



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO POR *TRYPANOSOMA CRUZI* (CHAGAS, 1909) EM
TRIATOMÍNEOS DE TRÊS MUNICÍPIOS DO ESTADO DA BAHIA

por

CECÍLIA SANTANA RODRIGUES

Trabalho de Conclusão do Curso
apresentado ao Instituto de Biologia da
Universidade Federal da Bahia como
exigência para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Salvador, BA

2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PREVALÊNCIA DE INFECÇÃO POR *TRYPANOSOMA CRUZI* (CHAGAS, 1909) EM
TRIATOMÍNEOS DE TRÊS MUNICÍPIOS DO ESTADO DA BAHIA

por

CECÍLIA SANTANA RODRIGUES

Trabalho de Conclusão do Curso
apresentado ao Instituto de Biologia da
Universidade Federal da Bahia como
exigência para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Nome do Orientador: Mitermayer Galvão
dos Reis

Nome do Coorientador: Gilmar Ribeiro-Jr

Salvador, BA

2023

Data da Defesa: 13 de dezembro de 2023.

Banca Examinadora

Gilmar Ribeiro-Jr

Instituto Gonçalo Moniz - Fiocruz Bahia

Fernanda Cardoso Lanza

Instituto Gonçalo Moniz - Fiocruz Bahia

Fred da Silva Julião

Instituto Federal Baiano - Campus Santa Inês

RESUMO

A doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* e cuja transmissão ocorre, principalmente, através da via vetorial, é um sério problema de saúde pública, haja visto o grande número de casos de indivíduos na fase crônica da doença. O controle dos vetores, insetos triatomíneos, é desafiador devido à resistência a inseticidas e à transmissão extradomiciliar. Na Bahia, quarto estado com alta mortalidade por doença de Chagas no Brasil, houve um aumento significativo de casos nos últimos anos. Assim, este estudo buscou determinar a prevalência da infecção por *T. cruzi* em triatomíneos de Salvador, Santa Inês e Serrolândia, na Bahia. Um protocolo de detecção molecular foi desenvolvido usando PCR com o gene TcH2A. Em seguida, a infecção foi analisada em 113 amostras de triatomíneos, sendo a taxa mais alta em Santa Inês (48%), seguida por Salvador (36,6%) e Serrolândia (21%). A técnica de PCR mostrou-se promissora para o diagnóstico, identificando a variante circulante do parasita. As mudanças observadas no perfil epidemiológico da doença podem ocorrer devido à transição demográfica das populações rurais para as áreas urbanas e a urbanização, permitindo que os triatomíneos se aproximem das residências humanas. Isso pode ser observado nos resultados deste estudo, haja vista a disponibilidade de triatomíneos em Salvador e as taxas de infecção nos municípios estudados. A intensa vigilância em Salvador pode ser devido à sua condição de capital e ao risco maior da transmissão da doença em áreas recém desmatadas. Nesse sentido, a ação humana impacta na transmissão da doença, assim como a alta adaptabilidade dos triatomíneos. Esses resultados demonstram a importância da detecção molecular de *T. cruzi*, já que técnicas de diagnóstico molecular baseadas na PCR permitem detectar o parasito em diferentes amostras biológicas, permitindo monitorar o risco de transmissão de *T. cruzi* e a reativação da parasitemia em pacientes.

ABSTRACT

Chagas disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* and primarily transmitted through the vectorial route, poses a serious public health problem, given the high number of cases in the chronic phase of the disease. Vector control of triatomine bugs is challenging due to insecticide resistance and extradomiciliary transmission. In Bahia, the fourth state with high mortality from Chagas disease in Brazil, there has been a significant increase in cases in recent years. Thus, this study aimed to determine the prevalence of *T. cruzi* infection in triatomines from Salvador, Santa Inês, and Serrolândia, Bahia. A molecular detection protocol was developed using PCR with the TcH2A gene. Subsequently, infection was analyzed in 113 triatomine samples, with the highest rate in Santa Inês (48%), followed by Salvador (36.6%) and Serrolândia (21%). The PCR technique proved promising for diagnosis, identifying the circulating variant of the parasite. Changes observed in the disease's epidemiological profile may be due to the demographic transition of rural populations to urban areas and urbanization, allowing triatomines to approach human residences. This can be seen in the results of this study, given the availability of triatomines in Salvador and the infection rates in the studied municipalities. Intensive surveillance in Salvador may be due to its capital status and higher risk of disease transmission in newly deforested areas. In this sense, human action impacts disease transmission, as does the high adaptability of triatomines. These results demonstrate the importance of molecular detection of *T. cruzi*, as molecular diagnostic techniques based on PCR allow detection of the parasite in different biological samples, enabling monitoring of *T. cruzi* transmission risk and parasitemia reactivation in patients.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal da Bahia e ao Instituto de Biologia, que mudaram a minha vida e quem eu sou, que foram minhas casas durante toda a graduação e me ensinaram sobre amor, dedicação e integridade;

Ao Instituto Gonçalo Moniz (IGM/FIOCRUZ/BA) e ao Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (LPBM/IGM) por todo o apoio e infraestrutura disponibilizada;

À SESAB, Laboratório de Entomologia do LACEN-BA, Faculdade de Medicina da UFBA, UNIFACS, Faculdade Irecê (FAI), DIVEP (Diretoria de Vigilância Epidemiológica/SESAB), Prefeitura de Irecê, Secretaria de Saúde de Irecê, Diretoria Regional de Saúde (DIRES/Irecê), Núcleo Regional de Saúde Centro-Norte, Hospital Municipal de Irecê e Hospital Regional Dr. Mário Dourado Sobrinho por todo o apoio;

Ao meu orientador, Prof. Mitermayer, e ao meu coorientador, Dr. Gilmar, por todo o apoio, disponibilidade e aprendizado;

Aos meus amigos, que sempre estiverem presentes e dispostos a me ouvir, doando todo o amor, carinho e aconchego nos momentos bons e ruins;

À Ariane e Lara, um enorme presente que me trouxe tanta alegria, tantas risadas, tantos abraços e, principalmente, fofocas;

À Viviam, Eduardo e Joyce, por se fazerem tão presentes sempre e me proporcionarem momentos de completo caos e felicidade, me rodeando de amor e de vontade de viver;

À minha família, que é o meu alicerce, por todo o apoio e amor;

À minha mãe, que é o meu combustível e maior inspiração, por todo o esforço para que eu nunca precisasse abrir mão dos meus sonhos e por ter me ensinado o significado de amar;

Ao meu grande amor, Ivan, por ser o meu companheiro em tudo e por sempre me incentivar em tudo o que eu faço, nunca soltando a minha mão e sempre me lembrando de que amar é uma das melhores coisas da vida;

À Deus, a quem eu sou grata por tudo o que tenho, pois nunca me desamparou nem me deixou sem respostas, sempre me mostrando o caminho e me dando forças para seguir.

*Tem os que passam e tudo se passa com passos já passados,
Tem os que partem da pedra ao vidro, deixam tudo partido,
E tem, ainda bem, os que deixam a vaga impressão de ter ficado.*

Alice Ruiz

ÍNDICE OU SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
AGRADECIMENTOS/DEDICATÓRIA	
ÍNDICE	(i)
ÍNDICE DAS FIGURAS	(ii)
ÍNDICE DAS TABELAS	(iii)
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	04
2.1. A DESCOBERTA	04
2.2. O PARASITA	04
2.3. O VETOR	07
2.4. A DOENÇA DE CHAGAS NA BAHIA	08
3. OBJETIVOS	11
4. METODOLOGIA	12
4.1. ÁREAS DE ESTUDO	12
4.2. AMOSTRAS CONTROLES	13
4.3. IDENTIFICAÇÃO, DISSECÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS	13
4.4. PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO FUNCIONAL	14
4.5. DETECÇÃO MOLECULAR DE <i>T. CRUZI</i>	15
4.5.1. ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS	15
4.5.2. DETECÇÃO DE <i>T. CRUZI</i> EM TRIATOMÍNEOS	16
4.5.3. ELETROFORESE CONVENCIONAL	17
5. RESULTADOS	18
5.1. PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO FUNCIONAL	18
5.2. DETECÇÃO MOLECULAR DE <i>T. CRUZI</i>	18
6. DISCUSSÃO	22
6.1. IMPORTÂNCIA DA DETECÇÃO MOLECULAR DE <i>T. CRUZI</i>	22
6.2. PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS EM ÁREAS RURAIS E URBANAS	23
7. CONCLUSÕES	27
8. RECOMENDAÇÕES	28
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
APÊNDICES	

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura 1. Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas (1878-1934). Fonte: Base Arch/Fiocruz.	04
Figura 2. <i>Trypanosoma cruzi</i> e suas formas evolutivas. A. <i>T. cruzi</i> ; B. Formas evolutivas de <i>T. cruzi</i> . Fonte: Brasil Escola (A) e adaptado de Center for Disease Control and Prevention (B).	05
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Trypanosoma cruzi</i> no inseto vetor e no ser humano. Fonte: adaptado de Center for Disease Control and Prevention.	06
Figura 4. Insetos triatomíneos. A. <i>Triatoma infestans</i> (Klug, 1834); B. <i>Panstrongylus megistus</i> (Burmeister, 1835); C. <i>Panstrongylus geniculatus</i> (Latreille, 1811); D. <i>Panstrongylus tibiamaculatus</i> (Pinto, 1926). Fonte: FIOCRUZ/IGM/LPBM.	07
Figura 5. Ciclo evolutivo de um triatomíneo, espécie <i>Panstrongylus megistus</i> . Fonte: Guia de Triatomíneos da Bahia (GURGEL-GONCALVES, 2012).	08
Figura 6. Pesquisadores da doença de Chagas. A. Manuel Augusto Pirajá da Silva; B. Adriano de Azevedo Pondé; C. Alexandre Leal Costa; D. Guilherme Rodrigues da Silva; E. Ítalo Sherlock. Fonte: Parasitologia.org; Sociedades.cardiol; História da Bahia; Cparq.ufba; Scielo.	10
Figura 7. Municípios estudados no estado da Bahia. A. Salvador; B. Santa Inês; C. Serrolândia. Fonte: adaptado de Google Maps.	13
Figura 8. Vetor triatomíneo preparado para estocagem. Fotografias em posição dorsal (A) e ventral (B) de triatomíneo da espécie <i>T. juazeirensis</i>	14
Figura 9. Detalhamento do processo de extração de DNA, dosagem, estocagem e processamento das amostras.	16
Figura 10. Amplificação de parte das amostras de DNA de triatomíneos de Salvador para infecção por <i>T. cruzi</i> em eletroforese convencional em gel de agarose a 2%. MW: marcador de peso molecular.	19
Figura 11. Amplificação de parte das amostras de DNA de triatomíneos de Santa Inês para infecção por <i>T. cruzi</i> em eletroforese convencional em gel de agarose a 2%. MW: marcador de peso molecular.	20
Figura 12. Amplificação de parte das amostras de DNA de triatomíneos de Serrolândia para infecção por <i>T. cruzi</i> em eletroforese convencional em gel de agarose a 2%. MW: marcador de peso molecular.	21

ÍNDICE DAS TABELAS

Tabela 1. Sequências do primer utilizado nas amplificações de <i>T. cruzi</i>	16
Tabela 2. Reagentes para a amplificação dos alvos moleculares.	17
Tabela 3. Condições de termociclagem para amplificação dos alvos moleculares.	18
Tabela 4. Amplificação das amostras testadas para <i>T. cruzi</i> de Salvador, Santa Inês e Serrolândia.	18
Tabela 5. Amostras testadas para <i>T. cruzi</i> oriundas de Salvador. Amostras destacadas em verde são positivas para infecção por <i>T. cruzi</i>	39
Tabela 6. Amostras testadas para <i>T. cruzi</i> oriundas de Santa Inês. Amostras destacadas em verde são positivas para infecção por <i>T. cruzi</i>	41
Tabela 7. Amostras testadas para <i>T. cruzi</i> oriundas de Serrolândia. Amostras destacadas em verde são positivas para infecção por <i>T. cruzi</i>	42

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas foi descrita pelo médico e pesquisador Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas em 1909 (KROPF, 2009). O agente etiológico é o protozoário *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909), cujos vetores são os insetos hematófagos conhecidos popularmente na Bahia como barbeiros. A transmissão dessa doença infecto-parasitária ocorre, principalmente, através da via vetorial na América Latina, por meio do contato da pele ou mucosas com fezes ou urina de insetos hematófagos infectados por *T. cruzi* (SHIKANAI-YASUDA, 2021). Porém, existem outras formas de transmissão, como a transfusional (transusão de sangue ou transplante de órgãos), congênita (transmissão transplacentária), pela amamentação, via oral devido a ingestão de alimentos contaminados e até mesmo acidental devido a relações sexuais ou acidentes laboratoriais (DIAS et al., 2016).

A doença consiste em uma fase aguda assintomática ou oligossintomática, com quadro de doença febril autolimitada que dura de 4 a 8 semanas (RASSI et al., 2017) e uma fase aguda de alta parasitemias, em que o parasita pode ser detectado no sangue (SCHIJMAN et al., 2021). Adicionalmente a isso, a partir da progressão clínica da doença ao longo dos anos, pode ocorrer o desenvolvimento de distúrbios cardíacos e/ou gastrointestinais, com mortalidade e morbidade substanciais em 30-40% dos indivíduos cronicamente infectados (TORRICO et al., 2021), além de lesões no sistema nervoso central e entérico (MATSUDA et al., 2009).

Nesse sentido, a doença de Chagas se tornou um grave problema de saúde pública, haja visto o número elevado de indivíduos encontrados na forma crônica da doença e os casos recentes de transmissão congênita e oral (SHIKANAI-YASUDA, 2021), configurando-se atualmente como uma preocupação mundial, principalmente pelo fato de que muitos países não possuem sistema de vigilância e monitoramento do agravo.

