



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E VETERINÁRIA

**IDENTIFICAÇÃO DE FONTES ALIMENTARES DE TRIATOMÍNEOS
SINANTRÓPICOS CAPTURADOS NO DISTRITO FEDERAL E GOIÁS**

Larissa Rodrigues da Silva
Orientador (a): Rodrigo Gurgel Gonçalves

BRASÍLIA-DF,
NOVEMBRO/2017



LARISSA RODRIGUES DA SILVA

**IDENTIFICAÇÃO DE FONTES ALIMENTARES DE TRIATOMÍNEOS
SINANTRÓPICOS CAPTURADOS NO DISTRITO FEDERAL E GOIÁS**

Trabalho de conclusão de curso de Graduação
em Medicina Veterinária apresentado junto à
Faculdade de Agronomia e Medicina
Veterinária da Universidade de Brasília

Orientador (a): Rodrigo Gurgel Gonçalves

BRASÍLIA-DF,
NOVEMBRO/ 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

SILVA, Larissa Rodrigues

Identificação de fontes alimentares de espécies de triatomíneos sinantrópicos capturados no Distrito Federal e Goiás/ Larissa Rodrigues da Silvas; orientação de Rodrigo Gurgel Gonçalves – Brasília, 2017 34p.

Monografia (Graduação – Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília.

1. Identificação de fontes alimentares de triatomíneos capturados no Distrito Federal e Goiás.

CESSÃO DE DIREITOS

Nome do autor: Larissa Rodrigues da Silva

Título do trabalho de conclusão de curso: Identificação de fontes alimentares de triatomíneos sinantrópicos capturados no Distrito Federal e Goiás

Ano: 2017

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Larissa Rodrigues da Silva

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: SILVA, Larissa Rodrigues

Título: Identificação de fontes alimentares de triatomíneos sinantrópicos capturados no Distrito Federal e Goiás

Trabalho de conclusão de curso de Graduação em Medicina Veterinária, apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em: 20/11/2017

Banca Examinadora

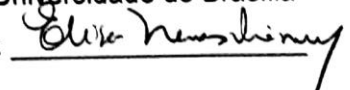
Prof. Dr. Rodrigo Gurgel Gonçalves

Julgamento: APROVADA

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: Prof^a. Dr.^a Elisa Neves ViannaJulgamento: APROVADA

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: Prof^a. Dr.^a Nadjar NitzJulgamento: APROVADA

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: 

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre me apoiaram e, por diversas vezes, abdicaram de suas vontades para que eu conseguisse realizar os meus sonhos. O futuro diploma não é só meu, é nosso!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu o dom da vida, por sempre me dar forças para continuar lutando pelos meus objetivos e por me agraciar com pais maravilhosos, a quem devo tudo o que sou e para quem ofereço esta graduação.

Mãe, obrigada por ser a minha melhor amiga, por ser a minha companheira, oferecer os ouvidos e ombros sempre que eu precisei e por me dar forças para continuar não só a vida acadêmica, mas em todos os sentidos da minha vida.

Pai, obrigada por ser o meu “canga”, por todas as manhãs que levantou cedo para me acordar e levar no metrô e também pelas vezes em que eu pensei que não estava me escutando mas que no final iluminou os meus caminhos.

Agradeço imensamente ao meu cachorro Loki, por ser meu companheiro, me dar carinho e acalmar mesmo inconscientemente. É ele quem me faz querer ser uma veterinária melhor a cada dia.

Agradeço aos meus gatos, Guido e Bóris, que me ensinaram a amar esta espécie incondicionalmente.

Agradeço ao meu namorado Jefferson por me apoiar desde o dia em que me conheceu, por me compreender quando eu decidi fazer medicina veterinária em qualquer lugar do Brasil e, por todas as vezes que me acompanhou e almoçou comigo ao som das minhas lamentações.

Aos meus amigos Bruna e Jefferson por estarem ao meu lado ao longo de muitos anos. À Bruna por ser mais que uma amiga e não haver palavras para expressar o meu agradecimento por tanto carinho.

À minha grande amiga médica veterinária Verônica Pereira por todos os puxões de orelha e palavras de apoio antes mesmo de eu começar esta graduação.

Aos meus amigos do Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores e do Laboratório Interdisciplinar de Biociências, ambos da UnB, pela oportunidade de crescer tanto na vida acadêmica como pessoal.

Ao meu amigo Msc. João Lucas, que me aceitou como estagiária e me ensinou tudo o que ele sabia sobre pesquisa e sobre o maravilhoso mundo dos morcegos. Obrigada por me presentear com a sua felicidade e bondade.

À Dra Thaís Minuzzi por ter me ensinado tudo o que sei sobre biologia molecular, ter tido muita paciência comigo e me acolhido durante mais de dois anos em sua sala para tirar dúvidas e perguntar a mesma coisa mil vezes.

À minha “chefe” e amiga médica veterinária Nathália Lira por ter me apresentado a fisioterapia e reabilitação veterinária, pelas conversas e por me mostrar que há pessoas dispostas a ver o crescimento de futuros veterinários.

Aos companheiros de profissão Marcus Damasceno, Beatrice Barbosa e Camille Lellis pelas conversas e ensinamentos durante os atendimentos. E, em especial, ao Marcus pelos “por quês” que ele tanto me perguntava e que me fizeram querer ser uma profissional melhor.

Ao médico veterinário Filipe Pacheco por compartilhar comigo todo o seu conhecimento, tanto acadêmico como profissional. E desculpa por todas as ampolas de medicamento que eu estraguei e pela porta de vidro que eu quebrei.

Por fim, mas não menos importante, agradeço ao meu incrível orientador Dr. Rodrigo Gurgel por ter me ensinado tudo o que sei sobre o mundo da medicina tropical. Obrigada pela oportunidade que me deu de vivenciar experiências incríveis nestes quase três anos em que fiz parte da equipe do laboratório.

EPÍGRAFE

Antes de ter amado um animal, parte da nossa alma permanece desacordada.

(Anatole France)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	2
3. RESULTADOS.....	5
4. DISCUSSÃO.....	10
5. CONCLUSÃO.....	13
6. REFERÊNCIAS	13

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies selecionadas, número de indivíduos de cada espécie e frequência, de amostras do DF e GO.....7

Tabela 2. Espécies selecionadas para o sequenciamento, local de coleta e a respectiva fonte alimentar.....9

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de amostras do DF e GO analisadas de acordo com as espécies de triatomíneos e local de captura.....7

Figura 2. Curvas de melt/ dissociação do DNA das espécies de animais selecionados como possíveis fontes alimentares de triatomíneos. As barras azuis indicam as temperaturas de dissociação, as curvas superiores indicam as amostras e as curvas abaixo indicam os controles. (A) Cachorro – 75,5 a 80,3; (B) Gambá – 76,2 a 80,7; (C) Humano – 79,3 a 84,3; (D) Galinha – 80,9 a 85,3; (E) Gato – 77,1 a 81,3; (F) Ovelha – 76,9 a 80,3; (G) Roedor – 76,1 a 80,2.....8

Figura 3. Identificação das fontes alimentares das espécies de triatomíneos após HRM-cyt b-qPCR, de amostras do DF e GO.....9

Figura 4. Identificação das fontes alimentares de triatomíneos de acordo com o local de captura, de amostras do DF e GO.....10

