

MARLON CEZAR COMINETTI

INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma* sp EM *Triatoma sordida*, *Didelphis albiventris* E *Sus scrofa* EM COMUNIDADE RURAL DE MATO GROSSO DO SUL, BRASIL

**CAMPO GRANDE
2010**

MARLON CEZAR COMINETTI

INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma* sp EM *Triatoma sordida*, *Didelphis albiventris* E *Sus scrofa* EM COMUNIDADE RURAL DE MATO GROSSO DO SUL, BRASIL

Dissertação apresentada como exigência para a obtenção do grau de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, pela Faculdade de Medicina “Dr. Hélio Mandeta” da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob a orientação do Prof. Dr. Renato Andreotti e Silva

**CAMPO GRANDE
2010**



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

**Programa de Pós Graduação em
Doenças Infecciosas e Parasitárias**



TERMO DE APROVAÇÃO

A dissertação intitulada “INFEÇÃO NATURAL POR *TRYPANOSOMA* SP EM *TRITOMA SORDIDA*, *DIDELPHIS ALBIVENTRIS* E *SUS SCROFA* EM COMUNIDADE RURAL DE MATO GROSSO DO SUL, BRASIL”, apresentada à banca examinadora por **MARLON CEZAR COMINETTI**, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, obteve aprovação.


BANCA EXAMINADORA:




Renato Andreotti e Silva – EMBRAPA



Maria de Fátima Cepa Matos – UFMS



Kátia Denise Saraiva Bresciani – UNESP



Sonia Maria Oliveira de Andrade – UFMS

Campo Grande, 02 de agosto de 2010.

Dedico este trabalho ao Senhor, meu Deus, a quem sempre recorro em momentos de dificuldade e louvo em momentos de alegria. O meu muito obrigado por tudo em minha vida e pela bendita esperança da vida eterna quando de seu breve retorno.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor, meu Deus, que me orientou e entregou em minhas mãos os trabalhos realizados bem como pôs em minha vida todas as pessoas que participaram direta ou indiretamente de todas as minhas atividades.

Agradeço a minha mãe, Vianeí, pelos anos de carinho e cuidados gentilmente dedicados a mim. Meu pai, Leocir, pelos bons momentos em que participou na minha vida. Aos meus irmãos, Débora e Mateus, pelo cuidado e ajuda - principalmente financeira - entregues a mim.

Ao meu orientador, Renato Andreotti, que teve paciência comigo e me ajudou no crescimento profissional.

Ao meu amigo e colega de trabalho Manoel que tem me ajudado com os trabalhos de biologia molecular.

A todos do programa de Pós Graduação em Doenças Infeciosas e Parasitárias, tanto funcionários como professores e colegas, o meu muito obrigado.

Obrigado à comunidade de Furnas do Dionízio, em especial a dona Cecí e seu Alcindo, que sempre me receberam em suas propriedades e me ajudaram nos trabalhos de campo.

Agradeço ao *Centro de Controle de Vetores do Estado de Mato Grosso do Sul*, Núcleo Estadual de Entomologia, em especial aos servidores públicos Guilmará M. A. Gonçalves, João Nascimento e Ezequiel P. Ramos pelo auxílio gentilmente prestado.

A professora Maria Elizabeth Dorval, a Elisa Oshiro e as todas as “meninas” do laboratório de parasitologia da UFMS pela ajuda nos trabalhos de parasitologia bem como o uso das dependências do laboratório.

A professora Maria de Fátima pelo uso do laboratório de biologia molecular da UFMS.

A Jaqueline, da EMBRAPA, pelo início do contato com a biologia molecular.

Ao senhor Basílio pela confecção das primeiras armadilhas para capturar tatus.

Aos senhores Luís, Silvano e Serpa pelos tatus capturados, obrigado pela ajuda.

Ao professor Gustavo Gracioli pelas instruções em sala de aula e os livros emprestados para estudo de insetos.

Ao professor Fernando Paiva pela constante disposição em ajudar qualquer trabalho.

Ao médico veterinário Francisco, do CCZ, Campo Grande, pela grande ajuda nas coletas de amostras de animais domésticos.

Agradeço aos meus amigos minha namorada, Jéssica, que sempre me deram apoio com orações e conversas descontraídas.

Poderia escrever inúmeras páginas já que várias pessoas estiveram comigo nesses dois anos de trabalhos, frustrações e alegrias, mas ficaria muito extenso. Saibam, porém, que sou muito grato, mesmo não citando todos no momento, por todos os momentos que estiveram comigo, meu muito obrigado sempre.

“Fortis cadere, cedere non potest”

“O bravo pode cair, não pode recuar”

(Vegetius)

RESUMO

Este trabalho decorre da investigação sobre a ocorrência de *Trypanosoma cruzi* na área de Furnas do Dionízio, estado de Mato Grosso do Sul. A pesquisa teve por objetivo Investigar a ocorrência de infecção natural por *Trypanosoma* sp em insetos triatomíneos, animais domésticos e silvestres na comunidade rural de Furnas do Dionízio. Foram realizados exames parasitológicos - micro-hematócrito (MH), exame a fresco (EF) e hemocultura (HC) – para detecção de flagelados e moleculares - através da reação em cadeia da polimerase (PCR) com os iniciadores S35 e S36 que amplificam um fragmento de 330 pares de base do kDNA - para identificação dos tripanosomatídeos encontrados em amostras de sangue coletadas de animais capturados/contidos e nas fezes dos insetos. Foram capturados/contidos dois gambás (*Didelphis albiventris*), um cão (*Canis familiaris*), quatro ratos (*Rattus rattus*), um tatu galinha (*Dasypus novemcinctus*), cinco porcos (*Sus scrofa*), dois bovinos (*Bos taurus*), cinco caprinos (*Capra* sp) e 51 ovinos (*Ovis aries*) totalizando 71 animais. Os resultados parasitológicos mostraram a presença de flagelados em um dos gambás (na HC) e nos dois bovinos (no MH e na HC). O exame molecular mostrou a presença do *T. cruzi* em um gambá e em um porco. *Triatoma sordida* foi única espécie de triatomíneo encontrada na comunidade colonizando o domicílio (quatro espécimes) e o peridomicílio (124 espécimes). O exame a fresco mostrou a presença de flagelados em 23 triatomíneos (todos no peridomicílio) que foram identificados positivamente como sendo *T. cruzi* pelo exame molecular. A análise dos dados aponta para a circulação do parasito na comunidade através do ciclo peridoméstico e justifica a continuidade dos trabalhos epidemiológicos e de impacto ambiental na comunidade.

Palavras-chave: *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma sordida*, triatomíneos, animais sinantrópicos

ABSTRACT

This endeavor elapses from the inquiry on the occurrence of *Trypanosoma cruzi* in the area of Furnas do Dionízio, state of Mato Grosso do Sul. The research had as its objective to investigate the occurrence of natural infection of *Trypanosoma sp* in triatomíneos insects, domestic and wild animals in the agricultural community of Furnas do Dionízio. Parasitic experiments were made - microhematocrit (MH), fresh examination (EF) e hemoculture (HC) – for the detection of flagellates and moleculars – through the chain reaction of the polimerase (PCR) with the S35 and S36 primers which amplify a fragment of 330 base pairs of kDNA - for identification of the tripanosomatides found in the collected samples of blood of captured/apprehended animals and in the excrements of the insects. Two opossums (*Didelphis albiventris*), a dog (*Canis familiaris*), four rats (*Rattus rattus*), a hen armadillo (*Dasypus novemcinctus*), five pigs (*Sus scrofa*), two bovines (*Bos taurus*), five goats (*Capra sp*) and 51 sheep (*Ovis aries*) were apprehended/captured, making it a total of 71 animals. The parasitic results showed the presence of flagellates in one of the opossums (in the HC) and in the two bovines (in the MH and the HC). The molecular examination showed to the presence of the *T. cruzi* in an opossum and in a pig. *Triatoma sordida* was the only triatomine specie found in the community, colonizing the domicile (four specimens) and the peridomicílio (124 specimens). The examination in the cool showed the presence of flagellates in 23 triatomíneos (all in the peridomicílio) that were positively identified as being *T. cruzi* by the molecular examination. The analysis of the data points to the circulation of the parasite in the community through the peridomestic cycle and justifies the continuity of the epidemiologist and environmental impact work in the community.

Key-words: *Trypanosoma cruzi*, *Triatoma sordida*, triatomíneos, sinanthropus animals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Nomenclatura de <i>Trypanosoma cruzi</i> de acordo com diferentes autores.	23
Figura 2 - Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> e sua relação parasito-hospedeiro.	25
Figura 3 – Ciclos silvestre, domiciliar e peridomiciliar de <i>Trypanosoma cruzi</i> .	34
Figura 4 - Representação esquemática do minicírculo mostrando a organização das quatro regiões conservadas (retângulos em preto), de aproximadamente 120 pb cada, usados para desenhar os iniciadores utilizados em diagnóstico molecular pela PCR. As regiões com sequências hiper-variáveis dos minicírculos de 330 pb (seta cinza) encontram-se intercaladas com as regiões conservadas	42
Figura 5 - Localização de Furnas do Dionízio, Mato Grosso do Sul, Brasil.	46
Figura 6 - Vista geral de área residencial onde foram encontrados triatomíneos.	47
Figura 7 - Imagem de satélite da comunidade de Furnas do Dionízio, MS, Brasil, 2010.	48
Figura 8 - Locais de encontro e captura de triatomíneos.	49
Figura 9 - <i>Triatoma sordida</i> encontrado em Furnas do Dionízio, MS, Brasil.	50
Figura 10 - Animais silvestres e domésticos encontrados em Furnas do Dionízio, MS, Brasil.	51
Figura 11 – Produto da amplificação dos iniciadores S35 e S36 para <i>T. cruzi</i>	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 O gênero <i>Trypanosoma</i>	13
<u>2.1.1 <i>Trypanosoma rangeli</i></u>	15
<u>2.1.2 <i>Trypanosoma evansi</i></u>	15
<u>2.1.3 <i>Trypanosoma vivax</i></u>	17
<u>2.1.4 <i>Trypanosoma theileri</i></u>	18
<u>2.1.5 <i>Trypanosoma cruzi</i></u>	19
2.1.5.1 Heterogeneidade.....	19
2.1.5.2 Ciclo de vida.....	24
2.1.5.3 Vetores.....	25
2.1.5.4 Hospedeiros silvestres.....	28
2.2 Doença de Chagas	32
<u>2.2.1 Doença de Chagas em Mato Grosso do Sul</u>	36
2.3 Diagnóstico Laboratorial	38
<u>2.3.1 Pesquisa de parasitos no sangue</u>	39
<u>2.3.2 Xenodiagnóstico</u>	39
<u>2.3.3 Cultura de parasitos</u>	40
<u>2.3.4 Testes imunológicos</u>	40
2.3.4.1 Hemaglutinação indireta (HAI).....	40
2.3.4.2 Imunofluorescência indireta (IFI).....	41
2.3.4.3 Imunoenzimático (ELISA).....	41
<u>2.3.5 Reação da Polimerase em Cadeia (PCR)</u>	41
3 OBJETIVOS	44
3.1 Objetivo geral	44
3.2 Objetivos específicos	44
4 MATERIAL E MÉTODOS	45
4.1 Tipologia	45
4.2 Período de pesquisa	45
4.3 Área de coleta	45
<u>4.3.1 Locais de captura</u>	48
4.4 Coleta de triatomíneos	48

4.5 Captura/contenção/sedação dos hospedeiros vertebrados para coleta de sangue.....	50
4.5.1 Captura de animais silvestres.....	51
4.5.2 Contenção de animais domésticos.....	52
4.6 Coleta de amostras.....	52
<u>4.6.1 Nos hospedeiros vertebrados.....</u>	<u>52</u>
4.6.2 Nos triatomíneos.....	52
4.7 Exames laboratoriais.....	53
<u>4.7.1 Parasitológico.....</u>	<u>53</u>
4.7.1.1 Em triatomíneos.....	53
4.7.1.2 Amostras de sangue para exame direto.....	53
<u>4.7.2 Molecular</u>	<u>53</u>
4.8 Aspectos éticos.....	55
5 RESULTADOS.....	56
5.1 Diagnóstico parasitológico.....	56
<u>5.1.1 Triatomíneos.....</u>	<u>56</u>
<u>5.1.2 Hospedeiros vertebrados.....</u>	<u>56</u>
5.2 Diagnóstico molecular.....	57
6 DISCUSSÃO	59
7 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68
ANEXO A.....	97

1 INTRODUÇÃO

A caracterização das relações entre parasitos e hospedeiros e sua distribuição é fundamental na compreensão do controle de zoonoses. Animais silvestres podem ser usados como fontes de monitoramento o que se configura como estratégia de controle em locais onde há aumento dos contatos entre seres humanos e animais domésticos com animais silvestres, estimulado pelo ecoturismo e pelo crescimento das cidades com conseqüente degradação dos ecótopos naturais.

Tripanosomíases causadas por *Trypanosoma* spp são zoonoses e antropozoonoses de importância médico-veterinária. Sua distribuição ocorre em praticamente todo o mundo e estão associadas a muitos animais silvestres e a transmissão ocorre principalmente pela forma vetorial.

A doença de Chagas figura como uma das mais importantes nas Américas e é causada pela infecção por *Trypanosoma cruzi*. Atinge cerca de 10 milhões de pessoas e é transmitida por insetos triatomíneos, via placentária, transfusão de sangue, transplante de órgão e via oral.

Entre os hospedeiros desse flagelado, duas ordens de vertebrados se destacam: Didelphimorphia e Xenarthra. Essas ordens compreendem mamíferos silvestres neotropicais como: gambá, cuíca, tatu, bicho preguiça, tamanduás entre outros. Ocorrem em toda a extensão do continente Americano, indo da Argentina até a América do Norte, são frequentes no Estado de Mato Grosso do Sul e já foram incriminados como hospedeiros de *T. cruzi*.

A ampliação do conhecimento sobre os hábitos, comunidades e infracomunidades dos hospedeiros e dos vetores de tripanosomatídeos é importante já que muitas informações sobre esse gênero de protozoário carecem de elucidação. Assim, este trabalho tem por objetivo verificar a ocorrência de vetores e hospedeiros - silvestres e domésticos - de tripanosomatídeos encontrados em uma comunidade rural de Mato Grosso do Sul.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O gênero *Trypanosoma*

O gênero *Trypanosoma* compreende espécies parasitas de vertebrados de todas as ordens (peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos), transmitidos por vários vetores invertebrados hematófagos. Pertence à ordem Kinetoplastida que, juntamente com a ordem Euglenida, formam o filo Euglenozoa, um dos maiores grupos de eucariotos. O filo compreende flagelados com grande diversidade morfológica, genética e ecológica que incluem organismos de vida-livre - autotróficos e heterotróficos - e parasitas de todas as classes de vertebrados, invertebrados e plantas (BUSSE; PREISFELD, 2003; RUPPERT; FOX; BARNES, 2005; SIMPSON; ROGER, 2004; SIMPSON; STEVENS; LUKES, 2006; von der HEYDEN *et al.*, 2004).

A ordem Kinetoplastida distingue-se de seus parentes euglenóides por apresentar uma massa conspícua de DNA (kDNA) localizada no interior de uma única grande mitocôndria, o cinetoplasto (RUPPERT; FOX; BARNES, 2005). Esta dividida em duas subordens: a) Bodonina, que compreendem parasitos e espécies de vida livre; b) Trypanosomatina, que apresenta apenas a família Trypanosomatidae, cujos membros são todos parasitas (REY, 2008; RUPPERT; FOX; BARNES, 2005).

O gênero *Trypanosoma* constitui espécies que se caracterizam pelos seguintes tipos ou formas evolutivas em seus ciclos de vida: amastigota, epimastigota, tripomastigota e, raramente, promastigota. Estas formas são definidas em função da posição do cinetoplasto em relação ao núcleo e da presença ou não de flagelo livre e membrana ondulante (HOARE, 1972; REY, 2008; VICKERMAN, 1994).

Os tripanosomas de mamíferos são classificados em subgêneros e espécies com base em parâmetros taxonômicos clássicos: a morfologia - principalmente das formas tripomastigotas sanguíneas - e os ciclos de vida nos hospedeiros vertebrados e invertebrados - formas e locais de reprodução e de diferenciação (MARCILI, 2008).

Muitas espécies de tripanosomas foram descritas em mamíferos, com mais de uma espécie podendo infectar o mesmo hospedeiro várias vezes em infecções mistas. Apenas *T. brucei gambiense* e *T. brhodesiense* na África e *T. cruzi* e *T.*

rangeli nas Américas tem importância médica, pois infectam o homem e são consideradas patogênicas, exceto *T. rangeli*. Estes tripanosomas circulam no ciclo silvestre ocasionando doenças conhecidas como zoonoses infectando diversas ordens de mamíferos e podendo infectar o homem e levar ao desenvolvimento de antroponoses (MARCILI, 2008).

A maioria das espécies se desenvolve em artrópodes hematófagos, pertencentes a diversas ordens e famílias, enquanto os parasitas de répteis, anfíbios e peixes são transmitidos por sanguessugas e insetos (HAMILTON; GIBSON; STEVENS, 2007; HOARE, 1972; SIMPSON; STEVENS; LUKES, 2006).

O local de desenvolvimento e diferenciação das formas infectantes nos invertebrados determina a via de transmissão dos tripanosomas podendo ser o tubo digestivo – Secção Stercoraria - ou as glândulas salivares – Secção Salivaria - onde passam por transformações bioquímicas e morfológicas (HOARE, 1964, 1972). A maioria dos tripanosomas utiliza apenas uma destas vias de transmissão. *T. rangeli* é uma exceção, apresentando formas tripomastigotas metacíclicas nas glândulas salivares - principal mecanismo de infecção - e epimastigotas e tripomastigotas no tubo digestivo. As formas encontradas na ampola retal não são comprovadamente infectantes (D'ALESSANDRO; SARAIVA, 2000; REY, 2008).

Na secção Stercoraria são encontradas espécies que se desenvolvem exclusivamente no tubo digestivo do inseto vetor, sendo transmitidas pela contaminação com formas tripomastigotas metacíclicas eliminadas com suas fezes. Nessa secção estão compreendidos os subgêneros Schizotrypanum - espécie-tipo *T. cruzi* -, Herpetosoma - *T. lewisi* - e Megatrypanum - *T. theileri* (HOARE, 1964, 1972). Apresentam ampla distribuição geográfica com algumas espécies como *T. cruzi* (Schizotrypanum) e *T. rangeli* (Herpetosoma) sendo encontradas apenas nas Américas Central e do Sul (GUHL; VALLEJO, 2003; HOARE, 1972). A maioria das espécies desta secção não infecta o homem e não é patogênica para seus hospedeiros vertebrados, exceto *T. cruzi* (MARCILI, 2008).

A secção Salivaria compreende as espécies que se desenvolvem no tubo digestivo e glândulas salivares - exceto *T. vivax* - do inseto vetor, sendo transmitidas com a inoculação de formas tripomastigotas metacíclicas presentes nas glândulas salivares durante a picada do vetor. Compreende os subgêneros *Duttonella*, *Trypanozoon*, *Pycnomonas* e *Nannomonas*, que abrangem todos os tripanosomas africanos patogênicos para mamíferos. *T. vivax* (*Duttonella*), *T. evansi* e *T.*

equiperdum (*Trypanozoon*) adaptaram-se à transmissão mecânica, sendo as únicas espécies deste grupo ocorrendo fora do continente Africano sendo encontradas, inclusive, nas Américas (CORTEZ *et al.*, 2006; HOARE, 1972; VENTURA *et al.*, 2001).

2.1.1 *Trypanosoma rangeli*

Flagelado que infecta humanos, animais domésticos e silvestres, ocorrendo da América Central ao sul da América do Sul e compartilha com *T. cruzi* a capacidade de infectar quase todas as ordens de mamíferos como, por exemplo, primatas - inclusive o homem - roedores, marsupiais e xenartros (D`ALESSANDRO; SARAVIA, 2000; GUHL; VALLEJO, 2003; MAIA da SILVA *et al.*, 2007).

As infecções humanas causadas por *T. rangeli* são comuns na América Central, Colômbia e Venezuela dificultando o diagnóstico de *T. cruzi* (GUHL; VALLEJO, 2003). No Brasil, foi encontrado em diferentes mamíferos e triatomíneos - especialmente do gênero *Rhodnius* - principalmente na Amazônia (COURA; FERNANDES; ARBOLEDA, 1996; MAIA DA SILVA *et al.*, 2004a, 2004b, 2007, MILES *et al.*, 1983).

Ao contrário de *T. cruzi*, *T. rangeli* não é patogênico para mamíferos, mas sim para o inseto vetor, gerando dificuldades no repasto sanguíneo e na ecdise, sendo muitas vezes letal para esses insetos. *T. rangeli* multiplica-se no tubo digestivo e completa seu desenvolvimento nas glândulas salivares do inseto vetor enquanto *T. cruzi* tem todo seu desenvolvimento restrito ao tubo digestivo dos triatomíneos. Infecções naturais com *T. rangeli* em triatomíneos parecem estar restritas às glândulas salivares e sua transmissão se dá por inoculação durante o repasto sanguíneo de triatomíneos do gênero *Rhodnius* (AÑEZ, 1984; GUHL; VALLEJO, 2003).

2.1.2 *Trypanosoma evansi*

O *T. evansi* é um protozoário pertencente à família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida que costuma infectar equinos e, em muitos casos, ser fatal para estes animais. Apresenta distribuição geográfica que compreende o norte da África, Índia, Malásia, Indonésia, China, Rússia, Filipinas, América Central (SILVA *et al.*, 2002).

Na América do Sul ocorre na Argentina, Guiana, Brasil, Colômbia, Guiana Francesa, Peru, Suriname e Venezuela (DÁVILA; SILVA, 2000).

No Brasil, *T. evansi* afeta principalmente equinos e a prevalência varia de uma região para outra sendo considerada uma enzootia – peculiar da região - no pantanal mato-grossense onde ocorrem surtos esporádicos com morbidade alta em certas sub-regiões. O principal vetor de *T. evansi* nessa região é o *Tabanus importunus* (mutuca) (DÁVILA *et al.*, 1999; DÁVILA; SILVA, 2000; HERRERA *et al.*, 2004; SILVA, *et al.*, 1995a).

O parasito é transmitido mecanicamente por insetos hematófagos das famílias Tabanidae e Stomoxidae. Eventualmente morcegos hematófagos (*Desmodus rotundus*) podem fazer parte do ciclo de transmissão podendo atuar como reservatórios e vetores (HOARE, 1972; RODRIGUES, 2006). Carrapatos têm sido sugeridos como vetores na transmissão de *T. evansi* e *T. vivax* (CAMARGO; UZCANGA; UZCANGA, 2004).

A doença causada por *T. evansi* – conhecida como mal das cadeiras - é caracterizada por rápida perda de peso, anemia, febre intermitente, edema dos membros pélvicos e das partes baixas do corpo e fraqueza progressiva. Animais afetados podem morrer em semanas ou poucos meses podendo ocorrer infecções crônicas com evolução de muitos meses (BRUN; HECKER; LUN, 1998).

Já foi observada infecção por *T. evansi* em camelos, cavalos, burros, bovinos, zebuínos, caprinos, porcos, cães, búfalos, elefantes, capivaras, quatis, antas, veados e pequenos roedores silvestres (*Oryzomys spp*) (RODRIGUES, 2006; SILVA *et al.*, 2002).

Trabalhos mostram que capivaras são importantes reservatórios silvestres para *T. evansi*, entretanto, bovinos e cães devem ser também considerados como eficientes reservatórios devido ao seu frequente contato com equinos (FRANKE; GREINER; MEHLITZ, 1994; HOARE, 1972; MORALES; WELLS; ANGELS, 1976; MUÑOZ; CHAVEZ 2001; NUNES *et al.*, 1993).

Em cães são descritas conjuntivite, febre, membranas mucosas pálidas, emaciação progressiva e aumento dos linfonodos. Capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e quatis (*Nasua nasua*) podem desenvolver forma crônica da doença (HERRERA *et al.*, 2001; NUNES *et al.*, 1993) com sinais clínicos geralmente não observáveis (AQUINO *et al.*, 1999; COLPO *et al.*, 2005; HERRERA *et al.*, 2004; FRANKE; GREINER; MEHLITZ, 1994; SILVA *et al.*, 1995b).

Em rebanhos bovinos leiteiros e bubalinos pode ocorrer aborto do meio até o final da gestação, inclusive retenção de placenta, febre alta e diminuição na produção de leite ocasionando expressivas perdas econômicas (TUNTASUVAN; LUCKINS, 1998).

Em estudos isoenzimáticos de *T. evansi*, a partir de capivaras e cães no pantanal sul mato-grossense, foram encontradas similaridades com os descritos em diferentes partes do mundo e nenhuma diferença enzimática com isolados de capivaras da Colômbia (GIBSON *et al.*, 1998; STEVENS, *et al.*, 1989). Diferenças enzimáticas foram vistas em isolados de camelos do Sudão além de variações consideráveis entre o *T. evansi* de Java e Indonésia, onde os isolados deste último país formaram um grupo mais heterogêneo (BOID, 1980).

2.1.3 Trypanosoma vivax

O *T. vivax* pertence ao subgênero Duttonella, da família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida e da Secção Salivaria (HOARE, 1972). É o causador da tripanossomose bovina no Oeste e Leste da África e na América do Sul. Seu principal vetor é a mosca tsé-tsé, do gênero *Glossina* spp. Na América Latina foi encontrado em vários países, sendo diagnosticado em mamíferos silvestres e domésticos (GARDINER, 1989).

Apesar da ausência do seu principal vetor biológico na América do Sul o *T. vivax* consegue ser transmitido mecanicamente por tabanídeos e insetos hematófagos do gênero *Stomoxys* sp (JONES; DÁVILA, 2001). Seu surgimento no continente americano está relacionado com a importação de gado vindo do Senegal em 1830 para a Guiana Francesa e ilhas Martinica e Guadalupe (HOARE, 1972).

No Brasil, o primeiro relato foi em búfalos da espécie *Bubalis bubalis* na cidade de Belém, no estado do Pará (SHAW; LAINSON, 1972) e, posteriormente, diagnosticado no pantanal do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (SILVA *et al.*, 1995a, 1998).

Os animais susceptíveis a infecção são ovinos, caprinos, búfalos e principalmente bovinos e os refratários ao parasito são - além do homem - cães, porcos, ratos e camundongos (SOLTYS; WOO, 1979).

Os principais sinais clínicos consequentes da infecção são: perda de apetite, fraqueza, lacrimejamento, diarreia, anemia, prostração, diminuição da fertilidade e

caso o animal não seja tratado pode levá-lo à morte (ADAMU *et al.*, 2007). A infecção por *T. vivax* pode afetar o sistema nervoso com sinais de tremores musculares, cegueira, estrabismo, fasciculações (contrações visíveis e rápidas), falta de coordenação motora e com sinais de lesões no cerebelo e medula (BATISTA *et al.*, 2007).

Em áreas da América Latina a tripanossomíase bovina por *T. vivax* ocorre de maneira periódica e com situações epidemiológicas instáveis (OSÓRIO *et al.*, 2008).

Apesar de trabalhos realizados na região do Pantanal sul mato-grossense apontarem o *T. vivax* como agente secundário nos casos de morbidade e mortalidade e animais bem nutridos serem capazes de suprimir uma infecção causada pelo parasito, é fundamental obter dados clínicos do rebanho infectado para um controle de sanidade animal da área afetada (PAIVA *et al.*, 2000).

Estudo recente utilizando a técnica da Reação em Cadeia da Polymerase (PCR) para identificar a taxa de infecção de *Trypanosoma sp* em diferentes animais silvestres - em Camarões, África - mostrou que animais das ordens Primates, Artiodactyla, Pholidota, pequenos roedores e carnívoros do gênero *Manis* estavam positivos para *T. vivax* o que leva a crer que estas ordens tem animais que podem ser reservatórios do parasito (NJIOKOU *et al.*, 2004).

Apesar da grande importância médico-veterinária e econômica são poucos os estudos sobre os aspectos moleculares e genômicos de *T. vivax* estabeleçam correlações com dados epidemiológicos (SOUZA, 2009).

2.1.4 *Trypanosoma theileri*

Trypanosoma theileri é um protozoário pertencente à ordem Kinetoplastida, família Tripanosomatidae, subgênero Megatrypanum. Foi encontrado em bovinos na África do Sul e no leste Africano em 1902 (HOARE, 1972). É um parasita cosmopolita de bovinos com alta incidência em todos os continentes, exceto na Antártida (RODRIGUES *et al.*, 2003).

Encontrado em praticamente todas as ordens de mamíferos, principalmente Artiodactyla (Bovídeos e Cervidae são os hospedeiros mais frequentes) e Chiroptera (RODRIGUES *et al.*, 2003).

Na América do Sul, esta espécie foi encontrada na Argentina, Uruguai e Colômbia (NUNES; OSHIRO, 1986; OGASSAWARA *et al.*, 1981). No Brasil já foi

encontrada em rebanhos bovinos nos estados de São Paulo, Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Pará e Rio Grande do Sul (MARTINS; LEITE; DOYLE, 2008).