Dessa forma, em busca de compreender a doença e subsidiar planos de combate ao agravo, a doença de Chagas tem sido objeto de estudo em diversas áreas desde a sua descoberta, através de estudos epidemiológicos, entomológicos e clínico-anatomopatológicos, tanto em diversos institutos de pesquisa como em universidades espalhadas em vários países. Além disso, a biologia molecular tem sido uma ferramenta bastante utilizada na detecção e caracterização molecular das diferentes linhagens de *T. cruzi* em diversos estudos (PAVIA et al., 2003; BURGOS et al., 2005; GIL et al., 2007; PAVIA et al., 2011; PAVIA et al., 2012; ROMANO et al., 2012; GÓMEZ LAITON et al., 2015;

BRÍGIDO, 2016; PANESSO-GÓMEZ et al., 2018; REYNA, 2021; URBINA et al., 2021; SANTOS et al., 2022).

Contudo, ainda existem questões sem respostas, como o tratamento etiológico na fase crônica, por exemplo, que ainda tem se mostrado controverso, já que diversos casos de cura parasitológica não são acompanhados de sorologia negativa. Além disso, a existência de cepas que se mostram resistentes aos fármacos atualmente utilizados e a limitação desses devido à toxicidade dificultam o tratamento (ANDRADE et al., 1992). O pouco conhecimento acerca dos mecanismos de escape do parasito também dificulta a ação do sistema imunológico e dos fármacos, visto que populações de triatomíneos apresentam diferentes graus de resistência aos inseticidas e a transmissão vetorial extradomiciliar ou por visitação de vetores silvestres aos domicílios tem sido o mecanismo principal de transmissão de *T. cruzi* às populações humanas, o que impacta no desenvolvimento de estratégias para controle de vetores (DIAS et al., 2016).

Atualmente, a estimativa de pessoas acometidas pela doença em todo o mundo é de cerca de seis a sete milhões de pessoas (WHO, 2019). No Brasil, entre 2003 e 2018, 4.556 casos de doença de Chagas foram relatados e a estimativa de pessoas acometidas pela doença é de 1,9 a 4,6 milhões de pessoas (BRASIL, 2019). Segundo um estudo de revisão sistemática e metanálise realizado entre 1980 e 2012, a estimativa da prevalência da doença de Chagas no Brasil representava o valor de 4,2% (MARTINS-MELO et al., 2014). Nos tempos atuais, a estimativa está entre 1,0 e 2,4% da população (SESAB, 2019).

No que se refere a Bahia, esse é o estado que apresenta a quarta maior taxa de mortalidade por doença de Chagas do país (SVS/MS, 2023). De acordo com dados da Secretaria da Saúde do Estado da Bahia (SESAB), são registrados, em média, 601 óbitos anuais no território do estado (SESAB et al., 2023). Adicionalmente, estudos feitos nos últimos anos apontam um aumento significativo dos casos e surtos de doença de Chagas por infecção oral em áreas rurais (NÓBREGA et al., 2009; SOUZA-LIMA et al., 2013; DARIO et al., 2016) e, principalmente, em áreas urbanas (BASTOS et al., 2010; NOYA et al., 2010; DOMINGUES et al., 2015; NOYA et al., 2015).

Os triatomíneos são os insetos que se caracterizam como os principais vetores da doença de Chagas (LENT, 1999; GALVÃO, 2003), ocupando nichos ecológicos diversos e podendo ser encontrados tanto no intradomicílio quanto no peridomicílio, além de estarem presentes também em ambiente silvestre (NOIREAU et al., 2009). Esses insetos são conhecidos popularmente como barbeiros e possuem hábitos alimentares quase que

exclusivamente hematófagos, com cinco estádios ninfais que antecedem o estágio adulto, cuja infecção ocorre quando o triatomíneo se alimenta de um animal infectado por *T. cruzi* e elimina as formas infectantes do parasita nas fezes logo após a realização do repasto sanguíneo (LANZA, 2019).

Neste estudo, determinamos a prevalência de infecção por *T. cruzi* em amostras de triatomíneos provenientes de localidades rurais e urbanas oriundas de três municípios do Estado da Bahia, no intuito de fornecer informações úteis para subsidiar o planejamento de ações de prevenção e controle da doença de Chagas para decisões pelo Sistema Único de Saúde (SUS) nesses municípios.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A DESCOBERTA

A descoberta da doença de Chagas é creditada a Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas (Figura 1), que a descreveu em 1909 durante sua participação na campanha antipalúdica, conduzida no município de Lassance, em Minas Gerais (DIAS et al., 1945). No decorrer da campanha, Chagas identificou o primeiro caso da enfermidade, que posteriormente recebeu seu nome, quando examinou Berenice, uma criança febril de dois anos, e identificou em seu sangue uma nova espécie de tripanossoma (KROPF et al., 2007). O pesquisador denominou essa espécie de *Trypanosoma cruzi*, em homenagem a Oswaldo Cruz (KROPF et al., 2007). Além da designação associada a Chagas, a doença é também conhecida como tripanossomíase americana (KROPF et al., 2007).



Figura 1. Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas (1878-1934). Fonte: Base Arch/Fiocruz.

Após a revelação desse achado, o feito de Chagas foi reconhecido como singular na história da medicina, pois o próprio pesquisador conseguiu identificar o vetor, o parasito e uma nova doença em um intervalo de tempo bastante curto (KROPF et al., 2007). Esse êxito consolidou a protozoologia como uma das áreas de pesquisa primordiais no Instituto Oswaldo Cruz (IOC), conferindo considerável prestígio científico não apenas a Chagas como pesquisador, mas também à instituição (KROPF et al., 2007).

2.2. O PARASITA

No que concerne ao *Trypanosoma cruzi*, trata-se de um protozoário hemoflagelado classificado na classe Kinetoplastea, ordem Trypanosomatida e família Trypanosomatidae

(Fig. 2A) (LEWICKA et al., 1995). Esse protozoário exibe três formas evolutivas distintas, determinadas pela posição de uma região conhecida como cinetoplasto em relação ao núcleo, sendo essas: (1) epimastigota, forma de multiplicação do parasita no vetor ou em cultura; (2) tripomastigota, estágio infectante do parasito; e (3) amastigota, estágio evolutivo em que ocorre a multiplicação dentro das células hospedeiras (Fig. 2B) (LANZA, 2019).

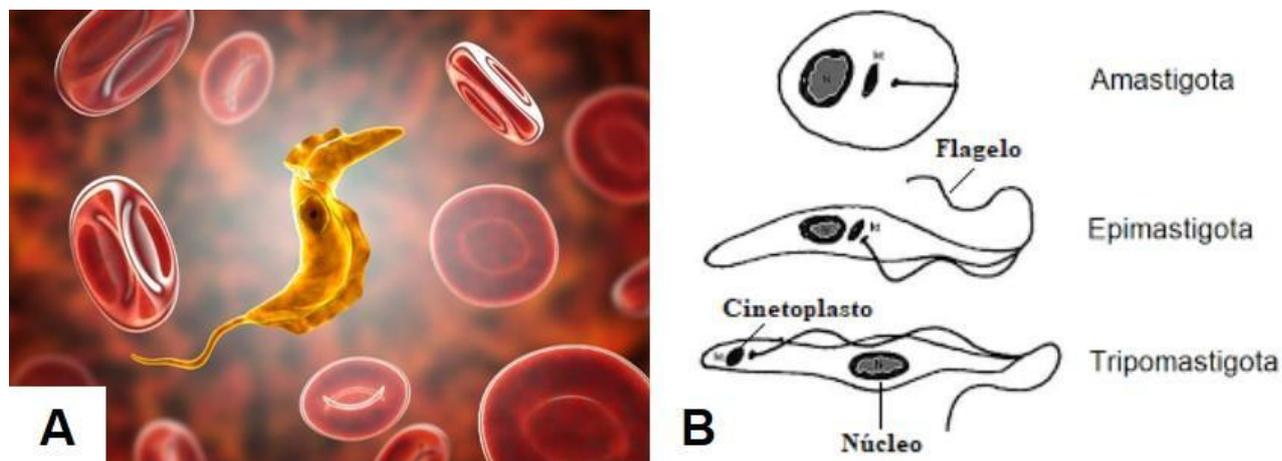


Figura 2. *Trypanosoma cruzi* e suas formas evolutivas. **A.** *T. cruzi*; **B.** Formas evolutivas de *T. cruzi*. Fonte: Brasil Escola (A) e adaptado de Center for Disease Control and Prevention (B).

O ciclo evolutivo do parasita está vinculado a dois tipos de hospedeiros: (1) invertebrados, como insetos vetores, e (2) vertebrados, como mamíferos (Fig. 3) (LANZA, 2019). No que diz respeito ao ciclo no triatomíneo, o parasita assume a forma evolutiva em epimastigota e se diferencia em tripomastigota metacíclico, sendo posteriormente excretado nas fezes do inseto vetor (Fig. 3) (LANZA, 2019). Quanto ao ciclo no hospedeiro vertebrado, o parasita adota a forma evolutiva em tripomastigota e, ao penetrar nas células, se diferencia em amastigota; realiza multiplicação por divisão binária intracelular, transformando-se novamente em tripomastigota; e as células parasitadas rompem-se, infectando as células vizinhas ou adentrando a corrente sanguínea, possibilitando a repetição do ciclo (Fig. 3) (BRENER, 1973; ROSSI et al., 2003).

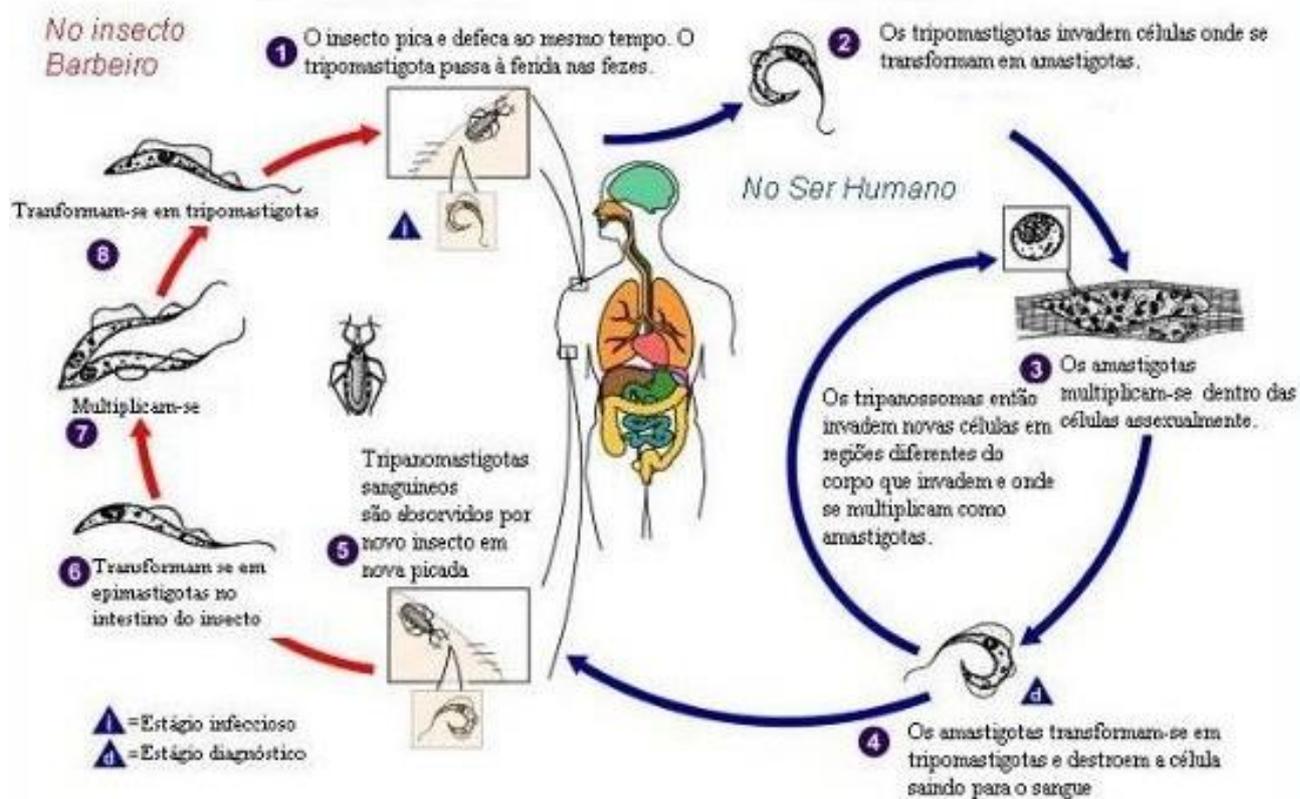


Figura 3. Ciclo de vida de *Trypanosoma cruzi* no inseto vetor e no ser humano. Fonte: adaptado de Center for Disease Control and Prevention.

São diversas as formas de transmissão de *T. cruzi*, como transmissão transfusional, transplantes de órgãos, congênita, aleitamento materno, relações sexuais, acidentes laboratoriais (DIAS, 1989; DIAS et al., 2011; NORMAN & LÓPEZ-VÉLEZ, 2013; ARAÚJO et al., 2017) e via oral, visto que estudos recentes relataram inúmeros casos e surtos de transmissão oral resultantes do consumo de alimentos contaminados em áreas rurais e urbanas (NÓBREGA et al., 2009; BASTOS et al., 2010; NOYA et al., 2010; SOUZA-LIMA et al., 2013; DOMINGUES et al., 2015; NOYA et al., 2015; DARIO et al., 2016).