LISTA DE ABREVIações

C. familiaris – *Canis familiaris*

DF – Distrito Federal

DIVAL/SES/DF – Diretoria de Vigilância Ambiental do Distrito Federal

F. catus – *Felis catus*

G. agilis – *Gracilinanus agilis*

G. gallus – *Gallus gallus*

GO - Goiás

HRM – High Resolution Melt

H. sapiens – *Homo sapiens*

LACEN/SES/GO - Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni

O. aries – *Ovis aries*

PCDCh- Programa de Controle da Doença de Chagas

P. diasi – *Panstrongylus diasi*

P. geniculatus – *Panstrongylus geniculatus*

P. megistus – *Panstrongylus megistus*

qPCR- Quantitative polymerase chain reaction

R. macrurus – *Rhipidomys macrurus*

R. neglectus – *Rhodnius neglectus*

R. prolixus – *Rhodnius prolixus*

T. cruzi – *Trypanosoma cruzi*

T. pseudomaculata – *Triatoma pseudomaculata*

T. sordida – *Triatoma sordida*

TCZ – DNA nuclear de *Trypanosoma cruzi*

USP – Universidade de São Paulo

RESUMO

Os triatomíneos são de grande importância para a saúde pública por serem os vetores de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. O objetivo deste trabalho foi verificar as fontes alimentares de triatomíneos sinantrópicos infectados por *T. cruzi* e capturados no Distrito Federal (DF) e Goiás. Foram selecionadas amostras de triatomíneos capturados no DF e Goiás no período de 2012 a 2014. Foram incluídas amostras positivas para *T. cruzi* por meio da qPCR (TCZ-qPCR) e, no caso de triatomíneos provenientes de colônias no mesmo local de coleta, apenas um triatomíneo foi incluído no estudo. Assim, as amostras foram selecionadas para o diagnóstico da fonte alimentar por meio HRM-cyt b-qPCR para a amplificação do gene citocromo b das amostras intestinais de triatomíneos. Os controles positivos para detecção da fonte alimentar foram: *Canis familiaris* (cão), *Gallus gallus* (galinha), *Gracilinanus agilis* (marsupial), *Felis catus* (gato), *Homo sapiens* (humano), *Ovis aries* (ovelha) e *Rhipidomys macrurus* (roedor). As curvas de dissociação foram analisadas no programa High Resolution Melt Software 3.1. Dos 347 triatomíneos positivos para *T. cruzi* 121 foram selecionados para o diagnóstico da fonte alimentar. Destes, 71 foram capturados em ambiente peridomiciliar e 47 em ambiente intradomiciliar. Constatou-se que 41,3% alimentou-se de sangue de galinha/aves, 44,6% alimentou-se de sangue de humanos. A frequência de alimentação em roedores, marsupiais, lagartos e gatos foi muito baixa e nenhum triatomíneo foi detectado com sangue de ovelha e cão. *Triatoma sordida* obteve a maior variabilidade de fontes alimentares. Os triatomíneos capturados em ambiente peridomiciliar apresentaram maior taxa de alimentação por galinha/aves e os capturados em ambiente intradomiciliar por humanos. As espécies, em geral, apresentaram alta frequência de alimentação em humanos. *Triatoma sordida*, que é uma espécie conhecida por hábitos peridomiciliares e ornitófilos, também apresentou alta frequência de alimentação em humanos. Estes dados são relevantes para o desenvolvimento de estratégias de vigilância da doença de Chagas.

Palavras- Chave: Fonte alimentar. qPCR HRM. *Triatoma sordida*.

ABSTRACT

Triatomines show great importance for public health because they are the vectors of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas' disease. The objective of this research was to identify food sources of *T. cruzi*-infected synanthropic triatomines captured in domiciliary environments in Federal District (DF) and Goiás, infected by *T. cruzi*. Samples were selected from 2012 to 2014. Positive samples for *T. cruzi* by qPCR (TCZ-qPCR) were included, and when triatomine colonies were found in the the same collection site, only one triatomine was included. Thus, samples were selected for diagnosis of the food source by means of HRM-cyt b-qPCR for the amplification of the cytochrome b region of the intestinal of triatomine samples. Positive controls for food source detection were: *Canis familiaris* (dog), *Gallus gallus* (chicken), *Gracilinanus agilis* (marsupial), *Felis catus* (cat), *Homo sapiens* (human), *Ovis aries* (sheep) and *Rhipidomys macrurus* (rodent). Dissociation curves were analyzed in the High Resolution Melt Software 3.1 program. From 347 triatomine positive for *T. cruzi* 121 were selected for the food source diagnosis. Of these, 71 were captured in a peridomiciliary environment and 47 in a intradomiciliary environment. 41.3% fed on chicken / bird blood, 44.6% fed on human blood. Frequency of feeding in rodents, marsupials, lizards and cats was very low and no triatomine was detected with sheep and dog blood. *Triatoma sordida* obtained the highest variability of dietary sources. Triatomines captured in a peridomiciliary environment had a higher feeding rate per hen / birds and those captured indoors by humans. Species, in general, presented high feeding frequency in humans. *Triatoma sordida*, a species frequent found in chicken houses, also presented high feeding frequency in humans. These data are relevant for the development of surveillance strategies for Chagas' disease.

Keywords: Food sources. qPCR HRM. *Triatoma sordida*.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas apresenta ampla distribuição no continente americano (Coura e Viñas, 2010) e está associada à infecção pelo parasito *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), um protozoário hemoflagelado da família Trypanosomatidae (Lent e Wygodzinsky, 1979).

Existem diversas formas de transmissão da doença de Chagas, no entanto, é a transmissão vetorial que apresenta a maior importância epidemiológica e corresponde a 85 a 96% dos casos de doença de Chagas humana na América Latina (WHO, 2010). A transmissão vetorial é associada aos triatomíneos hematófagos da família Reduviidae e subfamília Triatominae (Lent e Wygodzinsky, 1979). Existem 152 espécies de triatomíneos descritas no mundo sendo que 68 ocorrem no Brasil (Gurgel-Gonçalves et al., 2012a; Galvão e Paula, 2014; da Rosa et al., 2017; Justi e Galvão, 2017).

Entretanto, a maioria dessas espécies mantêm hábitos estritamente silvestres (Carcavallo et al., 1998), enquanto outras são consideradas sinantrópicas, pela sua tendência a viver em ambientes artificiais, principalmente *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida* (Silveira et al., 1984; Vinhaes e Dias, 2000; Silveira e Dias, 2011). Na região Centro-Oeste do Brasil, 27 espécies de triatomíneos são conhecidas, representando 41% da fauna triatomínica brasileira. *Triatoma sordida* e *Rhodnius neglectus* são as espécies com maior distribuição geográfica, ocorrendo principalmente em áreas de cerrado no estado de Goiás (Pereira et al., 2013; Rossi et al., 2015).

No Distrito Federal, até o presente momento, as seguintes espécies de triatomíneos foram identificadas: *P. megistus*, *T. pseudomaculata*, *R. neglectus*, *Psammolestes tertius*, *T. sordida*, *P. geniculatus* e *P. diasi* (Gurgel-Gonçalves et al., 2004; Maeda et al., 2012).

Originalmente, a doença de Chagas era considerada uma enzootia transmitida pelos triatomíneos e associada a mamíferos silvestres que ocupavam os mesmos ecótopos desses vertebrados. No entanto, a partir da domiciliação desses vetores, a parasitose se transformou em uma zoonose, passando a incluir

no seu ciclo animais peridomésticos, domésticos e o homem (Nascimento et al., 1997).

