

**Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Centro de Pesquisas René Rachou
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde**

**FATORES ENVOLVIDOS NA DISTRIBUIÇÃO DE TRIATOMÍNEOS E SEU
CONTROLE NO MUNICÍPIO DE DIAMANTINA, MINAS GERAIS, BRASIL, ENTRE
2011 E 2014**

por

João Victor Leite Dias

**Belo Horizonte
2015**

TESE DCS-CPqRR

J.V.L. DIAS

2015

JOÃO VICTOR LEITE DIAS

**FATORES ENVOLVIDOS NA DISTRIBUIÇÃO DE TRIATOMÍNEOS E SEU
CONTROLE NO MUNICÍPIO DE DIAMANTINA, MINAS GERAIS, BRASIL, ENTRE
2011 E 2014**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Ciências - área de concentração de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Orientação: Dr^a. Líléia Gonçalves Diotaiuti
Coorientação: Dr^a. Helen Rodrigues Martins
Dr. Herton Helder Rocha Pires

Belo Horizonte

2015

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do CPqRR
Segemar Oliveira Magalhães CRB/6 1975

D541f Dias, João Victor Leite.
2015

Fatores envolvidos na distribuição de triatomíneos e seu controle no município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil, entre 2011 e 2014 / João Victor Leite Dias. – Belo Horizonte, 2015.

XXVII, 181 f.: il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f.: 135 - 155

Tese (Doutorado) – Tese para obtenção do título de Doutor em Ciências pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

1. Doença de Chagas/transmissão 2. *Trypanosoma cruzi*/parasitologia 3. Análise espacial 4. Controle de Vetores 5. Conhecimento I. Título. II. . Diotaiuti, Liléia Gonçalves (Orientação). III. Martins, Helen Rodrigues (Coorientação). IV. Pires, Herton Helder Rocha (Coorientação).

CDD – 22. ed. – 616.936 4

JOÃO VICTOR LEITE DIAS

**FATORES ENVOLVIDOS NA DISTRIBUIÇÃO DE TRIATOMÍNEOS E SEU
CONTROLE NO MUNICÍPIO DE DIAMANTINA, MINAS GERAIS, BRASIL, ENTRE
2011 E 2014**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Ciências - área de concentração de Doenças Infecciosas e Parasitárias

Banca examinadora:

Prof.^a. Dr.^a. Liléia Gonçalves Diotaiuti (CPqRR/FIOCRUZ) Presidente

Prof. Dr. João Carlos Pinto Dias (CPqRR/FIOCRUZ) Titular

Prof.^a. Dr.^a. Marcela Lencine Ferraz (SES/MG) Titular

Prof.^a. Dr.^a. Rita de Cássia Moreira de Souza (CPqRR/FIOCRUZ) Titular

Prof. Dr. Rodrigo Gurgel-Gonçalves (UNB) Titular

Prof.^a. Dr.^a. Sílvia Ermelinda Barbosa Leite (CPqRR/FIOCRUZ) Suplente

Tese defendida e aprovada em Belo Horizonte, 11/12/2015.

“Informações só são úteis quando um desejo as chama.”

Rubem Alves

AGRADECIMENTOS

Manifesto minha gratidão às pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização da tese que aqui se apresenta, certo de que palavras nunca serão suficientes para reconhecer cada gesto de quem, de alguma forma, teve parte na materialização do trabalho.

Agradeço a Deus que me guiou e me sustentou na caminhada, por tantas pessoas singulares que colocou na minha vida e por me permitir aprender com todas elas.

Agradeço à Dr^a. Liléia Diotaiuti por me acolher como seu orientando, por acreditar no trabalho, por me mostrar sempre carinho e por me acrescentar, tanto por seu extenso conhecimento como pela sua paixão pelo tema dos triatomíneos, o que me fez igualmente apaixonado.

Ao Dr. Herton Helder Rocha Pires, a quem me atrevo afetuosamente a chamar de Tim, sou eternamente grato por todas as coisas que me ensinou ao longo desses dez anos de convivência e de compartilhar de experiências. Suas lições acadêmicas me foram preciosas, contudo as de vida, sem dúvida, tiveram valor inestimável.

À Dr^a. Helen Rodrigues Martins, pelo carinho da convivência e amizade, pela cessão do Laboratório de Doenças Parasitárias e por me ensinar tanta coisa sobre biologia molecular e o universo do *Trypanosoma cruzi*.

Ao Dr. David Gorla, agradeço pela disponibilidade em me auxiliar com as análises espaciais e pelas conversas encorajadoras. Espero seguir aprendendo com sua experiência.

À Dr^a. Carlota Belisário sou grato por me ensinar muito de morfometria e também de biologia molecular, contribuindo significativamente na minha formação.

Ao meu grande amigo MSc. Dimas Queiroz, cujas mãos estiveram presentes em praticamente todo o trabalho sempre com bom humor e presteza.

Ao biólogo Marco Aurélio Pacheco pela ajuda na captura e identificação de pequenos mamíferos.

Agradeço à dupla Raphael e Gabriel pela contribuição inestimável nas análises moleculares do *T. cruzi*.

À toda a equipe da divisão de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Diamantina, sobretudo aos senhores Adílson Ribeiro dos Santos, Edenílson Oliveira, Helder Souza, Josimar Ferreira e Mauro Machado, por me permitirem realizar a pesquisa em seus respectivos ambientes de trabalho e ainda mais por terem me ensinado sobre barbeiros na prática do campo.

Às equipes de Estratégia de Saúde da Família e colaboradores de Postos de Informação de Triatomíneos por sempre receberem prontamente a equipe de pesquisa.

Aos amigos e colegas de Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas por quase sete anos de convivência agradável.

Agradeço à equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, funcionários, estudantes e ex-alunos, por cada ajuda, café e prosa boa.

Agradeço à equipe do Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, por me apoiar na realização da pesquisa, sobretudo nas pessoas de Suedali Coelho Barata, Ilva de Fátima e Harriman Aley Moraes.

Agradeço à Dr^a. Marcela Lencine Ferraz e ao Dr. João Carlos Pinto Dias pelas valiosas contribuições e apontamentos apresentados no exame de qualificação.

Agradeço aos membros da banca de defesa por terem disposto de seu tempo para avaliar e contribuir com o trabalho final. MUITÍSSIMO obrigado à Dr^a. Marcela Lencine Ferraz, Dr^a. Rita de Cássia Moreira de Souza, Dr^a. Sílvia Ermelinda Barbosa, ao Dr. João Carlos Pinto Dias e ao Dr. Rodrigo Gurgel-Gonçalves.

Agradeço especialmente aos amigos e companheiros nessa caminhada que me permitiram participar mais intimamente de suas vidas e aprender com eles: Sara, Márcio Júnior, Alexandre Bozão, João Gabriel, Marco Aurélio Koé, João Paulo (JP), Thessa, Grasi, Rita, Sílvia, Raquel, Elisa, Juliana, Luciana, Newmar, Jorge, Marinely, Luiz Martínez, Aline, Raíssa, Tininha.

Manifesto também minha enorme gratidão a cada cidadão diamantinense, de nascimento, coração ou ocasião, por nos receberem de forma agradável, por entenderem a importância do trabalho realizado, pelos cafezinhos e os bons 'dedos de prosa'.

Aos irmãos de fé agradeço pelas orações.

Finalmente agradeço à minha família: aos meus pais por me criarem dignamente, com amor, e por abrirem mão de seus desejos em prol dos filhos. Aos meus irmãos pela alegria da convivência e pelo suporte em todo momento. Aos cunhados por me aceitarem como irmão. Aos meus sobrinhos Caio e Estêvão por trazerem dias alegres para minha vida e por entenderem quando não pude estar junto nas brincadeiras por estar trabalhando.

Agradeço às instituições que apoiaram diretamente esse trabalho:

Ao Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ, pela oportunidade de realizar esse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou.

À Biblioteca do Centro de Pesquisas René Rachou em prover acesso gratuito local e remoto à informação técnico-científica em saúde custeada com recursos públicos federais, integrante do rol de referências desta tese, também pela catalogação e normalização da mesma;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pelo financiamento mediante bolsa de estudos.

A Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, pela cessão de suas instalações bem como de amplo apoio técnico.

RESUMO

A região do Vale do Jequitinhonha foi uma área de intensa transmissão vetorial da infecção chagásica no século passado, tendo sido uma das primeiras áreas do Brasil a realizar ações de combate a populações de triatomíneos domiciliados. Com os níveis de controle alcançados e a virtual eliminação do *Triatoma infestans* no país, outras espécies continuam como alvo das atividades de vigilância. Esse estudo teve por objetivo analisar a ocorrência e distribuição de triatomíneos nas áreas urbana e rural do município de Diamantina, Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, além de analisar a infecção por *Trypanosoma cruzi* em vetores e eventuais reservatórios da infecção. Os triatomíneos foram coletados durante as ações de vigilância entomológica entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Os insetos positivos para tripanossomatídeos tiveram o conteúdo intestinal submetido a ensaio para determinação da linhagem de *T. cruzi*. A distribuição dos triatomíneos na área urbana foi analisada por meio de estatística espacial cotejando com dados de vegetação. A distribuição dos insetos na área rural foi analisada por meio de Modelos Lineares Generalizados empregando dados obtidos de sensores remotos. Avaliaram-se os conhecimentos a respeito de triatomíneos e doença de Chagas por meio de questionário entre moradores de localidades com diferentes níveis históricos de infestação triatomínica domiciliar. Mamíferos silvestres e sinantrópicos foram capturados e examinados quanto à infecção por *T. cruzi*. Foi realizada análise morfométrica de asas e análise molecular por meio de sequenciamento de gene do citocromo B para esclarecer relações de espécies de triatomíneos morfologicamente semelhantes ao *Triatoma maculata*. Foram capturados 975 triatomíneos pertencentes a oito espécies. *Panstrongylus megistus* foi a principal espécie capturada, sobretudo em colônias detectadas durante atividades de atendimento às notificações. *Triatoma vitticeps* foi a espécie mais notificada no município. A infecção por tripanossomatídeos foi observada em 7,4% dos insetos examinados, com destaque para *Panstrongylus geniculatus* (38,1%) e *T. vitticeps* (17,6%). Foram detectadas as linhagens TcI, TcII e TcIII do *T. cruzi* entre triatomíneos. As espécies distribuíram-se em distintas áreas de ocorrência ao longo do município. Os Modelos Lineares Generalizados não mostraram bom poder preditivo para descrever a ocorrência de *P. megistus*, *T. arthurneivai* e *T. vitticeps*. Na área urbana foi observada ocorrência de 140 exemplares de quatro espécies (*P. geniculatus*, *P.*

megistus, *Triatoma arthurneivai* e *T. vitticeps*). A distribuição de imóveis infestados foi agregada para todas as espécies, exceto *P. megistus*, estando *T. vitticeps* e *P. geniculatus* próximos a áreas mais vegetadas e cobertas por campo rupestre. A população reconheceu os triatomíneos independentemente da localidade de residência, porém os moradores de áreas mais infestadas conheciam melhor os serviços de controle e as condutas a se adotar em relação aos insetos. Não foram detectados mamíferos infectados por *T. cruzi*. Na morfometria geométrica *T. maculata* e *Triatoma pseudomaculata* formaram um clado enquanto na análise molecular *T. pseudomaculata* com *Triatoma wygodzinskyi* foram agrupados em um clado, sendo *T. maculata* e *T. arthurneivai* espécies mais distantes. Os resultados mostram diferenças nos espaços geográficos ocupados pelos triatomíneos no município, além da interação com diferentes linhagens de *T. cruzi*, contribuindo para um melhor entendimento da ecoepidemiologia das espécies encontradas em Diamantina e indicando a necessária manutenção da vigilância entomológica.

Palavras-chave: triatomíneos; *Trypanosoma cruzi*; análise espacial; controle vetorial; conhecimento.

ABSTRACT

Jequitinhonha Valley region represented an area with intense vector-borne transmission of Chagas disease infection in the past century, and also was one of the first areas in Brazil to carry out activities against domiciliated triatomines. Because of the controlled transmission and elimination of *Triatoma infestans* in Brazil, other triatomine species remain as target of surveillance. This study aimed to analyze the occurrence and distribution of triatomines in the urban and rural areas of the municipality of Diamantina, Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, and to evaluate infection by *Trypanosoma cruzi* among vectors and possible reservoirs. Triatomines were collected during entomological surveillance between September 2011 and August 2014. Intestinal content of the insects with trypanosomes was evaluated for diagnosis of *T. cruzi* lineage. Distribution of triatomines in an urban area was analyzed by means of spatial statistics associated to vegetation cover data. Distribution of insects in the rural areas was analyzed by means of Generalized Linear Models with remote sensed data. Knowledge related to triatomines and Chagas disease was evaluated by using a questionnaire among residents in localities with different historical levels of triatomine infestation. Sylvatic and synanthropic mammals were examined about *T. cruzi* infection. Wing morphometry and sequencing of cytochrome B gene were used to clarify relationships of species morphologically similar to *Triatoma maculata*. A total of 975 triatomines of eight species were captured. *Panstrongylus megistus* was the most captured species, especially in colonies detected during searches by health agents in response to previous notification. *Triatoma vitticeps* was the most notified triatomine. Infection by trypanosomes was observed in 7.4% of examined insects, and *Panstrongylus geniculatus* (38,1%) and *T. vitticeps* (17,6%) were most infected species. *T. cruzi* lineages TcI, TcII and TcIII were detected among triatomines. Triatomine species occurred in distinct areas along the municipality. Generalized Linear Models did not present good predictive power in describing *P. megistus*, *Triatoma arthurneivai* and *T. vitticeps* distribution. In urban area 140 triatomines of four species were captured (*P. geniculatus*, *P. megistus*, *T. arthurneivai* and *T. vitticeps*). Spatial distribution of infested buildings was clustered for all species, except for *P. megistus*. *T. vitticeps* and *P. geniculatus* were found in more vegetated areas covered by rocky fields. People from all localities were able to recognize triatomines, but the residents in

areas with more infestation knew better the existence of triatomine control service and reported desirable attitudes about the detection of insects. *T. cruzi*-infected mammals were not detected. At geometric morphometrics *T. maculata* and *Triatoma pseudomaculata* were grouped into a clade, whereas in molecular analysis *T. pseudomaculata* and *Triatoma wygodzinskyi* were grouped into a clade and *T. maculata* and *T. arthurneivai* remained more distant to them. Results presented differences in geographic space occupied by triatomines in the municipality, with interaction with distinct lineages of *T. cruzi*, contributing to improved understanding of ecoepidemiology of the triatomines species found in Diamantina, and indicating the necessity of a sustained entomological surveillance.

Keywords: triatomines; *Trypanosoma cruzi*; spatial analysis; vector control; knowledge.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Fêmea de *Panstrongylus megistus*.....37
- Figura 2 – Fêmea de *Triatoma vitticeps*.....40
- Figura 3 – A) *Triatoma maculata*; B) *Triatoma pseudomaculata*; C) *Triatoma arthurneivai*; D) *Triatoma wygodzinskyi*.....43
- Figura 4 – Localização dos Postos de Informação de Triatomíneos (PIT) na área rural (estrelas) e localização da cidade de Diamantina em mapa altimétrico do município, Minas Gerais, Brasil.....55
- Figura 5 – Armadilha luminosa instalada em área de campo rupestre, Campus JK, Alto da Jacuba, Diamantina.....63
- Figura 6 – Arredores da comunidade de Extração, Diamantina.....64
- Figura 7 – Prospecção de possíveis abrigos de mamíferos com emprego de câmera em área de campo rupestre nas proximidades do Campus JK da UFVJM.....65
- Figura 8 – Imagem em níveis de cinza do interior de uma fenda em afloramento rochoso na área de um campo rupestre, nas proximidades do Campus JK da UFVJM.....65
- Figura 9 – Vista dorsal do hemélitro direito de *T. maculata*, exibindo pontos de referência utilizados para a análise morfométrica (Fonte: Belisário, 2006).....71
- Figura 10 – Distribuição de localidades com triatomíneos positivos para tripanossomatídeos conforme a espécie. Quadrados: *Panstrongylus geniculatus*; Círculos: *Panstrongylus megistus*; Triângulo: *Triatoma pseudomaculata*; Cruzes: *Triatoma vitticeps*. Nota: A área urbana foi incluída como uma única localidade.....76

Figura 11 – Distribuição de <i>P. diasi</i> no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam localidades positivas.....	82
Figura 12 – Distribuição de <i>P. geniculatus</i> no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. □ representam localidades positivas.....	83
Figura 13 – Distribuição de <i>P. megistus</i> no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. △ representam localidades positivas...83	83
Figura 14 – Distribuição de <i>T. arthurneivai</i> no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. ○ representam localidades positivas.....	84
Figura 15 – Distribuição de <i>T. pseudomaculata</i> no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. □ representam localidades positivas.....	84
Figura 16 – Distribuição de <i>T. vitticeps</i> no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. ◇ representam localidades positivas.....	85
Figura 17 – Distribuição de <i>R. neglectus</i> * e <i>T. sordida</i> ☒ no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....	85
Figura 18 – Distribuição espacial de triatomíneos em imóveis (X) na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Imagem é composição falsa-cor RGB – 654, do sensor LANDSAT-8 OLI (28 de agosto de 2014).....	93
Figura 19 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de <i>P. geniculatus</i> em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.....	94

Figura 20 – Distribuição espacial de imóveis infestados por *P. megistus* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.....95

Figura 21 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de *T. arthurneivai* em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.....95

Figura 22 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de *T. vitticeps* em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.....96

Figura 23 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de triatomíneos positivos em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.....96

Figura 24 – Índice de Vegetação da Diferença Normalizada (NDVI) da área urbana de Diamantina e entorno. NDVI obtido das bandas 4 e 5 do sensor LANDSAT-8 OLI (28 de agosto de 2014). Áreas em tons mais escuros representam maior quantidade de biomassa verde.....98

Figura 25 – Perfis de bandas obtidos pela amplificação de fragmento de DNA de *T. cruzi* presente no conteúdo intestinal de triatomíneos capturados no município de Diamantina – MG por meio da análise do polimorfismo do gene da região 3' do gene 24Sα rDNA. PM – padrão de peso molecular de 25 pb; P209 cl1 TcI – clone de referência: amplicon de 110pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* I); MAS cl1 TcII – clone de referência: amplicon de 125pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* II); CAN III cl1 TcIV – clone de referência: amplicon de 120pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* IV); Bug 2148 cl1 TcV – clone de referência: amplicon de 110pb ou 110+125pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* V); Br – controle negativo isento de DNA; A – amostras amplificadas em análise.....106

Figura 26 – Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de DNA de *T. cruzi* presente no conteúdo intestinal de triatomíneos capturados no município de Diamantina-MG por

meio da análise do polimorfismo da região intergênica de genes do mini-exon de *Trypanosoma cruzi*. PM – padrão de peso molecular de 25 pb; P209 cl1 TcI – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi I*); MAS cl1 TcII – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi II*); M5631 cl1 TcIII – clone de referência: amplicon de 200pb (DNA de *Trypanosoma cruzi III*); CAN III cl1 TcIV – clone de referência: amplicon de 200pb (DNA de *Trypanosoma cruzi IV*); Bug 2148 cl1 TcV – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi V*); Tulahuen cl2 TcVI – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi VI*); Br – controle negativo; A – amostras amplificadas em análise.....106

Figura 27 – Árvore UPGMA derivada das distâncias de Mahalanobis para as variáveis de conformação de asas de *T. arthurneivai* (Tart), *T. maculata* (Tmac), *T. pseudomaculata* (Tpse) e *T. wygodzinskyi* (Twyg).....109

Figura 28 – Árvore consenso de Máxima Verossimilhança para filogenia de espécies do complexo '*Triatoma maculata*' baseada em fragmento do CytB. Algoritmo utilizado HKY+G. Tinf: *T. infestans*; TpCE: *T. pseudomaculata* de Sobral, Ceará; TpMG: *T. pseudomaculata* de Francisco Badaró, Minas Gerais; Tw: *T. wygodzinskyi* de São João da Boa Vista, São Paulo; Tmac: *T. maculata* de Mucajaí, Roraima; R-02, D-28, J-175, J-171, TaCh, J-217, R-51, R-52, Ta1, Ta2, J-170 e J-165: *T. arthurneivai* de Diamantina, Minas Gerais; CMM: *T. arthurneivai* de Couto de Magalhães de Minas, Minas Gerais. Números representam os valores de *bootstrap*.....110

Figura 29 – Árvore consenso de Máxima Parcimônia para filogenia de espécies do complexo '*Triatoma maculata*' baseada em fragmento do CytB. Tinf: *T. infestans*; TpCE: *T. pseudomaculata* de Sobral, Ceará; TpMG: *T. pseudomaculata* de Francisco Badaró, Minas Gerais; Tw: *T. wygodzinskyi* de São João da Boa Vista, São Paulo; Tmac: *T. maculata* de Mucajaí, Roraima; R-02, D-28, J-175, J-171, TaCh, J-217, R-51, R-52, Ta1, Ta2, J-170 e J-165: *T. arthurneivai* de Diamantina, Minas Gerais; CMM: *T. arthurneivai* de Couto de Magalhães de Minas, Minas Gerais. Números representam os valores de *bootstrap*.....111

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Número de triatomíneos notificados de acordo com a espécie e o mês no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....81
- Gráfico 2 – Elevação, NDVI, *brightness* e *wetness* para localidades de ocorrência de diferentes espécies de triatomíneos no município de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre grupos (teste de comparações múltiplas de Dunn). Caixas representam mediana, percentis 10 e 90. Suíças representam valores mínimo e máximo.....86
- Gráfico 3 – Curvas ROC para modelos lineares generalizados de distribuição preditiva de triatomíneos no município de Diamantina, entre 2011 e 2014. A) *P. megistus*; B) *T. arthurneivai*; C) *T. vitticeps*.....88
- Gráfico 4 – Percentual de triatomíneos capturados de acordo com o local de captura, na área urbana de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 140).....89
- Gráfico 5 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de *P. geniculatus* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....90
- Gráfico 6 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de *P. megistus* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....91
- Gráfico 7 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de *T. arthurneivai* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....91