Tripanosomatídeos morfologicamente semelhante ao *T. theileri* foram identificados em pelo menos 24 espécies de ruminantes (SCHAFLENER, 1979).

Estudos laboratoriais mostraram que a transmissão ocorre por excreção de tripomastigotas metacíclicos nas fezes dos tabanídeos (mutucas), principais vetores, que entram no hospedeiro por meio da picada do vetor que costuma causar lesões na pele (BASSI; CUNHA; COSCARÓN, 2000). Também pode ocorrer pela ingestão de fezes do vetor pelo hospedeiro (BOSE *et al.*, 1987; BOSE; HEISTER, 1993). Os carrapatos também podem ser vetores do parasito (BURGDORFER; SCHIMIDT; HOOGSTRAAL, 1973; MARTINS, LEITE, DOYLE, 2008; MORZARIA *et al.*, 1986).

Seu ciclo de vida no hospedeiro mamífero e a sua relação parasito/hospedeiro não é totalmente compreendida. Esta espécie multiplica-se na corrente sanguínea por fissão binária na fase epimastigota, o que é dificilmente detectável. Além de epimastigotas e tripomastigotas no sangue periférico, flagelados também foram encontrados na cavidade extra vascular dos linfonodos, rim, baço e cérebro dos hospedeiros vertebrados (BRAUN; ROGG; WALSER, 2002; SUDARTO; TABEL; HAINES, 1990; TIZARD, 1980).

A parasitemia é detectada geralmente quando associada a doenças concomitantes, o que sugere imunidade do hospedeiro ao parasito (TOWNSEND; DUFFUS, 1982). *T. theileri* causa infecção críptica e é considerado inofensivo. No entanto, casos clínicos da doença sugerem que *T. theileri* pode ser potencialmente patogênico (DOHERTY *et al.*, 1993; HUSSAIN *et al.*, 1985; SCHAFLENER, 1979; SEIFI, 1995). A infecção por *T. theileri* em bovídeos pode persistir por muitos anos, sem que a doença se manifeste (RODRIGUES *et al.*, 2003).

2.1.5 Trypanosoma cruzi

2.1.5.1 Heterogeneidade

T. cruzi é um protozoário flagelado pertencente à ordem Kinetoplastida da família Trypanosomatidae. Compreende populações heterogêneas de parasitas, que diferem em características biológicas: como comportamento em vertebrados e triatomíneos; patológicas: como virulência, mortalidade e tropismo celular; clínicas:

apresentando as formas cardíaca e digestiva, com ou sem megasíndromes; além das características morfológicas, imunológicas e bioquímicas (COURA *et al.*, 2007; TEIXEIRA; NASCIMENTO; STURM, 2006).

A maioria dos estudos epidemiológicos e de estrutura populacional de isolados de *T. cruzi* está focada em isolados humanos e de triatomíneos, além de ter sido realizada em áreas endêmicas para doença de Chagas das Américas Central e do Sul. A estrutura populacional do parasito é predominantemente clonal, sugerindo raros os eventos de recombinação na natureza (TIBAYRENC *et al.*, 1993), apesar de existirem complexos processos sexuais em *T. cruzi* (GAUNT *et al.*, 2003).

Estudos enzimáticos têm sido utilizados para responder algumas questões referentes à heterogeneidade populacional do *T. cruzi*, inter-relações do ciclo de transmissão doméstico e silvestre e na taxonomia numérica (FERNANDES *et al.*, 1994).

Apesar do polimorfismo genético intraespecífico, análises de padrões de isoenzimas (enzimas com múltiplas formas que catalisam, essencialmente, a mesma reação) revelaram três grupos de isolados que foram classificados como zimodemas Z1, Z2 e Z3 (MILES *et al.*, 1977, 1978).

Estudos posteriores utilizando marcadores baseados em sequências dos genes ribossômicos e de miniexon (*spliced leader*) revelaram duas linhagens principais: *T. cruzi* I (TCI) e *T. cruzi* II (TCII), que correspondem respectivamente aos zimodemas Z1 e Z2 e indicaram a existência de linhagens híbridas (TCI/II) (DEVERA; FERNANDES; COURA, 2003; FERNANDES *et al.*, 1998a; MILES *et al.*, 1977; 1980; SOUTO *et al.*, 1996; TIBAYRENC *et al.*, 1993, ZINGALES *et al.*, 1998) Essas duas linhagens não comportaram Z3, posteriormente definido como TCIIc a partir de marcadores do gene de miniexon (FERNANDES *et al.*, 1998b).

A linhagem TCI, até o momento, não foi dividida em sublinhagens. Entretanto, estudos recentes baseados em marcadores da região intergênica do gene de miniexon demonstraram uma grande homogeneidade entre isolados de mesma região geográfica e significativo polimorfismo entre isolados de regiões geográficas diferentes (HERRERA *et al.*, 2008b; O'CONNOR *et al.*, 2007; SALAZAR; SCHIJMAN; TRIANA-CHÁVEZ, 2006).

Apesar do grupo TCI ser conhecido como silvestre, em países da América Central e Venezuela a infecção por essa linhagem é mais frequente em humanos (MILES *et al.*, 1981a). Nestes países, TCI é transmitido ao homem em um ciclo

doméstico que geralmente se justapõe ao ciclo silvestre porque *Rhodnius prolixus* - principal vetor - pode ser domiciliado e silvestre (MILES *et al.*, 1981a,b; 2003). Yeo *et al.* (2005) também observaram que TCI está mais frequentemente associado a animais com hábitos arborícolas enquanto TCII a animais de hábitos terrestres.

A análise de sequenciamento de DNA mostrou que o grupo TCI é um clado relativamente homogêneo enquanto TCII – dividido em cinco subgrupos (a-e) - possui dois ou três cladogramas filogenéticos distintos (que equivalem a IIa-c) e duas linhagens híbridas (IId e IIe) que derivam a partir dos cladogramas dos subtipos IIb e IIc (BRISSE; VERHOEF; TIBAYRENC, 2001; COURA, 2003; DEVERA; FERNANDES; GAUNT *et al.*, 2003; MACHADO; AYALA, 2001; SILVA *et al.*, 2006). O sequenciamento de DNA também deu suporte às ideias de que TCIIa e TCIIc podem ser híbridos de TCI e TCIIb (YEO *et al.*, 2005).

Enquanto TCIIb e TCIIe ocorrem com maior frequência em ambientes antropizados do Brasil, Chile, Bolívia, Argentina e TCII d em ambientes antropizados do Chile e Bolívia, TCIIc e TCIIa possuem um ciclo de transmissão quase que exclusivamente silvestre (principalmente na Amazônia, Nordeste do Brasil, Paraguai e Argentina) (BARRETT *et al.*, 1980; CARDINAL *et al.*, 2008; CEBALLOS *et al.*, 2006; FERNANDES *et al.*, 1998a, 1998b; FREITAS *et al.*, 2006; GAUNT; MILES, 2000; MILES *et al.*, 1981b; POVOA *et al.*, 1984; YEO *et al.*, 2005; ZINGALES *et al.*, 1999).

Estudos mostram que a linhagem TCIIc, no ciclo silvestre, possui ampla distribuição geográfica, ocorrendo no Brasil, Colômbia, Argentina e Paraguai apresentando associação dessa linhagem com tatus e ecótopo terrestre. Além disso, TCIIc foi encontrado em didelfídeos terrestres do gênero *Monodelphis* no Norte e Nordeste do Brasil e no Paraguai (BARRETT *et al.*, 1980; GAUNT; MILES, 2000; MILES *et al.*, 1981b; POVOA *et al.*, 1984; YEO *et al.*, 2005). Também foi descrita essa linhagem na Argentina em cangambás, um carnívoro terrestre que vive em tocas (CARDINAL *et al.*, 2008; CEBALLOS *et al.*, 2006). Cães domésticos também foram encontrados infectados por TCIIc no Paraguai, Argentina e Brasil (BARNABE *et al.*, 2001; CARDINAL *et al.*, 2008; MARCILI *et al.*, 2009c). Triatomíneos das espécies *Panstrongylus geniculatus* e *Triatoma infestans*, ambas de hábitos terrestres, são os vetores associados à TCIIc (BARRETT *et al.*, 1980; CARDINAL *et al.*, 2008; MARCILI *et al.*, 2009a; MILES *et al.*, 1981b; YEO *et al.*, 2005).

Apesar disso, apenas alguns casos humanos isolados foram relatados até o momento no Brasil (Estados do Amazonas, Pará e Minas Gerais) (FREITAS *et al.*, 2006; MILES *et al.*, 1981b). Também foi proposto que TCIIc seria uma terceira grande linhagem que, junto com TCI e TCIIb, formariam as linhagens ancestrais de *T. cruzi* (FREITAS *et al.*, 2006).

A maioria dos isolados de pacientes com manifestações severas genotipadas como TCIIb, TCIIc e TCIIe são provenientes de áreas endêmicas do Cone Sul, exceto Amazônia (MARCILI, 2008). Essas linhagens, por serem domésticas e peridomésticas, são transmitidas principalmente por triatomíneos domiciliados como *T. infestans* (BARNABE *et al.*, 2001; BRENIERE *et al.*, 1998; DIOSQUE *et al.*, 2003; FREITAS *et al.*, 2006; LAGES-SILVA *et al.*, 2006; SOLARI *et al.*, 2001; VALADARES *et al.*, 2008; VIRREIRA *et al.*, 2006; ZINGALES *et al.*, 1999).

Não há uma associação clara entre os isolados de TCIIa e seus ecótopos bem como seus hospedeiros mamíferos são praticamente desconhecidos. Essa linhagem foi descrita em tatus e didelfídeos do gênero *Monodelphis*, porém, esses dados nunca foram confirmados por marcadores moleculares sendo baseados unicamente em zimodemas (MILES *et al.*, 1981b). Também tem sido descrita em guaxinins, macacos e cães domésticos da América do Norte (BARNABE *et al.*, 2001; ROELLIG *et al.*, 2008). Isolados confirmados são de *R. brethesi* da região Amazônica (MENDONÇA *et al.*, 2002).

Atualmente, foi proposta nova classificação dos tipos e subtipos dividindo *T. cruzi* em seis linhagens: TCI, TCII, TCIII, TCIV, TCV, TCVI (LEWIS *et al.*, 2009; ZINGALES *et al.*, 2009) (Figura 1).

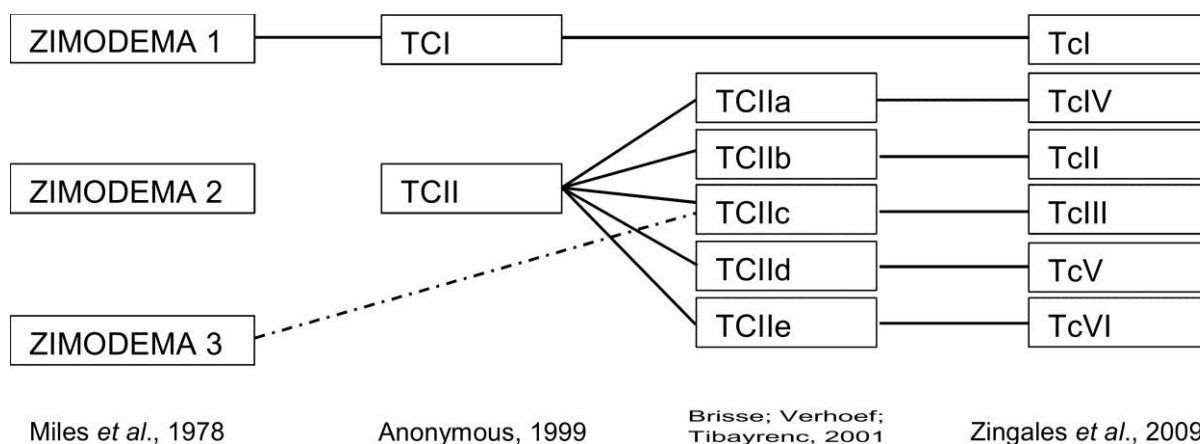


Figura 1 – Nomenclatura de *Trypanosoma cruzi* de acordo com diferentes autores

Em julho de 2005, foram publicados os dados do sequenciamento do genoma de *T. cruzi*, resultado do esforço do *Trypanosoma cruzi* Sequencing Consortium (TSK-TSC) formado por três centros de sequenciamento: The Institute for Genomic Research (TIGR), Seattle Biomedical Research Institute e Karolinska Institute juntamente com diversos laboratórios do Hemisfério Norte e América Latina (EL-SAYED *et al.*, 2005a).

Juntamente com os dados genoma de *T. cruzi* (EL-SAYED *et al.*, 2005a) foram publicados os dados do genoma de *T. brucei* (BERRIMAN *et al.*, 2005) e *Leishmania major* (família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*) (IVENS *et al.*, 2005). Uma análise comparativa dos três genomas indicou que *T. cruzi* apresenta o maior número de genes (aproximadamente 12.000), seguido por *T. brucei* (9.068 genes) e *L. major* (8.311 genes). Observa-se ainda que o genoma de *T. cruzi* é o mais compacto e o de *L. major* o menos compacto dos três (EL SAYED *et al.*, 2005b).

O alinhamento da sequência de aminoácidos mostra uma identidade média de 57% entre *T. brucei* e *T. cruzi* e 44% de identidade entre *L. major* e os outros dois tripanosomas, o que refletiria possíveis relações filogenéticas. No estudo também foram identificados genes codificadores que são espécie-específicos. Concluiu-se que os genes comuns estão dispostos em grandes regiões sistêmicas, ou seja, os três organismos possuem genes com estrutura e arranjo cromossômico conservado (EL-SAYED *et al.*, 2005b). Assim, espera-se que novos quimioterápicos dirigidos para o produto de determinados genes conservados possam ser eficazes contra os

três parasitas. Além disso, o estudo de genes espécie-específicos poderá contribuir para o entendimento das diferentes patologias apresentadas pelas doenças.

2.1.5.2 Ciclo de vida

Em seu ciclo de vida, *T. cruzi* apresenta três estágios principais: a forma amastigota, encontrada no interior da célula do mamífero hospedeiro e com capacidade de multiplicação; a forma epimastigota, encontrada na parte posterior do tubo digestivo médio do inseto vetor e que também apresenta capacidade de multiplicação; e a forma tripomastigota, encontrada no tubo digestivo posterior do vetor e na circulação do hospedeiro mamífero - esta fase não apresenta capacidade de multiplicação (REY, 2008).

Quando o inseto faz o repasto sanguíneo em hospedeiro mamífero ele ingere formas tripomastigotas sanguíneas que migram para a parte anterior do intestino médio do inseto. Ali sofrem diferenciação em formas epimastigotas que migram para a parte posterior do intestino médio onde conseguem se multiplicar. Acredita-se que a infecção no inseto dure toda a sua vida (REY, 2008).

Quando as formas epimastigotas do intestino médio migram para o intestino posterior do triatomíneo ela se diferencia em tripomastigota metacíclico, sua forma infectante. O hospedeiro mamífero é infectado a partir das fezes do inseto. Os tripomastigotas invadem a células do sistema fagocítico mononuclear onde se transformam em amastigotas que se reproduzem por fissão binária no citoplasma (REY, 2008).

Os amastigotas se diferenciam em tripomastigotas sanguíneos que, após ruptura celular, caem na corrente sanguínea – momento em que podem ser ingeridos pelo vetor - e podem invadir novos macrófagos ou outras células de diferentes órgãos e tecidos do hospedeiro. Ao invadirem novas células, voltam à fase amastigota e novamente começam a se multiplicar (Figura 2).

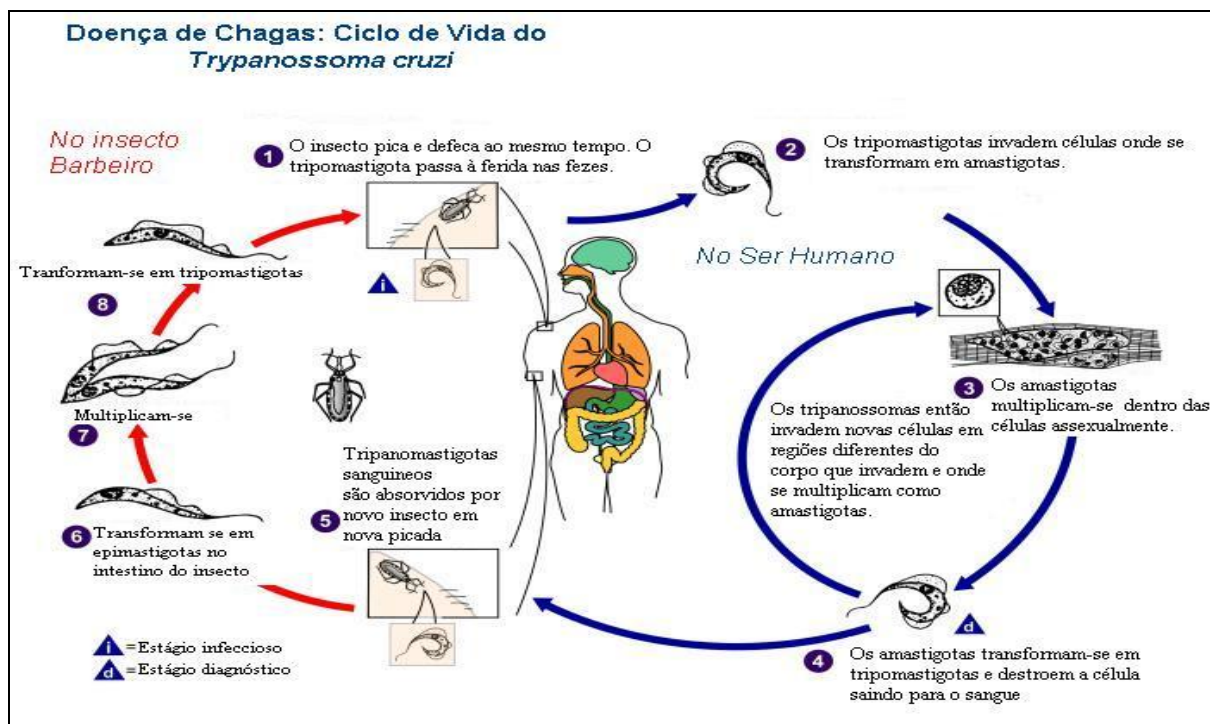


Figura 2 - Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* e sua relação parasito-hospedeiro.
Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention (2009).

2.1.5.3 Vetores

Os invertebrados vetores do *T. cruzi* são os triatomíneos, insetos Hemípteros da subfamília Reduviidae. Caracterizam-se pela hematofagia obrigatória, tanto em machos como em fêmeas, desde a primeira fase de vida até a forma adulta. Possuem hábitos noturnos, fotofobia, termotropismo positivo e presença de substâncias anticoagulantes e anestésicas na saliva (SCHOFIELD, 1979).

Fora das Américas encontram-se o gênero *Linshcosteus* (Distant, 1904) na Índia e as espécies próximas de *T. rubrofasciata* (De Geer, 1773) que estão distribuídas em todas as regiões tropicais (CARCAVALLO; JURBERG; LENT, 1997). Estudos filogenéticos sugerem que a subfamília Triatominae evoluiu independentemente nas Américas (SCHOFIELD, 2000).

Desde o início do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas no país, a partir da década de 1950, e de sua sistematização e estruturação na forma de programa de alcance nacional a partir de 1975, de um total de 138 espécies agrupadas em seis tribos formadas por 19 gêneros (GALVÃO *et al.*, 2003) então catalogados no Brasil e das 30 presentes em domicílios e peridomicílios, não mais

que cinco tinham participação direta na cadeia epidemiológica da doença (VINHAES; DIAS, 2000):

- a) *Triatoma infestans* (Klug, 1834) é a espécie que apresenta maior antropofilia. É predominantemente doméstica e a principal espécie vetora do *T. cruzi*. Sua distribuição já foi muito ampla nas regiões Sudeste, Sul, Centro-Oeste e Nordeste restando apenas alguns focos de importância no nordeste do Estado de Goiás e sul de Tocantins, na região do Além São Francisco, na Bahia, no norte do estado Rio Grande do Sul e no sudeste do Piauí (VINHAES; DIAS, 2000). Em 2006, o Brasil recebeu a Certificação pela Interrupção da Doença de Chagas pelo *T. infestans* estando à espécie controlada em níveis que não sustentam a transmissão do agente etiológico (BRASIL, 2006). Até o momento, o único país com populações silvestres de *T. infestans* é a Bolívia (RICHER *et al.*, 2007).
- b) *Triatoma brasiliensis* (Neiva, 1911) - com larga distribuição no semiárido nordestino e encontrado exclusivamente entre rochas. Pode invadir ambiente doméstico, mas não colonizá-lo (CARCAVALLO; JURBERG; LENT, 1997).
- c) *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) - espécie comum no país e a primeira a ser estudada por Carlos Chagas. Epidemiologicamente, é um dos mais importantes vetores no Brasil. É silvestre e encontrado na Amazônia onde foram encontrados insetos adultos nas residências com altas taxas de infecção por *T. cruzi* (MILES *et al.*, 1978). Também é comum na Bolívia, Colômbia e na Venezuela, onde tem sido sugerida como substituta de *Rhodnius prolixus* como vetor da Doença de Chagas (CARRASCO *et al.*, 2005).
- d) *Triatoma pseudomaculata* (Corrêa & Espínola, 1964) - ocorre nos Estados de Pernambuco, Paraíba, uma parcela do Ceará, sertão de Alagoas, Bahia, Minas Gerais, Piauí e Goiás (GONSALVES *et al.*, 1997). Podem invadir residências mas não há registros de colônias formadas (de La Fuente, 2008).
- e) *Triatoma sordida* (Stal, 1859) - espécie é nativa do cerrado, incluindo as áreas de transição de Maranhão-Piauí, da Bahia, do pantanal e do Chaco Oriental (FORATTINI, 1980), é a mais frequente e a que apresentou maior número de indivíduos positivos para flagelados no estado de Mato Grosso do Sul (ALMEIDA *et al.*, 2008). Sua importância reside no fato de ser predominantemente peridomiciliar, apresentar elevada expectativa de vida quando comparada a

outros triatomíneos (PELLI *et al.*, 2007) e ser a espécie mais capturada no Brasil.

No ambiente silvestre *T. sordida* costuma colonizar tocos e casca de árvores, topo de palmeiras, refúgios de gambás, tatus e roedores e estar relacionado com macacos e aves silvestres (CARCAVALLO *et al.*, 1997b). Em ambiente doméstico é muito comum em galinheiros, pombais, currais e estábulos, podendo também ocupar rachaduras nos entrenós de cana de açúcar. Apesar de apresentar marcada ornitofilia, pode utilizar outras fontes de alimento quando seu ambiente é desfigurado e suas ofertas alimentares reduzidas (DIOTAIUTI *et al.*, 1993), levando-o a invadir domicílios ou anexos domiciliares quando estes simularem os ecótopos naturais dos insetos.

Vale destacar as espécies *R. prolixus* (Stal, 1959) e *T. dimidiata* (Latreille, 1811) entre os principais vetores na América Latina, sendo a primeira com alta prevalência na América Central, noroeste da América do Sul, oeste dos Andes e domiciliada na Colômbia e Venezuela; e a segunda distribuída desde o centro do México até o Peru, chegando à Guiana, no leste (CARCAVALLO *et al.*, 1997b).

De acordo com a importância epidemiológica as espécies de triatomíneos podem ser classificadas em três categorias:

- a) predominantemente domiciliares - colonizam habitações humanas em alta densidade, antropofílicas e com altas taxas de infecção natural por *T. cruzi* como *R. prolixus* e *T. infestans*. Podem ser encontradas também em ambiente silvestre, exceto *T. rubrofasciata*, encontrada exclusivamente em ambiente doméstico (REY, 2008).
- b) semidomiciliares e peridomiciliares – costumam ser silvestres, mas invadem com frequência o ambiente doméstico podendo formar pequenas colônias. Espécies como *T. brasiliensis*, *P. megistus*, *T. sordida* e *T. pseudomaculata*, estão incluídas neste grupo (DIAS; DIOTAIUTI, 1998; NOIREAU *et al.*, 1999). *P. megistus* apresenta hábitos distintos conforme a região encontrada. No sul do Brasil é exclusivamente silvestre de Mata Atlântica e raramente é visto em domicílios. No interior do estado de São Paulo costuma colonizar galinheiros e outras construções peridomiciliares. Na Bahia, especialmente Salvador, coloniza residências em plena zona urbana (REY, 2008).
- c) estritamente silvestres – apesar de só transmitirem *T. cruzi* para o homem quando este invade os ecótopos selváticos, essas espécies mantêm os focos

naturais da zoonose. Destacam-se espécies como *P. geniculatus*, que vive associado a tocas de tatus e é encontrado em todas as áreas endêmicas da doença. *T. rubrovaria*, *T. vitticeps* e *R. domesticus* também estão nesta categoria (REY, 2008).

Os principais mecanismos de adaptação dos triatomíneos a ecótopos naturais ainda não são bem compreendidos (ABADH-FRANCH *et al.*, 2008; NOIREAU *et al.*, 2000) e os padrões ecológicos, de distribuição e preferências de cada espécie também necessitam de mais estudos (MARCILI, 2008).

Algumas espécies apresentam relação estreita com um ecótopo. *R. brethesi* é encontrado exclusivamente na palmeira *Leopoldina piassaba*. Outras espécies apresentam grande variedade de ecótopos, como *P. megistus* e *T. dimidiata*. Raramente os triatomíneos são encontrados em árvores. *T. infestans* e *T. sórdida* são exceções. Suas populações ocorrem em regiões de elevada altitude onde habitam rochas e em regiões de várzea vivem em árvores (DUJARDIN *et al.*, 2000; GAUNT; MILES, 2000; NOIREAU *et al.*, 2000).

Apesar dos esforços empreendidos no controle dos vetores domiciliados e semidomiciliados, a complexa relação entre vetores, hospedeiros silvestres, hospedeiros domésticos e o homem faz com que a doença de Chagas esteja longe de ser erradicada das Américas.

2.1.5.4 Hospedeiros silvestres

Mamíferos são hospedeiros de uma enorme gama de parasitos. Um grupo muito diverso de artrópodes adaptou-se a estes hospedeiros e muitos são importantes vetores de doenças (CHAVEZ, 2001).

No total, 194 espécies de mamíferos dentro de 30 famílias e 09 ordens ocorrem no Bioma Cerrado, ficando em terceiro lugar em diversidade perdendo apenas para Amazônia e Mata Atlântica, seguido pela Caatinga e Pantanal. Os maiores grupos são os roedores e quirópteros, representados por 81 e 51 espécies, respectivamente. Do mesmo modo Didelphimorphia e Xenarthra são ordens bem diversificadas e são elementos distintos da fauna mamífera neotropical (MARINHO-FILHO; RODRIGUES; JUAREZ, 2002).

Os mamíferos da ordem Xenarthra têm suas origens na América do Sul de onde há registros fósseis do período Terciário. Existem 30 espécies

contemporâneas de Xenarthros que representam o vestígio dessa grande diversidade. Quase que exclusivamente neotropical, a ordem Xenarthra é dividida nas subordens Cingulata (Dasypoda: Dasypodidae) e Pilosa (Vermilingua: Myrmecophagidae e Folivora: Megalonychidae e Bradypodidae) (DELSUC; STANHOPE; DOUZERY, 2003).

Cingulados da família Dasypodidae são os que possuem maior número de espécies descritas. Sua geografia abrange desde o Chile e Argentina até o sul dos Estados Unidos da América (DEUTSCH; PUGLIA, 1990). Dentro dessa família podem-se mencionar os gêneros e espécies encontrados no Brasil: *Cabassous unicinctus* - tatupeba, tatu de rabo mole, papa defunto; *Cabassous chacoensis* e *Cabassous tatouay* - tatu de rabo mole; *Priodontes maximus* - tatu canastra, tatu gigante; *Euphractus sexcinctus* - tatu peludo, tatupeba; *Tolypeutes matacus* - tatu bola, mataco; *Tolypeutes tricinctus* - tatu bola, tatuapara; *Dasypus novemcinctus* - tatu galinha, tatuê; *Dasypus septemcinctus* - tatu galinha, mulita.

A ordem Didelphimorphia compreende a grande maioria dos marsupiais americanos vivos, distribuídos do sudeste do Canadá ao sul da Argentina na altura da latitude 47°S (ROSSI; BIANCONI; PEDRO, 2006). A família Didelphidae, a única dentro da ordem Didelphimorphia, é composta por 19 gêneros e 92 espécies atualmente reconhecidas. Dentre eles, 16 gêneros e 55 espécies são encontrados no Brasil. A maioria das espécies é noturna e apresenta uma dieta onívora e/ou insetívora que pode incluir artrópodes, pequenos vertebrados, frutos e néctar (ROSSI; BIANCONI; PEDRO, 2006).