A informação proveniente das fontes alimentares dos triatomíneos contribui para ampliar o conhecimento dos hospedeiros naturais e seu papel na transmissão do *T. cruzi* ao homem (Forattini et al., 1982). O estudo das associações entre triatomíneos e suas fontes alimentares permite entender aspectos da história natural desses insetos e ainda identificar as espécies de maior interesse médico (Georgieva et al., 2017).

A identificação das fontes alimentares dos triatomíneos pode ser realizada por observação da morfologia das hemácias contidas no aparelho digestivo dos triatomíneos (Villela et al., 2010), testes de precipitina baseados na reação antígeno-anticorpo (Siqueira 1960; Villela et al., 2010), reação de ensaio imunoenzimático (ELISA) (Silva, 2012) e técnicas baseadas na detecção do DNA das fontes alimentares (Pizarro e Stevens, 2008; Peña et al., 2012; Stevens et al., 2012; Ibáñez-Cervantes et al., 2013; Buitrago et al., 2014; Lucero, et al., 2014; Georgieva et al., 2017).

A técnica para a detecção de fontes alimentares de triatomíneos baseada em análises pós *qPCR* chamada *High Resolution Melting* (Peña et al., 2012) detecta variações nas curvas de dissociações em *qPCR*, que posteriormente são analisadas no *software High Resolution Melt Software 3.1 (Applied Biosystems, CA, USA)*. Ou seja, o método possui duas etapas, primeiro a *qPCR* onde a curva de dissociação será formada e, a segunda etapa que consiste na análise desta curva em *softwares* específicos para o *HRM*. Com essa análise é possível identificar pequenas variações nas sequências de DNA baseadas em diferenças nas curvas de dissociação.

O presente trabalho teve como objetivo verificar as fontes alimentares de triatomíneos sinantrópicos infectados por *T. cruzi* capturados no Distrito Federal e Goiás no período de 2012 a 2014.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os triatomíneos foram obtidos por colaboradores do Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros – LACEN/SES/GO e Diretoria de Vigilância Ambiental do Distrito Federal – DIVAL/SES/DF e capturados no período de

Agosto de 2012 a Dezembro de 2014, em ambientes artificiais (intradomicílio e peridomicílio) pelos agentes de controle de endemias, dentro da programação anual de visitas do PCDCCh, ou entregues pelos próprios moradores em postos de saúde, secretarias de saúde ou laboratórios de entomologia.

Os laboratórios LACEN/SES/GO e DIVAL/SES/DF realizaram exame parasitológico de fezes frescas e/ou coradas. Os espécimes de triatomíneos do DF foram reavaliados quanto ao exame parasitológico de fezes, em lâmina fresca e corada no Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores. Porém, não foi possível realizar o mesmo procedimento com os espécimes de GO, devido ao fato de terem sido enviados secos e após passado muito tempo da coleta (Minuzzi-Souza et al. 2016).

Após o diagnóstico por meio do exame parasitológico de fezes os triatomíneos foram encaminhados para extração do intestino em capelas de fluxo laminar. Os indivíduos foram posicionados em lâminas de vidro estéreis onde o intestino pôde ser removido com o uso de pinças de relojoeiro, que foi esterilizado entre cada amostra. O intestino foi macerado e adicionado 1mL de solução tampão de fosfatase alcalina - PBS 1X pH 7,4 (3,2 mM Na₂PO₄, 0,5mM KH₂PO₄, 1,3mM KCl e 1,35 mM NaCl) estéril sendo que cada amostra foi armazenada em microtubos de 1,5mL (descrito em Minuzzi-Souza et al. 2016).

O DNA total do triatomíneo foi extraído de amostras do tubo digestivo com amostras fecais ou parte abdominal macerada por meio do Kit de Extração *Illustra Tissue and Cells Genomic – GE, QIAamp DNA Mini Kit - Qiagen e Biopur Kit Extração Mini Spin Plus*, conforme as instruções do fabricante. Todas as amostras foram quantificadas no *NanoVue™ Plus Spectrophotometer – GE* usando o comprimento de onda de 220 a 330nm e os dados foram expressos em ng/μL. No total foram coletados 2715 triatomíneos, sendo 1821 capturados no Goiás e 894 triatomíneos no Distrito Federal, no período de 2012 a 2014. Destes, 841 triatomíneos foram analisados na *TCZ-qPCR*, que amplifica sequência repetitiva do DNA nuclear em *T. cruzi*, e 347 triatomíneos apresentaram este DNA (Minuzzi-Souza et al. 2016).

Após o diagnóstico na *TCZ-qPCR*, as amostras seguiram para o estudo de fonte alimentar. No entanto, foram aplicados dois critérios de seleção, são eles:
1) Somente triatomíneos positivos na *TCZ-qPCR* foram incluídos no diagnóstico

da fonte alimentar; 2) Se houvesse colônia de triatomíneo no mesmo local de coleta, apenas um triatomíneo dessa colônia seria incluído no estudo da fonte alimentar.

Para o diagnóstico da fonte alimentar, foram extraídos DNA do sangue de: *Bos taurus* (vaca), *Canis familiaris* (cachorro), *Equus caballus* (cavalo), *Gallus gallus* (galinha), *Gracilinanus agilis* (marsupial), *Felis catus* (gato), *Homo sapiens* (humano), *Ovis aries* (ovelha) e *Rhipidomys macrurus* (roedor), *Sus* (porco doméstico) e, de um primata não-humano utilizando o *Biopur Kit Extração Mini Spin Plus*, conforme instruções do fabricante. As amostras foram e quantificadas em *NanoVue™ Plus Spectrophotometer – GE*, conforme informado acima.

No diagnóstico da fonte alimentar dos triatomíneos, foi realizada uma *qPCR High Resolution Melting (HRM) (HRM-cyt b-qPCR)* utilizando os *primers* *cyt b-F* (5'-CCC CCT AGA ATG ATA TTT GTC CTC A-3') e *cyt b-R* (5'-CCA TCC AAC ATC TCA GCA TGA TGA AA-3') (Boakye, Truc e Unnasch, 1999) que amplifica parte do gene citocromo b (*cyt b*) e gera um produto com 383 pares de base.

A reação de amplificação foi realizada em um volume final de 20µl, 1X de *MeltDoctor™ HRM Master Mix (Applied Biosystems™)*, 0,5µM de cada *primer*, 20ng de DNA. As reações *HRM-cyt b-qPCR* foram realizadas em placas de 96 poços (*Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmpR*), no termociclador *QuantStudio 3 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, CA, USA)*, com as seguintes condições: 95°C por 10 minutos e 40 ciclos a 95°C por 15 segundos, 55°C por 45 segundos e 72°C por 10 segundos. A análise da curva de dissociação foi realizada a 95°C por 10 segundos, 60°C por 1 minuto, 95°C por 1 minuto e 60°C por 15 segundos em sendo que a análise se deu a 95°C para 60°C com uma rampa de aumento de 0,1°C/s. DNA extraído de perna de *P. megistus* foi utilizado como controle negativo e seis amostras de controles positivos foram incluídas para a análise do HRM (DNA de cachorro, galinha, marsupial, gato, humano, ovelha e roedor). Além do mais, foi incluído um controle de DNA de intestino de triatomíneo alimentado de sangue de galinha como controle positivo da reação.