Gráfico 8 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de <i>T. vitticeps</i> na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....	92
Gráfico 9 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de triatomíneos positivos para tripanossomatídeos na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....	92
Gráfico 10 – Valores de NDVI em entornos de imóveis infestados e não infestados (pontos aleatórios ‘Random’), com diferentes raios, na cidade de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Letras diferentes apontam as diferenças estatisticamente significativas entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).....	97
Gráfico 11 – Distâncias entre imóveis infestados e tipos de cobertura de solo de acordo com a espécie de triatomíneo, município de Diamantina, 2011 a 2014. Random: pontos aleatórios de pseudo-ausência; Pgen: <i>P. geniculatus</i> ; Pmeg: <i>P. megistus</i> ; Tart: <i>T. arthurneivai</i> ; Tvit: <i>T. vitticeps</i> . Caixas representam medianas e percentis 10 e 90. Suíças representam valores mínimos e máximos. Letras diferentes apontam as diferenças estatisticamente significativas entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).....	99
Gráfico 12 – Tamanho centroide para asas de <i>T. arthurneivai</i> (Tart), <i>T. maculata</i> (Tmac), <i>T. pseudomaculata</i> (Tpse) e <i>T. wygodzinskyi</i> (Twy). Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas, $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis)..	108
Gráfico 13 – Mapa fatorial da Análise Discriminante para variáveis de forma de asas de <i>T. arthurneivai</i> (Tart), <i>T. maculata</i> (Tmac), <i>T. pseudomaculata</i> (Tpse) e <i>T. wygodzinskyi</i> (Twyg). Fator 1 e Fator 2 representam as variáveis canônicas da forma.....	108

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina de acordo com a espécie e positividade para tripanossomatídeos, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 975).....77
- Tabela 2 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina de acordo com o sexo ou estágio evolutivo, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 975).....78
- Tabela 3 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina de acordo com a espécie, estágio evolutivo e local de captura, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 975).....79
- Tabela 4 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina entre setembro de 2011 e agosto de 2014, de acordo com a espécie, estágio evolutivo e atividade em que ocorreu a captura (n = 975).....80
- Tabela 5 – Número de localidades infestadas e índice de dispersão de triatomíneos de acordo com a espécie e a zona, Diamantina, setembro de 2011 a agosto de 2014.....82
- Tabela 6 – Ajustes de modelos lineares generalizados para distribuição de *T. arthurneivai*, *T. vitticeps* e *P. megistus* no município de Diamantina, Minas Gerais..87
- Tabela 7 – Número de triatomíneos capturados nas atividades de vigilância entomológica quanto à espécie e positividade para tripanossomatídeos na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.....88

Tabela 8 – Número de triatomíneos capturados nas atividades de vigilância entomológica na área urbana de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014, de acordo com a espécie e o sexo.....	89
Tabela 9 – Conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e a doença de Chagas entre moradores de áreas com diferentes níveis de infestação vetorial domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.....	101
Tabela 10 – Locais para onde os moradores encaminham os triatomíneos segundo o nível de infestação domiciliar por triatomíneos da localidade de residência. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.....	102
Tabela 11 – Condutas para evitar barbeiros em casa, apontadas por moradores de áreas com diferentes índices de infestação domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.....	103
Tabela 12 – Sugestões apresentadas para o serviço de controle da doença de Chagas por moradores de áreas com diferentes níveis de infestação domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.....	104
Tabela 13 – Número de pequenos mamíferos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica de acordo com a espécie e local de captura no município de Diamantina, Minas Gerais, maio de 2014.....	105
Tabela 14 – DTU detectadas em amostras de fezes de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014, conforme a localidade e espécie de triatomíneo.....	107
Tabela 15 – Distâncias de Mahalanobis para variáveis de conformação para asas de <i>T. arthurneivai</i> (Tart), <i>T. maculata</i> (Tmac), <i>T. pseudomaculata</i> (Tpse) e <i>T. wygodzinskyi</i> (Twyg).....	109

Tabela 16 – Distância genética (distância p) em valores percentuais entre *T. arthurneivai*, *T. infestans*, *T. maculata*, *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi*, baseada em alinhamento de sequência de fragmento de 399 pb do gene do CytB.....112

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ASTER: Advanced Spaceborne Thermal Emission and Reflection Radiometer
AVHRR: Advanced Very High Resolution Radiometer
CBERS: China-Brazil Earth-Resources Satellite
CODEVALE: Comissão de Desenvolvimento do Vale do Jequitinhonha
cytB: Citocromo B
DOS: Dark Object Subtraction
DNA: Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
DTU: Discrete Typing Units (Unidades Discretas de Tipagem)
ETM+: Enhanced Thematic Mapper Plus
FINSOCIAL: Contribuição para Financiamento Social
FUNASA: Fundação Nacional de Saúde
GLM: Generalized Linear Model
GPS: Global Positioning System (Sistema de Posicionamento Global)
LATEC: Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas
LEGAL: Linguagem Espacial para Geoprocessamento Algébrico
LED: Light Emitting Diode
LIDAR: Light Detection and Ranging
LIT: Liver Infusion Tryptose
LT: Levantamento Triatomínico
MODIS: Moderate Imaging Spectroradiometer
NDVI: Normalized Density Vegetation Index
NNN: McNeal, Novy e Nicolle
OLI: Operational Land Imager
PCDCh: Programa de Controle da Doença de Chagas
PCR: Polymerase Chain Reaction
PIT: Posto de Informação de Triatomíneos
RADAR: Radio Detection and Ranging
RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism
RG: Reconhecimento Geográfico
ROC: Receiver Operating Characteristic
SISLOC: Sistema de Informação de Localidades
SIG: Sistemas de Informações Geográficas

SL-IR: Spliced-Leader Intergenic Region

SPOT HRV-1: Satellite Pour l'Observation de la Terre High Resolution Visible-1

SRTM: Shuttle Radar Topographic Mission

SUCAM: Superintendência de Campanhas de Saúde Pública

SUS: Sistema Único de Saúde

UFVJM: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

UPGMA: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

UTM: Universal Transversa de Mercator

WGS 1984: World Geodesic System 1984

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	27
1.1 Doença de Chagas – Aspectos gerais.....	28
1.2 <i>Trypanosoma cruzi</i>	30
1.3 Vetores do <i>Trypanosoma cruzi</i> e controle vetorial da infecção chagásica no Brasil.....	32
1.3.1 <i>Panstrongylus megistus</i> : aspectos ecológicos e importância epidemiológica na doença de Chagas.....	37
1.3.2 <i>Triatoma vitticeps</i> : aspectos ecológicos e comportamentais como espécie de importância epidemiológica secundária.....	39
1.3.3 O complexo ' <i>Triatoma maculata</i> '.....	41
1.4 Geoprocessamento e aplicações ao estudo de doenças.....	44
2 OBJETIVOS	49
2.1 Objetivo geral.....	50
2.2 Objetivos específicos.....	50
3 METODOLOGIA	51
3.1 Área de estudo.....	52
3.2 Vigilância entomológica da doença de Chagas no município de Diamantina.....	53
3.3 Coleta de triatomíneos em ambiente domiciliar.....	54
3.4 Análise da distribuição espacial de triatomíneos e variáveis ambientais relacionadas nas localidades rurais do município de Diamantina.....	55
3.5 Análise da distribuição espacial de triatomíneos e variáveis ambientais relacionadas na área urbana da cidade de Diamantina.....	58
3.6 Avaliação de conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e doença de Chagas entre moradores do município de Diamantina, Minas Gerais.....	61
3.7 Captura de triatomíneos em ambiente silvestre.....	62
3.8 Avaliação da infecção de pequenos mamíferos por <i>Trypanosoma cruzi</i>	66
3.9 Ensaios moleculares para detecção e caracterização das linhagens de <i>Trypanosoma cruzi</i>	67

3.10 Análises morfométricas e moleculares de espécies do complexo ' <i>Triatoma maculata</i> ' e espécies morfologicamente relacionadas.....	69
3.11 Aspectos éticos.....	73
4 RESULTADOS.....	75
4.1 Indicadores entomológicos e distribuição espacial de triatomíneos no município de Diamantina.....	76
4.2 Distribuição espacial de triatomíneos na área urbana da cidade de Diamantina.....	88
4.3 Avaliação de conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e doença de Chagas entre moradores do município de Diamantina.....	99
4.4 Captura de triatomíneos em ambiente silvestre.....	104
4.5 Infecção por <i>Trypanosoma cruzi</i> em reservatórios.....	104
4.6 Caracterização molecular de <i>T. cruzi</i> de amostras de fezes de triatomíneos.....	105
4.7 Análises morfométricas e moleculares para o complexo ' <i>Triatoma maculata</i> '.....	107
5 DISCUSSÃO.....	113
5.1 Indicadores entomológicos e distribuição espacial de triatomíneos no município de Diamantina.....	114
5.2 Avaliação de conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e doença de Chagas entre moradores do município de Diamantina.....	124
5.3 Análises morfométricas e moleculares do complexo ' <i>Triatoma maculata</i> '.....	127
6 CONCLUSÕES.....	130
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	133
REFERÊNCIAS.....	135
APÊNDICES.....	156
ANEXOS.....	203

1.1 Doença de Chagas – Aspectos gerais

A doença de Chagas (tripanosomíase americana) é uma protozoose relacionada à infecção pelo hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909), que acomete majoritariamente populações rurais de países Latino-americanos. Estimativas apontam que cerca de 5,7 milhões de pessoas estão infectadas e 70 milhões sob risco de infecção (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

A infecção chagásica ocorria originalmente como uma enzootia de mamíferos e triatomíneos. Contudo, a modificação antrópica dos espaços naturais de transmissão do parasito resultou no surgimento de um ciclo domiciliar, com inclusão do homem e animais domésticos como hospedeiros do *T. cruzi* (BARRETTO, 1979; COURA, 2013a).

A transmissão do protozoário ao homem ocorre principalmente por meio de vetores, a saber, hemípteros reduvídeos hematófagos da subfamília Triatominae. Esses insetos adquirem o protozoário durante o repasto sanguíneo em hospedeiros e reservatórios infectados. O parasito passa por transformações morfológicas e multiplicação no tubo digestivo do inseto e suas formas infectantes, as tripomastigotas metacíclicas, são eliminadas junto às fezes e urina. Uma vez em contato com o homem, durante o repasto sanguíneo do triatomíneo, essas dejeções contaminadas com o *T. cruzi* podem ser carregadas para algum ponto lesionado da pele, inclusive no próprio sítio da picada, ou para mucosas, pelo ato de coçar (DIAS, 1979; SCHOFIELD, 1994).

Instalada a infecção no homem, o parasito pode ser transmitido por transfusão de sangue e hemoderivados, ou de mães infectadas aos filhos durante a gestação ou o parto, mecanismos esses com importância epidemiológica e que dependem diretamente da transmissão vetorial pregressa (DIAS, 2006; APT et al., 2013).

Outras formas de transmissão do parasito incluem a ingestão de alimentos contaminados, os acidentes de laboratório e a manipulação de carcaças de animais infectados, esses últimos sem grande relevância epidemiológica. A ingestão de formas infectantes do *T. cruzi*, entretanto, tem sido responsável por surtos da doença de Chagas, estando principalmente relacionados ao consumo de polpa de açaí e caldo de cana contaminados com fezes de vetores infectados, ou mesmo os próprios insetos triturados, surtos esses que apresentam alta letalidade entre os

acometidos (STEINDEL et al., 2008; NÓBREGA et al., 2009; SHIKANAI-YASUDA, CARVALHO, 2012; BENÍTEZ et al., 2013; SEGOVIA et al., 2013; SOUZA-LIMA et al., 2013; SOTO et al., 2014).

O curso clínico da doença de Chagas caracteriza-se inicialmente por uma fase aguda de duração entre três e oito semanas, sendo na maior parte das vezes assintomática ou oligossintomática. Nessa fase a presença do parasito no sangue pode ser detectável por métodos de observação microscópica direta (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2005). Em algumas situações, para casos de transmissão vetorial, é possível observar sinais conhecidos como de “porta de entrada”, que são o sinal de Romaña, caracterizado por edema bipalpebral unilateral, e o chagoma de inoculação, que consiste em uma lesão nodular endurecida. Na fase aguda pode ocorrer cardiopatia, relacionada principalmente às lesões e processo inflamatório gerando prejuízo funcional no coração do infectado (COURA, 2007; RASSI-JUNIOR et al., 2010).

Após a fase aguda, a infecção passa à fase crônica, na qual a detecção dos flagelados no sangue raramente ocorre por técnicas de observação direta, sendo o diagnóstico realizado rotineiramente por métodos sorológicos (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2005). Do ponto de vista clínico, a fase crônica se apresenta numa forma assintomática indeterminada, cujas alterações patológicas, quando presentes, limitam-se a pequenas lesões em nível microscópico da íntima vascular, ou em formas sintomáticas, entre as quais predominam a cardíaca e/ou digestiva (RASSI-JUNIOR et al., 2010).

As formas sintomáticas na fase crônica da doença de Chagas manifestam-se em cerca de 30% dos portadores da infecção. As disfunções relacionadas a essas formas estão associadas a processos inflamatórios nos quais há persistência da destruição tecidual mesmo com ínfima presença do parasito. A ocorrência de alterações anatomopatológicas está associada principalmente à perda da contratilidade das musculaturas estriada cardíaca e lisa, com prejuízos ligados também à denervação do sistema nervoso autônomo (COURA, 2007).

O arsenal terapêutico específico para a doença de Chagas se limita a dois medicamentos, o benznidazol e o nifurtimox. A eficácia do tratamento é variável conforme a fase da doença, a cepa do parasito e a resposta imune do hospedeiro. De acordo com Cançado (2002), Oliveira et al. (2008) e Coura (2009) nos casos agudos e crônicos recentes (menos de dez anos de infecção), o percentual de cura

pode exceder a 90%, contudo, em casos crônicos tardios (mais que dez anos pós-infecção), este percentual dificilmente alcança 30%. Há expectativas de que em casos tratados com o benznidazol, a evolução clínica possa ser controlada ou minimizada (LANA et al., 2009), contudo, em um estudo multicêntrico, Morillo et al. (2015) não encontraram evidências de melhoras clínicas e parasitológicas que justifiquem o tratamento nesta fase.

Em um panorama atual, com as grandes transformações sociais e demográficas, a doença de Chagas tem alcançado regiões antes indenes, como a América do Norte e Europa. Tal fato ocorre basicamente pelas migrações de infectados de áreas endêmicas para essas áreas, onde a transfusão de sangue contaminado assume o principal meio de transmissão do parasito (DIAS, 2013; JACKSON et al., 2014; ORTÍ-LUCAS et al., 2014; PÉREZ-MOLINA et al., 2014).

No Brasil, estima-se que haja cerca de 1,1 milhão de infectados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015), dos quais quase a totalidade é de casos crônicos que demandam atenção médica especializada e/ou assistência previdenciária, sobretudo no que se refere às formas sintomáticas (DIAS, 2001; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2005; DIAS, 2007a).

1.2 *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi foi descrito por Carlos Chagas no ano de 1909, a partir de observações do parasito em amostras de triatomíneos, animais domésticos e pessoas infectadas. A descrição do parasito, dos reservatórios e de aspectos clínicos da infecção creditou a Carlos Chagas feito inédito na medicina (CHAGAS, 1909; KROPF et al., 2000; COURA, 2013b).

O protozoário é um flagelado da classe Kinetoplastida, ordem Trypanosomatida. Apresenta três formas evolutivas mais evidentes: a forma amastigota, sem flagelo à microscopia, é encontrada no interior de células parasitadas; a forma epimastigota, flagelada, encontrada no tubo digestivo dos vetores e em glândulas odoríferas de marsupiais; as formas tripomastigotas, flageladas, sendo as procíclicas encontradas na corrente sanguínea de hospedeiros vertebrados e as metacíclicas encontradas na porção terminal do tubo digestivo dos triatomíneos, sendo essa a forma infectante aos mamíferos (COURA, 2007).

Os hospedeiros vertebrados do parasito são mamíferos de pelo menos 180 espécies pertencentes às ordens Artiodactyla, Carnivora, Chiroptera, Cingulata, Didelphimorphia, Lagomorpha, Perissodactyla, Pilosa, Primates, Rodentia (HERRERA, 2010; JANSEN et al., 2015). O *T. cruzi*, apesar de estar originalmente envolvido em ciclo enzoótico entre triatomíneos e mamíferos, parece infectar seres humanos desde os períodos pré-colombianos. Evidências moleculares apontam fragmentos de ácido desoxirribonucleico (DNA) do parasito em múmias com cerca de 9000 anos (AUFDERHEIDE et al., 2004).

Embora seja consensual que a reprodução do parasito tenha caráter clonal, a aplicação de ferramentas bioquímicas e de biologia molecular tem apontado a presença de populações diversas do protozoário. Miles et al. (1977), analisando seis *loci* enzimáticos observaram dois padrões de eletroforese de isoenzimas distintos para 17 isolados, com cepas relacionadas a triatomíneos e reservatórios silvestres (tipo I) exibindo padrão de bandas diferentes de cepas obtidas de hospedeiros e reservatórios domésticos (tipo II).

Posteriormente, analisando isolados de pacientes da região Amazônica, Miles et al. (1978) observaram além do perfil tipo I, um terceiro perfil ao qual denominaram tipo III, de caráter enzoótico, ao qual os autores atribuíram a infecção humana por via oral. Ainda nesse trabalho os autores relacionaram a presença de formas crônicas ao tipo II. Anos mais tarde, Tibayrenc e Ayala (1988) detectaram 43 clones por análise de 14 sistemas de isoenzimas, a partir de 524 isolados de diversas origens.

Na medida em que se desenvolveram técnicas e ferramentas moleculares, diversas classificações foram propostas para a espécie. Souto et al. 1996, por meio de marcadores moleculares (gene do mini-exon e 24S α ribossomal), observaram que as amostras analisadas se enquadravam em dois grandes grupos. Briones et al. (1999) igualmente observaram a presença de dois subgrupos.

Em intento de se estabelecer uma classificação uniformizada para as populações de *T. cruzi*, no ano de 1999 ficou acordado entre especialistas da comunidade científica que as cepas seriam enquadradas como *T. cruzi* I ou *T. cruzi* II, de acordo com os resultados obtidos em técnicas já empregadas até aquele momento. Cepas que não se enquadrassem nesses grupos seriam reconhecidas apenas por *T. cruzi* até que se estabelecesse outra classificação plausível (ANONYMOUS, 1999).

Brisse et al. (2000) e Brisse et al. (2001) detectaram seis sublinhagens para o *T. cruzi* (TcI, TcIIa, TcIIb, TcIIc, TcIId, TcIIe). Freitas et al. (2006) sugeriram, por análises filogenéticas, um modelo de evolução do *T. cruzi* a partir de três linhagens ancestrais (*T. cruzi* I, *T. cruzi* IIb e *T. cruzi* IIc), que teriam passado por eventos de hibridização que resultaram nas outras linhagens.

No ano de 2009, novo consenso sobre as subdivisões de *T. cruzi* foi publicado, recomendando aos pesquisadores a adoção da padronização de seis grupos como Unidades Discretas de Tipagem (*Discrete Typing Units – DTU*), sendo reconhecidas como TcI a TcVI, as quais teriam características clínicas, ecológicas e ecoepidemiológicas variadas (ZINGALES et al., 2009; ZINGALES et al., 2012). Esse documento ainda hoje norteia os trabalhos envolvendo caracterização molecular de *T. cruzi*.

Posteriormente à publicação do consenso, Marcili et al. (2009) descreveram uma linhagem associada a morcegos que denominaram TcBat, a qual está filogeneticamente relacionada ao TcI (PINTO et al., 2012). Essa linhagem já foi descrita infectando *Triatoma sordida* (Stal 1859) no estado do Mato Grosso do Sul (COMINETTI et al., 2014) e uma criança na Colômbia (RAMÍREZ et al., 2014), entretanto, ainda pouco está descrito sobre suas características ecológicas e suas implicações clínicoepidemiológicas (ZINGALES et al., 2012).

A descoberta de tripanossomos associados primordialmente a morcegos e as características genéticas aparentemente ancestrais de TcBat dentro da espécie suscitaram a proposição de que o *T. cruzi* originou-se de flagelados que parasitavam morcegos (STEVERDING, 2014).

Tomasini e Diosque (2015), revisando as análises realizadas por outros autores, sugeriram que as linhagens ancestrais de *T. cruzi* seriam TcII e um ancestral de TcI, TcIII e TcIV. As linhagens TcV e TcVI seriam originárias de eventos de hibridização entre TcII e TcIII. Esse mesmo trabalho questiona a posição basal de TcBat no grupo, como proposto por Guhl et al. (2014), afirmando que essa linhagem descende do mesmo ancestral de TcI, TcIII e TcIV.

1.3 Vetores do *Trypanosoma cruzi* e controle vetorial da infecção chagásica no Brasil

Os vetores do *T. cruzi* são insetos hematófagos, hemípteros, pertencentes à família Reduviidae e subfamília Triatominae. No Brasil são popularmente conhecidos como “barbeiros”, “chupão”, “fincão”, “procotó”, além de outras denominações. São animais hemimetábolos, com cinco estádios evolutivos ninfais e o estágio adulto (SCHOFIELD, 1994; SCHOFIELD, GALVÃO, 2009).

Atualmente são descritas 151 espécies em 18 gêneros, sendo duas conhecidas por registros fósseis – *Triatoma dominicana* (POINAR-JUNIOR, 2005) e *Panstrongylus hispaniolae* (POINAR-JUNIOR, 2013). As demais podem ser encontradas em diversos ambientes apresentando as mais variadas características comportamentais e ecológicas (COSTA et al., 2013; JURBERG et al., 2013; GALVÃO, JUSTI, 2015; SOUZA, 2016).

Classicamente, a importância epidemiológica dos triatomíneos no contexto da doença de Chagas humana está intimamente relacionada à capacidade de algumas espécies se estabelecerem nas habitações humanas e seus anexos. Aí transmitem o *T. cruzi* entre animais sinantrópicos e os seres humanos, caracterizando um ciclo domiciliar da infecção (COURA, 2007). Forattini (1980) relacionou a ocorrência do ciclo domiciliar a áreas de espaços abertos de origem natural ou de natureza antrópica. Nessa publicação clássica, o autor associou a presença das principais espécies brasileiras aos biomas nacionais. Entretanto, perfis de transmissão do parasito associados a espécies com baixo potencial de colonização têm sido observados com a entrada de triatomíneos infectados na habitação, sem estabelecimento de colônias (COURA et al., 2002b; CABRERA et al., 2013). Uma situação particular ocorre no caso da extração de piaçaba, atividade que favorece o contato entre os trabalhadores e triatomíneos do gênero *Rhodnius* na região de Barcelos, estado do Amazonas (COURA et al., 2002a; BRUM-SOARES et al., 2010; COURA, JUNQUEIRA, 2012).