Dentro dessa família encontram-se importantes espécies do gênero *Didelphis* e *Philander*:

- a) *Didelphis albiventris* (gambá, raposa, saruê, seriguê, micurê) - a distribuição geográfica desta espécie inclui as porções leste e centro-oeste do Brasil, o Paraguai, o Uruguai, as regiões norte e central da Argentina e o sul da Bolívia (LEMOS; CERQUEIRA, 2002);
- b) *Didelphis aurita* (gambá, raposa, saruê, seriguê) - distribui-se na porção leste do Brasil, do estado de Alagoas a Santa Catarina, estendendo-se a oeste até o Mato Grosso do Sul, ocupando ainda o sudeste do Paraguai e a província de Misiones, na Argentina (BROWN, 2004; CERQUEIRA; LEMOS, 2000);

- c) *Didelphis imperfecta* (gambá, saruê, mucura) - encontra-se na Venezuela ao sul do rio Orinoco, sudoeste do Suriname, Guiana Francesa e extremo norte do Brasil (CERQUEIRA; LEMOS, 2000);
- d) *Didelphis marsupialis* (gambá, saruê, mucura) - possui ampla área de distribuição, que se estende do nordeste do México, até as regiões centrais do Brasil e da Bolívia (BROWN, 2004; CERQUEIRA; LEMOS, 2000);
- e) *Philander andersoni* (cuíca-de-quatro-olhos) – ocorre desde o sul da Venezuela, sul da Colômbia, leste do Equador, leste do Peru e extremo noroeste do Brasil (BROWN, 2004; PATTON; SILVA; MALCOLM, 2000);
- f) *Philander frenatus* (cuíca-de-quatro-olhos, gambá-cinza-de-quatro-olhos, cuíca-verdadeira) – em todo o leste brasileiro, dos arredores de Salvador, Bahia, a Santa Catarina, estendendo-se a sudoeste em direção à porção sul do Paraguai e regiões próximas da Argentina (PATTON; COSTA, 2003);
- g) *Philander mcilhennyi* (cuíca-de-quatro-olhos) - frequente na região amazônica do Peru central e oeste do Brasil, nos estados do Acre e Amazonas a leste do rio Madeira (PATTON; COSTA, 2003);
- h) *Philander opossum* (cuíca-de-quatro-olhos) - com ampla área de distribuição que se estende do México, até o centro da Bolívia e do Brasil próximo ao estado do Mato Grosso do Sul (PATTON; COSTA, 2003).

Os membros da família Dasypodidae e dos gêneros *Didelphis* e *Philander* recebem maior atenção já que são considerados reservatórios naturais do *T. cruzi* (COURA; DIAS, 2009; LEGEY *et al.*, 2003; YEO *et al.*, 2005) e por conviverem muito próximos do homem e animais domésticos, exceto o gênero *Philander* que é exclusivamente silvestre.

Em seres humanos, bem como em animais domésticos e alguns roedores, o *T. cruzi* pode ser fatal nos estágios agudos da doença, mas em pelo menos 30% dos casos ela torna-se crônica. Entretanto, não foi observada uma patogenicidade severa em tatus (SCHOFIELD, 2000), gambás (DEANE; LENZI; JANSEN, 1984; FERNANDES *et al.*, 1998a) e cuícas (LEGEY *et al.*, 2003), sugerindo que esses animais têm relação parasito-hospedeiro bem equilibrada com *T. cruzi*, devido a processos evolutivos lentos e gradativos, o que não ocorre com o homem, já que o mesmo é recente nas Américas (SCHOFIELD, 2000).

Em gambás a relação é mais complexa. No lúmen das glândulas de odor de *D. marsupialis* é possível encontrar as formas epimastigostas diferenciando-se em

formas tripomastigostas metacíclicas do parasito, o que só era vista nos vetores (JANSEN *et al.*, 1999). Além disso, *D. marsupialis* pode controlar ou mesmo eliminar a infecção de *T. cruzi* fazendo manutenção das cepas sem qualquer lesão tecidual aparente (DEANE; LENZI; JANSEN, 1984) enquanto *P. opossum* pode fazer manutenção de até dois tipos de cepas diferentes (PINHO *et al.*, 1993 apud JANSEN *et al.*, 1999).

Já foram encontrados três subgrupos de TCII em tatus. A caça e a utilização de tatus como alimento pode ter dado um impulso na transmissão do parasito flagelado. *Dasyus sp* e *E. sexcinctus* podem ser mantidos por certo tempo em cativeiro dentro das casas ou ao seu redor, podendo ser importantes fontes de transmissão de TCII para populações rurais, por gerarem oportunidades para infecção. *Dasyus sp* foi o primeiro hospedeiro a ser descrito por Carlos Chagas (YEO *et al.*, 2005).

O isolamento do TCIIa (MENDONCA *et al.*, 2002; POVOA *et al.*, 1984) a partir de seis tatus - associados ao triatomíneo vetor *P. geniculatus* - na floresta Amazônica levou a especulação de que tatus poderiam ser os principais hospedeiros de *T. cruzi* II (GAUNT; MILES, 2000) já que os hospedeiros naturais do TCII não estão claramente definidos (JANSEN *et al.*, 1999). Registros silvestres anteriores são esparsos (BRENIERE *et al.*, 1998; BARNABE *et al.*, 2001b, LISBOA *et al.*, 2000; PINHO *et al.*, 2000; YEO *et al.*, 2005).

Ao norte e ao sul da bacia Amazônica é frequente o encontro de gambás com TCI o que levou a considerar-se que esses animais e o grupo TCI têm uma história evolutiva muito próxima. *D. marsupialis*, *D. albiventris*, *D. virginiana*, *P. frenata* e *P. opossum* estavam, em sua grande maioria, infectados pelo grupo TCI, além de outros marsupiais e animais de hábitos arborícolas. Os grupos TCIIa e TCIIb também foram encontrados nesses animais, porém, em número muito inferior se comparado com TCI (YEO *et al.*, 2005).

As aves e os vertebrados ectotermos (lagartos, rãs e cobras), embora capazes de alimentar os vetores, não abrigam o *T. cruzi* em seu organismo, não sendo, portanto, considerados reservatórios (BARRETTO; RIBEIRO, 1979).

Esses dados mostram a importância de se conhecer as peculiaridades das espécies hospedeiras, seus ecótopos e vetores associados, bem como até que ponto o impacto humano pode levar esses animais a se aproximarem das pessoas e fazerem parte do ciclo de transmissão do *T. cruzi* no ambiente peridomiciliar.

2.2 Doença de Chagas

A doença de Chagas, ou tripanossomíase americana, é uma das mais importantes infecções parasitárias na América Latina, sendo superada apenas pela malária. Mais de 10 milhões de pessoas estão infectadas pelo protozoário agente, o *Trypanosoma cruzi*, protozoário flagelado pertencente à ordem Kinetoplastida da família Trypanosomatidae. A doença é uma zoonose complexa, com mamíferos como reservatórios ou hospedeiros naturais (MILES; FELICIANGELI; ARIAS; 2003). A área endêmica da América do Sul compreende os seguintes países: Colômbia, Venezuela, Equador, Peru, Brasil, Bolívia, Chile, Uruguai. Ocorre também nos países da América Central (GUHL; SCHOFIELD, 1996).

Inicialmente uma enzootia silvestre, transformou-se em uma antropozoonose com a intrusão do homem no ambiente natural no qual circulava o *T. cruzi*. A ocupação desorganizada dos espaços silvestres, fez com que se estabelecessem novos ciclos de transmissão. O homem e os animais domésticos passaram a fazer parte da cadeia epidemiológica da doença de Chagas devido à sua suscetibilidade ao *T. cruzi* e a proliferação de triatomíneos nas habitações, com possibilidade de intercâmbio do parasito entre o ciclo doméstico e silvestre (TARTAROTTI; AZEREDO-OLIVEIRA; CERON, 2004) podendo existir, inclusive, independentemente desse último (FERNANDES *et al.*, 1994).

Um importante exemplo no ciclo da doença é a região amazônica. Embora não considerada área endêmica até poucos anos, ela vem apresentando um crescente número de casos. Nesta região, o *T. cruzi* está iniciando seu ciclo peridomiciliar devido, principalmente, a ação antrópica sobre a área de floresta pressionando os vetores do parasito, os triatomíneos, a se dispersarem e iniciarem o ciclo domiciliar (TARTAROTTI; AZEREDO-OLIVEIRA; CERON, 2004). O ambiente mais seco gerado pelas modificações climáticas e decréscimo da quantidade de chuvas também tem favorecido a adaptação dos triatomíneos na região (VALENTE; VALENTE; FRAIHA NETO, 1999).

Apesar de todas as medidas de controle tomadas e a redução da infecção pela forma vetorial, a doença ainda é um grave problema de saúde pública (COURA, 2007; DIAS, 2006; DIAS; PRATA; CORREIA, 2008; SCHOFIELD; JANNIN; SALVATELLA, 2006).

Já foram encontrados mamíferos das ordens Didelphimorphia, Xenarthra, Chiroptera, Rodentia, Lagomorpha, Artiodactyla, Carnivora e Primates naturalmente infectados pelo *T. cruzi* o que os torna focos de manutenção do parasito no ambiente silvestre (REY, 2008). Dentre os animais domésticos destacam-se o cão, gato, rato doméstico (*Rattus rattus*) e cobaias (*Cavia porcellus*) (TARTAROTTI; AZEREDO-OLIVEIRA; CERON, 2004). Também já foram encontrados porcos e caprinos infectados com o protozoário (COURA; DIAS, 2009).

A transmissão é principalmente vetorial e acontece através da penetração do parasito no hospedeiro pela pele lesionada ou mucosa.

Outras vias de transmissão são a transfusional, transmissão congênita, transplantes de órgãos, infecção por ingestão do protozoário em alimentos contaminados, contaminação por secreções das glândulas anais de gambás (*Didelphis marsupialis*) e ingestão de animais infectados que possuem as formas tripomastigotas sanguíneos e amastigotas tissulares. (BARRETO; RIBEIRO; BELDA NETO, 1978; DIAS, 1940 apud RIBEIRO; GARCIA; BONOMO, 1987; DIAS, 2006; NEVES, 2005; PINTO *et al.*, 1980). Dados recentes apontam para o decréscimo da via de transmissão transfusional no Brasil (DIAS *et al.*, 2008).

A forma oral de transmissão, considerada a via mais importante para os animais silvestres que se infectam ingerindo vetores e reservatórios com os parasitos, tem se tornado comum entre humanos. Devido aos surtos ocorridos principalmente na região Amazônica (NOBREGA *et al.*; 2009) e alguns pontuais em Santa Catarina (STEINDEL *et al.*, 2008), Paraíba (SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 1991) e Bahia (DIAS *et al.*, 2008) a via oral é considerada a principal forma de infecção pelo *T. cruzi* na atualidade, especialmente após o controle do *T. infestans* - o principal vetor no ambiente doméstico - e a adoção de medidas preventivas nas transfusões de sangue (AGUILAR *et al.*, 2007; COURA *et al.*, 2002).

A principal característica nos casos de infecção oral é a severidade da doença, com muitos casos resultando em morte. As infecções orais em humanos ocorrem quando estes consomem produtos frescos onde o *T. cruzi* se encontra. As microepidêmias que ocorreram nos estados do Pará e Amazonas estão associadas com o consumo do fruto do açazeiro (AGUILAR *et al.*, 2007; COURA *et al.*, 2002), uma palmeira típica da região amazônica. Nos casos de Santa Catarina e Paraíba a contaminação se deu através do consumo do extrato líquido da cana de açúcar (SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 1991; STEINDEL *et al.*, 2008). Em ambos os casos,

provavelmente, devido aos triatomíneos infectados com tripanosomatídeos terem sido triturados junto com os frutos do açaizeiro ou o caule da cana-de-açúcar.

No caso da Bahia atribuiu-se a transmissão à água contaminada com as fezes do barbeiro (DIAS *et al.*, 2008).

Epidemiologicamente podem ser descritos três ciclos de transmissão vetorial de *T. cruzi*. O silvestre onde estão envolvidos somente mamíferos silvestres e triatomíneos que não se adaptaram ao domicílio. O ciclo doméstico onde há estreita interação do homem, animais domésticos e triatomíneos domiciliados. Sobrepondo esses dois ciclos encontra-se o peridoméstico. Esta sobreposição ocorre principalmente através de animais sinantrópicos que visitam ou mesmo fazem seus ninhos no peridomicílio, triatomíneos silvestres que eventualmente se aclimatam aos ecótopos artificiais (COURA *et al.*, 2002) ou mesmo animais domésticos que costumam caçar nos refúgios florestais próximos as residências (Figura 3).

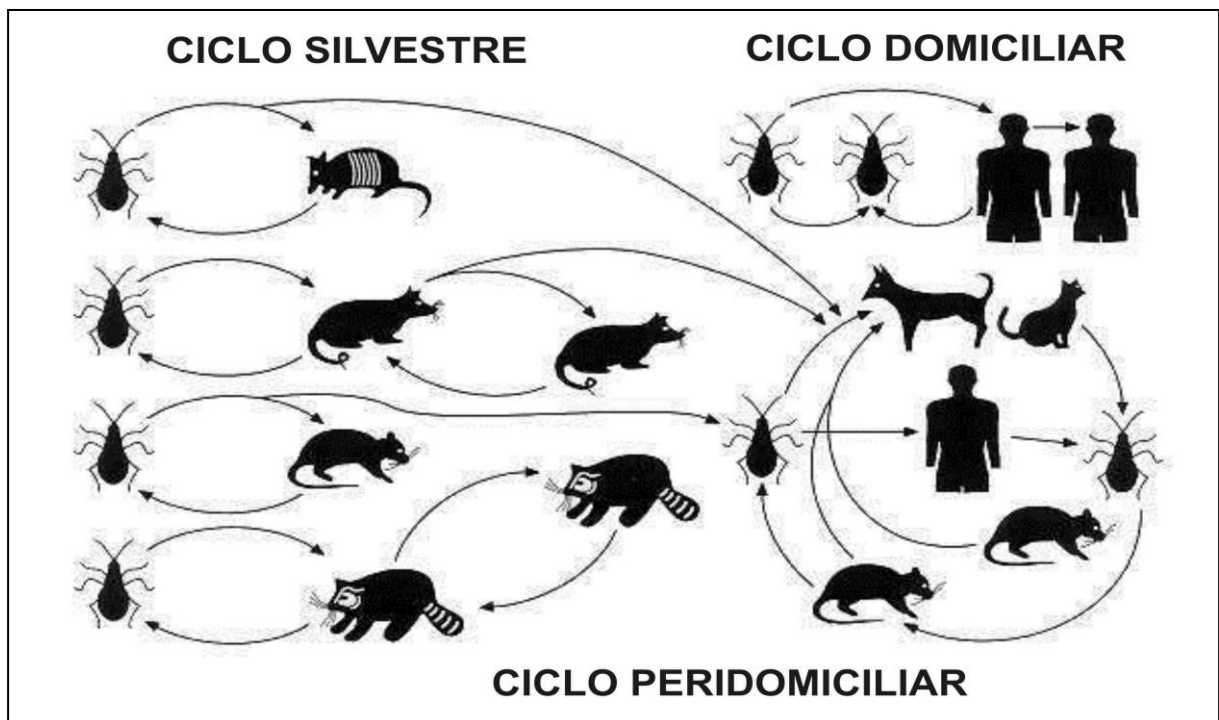


Figura 3 – Ciclos silvestre, domiciliário e peridomiciliário de *Trypanosoma cruzi*
 Fonte: Adaptado de Rodrigo Zeledón, 1996.

A doença de Chagas pode ser dividida em fases aguda e crônica. A fase aguda pode ser assintomática (em torno de 95% dos casos) ou sintomática e caracteriza-se por um quadro febril, de alta parasitemia e de curta duração, podendo variar de alguns dias a cerca de dois meses. Podem ocorrer manifestações clínicas leves como febre, sonolência, fadiga muscular, diarreia, edema e taquicardia,

desaparecendo espontaneamente os sintomas. Nesta fase, as lesões são principalmente em resposta à ruptura das células hospedeiras pelo *T. cruzi*. Raramente é letal, apenas quando ocorre severas miocardite e meningoencefalite (REY, 2008).

A fase crônica pode levar ao desenvolvimento de doença sintomática, apesar de se apresentar assintomática na maioria das vezes podendo durar anos ou até décadas. Em 94,5% dos casos os sintomas são cardíacos e em 4,5% dos casos ocorrem megassíndromes do aparelho digestório apesar da baixa parasitemia - ambos os sintomas relacionados a lesões no sistema nervoso simpático e parassimpático (REY, 2008; TEIXEIRA; NASCIMENTO; STURM, 2006).

Apesar da variabilidade de sintomas e as diferenças geográficas na distribuição das apresentações clínicas serem atribuídas principalmente à diversidade genética entre as populações do parasita, as características genéticas do hospedeiro humano e fatores ambientais provavelmente também desempenham um papel importante (BUSCAGLIA; di NOIA, 2003; MACEDO *et al.*, 2004; MARTINS, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2006). Além disso, distintos clones de uma mesma cepa podem apresentar tropismo por diferentes tecidos como cardíaco, o muscular, plexo mesentérico do esôfago e reto, entre outros (MACEDO *et al.*, 2004; MOREL *et al.*, 1980). Também podem ser vistas diferentes populações de *T. cruzi* associadas ao coração e esôfago de um único paciente (VAGO *et al.*, 2000).

A maioria dos pacientes com manifestações severas, miocardites e megassíndromes, vive em áreas endêmicas do Cone Sul como Chile, Argentina, Bolívia, Uruguai, Paraguai e Brasil - exceto na Amazônia. Os isolados desses pacientes tem sido caracterizados como TCIIb na sua maioria. As mesmas características clínicas causadas por TCIIId e TCIIe tem ocorrido principalmente na Bolívia e Paraguai (MARCILI, 2008).

Apesar da ausência de megassíndromes, pacientes chagásicos infectados com TCI podem apresentar formas clínicas severas. As taxas de mortalidade na fase aguda, na Venezuela, México e Panamá são alevadas (AÑEZ; CRISANTE; ROJAS, 2004; MILES *et al.*, 1981a; SALAZAR *et al.*, 2007; SOUSA *et al.*, 2006).

No Brasil, TCI tem sido associada com infecções rurais com a maioria dos casos agudos ocorrendo na Amazônia (AGUILAR *et al.*, 2007). A fase aguda que ocorre nessa região apresenta sintomas muito variáveis e pode ser grave, se não fatal, caso não seja tratada rapidamente (PINTO *et al.*, 2004; XAVIER *et al.*, 2006).

Foi demonstrada a presença de TCI em casos com forma cerebral da doença em pacientes HIV positivos na Colômbia (BURGOS *et al.*, 2005). No Brasil, os pacientes estavam infectados por TCII (LAGES-SILVA *et al.*, 2001).

Na Bolívia, a maioria dos isolados de pacientes com megacólon foi caracterizada como TCII_d e com raros casos associados a TCII_b (VIRREIRA *et al.*, 2006). No Brasil, casos de megacólon foram associados a Z2 e TCII (FREITAS *et al.*, 2005; LAGES-SILVA *et al.*, 2006; LAURIA-PIRES *et al.*, 1996; LUQUETTI *et al.*, 1986).

São pouco conhecidas as formas clínicas de pacientes infectados com Z3 com apenas casos assintomáticos comprovados (Amazônia). A forma cardíaco-digestiva crônica foi associada à Z3 no Equador (GARZÓN *et al.*, 2002).

Para a doença de Chagas não existem vacinas e os medicamentos disponíveis para o tratamento são tóxicos para o paciente. Sua eficácia é variável: até 80% de cura parasitológica na fase aguda; aproximadamente 60% de cura na fase crônica recente em crianças de 12 anos ou menos e melhorias clínicas em adultos na fase crônica (WHO, 2002).

No Brasil evidencia-se a influência do aspecto socioeconômico relacionado à origem e manutenção da transmissão vetorial, uma vez que a população frequentemente atingida pertence a classes menos favorecidas com pouco ou nenhuma qualidade de vida (VINHAES; DIAS, 2000).

Apesar dos esforços empreendidos na tentativa de erradicar essa doença no Brasil e em outros países do Cone Sul a manutenção do ciclo silvestre da doença impede que tal objetivo seja atingido. Tem-se trabalhado com a perspectiva de controlar a transmissão - principalmente em áreas endêmicas da doença - eliminando os focos domésticos e peridomésticos dos vetores, maior vigilância em bancos de sangue e, mais recentemente, controle na preparação de alimentos derivados de palmeiras e cana-de-açúcar (DIAS, 2006; DIAS; PRATA; CORREIA, 2008; VINHAES; DIAS, 2000).

2.2.1 Doença de Chagas em Mato Grosso do Sul

Os primeiros trabalhos realizados sobre a doença em Mato Grosso do Sul, registram a presença dos vetores *P. megistus* (Burmeister, 1935) e *T. sordida* (Stal, 1859) nas unidades domiciliares de vários municípios do Estado (NEIVA; PINTO,

1923). Trabalhos posteriores mostraram a presença de *P. geniculatus* (Latreille, 1811) (FORATTINI, 1960; TRAVASSOS; FREITAS, 1942), *Psammolestes coreodes* (Bergroth, 1911), *R. pictipes* (Stal, 1872) e *T. sordida* (Stal, 1859) na região de Salobra (TRAVASSOS; FREITAS, 1943)

O *T. infestans* começou a ser capturado a partir da década de 1970, porém sempre em baixa densidade e frequentemente no intradomicílio. Estudos apontaram a presença de *T. infestans* em 38 dos 50 municípios do Estado, um total de 76% dos municípios investigados (SILVEIRA; FEITOSA; BORGES, 1984). A partir da década de 1980 houve a expansão do Programa de Controle da Doença de Chagas em Mato Grosso do Sul e em 1992 foi implantado o Programa de Eliminação do *Triatoma infestans* (PETi) que reduziu a presença do vetor para apenas 23 municípios (BRASIL, 1992). Após a conclusão dos trabalhos em 1995, Mato Grosso do Sul recebeu certificação de Estado Livre do Vetor em Domicílios pela Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) (COURA, 2003). Atualmente o Programa de Controle da Doença de Chagas (PCDCh) está orientado à vigilância das espécies secundárias de vetores no Estado (BRASIL, 2000).

Almeida *et al.*, (2008) mostraram a presença de *T. sordida* como a espécie mais abundante (13.102 exemplares ou 95,8% do total) seguida por *R. neglectus* (Lent, 1954) (415 exemplares), *P. geniculatus* (Latreille, 1291) (51 exemplares) e *T. williami* (Galvão *et al.*, 1965) (29 exemplares). No mesmo trabalho, apenas *P. geniculatus* (3,2%), *R. neglectus* (0,6%) e *T. sordida* (0,1%) apresentaram positividade para *T. cruzi*.

Outras espécies encontradas – apenas 74 exemplares - pelo Núcleo de Vigilância Entomológica do Estado foram: *P. megistus*, *T. baratai* (Carcavallo & Jurberg, 2000), *T. brasiliensis* (Neiva, 1911), *T. matogrossensis* (Leite & Barbosa, 1953), *T. vanda* (Carcavallo *et al.*, 2002), *R. pictipes* (Stal, 1872), *P. diasi* (Pinto & Lent, 1946) e *P. guentheri* (Berg, 1879) (ALMEIDA *et al.*, 2008).

No período de 1975 a 1979 na região de Fátima do Sul, MS, foram identificados casos humanos com soroprevalência de 3%. Em biótopos naturais foram verificados reservatórios domésticos e silvestres além do encontro de *Triatoma infestans* - naturalmente infectado nos domicílios rurais -, *T. sordida*, *R. neglectus* e *P. geniculatus* (SILVA, 1979).

Em um inquérito sorológico nacional realizado no período 1975-1980, o estado de Mato Grosso do Sul apresentou um índice de 2,64% de chagásicos enquanto para o Brasil o valor era de 4,2% (CAMARGO *et al.*, 1984).

Em estudos realizados verificou-se a predominância de casos alóctones, principalmente de áreas rurais, com baixa escolaridade e com antecedente de contato com os triatomíneos (BORGES, *et al.*, 2001; POMPILIO *et al.*, 2005).

Sobre a morbidade encontra-se somente o estudo realizado por Pompilio *et al.*, (1998) no Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul no período de 1986-1996 no qual foram registradas as formas clínicas indeterminada, cardíaca, digestiva e mista, entre autóctones e alóctones.

Estudos realizados no pantanal sul mato-grossense por Herrera *et al.*, (2008b) mostraram a presença de *T. cruzi* em quatis (*Nasua nasua*) em uma taxa de infecção de 32.1% para TCII, 28% para TCI e 7.1% para Z3. Morcegos também foram incriminados como reservatório do parasito (MARCILI *et al.*, 2009c). Entre os animais domésticos o cão tem sido apontado como hospedeiro do flagelado. Trabalhos no estado mostraram que este animal é um importante reservatório do *T. cruzi*, o que é preocupante devido a sua proximidade com o homem (MARCILI *et al.*, 2009c; SOUZA, 2007; UMEZAWA *et al.*, 2009).

2.3 Diagnóstico laboratorial

A sensibilidade das técnicas parasitológicas e imunológicas no diagnóstico da infecção chagásica é variável, dependendo principalmente da região endêmica investigada. Conforme a fase em que se encontra a doença – aguda ou crônica – certos tipos de exames podem ou não ser utilizados. Isso porque alguns testes só se mostram eficientes quando o número de parasitos na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado encontra-se elevado – característica da fase aguda da doença. Nessa fase o parasito pode ser detectado através de métodos diretos de exames parasitológicos como o exame a fresco, o esfregaço em camada delgada ou a gota espessa, além de métodos indiretos como a hemocultura e xenodiagnóstico (CERISOLA; CHABEN; LAZZARI, 1962).

A fase crônica, caracterizada por uma discreta parasitemia, afasta a possibilidade de exame microscópico direto do sangue, necessitando de métodos indiretos que possibilitem a multiplicação dos parasitos (CAMARGO *et al.* 1979).

2.3.1 Pesquisa de parasitos no sangue

Nas primeira seis ou oito semanas de infecção os tripanosomas são abundantes na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado podendo ser encontrados por exame a fresco. A técnica consiste em examinar uma gota de sangue fresco - entre lâmina e lamínula – graças a sua mobilidade (REY, 2008). Também é utilizado o esfregaço corado com Giemsa que permite identificar o parasito morfológicamente (REY, 2008).

Quando a parasitemia fica reduzida a pesquisa em gota espessa torna-se mais conveniente quando comparada com o exame a fresco e a busca de parasitos pela técnica de micro-hematócrito, onde o parasito é visto na interface hemácias/soro do capilar, também é útil nessa fase (REY, 2008).

O método baseado na detecção do parasita é altamente específico, porém limitado pela sensibilidade já que os parasitos são detectados somente em 20-50% dos indivíduos infectados, resultando em muitos resultados falso-negativos (GOMES, 1997).

2.3.2 Xenodiagnóstico

Esta técnica ainda vem sendo utilizada principalmente na fase crônica da doença, mas sua utilização na fase aguda é mais eficiente com resultados apresentados após sete a 10 dias (REY, 2008).

Também se leva em conta a espécie de triatomíneo utilizada no exame. Estudos comparando ninfas de *Dipetalogaster maximus* e *T. infestans* mostraram maior infecção nas ninfas da primeira espécie (56%) que da segunda (36%) (BARRETO *et al.*, 1978). Em outro trabalho, *P. megistus* foi mais sensível que *T. infestans* nos exames (BORGES-PEREIRA *et al.*, 1996). Um maior número de ninfas utilizadas também gera maior positividade (SCHENONE; ALFARO; ROJAS, 1974).

Os principais pontos negativos apresentados para que essa técnica não seja rotineira nos exames é sua baixa sensibilidade e o tempo – pode levar até 90 dias para que um resultado final seja apresentado (REY, 2008).

2.3.3 Cultura de parasitos

Utilizam-se principalmente os meios bifásicos com base de ágar-sangue (NNN - McNeal, Novy & Nicolle), LIT (Liver Infusion Tryptose) ou pelo meio de Warren. Entretanto, a cultura de parasitos na detecção de *T. cruzi* não tem sido muito produtiva sendo mais da metade dos casos não diagnosticada como positiva (REY, 2008).

Alterações como aumento do volume de sangue coletado para 30 ml, retirada imediata do plasma e adição do sedimento ao meio LIT e conservação a 4°C para posterior processamento apresentam melhora significativa, com 55% de positividade contra 27,5% do xenodiagnóstico (CHIARI *et al.*, 1989).

Também já foi observada sensibilidade de 94% com hemoculturas de 30 ml de sangue e processamento imediato do exame, com o tempo máximo de 30 min (LUZ *et al.*, 1994).

2.3.4 Testes imunológicos

São testes que apresentam maior sensibilidade e facilidade de execução. São utilizados para confirmar ou excluir o diagnóstico positivo suspeito além de selecionar doadores em bancos de sangue.