Os resultados foram analisados no programa *High Resolution Melt Software 3.1 (Applied Biosystems, CA, USA)* com os seguintes padrões de

curvas de controles de fonte alimentar: *C. familiaris* (cachorro) – 75,5 a 80,3; *G. agilis* (marsupial), – 76,2 a 80,7; *H. sapiens* (humano) – 79,3 a 84,3; *G. gallus* (galinha) – 80,9 a 85,3; *F. catus* (gato) – 77,1 a 81,3; *O. aries* (ovelha) – 76,9 a 80,3 e *R. macrurus* (roedor) – 76,1 a 80,2.

Algumas amostras foram selecionadas para o envio e confirmação da análise para o sequenciamento. Os produtos da amplificação da *PCR* foram purificados por meio do protocolo do *Kit GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit GE Healthcare*, corridas em gel de agarose 2% (Figura 5) para a visualização de bandas únicas e posteriormente foram enviados para Centro de Pesquisa sobre o Genoma Humano e Células-Tronco da Universidade de São Paulo (USP). As sequências obtidas foram editadas usando o *software Genious* e comparadas com o banco de dados depositado no *GenBank*, usando o algoritmo *BLASTn/NCBI* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>).

2. RESULTADOS

Das 347 amostras positivas para *T. cruzi*, 121 foram selecionadas para a detecção da fonte alimentar na *HRM-cyt b-qPCR*. Destes, 35 triatomíneos foram capturados no DF e 86 no estado do Goiás. Também, 47 triatomíneos foram coletados em ambiente intradomiciliar e 71 em ambiente peridomiciliar (Figura 1).

No total, 5 espécies de triatomíneos foram selecionadas para o diagnóstico da fonte alimentar: *T. sordida*, *P. megistus*, *R. neglectus*, *T. pseudomaculata* e *P. geniculatus* (Tabela 1).

Com relação aos controles positivos, não foi possível padronizar a curva de dissociação de quatro possíveis fontes alimentares de triatomíneos, sendo as espécies: cavalo, primata não-humano, porco doméstico e vaca. Portanto, as mesmas foram excluídas do trabalho, permanecendo apenas sete fontes alimentares (Figura 2).

As fontes alimentares mais frequentes foram galinha e humano em *P. megistus*, *R. neglectus* e *T. sordida* (Figura 3). Com relação aos resultados obtidos da *HRM-cyt b-qPCR*, 28 triatomíneos que se alimentaram de humanos foram capturados em ambiente intradomiciliar, enquanto que 24 foram capturados em ambiente peridomiciliar (Figura 4). 33 triatomíneos capturados em

ambiente peridomiciliar se alimentaram de galinhas e apenas 14 foram capturados em ambiente intradomiciliar (Figura 4).

A espécie de triatomíneo que apresentou a maior variedade de fontes alimentares e a maior taxa de alimentação de humanos, galinhas e roedores foi *T. sordida*; *T. sordida* foi a única espécie que se alimentou de gatos (Figura 3). A frequência de alimentação em roedores, marsupiais, lagartos e gatos foi muito baixa e nenhum triatomíneo foi detectado com sangue de ovelha e cão. Não foi possível obter a fonte alimentar de 6 amostras de triatomíneos (Figura 3).

Após a análise no programa *High Resolution Melt Software 3.1* (*Applied Biosystems*, CA, USA), não foi possível obter a fonte alimentar de 10 amostras. Destas amostras, 5 foram enviadas para o sequenciamento e o restante não foi devido ao fato de não ter sido possível amplificar no *HRM-cyt b-qPCR*, porém foram mantidas no estudo para a análise dos resultados.

Foram enviadas 14 amostras para o sequenciamento. 4 amostras sem resultado de fonte alimentar e 10 para confirmação da eficácia do método *HRM-cyt b-qPCR*. Uma amostra continuou sem o resultado de fonte alimentar porque o sequenciamento apresentou muitos artefatos que, após a edição no software *Genious*, gerou uma sequência que não permitiu identificação ao comparar com sequências depositadas no *GenBank*.

Das 9 amostras selecionadas para a eficácia do método, 3 divergiram o resultado do sequenciamento com o obtido após a análise no programa *High Resolution Melt Software 3.1* (*Applied Biosystems*, CA, USA). Uma amostra identificada com DNA de gato no *High Resolution Melt Software 3.1*, foi identificada com DNA de roedor no sequenciamento; outras amostras que haviam sido identificadas com DNA de marsupial e roedoroutra, foram identificadas com DNA de lagarto no sequenciamento.

Após a análise do sequenciamento foi possível identificar mais uma fonte alimentar, *Tropidurus catalanensis* (lagarto), que não estava presente como controle positivo no HRM qPCR.

Das 14 amostras selecionadas para o envio para o sequenciamento (Figura 5), 8 eram do DF e 6 de GO. 6 amostras foram positivas para humanos, 3 amostras foram positivas para roedores, 3 para lagartos, 1 para aves/galinhas e não foi possível diferenciar 1 amostra (Tabela 2).

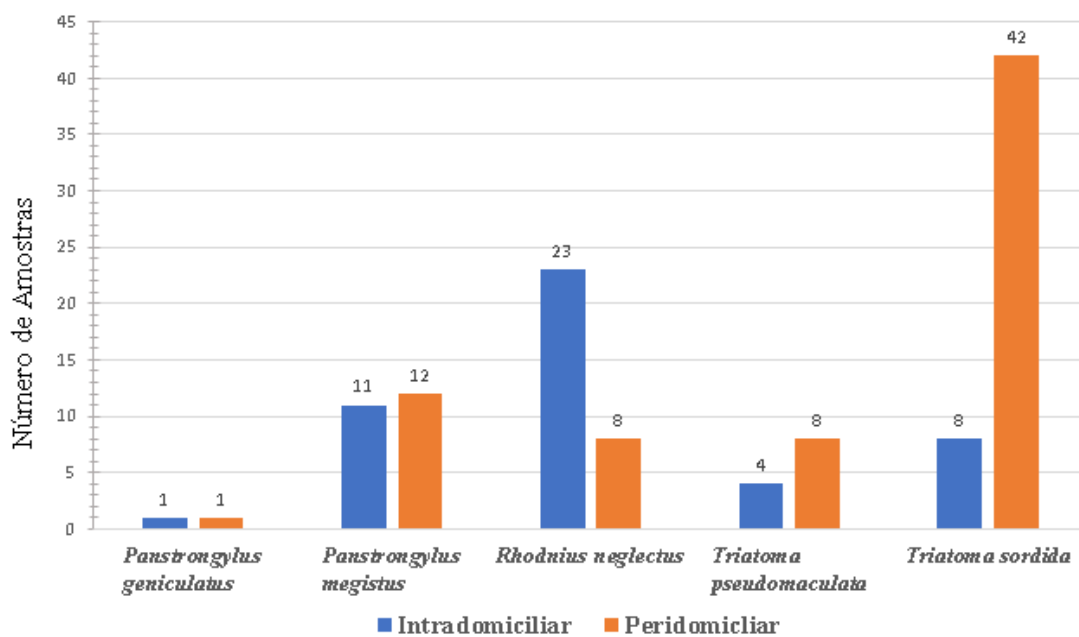


Figura 1. Número de amostras do DF e GO analisadas de acordo com as espécies de triatomíneos e local de captura.

Tabela 1. Espécies selecionadas, número de indivíduos de cada espécie e frequência, de amostras do DF e GO.

