., MACHADO, E.N.M., GOUVEIA, S.C., **Doença de Chagas: Textos de apoio.** Brasília: Ministério da Saúde. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública, 1989.

DIAS, J.C.P., PRATA, A., SCHOFIELD, C.J. **Doença de chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectivas de prevenção.** *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 35, p. 669-678, 2002.

FAPESP. Revista Pesquisa da Fapesp. **Menos Mortes por Chagas.** Edição 196, Junho de 2012.

FÉ, N.F., MAGALHÃES, L.K., FÉ, F.A., ARAKIAN, S.K., MONTEIRO, W.M., BARBOSA, M.G. **Ocorrência de triatomíneos em ambientes silvestres e domiciliares do município de Manaus, Estado do Amazonas.** *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 42, p. 642-646, 2009.

FERREIRA, L.L. **Hospedeiros vertebrados para a transmissão do *Trypanosoma Rangeli* ao inseto vetor.** Programa de pós-graduação em parasitologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. Dissertação, 2013.

FERREIRA, M.S., LOPES, E.R., CHAPADEIRO, E., DIAS, J.C.P., LUQUETTI, A.O. **Doença de Chagas.** In: VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Doença de Chagas.** In: VERONESI, R., FOCACCIA, R. *Tratado de infectologia.* São Paulo. p. 94-106, 1997.

FILHO, N.V.C., LIMA, S.C. **Distribuição da doença de chagas em Minas Gerais de 1998 a 2007.** XII Seminário de Iniciação Científica. Universidade Federal de Uberlândia, 2008.

FIOCRUZ. Agência Fiocruz de Notícia. **OMS inaugura iniciativa inédita para controle global da doença de chagas.** Disponível em <<http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm>> acesso em 14/06/2013.

FIOCRUZ. Centenário Fundação Osvaldo Cruz. Ministério da Saúde, 2000.

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

GALVÃO, C. **Apostila.** Curso de taxonomia de triatomíneos. Convênio Secretaria de Vigilância Sanitária/Fundação Oswaldo Cruz, São Luis – MA, 2007.

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

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

GALVÃO, C. **Sistemática e taxonomia clássica.** Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz. Ministério da Saúde. Disponível em <<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=84>> Acesso em 13/06/2013.

GARCIA, E.S., ***Trypanosoma rangeli*: a new perspective for studying the modulation of immune reactions of *Rhodnius prolixus*.** *Parasit Vectors* , 2: 33 2009.

GUHL, F., SCHOFIELD, C.J. **Population genetics and control of Triatominae.** *Parasitol Today*, v. 12, p. 169-70, 1996.

GUHL, F., VALLEJO, G.A. **Interruption of Chagas disease transmisión in the Andean Countries: Colombia.** *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 94, p. 413, 1999.

GURGEL, GONÇALVES, R., DUARTE, M.A., RAMALHO, E.D., PALMA, A.R.T., ROMANA, C.A., CUBA, C.A. **Distribuição espacial de populações de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) em palmeiras da espécie *Mauritia flexuosa* no Distrito Federal, Brasil.** *Rev Soc Bra Med Trop*, v. 37, p. 241-247, 2004.

JURBERG, J., GALVÃO, C., NOIREAL, F., CARVALHO, R., ROCHA, D., LENT, H. **Uma Iconografia dos Triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae).** *Entomol Vectores*, v. 11(3), p. 454-494, 2004.

LENT, H., WYGODZINSKY, P. **Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease.** *Bull Am Mus Nat Hist*, v. 163, p. 127-520, 1979.

LOPES, E.R., CHAPADEIRO, E. **Anatomia patológica da doença de chagas humana.** FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 1997.

MARIANA, C.S., ROGÉRIO, A., LUÍS, O.R., DULCE, H.S.S., REGINA, M.B.C. I. **Avaliação da atividade biológica de extratos de *Pterogyne nitens* em *Trypanosoma cruzi* e em macrófagos.** XXI Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2009.