No entanto, apesar das formas variadas, a transmissão vetorial é considerada a principal forma de infecção em humanos na América Latina. Além disso, a via vetorial responde por cerca de 80% dos casos registrados no Brasil no século XX (DIAS, 1987; DIAS & SCHOFIELD, 1999). Diante desse cenário, torna-se imperativo realizar estudos que investiguem a detecção de *T. cruzi* em hospedeiros invertebrados que atuam como vetores da doença, a fim de fornecer evidências úteis para o controle da doença e de seus vetores.

2.3. O VETOR

No contexto dos vetores associados à doença de Chagas, os triatomíneos são insetos classificados na Classe Insecta, Ordem Hemiptera, Família Reduviidae e Subfamília Triatominae (Fig. 4) (GALVÃO, 2003). Esses insetos predominam principalmente na região Neotropical e estão agrupados em 5 tribos e 18 gêneros, totalizando 153 espécies reconhecidas (OLIVEIRA & ALEVI, 2017). Entre os conhecidos, os gêneros *Panstrongylus* (BERG, 1879), *Rhodnius* (STÅL, 1859) e *Triatoma* (LAPORTE, 1832) abrigam as espécies consideradas epidemiologicamente mais relevantes (SCHOFIELD, 1994).

Quanto à sua notoriedade popular, embora os triatomíneos sejam insetos reconhecidos em todo o Brasil e possuam diversas denominações regionais, como chupança, bicho-de-frade, bicho-de-parede, bicudo, cascudo, entre outros, o termo mais comum no estado da Bahia é "barbeiro" (LENT, 1999).

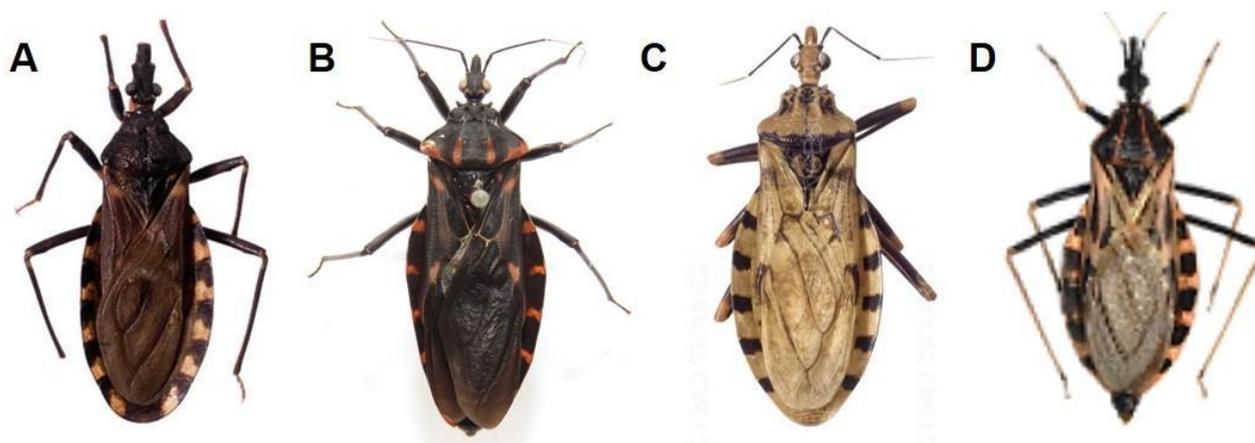


Figura 4. Insetos triatomíneos. **A.** *Triatoma infestans* (Klug, 1834); **B.** *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835); **C.** *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811); **D.** *Panstrongylus tibiamaculatus* (Pinto, 1926). Fonte: FIOCRUZ/IGM/LPBM.

Esses insetos ocupam variados nichos ecológicos e podem ser encontrados no intradomicílio (área correspondente ao interior do domicílio), peridomicílio (área circundante ao redor do domicílio, num raio não superior a cem metros) e em ambiente silvestre (NOIREAU et al., 2009). Os triatomíneos adotam hábitos alimentares quase que exclusivamente hematófagos, pois alguns também se alimentam de origens vegetais, e se infectam ao se alimentarem de um animal infectado por *T. cruzi*, eliminando as formas infectantes do parasita nas fezes logo após o repasto sanguíneo (LANZA, 2019). Esses vetores passam por cinco estádios ninfais que precedem o estádio adulto (Fig. 5) (SCHOFIELD et al., 2009), sendo crucial destacar que todos os seus estádios evolutivos

são capazes de transmitir o parasita *T. cruzi* ao hospedeiro vertebrado (SCHOFIELD & GALVÃO, 2009).

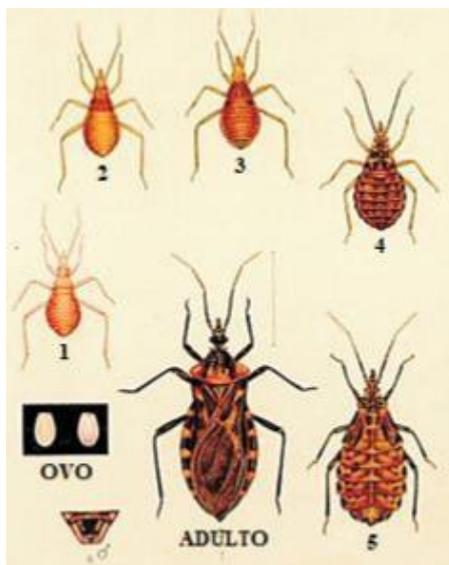


Figura 5. Ciclo evolutivo de um triatomíneo, espécie *Panstrongylus megistus*. Fonte: Guia de Triatomíneos da Bahia (GURGEL-GONCALVES, 2012).

2.4. A DOENÇA DE CHAGAS NA BAHIA

Na década de 1910, o médico e pesquisador Manuel Augusto Pirajá da Silva (Fig. 6A) recebeu de um estudante de medicina alguns insetos capturados em uma casa de palha no município de Mata de São João, situado na região metropolitana de Salvador (DA SILVA, 1911). Durante uma visita àquela área, Pirajá da Silva identificou ninhos dos insetos nas residências e moradores com marcas de picadas nos rostos, marcando assim os primeiros relatos da presença de triatomíneos na Bahia (DA SILVA, 1911). Além disso, Pirajá da Silva examinou triatomíneos de outras localidades de Salvador, como os encontrados no bairro de Brotas pelo professor Anísio Circundes de Carvalho, e de fora da cidade, como os capturados na cidade de Feira de Santana pelo professor Antônio Bastos de Freitas Borja (DA SILVA, 1911; BRUMPT & DA SILVA, 1912; FALCÃO, 2008).

Adicionalmente, o professor João Garcêz Fróes comunicou a Pirajá da Silva sobre a presença de triatomíneos na Estação de Parafuso, no município de Camaçari, e nos municípios de Candeias e São Francisco do Conde (DA SILVA, 1911; BRUMPT & DA SILVA, 1912; FALCÃO, 2008). Tomando como base essas e novas informações, Álvaro Edmundo Gonçalves prosseguiu com as pesquisas com esses insetos a partir de 1912, quando identificou pela primeira vez a presença de triatomíneos da espécie *Panstrongylus megistus* infectados por *T. cruzi* no centro da cidade de Salvador (Beco dos Calafates,

Fazenda Grande do Retiro) e nas localidades de Mata de São João, Candeias (Pitanga), Pojuca e Santo Amaro (Petinga) (GONÇALVES, 1912; LANZA, 2019).

Quase quatro décadas após os primeiros registros da presença de triatomíneos na Bahia, em 1942, os pesquisadores Ruy Pondé, Otávio Mangabeira Filho e Geth Jansen identificaram dois casos com xenodiagnóstico positivo, um cão portador de *T. cruzi* e triatomíneos infectados no município de Jacobina (PONDÉ et al., 1942). Pouco depois, em 1944, o médico Adriano de Azevedo Pondé (Fig. 6B) documentou a presença de triatomíneos da espécie *P. megistus* em diversas cidades, incluindo Salvador, Cachoeira, Conceição de Feira, Camaçari, Senhor do Bonfim, Coração de Maria, Alagoinhas, Mata de São João e Santo Amaro (PONDÉ, 1946). Adriano Pondé também identificou casos humanos em Salvador, Cruz das Almas, Maragogipe, Coração de Maria, Jaguaripe, Afonso Pena, Senhor do Bonfim, Santo Amaro, Mata de São João, Jaguaquara, Castro Alves, Cachoeira e Mundo Novo (PONDÉ, 1946).

Entre os anos de 1949 e 1950, Otávio Mangabeira Filho conduziu uma pesquisa para analisar a distribuição de triatomíneos na área urbana de Salvador, indicando os principais bairros e logradouros infestados por triatomíneos com alta taxa de infecção por *T. cruzi* (MANGABEIRA FILHO, 1952). Estes incluíam: Brotas (Acupe, Alto Formoso, Alto do Saldanha, Alto de Santa Rita, Avenida Candeias, Baixa de São Cosme, Baixa do Silva, Beijú de Brotas, Boa Vista, Boca da Mata, Campinas, Cruz da Redenção, Engenho Velho, Machado de Assis, Matatú Grande, Matatú Pequeno, Pitangueiras, Quintas das Beatas, Socêgo, Torre e Usina do Dique), Ilha de Maré, Itapoã, Mares (Alto do Cacau, Cabrito, Lobato, Tanque e Santa Luzia), Nazaré (Fonte Nova do Desterro, Largo de Nazaré, Saúde, São Miguel e Tororó), Praia da Cruz, Penha (Boa Viagem, Caminho de Areia e Massaranduba), Rua do Passo (Taboão e Baixa dos Sapateiros), Santana (Baixa do Dique, Campo da Pólvora e Tororó), Santo Antônio (Baixa das Quintas, Barbalho, Boca do Rio; Cabula, Caixa d'Água, Cidade Nova, Cruz do Cosme, Curuzú, Estrada da Liberdade, Goméa, Pau Miúdo, Ramos de Queiroz, Soledade e Tanque da Conceição), São Pedro (Mercês), Sé (Ajuda, Pelourinho e Terreiro) e Vitória (Avenida Oceânica, Alto das Pombas, Alto do Gato, Baixa do Canela, Baixa dos Gantois, Caetano Moura, Calabar, Camarão, Campo Santo, Chame-Chame, Federação, Garcia, Mirante, Rio Vermelho, Roça da Sabina e São Lázaro) (MANGABEIRA FILHO, 1952).

Em um período subsequente, entre os anos de 1951 e 1952, o médico Gildo Aguirre, então à frente do Serviço Nacional de Malária, conduziu uma investigação sobre a presença

de triatomíneos em domicílios e sua infecção por *T. cruzi* em vários bairros da capital baiana e em diversos municípios do interior (AGUIRRE, 1954). O objetivo era estabelecer medidas de profilaxia da doença de Chagas e, com esse propósito, foi utilizado o inseticida hexaclorobenzeno (BHC) para controlar os triatomíneos, resultando em uma notável redução nas populações desses insetos (ANÔNIMO, 1952; AGUIRRE, 1954).

Em 1954, a fim de avaliar a eficácia das intervenções realizadas em Salvador, o médico Alexandre Leal Costa (Fig. 6C) conduziu uma busca por triatomíneos em áreas prioritárias da cidade, como Calabar, Mirante e Campo Santo, onde foi observada uma marcada diminuição dos insetos (COSTA, 1955). Entretanto, Leal Costa reportou a presença de triatomíneos no bairro da Sé, onde foram capturados 113 insetos, todos pertencentes à espécie *Triatoma rubrofasciata* (COSTA, 1955). Dez anos mais tarde, em 1964, o médico Guilherme Rodrigues da Silva (Fig. 6D) relatou infestações por *Panstrongylus megistus* infectados por *T. cruzi*, que possivelmente transmitiram a doença para várias famílias nas áreas de Acupe de Brotas e Federação (SILVA, 1966).

Posteriormente, no início da década de 1970, em um dos últimos estudos realizados na cidade de Salvador, o pesquisador Ítalo Sherlock (Fig. 6E) encontrou 149 exemplares da espécie *P. megistus* e 452 exemplares da espécie *T. rubrofasciata* no Centro Histórico da cidade, correspondente à região do Pelourinho. Dentre esses insetos, 16% estavam infectados por *T. cruzi* (SHERLOCK & SERAFIM, 1974). A partir da década de 1980 até 2000, vários triatomíneos adultos das espécies *Triatoma tibiamaculata* e *T. rubrofasciata* foram capturados por habitantes dentro de suas residências em bairros de Salvador, como Pituaçu e Patamares, Valéria, Barroquinha, Mussurunga, Castelo Branco, Sé, Fazenda Grande III e Brotas (DIAS-LIMA & SHERLOCK, 2000; RIBEIRO JR et al., 2015).



Figura 6. Pesquisadores da doença de Chagas. **A.** Manuel Augusto Pirajá da Silva; **B.** Adriano de Azevedo Pondé; **C.** Alexandre Leal Costa; **D.** Guilherme Rodrigues da Silva; **E.** Ítalo Sherlock. Fonte: Parasitologia.org; Sociedades.cardiol; História da Bahia; Cparq.ufba; Scielo.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL:

- Determinar a prevalência de infecção por *T. cruzi* em amostras de triatomíneos provenientes de localidades rurais e urbanas de três municípios do Estado da Bahia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Realizar a padronização dos protocolos;
- Realizar a detecção molecular de *T. cruzi*;
- Gerar evidências científicas para subsidiar o planejamento de ações de prevenção e controle da doença de Chagas para decisões pelo Sistema Único de Saúde (SUS) nesses municípios.

4. METODOLOGIA

4.1. ÁREAS DE ESTUDO

Este estudo analisou amostras de triatomíneos coletados e obtidos por demanda espontânea da população e em parceria com as secretarias de saúde municipais em localidades rurais e urbanas de três municípios do Estado da Bahia: Salvador, Santa Inês e Serrolândia (Fig. 7).