Espécie	Número de indivíduos	Frequência (%)
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	3	2,5
<i>Panstrongylus megistus</i>	26	21,5
<i>Rhodnius neglectus</i>	30	24,7
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	12	10
<i>Triatoma sordida</i>	50	41,3
Total	121	100

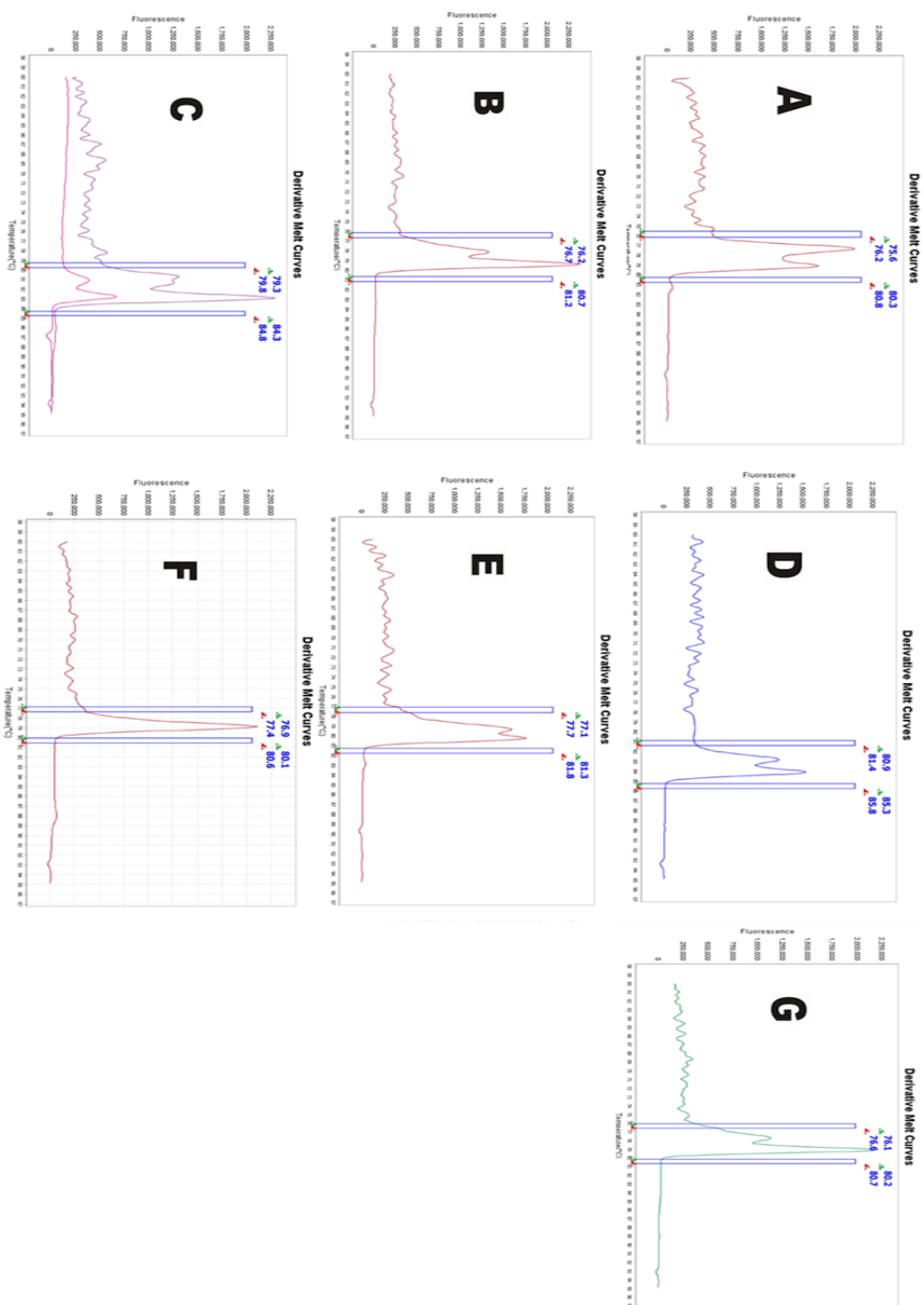


Figura 2. Curvas de melt/ dissociação do DNA das espécies de animais selecionados como possíveis fontes alimentares de triatomíneos. As barras azuis indicam as temperaturas de dissociação, as curvas superiores indicam as amostras e as curvas abaixo indicam os controles. (A) Cachorro – 75,5 a 80,3; (B) Gambá – 76,2 a 80,7; (C) Humano – 79,3 a 84,3; (D) Galinha – 80,9 a 85,3; (E) Gato – 77,1 a 81,3; (F) Ovelha – 76,9 a 80,3; (G) Roedor – 76,1 a 80,2.

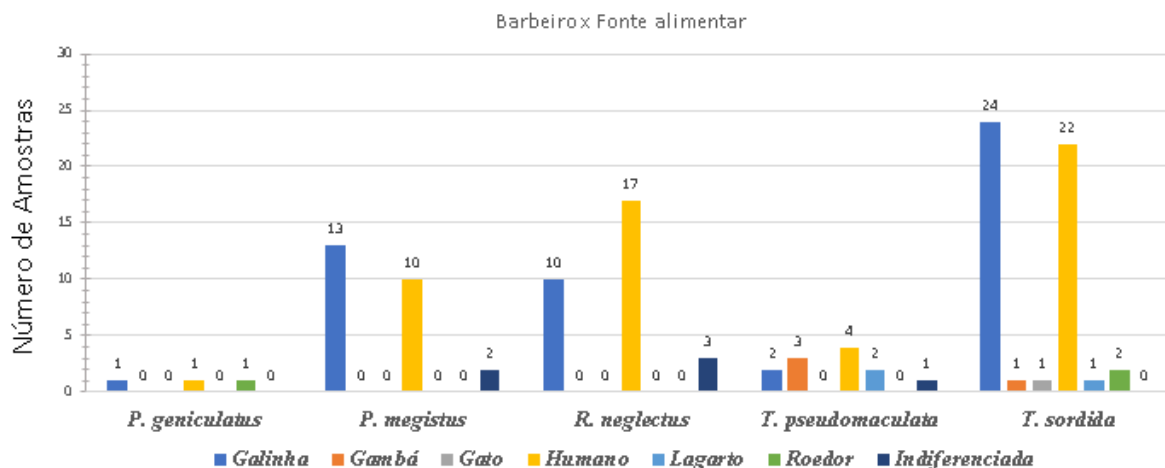


Figura 3. Identificação das fontes alimentares das espécies de triatomíneos após HRM-cyt b-qPCR, de amostras do DF e GO.

Tabela 2. Espécies selecionadas para o sequenciamento, local de coleta e a respectiva fonte alimentar.

*Número de acesso da sequência correspondente do GenBank usada para comparação com a sequência obtida no presente estudo.