A principal espécie responsável pela transmissão vetorial do *T. cruzi* nos países do Cone-Sul tem sido o *Triatoma infestans* (Klug 1834). Esse triatomíneo tem como centro de endemismo a região dos Vales Interandinos na Bolívia, a partir de onde se dispersou (FORATTINI, 1980; WALECKX et al., 2011). Acreditava-se que fora da região de origem a espécie apresentasse comportamento estritamente domiciliar, atribuindo ao transporte passivo a responsabilidade pela dispersão do inseto (FORATTINI, 1980). Entretanto, estudos mais recentes demonstraram a presença de *T. infestans* no ambiente silvestre na Argentina, Chile e Paraguai

(CEBALLOS et al., 2009; BACIGALUPO et al., 2010; ROLÓN et al., 2011). No Brasil a espécie foi introduzida e esteve amplamente dispersa tendo sido controlada pelas atividades de desinsetização. Atualmente, parece restrita a focos na Bahia e Rio Grande do Sul (SONODA et al., 2009; ARAÚJO et al., 2014; BRANDÃO et al., 2015).

Entre as espécies nativas do Brasil, as que possuem maior importância epidemiológica na doença de Chagas são *Panstrongylus megistus* (Burmeister 1835), *Triatoma sordida*, *Triatoma brasiliensis* Neiva 1911 e *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola 1964. A primeira está associada ao domínio da Mata Atlântica, ocorrendo em fragmentos florestais e matas ciliares em outros biomas (BARRETTO, 1979; FORATTINI, 1980; SANTOS-JÚNIOR et al., 2013). *T. sordida* ocorre principalmente nas áreas do corredor Cerrado - Caatinga, sendo a principal espécie em número de insetos capturados no país. Possui marcada ornitofilia, sendo encontrada em abundância em galinheiros, geralmente apresentando baixos índices de infecção natural por *T. cruzi* (FORATTINI, 1980; PAULA et al., 2010; GURGEL-GONÇALVES et al., 2012). *T. brasiliensis* é o principal vetor do *T. cruzi* no nordeste brasileiro e, como o *T. pseudomaculata*, ocorre associado ao bioma da Caatinga, sendo que a segunda ocorre também em áreas de Cerrado (FORATTINI, 1980; MACHADO DE ASSIS et al., 2007; MACHADO DE ASSIS et al., 2009; GURGEL-GONÇALVES et al., 2012).

Desde os anos que sucederam a descoberta de Chagas, já se compreendia claramente a necessidade de combater as populações domiciliares de triatomíneos para controlar a doença de Chagas. Contudo, a alternativa mais eficiente restringia-se às melhorias habitacionais que politicamente eram impensáveis no contexto rural brasileiro da época (PRATA, 1999; DIAS, 2011). Entretanto, nos anos 1940, com o advento de novos inseticidas de ação residual, viabilizou-se a luta química contra os 'barbeiros', tendo sido o Centro de Estudos e Profilaxia da Moléstia de Chagas, no município de Bambuí, palco dos primeiros testes do Gammexane contra triatomíneos (DIAS, PELLEGRINO, 1948; KROPF, 2005; DIAS, 2011).

Os primeiros ensaios de campo na região de Uberaba demonstraram a efetividade triatomicida do hexaclorobenzeno, com ação sobre adultos e ninfas de *T. infestans* (DIAS, 1957). No município de Bambuí, as atividades com esse inseticida levaram à redução drástica tanto na infestação domiciliar como no número de casos agudos da doença. Porém, a despeito do sucesso das primeiras ações de campo, o controle vetorial da doença de Chagas permaneceu em segundo plano até o final da

década de 1970, contando com poucos recursos para execução das atividades, essas marcadas pela descontinuidade no tempo e no espaço (DIAS, 2000).

Em meados da década de 1970, as ações de controle de triatomíneos passaram a integrar um programa nacional, o Programa de Controle da Doença de Chagas (PCDCh). Com a institucionalização do programa, foram realizados dois inquéritos de suma importância para nortear o planejamento das atividades de controle: o inquérito sorológico da população rural e o inquérito entomológico (CAMARGO et al., 1984; SILVEIRA et al., 1984). Por meio desses inquéritos, foi detectada prevalência da infecção da ordem de 4,2% na população rural brasileira, tendo sido identificado o *T. infestans* como principal vetor domiciliado no país, estando presente em 37,4% dos municípios da área endêmica, exceção feita ao estado de São Paulo que desde a década de 1960 realizava as atividades de controle em seu território (SILVEIRA, 2011a; SILVEIRA et al., 2011).

No ano de 1983, definidas as áreas prioritárias e com a alocação de recursos originários da Contribuição para Financiamento Social (FINSOCIAL), o PCDCh pôde alcançar toda a área sob risco de transmissão domiciliar, sob execução da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM). As atividades do programa seguiam o modelo campanhista verticalizado que já obtivera êxito no controle da malária em extensas áreas do território nacional (MORENO, BARACHO, 2000; DIAS, 2011). Dessa forma, as ações se estruturaram em três grandes fases:

- Reconhecimento Geográfico (RG) e Levantamento Triatomínico (LT): nessa etapa todos os imóveis da área endêmica foram mapeados e investigados quanto à presença de triatomíneos;
- Fase de ataque: nessa fase houve dois ciclos iniciais de borrifação de inseticidas de ação residual em todos os imóveis da área endêmica. Após os ciclos de borrifação eram realizadas avaliações periódicas com busca de novos focos triatomínicos que, uma vez encontrados, levavam a um novo procedimento de borrifação;
- Fase de vigilância entomológica: nesse contexto a infestação triatomínica já chegara a níveis de detecção muito baixos, não justificando, assim, a presença contínua de agentes visitando e investigando domicílios. Nessa fase, a população constituía-se no principal responsável pela detecção e notificação dos insetos aos entes

governamentais, que, ao investigar o imóvel de origem, caso houvesse presença de foco triatomínico, procediam a borrifação de inseticidas.

Em 1991, por acordo intergovernamental entre Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai, foi formalizada a Iniciativa do Cone-Sul para eliminação do *T. infestans* e controle da transmissão transfusional da doença de Chagas. Esta iniciativa previa o fortalecimento das ações de controle vetorial em nível continental e promoção do controle de qualidade em serviços de hemoterapia (DIAS, 2007b).

No ano de 1999, com a publicação da Portaria nº 1399/99, as ações de controle das 'grandes endemias' passaram à responsabilidade das administrações municipais, acompanhando tendência de gestão descentralizada discutida desde a institucionalização do Sistema Único de Saúde (SUS), no início da década de 1990 (BRASIL, 1999; VILLELA et al., 2007).

Uma vez as atividades finalísticas sob execução direta dos municípios, aos níveis estadual e federal couberam o planejamento e a fiscalização das atividades na esfera local, além da distribuição de insumos estratégicos (BRASIL, 1999).

O alcance e sucesso das ações de controle da doença de Chagas no Brasil levaram o país a receber da Organização Pan-americana de Saúde, no ano de 2006, a certificação de interrupção da transmissão vetorial da doença de Chagas pelo *T. infestans* (FERREIRA, SILVA, 2006). Entretanto, esse reconhecimento, ao mesmo tempo em que coroou o êxito do programa brasileiro, propagou uma falsa ideia de erradicação dos triatomíneos ou mesmo da infecção chagásica, impactando profundamente a gestão da vigilância entomológica (ABAD-FRANCH et al., 2013).

Nesse sentido, a descentralização do controle vetorial da doença de Chagas também contribuiu para o enfraquecimento das ações, uma vez que muitos municípios não tinham à época (e muitos ainda hoje não têm) experiência na gestão de endemias, prejudicando a sustentabilidade das atividades. Soma-se a isso o aparecimento de agravos com maior visibilidade, como a dengue e a leishmaniose visceral, que emergiram nas últimas décadas e, em muitas vezes, demandam que agentes envolvidos no controle de triatomíneos sejam deslocados para trabalhar no controle desses agravos (DIAS, 2000; VILLELA et al., 2007).

A noção errônea de eliminação dos triatomíneos ou da doença de Chagas anuvia o fato de que ainda hoje muitas espécies desses vetores têm sido encontradas invadindo e colonizando o ambiente domiciliar, inclusive portando o *T. cruzi* (VILLELA et al., 2005; OLIVEIRA, SILVA, 2007; MACHADO DE ASSIS et al.,

2007; MACHADO DE ASSIS et al., 2009; PAULA et al., 2010; MAEDA et al., 2012; SILVA et al., 2012; BELISÁRIO et al., 2013; SANTOS et al., 2014). Nesse contexto, a compreensão dos hábitos e da ecologia desses insetos é de suma importância para a manutenção de uma vigilância entomológica racional, cientificamente fundamentada, e efetiva.

1.3.1 *Panstrongylus megistus*: aspectos ecológicos e importância epidemiológica na doença de Chagas

Panstrongylus megistus (Figura 1) é uma espécie de triatomíneo que ocorre no Brasil, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Argentina (CARCAVALLO et al., 1999). Esse inseto foi a primeira espécie incriminada na transmissão do *T. cruzi* ao homem, e no Brasil representa a principal espécie autóctone envolvida na epidemiologia da doença de Chagas (CHAGAS, 1909; BARBOSA et al., 2006).

Figura 1 – Fêmea de *Panstrongylus megistus*.



FONTE: Fotografia tirada pelo autor.

Para Forattini (1980) o centro de endemismo do *P. megistus* compreende a floresta tropical Atlântica, de onde a espécie teria dispersado para outras áreas, onde são mantidos fragmentos de matas ombrófilas densas, como capões e matas

de galeria. Barbosa et al. (2006) sugeriram que a distribuição da espécie acompanhou as mudanças paisagísticas da vegetação ao longo do tempo, sendo as expansões e retrações das áreas florestadas responsáveis pela presença dos referidos fragmentos florestais e a fauna associada.

Diferenças na capacidade de invadir e colonizar os ambientes artificiais pelo *P. megistus* têm sido observadas por muitos autores. Estas diferenças levaram Pessoa (1962) a propor a existência de duas subespécies, uma relacionada ao ambiente silvestre e outra relacionada à colonização de ambientes antrópicos. Já Forattini (1980) assinalou uma variação regional no comportamento desse triatomíneo, sendo que na região Sul do Brasil, em geral somente adultos são encontrados em domicílios, no Sudeste é possível observar tanto invasão como colonização de ambientes intra e peridomiciliares, e na região Nordeste a espécie é quase estritamente domiciliar. Nesse sentido, Barbosa et al. (2001) observaram, em laboratório, diferenças bionômicas marcantes entre populações dessas três regiões brasileiras.

No ambiente silvestre *P. megistus* é encontrado comumente associado a didelfídeos, além de aves e roedores, em ninhos estabelecidos em tocas e troncos ocos de árvores (BARRETTO, 1979; SANTOS-JÚNIOR et al., 2011; SANTOS-JÚNIOR et al., 2013). No ambiente domiciliar esse triatomíneo é apto a colonizar tanto o intradomicílio como o peridomicílio, onde é encontrado com frequência colonizando anexos, sobretudo galinheiros, local em que encontra grande disponibilidade de fontes de alimentação (VILLELA et al., 2005; PAULA et al., 2010; BELISÁRIO et al., 2013). Contudo, a espécie apresenta hábito alimentar eclético, o que é observado em análises de conteúdo intestinal de exemplares capturados em ambiente domiciliar que apontaram presença de sangue de animais domésticos como cães, gatos, porcos, além de aves, roedores, didelfídeos, e, ainda, sangue humano (FERNANDES et al., 1992; VILLELA et al., 2010).

No território brasileiro, o *P. megistus* já foi assinalado em estados das regiões Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul, em áreas de Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica e Pampa (GURGEL-GONÇALVES et al., 2012).

No estado de Minas Gerais o *P. megistus* é encontrado amplamente distribuído (SILVEIRA et al., 1984). Na região do Vale do Jequitinhonha, assim como em todo o estado, representou importante vetor de *T. cruzi* à população humana, tendo sido o principal responsável por casos da doença em períodos nos quais o *T.*

infestans não estava presente na área ou já se encontrava sob controle, a saber, antes da década de 1950 e após as primeiras ações de controle conduzidas na década de 1960 (PELLEGRINO, 1950; DIAS, 2000; MACHADO DE ASSIS et al., 2009; DIAS, 2010). Entre os anos de 2001 e 2008 esse triatomíneo representou a segunda espécie em número de exemplares capturados na região estando presente em todos os municípios da Superintendência Regional de Saúde de Diamantina (DIAS, 2010).

No estado de Minas Gerais o período de dispersão dos insetos parece ocorrer principalmente nos meses quentes e úmidos do ano, quando o número de notificações de exemplares adultos aumenta (DIAS, DIAS, 1968; VILLELA et al., 2005; DIAS, 2010), o que também se observa no Distrito Federal (MAEDA et al., 2012).

A ocupação humana com modificação da paisagem exerce efeitos distintos sobre a dispersão do *P. megistus* de acordo com o impacto e o grau de antropização. A fragmentação do ambiente com a manutenção de 'ilhas' de vegetação parece influenciar positivamente na invasão de domicílios, uma vez que adultos podem voar a partir de focos silvestres adventícios levando à formação de colônias em novos sítios. Por outro lado, a destruição massiva dos ambientes naturais desses triatomíneos resulta na redução das populações silvestres da espécie em nível regional (FORATTINI, 1980; LITVOC et al., 1990).

Dada a presença de *P. megistus* em ampla área do território brasileiro e sua capacidade de transmissão do *T. cruzi* ao homem, a manutenção da vigilância entomológica sustentada nas regiões em que essa espécie ocorre é de fundamental importância (VILLELA et al., 2005).

1.3.2 *Triatoma vitticeps*: aspectos ecológicos e comportamentais como espécie de importância epidemiológica secundária

Triatoma vitticeps (Figura 2) é uma espécie autóctone do Brasil, estando distribuída pelos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (CARCAVALLO et al., 1999; SOUZA et al., 2010). Trata-se de um triatomíneo predominantemente silvestre, entretanto achados de exemplares adultos no ambiente intradomiciliar têm sido frequentes (SILVEIRA, 2000). O encontro de ninfas em domicílios e anexos é esporádico e em muitos casos está associado à presença

de animais domésticos e mamíferos sinantrópicos (LOROSA et al., 2003; SANTOS et al., 2005; SOUZA, 2009).

Figura 2 – Fêmea de *Triatoma vitticeps*.



FONTE: Fotografia tirada pelo autor.

A distribuição proposta para a espécie acompanha áreas de Mata Atlântica e parte do Cerrado (GURGEL-GONÇALVES et al., 2012). Leite et al. (2010), ao analisarem fatores possivelmente associados à ocorrência da espécie em domicílios no estado do Espírito Santo observaram associação de infestação com áreas com terrenos de maior inclinação. Esses autores constataram, ainda, que a presença de fragmentos de matas não esteve associada à infestação pelo triatomíneo. Souza et al., (2010), por outro lado, observaram a relação entre áreas com alta pluviometria e a ocorrência da espécie. Associado a isso esses autores verificaram em laboratório que a alta umidade relativa é fator crítico para a eclosão dos ovos.

Embora não se conheça com precisão seus ecótopos no ambiente natural, análises de conteúdo intestinal de triatomíneos capturados em unidades domiciliares sugerem que *T. vitticeps* está associado a uma diversidade de mamíferos entre roedores, didelfídeos, felinos, canídeos, tatus, equinos, bovinos, suínos, o que explica as altas taxas de infecção por flagelados encontradas entre os exemplares desse triatomíneo (DIAS et al., 1989; GONÇALVES et al., 2000; LOROSA et al., 2003; SANTOS et al., 2006; SOUZA et al., 2011).

No estado de Minas Gerais, a espécie ocupa o terceiro posto quanto ao número de exemplares capturados, atrás de *T. sordida* e *P. megistus* (SOUZA et al., 2010). Na região atendida pela Superintendência Regional de Saúde de Diamantina, entre 2001 e 2008, o *T. vitticeps* encontrava-se distribuído em 30 dos 34 municípios. Quando comparada com o período de 1975 a 1983 o triatomíneo teve sua distribuição ampliada (DIAS, 2010).

Apesar das altas taxas de infecção natural, o *T. vitticeps* figura como uma espécie de importância secundária na epidemiologia da infecção chagásica humana (SESSA, CARIAS, 1986; DIAS et al., 1989; SILVEIRA, 2000; SESSA et al., 2002). Duas importantes características que contribuem para que a espécie não seja um vetor costumaz do *T. cruzi* são a baixa capacidade em estabelecer colônias intradomiciliares densas e o longo tempo que os exemplares levam para eliminação de dejetos após o repasto sanguíneo (SANTOS et al., 2006). Cabe ressaltar, entretanto, que relatos recentes têm incriminado a espécie na transmissão do *T. cruzi* ao homem no norte do estado do Rio de Janeiro, o que alerta para a necessidade de monitoramento da espécie no contexto da vigilância entomológica da infecção chagásica (LOROSA et al., 2008; SANGENIS et al., 2015).

1.3.3 O complexo '*Triatoma maculata*'

O complexo '*Triatoma maculata*' foi proposto por Carcavallo et al. (2000) com base na semelhança morfológica entre *Triatoma maculata* (Erichson 1848) e *T. pseudomaculata* (Figura 3A e 3B). Schofield (1988) sugeriu que ambas as espécies compartilham um ancestral comum, cujas populações teriam sido separadas pelo transporte passivo associado a aves migratórias. Outra hipótese, proposta por Abad-Franch e Monteiro (2007), sugere que as populações ancestrais dessas espécies teriam sido separadas por evento de vicariância devido à expansão de florestas ombrófilas e fechamento dos corredores secos compreendidos entre a região nordeste do Brasil (atual área de ocorrência de *T. pseudomaculata*) e a região das savanas do Orinoco (área de ocorrência do *T. maculata*).

Neste complexo são marcantes as diferenças ecológicas entre as espécies. *T. maculata* é encontrada na Venezuela, Suriname, Guiana, Guiana Francesa, Colômbia, Aruba, Bonaire, Curaçao, e no estado de Roraima, no Brasil (CARCAVALLO et al., 1999). Seus ecótopos na natureza são troncos de árvores,

ninhos de aves e mamíferos e copas de palmeiras (CARCAVALLO et al., 2000). É vetor de importância secundária na transmissão do *T. cruzi* ao homem, contudo há relatos de alta infestação domiciliar inclusive por exemplares infectados dessa espécie (CORTÉS, SUÁREZ, 2005; ROJAS et al., 2008). Mais recentemente, Cantillo-Barraza et al. (2015) incriminaram *T. maculata* como vetor em dois casos da infecção chagásica na Colômbia. Esses autores também observaram ecletismo alimentar do triatomíneo, sendo identificado sangue de galinhas, cães e humanos em 40 insetos analisados.

T. pseudomaculata é uma espécie exclusivamente brasileira, originalmente associada ao bioma da caatinga, de onde teria se dispersado a áreas de Cerrado (FORATTINI, 1980; CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2009). Na natureza é espécie arborícola, sendo comumente encontrada em cascas de troncos de árvores (CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2010). Também considerada como de importância epidemiológica secundária, é encontrada com relativa frequência colonizando anexos peridomiciliares, principalmente galinheiros, e em alguns casos foi encontrada formando colônias no ambiente intradomiciliar (FROTA et al., 1999; MACHADO DE ASSIS et al., 2007).

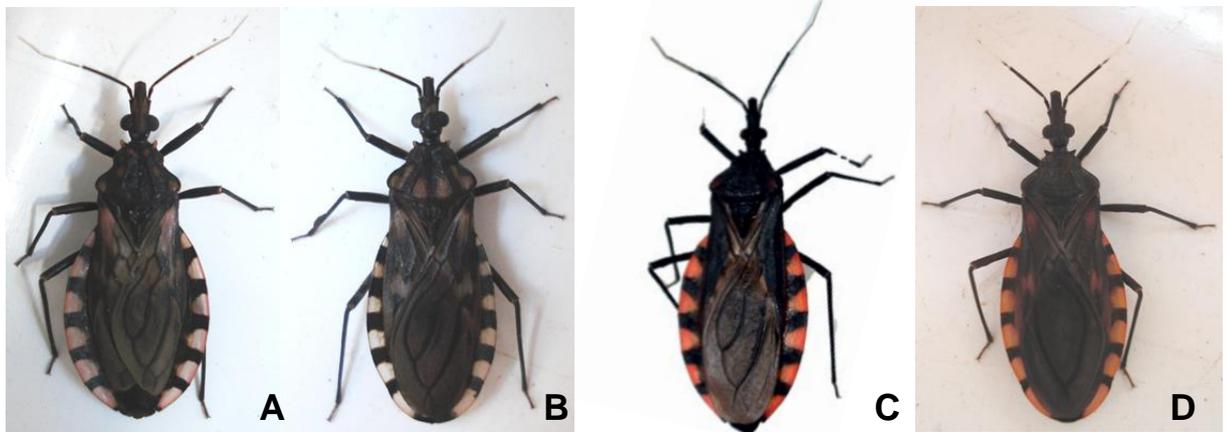
Outras espécies morfológicamente semelhantes às do complexo '*Triatoma maculata*' são *Triatoma arthurneivai* Lent & Martins 1940 e *Triatoma wygodzinskyi* Lent 1951.

Triatoma arthurneivai (Figura 3C) foi descrito a partir de exemplares coletados em 1940, na região da Serra do Cipó, porção Meridional da Cordilheira do Espinhaço, estado de Minas Gerais (LENT, MARTINS, 1940). Desde então foram relatados diversos achados que inicialmente foram atribuídos a essa espécie na região de Sorocaba, no estado de São Paulo (CORRÊA et al., 1962; ALVES, NODA, 1964; CORRÊA et al., 1965; FORATTINI et al., 1968; JUAREZ, 1970; FORATTINI et al., 1972; WANDERLEY, 1991; RODRIGUES et al., 1992; ROSA et al., 2005; SILVA et al., 2011). Entretanto, estudos recentes de morfometria de cabeça e asas afirmam que tais exemplares tratavam de *T. wygodzinskyi* (SANTOS et al., 2007, CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2011).