No que se refere a Salvador ($12^{\circ}52'31''\text{S } 38^{\circ}30'06''\text{W}$) (Fig. 7A), essa cidade é a capital do estado da Bahia e possui um clima quente e úmido o ano inteiro (DE CARVALHO & JÚNIOR, 2021). A cidade possui uma paisagem que se mistura entre o verde e o cinza: a infraestrutura verde está associada aos fatores físico-biológicos referentes à interface humana com os recursos naturais, como jardins públicos, parques, mananciais e áreas de preservação; a infraestrutura cinza está associada aos elementos provenientes da ocupação artificial do solo, como as edificações e os modais de transporte, que impermeabilizam e refletem as ações de confecção do chamado 'espaço construído' (CARVALHO & JÚNIOR, 2021). Além disso, Salvador possui uma estrutura espacial fragmentada, sendo densamente povoada em alguns trechos e com alguns nichos de espaços verdes remanescentes de Mata Atlântica (CARVALHO & JÚNIOR, 2021).

Já Santa Inês ($13^{\circ}16'31''\text{S } 39^{\circ}50'54''\text{W}$) (Fig. 7B) possui um clima que varia entre sub úmido e subúmido a seco, com uma precipitação pluviométrica entre 800 a 1100 mm (SANTOS, 2008). Essa é uma cidade que fica localizada no meio do Vale do Jiquiriçá, formando um conjunto de vinte e cinco municípios, sendo todos pertencentes à Bacia do Rio de Jiquiriçá, o único rio importante em termo de disponibilidade de recursos hídricos à comunidade (SANTOS, 2008). A Bacia do Vale do Jiquiriçá apresenta quatro tipos de climas cujas características vão desde o semiárido, na região Oeste, ao tropical úmido, no litoral (SANTOS, 2008). A região apresenta remanescentes de Mata Atlântica e vários efluentes com boa qualidade de água (SANTOS, 2008).

Por fim, Serrolândia ($11^{\circ}25'03''\text{S } 40^{\circ}17'41''\text{W}$) (Fig. 7C) apresenta o clima semiárido e pertence ao bioma Caatinga, com um relevo formado por Tabuleiros Interioranos e Patamar do Médio Rio Paraguaçu (FERREIRA et al., 2015; IBGE, 2019). A cidade fica localizada a 320 km da capital Salvador e tem como cidades circunvizinhas Jacobina, Várzea do Poço, Quixabeira, Miguel Calmon, Várzea da Roça e Mairí (FERREIRA et al., 2015).



Figura 7. Municípios estudados no estado da Bahia. **A.** Salvador; **B.** Santa Inês; **C.** Serrolândia. Fonte: adaptado de Google Maps.

4.2. AMOSTRAS CONTROLES

As amostras controles de *T. cruzi* foram obtidas na Coleção de *Trypanosoma* de Mamíferos Silvestres, Domésticos e Vetores (COLTRYP) do Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ), onde são mantidas criopreservadas em nitrogênio líquido a -196°C .

As amostras para controle positivo foram isoladas das cepas 00003 (DTU TcI isolada de *Didelphis aurita* no Estado de Santa Catarina); 00021 (DTU TcII isolada de *Leontopithecus rosalia* no Estado do Rio de Janeiro); 00113 (DTU TcIII isolada de *Monodelphis domestica* no Estado de Goiás); 00524 (DTU TcIV isolada de *Triatoma* sp. no Estado do Mato Grosso do Sul); e 00537 (DTU TcIII/TcV isolada de *Lycalopex vetulus* no Estado de Goiás).

A concentração de DNA das amostras foi determinada por espectrofotômetro NanoDrop® (Nanodrop, CA, EUA) no Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (IGM/FIOCRUZ-BA). A pureza das amostras foi avaliada pela razão entre as densidades das absorvâncias observadas entre 260 e 280 nm. Para a utilização nas análises moleculares, a concentração de DNA foi ajustada para ~ 100 ng/uL e as amostras foram estocadas até o seu uso a -80°C e conservadas a -20°C entre os experimentos.

4.3. IDENTIFICAÇÃO, DISSECÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS

As amostras analisadas foram de triatomíneos coletados nos municípios de Salvador, com as espécies *Triatoma tibiamaculata* (PINTO, 1926) e *Panstrongylus tibiamaculatus* (PINTO, 1926), Santa Inês, com a espécie *Triatoma melanocephala* (NEIVA & PINTO, 1923), e Serrolândia, com a espécie *Triatoma pseudomaculata* (Corrêa & Espínola, 1964),

todos na Bahia, obtidos por demanda espontânea ou atividade de vigilância das secretarias municipais de saúde. Os triatomíneos que não possuísem danos em sua estrutura foram selecionados e identificados por meio de chaves de identificação específicas (GALVÃO et al., 2003; WOODBURY & WEINSTEIN, 2010; GALVÃO, 2014) no Insetário I do Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (IGM/FIOCRUZ-BA).

Cada inseto (vivo ou não) foi inicialmente identificado e classificado taxonomicamente a nível de espécie, estágio evolutivo e sexo a partir das características morfológicas presentes em ninfa e adulto. Os triatomíneos selecionados para as análises seguintes foram lavados com solução de NaOH a 2% e H₂O, no intuito de descontaminar a superfície externa do inseto e diminuir o risco de contaminação durante o processo de coleta. Em seguida, os triatomíneos passíveis de análise foram fotografados dorsal e ventralmente e, posteriormente, dissecados em (1) cabeça e asas, (2) pernas e (3) abdômen (Fig. 8). As amostras foram conservadas em álcool a 70% + 5% v/v de glicerina, e estocadas a 5°C. As informações das amostras foram etiquetadas aos seus respectivos tubos através do Qrcode, a fim de facilitar a rastreabilidade da amostra.

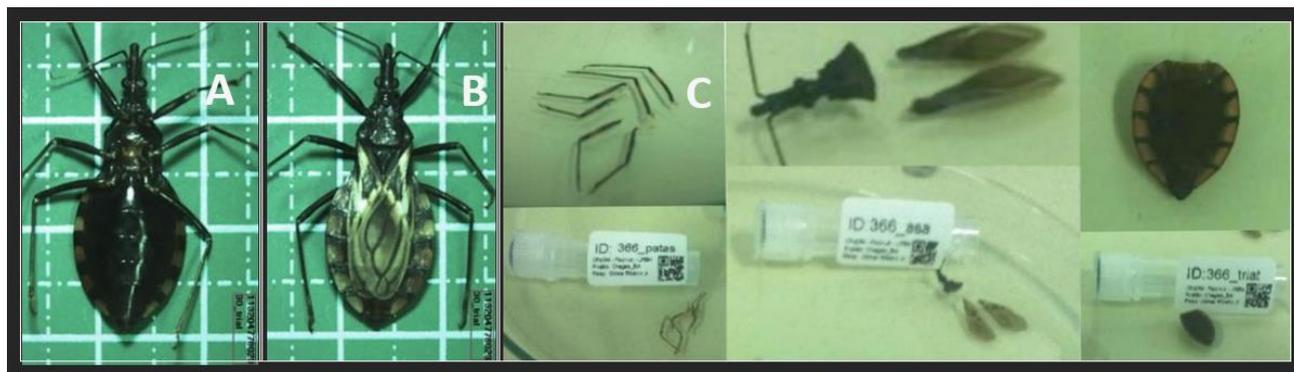


Figura 8. Vetor triatomíneo preparado para estocagem. Fotografias em posição dorsal (A) e ventral (B) de triatomíneo da espécie *T. juazeirensis*.

4.4. PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO FUNCIONAL

Foram realizados testes de amplificação através de PCRs convencionais com o gene de histona TcH2A, utilizado comumente como gene de triagem, mas que não possuía um protocolo padronizado para a detecção de *T. cruzi*, a fim de padronizar um protocolo funcional para a detecção molecular de *T. cruzi* em amostras encaminhadas para o Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (FIOCRUZ-BA) entre 2022 e 2023.

Para a padronização do protocolo, foram realizados cerca de 60 experimentos durante um período de 4 meses, aproximadamente. Para cada experimento de amplificação do

gene TcH2A, os parâmetros de ciclagem relacionados a temperatura e tempo da etapa de anelamento da PCR foram adaptados, de modo que o resultado obtido demonstrasse o máximo de amostras amplificadas. Para a confirmação da amplificação, 10µL dos produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, visualizados sob luz ultravioleta em transiluminador e fotografados em fotodocumentador.

4.5. DETECÇÃO MOLECULAR DE *T. CRUZI*

4.5.1. ISOLAMENTO E PURIFICAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS

Para o processo de detecção molecular de *T. cruzi*, foi realizado o isolamento do DNA utilizando o kit comercial DNAzol® (Invitrogen, EUA) com modificações. Durante a purificação do DNA, na fase de homogeneização dos tecidos, as amostras de abdômen dos triatomíneos selecionados foram maceradas com o auxílio de um ruptor de tecidos modelo L-BEADER 6 (LOCCUS) e utilização de *beads* metálicas. Cada amostra foi inserida em tubos cônicos com tampa de rosca com volume de 2mL autoclavados e foram adicionados 1000µL de DNAzol e 5 *beads* metálicas de aço inoxidável de 3mm autoclavadas. O conjunto foi inserido no equipamento por um ciclo de funcionamento de 5 minutos. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 13.000 RPM por 3 minutos em uma centrífuga e o sobrenadante foi transferido para um tubo de centrífuga com fundo cônico e tampa de pressão com volume de 1,5mL.

Durante a precipitação alcoólica, foi utilizado o Isopropanol 100% e realizada a centrifugação das amostras a 13.000 RPM por 3 minutos. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e o DNA foi lavado utilizando etanol 70%, seguido de nova centrifugação a 13.000 RPM por 3 minutos e novamente foi feito o descarte do sobrenadante. O sedimento final foi eluído com 35µL de tampão de eluição (Tris-Edta) e os tubos foram tampados e mantidos em banho-maria a 55°C por 15 minutos para solubilização do DNA purificado. A concentração do DNA das amostras foi determinada com o auxílio de um espectrofotômetro NanoDrop® (NanoDrop, CA, EUA). A pureza das amostras foi avaliada pela razão entre as densidades das absorbâncias observadas entre 260 e 280 nm. Para a utilização nas análises moleculares, a concentração de DNA foi ajustada para ~100 ng/µL. Em seguida, as amostras foram estocadas a -80°C até o seu uso e conservadas a -20°C entre os experimentos, de acordo com o esquema abaixo (Fig. 9).



Figura 9. Detalhamento do processo de extração de DNA, dosagem, estocagem e processamento das amostras.

As amostras de triatomíneos de Salvador foram avaliadas em 7 lotes, sendo 6 lotes com 12 amostras cada (11 amostras de DNA de triatomíneo + 1 controle de extração “*mock*”) e 1 lote com 6 amostras (5 amostras de DNA de triatomíneo + 1 controle de extração “*mock*”). Já as amostras de triatomíneos de Santa Inês foram avaliadas em 3 lotes, sendo 2 lotes com 10 amostras cada (9 amostras de DNA de triatomíneo + 1 controle de extração “*mock*”) e 1 lote com 6 amostras (5 amostras de DNA de triatomíneo + 1 controle de extração “*mock*”). Por fim, as amostras de triatomíneos de Serrolândia foram avaliadas em 2 lotes, sendo 1 lote com 11 amostras (10 amostras de DNA de triatomíneo + 1 controle de extração “*mock*”) e 1 lote com 10 amostras (9 amostras de DNA de triatomíneo + 1 controle de extração “*mock*”). Todas as amostras foram extraídas em lotes com controles de extração (“*mock*”), a fim de verificar possíveis contaminações durante a execução do protocolo de purificação dos ácidos nucleicos.

4.5.2. DETECÇÃO DE *T. CRUZI* EM TRIATOMÍNEOS

Foram realizadas Reações em cadeia da polimerase (PCR) (STURM et al., 1989) com um *primer* de triagem específico capaz de detectar os isolados de *T. cruzi*. Para tanto, foram realizadas PCRs convencionais utilizando o gene de histona TcH2A contendo *primers* sem marcação (*FOWARD* e *REVERSE*). As amplificações foram realizadas em um volume final de 50µL. As sequências dos iniciadores empregados estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Sequências do *primer* utilizado nas amplificações de *T. cruzi*.

Nome	Sequência	Nº de Nucleotídeos	Marcador	Amplicon
TcH2A-F	5'- GAG AGT GAT CGT GGG AGA GC -3'	20	SEM MARC.	230
TcH2A-R	5'- AGT GGC AGA CTT TGG GGT C -3'	19	SEM MARC.	

Para a amplificação dos alvos moleculares, utilizamos o kit comercial Quiagen PCR Master MIX - Quiamp®, seguindo os volumes e proporções apresentados no esquema demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Reagentes para a amplificação dos alvos moleculares.

Reagentes	Final conc.	Tubo
QIAGEN MASTER MIX	1x	23,5
PRIMER A	0,1 uM	0,5
PRIMER B	0,1 uM	0,5
Corante da Eletroforese	1x	0
H2O	-	23,5
DNA (ng/uL)	~100ng/uL	2
Total volume (uL)	-	50

As amplificações foram realizadas em termocicladores Eppendorf MasterCycle Gradiente® (Eppendorf®). Ao final do processo, as amostras (*amplicons*) foram conservadas em uma câmara fria a -4°C por período máximo de dois dias até a realização da eletroforese convencional. Todo o procedimento foi realizado em capela de fluxo laminar, devidamente descontaminada e irradiada com luz ultravioleta por 10 minutos.