Espécie de Triatomíneo	Local de Coleta	Ambiente	Fonte alimentar	Número de Acesso*
<i>P. geniculatus</i>	DF	Intradomicílio	Roedor	EF531693.1
<i>T. pseudomaculata</i>	DF	Peridomicílio	Lagarto	KU245060.1
<i>P. megistus</i>	DF	Intradomicílio	Humano	LC088149.1
<i>T. pseudomaculata</i>	DF	Intradomicílio	Humano	DQ236097.1
<i>P. megistus</i>	DF	Intradomicílio	Indiferenciada	-
<i>T. pseudomaculata</i>	DF	Peridomicílio	Humano	KX663333.1
<i>T. pseudomaculata</i>	DF	Peridomicílio	Lagarto	KU245060.1
<i>T. pseudomaculata</i>	DF	Intradomicílio	Humano	LC088149.1
<i>T. sordida</i>	GO	Peridomicílio	Roedor	KT232247.1
<i>T. sordida</i>	GO	Peridomicílio	Galinha	FM205718.1
<i>T. sordida</i>	GO	Peridomicílio	Humano	LC088149.1
<i>T. sordida</i>	GO	Peridomicílio	Roedor	KT232247.1
<i>R. neglectus</i>	GO	Intradomicílio	Humano	LC088149.1

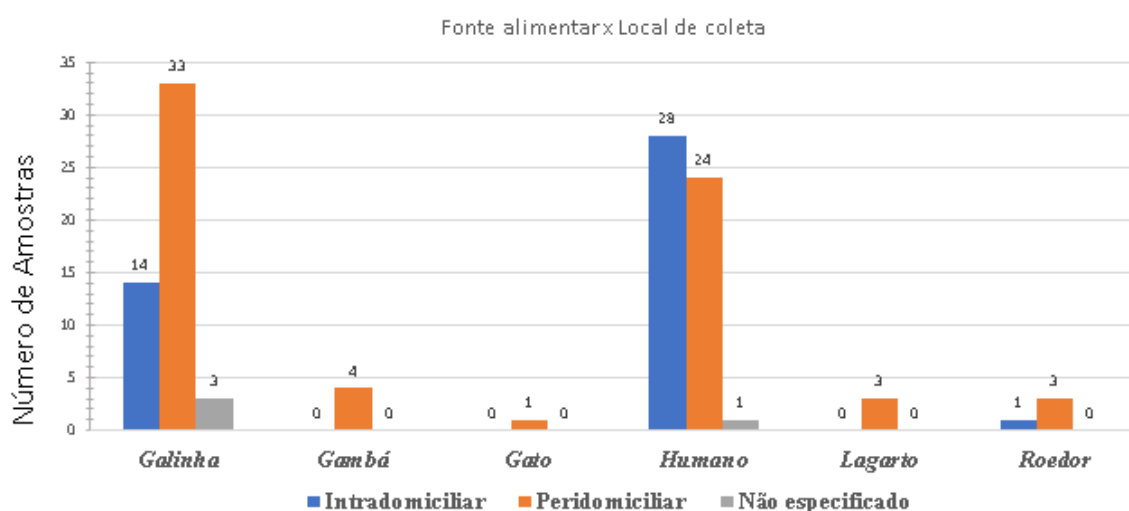


Figura 4. Identificação das fontes alimentares de triatomíneos de acordo com o local de captura, de amostras do DF e GO.

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, *T. sordida* apresentou a maior variabilidade de fontes alimentares (aves, humano, lagartos, roedores, felídeos e marsupiais), o que corrobora com estudos clássicos demonstrando que esta espécie apresenta alta valência ecológica (Forrattini et al., 1973). No entanto, dentre as cinco as espécies de triatomíneos, observou-se que houve o predomínio de duas fontes alimentares que foram as de sangue de aves (principalmente de triatomíneos capturados no peridomicílio) e humanos (principalmente de triatomíneos capturados no intradomicílio).

Triatoma sordida ocorre principalmente em ambientes peridomiciliares onde alimenta-se preferencialmente de aves (Diotaiuti et al., 1993; Oliveira e Silva, 2007, Rossi et al., 2015). No entanto, acredita-se que esses ambientes têm sido propícios e estratégicos para que *T. sordida* consiga invadir as casas e, é sabido que há muito tempo vem se notando uma tendência à colonização do intradomicílio e peridomicílio por esta espécie devido à eliminação de triatomíneos domiciliares (Forrattini et al., 1973; Barreto, 1976), fato que justifica

a presença de alta frequência de alimentação de sangue de humanos. Também foi a única espécie a se alimentar de gatos, o que já é descrito (Wisnivesky-Colli, 1985), porém não deixa de ser de extrema importância pelo fato destes animais serem considerados de estimação, estarem em constante contato com humanos e fazerem parte do ciclo doméstico (Siqueira-Batista et al., 2007), o que os faz importantes no papel de reservatórios do *T. cruzi*.

Também, foram avaliados 26 espécimes de *P. megistus* os quais apresentaram maior frequência de alimentação em sangue de aves seguido de sangue humano. Já foram descritas 7 fontes alimentares para a espécie *P. megistus*, dentre elas estão aves, humanos, cães, humanos, marsupiais, gatos, roedores e porcos. Além do mais, a alimentação de sangue de aves tem sido frequentemente reportada (Villela et al., 2010). No entanto, a alta frequência da alimentação de sangue humano remete ao significativo grau de antropofilia de *P. megistus* (Oliveira et al. 1982; Fernandes, 1992). Atualmente, *P. megistus* é considerado o principal vetor de *T. cruzi* no Brasil (Gurgel-Gonçalves et al. 2012a) e a colonização de habitações humanas tem sido descrita (Minuzzi-Souza et al., 2017).

Diferente das outras espécies de triatomíneos, a espécie *R. neglectus* apresentou uma maior frequência de alimentação de sangue humano. Esse fato pode ser justificado pelo maior número de espécimes capturados no ambiente intradomiciliar. No entanto, as fontes alimentares do *R. neglectus* descritas na literatura estão relacionados à diversas espécies de aves e mamíferos silvestres, gambás, ratos e morcegos (Carcavallo et al. 1998) e a alimentação está relacionada ao próprio hábitat da espécie as quais vivem nas as copas das palmeiras (Gurgel-Gonçalves et al., 2004). Apesar disso, sabe-se que ocorrência domiciliar do *R. neglectus* tem sido reportada em diversos estados (Oliveira e Silva., 2007, Gurgel-Gonçalves et al., 2008; Gurgel-Gonçalves e Cuba 2009) e é uma espécie que começou a ocupar nichos que eram antes habitados pelo *Triatoma infestans*. Em um estudo de fonte alimentar, Peña et al. (2012) descreveram que 5 amostras intestinais de *R. prolixus* alimentaram-se de sangue de humanos e uma amostra de sangue de cão, mostrando a variabilidade de fontes alimentares de espécimes de *Rhodnius* spp. em ambiente domiciliar.

Triatoma pseudomaculata é conhecida por colonizar ecótopos naturais e artificiais e, habita o peridomicílio, como galinheiros (Maeda et. al., 2012). Foram analisadas 12 amostras de *T. pseudomaculata*, em que 67% foi capturada em ambiente peridomiciliar, corroborando com o fato desta espécie habitar primariamente o peridomicílio, mas que também pode ser encontrada dentro de residências (Silva et al. 1993). Em relação ao hábito alimentar, esta é uma espécie de hábitos alimentares ornitófilicos, e no estudo em questão, ela apresentou maior frequência de alimentação em humanos, seguido de marsupiais. É sabido que *T. pseudomaculata* tem potencial para ser uma espécie antropofílica e tem aumentado a sua colonização no peridomicílio (Dias et al., 2000), portanto, deve-se intensificar a política de vigilância a esta espécie, visto que a maior taxa de alimentação foi em humanos. E, o aparecimento de alimentação em marsupiais pode ser explicado pelo fato desta espécie habitar cascos de árvores mortas e ninhos de pássaros (Carcavallo et al., 1998) e esta fazer parte do habitat dos mesmos (Cárceres, 2002).