Triatoma wygodzinskyi (Figura 3D) foi descrito de exemplar encontrado em Santa Rita de Caldas, no sul de Minas Gerais (LENT, 1951). É espécie rupícola, sendo encontrada nos estados de Minas Gerais e São Paulo (CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2010). Em estudo de modelagem de distribuição dessa espécie,

Carbajal de La Fuente et al. (2009) assinalaram a possibilidade da presença do inseto também no Paraná. A esse respeito, consta na literatura achado de *T. arthurneivai* nesse estado por Stumpf et al. (1981) que, a despeito dos estudos supracitados não terem incluído populações dessa área, provavelmente refere-se a *T. wygodzinskyi*.

Figura 3 – A) *Triatoma maculata*; B) *Triatoma pseudomaculata*; C) *Triatoma arthurneivai*; D) *Triatoma wygodzinskyi*.



FONTE: Fotografias A, B, D: DIOTAIUTI et al., 2008. Fotografia C: tirada pelo autor.

Dessa forma, os achados de *T. arthurneivai* se restringiram aos exemplares coletados na Serra do Cipó, o que inviabilizou estudos mais profundos sobre a espécie e sua posição em relação ao complexo '*maculata*'. Dias et al. (2011) relataram encontro recorrente de *T. arthurneivai* em áreas ao norte da Serra do Cipó, na região do Platô de Diamantina, também no complexo do Espinhaço Meridional. Nessas áreas, à semelhança da região em que a espécie foi descrita, predominam elevações superiores a 1000m e a paisagem é coberta pela vegetação dos campos rupestres.

A validade do complexo '*maculata*' tem sido tema de debate no meio científico. As semelhanças morfológicas marcantes entre *T. pseudomaculata* e *T. maculata*, bem como a viabilidade de cruzamentos com geração de híbridos viáveis advogam em favor do status de complexo (CARCAVALLO et al., 2000, BELISÁRIO, et al., 2007). Contudo, os estudos de Hypsa et al. (2002), Paula et al. (2005), Santos et al. (2007) e Carbajal de La Fuente et al. (2008) sugerem, baseados em caracteres

moleculares e morfológicos, que *T. maculata* e *T. pseudomaculata* não são espécies irmãs, sendo que os últimos autores posicionam *T. pseudomaculata* como espécie mais próxima de *T. wygodzinskyi*. Justi et al. (2014), analisando sequências de DNA ribossomal e mitocondrial, posicionaram *T. maculata* como espécie afim de espécies do complexo *T. brasiliensis*, enquanto *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi* figuraram como espécies irmãs e próximas a *Triatoma guazu*, *Triatoma williami* e *Triatoma costalimai*.

Um dos pontos limitantes dos estudos acima referidos foi a pequena quantidade de exemplares de *T. arthurneivai* disponíveis, restrita aos exemplares-tipo (CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2011). Esse fato fez oportuno, no presente estudo, aprofundar o debate lançando mão de exemplares que têm sido capturados no município de Diamantina, possibilitando a aplicação de ferramentas de biologia molecular associadas a técnicas de morfometria incluindo todas as espécies envolvidas, de forma a elucidar as relações filogenéticas entre elas.

1.4 Geoprocessamento e aplicações ao estudo de doenças

Entende-se geoprocessamento como o conjunto de técnicas matemáticas e computacionais de aquisição, tratamento, manipulação e apresentação de dados espaciais com fins de aplicação a um determinado objetivo. No contexto do geoprocessamento estão inseridas as ferramentas de sensoriamento remoto, Sistemas de Informações Geográficas (SIG), Sistema de Posicionamento Global (*Global Positioning System* – GPS) (FITZ, 2008).

O sensoriamento remoto consiste fundamentalmente na aquisição de dados sobre determinado objeto sem que se haja contato entre o sensor e o objeto analisado. Quando o objeto em questão é a superfície terrestre, os sensores mais aplicados são os sensores aerotransportados e os sensores satelitais (FLORENZANO, 2008).

Os sensores de observação da Terra podem ser categorizados como sensores passivos ou ativos. Os sensores passivos captam a radiação solar refletida pela superfície terrestre ou mesmo a radiação emitida pela mesma, visto que qualquer corpo a temperaturas superiores a zero Kelvin emite radiação. Nessa categoria está incluída a maior parte dos sensores de observação da Terra. Os sensores ativos, por sua vez, emitem pulsos de radiação e captam a energia eletromagnética refletida

pela Terra. Esses sensores são capazes de descrever a rugosidade de superfícies com bastante precisão. Os mais conhecidos são os que utilizam pulsos de micro-ondas (RADAR – *Radio Detection and Ranging*) ou *laser* (*Light Detection and Ranging* – LIDAR) (FLORENZANO, 2008; PONZONI, SHIMABUKURO, 2009).

Algumas características dos sensores definem sua aplicabilidade nos estudos terrestres. A resolução de um sensor abrange conjunto de variáveis importantes para fundamentar a escolha e utilização de dados satelitais, e essencialmente são (HERBRETEAU et al., 2005; PONZONI, SHIMABUKURO, 2009):

- Resolução espacial: definida como a unidade mínima discriminável pelo sensor no terreno. Nesse sentido os sensores podem apresentar altas resoluções, podendo discriminar alvos com áreas inferiores a 1m² como no caso dos satélites da série Ikonos e Quickbird, até resoluções mais baixas, como 250m nos satélites da série MODIS (*Moderate Imaging Spectroradiometer*) ou 1km² no caso do AVHRR (*Advanced Very High Resolution Radiometer*);
- Resolução espectral: corresponde à capacidade de captação do sensor em diferentes faixas do espectro eletromagnético. Quanto maior essa resolução, mais bandas o sensor possui, e maior a capacidade de detectar alvos com diferentes comportamentos espectrais;
- Resolução Radiométrica: essa propriedade diz respeito à qualidade da imagem gerada pelo sensor, mensurada em níveis de cinza. Um sensor, como exemplo, que tenha a resolução de 1 *bit* origina uma imagem preto e branca. Uma imagem em 8 *bits*, por outro lado, possui 256 níveis de cinza;
- Resolução temporal: refere-se ao período de tempo que um sensor leva para imagear a mesma faixa da superfície terrestre.

Os dados provenientes de sensoriamento remoto são especialmente úteis para o estudo de fenômenos biológicos em escalas nas quais a observação direta é inviável. No caso das doenças, é possível analisar como as variáveis ambientais podem ser associadas à ocorrência das mesmas, à distribuição de vetores, ocorrência de desastres, possibilitando a construção de modelos que possam contribuir para o entendimento e controle de tais agravos (HERBRETEAU et al., 2005).

Entre os produtos originados de dados de sensores satelitais, os índices de vegetação têm sido amplamente utilizados. Entre eles, o Índice de Vegetação da

Diferença Normalizada (*Normalized Density Vegetation Index – NDVI*) (ROUSE JUNIOR et al., 1973) o qual é frequentemente empregado no estudo dos padrões de distribuição de vetores de doenças como malária (OLIVEIRA et al., 2013), esquistossomose (GUIMARÃES et al., 2010; SCHOLTE et al., 2012; SCHOLTE et al., 2014), doença de Chagas (CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2009; GURGEL-GONÇALVES et al., 2012; COSTA et al., 2014) e leishmanioses (DONALISIO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012; ANDRADE et al., 2014; SANTINI et al., 2015). O NDVI é obtido de valores de reflectância de uma superfície imageada nas bandas do infravermelho próximo e do vermelho, conforme a equação 1:

$$NDVI = \frac{(\rho_{IVP} - \rho_V)}{(\rho_{IVP} + \rho_V)} \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

NDVI é o Índice de Vegetação da Diferença Normalizada;

ρ_{IVP} é a reflectância da superfície na faixa do infravermelho próximo;

ρ_V é a reflectância da superfície na faixa do vermelho.

Os valores do NDVI variam de -1 a +1, conforme o vigor da biomassa verde. A reflectância da vegetação tende a ser alta no espectro do infravermelho próximo visto que nessa faixa a luz é pouco absorvida pelos constituintes da planta e pela água. Por outro lado a reflectância da vegetação é muito baixa no comprimento de onda do vermelho, uma vez que a luz nessa faixa é altamente absorvida pelos pigmentos fotossintéticos (PONZONI, SHIMABUKURO, 2009).

Outros produtos satelitais que já foram aplicados ao estudo de enfermidades são as componentes derivadas da transformação *Tasselled Cap*, inicialmente aplicada ao sensor *Multispectral Scanner* do satélite LANDSAT 4 (KAUTH, THOMAS, 1976). O procedimento envolve operações matemáticas para as bandas do sensor utilizando os valores de reflectância de alvos da superfície terrestre resultando em componentes que sintetizam informação digital contida em todas as bandas. De acordo com Crist e Cicone (1984), que aplicaram a transformação a dados derivados do sensor *Thematic Mapper* do satélite LANDSAT 5, as três primeiras componentes são conhecidas como *brightness*, *greenness* e *wetness* e estão relacionadas, respectivamente, à radiação emitida pelo solo (inclusive calor), à biomassa verde e à umidade tanto no solo como na vegetação. Os valores das

componentes são absolutos e não correspondem a medidas de grandezas de temperatura ou umidade. As componentes quatro, cinco e seis não apresentam relação com nenhuma característica descrita em específico.

A transformação *Tasselled Cap* já foi aplicada a vários sensores satelitais como os do SPOT HRV-1 (*Satellite Pour l'Observation de la Terre High Resolution Visible-1*) (HILL, AIFADOPOLOU, 1990), LANDSAT 7 ETM+ (*Enhanced Thematic Mapper Plus*) (HUANG et al., 2002), ASTER (*Advanced Spaceborne Thermal Emission and Reflection Radiometer*) (YARBROUGH et al., 2005a), Quickbird 2 (YARBROUGH et al., 2005b), MODIS (LOBSER, COHEN, 2007), CBERS-02B (*China-Brazil Earth-Resources Satellite*) (SHENG et al., 2011), sendo que para cada um é necessária a determinação prévia dos coeficientes para as operações. Recentemente, Baig et al. (2014) descreveram os coeficientes para a transformação para imagens do sensor *Operational Land Imager* (OLI) a bordo do LANDSAT 8, a partir dos valores de reflectância ao nível do sensor, o que permite a aplicação de componentes derivadas da transformação *Tasselled Cap* para mais este sensor que está operacional, fornecendo imageamento terrestre atualizado.

Além das análises por sensoriamento remoto, as análises estatísticas espaciais são ferramenta importante para o estudo de agravos à saúde, no contexto do geoprocessamento. Do ponto de vista da epidemiologia, a localização de um fenômeno no espaço e como esse fenômeno se distribui pode subsidiar as medidas preventivas. Menção deve ser feita ao trabalho pioneiro do médico John Snow, que ao analisar a distribuição de casos de cólera na cidade de Londres em 1854, observou que a maior parte dos casos ocorria próxima a uma bomba de captação de água na Broadway Street. Ao interditar a bomba, o surto foi controlado (DRUCK et al., 2004).

No âmbito da estatística espacial, os fenômenos podem ser estudados ao nível individual (evento pontual), agregado por área (como taxas de evento por setor, por bairro) ou por superfície (por exemplo, teor de minerais em amostras de solo). No caso de fenômenos pontuais, esses podem apresentar padrões de distribuição agregada – quando tendem a ocorrer próximos entre si; regular – quando os fenômenos ocorrem ao longo de toda uma área, de forma ordenada; ou aleatória, quando não é possível detectar um padrão espacial para a ocorrência do evento (DRUCK et al., 2004).

Os Sistemas de Informação Geográfica (SIG) permitem integração de dados geográficos derivados de sensores remotos, análise cartográfica, sistema de posicionamento global, em um ambiente computacional possibilitando o tratamento e análise desses dados de forma a gerar informações georreferenciadas sobre um ou mais fenômenos de interesse (FITZ, 2008).

Nesse contexto, a aplicação de modelos estatísticos integrados aos SIG tem viabilizado a construção de mapas não só de ocorrência, como também de distribuição preditiva de espécies por meio de ferramentas de modelagem de distribuição ou modelagem de nicho ecológico (ELITH, LEATHWICK, 2009).

O conceito de nicho ecológico, conforme Hutchinson (1959) diz respeito a um hipervolume n-dimensional que abrange todos os fatores bióticos e abióticos relacionados à presença de uma espécie. A modelagem de nicho ecológico consiste no processamento computacional de dados de ocorrência de espécies em associação com dados de variáveis ambientais. O modelo resultante apresenta as áreas em que as condições ambientais permitem, com maior ou menor probabilidade, a ocorrência da espécie estudada (GIANNINI et al., 2012).

A modelagem de nicho ecológico tem sido largamente utilizada no estudo da distribuição de doenças. De maneira semelhante, diversos trabalhos têm utilizado essa abordagem, com as mais variadas metodologias, para predição de áreas de ocorrência dos vetores do *T. cruzi* (BATISTA, GURGEL-GONÇALVES, 2009; CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2009; GURGEL-GONÇALVES, CUBA-CUBA, 2009; SOUZA et al., 2010; GURGEL-GONÇALVES et al., 2011; GURGEL-GONÇALVES et al., 2012; PEREIRA et al., 2013; COSTA et al., 2014; SOUZA et al., 2015).

O conhecimento dos padrões de distribuição espacial dos triatomíneos e das variáveis ambientais relacionadas à presença das diferentes espécies pode contribuir para o delineamento de ações de controle de tais vetores, além de auxiliar na compreensão das relações biogeográficas e ecológicas das espécies (GALVÃO, JUSTI, 2015).

2.1 Objetivo geral

Identificar fatores ecológicos e epidemiológicos associados à distribuição de triatomíneos e determinar a infecção de vetores e reservatórios por *Trypanosoma cruzi* no município de Diamantina, Minas Gerais, com vistas ao aprimoramento da vigilância entomológica.

2.2 Objetivos específicos

- Analisar a distribuição espacial de triatomíneos nas áreas urbana e rural do município de Diamantina;
- Identificar variáveis ambientais relacionadas à presença das espécies de triatomíneos no município de Diamantina;
- Caracterizar a ocorrência de triatomíneos em ambientes domiciliares e peridomiciliares;
- Caracterizar a colonização triatomínica em ecótopos silvestres;
- Identificar as linhagens de *T. cruzi* a partir de triatomíneos e reservatórios infectados;
- Avaliar os conhecimentos e práticas da população no tocante à doença de Chagas e seus vetores em localidades urbanas e rurais com diferentes índices de infestação triatomínica;
- Contribuir para a compreensão das relações filogenéticas entre as espécies do complexo '*Triatoma maculata*' e as espécies morfologicamente semelhantes (*T. arthurneivai* e *T. wygodzinskyi*).

3.1 Área de estudo

A área de estudo compreendeu as localidades urbanas e rurais do município de Diamantina, localizado no nordeste do estado de Minas Gerais, na região do Alto Vale do Jequitinhonha. Este município foi escolhido para o presente trabalho por ser historicamente endêmico para a doença de Chagas humana e representar, com suas especificidades, o panorama atual da endemia em uma importante região de Minas Gerais. De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, no ano de 2010, Diamantina possuía população de 45.880 habitantes em uma área de 3.891,659 Km² (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). No mesmo ano residiam, na sede municipal, 32.891 pessoas. O número de localidades cadastradas no Sistema de Informação de Localidades (SISLOC) da FUNASA, em 2014, é de 333, sendo 308 rurais e 25 urbanas.

O município está localizado na porção meridional da Cordilheira do Espinhaço, em grande parte apresentando áreas com altitudes superiores a 1000 metros acima do nível do mar. A sede municipal encontra-se a cerca de 1200 m. O clima é CWb, tropical de altitude, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger (ALVARES et al., 2013). A temperatura e a precipitação médias anuais são de 19°C e 1.400mm, sendo que a estação chuvosa ocorre entre os meses de outubro e março (DIAMANTINA, 2009; VIEIRA et al., 2010).

Embora o bioma predominante seja o cerrado, o município encontra-se em uma zona de transição entre os biomas do cerrado, a oeste, e da mata atlântica a leste da cordilheira. Nas áreas com altitude superiores a 1000 metros, os campos rupestres são a vegetação predominante, entremeados por matas ciliares. Esse tipo vegetacional é representado principalmente por vegetação gramíneo-arbustiva, disposta em substrato quartzítico, sendo a área de endemismo de mais de 85% das espécies de Eriocaulaceae e Xyridaceae (EITEN, 1992; COSTA et al. 2008; GONTIJO, 2008).

Duas importantes bacias hidrográficas brasileiras compõem a hidrografia do município, a do Jequitinhonha, que drena os cursos d'água da vertente leste da cordilheira do Espinhaço, e a do São Francisco, que drena a porção oeste da cadeia montanhosa (DIAMANTINA, 2009).

3.2 Vigilância entomológica da doença de Chagas no município de Diamantina

As atividades de controle vetorial da doença de Chagas no município de Diamantina vêm ocorrendo desde meados da década de 1960, quando um consórcio entre a Comissão de Desenvolvimento do Vale do Jequitinhonha (CODEVALE) e o governo do Estado de Minas Gerais promoveu ações de desinsetização que levaram à instalação da vigilância entomológica na região. O abandono das ações na década seguinte, entretanto, permitiu a recuperação de colônias intradomiciliares de triatomíneos, o que demandou novas ações junto ao PCDCCh, principalmente a partir de 1982 (DIAS, 2000).

A espécie com maior importância no que diz respeito ao número de exemplares capturados desde os LT realizados no início dos anos 1980 foi *P. megistus*. Contudo, em períodos mais recentes (após o ano 2000), *T. vitticeps* tem apresentado um número cada vez maior de exemplares entre os triatomíneos capturados no município e, além deste, outras sete espécies ocorrem na área (DIAS, 2010).

A vigilância entomológica de triatomíneos atualmente encontra-se sob execução direta do município, que realiza visita mensal aos 28 Postos de Informação de Triatomíneos (PIT), sendo quatro localizados na área urbana e 24 na zona rural (Figura 4). Durante as visitas as notificações de insetos pelos moradores são recebidas e os insetos encaminhados para o laboratório na sede do município. As notificações são atendidas por um agente municipal de vigilância ambiental em saúde, que visita o domicílio notificante com o objetivo de detectar eventuais focos de colonização intra ou peridomiciliares, o que, em caso positivo, determina a necessidade de borrifação do domicílio e anexos com inseticidas de ação residual.

Desde o segundo semestre de 2014, além das atividades de notificação e atendimento, o município tem realizado a visita a 20% das localidades em natureza de pesquisa ativa de triatomíneos, em pelo menos 80% das unidades domiciliares dessas localidades, conforme diretrizes estaduais para a vigilância ambiental em saúde (FERRAZ et al., 2014). Essas visitas são feitas por três agentes de vigilância ambiental em saúde (dois municipais e um vinculado à FUNASA), sob supervisão da Superintendência Regional de Saúde de Diamantina.

3.3 Coleta de triatomíneos em ambiente domiciliar

Os triatomíneos capturados durante as atividades de rotina da vigilância da doença de Chagas eram encaminhados ao laboratório municipal para identificação específica e exame de conteúdo intestinal a fresco em solução fisiológica NaCl 0,9% para verificar a presença de tripanossomatídeos. Diariamente, após esses procedimentos, entre os meses de setembro de 2011 e agosto de 2014, os insetos eram captados por um dos membros da equipe do estudo, sendo levados para o Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Farmácia da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

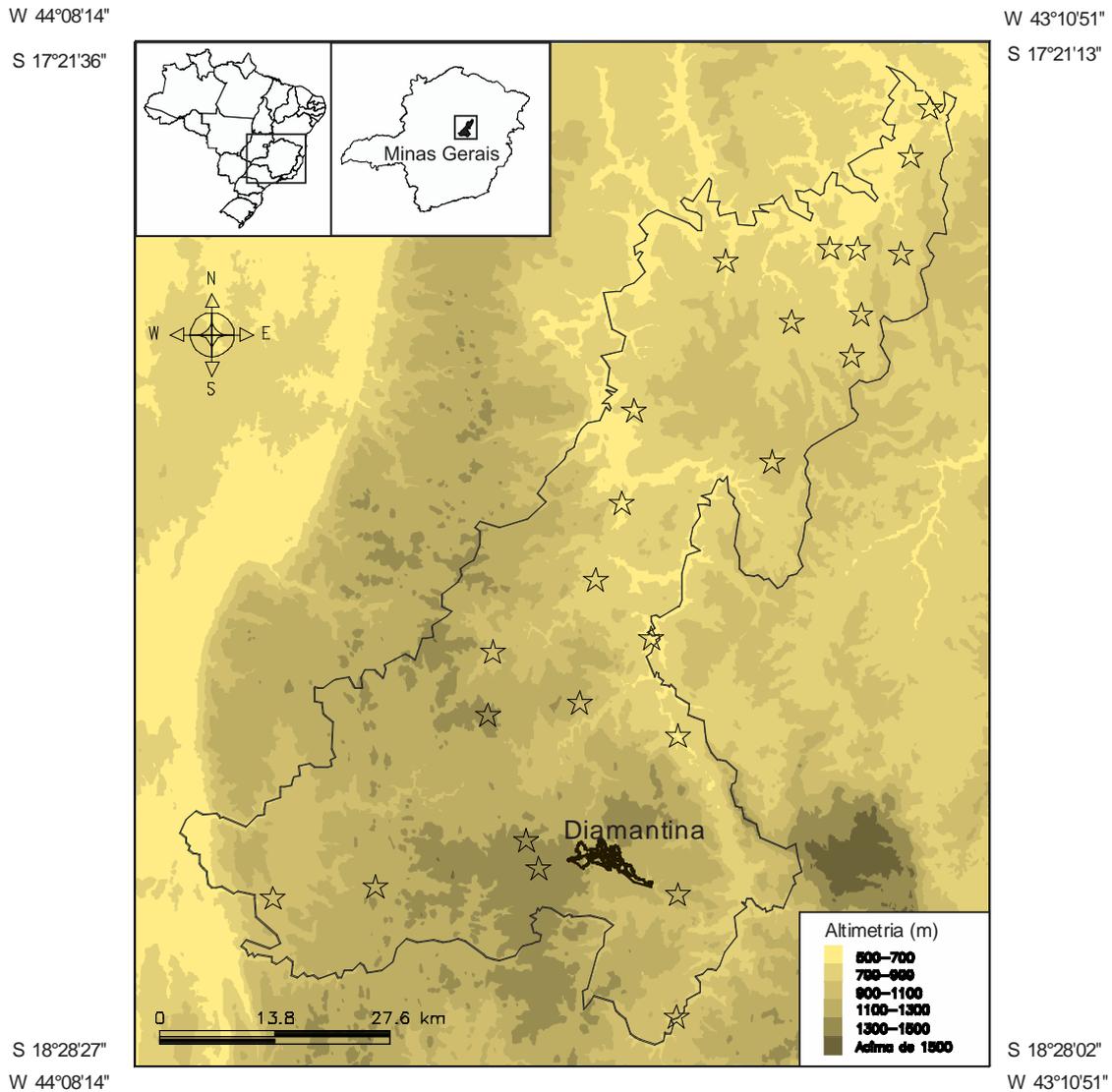
Para cada triatomíneo capturado era atribuído um código com a inicial do membro da equipe que recebeu e um número sequencial. Dados referentes à data de recebimento do inseto pelo serviço, data do exame parasitológico, número de registro do inseto no livro de exames da Secretaria Municipal de Saúde, endereço de captura, nome do morador, espécie de triatomíneo, local de captura, sexo ou estágio ninfal, resultado do exame para tripanossomatídeos e tipo de atividade na qual o inseto fora capturado (notificação, atendimento ou pesquisa), eram registrados em formulário próprio (Apêndice I).