MARTINEZ, E., CHÁVEZ, T., SOSSA, D., ARANDA, R., VARGAS, B., VIDAURRE. ***Triatoma boliviana* sp. n. de los valles subandinos de La Paz, Bolivia (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), similar a *Triatoma nigromaculata* Stål, 1859.** Bol Inst Invest Salud Desar, v. 3, p.1-11, 2007.

MASSARO, D. C.; REZENDE, D. S.; CAMARGO, L. M. A.. **Estudo da fauna de triatomíneos e da ocorrência de doença de Chagas em Monte Negro, Rondônia, Brasil.** Rev Bras Epidemiol, v.11(2): 228-40, 2008.

MENEGUETTI, D.U.O., TREVISAN, O., ROSA, R.M., CAMARGO, L.M.A. (b) **First report of *Eratyrus mucronatus*, Stal, 1859, (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the State of Rondônia, Brazil.** Rev Soc Bra Med Trop, 44(4):511-512, 2011

MENEGUETTI, D.U.O., TREVISAN, O., CAMARGO, L.M.A., ROSA, R.M. (a) **Espécies De Triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) Ocorrentes No Estado de Rondônia.** Anais XLVII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Natal-RN, 2011.

MENEGUETTI, D.U.O. **Infecção natural de triatomíneos (hemiptera reduviidae) por tripanosomatídeos no município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia, Brasil: uma abordagem multidisciplinar.** Programa de pós-graduação em genética e toxicologia aplicada, Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2011.

MENEGUETTI, D.U.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 - Rondonia, Brazil.** Rev Soc Bra Med Trop, 45(3): 395-398, 2012

MENEGUETTI, D.U.O., TREVISAN, O., CAMARGO, L.M.A., ROSA, R.M. (c). **Ocorrência do Triatomíneo *Rhodnius robustus* (Hemiptera: Reduviidae) Em Residências No Município de Ouro Preto do Oeste - Rondônia e Sua Positividade Para Tripanosomatídeos.** Anais XLVII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Natal-RN, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Série B. Textos Básicos de Saúde. **Cadernos de Atenção Básica.** n. 22. 1 ed., Brasília – DF. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/abcd22.pdf>>. Acesso em 23 de fev. 2013.

MOLINA, J., GUALDRON, L., BROCHERO, H., OLANO, V., BARRIOS, D., GUHL, F. **Distribución actual e importância epidemiológica de las especies de**

triatominos (Reduviidae, Triatominae) en Colombia. *Biomédica*, v. 20, p. 344-360, 2000

MOREL, C.M., LAZDINS, J. **Chagas disease.** *Nature Reviews Microbiology*. London: Nature Publishing Group, p. 14-15, 2003.

MORETO, M. A. **Variação do Trypanosoma Rangeli em diferentes condições de cultivo.** Instituto de pesquisa e desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos. Dissertação, 2007.

NHM. **Natural History Museum Picture Library.** Disponível em <<http://piclib.nhm.ac.uk/piclib/www/search.php?search=insect&show=12&start=264>>

NAIFF, M.F., NAIFF, R.D., BARRETT, T.V. **Vetores selváticos de doença de Chagas na área urbana de Manaus (AM):** atividade de vôo nas estações secas e chuvosas. *Rev Soc Bras Med Trop*, v. 31, p. 103-5, 1998.

OLIVEIRA, A. P. **Doença de chagas: a vivência e o enfrentamento dessa patologia na visão dos portadores chagásicos crônicos, XVIII CIC, XI ENPOS, I Mostra científica, Piratini, RS, Brasil: Faculdade Atlântico Sul/Anhanguera Educacional S.A,** 2008.

OXFORD. **World Development Report . Investing in Health.** Oxford University Press, New York. p.329, 1993.

OYAFUSO, L.T., FREITAS, M.V.B., MAURO, R.S., QUINCOES, J.A., SANTOS, M.R.M. **Modulação da expressão gênica de Trypanosoma cruzi em resposta a compostos bioativos polifenóis sintéticos.** I Jornada de Iniciação Científica Tecnológica. UBIBAN, 2008.