Foram analisadas 3 amostras de triatomíneos da espécie *P. geniculatus* os quais se alimentaram de humanos, galinhas e roedores. É sabido que esta espécie habita regiões silvestres, principalmente tocas de animais e matas úmidas (Valente, 1999) e ser uma região que propicia o encontro das duas espécies.

Em questão de local de captura, *P. geniculatus* foi capturado 50% em ambiente intradomiciliar, concordando com dados publicados anteriormente (Valente, 1999) em que a espécie é tida como silvestre, porém pode ser atraída para residências direcionada pela luz. Outra hipótese que visa explicar o motivo pelo qual o *P. geniculatus* está sendo encontrado em ambiente intradomiciliar e peridomiciliar é a crescente urbanização de regiões rurais, que faz com que haja a interação hospedeiros e vetores de ambos os ciclos, silvestre e doméstico, como é citado em trabalhos em que *P. geniculatus* foi encontrado em habitações suínas (Valente et al., 1998).

As duas espécies que apresentaram alimentação em lagartos foram *T. pseudomaculata* e *T. sordida*, a qual foi evidenciada apenas por sequenciamento, visto que não havia controle positivo do mesmo na qPCR HRM. *T. pseudomaculata* já foi descrito anteriormente por Freitas et al. (2005) se

alimentando de lagartos. E, já é descrito uma ninfa de *T. sordida* se alimentando de sangue de um lacertídeo *Tropidurus* (Forrattini et al., 1973). Porém, é a primeira vez em que é encontrado DNA de sangue de lagartos nesta espécie.

Lagartos são mais associados à espécie *Triatoma arthurneivai*, que é encontrada vastamente na região Sudeste do país e está associada a habitações entre rochas e pedras (Forrattini et al., 1968). Também é sabido que esta espécie não se estabelece de maneira duradoura em ecótopos artificiais como galinheiros (Forrattini et al., 1973).

A técnica do HRM-cytb-qPCR permitiu o diagnóstico da fonte alimentar, assim como observado anteriormente (Pena et al., 2012). A técnica requer apenas um único par de primers que amplificam o gene cyt b em vertebrados sendo rápida, relativamente barata e altamente precisa. No entanto, não foi possível obter a fonte alimentar de 10 amostras de triatomíneos, no *HRM-cyt B-qPCR* e 3 amostras apresentaram resultados diferentes na técnica e no sequenciamento. Esta limitação pode ser dada pela própria amostra do intestino do triatomíneo, pois este pode ter se alimentado há mais tempo e o sangue do hospedeiro poderia ter sido digerido, visto que a técnica utilizada é sensível e eficaz.

5. CONCLUSÃO

A presença de sangue humano em espécies de triatomíneos positivas para *T. cruzi* demonstra real possibilidade de transmissão autóctone da doença de Chagas no DF, ainda não comprovada e manutenção da transmissão em Goiás, estado em que a doença está controlada. Esses dados reforçam a necessidade de manutenção e aprimoramento da vigilância nas áreas em estudo. Portanto, recomenda-se manter uma vigilância continuada com participação comunitária, a fim de monitorar a colonização e/ou invasão de triatomíneos no ambiente doméstico e, conseqüentemente, prevenindo novos casos de transmissão da doença de Chagas no estado de Goiás e no Distrito Federal.

6. REFERÊNCIAS

BARRETO, Mauro Pereira. Ecologia de triatomíneos e transmissão do *Trypanosoma cruzi*, com especial referência ao Brasil. Rev. Soc. Bras. Med.

Trop., Uberaba, v. 10, n. 6, p. 339-353, Dec. 1976 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003786821976000600005&lng=en&nrm=iso>. access on 20 Nov. 2017. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86821976000600005>.

BOAKYE, DA, Tang J, Truc P, Merriweather A, Unnasch TR (1999) Identification of bloodmeals in haematophagous Diptera by cytochrome B heteroduplex analysis. *Med Vet Entomol* 13: 282–287.

BRENER, Z. Biology of *Trypanosoma cruzi*. *Annu Rev Microol.* 1973 Oct; 27: 347-382. doi: 10.1146/annurev.mi.27.100173.002023.

CARCAVALLO, RU, Rodríguez MEF, Salvatella R, Curto-de-Casas SI, Sherlock I, Galvão C, et al. Habitats and related fauna. *In*: Carcavallo RU, Galíndez Girón I, Jurberg J, Lent H, editors. Atlas of Chagas Disease Vectors in Americas. Vol II. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1998. p. 561-600.

CÁRCERES, N.C. Food habits and seed dispersal by the white-eared opossum, *Didelphis albiventris*, in the southern Brazil. 2002. *Stud. Neotrop. Fauna Environ.* 37(2):97-104.

CHAGAS C. Nova tripanossomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1909 Aug; 1:159- 218. doi: 10.1590/S0074-02761909000200008.

COURA JR, Viñas PA. Chagas disease: a New Worldwide Challenge. *Nature.* 2010 Jun; 465: S6-S7. doi: 10.1038/nature09221.

DA ROSA, J.A., Justino H.H.G., Nascimento J.D., Mendonça V.J., Rocha C.S., de Carvalho D.B., Falcone R., de Azeredo-Oliveira M.T.V., Alevi K.C.C., de Oliveira J. // *ZooKeys.* 2017. V. 675. P. 1–25.

DIAS, JCP. Epidemiologia. In: Brener Z, Andrade ZA, Barral-Neto M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. 48-74p.

DIOTAIUTI, L, Loiola CF, Falcão PL, Dias JCP. The ecology of *Triatoma sordida* in natural environments in two different regions of the state of MinasGerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1993 May/Jun; 35 (3): 237-245. doi: 10.1590/S0036-46651993000300004.

FERNANDES, AJ, Diotaiuti L, Dias JCP, Romanha AJ, Chiari E 1994. Inter-relações entre os ciclos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. *Cad Saude Publica* 10: 473-480.

FERREIRA, I.L.M.; Silva, T.P.T. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* no Brasil: um fato histórico. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 39, nº 5, p. 507-509. 2006.

FREITAS, S P C et al. Fontes alimentares de *Triatoma pseudomaculata* no Estado do Ceará, Brasil. *Rev. Saúde Pública* [online]. 2005, vol.39, n.1 [cited 2017-07-29], pp.27-32.

FORRATINI, Oswaldo Paulo; Juarez, Edmundo; Rabello, Ernesto Xavier. Dados sobre a biologia do *Triatoma arthurneivai* no sudeste do Estado de São Paulo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). *Rev. Saúde Pública, São Paulo*, v. 2, n. 2, p. 186-193, Dec. 1968.

FORATTINI, Oswaldo Paulo et al. Aspectos ecológicos da tripanossomose americana: V- observações sobre colonização espontânea de triatomíneos silvestres em ecótopos artificiais, com especial referência ao *Triatoma sordida*. *Rev. Saúde Pública, São Paulo*, v. 7, n. 3, p. 219-239, Sept. 1973. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-

89101973000300004&lng=en&nrm=iso>. access on 21 Nov. 2017.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101973000300004>.

FORATTINI, OP, Barata JMS, Santos JLF, Silveira AC. Hábitos alimentares, infecção natural e distribuição de triatomíneos domiciliados na região central do Brasil. *Rev Saúde Pública São Paulo* 1982; 16:171-204.

GALVÃO, C, Paula AS. Sistemática e evolução dos vetores. In: Galvão, C. *Vetores da doença de chagas no Brasil*. Soc Bras Zoo. 2014; 26-32. *Zoologia: guias e manuais de identificação series*.