No Laboratório de Doenças Parasitárias da UFVJM era confirmada a identificação da espécie e do sexo ou estadiamento das ninfas. O conteúdo intestinal de todos os insetos positivos para flagelados e de uma amostra dos negativos foi reservado em solução de Guanidina-EDTA 6M para realização de ensaios moleculares para detecção de DNA de tripanossomatídeos e determinação de linhagens de *T. cruzi* em casos positivos.

Todos os insetos eram montados em alfinetes e depositados em caixas entomológicas do referido laboratório. Alguns exemplares negativos foram mantidos vivos e destinados para o estabelecimento de colônias no laboratório.

O teste G foi utilizado para verificar associação entre as variáveis tipo de atividade, estágio evolutivo dos insetos e local de captura. Tais análises foram conduzidas no programa BioEstat 5.0.

Figura 4 – Localização dos Postos de Informação de Triatomíneos (PIT) na área rural (estrelas) e localização da cidade de Diamantina em mapa altimétrico do município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil.



FONTE: Elaborado pelo autor.

3.4 Análise da distribuição espacial de triatomíneos e variáveis ambientais relacionadas nas localidades rurais do município de Diamantina

Para a análise da distribuição espacial dos triatomíneos no município de Diamantina, as localidades cadastradas no SISLOC foram georreferenciadas por meio de um aparelho GPS de navegação (GPSMap 76S, Garmin™), por coleta de

coordenadas em banco de dados do censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística de 2007, ou por cartas topográficas e mapas do município. O *datum* padrão utilizado foi o World Geodesic System 1984 (WGS 1984) e a projeção de trabalho a Universal Transversa de Mercator (UTM) na zona 23. Para o meio rural a unidade de análise foi a localidade.

Um banco de dados foi elaborado em planilha do Microsoft Excel 2010™, no qual para cada localidade rural foi atribuída uma coordenada geográfica em graus decimais de um ponto central da localidade ou de uma casa positiva para triatomíneos, além do número de triatomíneos capturados de acordo com a espécie naquele logradouro. Esses dados foram importados para um ambiente SIG, onde as coordenadas geográficas foram convertidas em coordenadas métricas e os dados foram analisados quanto à distribuição das diferentes espécies no município.

As variáveis ambientais utilizadas para comparação entre as áreas de ocorrência entre as diferentes espécies de triatomíneos no município foram: elevação, as componentes *brightness* e *wetness* derivadas de transformação *Tasselled Cap* e o NDVI calculadas de cenas do sensor OLI. A elevação foi obtida de modelo digital gerado por dados da *Shuttle Radar Topographic Mission* (SRTM) (disponível em <http://srtm.usgs.gov/>). Os produtos gerados do sensor OLI possuem 30m de resolução espacial. Para compatibilizar a utilização de dados do SRTM que têm resolução de 90m, os dados foram reamostrados para 30m no programa QGIS 2.10.1 Pisa (QGIS DEVELOPMENT TEAM, 2013).

As imagens utilizadas para a extração das variáveis foram obtidas no site do United States Geological Survey (<http://earthexplorer.usgs.gov/>). Foram selecionadas duas cenas, uma da órbita/ponto 218/072 e outra 218/073, cuja aquisição ocorreu no dia 21 de março de 2014. As imagens foram registradas utilizando uma imagem referência ortorretificada do LANDSAT 7 ETM+, corrigidas pelo método Dark Object Subtraction (DOS) (CHAVEZ-JUNIOR, 1988) e mosaicadas. Os valores digitais foram convertidos em valores de reflectância no topo da atmosfera, conforme instruções do manual do fornecedor das imagens, disponível eletronicamente em <http://landsat.usgs.gov//documents/Landsat8DataUsersHandbook.pdf>.

O NDVI foi calculado conforme a operação anteriormente apresentada pelo uso das reflectâncias calculadas das bandas 4 (vermelho) e 5 (infravermelho próximo). As operações de transformação *Tasselled Cap* para os valores de

reflectância foram conduzidas utilizando os coeficientes descritos por Baig et al. (2014). O processamento das imagens e os cálculos das variáveis foram conduzidos no ambiente de Linguagem Espacial para Geoprocessamento Algébrico (LEGAL) do programa SPRING 5.3 (CÂMARA et al., 1996).

No entorno de cada ponto representativo de uma localidade foi traçado um círculo de raio 1000m, do qual foram extraídos os valores de elevação, NDVI, *brightness* e *wetness* para cada uma das espécies de triatomíneos e exportados como arquivos de texto. Os valores das variáveis nas áreas de ocorrência foram comparados entre as diferentes espécies por meio do teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn, no programa GraphPad Prism 5.

As distribuições das espécies *Panstrongylus megistus*, *T. vitticeps* e *T. arthurneivai*, com dispersão em maior número para as localidades rurais, foram também modeladas por meio de Modelo Linear Generalizado (*Generalized Linear Model* – GLM) por meio de bibliotecas no pacote estatístico R 3.2.2. As bibliotecas utilizadas foram *dismo*, *raster*, *sp*, *rgeos*, *rgdal*, *mapproj*, *MASS*, *boot*.

No entorno das localidades de ocorrência de cada espécie foram traçados circunferências de raio 1000m, dentro das quais foram extraídos pontos aleatórios utilizados como representação da presença da espécie para a construção dos modelos. Dessa forma, 259 pontos de presença foram utilizados para modelagem da distribuição de *T. vitticeps*, 206 para *P. megistus* e 47 para *T. arthurneivai*. Como pontos aleatórios de *background* foram utilizados 300, 300 e 100 pontos para cada espécie, respectivamente.

A área avaliada correspondeu ao retângulo compreendido entre as coordenadas -18.61979; -44.35785 e -17.0844; -43.0422. As variáveis ambientais preditoras foram a elevação, as componentes *brightness*, *greenness* e *wetness* e o NDVI obtidos conforme descrito anteriormente. Para cada uma das espécies foi construído um GLM considerando todas as variáveis ambientais. O NDVI foi então retirado de um segundo modelo por apresentar alta colinearidade com *greenness* e *wetness*. Assim um segundo modelo foi construído sem o NDVI. Em seguida, as variáveis que apresentaram significância estatística ($p \leq 0,05$) no modelo sem NDVI foram utilizadas para construção de novo modelo.

Os modelos finais gerados foram avaliados utilizando um percentual (30%) dos pontos de presença. Foram construídas curvas *Receiver Operating*

Characteristic (ROC) para análise da capacidade preditiva dos modelos pela medida da área sob a curva (*Area Under Curve* – AUC). Foi também realizada validação cruzada dos dados por meio da função “cv.glm”, sendo calculados os erros do modelo de predição.

3.5 Análise da distribuição espacial de triatomíneos na área urbana da cidade de Diamantina

A distribuição espacial de triatomíneos na área urbana da cidade de Diamantina foi realizada levando em conta o domicílio ou imóvel com presença dos insetos como unidade de análise. O georreferenciamento dos imóveis foi feito *in loco* seguindo os mesmos padrões de formato de coordenadas e *datum* utilizados para a área rural. Os dados foram integrados a uma planilha no Microsoft Excel™ em que cada ponto de coordenada geográfica representou um imóvel ou residência infestada por pelo menos um triatomíneo. Os dados foram discriminados de acordo com a espécie e positividade para tripanossomatídeos e integrados ao SIG.

Para a delimitação da área urbana da cidade de Diamantina, os croquis da divisão de controle de zoonoses referentes aos bairros da cidade foram utilizados como referência para traçar os contornos dos bairros no programa Google Earth™ 7.1.2.2041, de onde as feições foram importadas e integradas ao SIG.

No contexto urbano, a análise da distribuição foi conduzida considerando cada ponto correspondente a um imóvel infestado como sendo um evento. Para fins de análise exploratória, a função quártica do estimador de densidades de Kernel foi empregada. Esse estimador consiste em uma técnica não paramétrica de interpolação que permite a visualização de áreas com maior ocorrência de um evento em estudo baseado no número de eventos na vizinhança (GATRELL et al., 1996). O estimador de Kernel quártico pode ser definido pela equação 2:

:

$$\hat{\lambda}_{\tau}(s) = \sum_{i=1}^n \frac{3}{\pi\tau^2} \left(1 - \frac{h_i^2}{\tau^2}\right)^2 \quad \text{Equação 2}$$

Onde

$\hat{\lambda}_\tau(s)$ é a densidade estimada de eventos na posição s ;

h_i é a distância entre o ponto a ser estimado e o ponto do evento i , e;

τ corresponde ao valor da largura de faixa, que é a distância que controla a suavização da superfície a ser interpolada.

Para verificar a existência de padrões para a distribuição de triatomíneos na área urbana, foi utilizado o estimador da função K de Ripley (1981), que é definido pela equação 3:

$$\hat{K}(h) = \frac{R}{n^2} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1, i \neq j}^n \frac{I_h(d_{ij})}{w_{ij}} \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

$\hat{K}(h)$ é o estimador do número de eventos em função de uma distância h ;

R corresponde à área da região de interesse;

n é o número total de eventos na região R ;

$I_h(d_{ij})$ é a função indicadora que é igual a 1 se $d_{ij} \leq h$ ou igual a zero em caso contrário;

w_{ij} é um fator de correção de borda.

Devido à dificuldade de interpretação dos resultados da função K, o resultado é expresso graficamente em outra função, definida pela equação 4:

$$\hat{L}(h) = \sqrt{\frac{\hat{K}(h)}{\pi}} - h \quad \text{Equação 4}$$

Onde:

$\hat{L}(h)$ é o estimador de L em função da distância h ;

$\hat{K}(h)$ é o estimador de K em função da distância h .

Os valores para o estimador da função L próximos à linha de base equivalente a zero indicam distâncias em que o fenômeno apresenta padrão de

distribuição aleatório, valores abaixo dessa linha representam distâncias em que o fenômeno apresenta padrão de distribuição regular e valores superiores a zero apontam a presença de agrupamentos ou *clusters* nas distâncias em estudo.

Para avaliar a significância dos resultados, são geradas simulações nas quais os pontos são aleatorizados conforme as distâncias na região de estudo, com base no modelo de *Aleatoriedade Espacial Completa*. As distâncias em que os valores de *L* superam o limite superior do envelope de simulações correspondem a distâncias em que há agrupamentos estatisticamente significativos em um nível de significância de 0,05.

As distâncias utilizadas na análise da distribuição dos triatomíneos na área urbana de Diamantina foram de 0 a 1000 metros, em intervalos de 25 metros. Para avaliar a significância dos agrupamentos foram aplicadas 999 simulações.

Os estimadores de densidade de Kernel e da função K foram calculados, respectivamente, nos programas TerraView 4.2.2 e SPRING 5.2.7 (CÂMARA et al., 1996). A largura de banda para o estimador de Kernel foi calculado automaticamente pelo programa, com a opção de raio adaptativo, que leva em conta a quantidade de eventos e o tamanho da área de estudo (LAGROTTA et al., 2008). Dessa forma, em áreas com grande concentração de pontos o algoritmo utiliza raios de larguras menores, enquanto em áreas com menor concentração o raio é ampliado.

A variável ambiental analisada para os eventos de infestação na área urbana foi o NDVI, calculado a partir de imagens do sensor OLI a bordo do satélite LANDSAT 8. As cenas utilizadas foram dos períodos de 25 de agosto de 2013 e 28 de agosto de 2014, disponibilizadas pelo site <http://earthexplorer.usgs.gov/>. Essas imagens foram selecionadas por apresentarem cobertura de nuvens praticamente nula. As imagens foram processadas com os mesmos procedimentos das utilizadas para a área rural. O NDVI foi calculado para ambas as cenas OLI, e em seguida foi calculada a diferença entre os dois períodos para avaliar se houve mudança substancial na cobertura vegetal, arbitrariamente definida como aumento ou diminuição superior a 0,01 no índice. Tendo em vista que alterações dessa monta estiveram restritas a áreas muito pequenas da região, levando em conta a zona urbana da cidade de Diamantina, a imagem mais recente foi utilizada como referência para a análise em relação à presença de triatomíneos.

Ao redor de cada imóvel infestado foram traçados círculos excêntricos de raios de 50, 100, 150, 200 e 250 metros. Pontos aleatórios ($n = 150$) foram gerados

em bairros que não apresentaram notificação de triatomíneos no período de 2001 a 2014 e, ao redor desses pontos, círculos com as mesmas dimensões foram traçados. Em cada distância foram extraídos os valores de NDVI ao redor dos pontos e os valores comparados entre as áreas de ocorrência de cada espécie e os pontos aleatórios nas áreas de 'pseudo-ausência', nas diferentes distâncias de análise.

A cena foi também classificada quanto à cobertura vegetal de acordo com os valores de NDVI, em três classes: solo exposto (NDVI inferior a 0,15), campo (entre 0,15 e 0,3) e mata ($\geq 0,3$). Um mapa de distâncias foi gerado para avaliar a distância entre os diferentes tipos de cobertura e pontos de pseudo-ausência e de ocorrência das diferentes espécies.

As imagens foram processadas no programa SPRING 5.2.7 (CÂMARA et al., 1996) e os pontos aleatórios gerados no programa TerraView 4.2.2. As análises estatísticas foram feitas no programa GraphPad Prism 5™, sendo utilizado o teste de Kruskal-Wallis para comparação entre os grupos.

3.6 Avaliação de conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e doença de Chagas entre moradores do município de Diamantina, Minas Gerais

A vigilância entomológica da doença de Chagas no município de Diamantina ocorre principalmente pela participação da comunidade nas notificações de triatomíneos, seguidas das visitas de atendimento pelos agentes municipais de controle de zoonoses. Nesse sentido, a avaliação de conhecimentos e atitudes dos moradores permite dimensionar como esse aspecto pode influenciar nos indicadores entomológicos no município.

Para o presente trabalho, a avaliação dos conhecimentos foi realizada em localidades com diferentes índices de infestação domiciliar por triatomíneos, sendo que a escolha das localidades de estudo ocorreu após estratificação de todas as localidades do município conforme o número de triatomíneos capturados nas mesmas entre os anos de 2001 e 2011. Dessa maneira, quatro categorias de localidades foram discriminadas: localidades sem infestação (onde não houve relato de triatomíneos), localidades de baixa infestação (correspondentes ao tercil com menor número de triatomíneos – um a cinco), média infestação (correspondentes ao tercil médio do número de triatomíneos – seis a 41) e alta infestação (tercil de

localidades em que o maior número de triatomíneos foi capturado acima de 41). Em cada uma das categorias foi selecionada uma localidade rural e uma urbana, que reunissem características ambientais semelhantes (mormente vegetação de campo rupestre e altimetria em cerca de 1000m) e não fossem contíguas. Dessa forma, as localidades de Fazenda Bandeirinha, Vila Extração, Povoado Vau, Povoado Quartel do Indaiá e Bairros Santo Inácio, Serrano, Cidade Nova e Gruta de Lourdes foram selecionadas.

O instrumento utilizado para a coleta dos dados foi um questionário com perguntas com múltipla escolha e discursivas, baseado nos modelos de Silveira et al., 2009 e Villela et al., 2009 (Apêndice II). Juntamente ao questionário um mostruário era levado para avaliar a capacidade de reconhecimento da população em relação aos triatomíneos (Apêndice III). As perguntas enfocaram as condutas tomadas caso o morador encontrasse um barbeiro, formas clínicas da doença de Chagas, medidas para evitar triatomíneos em casa, relação com pessoas infectadas e sugestões para melhoria do serviço.

Os questionários foram aplicados casa a casa, para crianças maiores de 10 anos devidamente autorizadas pelo responsável, e adultos mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndices IV e V).

As respostas foram tabuladas no programa Epi Info™ 3.5.4 e os dados analisados comparativamente entre as localidades com diferentes níveis de infestação domiciliar, sendo utilizado o teste de χ^2 com nível de significância de 0,05, no programa BioEstat 5.0.

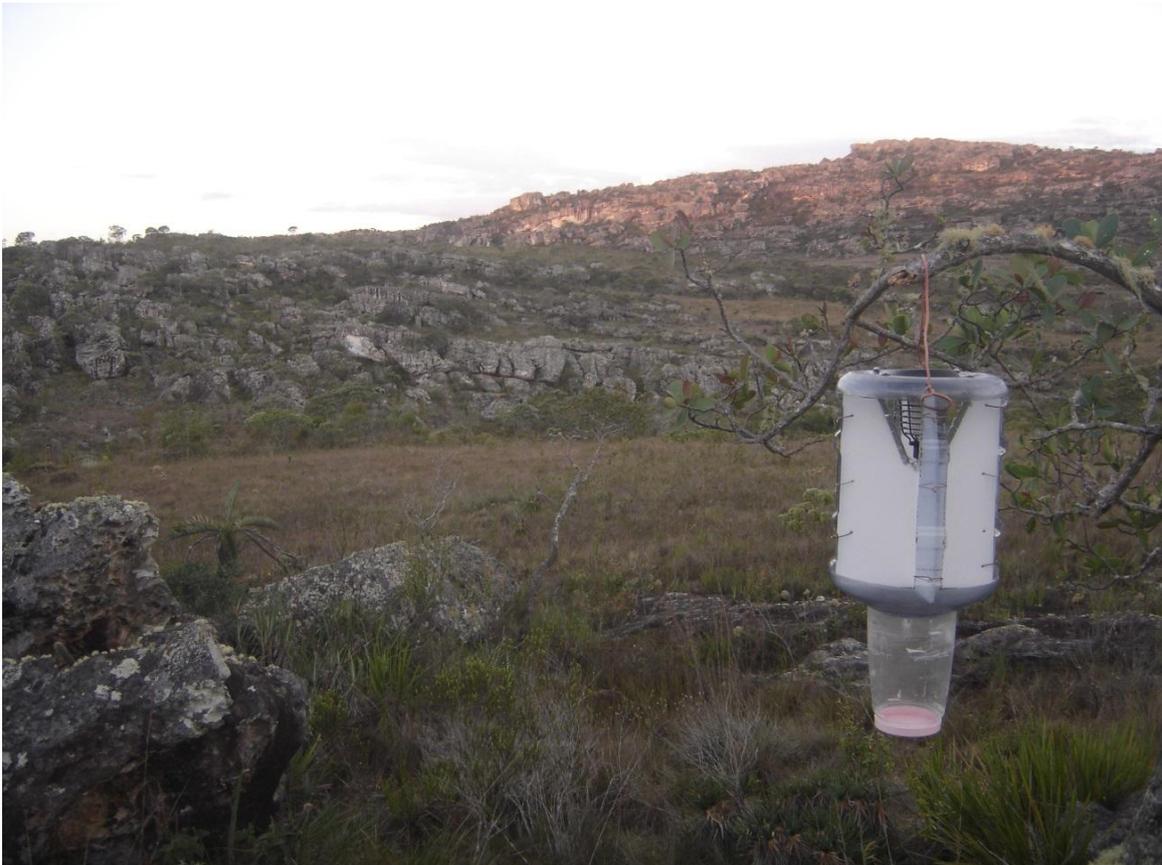
3.7 Captura de triatomíneos em ambiente silvestre

A coleta de triatomíneos no ambiente silvestre foi conduzida entre julho de 2012 e junho de 2013 nas proximidades do Campus JK (UFVJM) e da comunidade de Extração, ambas com presença relatada de três e quatro espécies de triatomíneos, respectivamente. A área do campus caracteriza-se pela paisagem dominada por campos rupestres, com vegetação herbácea e afloramentos rochosos (Figura 5). A comunidade de Extração apresenta formações rochosas mais pronunciadas, sem a presença de campos amplos como os da área anteriormente mencionada (Figura 6).

Dez armadilhas luminosas foram instaladas para a captura de triatomíneos, sendo cinco em cada área de estudo. As armadilhas utilizadas seguiram o modelo proposto por Dias et al. (2011), tendo sido alterado o tipo de lâmpada, de forma que o LED (*Light Emitting Diode*) branco foi substituído por um LED ultravioleta (Nautika Repel®) que, segundo o fabricante, exerce atração sobre insetos.

As armadilhas eram visitadas semanalmente para verificar a presença de triatomíneos e o funcionamento das lâmpadas. O esforço de captura total foi de 3650 armadilhas-noite.

Figura 5 – Armadilha luminosa instalada em área de campo rupestre, Campus JK, Alto da Jacuba, Diamantina.



FONTE: Fotografia tirada pelo autor.

Figura 6 – Arredores da comunidade de Extração, Diamantina.



FONTE: Fotografia tirada pelo autor.

Incursões em campo (duas em cada local com duração de cerca de três horas) nestas mesmas áreas com vistoria de eventuais ecótopos foram, também, realizadas, com prospecção de tocas de animais, ninhos de aves, troncos de árvores a fim de detectar triatomíneos. Para tanto utilizamos uma câmera com visão noturna por LED infravermelho (HM 30 HDL®) adaptada a uma mangueira uma que gerava imagens do interior dos abrigos em uma tela portátil (Figuras 7 e 8). Essa metodologia já se mostrou eficiente em detectar e descrever tocas de aves (MARKWELL, 1997). As atividades foram realizadas pela equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias da UFVJM.