4.5.3. ELETROFORESE CONVENCIONAL

Para a confirmação da amplificação dos controles positivos, a não contaminação dos controles negativos e “*mock*” (branco) e para a validação das amostras testadas, 10µL dos produtos da PCR foram submetidos à eletroforese convencional em gel de agarose. Foi utilizado 10µL do produto da PCR em gel de agarose 2% corado com SYBR Safe Staining Gel. Para a polimerização do gel, foram utilizados 1g de agarose e 50mL de tampão TBE 1X (TRIS-base, ácido bórico e EDTA) para a cuba pequena e 6g de agarose e 300 mL de TBE 1X para a cuba grande, colocado em forma acrílica e adicionado tampão TBE 1X.

O marcador molecular de 100 pb (DNA *ladder*) (Invitrogen, EUA) foi utilizado em cada extremidade do gel como referência de tamanho das bandas e os controles negativos também foram incluídos. A corrida eletroforética foi realizada a 100W por 10 minutos na cuba pequena e 1 hora na cuba grande. Ao final, o gel foi transferido para o transiluminador, submetido à luz ultravioleta para a visualização das bandas e fotografado em foto documentador MultiDoc-It™ (UVP, Imaging Systems – EUA). Devido a problemas técnicos com o foto documentador do IGM durante o período de desenvolvimento deste trabalho, os géis foram fotografados utilizando câmera de celular modelo Samsung A20. As imagens foram analisadas com a ajuda do software UVP GelStudio™ (VisionWorks) e os resultados foram registrados em planilha eletrônica. Todas as amostras foram testadas mais de uma vez, confirmando a ausência dos fragmentos nos controles negativos.

5. RESULTADOS

5.1. PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO FUNCIONAL

Foi padronizado um protocolo funcional para amplificação do gene TcH2A e para a detecção molecular de *T. cruzi*, cujos parâmetros de ciclagem estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Condições de termociclagem para amplificação dos alvos moleculares.

Termociclador	Temp. (°C)	Tempo (seg.)
Temperatura da Tampa	94	-
T1 - Desnaturação 1	95	300
T2 - Desnaturação 2	95	30*
T3 - Anelamento	60	30*
T4 - Alongamento	72	30*
T5 - Alongamento Final	72	300
Ao terminar manter a	12	

Legenda: *35 ciclos seguidos.

Após a análise eletroforética em gel de agarose, o gene TcH2A apresentou fragmento de DNA com aproximadamente 230 pb, como previamente descrito para esse gene.

5.2. DETECÇÃO MOLECULAR DE *T. CRUZI*

Foram analisadas 113 amostras de triatomíneos no total, sendo 71 amostras de Salvador, 23 amostras de Santa Inês e 19 amostras de Serrolândia (Tab. 4).

A quantificação geral (%) das amostras de triatomíneos positivas para *T. cruzi* para cada uma das três localidades avaliadas estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Amplificação das amostras testadas para *T. cruzi* de Salvador, Santa Inês e Serrolândia.

Localidade	TcH2A		Taxa (%)
	Amostras testadas (n)	Amostras positivas (+)	
Salvador (BA) - SSA	71	26	36,6%
Santa Inês (BA) - SI	23	11	48%
Serrolândia (BA) - SE	19	4	21%
Total	113	41	36,2%

Para os triatomíneos oriundos de Salvador, foi possível observar a amplificação de 26 das 71 amostras testadas (Fig. 10; ver Tab. 5 em apêndice), o que indica a infecção por *T. cruzi* em 36,6% das amostras avaliadas (Tab. 4).

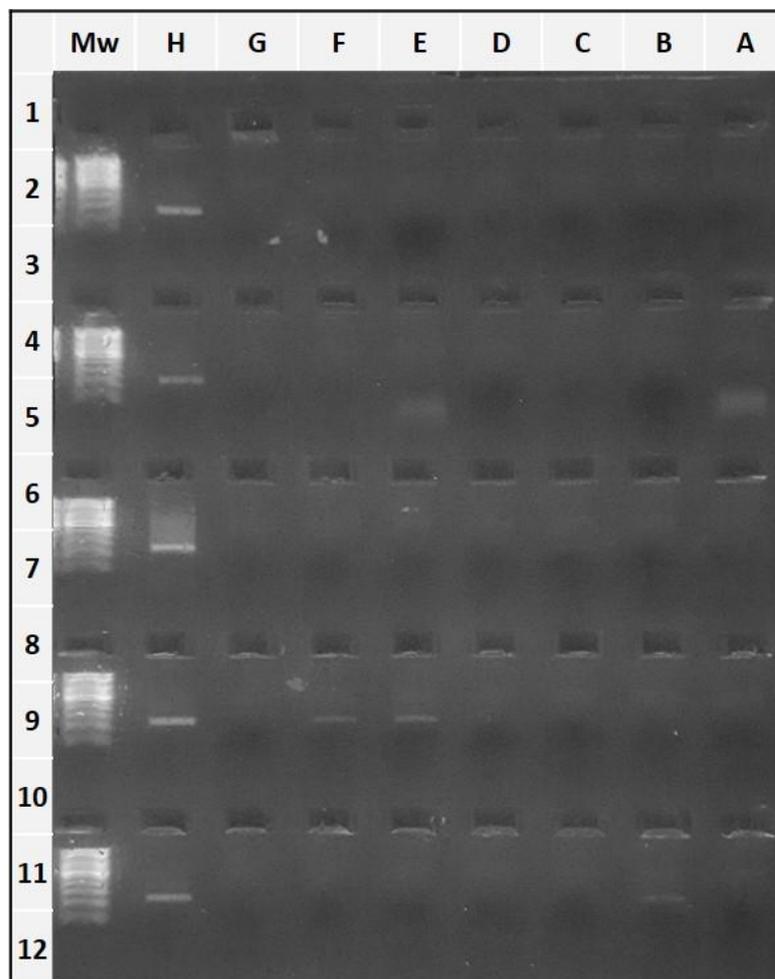


Figura 10. Amplificação de parte das amostras de DNA de triatomíneos de Salvador para infecção por *T. cruzi* em eletroforese convencional em gel de agarose a 2%. MW: marcador de peso molecular.

Para os triatomíneos oriundos de Santa Inês, foi possível observar a amplificação de 11 das 23 amostras testadas (Fig. 11; ver Tab. 6 em apêndice), o que indica a infecção por *T. cruzi* em 48% das amostras avaliadas (Tab. 4).

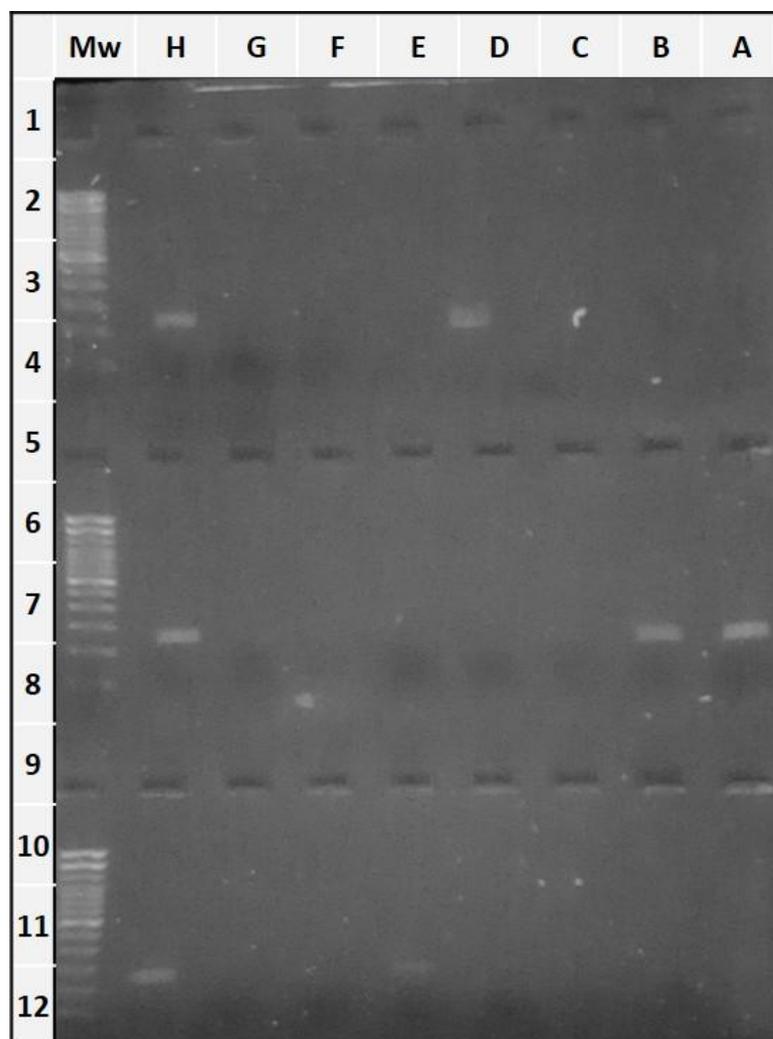


Figura 11. Amplificação de parte das amostras de DNA de triatomíneos de Santa Inês para infecção por *T. cruzi* em eletroforese convencional em gel de agarose a 2%. MW: marcador de peso molecular.

Para os triatomíneos oriundos de Serrolândia, foi possível observar a amplificação de 4 das 19 amostras testadas (Fig. 12; ver Tab. 7 em apêndice), o que indica a infecção por *T. cruzi* em 21% das amostras avaliadas (Tab. 4).

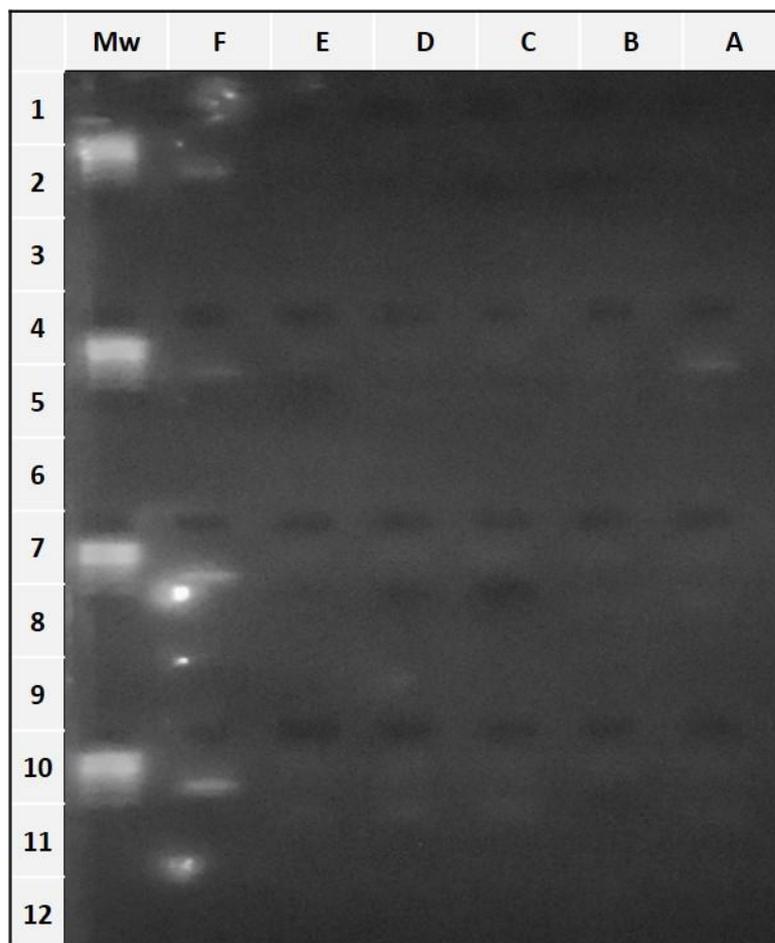


Figura 12. Amplificação de parte das amostras de DNA de triatomíneos de Serrolândia para infecção por *T. cruzi* em eletroforese convencional em gel de agarose a 2%. MW: marcador de peso molecular.

6. DISCUSSÃO

A prevalência de infecção por *T. cruzi* foi mais alta nas amostras de triatomíneos oriundas do município de Santa Inês (48%), representando quase metade do total de triatomíneos infectados. A taxa de infecção por *T. cruzi* em Serrolândia (21%) representou menos da metade da taxa observada para Santa Inês (48%), sendo a menor dentre as três localidades estudadas. Por fim, a taxa de infecção por *T. cruzi* em Salvador (36,6%) se apresentou como intermediária dentre as taxas dos outros municípios.

6.1. IMPORTÂNCIA DA DETECÇÃO MOLECULAR DE *T. CRUZI*

Conforme evidenciado na literatura, o parasita *T. cruzi* demonstra significativa variabilidade genética, apresentando diversas subpopulações circulantes tanto em ambientes domésticos quanto em ambientes silvestres (SOUTO et al., 1996; ZINGALES et al., 1997; MACEDO & PENA, 1998; MACEDO et al., 2001; YEO et al., 2005; MILES et al., 2009; ZINGALES, 2018; LANZA, 2019).

Nesse contexto, a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) tem se destacado como uma alternativa promissora para o diagnóstico da doença de Chagas nos dias atuais, possibilitando a identificação da variante circulante de *T. cruzi* e contribuindo para o planejamento do tratamento e controle da enfermidade (PAVIA et al., 2003; BURGOS et al., 2005; GIL et al., 2007; PAVIA et al., 2011; PAVIA et al., 2012; ROMANO et al., 2012; GÓMEZ LAITON et al., 2015; BRÍGIDO, 2016; PANESSO-GÓMEZ et al., 2018; REYNA, 2021; URBINA et al., 2021; SANTOS et al., 2022).