GEORGIEVA, AY, Gordon ERL, Weirauch C. (2017) Sylvatic host associations of Triatominae and implications for Chagas disease reservoirs: a comprehensive review and new host records based on archival specimens. *PeerJ Preprints* 5:e3006v1.

GURGEL-GONÇALVES, R, Galvão C, Costa J, Peterson AT. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. *J Trop Med*, 2012a; ID 705326: 1-15. doi:10.1155/2012/705326.

GURGEL-GONÇALVES, et al. 2004. Enzootic transmission of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli* in the Federal District of Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 46: 323-330.

IBÁÑEZ-CERVANTES, G. et al. 2013. Identification by Q-PCR of *Trypanosoma cruzi* lineage and determination of blood meal sources in triatomine gut samples in México *Parasitology International* 62: 36–43.

JORGE, TCA.; Castro, SL., orgs. *Doença de chagas: manual para experimentação animal* [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000. 368 p. Antropologia e Saúde collection. ISBN 85- 85676-75-2.

JURBERG, J; Rodrigues, J M. S; Moreira, F. F. F. Atlas iconográfico dos triatomíneos do Brasil (vetores da doença de chagas). Rio de Janeiro; Instituto Oswaldo Cruz; 2 ed; 2015. 60 p. Livroilus, mapas.

JUSTI, SA, Galvão C. The evolutionary origin of diversity in Chagas disease vectors. 358 Trends Parasitol. 2017;33:42–52.

KNOX, MB, Oliveira C. Distribuição de triatomíneos vetores de Doença de Chagas no DF- 1996/2002. In:Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ). Resumos do VII Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva. Rio de Janeiro: Associação Brasileira de Pós-Graduação em Saúde Coletiva (Abrasco); 2003. 884p.

LENT, H, Wygodzinsky P 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas Disease. Bul Amer Mus Nat Hist 163: 520-529.

MAEDA, MH, Knox MB, Gurgel-Gonçalves R. 2012. Occurrence of synanthropic triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in the Federal District, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 45(1): 71-76.

MINUZZI, TTCS. Detecção parasitológica e molecular de tripanossomatídeos em triatomíneos sinantrópicos e primatas neotropicais no Brasil central. 2016. 154 f., il. Tese (Doutorado em Medicina Tropical)—Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

MINUZZI-SOUZA, TTC, Nitz N, Knox MB, Reis F, Hagström L, Cuba CA, et al. Vector-borne transmission of *Trypanosoma cruzi* among captive Neotropical primates in a Brazilian zoo. *Parasit Vectors* 2016; 9(1): 39. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-016-1334-7>. PMID:26813657.

MINUZZI-SOUZA, TTC, Nitz N, Cuba Cuba CA, Santalucia M, Knox M, Hagström L, Furtado CB, Vital TE, Obara MT, Hecht MM, Gurgel-Gonçalves R. Synanthropic

triatomines as potential vectors of *Trypanosoma cruzi* in central Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2017. In press.

MS et al., Guia de vigilância epidemiológica / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 7. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 816 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

NASCIMENTO, C. et al. Encontro de *Panstrongylus megistus* em ecótopo artificial: domiciliação ou mera visitação? Rev. Soc. Bras. Med. Trop., v.30, n.4, p.333-6, 1997.

OLIVEIRA, AWS, Silva IG. Distribuição geográfica e indicadores entomológicos de triatomíneos sinantrópicos capturados no Estado de Goiás. Rev Soc Bras Med Trop. 2007 Mar/Apr; 40(2):204-208. doi: 10.1590/S0037-86822007000200011.

PANAFTOSA-VP/OPAS/OMS. Guia para vigilância, prevenção, controle e manejo clínico da doença de Chagas aguda transmitida por alimentos.: PANAF-TOSA-VP/OPAS/OMS, 2009. 92 p.: il. (Serie de Manuais Técnicos, 12).

PEÑA, V. H., Fernández, G. J., Gómez-Palacio, A. M., Mejía-Jaramillo, A. M., Cantillo, O., & Triana-Chávez, O. (2012). High-Resolution Melting (HRM) of the Cytochrome B Gene: A Powerful Approach to Identify Blood-Meal Sources in Chagas Disease Vectors. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6(2), e1530. <http://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001530>.

PEREIRA, JM, Almeida OS, Sousa AV, Paula AM, Machado RB, GurgelGonçalves R. Climatic factors influencing triatomine occurrence in CentralWest Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013; 108: 335-341. doi: 10.1590/S0074-02762013000300012.

PIZARRO, JC, Stevens L. 2008. A new method for forensic DNA analysis of the blood meal in Chagas disease vectors demonstrated using *Triatoma infestans* from Chuquisaca, Bolivia. PLoS ONE 3(10): e3585.

ROSSI, JC, Duarte EC, Gurgel-Gonçalves R. Factors associated with the occurrence of *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) in rural localities of Central-West Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015 Apr; 110 (2): 192-200. doi: 10.1590/0074-02760140395.

SILVA, A. H. R. Eco-biologia de triatomíneos no município de Oriximiná, Estado do Pará, Brasil. 2012. 86f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

SILVA, I. G.; Elias C. N., Isac, E. Ocorrência de *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espíndola, 1964 (Hemiptera, Reduviidae) em Goiânia, Goiás. Rev. Pai. Trop., 22(1):99, jan./jun. 1993.

SILVEIRA, AC, Dias JCP. O controle da transmissão vetorial. Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44 (2): 52-63. doi: 10.1590/S0037-86822011000800009.

SILVEIRA, AC, Feitosa VR, Borges R. Distribution of Triatominae captured in a domestic environment, 1975/83, Brazil. Rev Bras Malariol Doen Trop. 1984; 36: 15-312.

SIQUEIRA, AF. Estudos sobre a reação de precipitina aplicada à identificação de sangue ingerido por triatomíneos. Rev. Inst. Med. trop., S. Paulo, 2:41-53, 1960.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; Rubião, E. C. N.; Cotta, R. M. M.; Pissinatti, A.; Soranz, L. F. S. P. 2007. Epidemiologia e ecologia. In: SIQUEIRA-BATISTA, R.; GOMES, A. P.; Corrêa, A. D.; Geller, M. Moléstia de Chagas. 2. ed. Rio de Janeiro: Ed. Rubio. 248p.

VALENTE, VC. (1999). Potential for domestication of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Liemiptera, Reduviidae, Triatominae) in the municipality of

Muaná, Marajó Island, state of Pará, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 94(Suppl. 1), 399-400.

VALENTE, VC, Valente SA, Noireau F, Carrasco HJ, Miles MA 1998. Chagas disease in the Amazon Basin: association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) with domestic pigs. *J Med Entomol*35: 99-103.

VILLELA, M. M.; Rodrigues, V. L. C. C.; Casanova, C. and Dias, J.C.P. Análise da fonte alimentar de *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) e sua atual importância como vetor do *Trypanosoma cruzi*, no Estado de Minas Gerais. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* [online]. 2010, vol.43, n.2, pp.125-128. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822010000200004>.

VINHAES, MC, Dias JCP. Doença de Chagas no Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2000; 16(2): 7-12.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO Report on Neglected Tropical Diseases. Geneva: WHO; 2010. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44440/1/9789241564090_eng.pdf Acesso em: 10 de julho de 2015.

WISNIVESKY-COLLI, C., Gurtler, R. E., Solarz, N D., Lauricella, M. A., & Segura, E. L.. (1985). Epidemiological role of humans, dogs and cats in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a central area of Argentina. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 27(6), 346-352.