2.3.4.1 Hemaglutinação indireta (HAI)

Proposta por Cerisola; Chaben; Lazzari (1962) apresenta alta sensibilidade em soros de pacientes na fase crônica. Entretanto, reatividade cruzada com soros de pacientes com leishmanioses pode ocorrer e resultados confiáveis só podem ser obtidos quando utilizados reagentes de boa procedência e rigorosamente padronizados (CAMARGO; HOSHINO-SHIMIZU, 1974; CAMARGO *et al.* 1987). Tem sido utilizada com frequência em diagnósticos devido a sua realização em microplacas, que possibilita a execução de grande número de amostras e leitura rápida e direta (CAMARGO; HOSHINO-SHIMIZU, 1974).

2.3.4.2 Imunofluorescência indireta (IFI)

Usado desde a década de 1960 como o de maior sensibilidade quando comparado com a reação de fixação do complemento (Machado-Guerreiro) (CERISOLA; ROHWEDDER; PRADO, 1971), embora reações cruzadas com anticorpos de leishmanioses, hanseníase, tuberculose e *T. rangeli* tenham sido verificadas na região do rio Negro, Amazonas (COURA *et al.* 1999). Ainda assim, é o método mais adequado para inquéritos epidemiológicos em larga escala (REY, 2008).

2.3.4.3 Imunoenzimático (ELISA)

Utilizada principalmente na fase de confirmação do diagnóstico sorológico em bancos de sangue e em estudos clínico-epidemiológicos nos quais são exigidos no mínimo resultados de dois testes com técnicas diferentes. Teste simples e barato, podendo ser automatizado quando for necessário processamento de grande número de amostras (REY, 2008).

2.3.5 Reação da Polimerase em Cadeia (PCR)

O desenvolvimento da PCR por Kary B. Mullis, em 1983, foi considerado como o grande avanço da biologia molecular (MULLIS; FALOONA, 1987; MULLIS, 1990). Esta técnica estendeu o alcance da análise de DNA e fez com que a biologia molecular encontrasse novas aplicações tais como, medicina, agricultura e biotecnologia (BROWN, 2003).

A PCR reproduz a habilidade natural de replicação do DNA, podendo ser repetida em larga escala. Requer, primeiramente, o conhecimento - pelo menos parcial - do DNA alvo de um determinado organismo, para o desenvolvimento de oligonucleotídeos iniciadores (primers) ou sondas que irão se hibridizar especificamente à sequência alvo (YANG; ROTHMAN, 2004).

Com o aumento do número de genomas de patógenos sendo sequenciados, catálogos de genes podem ser explorados para o desenvolvimento de testes diagnósticos baseados em PCR.

Em *T. cruzi*, o DNA mitocondrial (kDNA) representa cerca 20 a 25% do DNA total da célula (ENGLUND *et al.*, 1996) e é composto por dois tipos de moléculas: os maxicírculos (40-50) e os minicírculos (5.000-10.000). Os minicírculos dos tripanosomatídeos são extremamente heterogêneos no tamanho e na sequência (Figura 4). Os padrões de digestão de kDNA por endonucleases de restrição (esquizodemas) são característicos de espécies, subespécies, cepas e clones dos tripanosomatídeos (MOREL; SIMPSON, 1980; MOREL *et al.*, 1980).

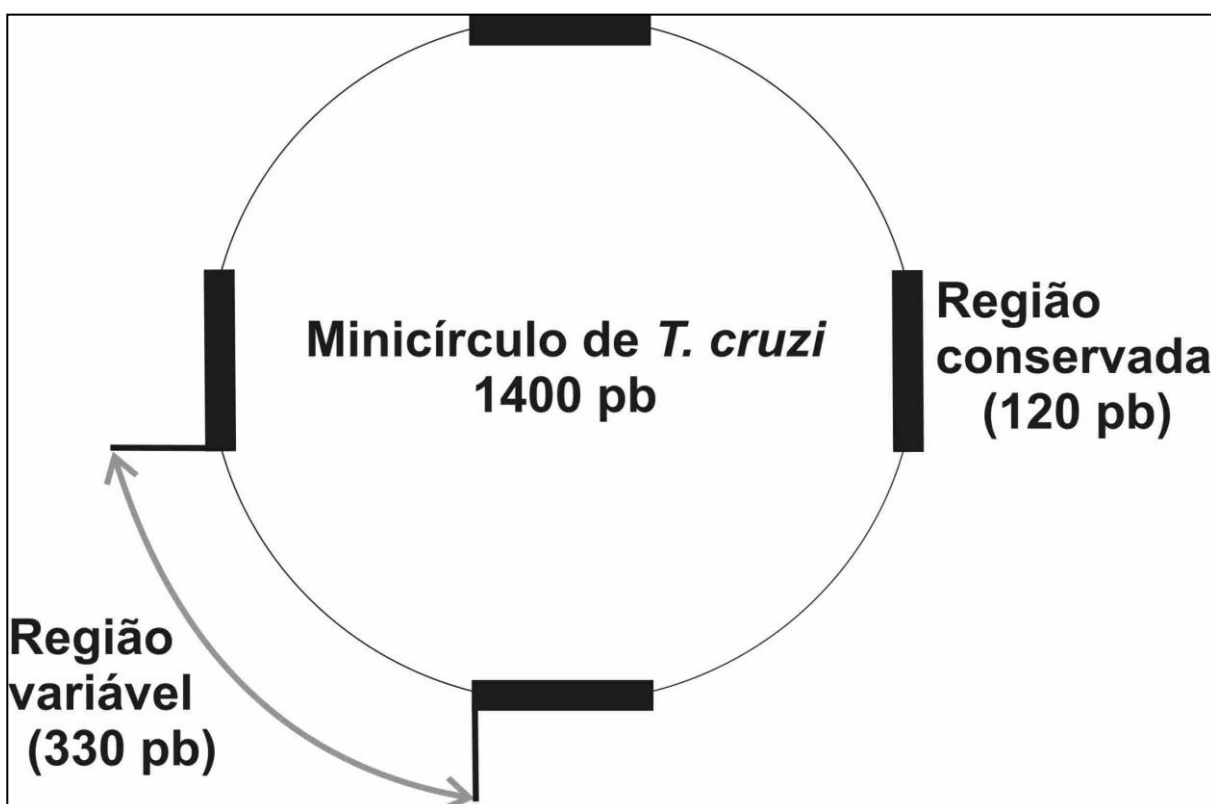


Figura 4 - Representação esquemática do minicírculo mostrando a organização das quatro regiões conservadas (retângulos em preto), de aproximadamente 120 pb cada, usados para desenhar os iniciadores utilizados em diagnóstico molecular pela PCR. As regiões com sequências hipervariáveis dos minicírculos de 330 pb (seta cinza) encontram-se intercaladas com as regiões conservadas

Nota: Adaptado de Sturm *et al.*, (1989).

A amplificação por PCR de minicírculos de kDNA resulta nos métodos de diagnósticos mais sensíveis para *T. cruzi* (ÁVILA *et al.*, 1990, 1993; BRITTO *et al.*, 2008; GOMES *et al.*, 1999; JUNQUEIRA; CHIARI; WINCKER, 1996; STURM *et al.*, 1989; WINCKER *et al.*, 1994) e a identificação de linhagens de *T. cruzi* (genotipagem) tem sido amplamente utilizada (BRISSE; VERHOEF; TIBAYRENC, 2001; FERNANDES *et al.*, 1998a, 1998b; FERNANDES *et al.*, 1999; SOUTO *et al.*,

1996), além de possibilitar a segregação do parasito em duas grandes linhagens: *T. cruzi* I e *T. cruzi* II (SOUTO *et al.*, 1996).

A sensibilidade da PCR na detecção de DNA de *T. cruzi* foi comprovada em modelos experimentais, como cão (ARAÚJO *et al.*, 2002) e camundongos (MIYAMOTO *et al.*, 2007) e também no sangue de humanos (ÁVILA *et al.*, 1993; BRITTO *et al.*, 1995a; CASTRO *et al.*, 2002; GOMES *et al.*, 1998) credenciando seu uso como teste confirmatório em resultado duvidoso (MIYAMOTO *et al.*, 2007).

Também pode ser utilizada no controle pós-terapêutico e na detecção do nível de parasitemia em imunodeprimidos por técnica quantitativa visando intervenção terapêutica ou profilática precoce (técnica da PCR em tempo real – qPCR) (PORTELA-LINDOSO, SHIKANAI-YASUDA, 2003).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar a ocorrência de infecção natural por *Trypanosoma* sp em insetos triatomíneos, animais domésticos e silvestres na comunidade rural de Furnas do Dionízio, estado de Mato Grosso do Sul.

3.2 Objetivos específicos

Para a consecução do objetivo geral foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- a) proceder ao levantamento das espécies de triatomíneos que ocorrem na comunidade de Furnas do Dionízio;
- b) identificar os possíveis hospedeiros silvestres e domésticos dos parasitos;
- c) realizar exames parasitológicos para verificar a presença e percentagem de flagelados nos vetores e hospedeiros;
- d) identificar os protozoários por meio da PCR.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipologia

Este estudo qualifica-se como quantitativo experimental, com coleta de dados primários.

4.2 Período da pesquisa

As coletas de dados primários foram realizadas entre os meses de maio e novembro de 2009 em 20 residências que foram selecionadas por fazerem parte da região central da comunidade. A análise dos dados foi realizada nos meses de dezembro de 2009 a abril de 2010.

4.3 Área de coleta

A área de coleta foi definida a partir de estudos que mostraram a presença de cães infectados por *T. cruzi* em Furnas do Dionízio (SOUZA, 2007). É uma comunidade rural localizada no município de Jaraguari a 45 km de Campo Grande, ao sul da Vila Paratudo e ao norte do distrito de Rochedinho, no Estado de Mato Grosso do Sul. Está situada nas latitudes 20° 9' 1.34" S e longitudes 54° 34' 27.17" O e com área de aproximadamente 1.031,89 ha (Figura 5), onde residem 86 famílias de afrodescendentes.

Na área de estudo existe somente uma Formação Geológica, a Serra Geral, do Grupo São Bento, que é irrigada pelos córregos Lageado, Salto, Mangue e Pulador e está inserida no Bioma Cerrado sendo composta basicamente por formação Savânica e Florestal sendo esta última principalmente nas encostas dos morros.

A vegetação nativa corresponde a aproximadamente 58% da cobertura do solo e abriga muitas espécies de animais, algumas ameaçadas de extinção como o tamanduá bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e a suçuarana (*Felis concolor*), sugerindo que a região se tornou um refúgio da biodiversidade do cerrado (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

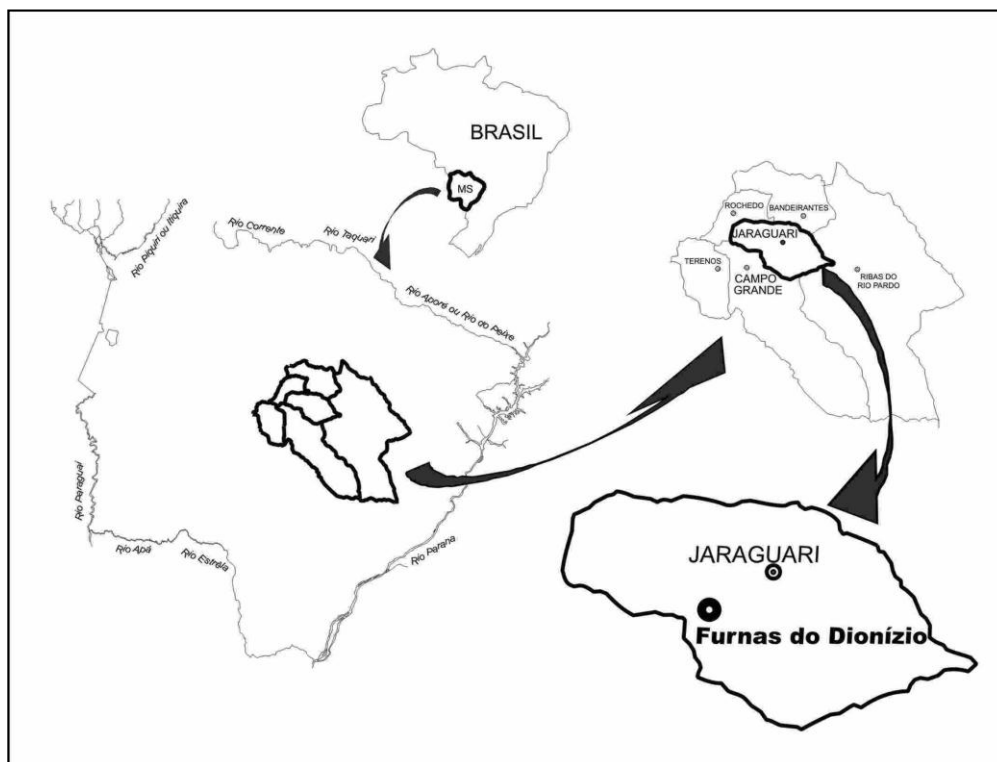


Figura 5 - Localização de Furnas do Dionízio, Mato Grosso do Sul, Brasil

A economia do local é voltada para a subsistência e o pequeno comércio. Baseia-se na criação de animais de pequeno ou médio porte, principalmente bovinos, aves e porcos. A produção de leite e derivados e o cultivo de pequenas lavouras de mandioca, cana-de-açúcar, milho e outras horticulturas ocupa a mão-de-obra local, provendo sustento e redução da imigração para outras áreas (OLIVEIRA; MARINHO, 2005).

A maioria dos membros da comunidade tem produção própria, cujos excedentes são comercializados em cidades próximas: derivados do processamento da cana-de-açúcar e da raiz da mandioca além de compota de frutas locais (doces de caju, mamão, goiaba, guavira, entre outros). Todos produzidos através de processos artesanais e métodos passados de geração em geração (OLIVEIRA; MARINHO, 2005).

Grande parte das moradias apresenta anexos de madeira como pocilgas, galinheiros e currais. Em sua maioria, esses anexos são construídos com madeira extraída da área florestal da comunidade. Além disso, pode-se notar que as casas são construídas muito próximas a refúgios vegetais preservados para propiciar sombra e frutos para os proprietários do lote (Figura 6).



Figura 6 - Vista geral de área residencial onde foram encontrados triatomíneos

É uma área naturalmente vulnerável devido principalmente às suas características de relevo (Figura 7). Os maiores riscos para o ambiente, e consequentemente para os moradores, vêm do desmatamento de encostas e da ausência de vegetação nas margens dos córregos. O acúmulo de resíduos orgânicos – devido à ausência sistema de coleta de lixo - e falta de saneamento básico – como água tratada e esgoto - ainda são também características da comunidade.



Figura 7 - Imagem de satélite da comunidade de Furnas do Dionízio, MS, Brasil, 2010

Fonte: Google earth (2009).

4.3.1 Locais de captura

Foram pesquisados um curral, 20 galinheiros, 12 galpões e 20 pocilgas. As áreas de entulhos de madeiras e telhas próximas às residências também foram investigadas.

Os locais onde foram encontrados os triatomíneos foram classificados como: L1 (pocilga de alvenaria e madeira nova), L2 (curral de madeira nova), L3 (galinheiro de alvenaria e madeira extraída da floresta local) e L4 (residência de alvenaria).

4.4 Coleta de triatomíneos

Foram realizadas seis coletas entre os meses de maio e novembro de 2009, em 20 residências. Os insetos foram capturados usando-se pinças anatômicas de tamanhos variados, acondicionados em sacos plásticos perfurados e levados para o Laboratório de Parasitologia Humana da UFMS para pesquisa de infecção natural por flagelados.

A identificação dos triatomíneos foi feita utilizando-se as chaves gráficas para tribos, gêneros e espécies (CARCAVALLO *et al.*, 1997a).

Das residências, apenas uma apresentou infestação intradomiciliar por triatomíneos: uma fêmea adulta e três ninfas de primeiro estágio.

Nos anexos peridomiciliares investigados – currais, galinheiros, galpões, pocilgas - em três deles foram encontrados 124 espécimes de triatomíneos entre entulhos de telhas, madeira, estopas velhas ou entre as cascas das árvores usadas para reforma dos locais (Figura 8).



Figura 8 - Locais de encontro e captura de triatomíneos

Legenda: A. curral; B. galinheiro; C. pocilga; D. residência.

No total, foram capturados 128 triatomíneos sendo que a única espécie encontrada foi *T. sordida*, em todos os estádios de vida como exemplificados na figura 9.

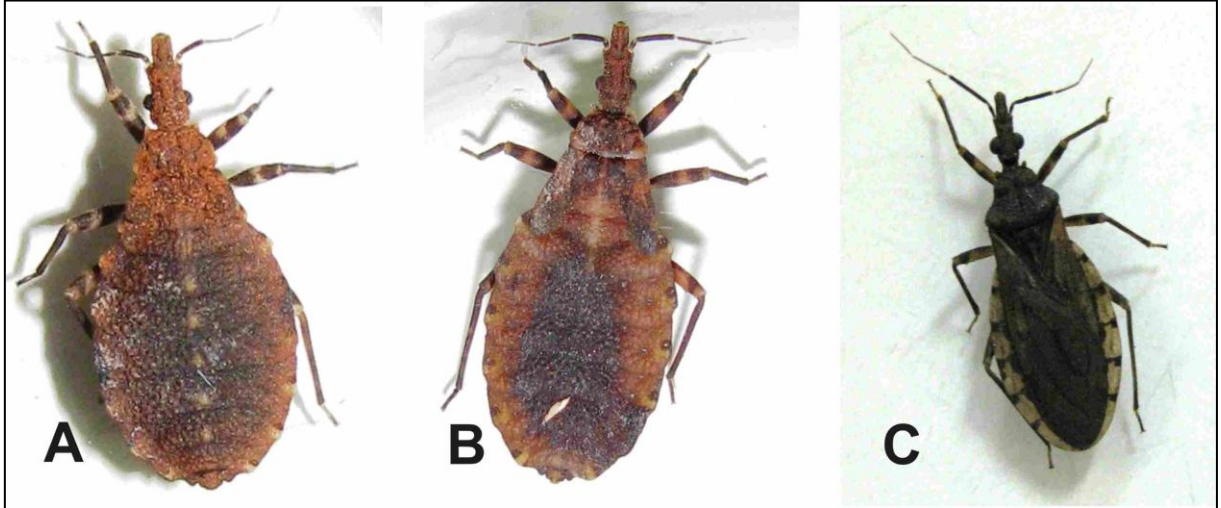


Figura 9 - *Triatoma sordida* encontrado em Furnas do Dionízio, MS, Brasil
Legenda: A. ninfa de 4º estágio; B. ninfa de 5º estágio; C. adulto.

4.5 Captura/contenção/sedação dos hospedeiros vertebrados para coleta de sangue

Foram capturados entre os hospedeiros vertebrados silvestre, dois gambás (*Didelphis albiventris*), quatro ratos (*Rattus rattus*) e um tatu galinha (*Dasypus novemcinctus*) totalizando sete animais.

Entre os animais domésticos, foi feita a contenção de duas bezerras (*Bos taurus*), um cão (*Canis familiaris*), cinco caprinos (*Capra sp*), cinco porcos (*Sus scrofa*) e 51 ovinos (*Ovis aries*) totalizando 64 animais, como exemplificado na figura 10.

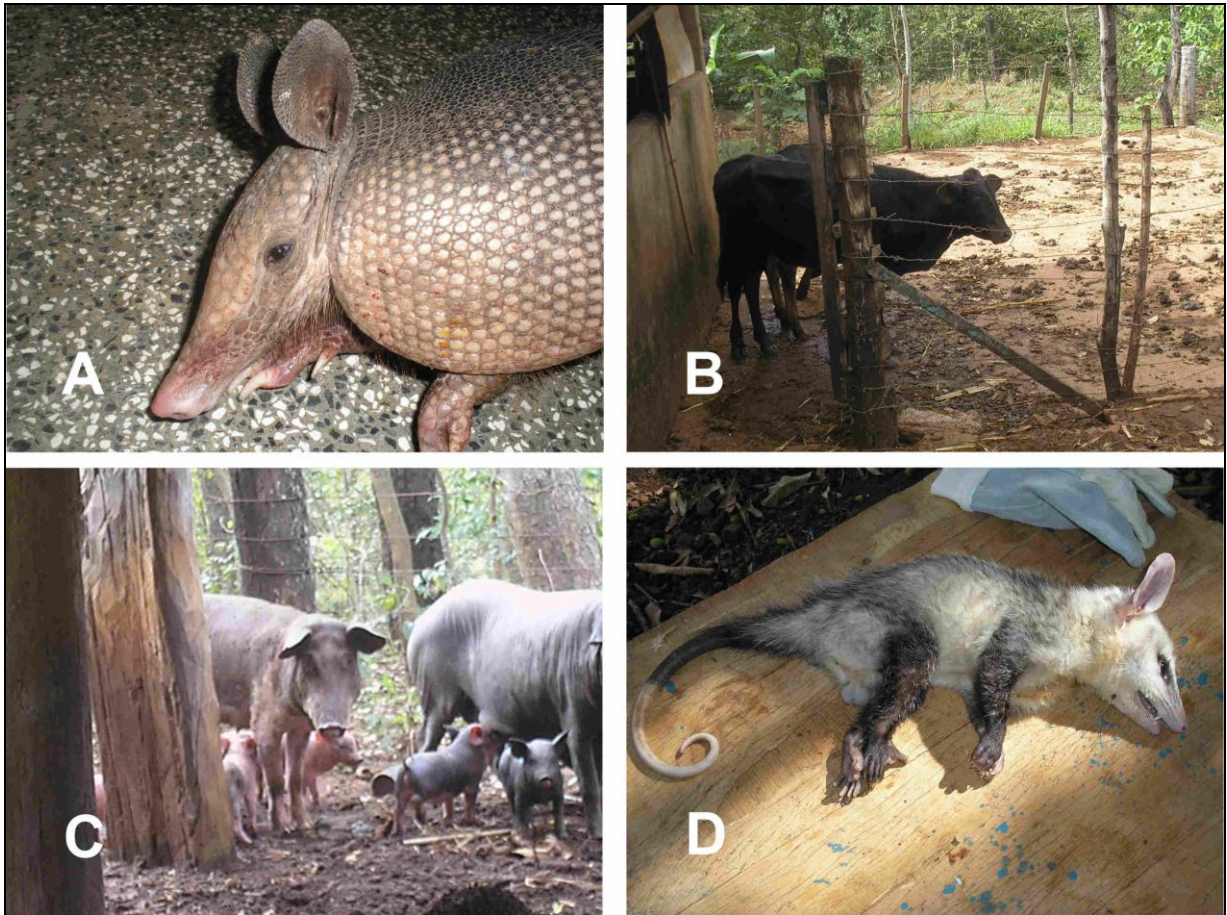


Figura 10 - Animais silvestres e domésticos encontrados em Furnas do Dionízio, MS, Brasil

Legenda: A. *Dasypus novemcinctus*; B. *Bos taurus*; C. *Sus scrofa*; D. *Didelphis albiventris*).

4.5.1 Captura de animais silvestres

A técnica de amostragem utilizada foi por conveniência (não probabilística). Os hospedeiros vertebrados silvestres foram capturados utilizando-se armadilhas Tomahawk com dimensões de 50 x 22,5 x 20,5 cm colocadas nos locais onde foram encontrados barbeiros positivos para flagelados.

Após a captura, os animais foram pesados e sedados administrando-se Vetanarcol[®] (König) injetável - sedativo a base de Cloridrato de Ketamina a 50 mg/mL - associado a Anasedan[®] (Vetbrands) injetável – sedativo a base de Cloridrato de Xilasina a 2 g/100 mL – na proporção de 2:1 mL respectivamente.

A dose administrada foi de 0,2 mL/Kg da associação com agulha BD[®] tamanho 25 x 0,6 mm via intramuscular. Os animais foram soltos após um período de observação mínimo de 15 horas.

Após este procedimento a região torácica do animal foi limpa com pano úmido e logo em seguida com álcool 70% para desinfecção. Logo a seguir foram coletadas as amostras de sangue. Cada animal recebeu uma marcação - para evitar sobreposição de dados – e foi medido e fotografado.

4.5.2 Contenção de animais domésticos

Para a seleção dos animais domésticos utilizou-se a amostragem por conveniência (não probabilística). Foram selecionados os animais dos locais onde ocorreram triatomíneos positivos para flagelados. A área de coleta de sangue foi limpa com pano úmido seguido da desinfecção com álcool 70%. Logo a seguir foram coletadas as amostras.

4.6 Coleta de amostras

4.6.1 Nos hospedeiros vertebrados

Foi coletada uma amostra (2 a 4 mL) por punção cardíaca nos animais silvestres e por punção venosa jugular nos domésticos com agulha BD[®] tamanho 25 x 0,6 mm para estudos laboratoriais em tubos de ensaio de 5 mL a vácuo contendo EDTA.

4.6.2 Nos triatomíneos

Foram coletadas amostras do tubo digestório procedente de extrusão abdominal e da hemolinfa através da secção das patas dos insetos.

4.7 Exames laboratoriais

4.7.1 Parasitológico

4.7.1.1 Em triatomíneos

O exame consistiu na compressão do abdome do inseto para coleta de material fecal em solução salina que foi depositado em uma lâmina e examinado em microscópio óptico com aumento de 40 X. As lâminas que apresentavam positividade eram fixadas em álcool metílico e coradas pela técnica de Giemsa.

Quando verifica a positividade no exame a fresco, as fezes diluídas na solução salina eram semeadas (seis-10 gotas) em cultura de meio NNN (McNeal, Novy & Nicolle) + meio Schneider, com leitura semanal a partir do sétimo dia da semeadura.

Após o exame os espécimes (positivos ou não) foram acondicionados, isoladamente, em tubos eppendorf de 2 mL contendo álcool 70% para posterior exame de caracterização molecular.

4.7.1.2 Amostras de sangue para exame direto

Foram realizadas a técnica de Woo (1969) e o esfregaço em camada delgada. Parte da amostra (1mL a 3 mL) foi congelada para posterior exame de caracterização molecular.

O material (seis gotas do sangue) foi ainda inoculado em meio sólido NNN (McNeal, Novy & Nicolle) + meio Schneider, com leitura foi semanal a partir do sétimo dia da semeadura.

4.7.2 Molecular

Foi realizada a extração do DNA a partir do sangue total dos animais e de um pool das culturas de *T. cruzi* semeadas a partir da compressão do abdômen dos triatomíneos.

De cada amostra (sangue total ou cultura) foi retirada uma alíquota de 200 µL em tubos eppendorf de 2 mL no qual foram acrescentados 400 µL de tampão de lise

e homogeneizado por 20 s em agitador. Adicionaram-se 100 µL de SDS (1%) e homogeneizou-se a solução por 2 min em agitador. Adicionou-se 40 µL de proteinase K (20 mg/mL) e homogeneizou-se por 20 s em agitador. A solução foi incubada por 2 h a 55°C em banho Maria.

Foram adicionados à amostra 500 µL de solução clorofórmio/álcool isoamílico (24:1) e homogeneizou-se por 20 s. Centrifugou-se por 15 min a 15.700 g em microcentrífuga modelo Eppendorf 5415D. A fase aquosa resultante de centrifugação foi pipetada em outro tubo eppendorf de 1,5 mL onde foi acrescentado 2 vezes o volume de álcool isopropílico resfriado a 4°C. Homogeneizou-se por inversão 50 vezes e incubou-se a 4°C overnight. Centrifugou-se a amostra por 10 min a 4°C a 15.700 g. Descartou-se o sobrenadante.

Seguiu-se a lavagem do material. Adicionou-se 500 µL de etanol 70% resfriado a 4°C ao sedimento e centrifugou-se por 5 min a 4°C a 13.400 g. Após esse tempo, descartou-se o sobrenadante e repetiu-se o último passo duas vezes. Secou-se o pellet formado em banho seco a 60°C e ressuspendeu-se o pellet em 100 µL de água ultrapura autoclavada. As amostras foram guardadas a -20°C podendo ficar assim por até dois anos.

Para identificação do protozoário foi utilizada a metodologia da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Foram utilizados dois iniciadores: S35 (5'-AAATAATGTACGGG(T/G)GAGATGCATGA-3') e S36 (5'-GGGTTTCGATTGGGGTTGGTGT-3'), que amplificam um fragmento de 330 pares de base (pb) e se anelam as sequências da região constante dos minicírculos do kDNA do *T. cruzi* (STURM *et al.*, 1989). A utilização dos iniciadores S35 e S36 foi baseada em estudo que confirma sua eficácia na identificação do parasito (PORTELA-LINDOSO, 1999) podendo identificar o *T. cruzi* tanto para o tipo TCI como para o tipo TCII apresentando resultados confiáveis (BARRERA *et al.*, 2008).

O programa de amplificação constou de uma desnaturação inicial a 95°C (10 min) e de 35 ciclos com desnaturação a 94°C (30 s), anelamento a 50°C (1min) e extensão a 72°C (1min) seguida de extensão final de 10 minutos em um termociclador BIOER modelo XP cycler.

Os produtos da reação foram aplicados em gel de agarose a 2% em tampão TBE 1X (tris base, ácido bórico e EDTA) e submetido à eletroforese em campo elétrico de 80v:400mA por 1h e 40min. Para visualização foi utilizado brometo de etídio e câmara com luz ultravioleta.