PANAFTOSA. **Prevenção e Manejo da Transmissão da Doença de Chagas como Doença Transmitida por Alimentos.** Relatório Técnico Consulta Técnica em Epidemiologia, *Rev Soc Bra Med Trop*, v. 39(5), p. 512-514, 2006.

PERFETTI, D.J.C. **Triatominae de Venezuela: distribución Geográfica, aspectos taxonômicos, biológicos e importância médica.** Doctor's Theses. Tecana American University, 2007.

PINTO, A. Y. N., FARIAS, J.R., MARÇAL, A.S., GALÚCIO, A.L., COSTI, R.R., VALENTE, V.C. **Doença de chagas aguda grave autóctone da Amazônia brasileira.** *Rev Par Med*, v. 21(2), p. 1-10, 2007.

PINTO, A. Y. N. **Doença de chagas aguda autóctone da Amazônia brasileira. Instituto Evandro Chagas/ Secretaria de Vigilância em Saúde.** Ao Conselho Editorial da Revista Paraense de Medicina Belém, 5 de fevereiro 2007.

RAMIREZ, L. E., MACHADO, M.I., MAYWALD, P.G., MATOS, A., CHIARI, E. e SILVA, E.L. **Primeira evidência de Trypanosoma rangeli no sudeste do Brasil, região endêmica para doença de Chagas**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 31(1):99-102, jan-fev, 1998.

RASSI JR, A., RASSI, A., MARIN-NETO, J.A. **Chagas disease**. The Lancet, v. 375, p. 1388–1402, 2010.

REIS, T. **Açaí faz 1 vítima de doença de Chagas a cada 4 dias na Amazônia**. Disponível em: <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/cotidiano/ult95u321060.shtml>>. Acesso em 23 de jun. 2013.

ROSA, J. A., ROCHA, C. S., SUELI, G., MARA, C. P., VAGNER, J. M., JÚLIO, C. R. F. F., ELAINE, O. C. C., LUÍS, M. A., JADER, O., JULIANA, D. N., MARIO, C. e CARLOS, E. A. **Description of Rhodnius montenegrensis n. sp.** (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) from the state of Rondônia, Brazil, Zootaxa 3478: 62–76 (2012)

SANDOVAL, C.M., PABÓN, E., JURBERG, J., GALVÃO. **Belminus ferroae n. sp. from the Colombian North-East**, with a key to the species of the genus (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Zootaxa, v. 1443, p. 55-64, 2007.

SANTOS, C.M. **Caracterização morfológica, ultra-estrutural e morfométrica das formas imaturas de espécies do gênero Rhodnius STAL, 1859** (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) encontradas na região amazônica. Tese (doutorado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Parasitária, 2009.

SCHMUNIS, G.A., YADON, Z.E. **Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem**. Acta Tropica, v. 115(1-2), p. 14-21, 2010.

TARTAROTTI, E. T. M.; VILELA, A.O.; CERON, C.R. **Problemática vetorial da Doença de Chagas**. Arq Ciênc Saúde, v. 11(1), p. 44-7, 2004

VALENTE, S.A.S., FRAIHA, N.H., LEÃO, R.N.Q., MILES, M.A. **Doença de Chagas**. In LEÃO, R.N.Q. Doenças Infecciosas e Parasitárias: Enfoque Amazônico. CEJUP. p. 597-610, 1997

VASCONCELOS, R., GOMES, Y., LINS, C. **Fiocruz investiga mortalidade por doença de Chagas em Pernambuco**. Isaúde.net, 2009. disponível em; <http://www.isaude.net/pt-BR/noticia/3252/saude-publica/fiocruz>

ZARATE, L. **Comportamiento de los triatomíneos em relación a su potencial transmisor de la enfermedad de Chagas (Hemiptera, Reduviidae)**. Folia Entomol Mex, v. 61, p. 257-271, 1984

ZELEDÓN, R. **Some historical facts and recent issues related to the presence of *Rhidnius prolixus* (Stal, 1859)** (Hemiptera: Reduviidae) in central America. *Entomol Vect*, v. 11(2), p. 233-46, 2004.