Isso ocorre porque, ao amplificar sequências específicas do DNA de *T. cruzi* em amostras de sangue e/ou tecidos de portadores, reservatórios e triatomíneos (MÜLLER et al., 2014), é possível detectar de maneira precoce a transmissão congênita em recém-nascidos. Esse método se destaca especialmente quando a presença de anticorpos anti-*T. cruzi* pode gerar resultados falso-negativos e a observação microscópica revela pouca sensibilidade (SCHIJMAN, 2018). Além disso, a técnica de PCR possibilita diagnosticar infecções orais, identificar de forma precoce infecções em receptores de órgãos provenientes de doadores portadores da doença, monitorar a reativação da enfermidade em pacientes cronicamente infectados e imunossuprimidos, bem como avaliar a resposta ao tratamento (SCHIJMAN, 2018; LANZA, 2019). Esses aspectos ressaltam a importância da detecção molecular de *T. cruzi* como uma ferramenta essencial para o monitoramento e controle eficaz da doença.

6.2. PREVALÊNCIA DA DOENÇA DE CHAGAS EM ÁREAS RURAIS E URBANAS

Conforme discutido por Dias e colaboradores (2016), o perfil epidemiológico da doença de Chagas tem se modificado devido à transição demográfica das populações rurais para as áreas urbanas. Na região de Salvador, esse fenômeno é notável devido ao crescimento imobiliário e ao desmatamento, que propiciaram a proximidade dos triatomíneos com as populações humanas (DIAS et al., 2016). Como resultado, há um encontro frequente desses vetores com os seres humanos em seus domicílios (DIAS et al., 2016; LANZA, 2019).

A expansão urbana, através de construções, edifícios, áreas comerciais e industriais, juntamente com o avanço das fronteiras agrícolas nas proximidades dos remanescentes florestais de Salvador, especialmente aqueles relacionados à Mata Atlântica, resultou no aumento de triatomíneos intrusivos no domicílio e peridomicílio, mesmo em residências com estrutura física adequada (DIAS-LIMA & SHERLOCK, 2000; RIBEIRO JR et al., 2015). Portanto, o desmatamento contribui para a substituição das áreas de Mata Atlântica por regiões degradadas, promovendo a migração e adaptação de vetores, levando à emergência de doenças ou à sua expansão para novos ecótopos (VASCONCELOS et al., 2006).

Por isso, estudos que analisam a distribuição geográfica dos vetores são essenciais para compreender o risco de transmissão da doença (GURGEL-GONÇALVES et al., 2012). Além disso, é crucial avaliar os fatores que contribuíram e continuam contribuindo para o aumento da capacidade invasiva das espécies de vetores em regiões intensamente urbanizadas, permitindo assim monitorar o processo de domiciliação e orientar medidas de controle contra os vetores da doença de Chagas (COSTA et al., 2003).

Assim como observado em outras doenças transmitidas por vetores, os determinantes sociais e os fatores ambientais que cercam a doença de Chagas exercem influência significativa sobre o número de casos (LANZA, 2019). Segundo a OMS, os determinantes sociais estão ligados às condições dos locais onde as pessoas vivem e trabalham, como moradia, alimentação, escolaridade, renda e emprego, fatores que podem impactar a saúde e os riscos para a população (BUSS & PELLEGRINI FILHO, 2007).

Indiscutivelmente, o Brasil é um país caracterizado por uma diversidade marcante em seu contexto socioeconômico, evidenciando uma realidade de extrema desigualdade, com regiões apresentando baixos níveis socioeconômicos e baixo Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) (LANZA, 2019). Baseando-se no histórico da doença de Chagas no país,

áreas que se enquadram nesse padrão desigual tendem a abrigar populações vulneráveis, convivendo com elevadas taxas de infestação por triatomíneos (DIOTAIUTI et al., 1995).

O intenso movimento migratório de populações da zona rural para a zona urbana, associado ao desmatamento de regiões previamente ocupadas por essas populações, tem sido identificado como um dos principais impulsionadores do aumento dos casos e dos encontros entre humanos e vetores de doença na Bahia (LANZA, 2019). Isso fica evidente nos resultados deste estudo, nos quais a presença de triatomíneos em Salvador se mostrou alta, em conjunto com uma expressiva taxa de infecção por *T. cruzi*, assim como para Santa Inês e Serrolândia.

Em áreas recém desmatadas, o risco de transmissão da doença de Chagas é ampliado (RIBEIRO JR et al., 2015; RODRIGUEZ & LOAIZA, 2017). Isso ocorre porque, após a remoção dos animais habitantes dessas regiões, que servem como fonte de alimento para os triatomíneos, especialmente mamíferos silvestres, novas fontes de alimento surgem nas áreas peridomésticas (DIAS, 2001). Os vetores procuram por alimento dentro dos domicílios e/ou peridomicílio, expondo a população humana e animais domésticos (cães e gatos) ao risco de infecção por *T. cruzi* (DIAS, 2001), facilitando a colonização progressiva dos domicílios pelos triatomíneos silvestres, além da instauração do ciclo doméstico da doença (COLLI, 2003; COURA et al., 2014). Adicionalmente, altas taxas de infecção e a associação entre *T. tibiamaculata* e marsupiais foram constatadas em áreas remanescentes da Mata Atlântica próximas às residências, indicando uma intensa transmissão enzoótica de *T. cruzi* (SHERLOCK & SERAFIM, 1974; BARRETT et al., 1979).

Além disso, os impactos nos ecossistemas resultantes das atividades humanas influenciam na transmissão da doença e no potencial reprodutivo do inseto vetor (ROGERS & RANDOLPH, 2000; REITER, 2001; GORLA, 2002). Mudanças climáticas, como distribuição de chuvas, temperatura e umidade, podem afetar a expansão das áreas de transmissão de doenças relacionadas a vetores, embora não sejam o único determinante para o aumento da prevalência e alcance geográfico dessas doenças (OPAS, 2008). Adicionalmente, o desmatamento, associado a alterações climáticas, como o aumento da temperatura, favorece o aumento das taxas de eclosão dos ovos, reprodução e dispersão dos triatomíneos (DE CASAS et al., 1999), conforme demonstrado em um estudo com a espécie *Triatoma infestans* (GORLA, 2002).

Um estudo desenvolvido por LANZA (2019), cujo objetivo foi identificar áreas vulneráveis para a transmissão da doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador

(RMS) com base na análise de indicadores entomológicos e epidemiológicos, registrou que a distribuição espacial das unidades domiciliares infestadas por triatomíneos ocorre em diversos bairros da zona urbana da capital baiana, com forte associação em bairros que apresentam remanescentes florestais de Mata Atlântica que passaram por um processo de desmatamento recente. Um destaque do estudo foi o bairro de Patamares, onde foram registradas a maioria das notificações de triatomíneos, o que pode estar relacionado ao expressivo desmatamento e crescimento imobiliário neste bairro nos últimos anos, já que 60% da área total são remanescentes de floresta e 11,3% foi desmatada no período de 2007 a 2017 para a construção de empreendimentos imobiliários (DIAS-LIMA & SHERLOCK, 2000; RIBEIRO JR et al., 2015; LANZA, 2019).

Ainda, o estudo realizou uma análise estatística de correlação multivariada em que apenas as variáveis vegetação e desmatamento apresentaram valores significativos para a transmissão da doença de Chagas ($p < 0,05$) (LANZA, 2019). O estudo afirma que a cada 400 m² de área desmatada, há ocorrência de um triatomíneo (LANZA, 2019). Além disso, quase todos os triatomíneos registrados foram da espécie *T. tibiamaculata*, sendo essa uma espécie silvestre conhecida por estar em processo de peridomiciliação e típica do bioma de Mata Atlântica, cujo padrão de encontro é predominantemente no ambiente peridomiciliar, com indivíduos adultos no ambiente intradomiciliar (DIAS-LIMA & SHERLOCK, 2000; RIBEIRO JR et al., 2015; LANZA, 2019).

Outro elemento a ser considerado no contexto da transmissão da doença é a notável rotatividade e adaptação das espécies de insetos vetores. Diversos estudos indicam que, quando uma espécie é alvo de controle, não há impedimento para que outra espécie, inclusive de origem silvestre, ocupe e se estabeleça em determinado ambiente domiciliar ou peridomiciliar (DIAS-LIMA & SHERLOCK, 2000; RIBEIRO JR et al., 2015). Esse fenômeno pode ser constatado por meio de pesquisas conduzidas nas décadas de 1910 a 1950, período em que as ações de intervenção e controle resultaram na significativa redução de *Panstrongylus megistus* em Salvador (GONÇALVES, 1912). No entanto, na década de 1960, foi registrado o aumento das notificações de *Triatoma rubrofasciata* na capital baiana, evidenciando a dinâmica de adaptação das espécies (COSTA, 1955).

Em Salvador, a vigilância da doença pode ser mais intensiva, possivelmente devido ao seu status de capital estadual, considerando a escassez de dados entomológicos em diversos outros municípios, apesar da presença histórica de triatomíneos na Bahia. Entretanto, é importante ressaltar que muitos municípios do estado são classificados pelo

Ministério da Saúde como de baixo risco para a doença de Chagas (SESAB et al., 2018), o que pode influenciar na alocação de recursos e na orientação das pesquisas para o desenvolvimento de medidas de vigilância ativa contra os vetores.

7. CONCLUSÕES

Foi padronizado um protocolo simples e funcional para amplificação do gene TcH2A (230 pb), correspondendo à detecção molecular de *T. cruzi*. Os resultados deste estudo demonstraram que a taxa de infecção por *T. cruzi* em Santa Inês é de 48%, em Salvador é de 36,6% e em Serrolândia é de 21%. A taxa de infecção por *T. cruzi* se apresentou mais alta no município de Santa Inês, enquanto que a taxa de infecção em Serrolândia representou menos da metade da taxa observada para Santa Inês, sendo a menor dentre as três localidades estudadas. A taxa de infecção por *T. cruzi* em Salvador também se mostrou alta, apesar de ter se apresentado como uma taxa intermediária entre as taxas dos outros municípios. Esses resultados demonstram a importância da detecção molecular de *T. cruzi*, pois a amplificação de sequências alvo do DNA do parasita permite identificar de forma precoce a transmissão e monitorar a reativação e o controle da doença.

O perfil epidemiológico da doença de Chagas tem se modificado devido a transição demográfica das populações rurais para as áreas urbanas, pois fatores como o crescimento imobiliário e o desmatamento permitiram que os triatomíneos se aproximassem das populações humanas, aumentando os casos e encontros entre humanos e vetores da doença de Chagas na Bahia. Além disso, áreas recém desmatadas tem maior risco de transmissão da doença, o que pode explicar a expressiva disponibilidade de insetos vetores infectados na cidade de Salvador, que passa constantemente por processos de desmatamento e urbanização. No que se refere a essa cidade, a vigilância da doença pode ser mais intensa, provavelmente, por ser a capital do estado. Por fim, é de extrema relevância a criação de uma orientação oficial para a doença de Chagas no que está relacionado a registros de óbitos e ao estabelecimento do diagnóstico da doença.

8. RECOMENDAÇÕES

Para a detecção de *T. cruzi* em triatomíneos, recomendamos a realização de análises moleculares como a utilizada neste estudo, sempre que for possível, associada aos exames de compressão abdominal. Para o desenvolvimento de pesquisas subsequentes, sugerimos a realização de novos experimentos utilizando outros genes alvos, como por exemplo o fragmento da subunidade II da enzima mitocondrial citocromo oxidase (COII), a região S35-S36 do cinetoplasto e a proteína flagelar ligadora de cálcio TC24, além da utilização de outras metodologias, como PCR quantitativa em Tempo Real (qPCR) e Sequenciamento de Nova Geração (NGS), no intuito de validar e aprofundar os resultados sobre *T. cruzi*, suas linhagens e outros Tripanossomatídeos, permitindo assim monitorar as variantes circulantes, o correto diagnóstico de *T. cruzi* e o apoio ao SUS e ao cidadão.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE, G. **Palestra proferida no Congresso Estadual de Prefeitos (Mimeografada)**. Salvador, Bahia, 1954.
- ANDRADE, S. G., RASSI, A., MAGALHAES, J. B., FILHO, F. F. & LUQUETTI, A. O. **Specific chemotherapy of Chagas disease: a comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strains**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 86, n. 6, p. 624-626, 1992.
- ANÔNIMO. **Campanha contra doença de Chagas em Salvador**. Revista Brasileira de Malariologia & Doenças Tropicais, v. 4, n. 2, p. 202. 1952.
- ARAUJO, P. F., ALMEIDA, A. B., PIMENTEL, C. F., SILVA, A. R., SOUSA, A., VALENTE, S. A. & TEIXEIRA, A. R. **Sexual transmission of American trypanosomiasis in humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 112, p. 437-446, 2017.
- BARRERA, Y. K., GUEVARA, J. M., PAVÍA, P. X., MONTILLA, M., NICHOLLS, R. S., PARRA, E. & PUERTA, C. J. **Evaluación de las pruebas de PCR TcH2AF-R y S35-S36 para la detección de *Trypanosoma cruzi* en tejido cardíaco de ratón**. Biomédica, v. 28, n. 4, p. 616-626, 2008.
- BARRETT, T. V. et al. **An outbreak of acute Chagas's disease in the São Francisco Valley region of Bahia, Brazil: triatomine vectors and animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi***. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene, v. 73, p. 703-709, 1979.
- BASTOS, C. J., ARAS, R., MOTA, G., REIS, F., DIAS, J. P., JESUS, R. S. D. & GRASSI, M. F. R. **Clinical outcomes of thirteen patients with acute Chagas disease acquired through oral transmission from two urban outbreaks in northeastern Brazil**. PLoS neglected tropical diseases, v. 4, n. 6, p. e711, 2010.
- BRENER, Z. **Biology of *Trypanosoma cruzi***. Annual Reviews in Microbiology, 1973.
- BRÍGIDO, R. T. **O uso da PCR em tempo real para o estudo da carga parasitária e dos níveis transcricionais durante a infecção experimental por *Trypanosoma cruzi***. Tese de Doutorado. Uberlândia, Minas Gerais, 2016.
- BRUMPT, E. & DA SILVA, P. **Existence du "*Schizotrypanum cruzi*" (Chagas, 1909) à Bahia (Mata de São João): biologie du *Conorhinus megistus***. Bulletin de la Société