Figura 7 – Prospecção de possíveis abrigos de mamíferos com emprego de câmera em área de campo rupestre nas proximidades do Campus JK da UFVJM.



FONTE: Fotografia do acervo pessoal do autor, tirada por Marco Aurélio Cunha Moreira Pacheco.

Figura 8 – Imagem em níveis de cinza do interior de uma fenda em afloramento rochoso na área de um campo rupestre, nas proximidades do Campus JK da UFVJM.



FONTE: Fotografia tirada pelo autor.

3.8 Avaliação da infecção de pequenos mamíferos por *Trypanosoma cruzi*

A captura de pequenos mamíferos para identificação de reservatórios do *T. cruzi* no município de Diamantina foi realizada nas proximidades de um domicílio entre os bairros Consolação e Jardim (área urbana) e na localidade rural Fazenda Alto da Jacuba, na área de reserva do Campus JK da UFVJM, na mesma área onde foram instaladas armadilhas para captura de triatomíneos.

Para captura desses animais foram utilizadas armadilhas metálicas de grade com dimensões 25cm x 25cm x 60cm. Na área urbana foram instaladas 40 armadilhas, e na área rural 68 armadilhas, dispostas em transectos lineares (quatro na área urbana e cinco na área rural), com espaçamento de dez metros entre as mesmas. Como isca foi utilizada uma mistura de banana, amendoim, sardinha, óleo de fígado de bacalhau, açúcar e caldo de carne. As armadilhas permaneceram durante quatro noites na área urbana e cinco noites na área rural, totalizando um esforço de captura de 160 armadilhas-noite e 340 armadilhas-noite, respectivamente. As coletas foram realizadas na primeira quinzena de maio de 2014.

Pela manhã as armadilhas eram vistoriadas quanto à presença de pequenos mamíferos. Em caso positivo, o animal era pesado, medido e sedado com uma mistura de Ketamina (60mg/kg) (Vetanarcol® - König) e Xilazina (Xilazin® - Syntec) (8mg/kg) por via intramuscular. O sangue desses animais era coletado por punção venosa, e depositado em meio de cultura *McNeal, Novy e Nicolle* (NNN) com uma camada de meio *Liver Infusion Tryptose* (LIT). Os animais foram, também, submetidos ao xenodiagnóstico com três ninfas de terceiro estágio de *Rhodnius prolixus* (essa espécie foi utilizada devido à rápida reprodução em laboratório e disponibilidade de exemplares), que permaneciam sobre o ventre do mamífero até o ingurgitamento. Além disso, três esfregaços em lâmina foram realizados em cada animal, sendo fixados em metanol e corados com os corantes Giemsa e May-Grunwald para verificação em microscópio óptico (aumento 400x). Parte do sangue coletado foi depositada em solução de guanidina-EDTA 6M para realização de ensaios moleculares para detecção de DNA de *T. cruzi* e *Trypanosoma rangeli* Tejera 1920. Todos os procedimentos foram realizados no campo. Os animais foram marcados nas orelhas e soltos após recuperação da anestesia.

O exame do xenodiagnóstico foi realizado 15 e 30 dias após o repasto mediante compressão abdominal dos triatomíneos, diluição das fezes em solução salina (0,9% NaCl) e verificação ao microscópio óptico em aumento de 400x.

3.9 Ensaio moleculares para detecção e caracterização das linhagens de *Trypanosoma cruzi*

As análises moleculares para detecção e caracterização das sublinhagens de *T. cruzi* entre triatomíneos seguiram dois passos: em primeiro momento todas as amostras positivas para o exame parasitológico e uma amostra dos triatomíneos negativos foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction – PCR*) da região conservada dos minicírculos de kDNA (VALLEJO et al., 1999) para detecção e confirmação da infecção pelo parasito. Esse marcador é positivo para *T. cruzi* na presença de fragmento de ~330 pares de base (pb) e positivo para *T. rangeli* com fragmentos de 300 e 450pb (PAVIA et al., 2007).

Em um segundo momento, com o objetivo de caracterizar as DTU circulantes entre os triatomíneos, as amostras positivas ao kDNA foram submetidas às PCR de fragmento do gene ribossomal rDNA24S α (SOUTO et al., 1996), da região intergênica *spliced leader* (*Spliced-Leader Intergenic Region – SL-IR*) do gene do mini-exon (BURGOS et al., 2007) e à PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) do gene da citocromo oxidase II (COII) (FREITAS et al., 2006). A combinação dessas três metodologias permite a diagnose específica da DTU envolvida (D'ÁVILA et al., 2009).

As amostras foram obtidas por meio da dissecação do tubo intestinal de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar e peridomiciliar durante as atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina. O conteúdo do intestino posterior foi estocado em cerca de 200 μ L de solução de Guanidina-EDTA 6M a 4°C.

A extração do DNA das amostras seguiu o protocolo proposto por Gomes et al. (1998), com algumas modificações (Anexo I).

A reação para detecção de fragmento do kDNA foi realizada utilizando os seguintes reagentes: 10mM TRIS-HCl (Tris-HCl)/pH 8,4; 0,1% de Triton X-100 (Tampão PCR 10x, Fermentas®, Brasil), 75mM de cloreto de potássio, 3,5mM cloreto de magnésio (MgCl₂), 0,2mM de cada desoxinucleotídeo (dATP, dCTP,

dGTP, dTTP – Sigma, St. Louis, MO, EUA), 0,5U de Taq DNA polimerase, Fermentas®, Brasil), 10pmoles de cada iniciador S35 (5'AAATAATG TACGGG(T/G)GAGATGCATGA3') e S36 (5'GGGTTCGATTGGGGTTGGTGT3') (Invitrogen, São Paulo, SP, Brasil), 3,0µL da amostra extraída de sangue e água Milli-Q suficiente para 12µL. Os ciclos para a amplificação consistiram em uma desnaturação inicial a 94°C durante cinco minutos, 35 ciclos (um minuto a 94°C, um minuto a 60°C e um minuto a 72°C) e um período de extensão final de dez minutos a 72°C.

Para a PCR do fragmento do gene rDNA24Sα, os reagentes utilizados foram: 10mM Tris-HCl pH 9,0; 50mM KCl; 0,1 % Triton X-100 (Tampão 10x, Fermentas®, Brasil) 3,5mM MgCl₂; 0,625U Taq DNA Polimerase (Fermentas®, Brasil), 0,2mM de cada dNTP; 0,25µM dos iniciadores D71 (5'-AAGGTGCGTCGACA GTGTGG-3') e D72 (5'-TTTTTCAGAATGGCCGAACAGT-3') e quantidade de água Milli-Q estéril suficiente para completar 13µL. A amplificação foi conduzida com uma desnaturação inicial a 94°C por cinco minutos, seguida de 30 ciclos (94°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos), finalizando com uma etapa de extensão a 72°C por 10 minutos.

A reação de PCR para amplificação do gene do mini-exon foi feita empregando 3µL de DNA da amostra, 20 mM Tris-HCl/pH 8,4; 50 mM KCl, (Tampão PCR, 10x, Fermentas®, Brasil), 3 mM MgCl₂; 250 mM de dNTP; 3µM de cada iniciador; 1U Taq DNA polimerase Platinum (Fermentas®, Brasil) 3µM dos iniciadores TcIII (5'-CTCCCCAGTGTGGCCTGGG-3') e UTCC (5'-CGT ACCAATATAGTACAGAACTG-3') e água Milli-Q para volume final de 13 µL. Os ciclos de amplificação consistiram em uma etapa de desnaturação inicial de cinco minutos a 94°C, anelamento a 68°C por um minuto e extensão a 72°C por um minuto. A cada três ciclos o tempo de desnaturação diminuiu um minuto, a temperatura de anelamento foi diminuída sequencialmente para 66, 64, 62 e 60°C e a extensão permaneceu a 72°C por um minuto. Na temperatura de anelamento de 60°C o número de ciclos foi de 35, sendo seguido por uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Para a amplificação do gene COII, as reações empregaram: 10mM Tris-HCl pH 8,4, 50mM KCl, 0,1% Triton X-100, 1,5mM MgCl₂ (Tampão 10x, Fermentas®, Brasil); 1U Taq DNA Polimerase (Fermentas®, Brasil); 250µM dNTP; 0,3 µM dos iniciadores TcMit10 (5'-CCATATATTGTTGCATTATT-3') e TcMit21 (5'-

TTGTAATAGGAGTCATGTTT-3'), 3µL DNA amostra e água Milli-Q para volume final de 13µL. Os ciclos de amplificação foram realizados com desnaturação inicial a 94°C por cinco minutos, seguido de 39 ciclos (94°C por 45 segundos, 48°C por 45 segundos e 72°C por um minuto). A extensão final foi processada a 72°C por 10 minutos.

Após confirmação da amplificação eletroforese vertical em gel de poliacrilamida 6% corado com nitrato de prata, 10µL do amplificado foram submetidos à digestão pela enzima *AluI*. A reação para digestão incluiu ainda 3 µL de água Milli-Q, 1,5 µL do tampão da enzima e 0,5 µL da enzima (10U/µL), para um volume final de 15 µL. Os reagentes foram incubados a 37°C por 16 horas.

Todas as amplificações e a digestão dos amplificados do COII foram realizadas em termociclador Amplitherm Thermal Cyclers TX96 Plus. Os produtos das amplificações e os produtos da digestão foram visualizados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% corado com nitrato de prata.

Para controles positivos foram utilizadas os clones de referência: P209 cl1 (TcI), MAS cl1 (TcII), C5631 cl1 (TcIII), CAN III CL1 (TcIV), Bug 2148 cl1 (TcV) e Tulahuen cl2 (TcVI). O rDNA discrimina TcI/TcIII (110pb), TcII/TcIV/TcVI (125pb) e TcV (110pb+125pb). O SL-IR discrimina TcI, TcII, TcV e TcVI (~150pb) de TcIII e TcIV (200pb). A PCR-RFLP do gene COII, por sua vez discrimina TcI (262pb + 81pb+30pb), TcII (212pb+81pb+30pb), TcIII a TcVI (294pb+81pb+30pb). Os controles negativos foram de conteúdo fecal de triatomíneos mantidos em colônias de laboratório.

3.10 Análises morfométricas e moleculares de espécies do complexo '*Triatoma maculata*' e espécies morfologicamente relacionadas

Para a realização de análises fenéticas e filogenéticas das espécies consideradas por Carcavallo et al. (1999) como pertencentes ao complexo '*Triatoma maculata*', os triatomíneos foram obtidos de coletas de campo e a partir de exemplares de colônias mantidas no Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas (LATEC).

Os exemplares de *T. arthurneivai* foram originários de capturas domiciliares e silvestres nos municípios de Diamantina, Couto de Magalhães de Minas e Presidente Kubitschek, todos no estado de Minas Gerais.

Os exemplares de *T. wygodzinskyi* foram provenientes de segunda geração de colônia obtida a partir de mais de 500 insetos oriundos de capturas em campo no município de São João da Boa Vista, estado de São Paulo.

Os espécimes de *T. pseudomaculata* foram obtidos de primeira geração de colônia de laboratório cujos parentais foram capturados em peridomicílios no município de Sobral, no estado do Ceará, além de um espécime do município de Francisco Badaró, na região do Vale do Jequitinhonha, estado de Minas Gerais, utilizado apenas para análise molecular.

Os exemplares de *T. maculata*, por sua vez, foram obtidos de primeira geração de colônia originária de insetos capturados em palmeiras no município de Mucajaí, estado de Roraima. Os espécimes de *T. pseudomaculata* e *T. maculata* foram os mesmo utilizados por Belisário (2006).

As espécies do complexo '*Triatoma maculata*' foram analisadas por meio de morfometria geométrica das asas e por comparação de sequências de fragmento de gene mitocondrial do citocromo B (CytB).

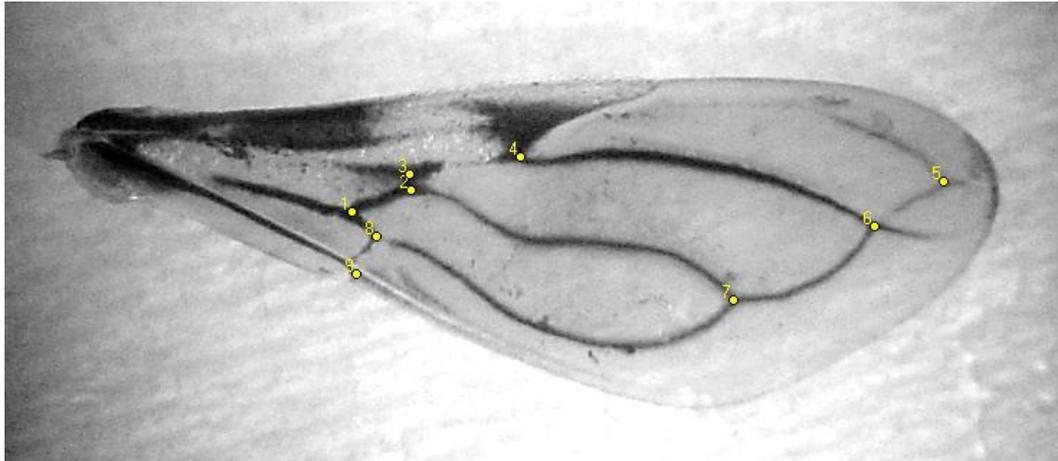
Para os estudos de morfometria geométrica, foram analisadas as duas asas (quando íntegras) de exemplares de ambos os sexos das quatro espécies analisadas conforme segue:

- *T. arthurneivai*: 10 fêmeas (19 asas) e dez machos (20 asas);
- *T. maculata*: 15 fêmeas (30 asas) e 18 machos (36 asas);
- *T. pseudomaculata*: 11 fêmeas (22 asas) e 19 machos (37 asas);
- *T. wygodzinskyi*: 11 fêmeas (22 asas) e 13 machos (25 asas).

As asas de *T. maculata*, *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi* foram montadas entre lâminas. As asas dos exemplares de *T. arthurneivai* foram fotografadas *in situ* no intuito de não danificar os insetos, haja vista a raridade do encontro da espécie. Tal abordagem já fora utilizada por Carbajal de La Fuente et al. (2011), sem prejuízos nas análises. Os hemélitros foram fotografados em câmera digital (AxioCam MRc Zeiss®) acoplada a um microscópio estereoscópio (Stemi SV6, Zeiss®), com aumento de 80X. No intuito de uniformizar a coleta das imagens, uma plataforma de 1,5 cm de altura foi utilizada para nivelar as asas montadas em lâmina e as asas fotografadas diretamente dos exemplares.

As coordenadas foram obtidas no programa COO a partir de nove pontos de referência correspondentes aos cruzamentos de venações na porção membranosa dos hemélitros, conforme a figura 9.

Figura 9 – Vista dorsal do hemélitro direito de *T. maculata*, exibindo pontos de referência utilizados para a análise morfométrica.



FONTE: BELISÁRIO, 2006.

As coordenadas foram reamostradas, reposicionadas e reorientadas por meio da Análise Generalizada de Procrustes no programa MOG (versão 7.5).

A partir do polígono formado com vértices nas coordenadas dos pontos de referência, foi calculado o tamanho centroide que é definido como a raiz quadrada da soma dos quadrados das distâncias de cada coordenada de referência até o centroide do polígono. O tamanho centroide foi calculado no programa MOG, e comparado entre os grupos avaliados por meio do teste de Kruskal-Wallis e como pós-teste o teste de comparações múltiplas de Dunn, com nível de significância de 0,05.

A Análise de Componentes Principais das variáveis de conformação foi realizada no programa COV (versão 3.5), com a qual foi obtida a distância Euclidiana entre os grupos. No programa PAD (versão 8.2) foi realizada a Análise Discriminante, da qual foi obtida a distância de Mahalanobis das variáveis de conformação, com a qual foi construída uma árvore *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA). A significância dos resultados foi testada por meio de 10000 permutações.

Para as análises moleculares foram utilizados 13 *T. arthurneivai* procedentes dos municípios de Diamantina e Couto de Magalhães de Minas (MG), um *T. pseudomaculata* do município de Francisco Badaró (MG) e um *T. pseudomaculata* do município de Sobral (CE), um *T. wygodzinskyi* de São João da Boa Vista (SP) e um *T. maculata* de Mucajaí (RR). Além das espécies do complexo '*Triatoma maculata*' um exemplar de *T. infestans* foi adicionado como grupo externo nas análises filogenéticas.

O alvo das análises moleculares foi fragmento do gene do CytB. Esse marcador foi inicialmente utilizado para estudo de populações de *Anopheles gambiae* e tem sido extensivamente aplicado ao estudo de triatomíneos (LYMANN et al., 1999, MONTEIRO et al., 1999, QUISBERTH et al., 2011, WALECKX et al., 2011, JUSTI et al., 2014).

As análises moleculares dos triatomíneos foram realizadas a partir de amostras de DNA extraídas das pernas dos insetos. A extração foi realizada com Kit Wizard® (PROMEGA™) de purificação de DNA genômico, conforme protocolo (Anexo II). A dosagem de DNA nas amostras foi determinada por meio de aparelho de espectrofotometria NanoDrop®, a partir de 2µL do material extraído.

A PCR foi conduzida utilizando 3 µL de DNA de amostra nas concentrações de 5 e 10 ng/µL, 15 µL da enzima GoTaq® (Invitrogen™), 3 µL dos iniciadores CytBF (5' GGA CAA ATA TCA TGA GGA GCA ACA G 3') e CytBR (5' ATT ACT CCT CCT AGC TTA TTA GGA ATT G 3') [10mM] e 6 µL de água ultrapura. A amplificação foi realizada em termociclador Eppendorf Mastercycler Gradient®, com os seguintes parâmetros: Desnaturação inicial a 95°C durante cinco minutos, 30 ciclos com temperaturas de 95°C, 50°C e 72°C, por 45, 45 e 60 segundos, respectivamente, e dez minutos a 72°C.

Para controle dos resultados da reação, os produtos da PCR foram visualizados por eletroforese em gel de poliacrilamida a 6% corados com nitrato de prata, sendo positivo quando da presença de amplicons com ~400 pb. Os amplificados foram purificados por meio do dispositivo E-Gel Size Select™ 2% Agarose Invitrogen™, conforme instruções do fabricante.

A reação de sequenciamento foi realizada utilizando o kit BigDye Terminator 3.1® (Life Technologies™) com os mesmos iniciadores utilizados na primeira PCR. Para cada amostra foram realizadas quatro reações, sendo duas com concentração

de amplificado em 5ng/ μ L e duas em 10ng/ μ L. O sequenciamento foi conduzido na plataforma de sequenciamento do Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ.

As sequências obtidas foram alinhadas empregando o algoritmo *Clustal W* e analisadas no programa BioEdit 7.1.9 (HALL, 1999), ocasião em que foram avaliadas quanto à correspondência com seus respectivos cromatogramas (WALECKX et al., 2011). As sequências consenso para o marcador apresentaram um fragmento de 399 pb.

As análises filogenéticas para o grupo foram efetuadas no programa MEGA 6 (TAMURA et al., 2013), sendo analisadas 18 sequências. O algoritmo do programa, baseado em Critérios de Informação Bayesianos e Critérios de Informação de Akaike, apontou como melhor modelo para a análise das sequências e construção das árvores filogenéticas, o modelo de Hasegawa-Kishino-Yano utilizando seis distribuições Gamma (HKY+G).

A construção da árvore obedeceu aos padrões de máxima parcimônia, e a técnica de reamostragem por *bootstrap* foi utilizada para avaliar a confiabilidade das filogenias resultantes. Foram realizadas 999 replicatas para as reamostragens. A sequência correspondente a *T. infestans* foi posicionada como grupo externo na análise. Foram construídas duas árvores, uma de máxima parcimônia e outra de máxima verossimilhança. As distâncias genéticas foram calculadas por meio do método de distância-p entre cada par de haplótipo, com estimativa de variância por análise de *bootstrap* com 999 replicações.

3.11 Aspectos éticos

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM, sob os protocolos 084/11 e 510.250, respeitando as resoluções 196/96 e 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. As coletas de dados envolvendo seres humanos foram realizadas mediante assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As coletas de mamíferos foram realizadas com autorização do Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade (ICMBio) (Anexo III) e sob protocolo 036/2014 da Comissão de Ética para Uso de Animais da UFVJM.

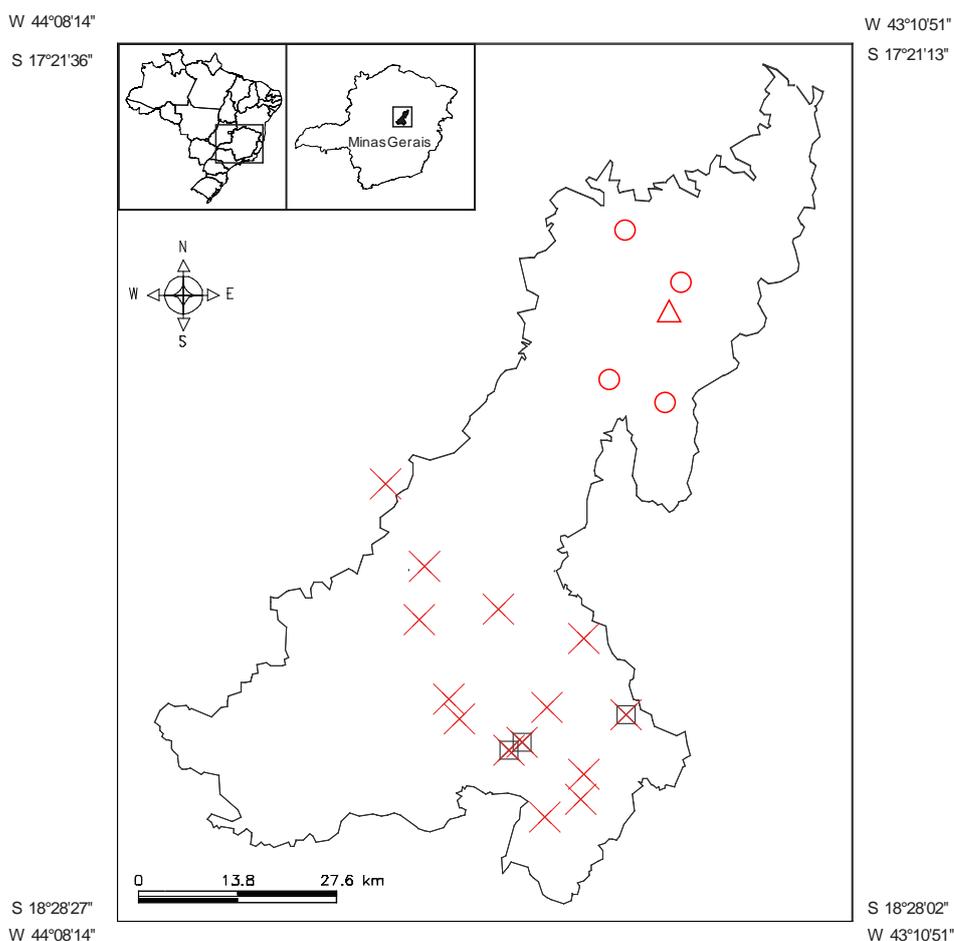
Complementarmente, os dados e informações advindos deste estudo serão apresentados à Secretaria Municipal de Saúde de Diamantina e a Secretaria de

Estado da Saúde Minas Gerais, como forma de colaborar com a vigilância epidemiológica da doença de Chagas na região.