4.8 Aspectos éticos

O projeto foi encaminhado à Comissão de Ética no Uso de Animais, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para análise e foi aprovado sob o número de protocolo 207/2009 em 19/03/2009.

A autorização para atividade com finalidade científica foi concedida pelo IBAMA inscrita sob o número 16611-1.

Todas as recomendações da Declaração Universal dos Direitos dos Animais e os princípios éticos da experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) foram seguidos.

5 RESULTADOS

5.1 Diagnóstico parasitológico

5.1.1 Triatomíneos

Dos 128 triatomíneos examinados, 23 (18%) apresentaram positividade para flagelados (Tabela 1).

Tabela 1 – Local de captura de triatomíneos e positividade para flagelados verificada através de exame a fresco, Furnas do Dionízio, MS, Brasil, 2009

Local de captura	Intradomicílio		Peridomicílio	
	Nº	Positivos	Nº	Positivos
L1	-	-	60	16
L2	-	-	42	01
L3	-	-	22	06
L4	04	-	-	-
Total	04	-	124	23

L1: pocilga de alvenaria e madeira nova; L2: curral de madeira nova; L3: galinheiro de alvenaria e madeira extraída da floresta local; L4: residência de alvenaria.

5.1.2 Hospedeiros vertebrados

Foram realizados exames de micro-hematócrito (técnica de Woo), exame a fresco e semeadura em meio de cultura (NNN + Schneider) (Tabela 2).

Trypanosoma sp foi observado pela técnica de Woo (1969) e em cultura em meio NNN a partir do sangue de dois bovinos e um gambá.

Tabela 2 – Casos positivos para *Trypanosoma* sp segundo testes parasitológicos de animais silvestres e domésticos, local de procedência, Furnas do Dionízio, MS, Brasil, 2009

Animal	n	Procedência	Casos positivos para <i>Trypanosoma</i> sp		
			MH	EF	HC
<i>Didelphis albiventris</i>	2	L1	-	-	1
<i>Rattus rattus</i>	4	L2	-	-	-
<i>Dasypus novemcinctus</i>	1	L1	-	-	-
<i>Bos taurus</i>	2	L1	2	-	2
<i>Canis familiaris</i>	1	L1	-	-	-
<i>Capra</i> sp	5	L2	-	-	-
<i>Sus scrofa</i>	5	L1	-	-	-
<i>Ovis aries</i>	51	L2	-	-	-
Total	71		2	-	3

L1: pocilga de alvenaria e madeira nova; L2: curral de madeira nova.

MH. micro-hematócrito; EF. exame a fresco; HC. Hemocultura.

n. número de amostras.

5.2 Diagnóstico molecular

Os resultados da amplificação dos DNAs para *Trypanosoma cruzi* pelos iniciadores (primers) S35 e S36 estão apresentados na figura 11.

Das amostras de culturas de triatomíneos foi selecionado um pool dividido em três frações, sendo que duas apresentaram positividade para *T. cruzi*. Das amostras de sangue total obtidos dos 71 animais domésticos e silvestres, duas apresentaram-se positivas: a do sangue de um dos gambás e a do sangue de um dos porcos.

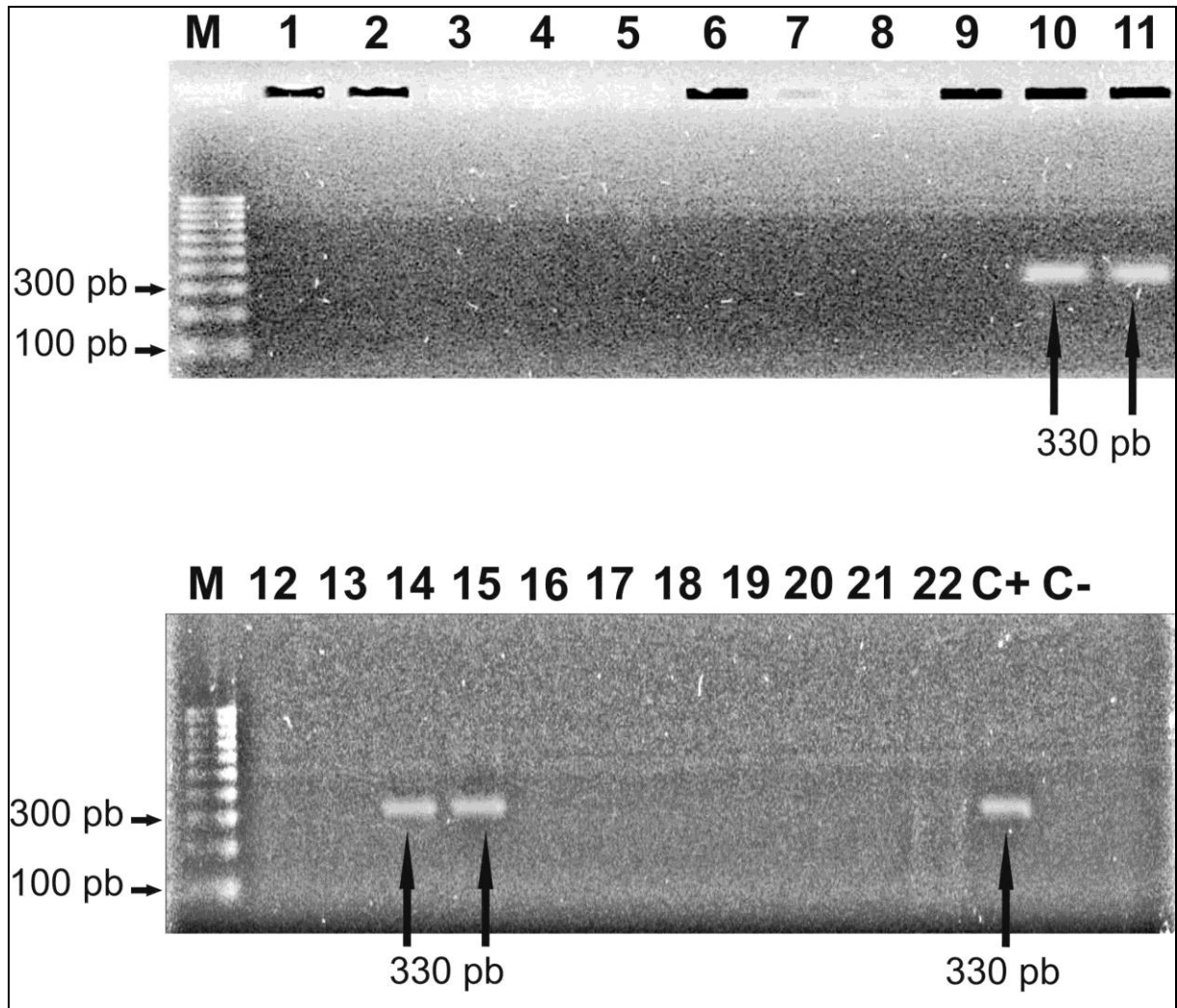


Figura 11 – Produto da amplificação dos iniciadores S35 e S36 para *T. cruzi*

Legenda: M. marcador; 1 e 2 raspado de lâmina de cultura positiva de gambá (duplicata); 3. cão; 4. bezerra a; 5. bezerra b; 6. porco a; 7. porco b; 8. porco c; 9. porco d; 10. porco e; 11 e 12. gambá (duplicata); 13 e 14. fração de cultura de fezes de triatomíneo a (duplicata); 15 e 16. fração de cultura de fezes de triatomíneo b (duplicata); 17. fração de cultura de fezes de triatomíneo c; 18. tatu galinha; 19. rato a; 20. rato b; 21. rato c; 22. rato d; C+. controle positivo; C-. controle negativo.

6 DISCUSSÃO

No Brasil, após trabalho de ação oficial de controle da doença através da borrifação de inseticidas de ação residual, o número de capturas de *T. infestans* diminuiu na maioria dos estados brasileiros existindo hoje apenas focos em alguns Estados do país. Porém, ao mesmo tempo em que era visto queda na população dessa espécie nos ecótopos artificiais, foi notado aumento considerável da presença dos outros triatomíneos, especialmente *T. sordida* (VINHAES; DIAS, 2000).

Estudos entomológicos demonstraram que espécies secundárias de triatomíneos aumentaram sua densidade nos domicílios e peridomicílios nos últimos anos mostrando que a definição do papel primário ou secundário das diferentes espécies de triatomíneos não pode ser um conceito geral, devendo-se considerar o potencial de domiciliação local da espécie e a pressão que as modificações ambientais possam acarretar ao processo de formação de colônias domiciliares (DIAS *et al.*, 1994).

A espécie *T. sordida* é encontrada com muita frequência no estado de Mato Grosso do Sul, mas sua taxa de positividade para *T. cruzi* é muito baixa, não representando risco de transmissão do parasito (PELLI *et al.*, 2007), entretanto, seja em domicílio ou anexos, a convivência com triatomíneos e mamíferos infectados aumenta a possibilidade da infecção humana (TOLEDO *et al.*, 1997). Na comunidade estudada, a única espécie vetora encontrada foi *T. sordida*, porém a frequência de insetos positivos apresentou-se maior (18%) que a encontrada por Almeida *et al.* (2008) no Estado (0,1%) mesmo quando somado aos outros vetores encontrados positivos para *T. cruzi* - *Panstrongylus geniculatus* (3,2%) e *Rhodnius neglectus* (0,6%).

Triatomíneos são encontrados associados a casas de madeira e taipa, visto que esses locais simulam as condições encontradas nos ecótopos dos insetos em ambiente silvestre. Na região do estudo essa era a característica principal das residências até pouco mais de cinco anos, porém não foram observadas melhorias nos anexos às moradias, como pocilgas, galinheiros e currais, salvo raras exceções. Estas estruturas são construídas ou reformadas, na maioria das vezes, a partir da madeira extraída da própria mata. Foram também observados montes de madeiras e telhas próximos ou mesmo dentro desses locais. Esse tipo de situação cria ambiente propício para colonização e reprodução dos barbeiros que, apesar de não terem sido

encontrados colonizando as moradias das pessoas, estavam muito próximos das mesmas - não mais que 30 m distante delas - e o triatomíneo costuma sugar o sangue do animal (ou homem) que estiver mais próximo (WISNIVESKY-COLLI, 1987).

Apesar de *T. sordida* não ser considerado um vetor eficiente, principalmente devido aos seus hábitos alimentares – ornitofílicos - e preferência peridomiciliar (ALMEIDA *et al.*, 2008), é uma espécie que merece atenção uma vez que inúmeros fatores devem ser considerados antes de declarar uma espécie como um eficiente (ou não) vetor do *T. cruzi*. A capacidade de *T. sordida* colonizar tanto ecótopos artificiais como naturais – além de grande resistência a modificações ambientais (DIOTAIUTI *et al.*, 1993) - o torna importante vetor no ciclo peridoméstico dificultando o controle do parasito. Diferentemente, *T. infestans*, que é predominantemente domiciliar e com poucos casos de encontro em ambiente silvestre, tem sido controlado de maneira mais eficiente - através do uso de inseticidas de ação residual - uma vez que não será possível a manutenção de suas colônias domiciliares a partir de ecótopos naturais.

Nesse sentido, Oliveira-Lima *et al.* (2000) sugerem que, além da borrifação cíclica, deve-se fazer um controle com inseticidas em qualquer anexo logo após a descoberta do vetor, não deixando tempo para que ocorra aumento da colônia.

A capacidade de defecção dos estádios ninfais e adulto deve ser levado em consideração. Foi observado que 41% das ninfas de quinto estágio de *T. sordida* costumam defecar durante o repasto sanguíneo (CROCCO; CATALÁ, 1996), enquanto *T. maculata* 31% após 60 segundos de repasto (MOURA, 2001), *T. infestans* 3,3% (ZELEDÓN; ALVARADO; JIRÓN, 1977) e *T. vitticeps* praticamente não defeca durante o repasto ou mesmo após longos períodos de intervalo, apesar dessa espécie ser encontrada com as mais altas taxas de infecção natural por *T. cruzi* (GONÇALVES *et al.*, 1988).

As fêmeas de *T. sordida* também apresentaram grande capacidade de dispersão, ficando até 85% do tempo médio de duração da fase alada ovipondo, podendo dispersar até 570 ovos, em média (SOUZA, RODRIGUES, ROCHA e SILVA, 1978). Esse fato é relevante uma vez que as fêmeas em estágio adulto costumam procurar novos abrigos para postura dos ovos (FORATTINI *et al.*, 1977)

Estudos realizados BORGES-PEREIRA *et al.* (2001) mostraram taxa de 1,83% de soropositivos para doença de Chagas no município de Jaraguari, ao qual

pertence Furnas do Dionízio. Esse valor ficou muito próximo do encontrado para todo o distrito sanitário de Rio Verde (1,83%), Mato Grosso do Sul – que compreende municípios de Alcinópolis, Bandeirantes, Camapuã, Corguinho, Coxim, Jaraguari, Pedro Gomes, Rio Negro, Rio Verde, Rochedo, São Gabriel e Sonora.

Nesse distrito sanitário, os mesmos autores observaram a manutenção dos ecótopos silvestres do triatomíneo e pequeno número de moradias com condições de abrigar populações do *T. sordida*, fator que teria dificultado a transmissão do *T. cruzi* na área estudada. Isso, porém, não é a realidade de Furnas do Dionízio. A maior parte das plantações de cana de açúcar e mandioca – principal fonte econômica da comunidade – costuma ser cultivada nas encostas dos morros, alterando a cobertura vegetal nativa, levando os triatomíneos a se deslocarem para os ecótopos artificiais mais próximos.

A descaracterização da cobertura vegetal silvestre é um dos principais fatores de infestação e reinfestação de triatomíneos nas moradias com condições de abrigar populações dos insetos vetores (FORATTINI, 1980) - característica observada nos anexos peridomiciliares pesquisados, além da habilidade dos triatomíneos em se dispersar por diferentes habitats (TARTAROTTI; AZEREDO-OLIVEIRA; CERON, 2004). Uma vez que o ambiente natural é afetado pela ação antrópica, os triatomíneos e animais silvestres – suas fontes de alimento – tendem a se deslocar para ambientes favoráveis a obtenção de sustento e abrigo.

Frequentemente as moradias e anexos peridomiciliares das zonas rurais simulam as características dos ecótopos naturais, tanto dos triatomíneos como de suas fontes alimentares. Além disso, estando estabelecida uma moradia humana no local, é prática habitual a criação de animais domésticos que ofereçam sustento para os moradores (como galinhas, porcos, ovelhas e gado bovino) e proteção (como cães e gatos). Os animais domésticos representam fonte de alimento para os triatomíneos e mais um fator que favorece o estabelecimento do ciclo de transmissão doméstica do *T. cruzi*.

Após as investigações realizadas, acredita-se que o impacto ambiental na área seja um dos principais motivos da contínua colonização e recolonização de triatomíneos nos ecótopos artificiais e sugere-se que estudos quanto ao desmatamento e reconstituição vegetal sejam realizados.

A prática comum na área do plantio de cana-de-açúcar para consumo do extrato líquido e produção de derivados como rapadura, melão e açúcar mascavo

merece atenção, já que o barbeiro - após se instalar nas rachaduras dos entrenós da planta - pode ser triturado durante a extração do caldo que é ingerido a fresco e é passível de veicular o flagelado por via oral (SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 1991). Já foi verificado que o parasito é viável de quatro a 24 horas no extrato líquido da cana (PINTO *et al.*, 1990; SOARES *et al.*, 1987). Apesar de ser considerada pontual (DIAS, 2006), essa forma de transmissão tem sido relatada com alguma frequência nos últimos anos em especial em plantações de açaí, uma palmeira que o triatomíneo costuma usar como habitat (VALENTE *et al.*, 2001) e também pode ser um veículo para o flagelado devido ao processo utilizado na extração da matéria prima do fruto.

Deve-se levar em conta que carnívoros domésticos – cães e gatos – podem se contaminar com o protozoário por via oral, uma vez que sua dieta é complementada - principalmente nas áreas rurais - com a caça dos reservatórios silvestres do *T. cruzi* em refúgios florestais. Assim, apesar de *T. sordida* ser apontado como um dos responsáveis pela veiculação do protozoário na área de estudo, uma vez que foram encontrados cães positivos para *T. cruzi* em Furnas do Dionízio, não se deve excluir a possibilidade de infecção oral desses animais. Exames sorológicos em cães na comunidade mostraram uma taxa de infecção de 10,7% nesses animais, valor muito superior ao encontrado em outras localidades de Mato Grosso do Sul (3%) (SILVA, 1979; SOUZA, 2007).

Cães têm sido apontados como principais animais domésticos hospedeiros de *T. cruzi*, grande capacidade de transmissão do parasito para triatomíneos, além de ser a única espécie a apresentar as mesmas características clínicas observadas em humanos (CRISANTE *et al.*, 2006; HERRERA *et al.*, 2005; MONTENEGRO *et al.*, 2002; REITHINGER *et al.*, 2005; SHADOMY *et al.*, 2004; SOSA-JURADO *et al.*, 2004). Seu contato muito próximo com o homem cria condições de transmissão da doença que são facilitadas na comunidade já que esses animais costumam dormir muito próximos – se não no local – onde foram encontrados os insetos vetores infectados por flagelados.

O animal doméstico encontrado positivo para *T. cruzi* na comunidade foi o porco (*Sus scrofa*). Trabalhos anteriores já mostraram que esses animais podem ser hospedeiros do parasito (SALAZAR-SCHETTINO *et al.*, 1997; VALENTE, 1999). A técnica utilizada para abater o animal nas comunidades rurais leva o agente de tal

ato a sujar-se com o sangue do porco o que, no caso de contato com lesões no epitélio ou mucosas, pode levar a infecção.

Infecções laboratoriais em ratos a partir de cepas de *T. cruzi* isoladas de porcos no México mostraram-se mais virulentas e com a parasitemia se apresentando após seis dias da inoculação enquanto que as inoculações com isolados de cães mostraram-se menos virulentas e parasitemia detectada após nono dia de inoculação (SALAZAR-SCHETTINO *et al.*, 1997).

Herrera *et al.* (2008a) encontraram em porcos monteiros elevada prevalência de *T. cruzi* (28,5% de 17 espécimes capturados) na região do Pantanal do Rio Negro, MS, Brasil. Os mesmos autores apresentam as mudanças no ambiente silvestre como possível agente capaz de diminuir a resistência dos animais de vida livre a infecções por microrganismos patogênicos – entre eles o *T. cruzi* –, além desses mesmos animais participarem da manutenção do ciclo silvestre da doença quando em ambiente selvagem.

Nesses trabalhos, tanto Herrera *et al.* (2008a) quanto Salazar-Schettino *et al.* (1997), relatam que os porcos estavam com aparência saudável e o xenodiagnóstico realizado por Salazar-Schettino *et al.* (1997) não mostrou positividade, apesar de ter sido isolado o parasito dos mesmos porcos. Isso leva a crer que esses animais apresentam-se frequentemente na fase crônica da doença, caracterizada pela baixa parasitemia, o que dificulta o encontro de *T. cruzi* no sangue através de exames parasitológicos. O mesmo fato pode ser visto pelos resultados deste trabalho, uma vez que apenas o exame molecular – através da PCR – foi capaz de identificar o parasito em porcos da comunidade.

Estudos demonstram que a presença de animais domésticos - principalmente galinhas e cães - vivendo ou dormindo próximos às residências influencia o número e infectividade dos triatomíneos (CATALÁ; CROCCO; MORALES, 1997). Dias *et al.* (2002) também associaram a presença de animais domésticos com sorologia reativa para doença de Chagas em humanos.

Foi possível observar animais sinantrópicos visitando com frequência às casas e construções adjacentes. Tal fato torna-se preocupante já que esses animais normalmente fazem parte do ciclo silvestre da doença podendo criar um elo entre o parasito, animais domésticos e/ou o homem (COURA; DIAS, 2009).

A localidade com maior índice de positividade dos triatomíneos para flagelados coincidiu com o local onde ocorreu a captura dos dois gambás (*Didelphis*

albiventris) e o porco (*Sus scrofa*) infectados por *T. cruzi*. Os marsupiais eram frequentemente vistos próximos aos anexos domiciliares onde podem encontrar alimentos sem dificuldade devido ao fato de algumas galinhas fazerem seus ninhos em bambuzais próximos à residência.

Esse resultado sugere que os marsupiais podem estar participando ativamente da transmissão do parasito na comunidade, já que, além de serem considerados atualmente os principais reservatórios do parasito (COURA; DIAS, 2009), os mesmos foram vistos pelos moradores frequentando e até mesmo fazendo seus ninhos onde foram encontrados os triatomíneos.

Fernandes *et al.* (1989) mostraram a importância desses animais na relação parasito-hospedeiro. As preocupações principais residem no fato do gambá ser comum em ambiente florestal e ao mesmo tempo sinantrópico, criando um elo para *T. cruzi* entre o ambiente silvestre e o doméstico além de se apresentar naturalmente (FERNANDES *et al.*, 1991) e experimentalmente (REY, 2008) infectado pelas formas epimastigotas e tripomastigotas em suas glândulas adanais, índice de infecção relativamente altos (FERNANDES *et al.*, 1991; GRISARD *et al.*, 2000; RAMIREZ *et al.*, 2002; SCHLEMPER *et al.*, 1985) e parasitemia patente de longa duração (ZELEDÓN *et al.*, 1970).

A presença das formas epimastigotas e tripomastigotas encontradas nas glândulas anais de gambás resulta em importantes considerações na cadeia epidemiológica da doença uma vez que são as mesmas formas encontradas no lúmen intestinal do inseto vetor, podendo assim ocorrer à transmissão do parasito através das secreções de suas glândulas (DIAS, 2006). Além disso, gambás são apontados como filtros biológicos dos diferentes genótipos de *T. cruzi* (DEANE *et al.*, 1984a, b; DVORAK *et al.*, 1988; MACEDO; PENA, 1998).

Devido as suas características ecológicas e comportamentais, os gambás facilmente se aclimatam a ambientes antropizados quando encontram condições adequadas para sobrevivência. Os principais fatores que levam os marsupiais a invadir o peridomicílio são evidenciados na comunidade de Furnas do Dionízio: destruição do ambiente silvestre, construções de casas e anexos peridomiciliares - onde ocorre o nicho do animal - os quais acabam se tornando abrigo para os gambás, oferta de alimento a partir do acúmulo de lixo orgânico e criação de galinhas poedeiras em espaços abertos.

O encontro de hemoflogelados em dois bovinos ainda é motivo de estudo. Apesar da sua identificação molecular não ter sido realizada, sua morfologia é muito semelhante à de *Trypanosoma theileri*, parasito cosmopolita - comum em mamíferos da ordem Artiodactyla - e que já foi encontrado em rebanhos bovinos de Mato Grosso do Sul (MARTINS; LEITE; DOYLE, 2008). Apesar da baixa parasitemia - além de não ser considerada espécie patogênica - pode induzir infecções crônicas quando associada com doenças concomitantes (DOHERTY *et al.*, 1993; SEIFI, 1995). Sua transmissão é atribuída a tabanídeos, dípteros de importância médica-veterinária e econômica, já que a hematofagia realizada pelas fêmeas causa espoliações sanguíneas e transmissão de patógenos (BASSI; CUNHA; COSCARÓN, 2000). Novos levantamentos, cultura e isolamento do parasito para estudos com biologia molecular estão sendo realizados.

A técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) como principal ferramenta na identificação do *T. cruzi* foi utilizada devido a sua especificidade, sensibilidade e por apresentar vantagens quanto aos métodos tradicionais de identificação da infecção pelo parasito (BRITTO *et al.*, 2002; PORTELA-LINDOSO, SHIKANAI-YASUDA, 2003), especialmente nos casos de infecção crônica, quando o parasito na corrente sanguínea é dificilmente encontrado. BRITO *et al.* (2002) afirmam que a PCR deve ser considerada como padrão-ouro na detecção de parasitos circulantes para o diagnóstico da doença de Chagas.

Protocolos direcionados para diferentes alvos do parasito já foram descritos, porém, as moléculas de minicírculo do cinetoplasto (kDNA) possuem características que as tornam alvo ideal para amplificação pela PCR uma vez que apresentam elevado número de cópias e cada molécula é constituída por quatro regiões conservadas que ocorrem em todas as cepas e isolados do *T. cruzi* (BRITO, 2009). Estudos conduzidos em distintas áreas geográficas do Brasil e América Latina revelaram que o ensaio da PCR baseado na amplificação do DNA do cinetoplasto (kDNA), demonstrou ser o método mais sensível (BRITTO *et al.*, 1995b; JUNQUEIRA; CHIARI; WINCKER, 1996; COURA *et al.*, 1994; WINCKER *et al.*, 1994).

O critério na realização do diagnóstico molecular através da PCR nas amostras de sangue total dos hospedeiros vertebrados levou em conta o local onde foi encontrado o maior número de triatomíneos infectados - a pocilga - justificando

porque a mesma não foi empregada, até o momento, no material dos caprinos e ovinos para verificar positividade para *T. cruzi*.

O flagelado encontrado nas amostras de cultura a partir das fezes de triatomíneos selecionadas foi identificado positivamente como *T. cruzi* pela técnica da PCR. Apesar dos parasitos não terem sido observados pela técnica de Woo, exame a fresco e cultura em meio NNN nas amostras de sangue coletadas na pocilga – exceto um dos gambás -, *T. cruzi* foi positivamente identificado através da PCR em um dos porcos e um gambá mostrando a possível participação desses animais no ciclo de transmissão do *T. cruzi* na comunidade. Esse resultado mostra a PCR como valiosa ferramenta na identificação de *T. cruzi* em animais e deve ser utilizada mesmo quando testes parasitológicos não apresentarem positividade.

São poucas as informações sobre a doença de Chagas em Mato Grosso do Sul, o que se evidencia pelo número de publicações sobre o tema. Estudos sobre o ciclo silvestre da doença, os principais reservatórios (domésticos e silvestres) ainda são necessários.

Esses resultados serão úteis em trabalhos de prevenção da transmissão do flagelado na comunidade bem como na tentativa de conscientização da população quanto aos riscos associados aos vetores e hospedeiros do *T. cruzi*.

A taxa de infecção de *T. sordida* (18%) e o encontro de outros animais com infecção natural por *T. cruzi* (*Didelphis albiventris* e *Sus scrofa*) juntamente com os resultados encontrados por Souza (2007) em cães (10,7% positivos para o parasito) evidencia que a situação da doença de Chagas na comunidade não está fora de perigo. Uma vez que todos os dados obtidos apontam para o ciclo peridoméstico na região além de sua contínua manutenção - principalmente devido a suas características sócio-econômicas que favorecem o desmatamento e criação de ecótopos artificiais para os vetores próximos às residências - a continuidade dos estudos faz-se necessária para avaliar o real risco dos moradores de Furnas do Dionízio.

7 CONCLUSÕES

Triatoma sordida foi a única espécie de triatomíneo encontrada na área peridomiciliar e domiciliar da comunidade, naturalmente infectado por *T. cruzi*. Supõe-se que o mesmo esteja participando ativamente do ciclo epidemiológico do protozoário na comunidade.

O fato de gambás (*Didelphis albiventris*) capturados na área serem positivos para *T. cruzi* requer intervenções, uma vez que o mesmo é um dos hospedeiros silvestres do parasito e pode estar contribuindo no ciclo de transmissão do tripanosomatídeo na comunidade.

A infecção natural de porcos pelo parasito também é relevante já que o mesmo serve de alimento para as pessoas da área e as técnicas empregadas no abate e manuseio desses animais criam condições propícias para contaminação com o agente etiológico da doença de Chagas.

A análise dos dados aponta para a circulação do parasito na comunidade através do ciclo peridoméstico e justifica a continuidade dos trabalhos epidemiológicos e de impacto ambiental na comunidade.