- de Pathologie Exotique, v. 5, p. 22-26, 1912.
- BURGOS, J. M., BERGHER, S. B., FREITAS, J. M., BISIO, M. M. C., ALTICHEH, J. M., TEIJEIRO, R. & SCHIJMAN, A. G. **Molecular diagnosis and typing of *Trypanosoma cruzi* populations and lineages in cerebral Chagas disease in a patient with AIDS.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 73, n. 6, p. 1016-1018, 2005.
- BUSS, P. M. & PELLEGRINI FILHO, A. **A saúde e seus determinantes sociais.** Physis: Revista de Saúde Coletiva, v. 17, n. 1, p. 77-93, 2007.
- CHAGAS, C. **Nova espécie mórbida do homem produzida por um *trypanosoma* (*Trypanosoma cruzi*).** Nota prévia. Brasil Médico, v. 230, p. 161, 1909.
- COLLI, G. R. **A fragmentação dos ecossistemas e a biodiversidade brasileira: uma síntese.** In: D. M. RAMBALDI E OLIVEIRA, D. A. S. D. (Ed.). Fragmentação de Ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, p. 415, 2003.
- COSTA, A. L. **Triatomíneos e tripanosomas por eles veiculados em zona central da cidade do Salvador – Bahia.** Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Estado da Bahia, Salvador, 1955.
- COSTA, J. et al. **The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 98, n. 4, p. 443-449, 2003.
- COURA, J. R., VIÑAS, P. A. & DO OSWALDO, A. C. V. **Ecoepidemiology, short history and control of Chagas disease in the endemic countries and the new challenge for non-endemic countries.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 109, n. 7, p. 856-862, 2014.
- DARIO, M. A., RODRIGUES, M. S., BARROS, J. H. D. S., XAVIER, S. C. D. C., D'ANDREA, P. S., ROQUE, A. L. R., & JANSEN, A. M. **Ecological scenario and *Trypanosoma cruzi* DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo state, Brazil).** Parasites & Vectors, v. 9, p. 1-14, 2016.
- DA SILVA, P. **Notas de parasitologia. O barbeiro (*Conorhinus megistus* Burm.) na Bahia.** Arquivos Brasileiros de Medicina, v. 1, n. 3, p. 627-632, 1911.
- DE CARVALHO, A. P. A. & JÚNIOR, M. M. T. **Clima, meio ambiente urbano e a dengue**

- em Salvador.** Revista da Arquitetura: cidade e habitação, v. 1, n. 2, 2021.
- DE CASAS, S. I. C. et al. **Bioclimatic factors and zones of life (Atlas of Chagas disease vector in the Americas).** Rio de Janeiro: Fiocruz, v. 3, p. 396, 1999.
- DIAS, E., LARANJA, F. S. & DO CRUZ, N. G. **Doença de Chagas.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 1945.
- DIAS, J. C. P. **Control of chagas disease in Brazil.** Parasitology Today, v. 3, n. 11, p. 336-341, 1987.
- DIAS, J. **The indeterminate form of human chronic Chagas' disease: a clinical epidemiological review.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, p. 147-156, 1989.
- DIAS, J. & SCHOFIELD, C. **The evolution of Chagas disease (*American trypanosomiasis*) control after 90 years since Carlos Chagas discovery.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 94, n. 1, p. 103-121, 1999.
- DIAS, J. C. P. **Doença de Chagas, ambiente, participação e Estado.** Cadernos de Saúde Pública, v. 17, p. 165-169, 2001.
- DIAS, J., NETO, V. & DE LUNA, E. **Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 44, n. 3, p. 375-379, 2011.
- DIAS, J. C. P., RAMOS JR, A. N., GONTIJO, E. D., LUQUETTI, A., SHIKANAI-YASUDA, M. A., COURA, J. R. & ALVES, R. V. **Brazilian consensus on Chagas disease, 2015.** Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 25, p. 7-86, 2016.
- DIAS-LIMA, A. G. & SHERLOCK, Í. A. **Sylvatic vectors invading houses and the risk of emergence of cases of Chagas disease in Salvador, State of Bahia, Northeast Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, p. 611-613, 2000.
- DIOTAIUTI, L. et al. **Inter-relation of sylvatic and domestic transmission of *Trypanosoma cruzi* in areas with and without domestic vectorial transmission in Minas Gerais, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 90, n. 4, p. 443-448, 1995.
- DOMINGUES, C. S., HARDOIM, D. J., SOUZA, C. S., CARDOSO, F. O., MENDES, V. G., PREVITALLI-SILVA, H. & CALABRESE, K. S. **Oral outbreak of chagas disease in santa catarina, Brazil: Experimental evaluation of a patient's strain.** PLoS One, v.

- 10, n. 10, p. e0122566, 2015.
- FALCÃO, E. C. **Pirajá da Silva: o incontestável descobridor do *Schistosoma Mansoni* / Piraja da Silva: the undisputed finder of *Schistosoma Mansoni***. Brasília: Ministério da Saúde, v. 1, p. 314, 2008.
- FERREIRA, G. B., SILVA, M. S. L. D., MOREIRA, M. M., FERREIRA, G. B., FREITAS, M. J. D. & SILVA, T. E. S. **Avaliação de indicadores sociais em agroecossistemas com barragens subterrâneas no semiárido Baiano, Brasil**. In: V Congresso Latinoamericano de Agroecologia – SOCLA, 2015.
- GALVÃO, C. **A sistemática dos triatomíneos (Hemiptera, Reduviidae), de De Geer ao DNA**. Entomologia y Vectores, v. 10, n. 4, p. 511-30, 2003.
- GALVÃO, C., CARCAVALLO, R., ROCHA, D. 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, n. 1, p. 1–36, 2003.
- GIL, J., PAVÍA, P., MONTILLA, M., FLOREZ, A. C., QUINTERO, C., MERCADO, M. & PUERTA, C. **Comparison of a PCR test based on the histone H2A/SIRE genes with classical serological tests for the diagnosis of chronic Chagas disease in Colombian patients**. Biomedica, v. 27, p. 83-91, 2007.
- GÓMEZ LAITON, E. D., POLO ARDILA, L. A., CASTELLANOS DOMÍNGUEZ, Y. Z., HERRERA GALINDO, V. M. & VILLAR CENTENO, J. C. **Capacidad discriminatoria y concordancia entre el ELISA-F29 y la PCR en individuos con infección por *T. cruzi***. MedUNAB, v. 18, n. 1, p. 27-33, 2015.
- GONÇALVES, A. E. **Contribuição para o estudo do mal de Chagas na Bahia**. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1912.
- GORLA, D. E. **Variables ambientales registradas por sensores remotos como indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae)**. Ecología Austral, v. 12, n. 2, p. 117-127, 2002.
- GURGEL-GONCALVES, R. **Guia de Triatomíneos da Bahia**. 2012.
- GURGEL-GONÇALVES, R. et al. **Geographic Distribution of Chagas Disease Vectors in Brazil Based on Ecological Niche Modeling**. Journal of Tropical Medicine. 2012.

- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Serrolândia**. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/serrolandia/panorama>. Acesso em: 14 de novembro de 2023.
- KROPF, S. P., HOCHMAN, G., BYNUM, W. F. & BYNUM, H. **Dictionary of medical biography**. Greenwood Press, Westport, Connecticut/London, v. 2, p. 320-325, 2007.
- KROPF, S. P. **Doença de Chagas, doença do Brasil: ciência, saúde e nação, 1909-1962**. Editora Fiocruz, 2009.
- LANZA, F. C. **Indicadores Entomológicos e Epidemiológicos da Doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador**. Tese de Doutorado. Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, 2019.
- LENT, H. **Evolução dos conhecimentos sobre vetores da doença de Chagas 90 anos após sua descoberta**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 94, n. 1, p. 89-92, 1999.
- LEWICKA, K., BRENIERE-CAMPANA, S., BARNABE, C., DEDET, J. & TIBAYRENC, M. **An isoenzyme survey of *Trypanosoma cruzi* genetic variability in sylvatic cycles from French Guiana**. Experimental Parasitology, v. 81, n. 1, p. 20-28, 1995.
- MACEDO, A. M. & PENA, S. D. J. **Genetic Variability of *Trypanosoma cruzi*: Implications for the Pathogenesis of Chagas Disease**. Parasitology Today, v. 14, n. 3, p. 119-124, 1998.
- MACEDO, A. M., PIMENTA, J. R., DE AGUIAR, R. S., MELO, A. I. R., CHIARI, E., ZINGALES, B. & OLIVEIRA, R. P. **Usefulness of microsatellite typing in population genetic studies of *Trypanosoma cruzi***. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 96, n. 3, p. 407-413, 2001.
- MANGABEIRA FILHO, O. **Doença de Chagas em Salvador**. Feira de Santana: Congresso Regional da Associação Bahiana de Medicina, 1952.
- MARTINS-MELO, F. R., RAMOS JR, A. N., ALENCAR, C. H. & HEUKELBACH, J. **Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis**. Acta tropica, v. 130, p. 167-174, 2014.
- MATSUDA, N. M., MILLER, S. M. & EVORA, P. R. B. **The chronic gastrointestinal manifestations of Chagas disease**. Clinics, v. 64, n. 12, p. 1219-1224, 2009.
- MILES, M. A., LLEWELLYN, M. S., LEWIS, M. D., YEO, M., BALEELA, R., FITZPATRICK,

- S. & MAURICIO, I. L. **The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on Leishmania: looking back and to the future.** Parasitology, v. 136, n. 12, p. 1509-1528, 2009.
- MÜLLER, C. D. et al. **Diagnóstico Sorológico em Doença de Chagas com Ênfase na Reação em Cadeia da Polimerase.** NewsLab, v. 121, p. 5, 2014.
- NÓBREGA, A. A., GARCIA, M. H., TATTO, E., OBARA, M. T., COSTA, E., SOBEL, J. & ARAUJO, W. N. **Oral transmission of Chagas disease by consumption of açai palm fruit, Brazil.** Emerging infectious diseases, v. 15, n. 4, p. 653, 2009.
- NOIREAU, F., DIOSQUE, P. & JANSEN, A. ***Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts.** Veterinary Research, p. 26, 2009.
- NORMAN, F. F. & LÓPEZ-VÉLEZ, R. **Chagas disease and breast-feeding.** Emerging Infectious Diseases, v. 19, n. 10, p. 1561-1566, 2013.
- NOYA, E. G., VEGA, C., DOYE, J. P. & LOUIS, A. A. **The stability of a crystal with diamond structure for patchy particles with tetrahedral symmetry.** The Journal of chemical physics, v. 132, n. 23, 2010.
- NOYA, B. A. D., DÍAZ-BELLO, Z., COLMENARES, C., RUIZ-GUEVARA, R., MAURIELLO, L., MUÑOZ-CALDERÓN, A. & NOYA, O. **Update on oral Chagas disease outbreaks in Venezuela: epidemiological, clinical and diagnostic approaches.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 110, p. 377-386, 2015.
- OLIVEIRA, J. D. & ALEVI, K. C. **Taxonomic status of *Panstrongylus herreri* Wygodzinsky, 1948 and the number of Chagas disease vectors.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 50, n. 3, p. 434–435, 2017.
- OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Mudanças climáticas e ambientais e seus efeitos na saúde: cenários e incertezas para o Brasil.** Série Saúde Ambiental 1, 2008.
- PANESSO-GÓMEZ, S., PAVIA, P., RODRÍGUEZ-MANTILLA, I. E., LASSO, P., OROZCO, L. A., CUELLAR, A. & GONZÁLEZ, J. M. ***Trypanosoma cruzi* detection in colombian patients with a diagnosis of esophageal Achalasia.** The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 98, n. 3, p. 717, 2018.
- PAVIA, P., CUERVO, C., MONTILLA, M., NICHOLLS, S. & PUERTA, C. **Diseño y estandarización de una prueba de PCR para la detección específica de**

- Trypanosoma cruzi***. Infectio, v. 7, n. 3, 2003.
- PAVIA, P. X., ROA, N. L., URIBE, A. M. & PUERTA, C. J. **Seguimiento de paciente con enfermedad de Chagas y trasplante de corazón mediante las PCR S35-S36 y TcH2AF-R**. Biomédica, v. 31, n. 2, p. 178-184, 2011.
- PAVIA, P. X., THOMAS, M. C., LÓPEZ, M. C. & PUERTA, C. J. **Molecular characterization of the short interspersed repetitive element SIRE in the six discrete typing units (DTUs) of *Trypanosoma cruzi***. Experimental parasitology, v. 132, n. 2, p. 144-150, 2012.
- PONDÉ, R., MANGABEIRA FILHO, O. & JANSEN, G. **Alguns dados sobre a leishmaniose visceral americana e doença de Chagas no Nordeste Brasileiro (Relatório de uma excursão realizada nos Estados do Ceará, Pernambuco e Baía)**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, p. 333-352, 1942.
- PONDÉ, A. A. **A doença de Chagas na Bahia**. Arquivos da Universidade de Medicina da Bahia, v. 1, p. 333-456, 1946.
- RASSI, A. & MARIN, J. A. **Chronic Chagas cardiomyopathy: a review of the main pathogenic mechanisms and the efficacy of aetiological treatment following the BENznidazole Evaluation for Interrupting Trypanosomiasis (BENEFIT) trial**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 112, p. 224-235, 2017.
- REITER, P. **Climate change and mosquito-borne disease**. Environmental Health Perspectives, v. 109, p. 141-161, 2001.
- REYNA, I. A. G. **Identificación de las unidades discretas de tipificación DTU's de *Trypanosoma cruzi* en la zona centro de México y el estado de Morelos**. Dissertação de Mestrado. Cuernavaca, Morelos, México, 2021.
- RIBEIRO JR, G., GURGEL-GONCALVES, R., REIS, R. B., SANTOS, C. G. S. D., AMORIM, A., ANDRADE, S. G. & REIS, M. G. **Frequent house invasion of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in a suburban area of Brazil**. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 9, n. 4, p. e0003678, 2015.
- RODRIGUEZ, I. G. & LOAIZA, J. R. **American trypanosomiasis, or Chagas disease, in Panama: a chronological synopsis of ecological and epidemiological research**. Parasites & Vectors, 2017.
- ROGERS, D. J. & RANDOLPH, S. E. **The global spread of malaria in a future, warmer**