4.1 Indicadores entomológicos e distribuição espacial de triatomíneos no município de Diamantina

Entre setembro de 2011 e agosto de 2014, 975 exemplares de triatomíneos pertencentes a oito espécies foram capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina. Do total, 762 insetos foram examinados sendo que 56 (7,4%) originários de 30 localidades (12 urbanas e 18 rurais) apresentaram flagelados no conteúdo intestinal (Figura 10), destacando-se a positividade para *P. geniculatus* e *T. vitticeps* (Tabela 1). Os demais insetos não apresentaram condições para exame por estarem secos.

Figura 10 – Distribuição de localidades com triatomíneos positivos para tripanossomatídeos conforme a espécie. Legenda: Quadrados: *Panstrongylus geniculatus*; Círculos: *Panstrongylus megistus*; Triângulo: *Triatoma pseudomaculata*; Cruzes: *Triatoma vitticeps*.



NOTA: A área urbana foi incluída como uma única localidade.

FONTE: Elaborado pelo autor.

Tabela 1 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina de acordo com a espécie e positividade para tripanossomatídeos, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 975).

Espécie	Capturados	%	Examinados	Positivos	% infecção
<i>Panstrongylus diasi</i>	3	0,3	-	-	-
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	38	3,9	21	8	38,1
<i>Panstrongylus megistus</i>	528	54,2	461	4	0,9
<i>Rhodnius neglectus</i>	1	0,1	-	-	-
<i>Triatoma arthurneivai</i>	27	2,8	15	-	-
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	12	1,2	7	1	14,3
<i>Triatoma sordida</i>	16	1,6	14	-	-
<i>Triatoma vitticeps</i>	350	35,9	244	43	17,6
Total	975	100	762	56	7,4

FONTE: Elaborada pelo autor.

A maior parte dos insetos correspondeu a exemplares adultos (70,7%), sendo o número de machos predominante sobre o número de fêmeas. Espécimes imaturos foram observados para *P. megistus*, *T. sordida* e *T. vitticeps*, a maioria ninfas de 5º estágio (Tabela 2).

Dentre o total de insetos capturados, 465 (47,7%) foram encontrados no intradomicílio, 479 (49,1%) no peridomicílio e 31 (3,2%) não tiveram a descrição do local de captura nas fichas de notificação. No intradomicílio os principais cômodos positivos foram o quarto (40,4%) e a sala (33,1%), enquanto no peridomicílio o maior número de insetos foi capturado no galinheiro (74,1%), onde houve maior densidade de ninfas (Tabela 3).

Tabela 2 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina de acordo com o sexo ou estágio evolutivo, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 975).

Espécie	Adultos				Ninfas									
	Machos	%	Fêmeas	%	NV	%	NIV	%	NIII	%	NII	%	NI	%
<i>Panstrongylus díasi</i>	2	66,7	1	33,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	22	57,9	16	42,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Panstrongylus megistus</i>	133	25,2	129	24,4	175	33,1	58	11	25	4,7	5	1	3	0,6
<i>Rhodnius neglectus</i>	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Triatoma arthurneivai</i>	16	59,3	11	40,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	9	75	3	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Triatoma sordida</i>	-	-	2	12,5	7	43,8	2	12,5	1	6,3	4	25	-	-
<i>Triatoma vitticeps</i>	278	79,4	66	18,9	-	-	2	0,6	4	1,1	-	-	-	-
Total	461	47,3	228	23,4	182	18,7	62	6,4	30	3,1	9	0,9	3	0,3

NV: Ninfa de 5° estágio; **NIV:** Ninfa de 4° estágio; **NIII:** Ninfa de 3° estágio; **NII:** Ninfa de 2° estágio; **NI:** Ninfa de 1° estágio.

FONTE: Elaborada pelo autor.

Tabela 3 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina de acordo com a espécie, estágio evolutivo e local de captura, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 975).

Espécie	Intradomicílio						Peridomicílio								Outros***	NI
	Banheiro	Cozinha	Quarto	Sala	Outros*	NI	Área	Canil	Engenho	Galinheiro	Paiol	Porta	Outros**	NI		
<i>P. diasi</i>																
Adultos	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ninfas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. geniculatus</i>																
Adultos	4	5	12	7	2	-	3	3	-	-	-	-	1	-	-	1
Ninfas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. megistus</i>																
Adultos	3	12	23	24	-	1	6	-	4	172	10	-	3	-	-	4
Ninfas	-	1	19	4	-	-	-	-	20	166	5	-	-	34	-	17
<i>R. neglectus</i>																
Adultos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Ninfas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. arthurneivai</i>																
Adultos	-	1	7	10	4	-	2	-	-	1	-	-	1	-	1	-
Ninfas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. pseudomaculata</i>																
Adultos	2	1	2	6	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ninfas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. sordida</i>																
Adultos	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ninfas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	-	-	-
<i>T. vitticeps</i>																
Adultos	14	28	119	102	33	10	9	1	-	1	2	6	10	1	-	8
Ninfas	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Total	23	49	188	154	40	11	22	4	24	355	18	6	15	35	1	30

*Área de serviço, bar, corredor, forro, garagem, oficina, parede, escola, varanda; **Depósito, garagem, muro, parede, porta-malas, quadra esportiva, varanda; ***Armadilha; NI: Não informado.

FONTE: Elaborada pelo autor.

A maioria dos insetos foi fruto de notificações por parte dos moradores (57,1%), seguida pelo atendimento às notificações (42,6%) e pesquisa ativa (0,3%) (Tabela 4). Durante o período foram realizadas 445 notificações que resultaram em 32 (7,2%) atendimentos positivos (encontro de pelo menos um triatomíneo durante atendimento). Ao levar em conta o percentual de notificações com atendimentos positivos por espécie foram observados 100% (um atendimento positivo / uma notificação), 27,3% (24/88), 11,1% (1/9), 3,9% (1/26) e 1,6% (5/321) para *T. sordida*, *P. megistus*, *T. pseudomaculata*, *T. arthurneivai* e *T. vitticeps*, respectivamente.

Tabela 4 – Número de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina entre setembro de 2011 e agosto de 2014, de acordo com a espécie, estágio evolutivo e atividade em que ocorreu a captura (n = 975).

Espécie	Atividade de captura											
	Notificação				Atendimento				Pesquisa ativa			
	Adulto	%	Ninfa	%	Adulto	%	Ninfa	%	Adulto	%	Ninfa	%
<i>P. diasi</i>	3	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. geniculatus</i>	38	7,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. megistus</i>	99	19,1	35	85,4	163	95,9	231	94,3	-	-	3	100
<i>R. neglectus</i>	1	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. arthurneivai</i>	26	5	-	-	1	0,6	-	-	-	-	-	-
<i>T. pseudomaculata</i>	11	2,1	-	-	1	0,6	-	-	-	-	-	-
<i>T. sordida</i>	2	0,4	-	-	-	-	14	5,7	-	-	-	-
<i>T. vitticeps</i>	339	65,3	6	14,6	5	2,9	-	-	-	-	-	-
Total	519	100	41	100	170	100	245	100	-	-	3	100

FONTE: Elaborada pelo autor.

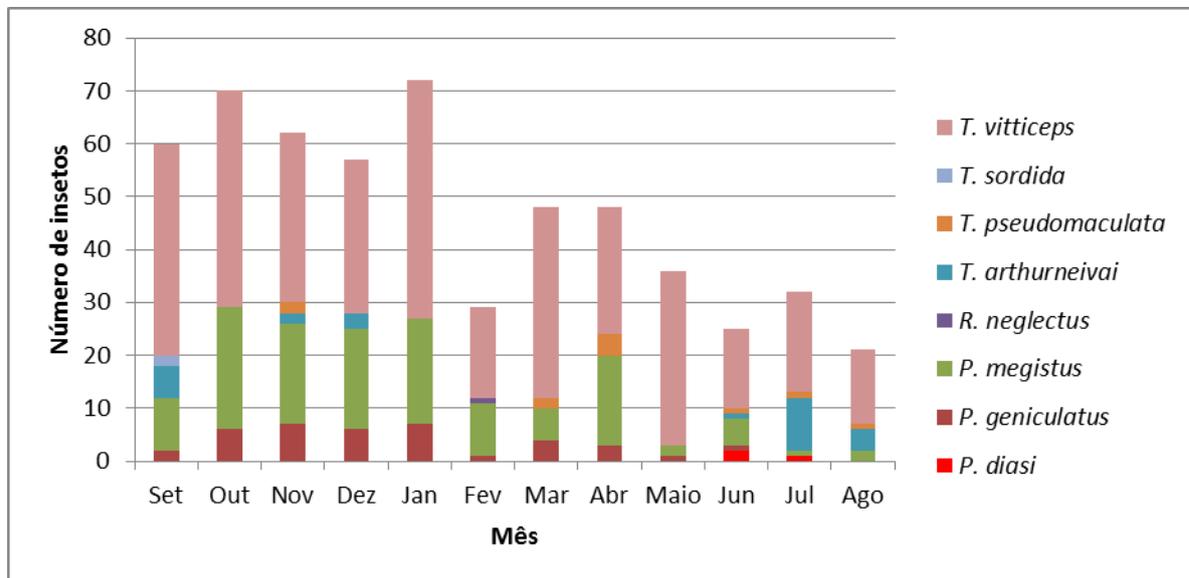
A atividade de vigilância esteve significativamente associada tanto ao estágio evolutivo dos insetos capturados (Teste G: 307,86; $p < 0,0001$), como ao local de captura – intradomicílio ou peridomicílio (Teste G: 444,03; $p < 0,0001$). As ninfas foram encontradas majoritariamente durante os atendimentos, ao passo de que os exemplares adultos foram mais frequentemente notificados. A pesquisa ativa resultou na captura de três ninfas.

Durante o período foram registrados 62 episódios de reinfestação por triatomíneos em 43 unidades domiciliares, ocorrendo 56 vezes para *T. vitticeps*, quatro vezes para *P. megistus* e duas vezes para *P. geniculatus*. Contudo, visto que

em muitas fichas de notificação os campos de endereço e nome do morador estavam incompletos, tais números podem estar subestimados.

Quando consideradas as notificações, foi observado maior número de exemplares capturados entre os meses de setembro e janeiro, coincidente com o início da estação quente e chuvosa no município. Entretanto o padrão não foi homogêneo entre as espécies, já que a maioria dos espécimes de *T. arthurneivai* foi capturada nos meses frios e secos (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Número de triatomíneos notificados de acordo com a espécie e o mês no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.



FONTE: Elaborado pelo autor.

O índice de dispersão de triatomíneos (Número de localidades positivas x 100/ Número de localidades existentes) no município foi de 30,9%, sendo de 27,6% entre as localidades da área rural (n = 308), e 72% na área urbana (n = 25). As espécies mais dispersas foram *T. vitticeps* e *P. megistus* (Tabela 5).

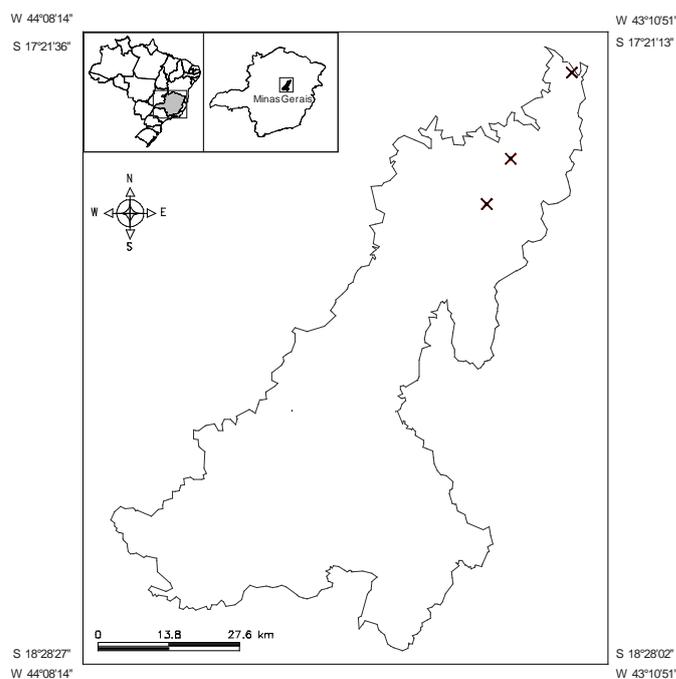
Tabela 5 – Número de localidades infestadas e índice de dispersão de triatomíneos de acordo com a espécie e a zona, Diamantina, setembro de 2011 a agosto de 2014.

Espécie	Localidades infestadas		Índice de dispersão (%)
	Rurais (n=308)	Urbanas (n=25)	
<i>Panstrongylus diasi</i>	3	-	0,9
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	10	11	6,3
<i>Panstrongylus megistus</i>	39	6	13,5
<i>Rhodnius neglectus</i>	1	-	0,3
<i>Triatoma arthurneivai</i>	11	3	4,2
<i>Triatoma pseudomaculata</i>	6	-	1,8
<i>Triatoma sordida</i>	1	-	0,3
<i>Triatoma vitticeps</i>	51	13	19,2
Total	85	18	30,9

FONTE: Elaborada pelo autor.

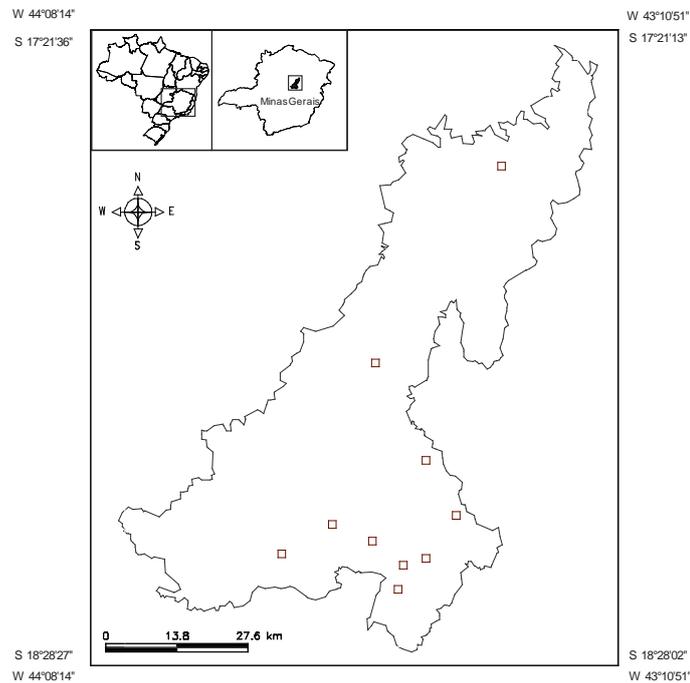
As distribuições das diferentes espécies nas localidades do município seguem apresentadas nos mapas representados pelas figuras 11 a 17.

Figura 11 – Distribuição de *P. diasi* no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: X representam localidades positivas.



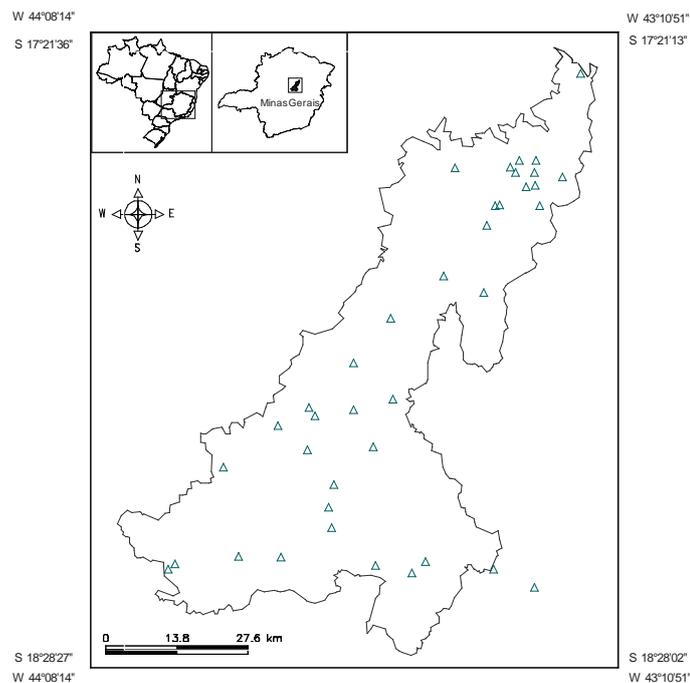
FONTE: Elaborada pelo autor.

Figura 12 – Distribuição de *P. geniculatus* no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: □ localidades positivas.



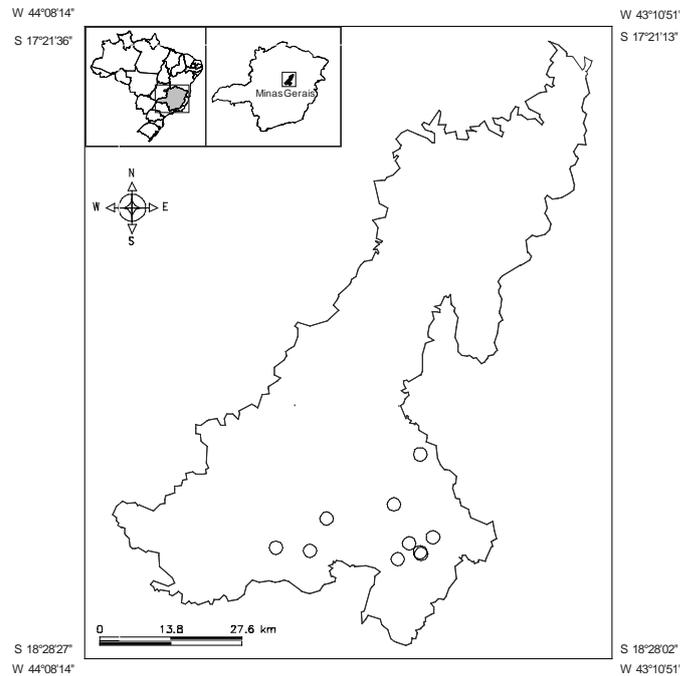
FONTE: Elaborada pelo autor.

Figura 13 – Distribuição de *P. megistus* no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: △ representam localidades positivas.



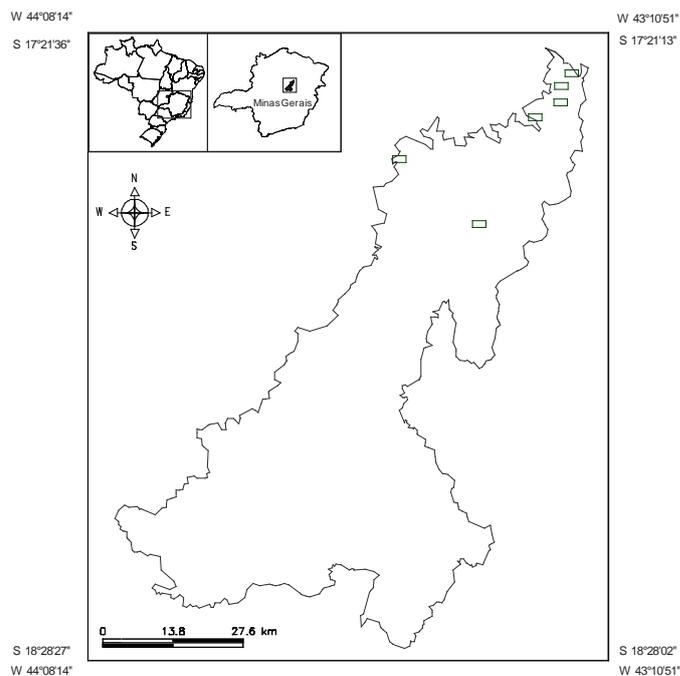
FONTE: Elaborada pelo autor.

Figura 14 – Distribuição de *T. arthurneivai* no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: ○ localidades positivas.



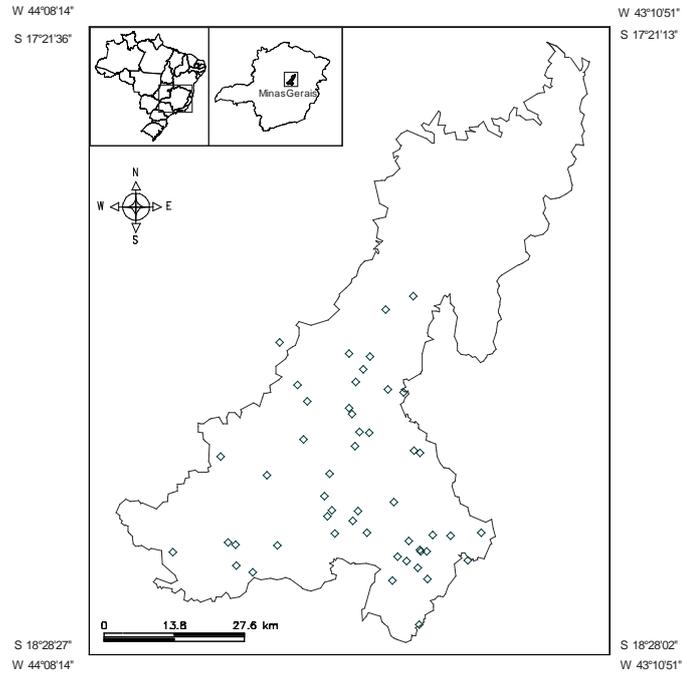
FONTE: Elaborada pelo autor.