REFERÊNCIAS

- ABADH-FRANCH, F.; MONTEIRO, F. A.; JARAMILLO, O. N.; GURGEL-GONÇALVES, R.; DIAS, F. B.; DIOTAIUTI, L. Ecology, evolution, and the long-term surveillance of vector-borne Chagas disease: A multi-scale appraisal of the tribe Rhodniini (Triatominae). **Acta Tropica**, St. Louis, v. 110, n. 2-3, p. 159-177, May/June 2008.
- ADAMU, S.; FATIHU, M. Y.; USEH, N. M.; MAMMAN, M.; SEKONI, V. O.; ESIEVO, K. A. N. Sequential testicular and epididymal damage in Zebu bulls experimentally infected with *Trypanosoma vivax*. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 143, n. 1, p. 29-34, Jan. 2007.
- AGUILAR, H. M.; ABAD-FRANCH, F.; DIAS, J. C.; JUNQUEIRA, A. C. V.; COURA, J. R. Chagas disease in the Amazon region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, s. 1, p. 47-56, Oct. 2007.
- ANONYMOUS. Recommendations from a satellite meeting. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, s. 1, p. 429-432, Sept. 1999.
- AQUINO, L. P. C. T.; MACHADO, R. Z.; ALESSI, A. C.; MARQUES, L. C.; DE CASTRO, M. B.; MALHEIROS, E. B. Clinical, parasitological and immunological aspects of experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 2, p. 255-260, Mar./Apr. 1999.
- ALMEIDA, P. S.; CERETTI JÚNIOR W.; OBARA, M. T.; SANTOS, H. R.; BARATA, J. M. Survey of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) fauna in domestic environments and natural infection by Trypanosomatidae in the State of Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 4, p. 374-380, July/Ago. 2008.
- AÑEZ, N. Studies on *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. VII - Its effect on the survival of infected triatomine bugs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 2, p. 249-255, Apr./June 1984.
- AÑEZ, N.; CRISANTE, G.; ROJAS, A. Update on Chagas disease in Venezuela - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 99, v. 8, p. 781-787, Mar. 2004.
- ARAÚJO, F. M. G.; BAHIA, M. T.; MAGALHÃES, N. M.; MARTINS-FILHO, O. A.; VELOSO, V. M.; CARNEIRO, C. M.; TAFURI, W. L.; LANA, M. Follow-up of experimental chronic Chagas' disease in dogs: use of polymerase chain reaction (PCR) compared with parasitological and serological methods. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 81, n. 1, p. 21-31, Jan. 2002.
- ÁVILA, H. A.; GONCALVES, A. M.; NEHME, N. S.; MOREL, C. M.; SIMPSON, L. Schizodeme analysis of *Trypanosoma cruzi* stocks from South and Central America by analysis of PCR-amplified minicircle variable region sequences. **Molecular and Biochemical Parasitology**, New York, n. 42, v. 2, p. 175-187, Sept./Oct. 1990.

ÁVILA, H. A.; PEREIRA, J. B.; THIEMANN, O.; PAIVA, E.; DEGRAVE, W.; MOREL, C. M.; SIMPSON, L. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 31, n. 9, p. 2421-2426, Sept. 1993.

BANDEIRA, M. L.; DANTAS, T. V. S. Furnas do Dionísio (MS). In: O'DWYER, E. C. (Org.). **Quilombos: identidade étnica e territorialidade**. Rio de Janeiro: FGV, 2002. cap 2, p. 213-253.

BARNABÉ, C.; NEUBAUER, K.; SOLARI, A.; TIBAYRENC, M. *Trypanosoma cruzi*: presence of the two major phylogenetic lineages and of several lesser discrete typing units (DTUs) in Chile and Paraguay. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 78, n. 2, p. 127-137, Feb. 2001a.

BARNABE, C.; YAEGER, R.; PUNG, O.; TIBAYRENC, M. *Trypanosoma cruzi*: a considerable phylogenetic divergence indicates that the agent of Chagas disease is indigenous to the native fauna of the United States. **Experimental Parasitology**, St. Louis, v. 99, n. 2, p. 73-79, Oct. 2001b.

BARRERA, Y. K.; GUEVARA, J. M.; PAVÍA, P. X.; MONTILLA, M.; NICHOLLS, R. S.; PARRA, E.; PUERTA, C. J. Evaluation of TcH2AF-R and S35-S36 primers in PCR tests for the detection of *Trypanosoma cruzi* in mouse cardiac tissue. **Biomedica**, Bogotá, v. 28, n. 4, p. 616-26, Dec. 2008.

BARRETT, T. V.; HOFF, R. H.; MOTT, K. E.; MILES, M. A.; GODFREY, D. G.; TEIXEIRA, R.; de Souza, J. A. A.; SHERLOCK, I. A. Epidemiological aspects of three *Trypanosoma cruzi* zymodemes in Bahia State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 74, n. 1, p. 84-90, 1980.

BARRETTO, M. P.; RIBEIRO, R. D.; BELDA NETO, F. M. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi*. LXVIII: Infecção de mamíferos pela via oral. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 38, n. 2, p.455-459, maio 1978.

BARRETO, A. C.; MARSDEN, P. D.; CUBA, C. C.; ALVARENGA, N. J. Estudo preliminar sobre o emprego de *Dipetalogaster maximus* (uhler, 1894) (triatominae) na técnica do xenodiagnóstico em forma crônica da doença de Chagas. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 20, p. 183-189, 1978.

BARRETTO, M. P.; RIBEIRO, R. D. Reservatórios silvestres do *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *Cruzi* Chagas, 1909. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 39, n. 1; p. 25-36, June 1979.

BASSI, R. M. A.; DA CUNHA, M. C. I.; COSCARÓN, S. A study of behavior of tabanids (Diptera, Tabanidae) from Brazil. **Acta Biológica Paranaense**, Curitiba, v. 29, n. 4, p. 101-115, Oct./Dec. 2000.

BATISTA, J. S.; RIET-CORREA, F.; TEIXEIRA, M. M.; MADRUGA, C. R.; SIMOES, S. D.; MAIA, T. F. Trypanosomiasis by *Trypanosoma vivax* in cattle in the Brazilian

semiarid: Description of an outbreak and lesions in the nervous system. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 31, n. 2, p. 174-181, Jan. 2007.

BERRIMAN, M.; GHEDIN, E.; HERTZ-FOWLER, C.; BLANDIN, G.; RENAULD, H.; BARTHOLOMEU, D. C.; LENNARD, N. J.; CALER, E.; HAMLIN, N. E.; HAAS, B.; BÖHME, U.; HANNICK, L.; ASLETT, M. A.; SHALLOM, J.; MARCELLO, L.; HOU, L.; WICKSTEAD, B.; ALSMARK, U. C.; ARROWSMITH, C.; ATKIN, R. J.; BARRON, A. J.; BRINGAUD, F.; BROOKS, K.; CARRINGTON, M.; CHEREVACH, I.; CHILLINGWORTH, T. J.; CHURCHER, C.; CLARK, L. N.; CORTON, C. H.; CRONIN, A.; DAVIES, R. M.; DOGGETT, J.; DJIKENG, A.; FELDBLYUM, T.; FIELD, M. C.; FRASER, A.; GOODHEAD, I.; HANCE, Z.; HARPER, D.; HARRIS, B. R.; HAUSER, H.; HOSTETLER, J.; IVENS, A.; JAGELS, K.; JOHNSON, D.; JOHNSON, J.; JONES, K.; KERHORNOU, A. X.; KOO, H.; LARKE, N.; LANDFEAR, S.; LARKIN, C.; LEECH, V.; LINE, A.; LORD, A.; MACLEOD, A.; MOONEY, P. J.; MOULE, S.; MARTIN, D. M.; MORGAN, G. W.; MUNGALL, K.; NORBERTCZAK, H.; ORMOND, D.; PAI, G.; PEACOCK, C. S.; PETERSON, J.; QUAIL, M. A.; RABBINOWITSCH, E.; RAJANDREAM, M. A.; REITTER, C.; SALZBERG, S. L.; SANDERS, M.; SCHOBEL, S.; SHARP, S.; SIMMONDS, M.; SIMPSON, A. J.; TALLON, L.; TURNER, C. M.; TAIT, A.; TIVEY, A. R.; van AKEN, S.; WALKER, D.; WANLESS, D.; WANG, S.; WHITE, B.; WHITE, O.; WHITEHEAD, S.; WOODWARD, J.; WORTMAN, J.; ADAMS, M. D.; EMBLEY, T. M.; GULL, K.; ULLU, E.; BARRY, J. D.; FAIRLAMB, A. H.; OPPERDOES, F.; BARRELL, B. G.; DONELSON, J. E.; HALL, N.; FRASER, C. M.; MELVILLE, S. E.; EL-SAYED, N. M. The genome of the African trypanosome *Trypanosoma brucei*. **Science**, Washington, v. 309, n. 5733, p. 416-22, July 2005.

BOID, R. LUCKINSA, A. G.; RAEA, P. F.; GRAYA, A. R.; MAHMOUD, M. M.; MALIK, K. H. Serum immunoglobulins levels and eletrophoretic patterns of serum proteins in camels infected with *Trypanosoma evansi*. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 6, n. 4, p. 333-334, Mar. 1980.

BORGES-PEREIRA, J.; JUNQUEIRA, A. C. V.; SANTOS, L. C.; CASTRO, J. A. F.; ARAÚJO, I. B.; COURA, J. R. Xenodiagnóstico na doença de Chagas crônica: sensibilidade de *Panstrongylus megistus* e *Triatoma infestans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 29, n. 4, p. 341-347, jul./ago. 1996.

BORGES-PEREIRA, J.; ZAUZA, P. L.; GALHARDO, M. C.; NOGUEIRA, J. S.; PEREIRA, G. R. L.; CUNHA, R. V. Doença de Chagas na população urbana do Distrito Sanitário de Rio Verde, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 34, n. 4, p. 459-466, set./out. 2001.

BOSE, R.; FRIEDHOFF, K. T.; OLBRICH, S.; BÜSCHER, G.; DOMEYER, I. Transmission of *Trypanosoma theileri* to cattle by Tabanidae. **Parasitology Research**, Berlin, v. 73, n. 5, p. 421-424, 1987.

BOSE, R.; HEISTER, N. C. Development of *Trypanosoma* (Megatrypanum) *theileri* in tabanids. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, Canterbury, v. 40, n. 6, p. 788-792, Nov./Dec. 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Programa de Erradicação do *Triatoma infestans* (PETi)**. Brasília: FUNASA, 1992.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Proposta para certificação da interrupção da transmissão vetorial da doença de Chagas por *Triatoma infestans* no Brasil**. Brasília: FUNASA, 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Brasil livre da transmissão pelo *Triatoma infestans***, 2006. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/maio_2006.pdf Acesso em: 17 nov. 2009.

BRAUN, U.; ROGG, E.; WALSER, M. *Trypanosoma theileri* in the cerebrospinal fluid and brain of a heifer with suppurative meningoencephalitis. **The Veterinary Record**, London, v. 150, n. 5, p. 18–19, Jan. 2002.

BRENIERE, S. F.; MOROCHI, W.; BOSSENO, M. F.; ORDONEZ, J.; GUTIERREZ, T.; VARGAS, F.; YAKSIC, N.; NOIREAU, F. *Trypanosoma cruzi* genotypes associated with domestic *Triatoma sordida* in Bolivia. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 71, n. 3, p. 269–283, Nov. 1998.

BRISSE, S.; VERHOEF, J.; TIBAYRENC, M. Characterisation of large and small subunit rRNA and miniexon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. **International Journal for Parasitology**, London, v. 31, n. 11, p. 1218-1226, Sept. 2001.

BRITTO, C.; CARDOSO, M. A.; VANNI, C.; HASSLOCKER-MORENO, A.; XAVIER, S.; OELEMAN, W.; SANTORO, A.; PIMEZ, C.; MOREL, C. M.; WINCKER, P. Polymerase chain reaction detection of *Trypanosoma cruzi* in human blood samples as a tool for diagnosis and treatment evolution. **Parasitology**, Cambridge, v. 110, p. 241-247, 1995a.

BRITTO, C.; CARDOSO, M. A.; RAVEL, C.; SANTORO, A.; PEREIRA, J. B.; COURA, J. R.; MOREL, C. M.; WINCKER, P. *Trypanosoma cruzi*: parasite detection and strain discrimination in chronic chagasic patients from northeastern Brazil using PCR amplification of kinetoplast DNA and nonradioactive hybridization. **Experimental Parasitology**, St. Louis, v. 81, n. 4, p. 462-471, Dec. 1995b.

BRITTO, C. F. P. C.; BORGES-PEREIRA, J.; CARDOSO, M. A. B.; BOTELHO, L. C. B.; FERNANDES, O. **Diagnóstico molecular da doença de chagas pela reação em cadeia da polimerase**, 2002. Disponível em <www.siicsalud.com/des/des029/02910000.htm> Acesso em: 14 jun. 2010.

BRITTO, C. M.; LIMA, M. M.; SARQUIS, O.; PIRES, M. Q.; COUTINHO, C. F.; DUARTE, R.; PACHECO, R. S. Genetic polymorphism in *Trypanosoma cruzi* I isolated from Brazilian Northeast triatomines revealed by low-stringency single specific primer-polymerase chain reaction. **Parasitology Research**, Berlin, v. 103, n. 5, p. 1111-1117, Oct. 2008.

BROWN, B. E. Atlas of new world marsupials. **Fieldiana Zoology: New Series**, Chicago, v. 102, p. 1-108, Jan. 2004.

BROWN, T. A. **Clonagem gênica e análise de DNA: uma introdução**. Porto Alegre: Artmed, 2003.

BRUN, R.; HECKER, H.; LUN, Z. *Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review). **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 79, n. 2, p. 95-107, Oct. 1998.

BURGDORFER, W.; SCHMIDT, M. L.; HOOGSTRAAL, H. Detection of *Trypanosoma theileri* in Ethiopian cattle ticks. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 30, n. 4, p. 340–346, Apr. 1973.

BURGOS, J. M.; BEGHER, S. B.; FREITAS, J. M.; BISIO, M.; DUFFY, T.; ALTCHER, J.; TEIJEIRO, R.; ALCOBA, H. L.; DECCARLINI, F.; FREILIJ, H.; LEVIN, M. J.; LEVALLE, J.; MACEDO, A. M.; 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**, Northbrook, v. 73, n. 6, p. 1016-1018, Dec. 2005.

BUSCAGLIA, C. A.; di NOIA, J. M. *Trypanosoma cruzi* clonal diversity and the epidemiology of Chagas' disease. **Microbes and Infection**, St. Louis, v. 5, n. 5, p. 419-427, Apr. 2003.

BUSSE, I.; PREISFELD, A. Application of spectral analysis to examine phylogenetic signal among euglenid SSU rDNA data sets (Euglenozoa). **Organisms Diversity & Evolution**, St. Louis, v. 3, n. 1, p. 1–12, 2003.

CAMARGO, M. E.; HOSHINO-SHIMIZU, S. Metodologia sorológica na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. **Revista Goiana de Medicina**, Goiânia, v. 20, p. 47-65, 1974.

CAMARGO, M. E.; TAKEDA, G. K. F. Diagnóstico laboratorial da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. (Eds.). **Trypanosoma cruzi e doença de Chagas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979, cap. 17, p. 165-198.

CAMARGO, M. E.; SILVA, G. R.; CASTILHO, E. A.; SILVEIRA, A. C. Inquérito sorológico da prevalência da infecção chagásica no Brasil 1975/1980. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 26, n. 4, p. 192-204, 1984.

CAMARGO, M. E.; SEGURA, E. L.; KAGAN, I. G.; SOUZA, J. M. P.; CAVALHEIRO, J. R.; YANOVSKY, J. F.; GUIMARÃES, M. C. Normalización del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en las Américas: Evaluación de tres años de colaboración. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, Washington, v. 102, n. 5, p. 449-462, maio 1987.

CAMARGO, R. E.; UZCANGA, G. L.; BUBIS, J. Isolation of two antigens from *Trypanosoma evansi* that are partially responsible for its cross-reactivity with

Trypanosoma vivax. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 123, n. 1-2, p. 67-81, Aug. 2004.

CARCAVALLO, R. U.; GIRÓN, I. G.; JURBERG, J.; GALVÃO, C.; LENT, H. Chaves gráficas para tribos, gêneros e espécies da subfamília triatominae. In: CARCAVALLO R. U.; GIRÓN, I. G.; JURBERG, J.; LENT, H. (Org.). **Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1997. cap. 4, p. 107-244a.

CARCAVALLO, R. U.; RODRIGUES, M. E. F.; GALVÃO, C.; ROCHA, D. S.; GIRÓN, I. G.; AROCHA, M. A. O.; MARTÍNEZ, A.; ROSA, J. A.; CANALE, D. M.; FARR, T. H.; BARATA, J. M. S. Habitats e fauna relacionada. In: CARCAVALLO R. U.; GIRÓN, I. G.; JURBERG, J.; LENT, H. (Org.). **Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1997. cap. 14, p. 561-600b.

CARCAVALLO, R. U.; JURBERG, J.; LENT, H. Filogenia dos Triatomíneos. In: CARCAVALLO R. U.; GIRÓN, I. G.; JURBERG, J.; LENT, H. (Org.). **Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1997. cap. 21, p. 925-969.

CARDINAL, M. V.; LAURICELLA, M. A.; CEBALLOS, L. A.; LANATI, L.; MARCET, P. L.; LEVIN, M. J.; KITRON, U.; GÜRTLER, R. E.; SCHIJMAN, A. G. Molecular epidemiology of domestic and sylvatic *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. **International Journal for Parasitology**, London, v. 38, n. 13, p. 1533-1543, Nov. 2008.

CARRASCO, H. J.; TORRELLAS, A.; GARCÍA, C.; SEGOVIA, M.; FELICIANGELI, M. D. Risk of *Trypanosoma cruzi* (Kinetoplastida:Trypanosomatidae) transmission by *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) in Caracas (Metropolitan District) and neighboring States, Venezuela. **International Journal for Parasitology**, London, v. 35, n. 13, p. 1379-1384, Nov. 2005.

CASTRO, A. M.; LUQUETTI, A. O.; RASSI, A.; RASSI, G. G.; CHIARI, E.; GALVÃO, L. M. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. **Parasitology Research**, Berlin, v. 88, n. 10, p. 894-900, Oct. 2002.

CATALÁ, S.; CROCCO, L. B.; MORALES, G. F. *Trypanosoma cruzi* transmission risk index (TcTRI): an entomological indicator of chagas disease vectorial transmission to humans. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 68, p. 285-295, Dec. 1997.

CEBALLOS, L. A.; CARDINAL, M. V.; VAZQUEZ-PROKOPEC, G. M.; LAURICELLA, M. A.; OROZCO, M. M.; CORTINAS, R.; SCHIJMAN, A. G.; LEVIN, M. J.; KITRON, U.; GÜRTLER, R. E. Long-term reduction of *Trypanosoma cruzi* infection in sylvatic mammals following deforestation and sustained vector surveillance in northwestern Argentina. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 98, n. 3, p. 286-96, July 2006.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL & PREVENTION (CDC). Life Cycle of *T. cruzi*, 2009. Disponível em: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/images/ParasiteImages/S-Z/TrypanosomiasisAmerican/AmerTryp_LifeCycle.gif>. Acesso em: 21 maio 2010.

CERISOLA, J. A.; CHABEN, M. F.; LAZZARI, J. O. Test de hemaglutinación para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. **Prensa Médica Argentina**, Buenos Aires, v. 49, p. 1761-1767, 1962.

CERISOLA, J. A.; ROHWEDDER, R. W.; PRADO, C. E. Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatomíneos. **Boletín Chileno de Parasitología**, Santiago, v. 26, n. 1, p. 57-58, enero/June 1971.

CERQUEIRA, R.; LEMOS, B. Morphometric differentiation between Neotropical black-eared opossums, *Didelphis marsupialis* and *D. aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae). **Mammalia**, Paris, v. 64, n. 3, p. 319-327, Jan. 2000.

CHAVEZ, J. Ectoparasites of small mammals of the lower Urubamba Region, Peru In: ALONSO, A.; DALLMEIER, F.; CAMPBELL, P. (Eds.). **Urubamba: the biodiversity of a peruvian rainforest**. Washington: Smithsonian Institution/MAB, 2001. cap. 20, p. 195-203.

CHIARI, E.; DIAS, J. C. P.; LANA, M.; CHIARI, C. A. Hemocultures for the parasitological diagnosis of human chronic Chagas disease. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 22, n. 1, p. 19-23, jan./mar. 1989.

COLPO, C. B. MONTEIRO, S. G.; STAINKI, D. R.; COLPO, E. T. B.; HENRIQUES, G. B. Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 717-719, maio/jun. 2005.

CORTEZ, A. P.; VENTURA, R. M.; RODRIGUES, A. C.; BATISTA, J. S.; PAIVA, F.; ANEZ, N.; MACHADO, R. Z.; GIBSON, W. C.; TEIXEIRA, M. M. G. The taxonomic and phylogenetic relationships of *Trypanosoma vivax* from South America and Africa. **Parasitology**, Cambridge, v. 133, n. 2, p. 159-169, Aug. 2006.

COURA, J. R.; JUNQUEIRA, A. C. V.; GIORDANO, C. M.; FUNATSU, I. R. K. Chagas disease in the Brazilian Amazon. I - a short review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 36, n. 4, p. 363-368, July/Aug. 1994.

COURA, J. R.; FERNANDES, O.; ARBOLEDA, M. Human infection by *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian Amazon. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 90, n. 3, p. 278-279, May-June 1996.

COURA, J. R.; JUNQUEIRA, A. C. V.; BOIA, M. N.; FERNANDES, O. Chagas Disease: from Bush to Huts and Houses. Is it the Case of the Brazilian Amazon? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, s. 1, p. 379-384, 1999.

COURA, J. R.; JUNQUEIRA, A. C.; FERNANDES, O.; VALENTE, S. A.; MILES, M. A. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. **Trends Parasitology**, London, v. 18, n. 4, p. 171-176, Apr. 2002.

COURA, J. R. Tripanosomose, doença de Chagas. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 30-33, jan./mar. 2003.

COURA, J. R. Chagas Disease: What is know and what is needed – a background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, s. 1, p. 113-122, Oct. 2007.

COURA, J. R.; DIAS, J. C. P. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease - 100 years after its Discovery. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 104, s. 1, p. 31-40, July 2009.

CRISANTE, G.; ROJAS, A.; TEIXEIRA, M. M. G.; AÑEZ, N. Infected dogs as a risk fator in the transmission of human *Trypanosoma cruzi* infection in western Venezuela. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 98, n. 3, p. 247-254, July 2006.

CROCCO, L. B.; CATALÁ, S. S. Feeding and defaecation patterns in *Triatoma sordida*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro v. 91, n. 4, p. 409-413, July/Aug. 1996.

D'ALESSANDRO, A.; SARAIVA, N. G. *Trypanosoma rangeli*. In: Gilles HM, (Ed.) **Parasitic Protozoal Diseases**. London: Hodder Arnold Publication, 2000, p. 398-412.

DÁVILA, A. M. R.; SOUZA, S. S.; CAMPOS, C.; SILVA, R. A. The soroprevalence of equine trypanosomiais in the Pantanal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 2, p. 199-202, Mar./Apr. 1999.

DÁVILA, A. M. R.; SILVA, R. A. M. S. Animal trypanosomiais en South America. Current Status, Partnership, and Information Technology. **Annual New York Academy of Science**, New York, v. 916, p. 199-212, 2000.

DEANE, M. P.; LENZI, H. L.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* vertebrate and invertebrate cycles in the same mammal host the opossum *Didelphis marsupialis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 4, p. 513-515, Oct./Dec. 1984.

DEANE, M. P., JANSEN, A. M., MANGIA, R. H. R., GONCALVES, A. M. & MOREL, C. M. Are our laboratory “strains” representative samples of *Trypanosoma cruzi* populations that circulate in Nature? **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, s. 0, p. 19-24, jan. 1984a.

DEANE, M. P., MANGIA, R. H. R., PEREIRA, N. M., MOMEM, H., GONCALVES, A. M. & MOREL, C. M. *Trypanosoma cruzi*: strain selection by different schedules of mouse passages of an initially mixed infection. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 4, p. 495-497, Oct./Dec. 1984b.

DELSUC, F.; STANHOPE, M. J.; DOUZERY, E. J. P. Molecular systematics of armadillos (Xenarthra, Dasypodidae): contribution of maximum likelihood and Bayesian analyses of mitochondrial and nuclear genes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, St. Louis, v. 28, n. 2, p. 261–275, Aug. 2003.

DEVERA, R.; FERNANDES, O.; COURA, J. R. Should *Trypanosoma cruzi* be called "cruzi" complex? A review of the parasite diversity and the potential of selecting population after in Vitro culturing and mice infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 1, p. 1-12, Jan. 2003.

DEUTSCH, L. A.; PUGLIA, L. R. R. **Os animais silvestres: proteção, doenças e manejo**. 2. ed. São Paulo: Globo, 1990.

di NOIA, J. M.; BUSCAGLIA, C. A.; de MARCHI, C. R.; ALMEIDA, I. C.; FRASCH, A. C. A *Trypanosoma cruzi* small surface molecule provides the first immunological evidence that Chagas' disease is due to a single parasite lineage. **The Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 195, n. 4, p. 401-413, Feb. 2002.

DIAS, J. C. P.; SCHOFIELD, C. J.; WANDERLEY, D. M. V.; SILVA, I. G.; DIOTAIUTI, L.; SALVATELLA, R. Papel dos vetores secundários na transmissão da doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 27, n. 1, p. 59, 1994.

DIAS, J. C. P.; DIOTAIUTI, L. Vetores secundários de la enfermedad de Chagas en el Brasil y perspectivas para su control. In: GUHL, F.; JARAMILLO, C. A. (Eds.). **Curso taller control de tripanosomiasis americana y leishmaniosis: aspectos biológicos, genéticos y moleculares**. Santafé de Bogotá: Universidad de los Andes, 1998. p. 154-159.

DIAS, J. C.; MACHADO, E. M.; BORGES, E. C.; MOREIRA, E. F.; GONTIJO, C.; AZEREDO, B. V. Doença de Chagas em Lassance, MG. Reavaliação clínicoepidemiológica 90 anos após a descoberta de Carlos Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 35, n. 2, p. 167-176, mar./abr. 2002.

DIAS, J. C. P. Notes about of *Trypanosoma cruzi* and yours bio-ecology characteristics with agents of the transmission by meals. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 4, p. 370-375, July/Aug. 2006.

DIAS, J. C.; PRATA, A.; CORREIA, D. Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 2, p. 193-196, Mar./Apr. 2008.

DIAS, J. P.; BASTOS, C.; ARAÚJO, E.; MASCARENHAS, A. V.; MARTINS NETTO E.; GRASSI, F.; SILVA, M.; TATTO, E.; MENDONÇA, J.; ARAÚJO, R. F.; SHIKANAI-YASUDA, M. A.; ARAS, R. Acute Chagas disease outbreak associated with oral transmission. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 3, p. 296-300, May/June 2008.

DIOSQUE, P.; BARNABE, C.; PADILLA, A. M.; MARCO, J. D.; CARDOZO, R. M.; CIMINO, R. O.; NASSER, J. R.; TIBAYRENC, M.; BASOMBRIIO, M. A. Multilocus enzyme electrophoresis analysis of *Trypanosoma cruzi* isolates from a geographically restricted endemic area for Chagas' disease in Argentina.

International Journal for Parasitology, London, v. 33, n. 10, p. 997-1003, Sept. 2003.

DIOTAIUTI, L.; LOIOLA, C. F.; FALCÃO, P. L.; DIAS, J. C. P. The ecology of *Triatoma sordida* in natural environments in two different regions of the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 35, n. 3, p. 237-245, May/June 1993.

DOHERTY, M. L.; WINDLE, H.; VOORHEIS, H. P.; LARKIN, H.; CASEY, M.; CLERY, D.; MURRAY, M. Clinical disease associated with *Trypanosoma theileri* infections in a calf in Ireland. **The Veterinary Record**, London, v. 132, n. 26, p. 653–656, June 1993.

DUJARDIN, J. P.; SCHOFIELD, C. J.; PANZERA, F. Les vecteurs de la maladie de Chagas. Recherches Taxinomiques Biologiques et Genetiques. **Académie Royale des Sciences d'Outre-Mer, Classe des Sciences Naturelles et Médicales**, Paris, v. 24, n. 5, p. 162, févr. 2000.

DVORAK, J. A., ENGEL, J. C., LEAPMAN, R. D., SWYT, C. R. & PELLE, P. A. *Trypanosoma cruzi*: elemental composition and heterogeneity of cloned stock. **Molecular and Biochemical Parasitology**, New York, v. 31, n. 1, p. 19-26, Oct. 1988.

EL-SAYED, N. M.; MYLER, P. J.; BARTHOLOMEU, D. C.; NILSSON, D.; AGGARWAL, G.; TRAN, A.; GHEDIN, E.; WORTHEY, E. A.; DELCHER, A. L.; BLANDIN, G.; WESTENBERGER, S. J.; CALER, E.; CERQUEIRA, G. C.; BRANCHE, C.; HAAS, B.; ANUPAMA, A.; ARNER, E.; ÅSLUND, L.; ATTIPOE, P.; BONTEMPI, E.; BRINGAUD, F.; BURTON, P.; CADAG, E.; CAMPBELL, D. A.; CARRINGTON, M.; CRABTREE, J.; DARBAN, H.; SILVEIRA, J. F.; de JONG, P.; EDWARDS, K.; ENGLUND, P. T.; FAZELINA, G.; FELDBLYUM, T.; FERELLA, M.; FRASCH, A. C.; GULL, K.; HORN, D.; HOU, L.; HUANG, Y.; KINDLUND, E.; KLINGBEIL, M.; KLUGE, S.; KOO, H.; LACERDA, D.; LEVIN, N. J.; LORENZI, H.; LOUIE, T.; MACHADO, C. R.; MCCULLOCH, R.; MCKENNA, A.; MIZUNO, Y.; MOTTRAM, J. C.; NELSON, S.; OCHAYA, S.; OSOEGAWA, K.; PAI, G.; PARSONS, M.; PENTONY, M.; PETTERSSON, U.; POP, M.; RAMIREZ, J. L.; RINTA, J.; ROBERTSON, L.; SALZBERG, S. L.; SANCHEZ, D. O.; SEYLER, A.; SHARMA, R.; SHETTY, J.; SIMPSON, A. J.; SISK, E.; TAMMI, M. T.; TARLETON, R.; TEIXEIRA, S.; AKEN, S. V.; VOGT, C.; WARD, P. N.; WICKSTEAD, B.; WORTMAN, J.; WHITE, O.; FRASER, C. M.; STUART, K. D.; ANDERSSON, B. The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. **Science**, Washington, v. 309, n. 5733, p. 409-415, July 2005b.