- world.** Science, v. 289, n. 5485, p. 1763-1766, 2000.
- ROMANO, P. S., CUETO, J. A., CASASSA, A. F., VANRELL, M. C., GOTTLIEB, R. A. & COLOMBO, M. I. **Molecular and cellular mechanisms involved in the *Trypanosoma cruzi*/host cell interplay.** IUBMB life, v. 64, n. 5, p. 387-396, 2012.
- ROSSI, M. A., RAMOS, S. G. & BESTETTI, R. B. **Chaga's heart disease: clinical pathological correlation.** Frontiers in Bioscience, v. 8, p. 94-109, 2003.
- SANTOS, N. S. **Estudo diagnóstico socioambiental da cidade de Santa Inês – Bahia.** Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, Universidade de Santa Cruz, Ilhéus, v. 86, 2008.
- SANTOS, F., MAGALHAES-JUNIOR, J. T., DE OLIVEIRA CARNEIRO, I., SANTOS, F. L. N., SILVA, Â. A. O., NOVAIS, J. M. C. B. & FRANKE, C. R. **Eco-epidemiology of vectorial *Trypanosoma cruzi* transmission in a region of northeast Brazil.** Acta Tropica, v. 225, p. 106184, 2022.
- SCHIJMAN, A. G. **Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi*.** Acta Tropica, v. 184, p. 59-66, 2018.
- SCHIJMAN, A. G., ALONSO PADILLA, J., LONGHI, S. A. & PICADO, A. **Parasitological, serological and molecular diagnosis of acute and chronic Chagas disease: from field to laboratory.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. Fundação Oswaldo Cruz, 2021.
- SCHOFIELD, C. J. **Triatominae: biología y control.** West Sussex: Eurocommunica, 1994.
- SCHOFIELD, C. J. & GALVÃO, C. **Classification, evolution, and species groups within the Triatominae.** Acta Tropica, v. 110, n. 2-3, p. 88-100, 2009.
- SESAB. SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA & SUVISA. SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA E PROTEÇÃO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico da Doença de Chagas.** 2018. Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/agravo/doenca-de-chagas/2018-boletim-epidemiologico-doencas-de-chagas-n-01/>. Acesso em: 20 de outubro de 2023.
- SESAB. SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA & SUVISA. SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA E PROTEÇÃO DA SAÚDE. **Boletim epidemiológico da doença de Chagas.** 2023. Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/agravo/doenca-de-chagas/>. Acesso em: 20 de outubro de 2023.

- SHERLOCK, Í. & SERAFIM, E. M. **Fauna triatomenae do estado da Bahia, Brasil: VI-prevalência geográfica da infecção dos tratomíneos por *T. cruzi***. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 8, p. 129-142, 1974.
- SHIKANAI-YASUDA, M. A. **Emerging and reemerging forms of *Trypanosoma cruzi* transmission**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. Fundação Oswaldo Cruz, 2021.
- SILVA, G. R. **Doença de Chagas em Famílias de Duas Áreas Restritas da Cidade do Salvador, Bahia**. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1966.
- SOUTO, R. P., FERNANDES, O., MACEDO, A. M., CAMPBELL, D. A. & ZINGALES, B. **DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi***. Molecular and biochemical parasitology, v. 83, n. 2, p. 141-152, 1996.
- SOUZA-LIMA, R. D. C. D., BARBOSA, M. D. G. V., COURA, J. R., ARCANJO, A. R. L., NASCIMENTO, A. D. S., FERREIRA, J. M. B. B. & GUERRA, J. A. D. O. **Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 46, p. 510-514, 2013.
- STURM, N. R., DEGRAVE, W., MOREL, C. & SIMPSON, L. **Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease**. Molecular and biochemical parasitology, v. 33, n. 3, p. 205-214, 1989.
- SVS/MS. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE - MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico de Doença de Chagas no Estado da Bahia: Territorialização e vulnerabilidade para doença de Chagas crônica**. [s.n.]. 2022. ISSN 9352-7864.
- TORRICO, F., GASCÓN, J., BARREIRA, F., BLUM, B., ALMEIDA, I. C., ALONSO-VEGA, C. & ASADA, M. **New regimens of benznidazole monotherapy and in combination with fosravuconazole for treatment of Chagas disease (BENDITA): A phase 2, double-blind, randomised trial**. The Lancet Infectious Diseases, v. 21, n. 8, p. 1129-1140, 2021.
- URBINA, A., MORALES, J. A., VARGAS, D., MÉNDEZ, M., ARGÜELLO, M., ACEVEDO, S., CORRALES, L. R. & ALFARO, A. **Diagnóstico post mortem de tripanosomiasis canina usando la Reacción en Cadena de la Polimerasa**. Ciencias Veterinarias, v. 39,

n. 2, p. 1-11, 2021.

VASCONCELOS, C. H., DE MORAES NOVO, E. M. L. & DONALISIO, M. R. **Uso do sensoriamento remoto para estudar a influência de alterações ambientais na distribuição da malária na Amazônia brasileira.** Cadernos de Saúde Pública, v. 22, n. 3, p. 517-526, 2006.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Working to overcome the global impact of neglected tropical disease: first WHO report on neglected tropical disease.** 2010. Disponível em: <http://gamapserver.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>. Acesso em: 20 de junho de 2023.

YEO, M., A., COSTA, N., LLEWELLYN, M., SÁNCHEZ, H., ADAMSON, S., MILES, G. A. & MILES, M. A. **Origins of Chagas disease: Didelphis species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids.** International Journal for Parasitology, v. 35, n. 2, p. 225-233, 2005.

ZINGALES, B. ***Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity.** Acta Tropica, v. 184, p. 38-52, 2018.

ZINGALES, B., SOUTO, R. P., MANGIA, R. H., LISBOA, C. V. & CAMPBELL, D. A. **Molecular epidemiology of American trypanosomiasis in Brazil based on dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences.** International Journal for Parasitology, v. 28, n. 1, p. 105-112, 1997.

ZINGALES, B., ANDRADE, S. G., BRIONES, M. R., CAMPBELL, D. A., CHIARI, E., FERNANDES, O., GUHL, F., LAGES-SILVA, E., MACEDO, A. M., MACHADO, C. R., MILES, M. A., ROMANHA, A. J., STURM, N. R., TIBAYRENC, M., SCHIJMAN, A. G. & SECOND SATELLITE, M. **A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 104, n. 7, p. 1051-1054, 2009.

APÊNDICES

Tabela 5. Amostras testadas para *T. cruzi* oriundas de Salvador. Amostras destacadas em verde são positivas para infecção por *T. cruzi*.

Voucher/Identificador	Nº da amostra	Lote	Tipo de amostra	Amostra amplificada
SSA_01	1896	1	Triatomíneo	-
SSA_02	1897	1	Triatomíneo	X
SSA_03	1898	1	Triatomíneo	-
SSA_04	1899	1	Triatomíneo	X
SSA_05	1900	1	Triatomíneo	X
SSA_06	1901	1	Triatomíneo	-
SSA_07	1902	1	Triatomíneo	X
SSA_08	1903	1	Triatomíneo	-
SSA_09	1904	1	Triatomíneo	X
SSA_10	1905	1	Triatomíneo	X
SSA_11	1906	1	Triatomíneo	-
SSA_12	1907	2	Triatomíneo	-
SSA_13	1908	2	Triatomíneo	X
SSA_14	1909	2	Triatomíneo	X
SSA_15	1910	2	Triatomíneo	X
SSA_16	1911	2	Triatomíneo	-
SSA_17	1912	2	Triatomíneo	X
SSA_18	1913	2	Triatomíneo	X
SSA_19	1914	2	Triatomíneo	-
SSA_20	1915	2	Triatomíneo	-
SSA_21	1916	2	Triatomíneo	-
SSA_22	1917	2	Triatomíneo	-
SSA_23	1918	3	Triatomíneo	-
SSA_24	1919	3	Triatomíneo	-
SSA_25	1920	3	Triatomíneo	-
SSA_26	1921	3	Triatomíneo	-
SSA_27	1922	3	Triatomíneo	-
SSA_28	1923	3	Triatomíneo	-
SSA_29	1924	3	Triatomíneo	-
SSA_30	1925	3	Triatomíneo	-
SSA_31	1926	3	Triatomíneo	X
SSA_32	1927	3	Triatomíneo	-
SSA_33	1928	3	Triatomíneo	-
SSA_34	1929	4	Triatomíneo	-
SSA_35	1930	4	Triatomíneo	X
SSA_36	1931	4	Triatomíneo	X
SSA_37	1932	4	Triatomíneo	-
SSA_38	1933	4	Triatomíneo	X
SSA_39	1934	4	Triatomíneo	X
SSA_40	1935	4	Triatomíneo	X
SSA_41	1936	4	Triatomíneo	-
SSA_42	1937	4	Triatomíneo	X

SSA_43	1938	4	Triatomíneo	-
SSA_44	1939	4	Triatomíneo	-
SSA_45	1940	5	Triatomíneo	X
SSA_46	1942	5	Triatomíneo	-
SSA_47	1943	5	Triatomíneo	-
SSA_48	1944	5	Triatomíneo	-
SSA_49	1945	5	Triatomíneo	-
SSA_50	1946	5	Triatomíneo	-
SSA_51	1947	5	Triatomíneo	X
SSA_52	1948	5	Triatomíneo	-
SSA_53	1949	5	Triatomíneo	-
SSA_54	1950	5	Triatomíneo	-
SSA_55	1951	5	Triatomíneo	X
SSA_56	1952	6	Triatomíneo	-
SSA_57	1953	6	Triatomíneo	-
SSA_58	1954	6	Triatomíneo	-
SSA_59	1955	6	Triatomíneo	-
SSA_60	1956	6	Triatomíneo	X
SSA_61	1957	6	Triatomíneo	X
SSA_62	1958	6	Triatomíneo	X
SSA_63	1959	6	Triatomíneo	-
SSA_64	1960	6	Triatomíneo	-
SSA_65	1961	6	Triatomíneo	-
SSA_66	1962	6	Triatomíneo	-
SSA_67	1963	7	Triatomíneo	X
SSA_68	1964	7	Triatomíneo	-
SSA_69	1970	7	Triatomíneo	-
SSA_70	1971	7	Triatomíneo	X
SSA_71	1972	7	Triatomíneo	-

Tabela 6. Amostras testadas para *T. cruzi* oriundas de Santa Inês. Amostras destacadas em verde são positivas para infecção por *T. cruzi*.

Voucher/Identificador	Nº da amostra	Lote	Tipo de amostra	Amostra amplificada
SI_01	67	1	Triatomíneo	-
SI_02	69	1	Triatomíneo	-
SI_03	71	1	Triatomíneo	X
SI_04	78	1	Triatomíneo	X
SI_05	79	1	Triatomíneo	-
SI_06	81	1	Triatomíneo	X
SI_07	82	1	Triatomíneo	-
SI_08	83	1	Triatomíneo	X
SI_09	84	1	Triatomíneo	-
SI_10	85	2	Triatomíneo	X
SI_11	86	2	Triatomíneo	-
SI_12	M1	2	Triatomíneo	-
SI_13	M2	2	Triatomíneo	-
SI_14	M3	2	Triatomíneo	-
SI_15	B	2	Triatomíneo	-
SI_16	F	2	Triatomíneo	-
SI_17	S	2	Triatomíneo	-
SI_18	T	2	Triatomíneo	X
SI_19	T1	3	Triatomíneo	X
SI_20	T2	3	Triatomíneo	X
SI_21	T3	3	Triatomíneo	X
SI_22	T4	3	Triatomíneo	X
SI_23	T6	3	Triatomíneo	X

Tabela 7. Amostras testadas para *T. cruzi* oriundas de Serrolândia. Amostras destacadas em verde são positivas para infecção por *T. cruzi*.

Voucher/Identificador	Nº da amostra	Lote	Tipo de amostra	Amostra amplificada
SE_01	01	1	Triatomíneo	-
SE_02	02	1	Triatomíneo	X
SE_03	03	1	Triatomíneo	-
SE_04	04	1	Triatomíneo	-
SE_05	05	1	Triatomíneo	-
SE_06	06	1	Triatomíneo	-
SE_07	07	1	Triatomíneo	-
SE_08	08	1	Triatomíneo	-
SE_09	09	1	Triatomíneo	-
SE_10	10	1	Triatomíneo	-
SE_11	11	2	Triatomíneo	X
SE_12	12	2	Triatomíneo	X
SE_13	13	2	Triatomíneo	-
SE_14	14	2	Triatomíneo	-
SE_15	15	2	Triatomíneo	X
SE_16	16	2	Triatomíneo	-
SE_17	17	2	Triatomíneo	-
SE_18	18	2	Triatomíneo	-
SE_19	19	2	Triatomíneo	-