EL-SAYED, N. M.; MYLER, P. J.; BLANDIN, G.; BERRIMAN, M.; CRABTREE, J.; AGGARWAL, G.; CALER, E.; RENAULD, H.; WORTHEY, E. A.; HERTZ-FOWLER, C.; GHEDIN, E.; PEACOCK, C.; BARTHOLOMEU, D. C.; HAAS, B. J.; TRAN, A. N.; WORTMAN, J. R.; ALSMARK, U. C.; ANGIUOLI, S.; ANUPAMA, A.; BADGER, J.; BRINGAUD, F.; CADAG, E.; CARLTON, J. M.; CERQUEIRA, G. C.; CREASY, T.; DELCHER, A. L.; DJIKENG, A.; EMBLEY, T. M.; HAUSER, C.; IVENS, A. C.; KUMMERFELD, S. K.; PEREIRA-LEAL, J. B.; NILSSON, D.; PETERSON, J.; SALZBERG, S. L.; SHALLOM, J.; SILVA, J. C.; SUNDARAM, J.; WESTENBERGER,

S.; WHITE, O.; MELVILLE, S. E.; DONELSON, J. E.; ANDERSSON, B.; STUART, K. D.; HALL, N. Comparative genomics of trypanosomatid parasitic protozoa. **Science**, Washington, v. 309, n. 5733, p. 404-409, July 2005b.

ENGLUND, P. T.; GUILBRIDE, L.; JOHNSON, C. E.; LI, C.; ROCCO, L. J.; TORRI, A. F. Kinetoplast DNA: structure and replication In: SMITH, D. F.; PARSONS, M. (Eds.). **Molecular Biology of Parasitic Protozoa (Frontiers in Molecular Biology)**. New York: Oxford Univesit Press, 1996. cap. 7, p. 75-87.

FERNANDES, A. J.; DIOTAIUTI, L.; DIAS, J. C. P.; ROMANHA, A. J.; CHIARI, E. Infecção natural das glândulas anais de gambás (*Didelphis albiventris*) pelo *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí, MG. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 1, p. 87-93, jan./mar. 1989.

FERNANDES, A. J.; CHIARI, E.; RODRIGUES, R. R.; DIAS, J. C. P.; ROMANHA, A. J. The importance of the opossum (*Didelphis albiventris*) as a reservoir for *Trypanosoma cruzi* in Bambuí, Minas Gerais State. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 1, p. 81-85, Jan./Mar. 1991.

FERNANDES, A. J.; DIOTAIUTI, L.; DIAS, J. C. P.; ROMANHA, A. J.; CHIARI, E. Inter-relações entre os ciclos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no município de Bambuí, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 473-480, out./dez. 1994.

FERNANDES, O.; SOUTO, R. P.; CASTRO, J. A.; PEREIRA, J. B.; FERNANDES, N. C.; JUNQUEIRA, A. C.; NAIFF, R. D.; BARRETT, T. B.; DEGRAVE, W.; ZINGALES, B.; CAMPBELL, D. A.; COURA, J. R. Brazilian isolates of *Trypanosoma cruzi* from human and triatomines classified into two lineages using mini-exon and ribosomal RNA sequence. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 58, n. 6, p. 807-811, June 1998a.

FERNANDES, O.; STURM, N. R.; DERRE, R.; CAMPBELL, D. A. The mini-exon gene: a genetic marker for zymodeme III of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, St. Louis, v. 95, n. 1, p. 129-133, Sept. 1998b.

FERNANDES, O.; MANGIA, R. H.; LISBOA, C. V.; PINHO, A. P.; MOREL, C.M.; ZINGALES, B, CAMPBELL D. A.; JANSEN A. M. The complexity of the sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi* in Rio de Janeiro state (Brazil) revealed by the non-transcribed spacer of mini-exon gene. **Parasitology**, Cambridge, v. 118, n. 2, p. 161-166, Feb. 1999.

FORATTINI, O. P. Notícia sobre *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 9, p. 177-180, 1960.

FORATTINI, O. P.; SANTOS, J. L. F.; FERREIRA, O. A.; ROCHA e SILVA, E. O.; RABELLO, E. X. Aspectos ecológicos da Tripanossomíase americana. X-Dados populacionais das colônias de *Panstrongylus megistus* e de *Triatoma sordida* espontaneamente desenvolvidas em ecótopos artificiais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 11, n. 3, p. 362-374, set. 1977.

FORATTINI, O. P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 6, p. 964-968, dez. 1980.

FRANKE, C. R.; GREINER, M.; MEHLITZ, D. Investigations on naturally occurring *Trypanosoma evansi* infections in horses, cattle, dogs and capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) in Pantanal de Pocone (Mato Grosso, Brazil). **Acta Tropica**, St. Louis, v. 58, n. 2, p. 159-169, Nov. 1994.

FREITAS, J. M.; LAGES-SILVA, E.; CREMA, E.; PENA, S. D.; MACEDO, A. M.; Real time PCR strategy for the identification of major lineages of *Trypanosoma cruzi* directly in chronically infected human tissues. **International Journal for Parasitology**, London, v. 35, n. 4, p. 411-417, Nov. 2005.

FREITAS, J. M.; AUGUSTO-PINTO, L.; PIMENTA, J. R.; BASTOS-RODRIGUES, L.; GONÇALVES, V. F.; TEIXEIRA, S. M. R.; CHIARI, E.; JUNQUEIRA, A. C. V.; FERNANDES, O.; MACEDO, C. R.; PENA, S. D. J. Ancestral genomes, sex, and the population structure of *Trypanosoma cruzi*. **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 2, n. 3, p. 23, Mar. 2006.

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

GARDINER, P. R. Recent studies of the biology of *Trypanosoma vivax*. **Advances in Parasitology**, St. Louis, v. 28, p. 229-317, 1989.

GARZÓN, E. A.; BARNABÉ, C.; CÓRDOVA, X.; BOWEN, C.; PAREDES, W.; GÓMEZ, E.; OUAISSI, A.; TIBAYRENC, M.; GUEVARA, A. G. *Trypanosoma cruzi* isoenzyme variability in Ecuador: first observation of zymodeme III genotypes in chronic chagasic patients. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 96, n. 4, p. 378-382, July/Aug. 2002.

GAUNT, M; MILES, M. The ecotopes and evolution of triatomine bugs (triatominae) and their associated trypanosomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 4, p. 557-565, July/Ago. 2000.

GAUNT, M. W.; YEO, M.; FRAME, I. A.; STOTHARD, J. R.; CARRASCO, H. J.; TAYLOR, M. C.; MENA, S. S.; VEAZEY, P.; MILES, G. A. J.; ACOSTAK, N.; ARIASK, A. R.; MILES, M. A. Mechanism of genetic exchange in American trypanosomes. **Nature**, London, v. 421, n. 6926, p. 936-939, Feb. 2003.

GIBSON, W. African trypanosomosis. In: PALMER, S. R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D. I. H. (Eds.). **Zoonoses. Biology, clinical practice, and public health control**. New York: Oxford University Press, 1998, cap. 41, p. 501-512.

GOMES, Y. M. PCR and Sero-diagnosis of chronic Chagas' disease. Biotechnological advances. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 66, n. 2, p. 119, May 1997.

GOMES, M. L.; MACEDO, A. M.; VAGO, R.; PENA, S. D. J.; GALVÃO, L. M. C.; CHIARI, E. *Trypanosoma cruzi*: optimization of polymerase chain reaction for detection in human blood. **Experimental Parasitology**, St. Louis, v. 88, n. 1, p. 28-33, Jan. 1998.

GOMES, M. L.; GALVAO, L. M.; MACEDO, A. M.; PENA, S. D.; CHIARI, E. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of parasitologic, molecular, and serologic methods. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 60, n. 2, p. 205-210, Feb. 1999.

GONSALVES, T. C. M.; CUNHA, V.; OLIVEIRA, E.; JURBERG, J. Alguns aspectos da biologia de *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964, em condições de laboratório (Hemiptera:Reduviidae:Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 2, p. 275-280, mar./abr. 1997.

GONÇALVES, T. C. M.; VICTÓRIO, V. M. N.; JURBERG, J.; CUNHA, V. Biologia de *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) em condições de laboratório (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). I. Ciclo evolutivo. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 1, p. 519-523, jan./mar. 1988.

GRISARD, E. C.; CARVALHO-PINTO, C. J.; SCHOLZ, A. F.; TOMA, H. K.; SCHLEMPER JUNIOR, B. R.; STEINDEL, M. *Trypanosoma cruzi* infection in *Didelphis marsupialis* in Santa Catarina and Arvoredo Islands, Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 6, p. 795-800, Nov./Dec. 2000.

GUHL, F.; SCHOFIELD, C. J. Population genetics and control of Triatominae. **Parasitology Today**, St. Louis, v. 12, n. 5, p. 169-70, May 1996.

GUHL, F.; VALLEJO, G. A. *Trypanosoma* (Herpetosoma) *rangeli* Tejera, 1920 – An updated review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 4, p. 435-42, June 2003.

HAMILTON, P. B.; GIBSON, W. C.; STEVENS, J. R. Patterns of co-evolution between trypanosomes and their hosts deduced from ribosomal RNA and protein-coding gene phylogenies. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, St. Louis, v. 44, n. 1, p. 15-25, Apr. 2007.

HERRERA, H. M.; AQUINO, L. P.; MENEZES, R. F.; MARQUES, L. C.; MORAES, M. A.; WERTHER, K.; MACHADO, R. Z. *Trypanosoma evansi* experimental infection in South american coati (*Nasua nasua*): clinical, parasitological and humoral immune response. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 102, n. 3, p. 209-216, Dec. 2001.

HERRERA, H. M.; DÁVILA, A. M.; NOREK, A.; ABREU, U. G.; SOUZA, S. S.; D'ANDREA, P. S.; JANSEN, A. M. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 125, n. 10, p. 263-275, Nov. 2004.

HERRERA, L.; D'ANDREA, P. S.; XAVIER, S. C. C.; MANGIA, R. H.; FERNANDES, O.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National

Park “Serra da Capivara” and its surroundings (Piauí, Brazil) an endemic area for Chagas disease. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 99, . 5, p. 379-388, May 2005.

HERRERA, H. M.; ABREU, A. U. G. P.; KEUROGHLIAN, T. P.; FREITAS; A. M. JANSEN. The role played by sympatric collared peccary (*Tayassu tajacu*), white-lipped peccary (*Tayassu pecari*), and feral pig (*Sus scrofa*) as maintenance hosts for *Trypanosoma evansi* and *Trypanosoma cruzi* in a sylvatic area of Brazil. **Parasitology Research**, Berlin, n. 103, v. 3, p. 619-624, Aug. 2008a.

HERRERA, H. M.; LISBOA, C. V.; PINHO, A. P.; OLIFIERS, N.; BIANCHI, R. C.; ROCHA, F. L.; MOURÃO, G. M.; JANSEN, A. M. The coati (*Nasua nasua*, Carnivora, Procyonidae) as a reservoir host for the main lineages of *Trypanosoma cruzi* in the Pantanal region, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 102, n. 11, p. 1133-1139, Nov. 2008b.

HOARE, C. A. Morphological and taxonomic studies on Mammalian Trypanosomes. X. Revision of the Systematics. **The Journal of Protozoology**, London, v. 11, n. 2, p. 200-207, May 1964.

HOARE, C. A. **The trypanosomes of mammals: a zoological monograph**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1972.

HUSSAIN, K.; BRODIE, B.; OTT, R. S.; MONTEALEGRE, F. Prevalence of *Trypanosoma theileri* in cows and fetuses at slaughters. **American Journal of Veterinary Research**, Washington, v. 46, n. 6, p. 1256–1258, June 1985.

IVENS, A. C.; PEACOCK, C. S.; WORTHEY, E. A.; MURPHY, L.; AGGARWAL, G.; BERRIMAN, M.; SISK, E.; RAJANDREAM, M. A.; ADLEM, E.; AERT, R.; ANUPAMA, A.; APOSTOLOU, Z.; ATTIPOE, P.; BASON, N.; BAUSER, C.; BECK, A.; BEVERLEY, S. M.; BIANCHETTIN, G.; BORZYM, K.; BOTHE, G.; BRUSCHI, C. V.; COLLINS, M.; CADAG, E.; CIARLONI, L.; CLAYTON, C.; COULSON, R. M.; CRONIN, A.; CRUZ, A. K.; DAVIES, R. M.; de GAUDENZI, J.; DOBSON, D. E.; DUESTERHOEFT, A.; FAZELINA, G.; FOSKER, N.; FRASCH, A. C.; FRASER, A.; FUCHS, M.; GABEL, C.; GOBLE, A.; GOFFEAU, A.; HARRIS, D.; HERTZ-FOWLER, C.; HILBERT, H.; HORN, D.; HUANG, Y.; KLAGES, S.; KNIGHTS, A.; KUBE, M.; LARKE, N.; LITVIN, L.; LORD, A.; LOUIE, T.; MARRA, M.; MASUY, D.; MATTHEWS, K.; MICHAELI, S.; MOTTRAM, J. C.; MÜLLER-AUER, S.; MUNDEN, H.; NELSON, S.; NORBERTCZAK, H.; OLIVER, K.; O'NEIL, S.; PENTONY, M.; POHL, T. M.; PRICE, C.; PURNELLE, B.; QUAIL, M. A.; RABBINOWITSCH, E.; REINHARDT, R.; RIEGER, M.; RINTA, J.; ROBBEN, J.; ROBERTSON, L.; RUIZ, J. C.; RUTTER, S.; SAUNDERS, D.; SCHÄFER, M.; SCHEIN, J.; SCHWARTZ, D. C.; SEEGER, K.; SEYLER, A.; SHARP, S.; SHIN, H.; SIVAM, D.; SQUARES, R.; SQUARES, S.; TOSATO, V.; VOGT, C.; VOLCKAERT, G.; WAMBUTT, R.; WARREN, T.; WEDLER, H.; WOODWARD, J.; ZHOU, S.; ZIMMERMANN, W.; SMITH, D. F.; BLACKWELL, J. M.; STUART, K. D.; BARRELL, B.; MYLER, P.J. The genome of the kinetoplastid parasite, *Leishmania major*. **Science**, Washington, v. 309, n. 5733, p. 436-42, July 2005.

JANSEN, A.M.; SANTOS de PINHO, A.P.; LISBOA, C. V.; CUPOLILLO, E.; MANGIA, R. H.; FERNANDES, O. The sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi*: a still unsolved puzzle. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, s. 1, p. 203-204, Sept. 1999.

JONES, T. W.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma vivax* out of Africa. **Trends Parasitology**, London, v. 17, n. 2, p. 99-101, Feb. 2001.

JUNQUEIRA, A. C.; CHIARI, E.; WINCKER, P. Comparison of the polymerase chain reaction with two classical parasitological methods for the diagnosis of Chagas disease in an endemic region of north-eastern Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 90, n. 2, p. 129-132, Mar./Apr. 1996.

LAGES-SILVA, E.; CREMA, E.; RAMIREZ, L. E.; MACEDO, A. M.; PENA, S. D.; CHIARI, E. Relationship between *Trypanosoma cruzi* and human chagasic megaesophagus: blood and tissue parasitism. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 65, n. 5, p. 435-441, Nov. 2001.

LAGES-SILVA, E.; RAMÍREZ, L. E.; PEDROSA, A. L.; CREMA, E.; GALVÃO, L. M. C.; PENA, S. D. J.; MACEDO, A. M.; CHIARI, E. Variability of kinetoplast DNA gene signatures of *Trypanosoma cruzi* II strains from patients with different clinical forms of Chagas' disease in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 44, n. 6, p. 2167-2171, June 2006.

LAURIA-PIRES, L.; BOGLIOLO, A. R.; TEIXEIRA, A. R. Diversity of *Trypanosoma cruzi* stocks and clones derived from Chagas disease patients. II. Isozyme and RFLP characterizations. **Experimental Parasitology**, St. Louis, v. 82, n. 2, p. 182-90, Mar. 1996.

LEGEY, A. P.; PINHO, A. P.; XAVIER, S. C. C.; MARCHEVSKY, R.; CARREIRA, J. C.; LEON, L. L.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* in marsupial didelphids (*Philander frenata* and *Didelphis marsupialis*): differences in the humoral immune response in natural and experimental infections. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 2, p. 241-248, Mar./Apr. 2003.

LEMOS, B.; CERQUEIRA, R. Morphological differentiation in the white-eared opossum group (Didelphidae: Didelphis). **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 83, n. 2, p. 354-369, May. 2002.

LISBOA, C. V.; DIETZ, J.; BAKER, A. J.; RUSSEL, N. N.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* infection in *Leontopithecus rosalia* at the Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 4, p. 445-452, July/Aug. 2000.

LUQUETTI, A. O.; MILES, M. A.; RASSI, A.; de REZENDE, J. M.; de SOUZA, A. A.; PÓVOA, M. M.; RODRIGUES, I. *Trypanosoma cruzi*: zymodemes associated with acute and chronic Chagas' disease in central Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 80, n. 3, p. 462-470, 1986.

LUZ, Z. M. P.; COUTINHO, M. G.; CANÇADO, J. R.; KRETTLI, A. U. I. Hemocultura: técnica sensível na detecção de *Trypanosoma cruzi* em pacientes chagásicos na fase crônica da doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 27, n. 3, p. 134-138, jul./set. 1994.

MACEDO, A. M.; PENA, S. D. J. Genetic variability of *Trypanosoma cruzi*: Implications for the pathogenesis of Chagas disease. **Parasitology Today**, St. Louis, v. 14, n. 3, p. 119-124, Mar. 1998.

MACEDO, A. M.; MACHADO, C. R.; OLIVEIRA, R. P.; PENA, S. D. *Trypanosoma cruzi*: genetic structure of populations and relevance of genetic variability to the pathogenesis of chagas disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 1, p. 1-12, Feb. 2004.

MACHADO, C. A.; AYALA, F. J. Nucleotide sequences provide evidence of genetic exchange among distantly related lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, n. 13, p. 7396-7401, June 2001.

MAIA da SILVA, F.; RODRIGUES, A. C.; CAMPANER, M.; TAKATA, C. S. A.; BRIGIDO, M. C.; JUNQUEIRA, A. C. V.; COURA, J. R.; TAKEFA, G. F.; SHAW, J. J.; TEIXEIRA, M. M. G. Randomly amplified polymorphic DNA analysis of *Trypanosoma rangeli* and allied species from human, monkeys and other sylvatic mammals of the Brazilian Amazon disclosed a new group and a species-specific marker. **Parasitology**, Cambridge, v. 128, n. 3, p. 283–294, Mar. 2004a.

MAIA da SILVA, F.; NOYES, H.; CAMPANER, M.; JUNQUEIRA, A. C.; COURA, J. R.; ANEZ, N. Phylogeny, taxonomy and grouping of *Trypanosoma rangeli* isolates from man, triatomines and sylvatic mammals from widespread geographical origin based on SSU and ITS ribosomal sequences. **Parasitology**, Cambridge, v. 129, n. 5, p. 549-561, Nov. 2004b.

MAIA da SILVA, F.; JUNQUEIRA, A. C.; CAMPANER, M.; RODRIGUES, A. C.; CRISANTE, G.; RAMIREZ, L. E.; CABALLERO, Z. C.; MONTEIRO, F. A.; COURA, J. R.; ANEZ, N.; TEIXEIRA, M. M. G. Comparative phylogeography of *Trypanosoma rangeli* and *Rhodnius* (Hemiptera: Reduviidae) supports a long coexistence of parasite lineages and their sympatric vectors. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 16, n. 16, p. 3361-3373, Aug. 2007.

MARCILI, A. ***Trypanosoma cruzi*: diversidade, relações filogenéticas e padrões ecogeográficos de isolados silvestres** 2008, 70 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas/USP, São Paulo, 2008.

MARCILI, A.; VALENTE, V. C.; VALENTE, S. A.; JUNQUEIRA, A. C.; da SILVA, F. M.; PINTO, A. Y.; NAIFF, R. D.; CAMPANER, M.; COURA, J. R.; CAMARGO, E. P.; MILES, M. A.; TEIXEIRA, M. M. *Trypanosoma cruzi* in Brazilian Amazonia: Lineages TCI and TCIIa in wild primates, *Rhodnius* spp. and in humans with Chagas disease associated with oral transmission. **International Journal for Parasitology**, St. Louis, v. 39, n. 5, p. 615-23, Apr. 2009a.

MARCILI, A.; LIMA, L.; CAVAZZANA JR.; M.; JUNQUEIRA, A.C.V.; VELUDO, H.H.; MAIA DA SILVA, F.; CAMPANER, M.; PAIVA, F.; NUNES, V.L.B.; TEIXEIRA, M.M.G. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping on ITS1 rDNA. **Parasitology**, Cambridge, v. 136, n. 6, p. 641–655, May 2009b.

MARCILI, A.; LIMA, L.; VALENTE, V. C.; VALENTE, S. A.; BATISTA, J. S.; JUNQUEIRA, A. C.; SOUZA, A. I.; da ROSA, J. A.; CAMPANER, M.; LEWIS, M. D.; LLEWELLYN, M. S.; MILES, M. A.; TEIXEIRA, M. M. Comparative phylogeography of *Trypanosoma cruzi* TCI1c: new hosts, association with terrestrial ecotopes, and spatial clustering. **Infection, Genetics and Evolution**, St. Louis, v. 9, n. 6, p. 1265-74, Dec. 2009c.

MARINHO-FILHO, J. S.; RODRIGUES, F. H. G.; JUAREZ, K. M. The cerrado mammals: diversity, ecology and natural history. In: OLIVEIRA, P. S.; MARQUIS, R. J. (Eds.). **The Cerrado of Brazil: ecology and natural history of a neotropical savanna**. New York: Columbia University Press, 2002. cap. 14, p. 266-284.

MARTINS, C. A. O. **Seqüências ORESTES (Open Reading Frame Expressed Sequence Tags) de *Trypanosoma cruzi* e Transcrição de DNA satellite** 2007. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Química/USP, São Paulo, 2007.

MARTINS, J. R.; LEITE, R. C.; DOYLE, R. L. Tripanosomatídeos like *Trypanosoma theileri* in the cattle tick *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 17, n. 3, p. 113-114, July/Sept. 2008.

MENDONÇA, M. B.; NEHME, N. S.; SANTOS, S. S.; CUPOLILLO, E.; VARGAS, N.; JUNQUEIRA, A.; NAIFF, R. D.; BARRETT, T. V.; COURA, J. R.; ZINGALES, B.; FERNANDES, O. Two main clusters within *Trypanosoma cruzi* zymodeme 3 are defined by distinct regions of the ribosomal RNA cistron. **Parasitology**, Cambridge, v. 124, n. 2, p. 177–184, Feb. 2002.

MILES M. A.; TOYE, P. J.; OSWALD, S. C.; GODFREY, D. G. The identification by isoenzyme patterns of two distinct strain-groups of *Trypanosoma cruzi* circulating independently in a rural area of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 71, n. 3, p. 217-225, 1977.

MILES, M. A.; SOUZA, A.; POVOA, M.; SHAW, J. J.; LAINSON, R.; TOYE, P. J. Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas' disease in Amazonian Brazil. **Nature**, London, v. 272, n. 5656, p. 819-821, Apr. 1978.

MILES, M. A.; CEDILLOS, R. A.; PÓVOA, M. M.; SOUZA, A. A.; PRATA, A.; MACEDO, V. Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas' disease? **Lancet**, London, v. 317, n. 8234, p. 1338-1340, June 1981a.

MILES, M. A.; POVOA, M. M.; de SOUZA, A. A.; LAINSON, R.; SHAW, J. J.; KETTERIDGE, D. S. Chagas's disease in the Amazon Basin: II. The distribution of

Trypanosoma cruzi zymodemes 1 and 3 in Pará State, north Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 75, n. 5, p. 667-674, 1981b.

MILES, M. A.; ARIAS, J. R.; VALENTE, S. A.; NAIFF, R. D.; de SOUZA, A. A.; POVOA, M. M.; LIMA, J. A.; CEDILLOS, R. A.; Vertebrate hosts and vectors of *Trypanosoma rangeli* in the Amazon Basin of Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 32, n. 6, p. 1251-1259, Nov. 1983.

MILES, M. A.; FELICIANGELI, M. D.; de ARIAS, A. R. American trypanosomiasis (Chagas disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. **British Medical Journal**, London, v. 326, n. 7404, p. 1444–1448, June 2003.

MIYAMOTO, C. T.; GOMES, M. L.; MARANGON, A. V.; ARAUJO, S. M.; BAHIA, M. T.; LANA, M.; TOLEDO, M. J. O. *Trypanosoma cruzi*: Sensitivity of the polymerase chain reaction for detecting the parasite in the blood of mice infected with different clonal genotypes. **Experimental Parasitology**, St. Louis, v. 112, n. 3, p. 198-201, Mar. 2006.

MIYAMOTO, C. T.; GOMES, M. L.; MARANGON, A. V.; ARAÚJO, S. M.; LIBERATI, A. P. T.; CABRAL, R. F. P.; BAHIA, M. T.; LANA, M.; TOLEDO, M. J. O. Polymerase chain reaction (PCR) for *Trypanosoma cruzi* infection diagnosis in mice. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 4, p. 275-278, Oct./Dec. 2007.

MONTENEGRO, V. M.; JIMÉNEZ, M.; DIAS, J. C. P.; ZELEDÓN, R. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 4, p.491-494, June 2002.

MORALES, G. A.; WELLS, E. A.; ANGELS, D. The capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as a reservoir host for *Trypanosoma evansi*. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 12, n. 4, p. 572-574, Oct. 1976.

MOREL, C.; CHIARI, E.; CAMARGO, E. P.; MATTEI, D. M.; ROMANHA, A. J.; SIMPSON, L. Strains and clones of *Trypanosoma cruzi* can be characterized by pattern of restriction endonuclease products of kinetoplast DNA minicircles. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 77, n. 11, p. 6810-6814, Nov. 1980.

MOREL, C.; SIMPSON, L. Characterization of pathogenic trypanosomatidae by restriction endonuclease fingerprinting of kinetoplast DNA minicircles. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 29, s. 5, p. 1070-1074, Sept. 1980.

MORZARIA, S. P.; LATIF, A. A.; JONGEJAN, F.; WALKER, A. R. Transmission of a *Trypanosoma* sp. to cattle by the tick *Hyalomma anatolicum anatolicum*. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 19, n. 1-2, p. 13–21, Jan. 1986.

MOURA, J. F. L. **Aspectos epidemiológicos da doença de Chagas em áreas de colonização agrícola no estado de Roraima, Brasil 2001**. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária) Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2001.

MULLIS, K. B.; FALOONA, F. A. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. **Methods in Enzymology**, St. Louis, v. 155, p. 335-350, 1987.

MULLIS, K. B. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, New York, v. 262, n. 4, p. 56-65, Apr. 1990.

MUÑOZ, K.; CHÁVEZ, A. *Trypanosoma evansi* isolated from capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 7, p. 945-946, Oct. 2001.

NEIVA, A.; PINTO, C. Representantes dos gêneros *Triatoma* Lap, *Rhodnius* Stal encontrados no Brasil Central e Sul; observações biológicas e descrição de uma nova espécie. **Brasil Médico**, v. 37, p. 84-86, 1923.

NEVES, D. P. **Parasitologia dinâmica**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

NJIOKOU, F.; SIMO, G.; NKININ, S. W.; LAVEISSIÈRE, C.; HERDER, S. Infection rate of *Trypanosoma brucei* s.l.; *T. vivax*, *T. congolense* "forest type", and *T. simiae* in small wild vertebrates in south Cameroon. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 92, n. 2, p. 139-146, Oct. 2004.

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 açaí palm fruit, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 15, n. 4, p. 653-655, Apr. 2009.

NOIREAU, F.; ZEGARRA, M.; ORDOÑEZ, J.; GUTIERREZ, T.; DUJARDIN, J. P. Genetic structure of *Triatoma sordida* (Hemiptera:Reduviidae) domestic populations from Bolivia: application on control interventions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro. v. 94, n. 3, p. 347-351, May/June 1999.

NOIREAU, F.; FLORES, R.; GUTIERREZ, T.; ABAD-FRANCH, F.; FLORES, E.; VARGAS, F. Natural ecotopes of *Triatoma infestans* dark morph and other sylvatic triatomines in the Bolivian Chaco. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 94, n. 1, p. 23-27, Jan. 2000.

NUNES, V. L. B.; OSHIRO, E. T. *Trypanosoma* (Megatrypanum) *theileri* Laveran, 1902 em *Bubalus bubalis* no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. In: XX CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 1996, Cuiabá. **Anais XX Congresso de Medicina Veterinária**, Cuiabá: UFMT, 1986, p. 78.

NUNES, V. L. B.; OSHIRO, E. T.; DORVAL, M. E. C.; GARCIA, L. A. M.; SILVA, A. A. P.; BOGLIOLO, A. R. Investigação epidemiológica sobre *Trypanosoma* (Trypanozoon) *evansi* no Pantanal Sul-Mato-Grossense. Estudo de reservatórios.

Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Jaboticabal, v. 2, n. 1, p. 41-44, fev. 1993.

O'CONNOR, O.; BOSSENO, M. F.; BARNABÉ, C.; DOUZERY, E. J.; BRENIÈRE, S. F. Genetic clustering of *Trypanosoma cruzi* I lineage evidenced by intergenic miniexon gene sequencing. **Infection, Genetics and Evolution**, St. Louis, v. 7, n. 5, p. 587-593, May 2007.

OGASSAWARA, S.; BENASSI, S.; D'ANGELINO, J. L.; ARAUJO, W. P.; GOUVEIA, A. C. Observações sobre *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri* Laveran, 1902 em bovino no Estado de São Paulo. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 17-21, 1981.

OLIVEIRA, A. M. de; MARINHO, M. Comunidade Quilombola de Furnas do Dionísio: manifestações culturais, turismo e desenvolvimento local, **Caderno Virtual de Turismo**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 1, p. 23-30, jan./abr. 2005.

OLIVEIRA, J. M. Z. P. S.; PARANHOS, A.; CARRIJO, M. G. G.; TORRES, T. G. Representação da análise ambiental de área ocupada por população tradicional quilombola (MS), utilizando SIG e sensoriamento remoto. **OLAM Ciência & Tecnologia**, Rio Claro, v. 6, n. 1, p. 219-252, Maio 2006.

OLIVEIRA-LIMA, J. W.; FARIA FILHO, O. F.; VIEIRA, J. B. F.; GADELHA, F. V.; OLIVEIRA FILHO, A. M. Peridomestic changes and implications for *Triatoma brasiliensis* control. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, s. 2, p. 75-81, 2000.

OSÓRIO, A. L. A. R.; MADRUGA, C. R.; DESQUESNES, M.; SOARES, C. O.; RIBEIRO, L. R. R.; COSTA, S. C. G. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 103, n. 1, p. 1-13, Feb. 2008.

PAIVA, F.; de LEMOS, R. A. A.; NAKAZATO, L.; MORI, A. E.; BRUM, K. B.; BERNARDO, K. C. *Trypanosoma vivax* em bovinos no Pantanal do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil: I – Acompanhamento clínico, laboratorial e anatomopatológico de rebanhos infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 9, n. 2, p. 135-141, ago. 2000.

PATTON, J. L.; SILVA, M. N. F.; MALCOLM, J. R. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. **Bulletin of the American Museum of Natural History**. New York, v. 244, p. 1-306, Jan. 2000.

PATTON, J. L.; COSTA L. P. Molecular phylogeography and species limits in rainforest didelphid marsupials of South America. In: JONES M. E.; DICKMAN C. R.; ARCHER M. (Eds.). **Predators with Pouchs: the biology of carnivorous marsupials**. Melbourne: CSIRO Press, 2003. cap 5, p. 63-81.

PELLI, A.; SILVA, M. A.; SARMENTO, F. R.; MARTINS, E.; MATA, A. S.; DOMINGUES, M. A.; RAMIREZ, L. E. Population parameters for *Triatoma sordida*

Stal, 1859: the most frequent vector for Chagas disease in the Triângulo Mineiro (Heteroptera, Triatominae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 1, p. 25-28, Jan./Feb. 2007.

PINHO, A. P.; CUPOLILLO, E.; MANGIA, R. H.; FERNANDES, O.; JANSEN, A. M. *Trypanosoma cruzi* in the sylvatic environment: distinct transmission cycles involving two sympatric marsupials. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 94, n. 5, p. 509–514, Sept./Oct. 2000.

PINTO, P. L. S.; AMATO NETO, V.; NASCIMENTO, S. A. B.; SOUZA, H. B. W. T.; MIYAMOTO, A.; MOREIRA, A. A. B.; BRAZ, L. M. A. Observações sobre a viabilidade do *Trypanosoma cruzi* no caldo da cana. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 325-327, set./out. 1980.

PINTO, P. L. S.; NETO, V. A.; NASCIMENTO, S. A. B.; SOUZA, H. B. W. T.; MIYAMOTO, A.; MOREIRA, A. A. B.; BRAZ, L. M. A. Observações sobre a viabilidade do *Trypanosoma cruzi* no caldo da cana. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 325-327, set./out. 1990.

PINTO, A. Y.; VALENTE, S. A.; VALENTE, V. C. Emerging acute Chagas disease in Amazonian Brazil: case reports with serious cardiac involvement. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 8, n. 6, p. 454-4560, Dec. 2004.

POMPILIO, M. A.; PANIAGO, A. M. M.; BORGES-PEREIRA, J.; SILVA, F. A. D.; SILVA, R. C. B.; LIMA, J. H. F. Análise clínica-epidemiológica de 200 casos de doença de Chagas atendidos no HU-UFMS de 1986-1996. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 31, s. 1, p. 214, 1998.

POMPILIO, M. A.; DORVAL, M. E. M. C.; da CUNHA, R. V.; BRITTO, C.; BORGES-PEREIRA, J. Aspectos epidemiológicos, clínicos e parasitológicos da doença de Chagas em Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, n. 6, p. 473-478, nov./dez. 2005.

PORTELA-LINDOSO A. A. B. Polimerase chain reaction in chronic Chagas' disease: use of two pairs of TCZ1/TCZ2 and S35/S36 primers in isolates of *Trypanosoma cruzi* of blood from patients and in other trypanosomatids. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 32, n. 5, p. 731-732, Nov./Dec. 1999.

PORTELA-LINDOSO, A. A.; SHIKANAI-YASUDA, M. A. Chronic Chagas' disease: from xenodiagnosis and hemoculture to polymerase chain reaction. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 107-115, Feb. 2003.

POVOA, M. M.; de SOUZA, A. A.; NAIFF, R. D.; ARIAS, J. R.; NAIFF, M. F.; BIANCARDI, C. B.; MILES, M. A. Chagas disease in the Amazon basin IV. Host records of *Trypanosoma cruzi* zymodemes in the states of Amazonas and Rondonia, Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Germantown, v. 78, n. 5, p. 479–487, Oct. 1984.

RAMIREZ, L. E.; LAGES-SILVA, E.; ALVARENGA-FRANCO, F.; MATOS, A.; VARGAS, N.; FERNANDES, O.; ZINGALES, B. High prevalence of *Trypanosoma*

rangeli and *Trypanosoma cruzi* in opossums and triatomids in a formerly-endemic area of Chagas disease in Southeast Brazil. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 84, n. 3, p. 189-198, Dec. 2002.

REITHINGER, R.; CEBALLOS, L.; STARIOLO, R.; DAVIES, C.; GÜRTLER, R. E. Chagas disease control: deltamethrin-treated collar reduce *Triatoma infestans* feeding success on dog. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 99, n. 7, p. 502-508, July 2005.

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

RIBEIRO, R. D.; GARCIA, T. A. R.; BONOMO, W. C. A contribution to the study of the mechanisms of transmission of the etiological agent of "Chagas" disease. **Revista de Saúde Pública de São Paulo**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 51-54, Feb. 1987.

RICHER, W.; KENGNE, P.; CORTEZ, M. R.; PERRINEAU, M. M.; COHUET, A.; FONTENILLE, D.; NOIREAU, F. Active dispersal by wild *Triatoma infestans* in the Bolivian Andes. **Tropical Medicine & International Health**, Oxford, v. 12, n. 6, p. 759-764, June 2007.

RODRIGUES, A. C.; CAMPANER, M.; TAKATA, C. S. A.; DELL' PORTO, A.; MILDER, R. V.; TAKEDA, G. F.; TEIXEIRA, M. M. G. Brazilian isolates of *Trypanosoma (Megatrypanum) theileri*: diagnosis and differentiation of isolates from cattle and water buffalo based on biological characteristics and randomly amplified DNA sequences. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 116, n. 3, p. 185-207, Oct. 2003.

RODRIGUES, A. **Infecção natural por *Trypanosoma evansi* em equinos** 2006, 118 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Rurais/UFSM, Santa Maria, 2006.

ROELLIG, D. M.; BROWN, E. L.; BARNABÉ, C.; TIBAYRENC, M.; STEURER, F. J.; YABSLEY, M. J. Molecular typing of *Trypanosoma cruzi* isolates, United States. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 14, n. 7, p. 1123-1125, July 2008.

ROSSI, R. V.; BIANCONI, G. V.; PEDRO, W. A. Ordem Didelphimorphia. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Org.). **Mamíferos do Brasil** Londrina: Nelio R. dos Reis, 2006. cap. 2, p. 28-67

RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva**. 7. ed. São Paulo: Roca, 2005.

SALAZAR-SCHETTINO, P. M.; BUCIO, M. I.; CABRERA, M.; BAUTISTA, J. First Case of Natural Infection in Pigs. Review of *Trypanosoma cruzi* Reservoirs in Mexico. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 4, p. 499-502, July/Aug. 1997.

SALAZAR, A.; SCHIJMAN, A. G.; TRIANA-CHÁVEZ, O. High variability of Colombian *Trypanosoma cruzi* lineage I stocks as revealed by low-stringency single primer-PCR minicircle signatures. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 100, n. 1-2, p. 110-118, Nov. 2006.

SALAZAR, P. M.; ROJAS, G.; BUCIO, M.; CABRERA, M.; GARCÍA, G.; RUIZ, A.; GUEVARA, Y.; TAPIA, R. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* antibodies and associated risk factors among the population under 18 years of age in Veracruz, Mexico. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 22, n. 2, p. 75-82, Aug. 2007.

SCHAFLER, D. H. *Typanosoma theileri*: a literature review and report of incidence in New York cattle. **The Cornell veterinarian**, New York, v. 69, n. 4, p. 411-425, Oct. 1979.

SCHENONE, H; ALFARO, E; ROJAS, A. Basis and yield of the xenodiagnosis in human chagas infection. **Boletín Chileno de Parasitología**, Santiago, v. 29, n. 1-2, p. 24-26, Jan-Mar. 1974.

SCHLEMPER JÚNIOR, B. R.; STEINDEL, M.; GARGIONI, R.; FARIAS, C. J. M.; OLIVEIRA, R.; TRIANON, J. A. X. Wild reservoirs and vectors of *Trypanosoma cruzi* and their relations with human habitation in the island of Santa Catarina. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, Florianópolis, v. 14, n. 2, p. 91-96, June 1985.

SCHOFIELD, C. J. The behaviour of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): a review. **Bulletin of Entomological Research**, Cambridge, v. 63, n. 3, p. 363-379, Sept. 1979.

SCHOFIELD, C. J. *T. cruzi* - the vector-parasite paradox. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 4, p. 535-544, July/Aug. 2000.

SCHOFIELD, C. J.; JANNIN, J.; SALVATELLA, R. The future of Chagas disease control. **Trends Parasitology**, London, v. 22, n. 12, p. 583-588, Dec. 2006.

SEIFI, H. A. Clinical trypanosomosis due to *Trypanosoma theileri* in a cow in Iran. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 27, n. 2, p. 93-94, May 1995.

SHADOMY, S. V.; WARING, S. C.; CHAPPELL, C. L. Combined use of enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry to detect antibodies to *trypanosoma cruzi* in domestic canine in Texas. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v. 11, n. 2, p. 313-319, Mar. 2004.

SHAW, J. J.; LAINSON, R. *Trypanosoma vivax* in Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Germantown, v. 66, n. 1, p. 25-32, Mar. 1972.

SHIKANAI-YASUDA, M. A.; MARCONDES, C. B.; GUEDES, L. A.; SIQUEIRA, G. S.; BARONE, A. A.; DIAS, J. C.; AMATO NETO, V.; TOLEZANO, J. E.; PERES, B. A.; ARRUDA JÚNIOR, E. R.; LOPES, M. H.; SHIROMA, M.; CHAPADEIRO, E. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. **Revista do Instituto de**

Medicina Tropical de Sao Paulo, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 351-357, Sept./Oct. 1991.

SILVA, R. P. **Estudo sobre *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909) em área de Mato Grosso do Sul: casos humanos, reservatórios e transmissores** 1979, 83 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biociências/USP, São Paulo, 1979.

SILVA, R. A. M. S. AROSEMENA, N. A.; HERRERA, H. M.; SAHIB, C. A.; FERREIRA, M. S. Outbreak of trypanosomiasis due to *Trypanosoma evansi* in horses of Pantanal Mato-grossense, Brazil. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 60, n. 1-2, p. 167-171, Nov. 1995a.

SILVA, R. A. M. S.; HERRERA, H. M.; DOMINGOS, L. B. S.; XIMENES, F. A.; DÁVILA, A. M. R. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horses: hematological and clinical aspects. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 25, n. 2, p. 233-238, 1995b.

SILVA, R. A. M. S.; EGUEZ A.; MORALES, G.; EULERT, E.; MONTENEGRO, A.; YBANEZ, R.; SEIDL, A.; DÁVILA, A. M. R.; RAMIREZ, L. Bovine trypanosomiasis in Bolivian and Brazilian lowlands. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 1, p. 29-32, Jan./Feb. 1998.

SILVA, R. A. M. S.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. ***Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: Biologia, Diagnóstico e Controle**, 2002. Disponível em <www.cpap.embrapa.br/publicacoes/online/Livro015.pdf> Acesso em: 14 maio 2010.

SILVA, A. V.; BOSCO, S. M. G.; LANGONI, H.; BAGAGLI, E. Study of Toxoplasma infection in Brazilian wild mammals: Serological evidence in *Dasybus novemcinctus* Linnaeus, 1758 and *Euphractus sexcinctus* Wagler, 1830. **Veterinary Parasitology**, St. Louis, v. 135, n. 1, p. 81-83, Jan. 2006.

SILVEIRA, A. C.; FEITOSA, V. R.; BORGES, R. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período de 1975/83, Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia de Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 36, p. 15-312, 1984.

SIMPSON, A. G.; ROGER, A. J. Protein phylogenies robustly resolve the deep-level relationships within Euglenozoa. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, St. Louis, v. 30, n. 1, p. 201-212, Jan. 2004.

SIMPSON, A. G. B.; STEVENS, J. R.; LUKES, J. The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. **Trends Parasitology**, London, v. 22, n. 4, p. 168-174, Feb. 2006.

SOARES, V. A.; DIAS, J. C. P.; MARSDEN, P. D.; GARCIA-ZAPATA, M. T. Sobrevivência do *Trypanosoma cruzi* em caldo de cana: resultados preliminares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 20, s. 2, p. 38, 1987.

SOLARI, A.; CAMPILLAY, R.; ORTIZ, S.; WALLACE, A. Identification of *Trypanosoma cruzi* genotypes circulating in Chilean chagasic patients. **Experimental Parasitology**, St. Louis, v. 97, n.4, p. 226-233, Apr. 2001.

SOLTYS, M. A.; WOO, P. T. K. African trypanosomes in livestock. In: KREIER, J. P. (Ed.). **Parasitic Protozoa**, v. 2. Academic press: London, 1978. cap 6, p 241-267.

SOSA-JURADO, F.; ZUMAQUERO-RIOS, J. L.; CRUZ-GARCIA, A.; GUZMÁNBRACHO, C.; MONTEÓN, V. M. Biotic and abiotic factors determining seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* antibodies against in Central Region of Mexico (Palmar de Bravo, Puebla, Mexico). **Salud Pública de México**, v. 46, n. 1, p. 1-9, enero/feb. 2004.

SOUTO, R. P.; FERNANDES, O.; MACEDO, A. M.; CAMPBELL; ZINGALES, B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, New York, v. 83, n. 2, p. 141-152, Dec. 1996.

SOUSA, O. E.; SAMUDIO, F.; de JUNCÁ, C.; CALZADA, J. E. Molecular characterization of human *Trypanosoma cruzi* isolates from endemic areas in Panama. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 4, p. 455-457, June 2006.

SOUZA, J. M. P.; RODRIGUES, V. L. C. C.; ROCHA e SILVA, E. O. *Triatoma sordida* — Considerações sobre o tempo de vida das formas adultas e sobre a oviposição das fêmeas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 291-296, set. 1978.

SOUZA, A. I. **Estudo clínico da infecção natural por *T. cruzi* em cães residentes em uma área rural de Mato Grosso Do Sul, Brasil** 2007, 95 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, São Paulo, 2007.

SOUZA, S. S. **Explorando o transcriptoma de *Trypanosoma vivax*** 2009, 159 f. Tese (Mestrado em Biologia Celular e Molecular) – Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2009.

STEINDEL, M.; KRAMER, P. L.; SCHOLL, D.; SOARES, M.; DE MORAES, M. H.; EGER, I.; KOSMANN, C.; SINCERO, T. C.; STOCO, P. H.; MURTA, S. M.; CARVALHO-PINTO, C. J.; GRISARD, E. C. Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, St. Louis, v. 60, n. 1, p. 25-32, Jan. 2008.

STEVENS, J. R. NUNES, V. L.; LANHAM, S. M.; OSHIRO, E. T. Isoenzyme characterization of *Trypanosoma evansi* isolated from capybaras and dogs in Brazil. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 46, n. 4, p. 213-222, July 1989.

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**, New York, v. 33, n. 3, p. 205-214, Mar. 1989.

SUDARTO, M. W.; TABEL, H.; HAINES, D. M. Immunohistochemical demonstration of *Trypanosoma evansi* in tissues of experimentally infected rats and a naturally infected water buffalo (*Bubalus bubalis*). **The Journal of Parasitology**, Knoxville, v. 76, n. 2, p. 162-167, Apr. 1990.

TARTAROTTI, E.; AZEREDO-OLIVEIRA, M. T. V.; CERON, C. R. Problemática vetorial da Doença de Chagas. **Arquivos de Ciências da Saúde**, São José do Rio Preto, v. 11, n. 1, p. 44-47, jan./mar. 2004.

TEIXEIRA, A. R. L.; NASCIMENTO, R. J.; STURM, N. R. Evolution and pathology in Chagas disease - A review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 101, v. 5, p. 463-491, Aug. 2006.

TEIXEIRA, A. R.; NITZ, N.; GUIMARO, M. C.; GOMES, C.; SANTOS-BUCH, C. A. Chagas disease. **Postgraduate Medical Journal**, London, v. 82, n. 974, p. 788-798. Dec. 2006.

TIBAYRENC, M.; NEUBAUER, K.; BARNABÉ, C.; GUERRINI, F.; SKARECKY, D.; AYALA, F. Genetic characterization of six parasitic protozoa: parity between random primer DNA typing and multilocus enzyme electrophoresis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 90, p. 1335-1339, Feb. 1993.

TIZARD, I. R. Studies on the generation of biologically active substances by *Trypanosoma theileri* in vitro. **Research in Veterinary Science**, London, v. 28, n. 2, p. 178-184, Mar. 1980.

TOLEDO, M. J. O.; KÜHL, J. B.; SILVA, S. V.; GASPERI, V.; ARAÚJO, S. M. Estudo sobre triatomíneos e reservatórios silvestres de *Trypanosoma cruzi* no Estado do Paraná, sul do Brasil. Resultados preliminares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 30, n. 3, p. 197-203, maio/jun. 1997.

TOWNSEND, J.; DUFFUS, P. H. *Trypanosoma theileri*: antibody-dependent killing by purified populations of bovine leucocytes. **Clinical and Experimental Immunology**, Edinburgh, v. 48, n. 2, p. 289-299, May 1982.

TRAVASSOS, L.; de FREITAS, J. F. T. Relatório da sexta excursão científica do Instituto Oswaldo Cruz, realizada á zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em Maio de 1942. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 3, p. 259-286, 1942.

TRAVASSOS, L.; de FREITAS, J. F. T. Relatório da sétima excursão científica do Instituto Oswaldo Cruz, realizada á zona da Estrada de Ferro Noroeste do Brasil, em Maio de 1942. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 3, p. 385-412, 1943.

TUNTASUVAN, D.; LUCKINS, A. G. Status of Surra in Thailand. **Journal of the Tropical Medicine and Parasitology**, Londres, v. 21, n. 2, p. 1-8, Jan. 1998.

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

VAGO, A. R.; ANDRADE, L. O.; LEITE, A. A.; D'AVILA, R. D.; MACEDO, A. M.; ADAD, S. J.; TOSTES, S. J. R.; MOREIRA, M. C.; FILHO, G. B.; PENA, S. D. Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* directly from tissues of patients with chronic Chagas disease: differential distribution of genetic types into diverse organs. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 156, n. 5, p. 1805-1809, May 2000.

VALADARES, H. M.; PIMENTA, J. R.; de FREITAS, J. M.; DUFFY, T.; BARTHOLOMEU, D. C.; OLIVEIRA, R. P.; CHIARI, E.; MOREIRA, M. C.; FILHO, G. B.; SCHIJMAN, A. G.; FRANCO, G. R.; MACHADO, C. R.; PENA, S. D.; MACEDO, A. M. Genetic profiling of *Trypanosoma cruzi* directly in infected tissues using nested PCR of polymorphic microsatellites. **International Journal for Parasitology**, London, v. 38, n. 7, p. 839-850, June 2008.

VALENTE, V. C. Potencial de domiciliação de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) no município de Muaná, Ilha de Marajó, nordeste do Estado do Pará, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 32, n. 5, p. 595-597, set./out. 1999.

VALENTE, S. A. S.; VALENTE, V. C.; FRAIHA NETO, H. Considerations on the Epidemiology and Transmission of Chagas Disease in the Brazilian Amazon. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, s. 1, p. 395-398, Sept. 1999.

VALENTE, S. A. S.; PIMENTEL, O. S.; VALENTE, V. C.; PINTO, A. Y. N.; SOUZA, G. C. R.; CARVALHO, L. S. Microepidemia familiar de doença de Chagas em Santarém. Primeiro registro no oeste do Pará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 34, s. 1, p. 19-20, 2001.

VENTURA, R. M.; PAIVA, F.; SILVA, R. A. M. S.; TAKEDA, G.; BUCK, G. A.; TEIXEIRA, M. M. G. *Trypanosoma vivax*: Characterization of the spliced leader gene of a Brazilian stock and species-specific detection by PCR amplification of an intergenic spacer sequence. **Experimental Parasitology**, St. Louis, v. 99, n. 1, p. 37-48, Sept. 2001.

VICKERMAN, K. The evolutionary expansion of the trypanosomatid flagellates. **International Journal for Parasitology**, London, v. 24, n. 8, p. 1317-1331, Dec. 1994.

VINHAES, M. C.; DIAS J. C. P. Doença de Chagas no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, s. 2, p. 7-12, 2000.

VIRREIRA, M.; SERRANO, G.; MALDONADO, L.; SVOBODA, M. *Trypanosoma cruzi*: typing of genotype (sub) lineages in megacolon samples from bolivian patients. **Acta Tropica**, St. Louis, v. 100, n. 3, p. 252-255, Dec. 2006.

von der HEYDEN, S.; CHAO, E. E.; VICKERMAN, K.; CAVALIER-SMITH, T. Ribosomal RNA phylogeny of bodonid and diplomonid flagellates and the evolution of euglenozoa. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, Canterbury, v. 51, n. 4, p. 402-416, July/Aug. 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Technical Report Series. Second report of the Expert Committee. **Control of Chagas Disease**: Technical Report Series 905. Geneva: WHO, 2002.

WINCKER, P.; BRITTO, C.; PEREIRA, J. B.; CARDOSO, M. A.; OELEMANN, W.; MOREL, C. M. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples patients in a rural endemic area. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 51, n. 6, p. 771-777, Dec. 1994.

WISNIVESKY-COLLI C. Feeding patterns of triatominae in relation to transmission of american trypanosomiasis. In: BRENNER, R. R.; STOKA, A. M. (Eds.). **Chagas disease vectors**. Boca Raton: CRC Press, 1987, cap. 5, p. 99–117.

WOO, P. T. K. The haematocrit centrifuge for the detection of trypanosomes in blood. **Canadian Journal of Zoology**, Toronto, v. 47, n. 5, p. 921-923, Sept. 1969.

XAVIER, S. S.; SOUSA, A. S.; VIÑAS, P. A.; JUNQUEIRA, A. C.; BÓIA, M. N.; COURA, J. R. Chronic chagasic cardiopathy in the Rio Negro, Amazon State. Report of three new autochthonous cases confirmed by serology, clinical examination, chest X-rays, electro and echocardiography. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 2, p. 211-216, Mar./Apr. 2006.

YANG, S.; ROTHMAN, R. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitations and future applications in acute-care settings. **The Lancet**, London, v. 4, n. 6, p.337-348, June 2004.

YEO, M.; ACOSTA, N.; LLEWELLYN, M.; SÁNCHEZ, H.; ADAMSON, S.; MILES, G. A. J.; LÓPEZ, E.; GONZÁLEZ, N.; PATTERSON, J. S.; GAUNT, M. W.; ARIAS, A. R.; MILESA, M. A. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *T. cruzi* I and armadillos hosts of *T. cruzi* II, including hybrids. **International Journal for Parasitology**, London, v. 35, n. 2, p. 225–233, Feb. 2005.

ZELEDÓN, R.; SOLANO, G.; SAENZ, G.; SWARTZWELDER, J. C. Wild reservoir of *Trypanosoma cruzi* with special mention of the opossum, *Didelphis marsupialis*, and its role in the epidemiology of Chagas' disease in an endemic area of Costa Rica. **The Journal of Parasitology**, Knoxville, v. 56, n. 1, p. 38-47, Feb. 1970.

ZELEDÓN, R.; ALVARADO, R.; JIRÓN, L. F. Observations on the feeding and defecation patterns of three triatomine species (Hemiptera: Reduviidae). **Acta Tropica**, St. Louis, v. 34, n. 1, p. 65-67, Mar. 1977.

ZELEDÓN, R. Hemoflagellates. In: BARON, S. (Ed.). **Medical Microbiology**. 4. ed. Galveston: University of Texas Medical Branch, 1996, cap. 82, p 4134-4164.

ZINGALES, B.; SOUTO, R. P.; MANGIA, R. H.; LISBOA, C. V.; CAMPBELL, D. A.; COURA, J. R.; JANSEN, A.; FERNANDES, O. Molecular epidemiology of American trypanosomiasis in Brazil based on dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences. **International Journal for Parasitology**, London, v. 28, n. 1, p. 105-112, Jan. 1998.

ZINGALES, B.; STOLF, B. S.; SOUTO, R. P.; FERNANDES, O.; BRIONES, M. R. Epidemiology, biochemistry and evolution of *Trypanosoma cruzi* lineages based on ribosomal RNA sequences. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, s. 1, p. 159-164, 1999.

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. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TCI to TCVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 7, p. 1051-1054, Nov. 2009.

ANEXO A – MEIO NEAL, NAVY E NICOLLE (NNN) E MEIO SCHNEIDER

Água bidestilada.....	900 mL
Ágar (em rama – DIFCO).....	14 g
NaCl (P.A. Carbo Erbo).....	6 g

Colocar os ingredientes acima em um balão de ensaio e aquecer até a fusão do ágar.

Autoclavar a 120°C por 30 min.

Resfriar.

Adicionar sangue desfibrilado* de coelho (20%) ou sangue citratado humano ao meio aquecido em banho-maria a 37°C.

Distribuir separadamente em tubos com tampa de rosca (3 cm/tubo) e deixar os mesmos inclinados (45°).

Fazer prova de esterilidade.

No momento do uso, adicionar a fase líquida (meio Schneider**).

*Sangue desfibrilado:

Colher sangue em balão de ensaio com pérolas de vidro esterilizadas e agitar vigorosamente. Colher com assepsia.

**Meio Schneider:

Solução Mãe

Autoclavar pouco mais que 1 L de água.

Dissolver o conteúdo de um envelope de Schneider's em pó, em ± 800 ml de água autoclavada.

Acrescentar os "solids for Schneider's" ou "Supplementar Schneider's".
Misturar bem.

Usando NaOH, ajustar o pH até 6,96.

Completar o volume até 1 L.

Filtrar usando filtro estéril e bomba de vácuo.

Guardar em frasco plástico estéril a 4° C.

Preparação do meio SCHNEIDER'S

Preparação dos Meios para cultivo

Separar 85 mL de Solução Mãe e adicionar:

0,2 mL de gentamicina - (50 mg/mL).

01 gota de Streptomicina - (500 mg/mL).

2 mL de glutamina - (200 nM).

1 mL de 5 – fluoro-citosina - (16 mg/mL).

Filtrar a vácuo.

Acrescentar 15 ml de Soro Bovino Fetal (SBF) já aquecido em banho – maria (37°C a 50°C).

Guardar em geladeira a 4°C.