Figura 15 – Distribuição de *T. pseudomaculata* no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: □ localidades positivas.



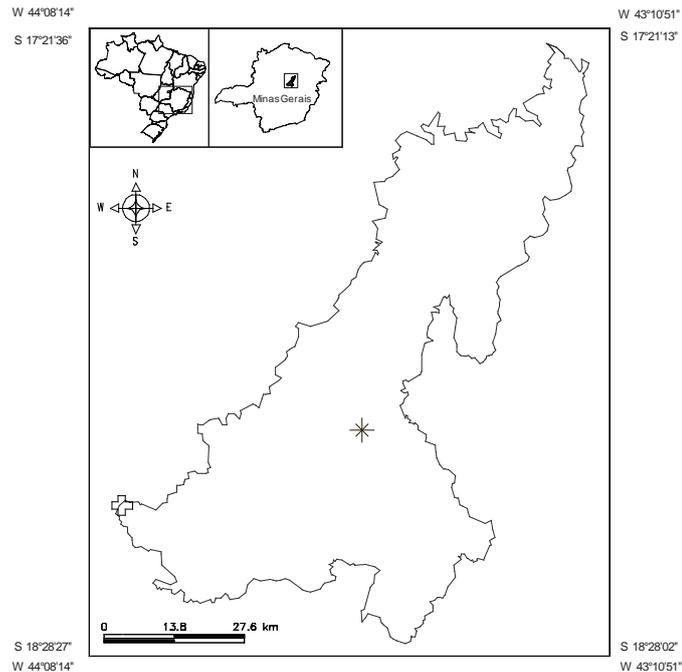
FONTE: Elaborada pelo autor.

Figura 16 – Distribuição de *T. vitticeps* no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: ◊ localidades positivas.



FONTE: Elaborada pelo autor.

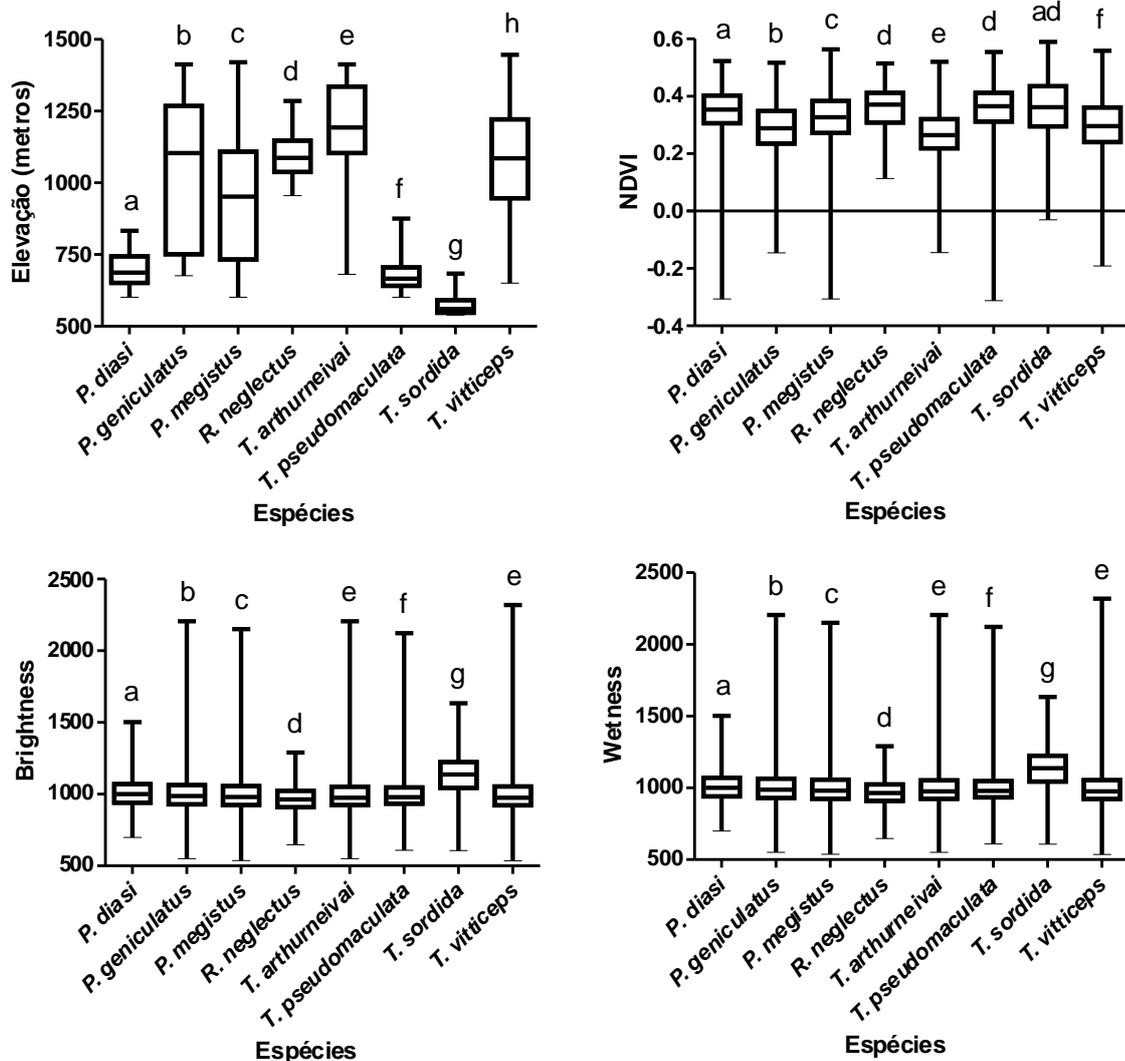
Figura 17 – Distribuição de *R. neglectus* * e *T. sordida* ☒ no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: * *R. neglectus*; ☒ *T. sordida*.



FONTE: Elaborada pelo autor.

Quanto às variáveis ambientais analisadas no entorno das localidades infestadas, em todas houve diferença estatisticamente significativas entre as espécies (altitude: Kruskal-Wallis = 98820. $p < 0,0001$; NDVI; Kruskal-Wallis = 30040; $p < 0,0001$; *brightness*: Kruskal-Wallis = 4712; $p < 0,0001$; *wetness*: Kruskal-Wallis = 4712; $p < 0,0001$). As diferenças entre grupos estão detalhadas no gráfico 2.

Gráfico 2 – Elevação, NDVI, *brightness* e *wetness* para localidades de ocorrência de diferentes espécies de triatomíneos no município de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre grupos (teste de comparações múltiplas de Dunn). Caixas representam mediana, percentis 10 e 90. Suíças representam valores mínimo e máximo.



FONTE: Elaborada pelo autor.

Nos modelos de distribuição construídos por meio de GLM, a presença de *P. megistus* esteve associada significativamente à altitude, *greenness* e *wetness*. No modelo com somente essas variáveis, o *wetness* não mais apresentou relação significativa com a ocorrência da espécie. A presença de *T. arthurneivai* foi significativamente influenciada por todas as variáveis e a de *T. vitticeps* apenas pela altitude (Tabela 6).

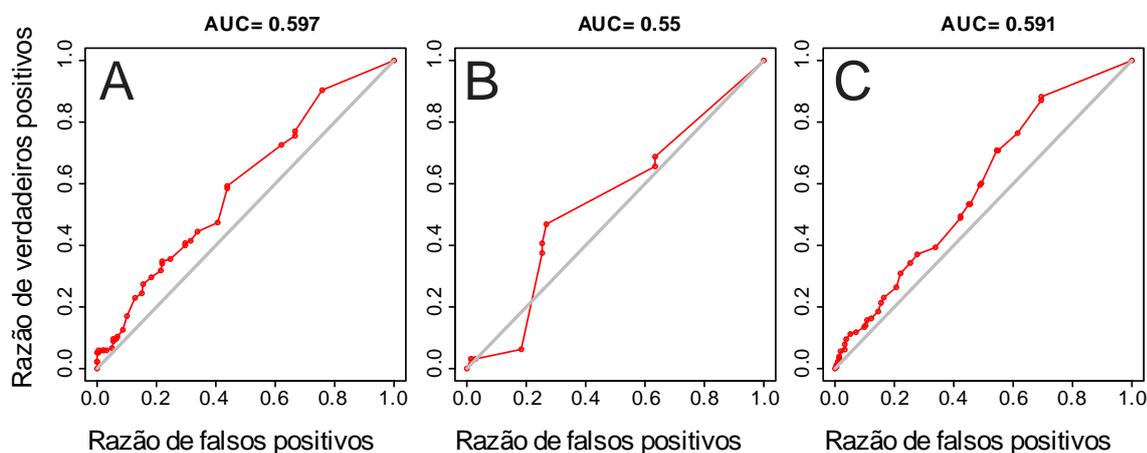
Tabela 6 – Ajustes de modelos lineares generalizados para distribuição de *T. arthurneivai*, *T. vitticeps* e *P. megistus* no município de Diamantina, Minas Gerais.

Espécie	Estimados	Erro padrão	valor z	p-valor
<i>T. arthurneivai</i> (todas as variáveis)				
(Intercept)	-1,75658	2,790878	-0,629	0,52909
Altitude	0,005486	0,00123	4,459	8,22e-06
Brightness	-0,008321	0,003418	-2,435	0,01491
Greenness	0,015755	0,007504	2,1	0,03577
Wetness	-0,02087	0,007282	-2,866	0,00416
<i>T. vitticeps</i> (todas as variáveis)				
(Intercept)	-3,247023	1,109029	-2,928	0,00341
Altitude	0,003839	0,000482	7,965	1,66e-15
Brightness	-0,001228	0,001104	-1,112	0,26627
Greenness	0,002944	0,002135	1,379	0,16804
Wetness	-0,003213	0,002121	-1,515	0,12977
<i>P. megistus</i> (todas as variáveis)				
(Intercept)	-0,6437479	1,1694535	-0,55	0,582
Altitude	0,0014237	0,0004596	3,097	0,00195
Brightness	-0,0021927	0,0012797	-1,713	0,08664
Greenness	0,0068317	0,0024016	2,845	0,00445
Wetness	-0,0059557	0,0024482	-2,433	0,01499
<i>P. megistus</i> (variáveis significativas)				
(Intercept)	-2,4656134	0,5535034	-4,455	8,41E-06
Altitude	0,0015789	0,0004498	3,51	0,000448
Greenness	0,0045577	0,0018482	2,466	0,013662
Wetness	-0,0027206	0,0014438	-1,884	0,059513

FONTE: Elaborada pelo autor.

Embora as variáveis tenham apresentado contribuição para a presença das espécies estudadas, os modelos não apresentaram boa capacidade preditiva, como observado nas curvas ROC (Gráfico 3) e nos erros de predição encontrados pela validação cruzada (*P. megistus*: 40,6%; *T. arthurneivai*: 23,4%; *T. vitticeps*: 32,4%).

Gráfico 3 – Curvas ROC para modelos lineares generalizados de distribuição preditiva de triatomíneos no município de Diamantina, entre 2011 e 2014. A) *P. megistus*; B) *T. arthurneivai*; C) *T. vitticeps*.



FONTE: Elaborada pelo autor.

4.2 Distribuição espacial de triatomíneos na área urbana da cidade de Diamantina

Ao longo do período de estudo foram referenciados ao serviço 140 triatomíneos pertencentes a quatro espécies capturados na área urbana da cidade de Diamantina, dos quais 107 foram examinados, com positividade para tripanossomatídeos de 19,6% (Tabela 7).

Tabela 7 – Número de triatomíneos capturados nas atividades de vigilância entomológica quanto à espécie e positividade para tripanossomatídeos na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.

Espécies	Capturados	Examinados	Positivos	% infecção
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	25	13	5	38,5
<i>Panstrongylus megistus</i>	8	5	-	-
<i>Triatoma arthurneivai</i>	7	6	-	-
<i>Triatoma vitticeps</i>	100	83	16	19,3
Total	140	107	21	19,6

FONTE: Elaborada pelo autor.

Todos os exemplares capturados foram adultos, sendo a maioria desses machos para todas as espécies (Tabela 8).

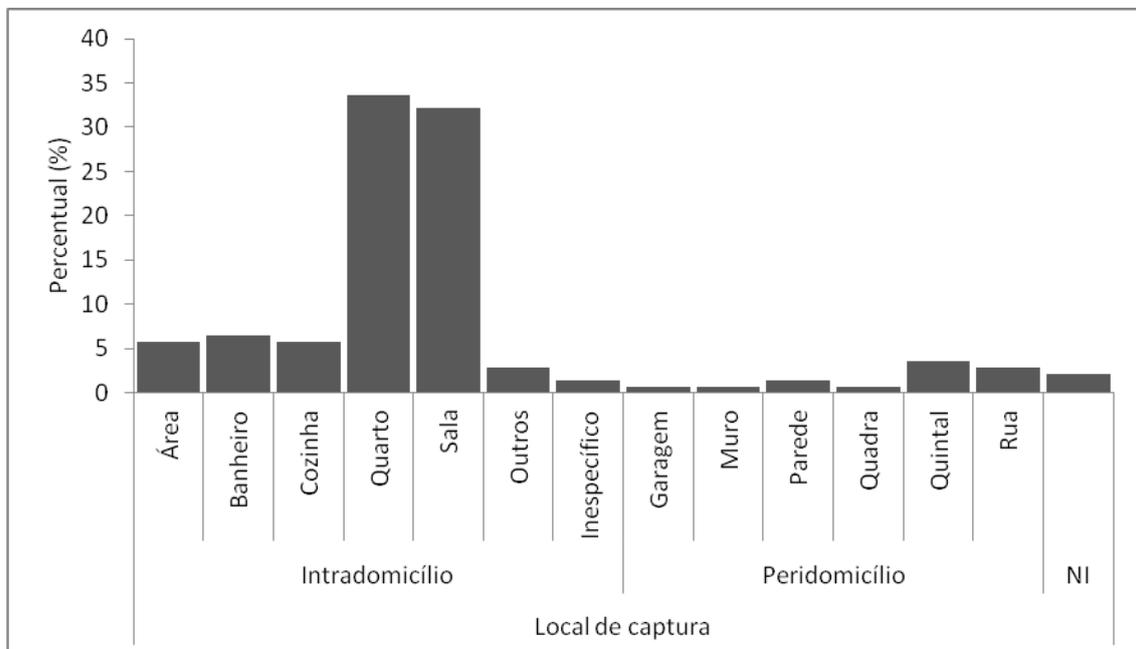
Tabela 8 – Número de triatomíneos capturados nas atividades de vigilância entomológica na área urbana de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014, de acordo com a espécie e o sexo.

Espécies	Macho	Fêmea
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	15	10
<i>Panstrongylus megistus</i>	6	2
<i>Triatoma arthurneivai</i>	5	2
<i>Triatoma vitticeps</i>	73	27
Total	99	41

FONTE: Elaborada pelo autor.

O intradomicílio foi o ambiente com maior número de capturas (87,9%), sendo o quarto e a sala os cômodos mais infestados (Gráfico 4). À exceção de um exemplar de *T. vitticeps*, capturado durante atendimento, todos os outros insetos foram capturados pelos moradores e encaminhados via notificação.

Gráfico 4 – Percentual de triatomíneos capturados de acordo com o local de captura, na área urbana de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014 (n = 140).

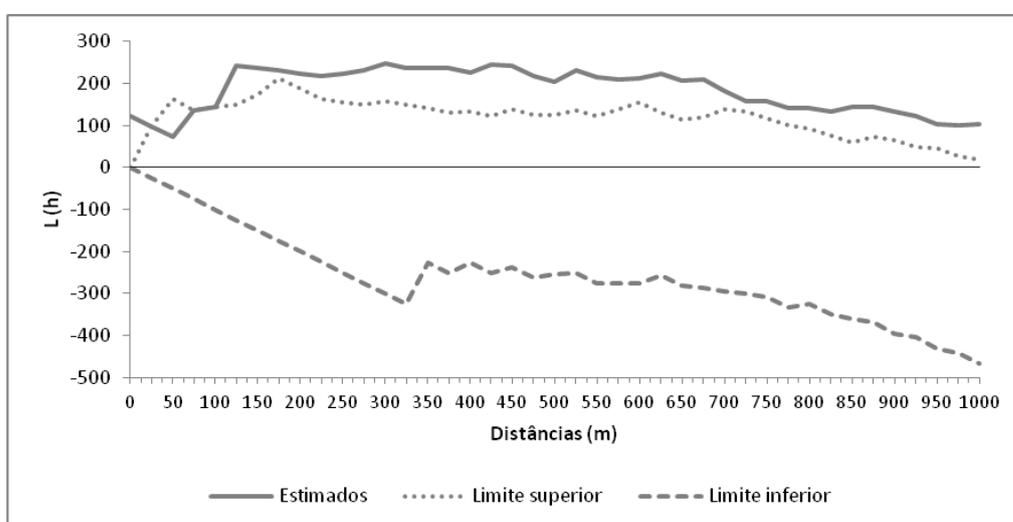


FONTE: Elaborado pelo autor.

A função K para os imóveis infestados por triatomíneos apresentou padrão agregado para *P. geniculatus*, *T. arthurneivai*, *T. vitticeps* e para os insetos positivos ao exame parasitológico.

No caso de *P. geniculatus* as distâncias de agregação estatisticamente significativas estiveram entre zero e 25m e entre 100 e 1000m (Gráfico 5).

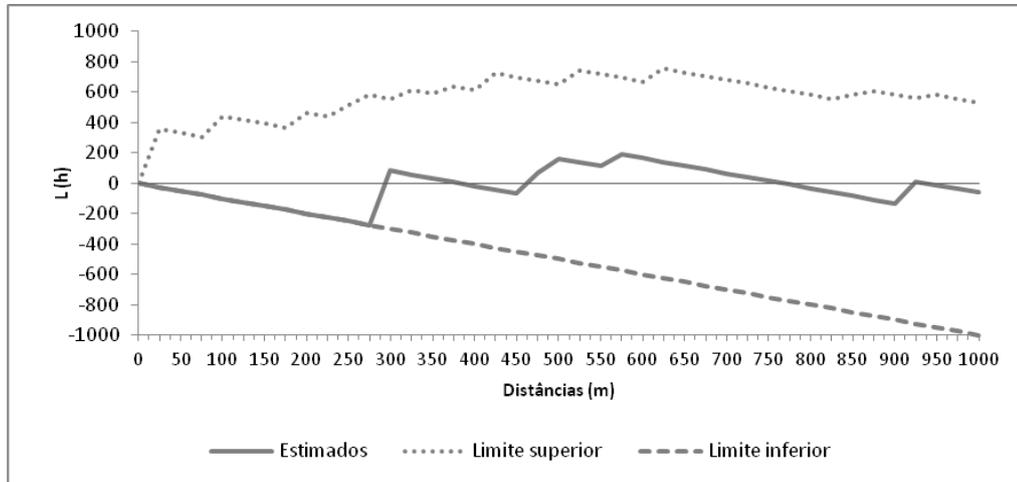
Gráfico 5 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de *P. geniculatus* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.



FONTE: Elaborado pelo autor.

A distribuição espacial de *P. megistus* apresentou padrão aleatório para todas as distâncias de estudo (Gráfico 6).

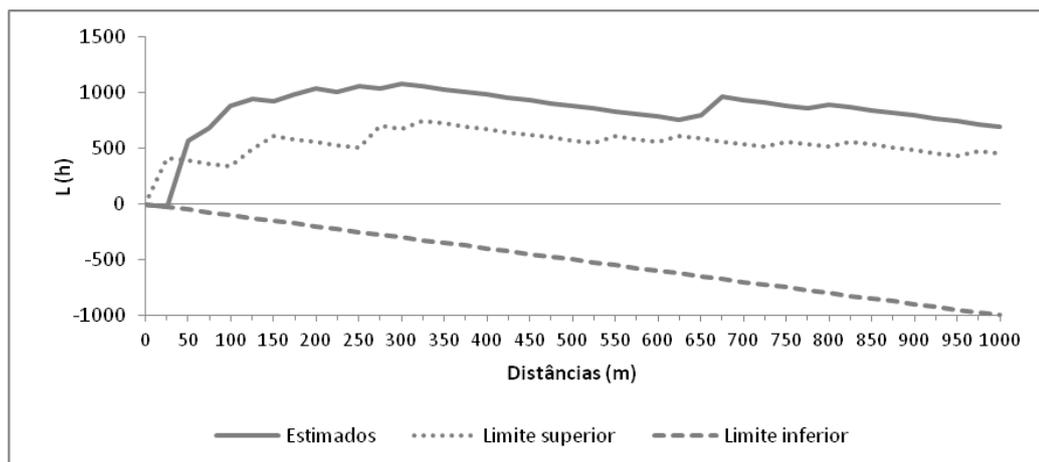
Gráfico 6 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de *P. megistus* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.



FONTE: Elaborado pelo autor.

A ocorrência de *T. arthurneivai* exibiu padrões de agregação espacial estatisticamente significativos em distâncias superiores a 50m (Gráfico 7).

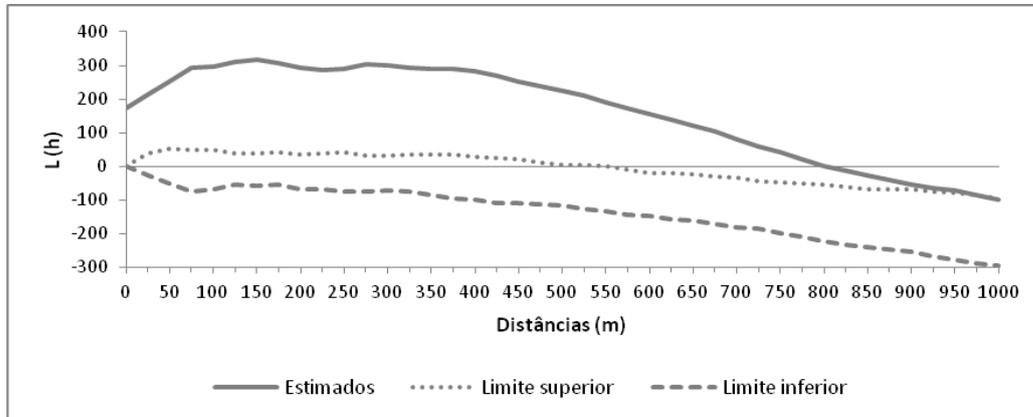
Gráfico 7 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de *T. arthurneivai* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.



FONTE: Elaborado pelo autor.

No caso de *T. vitticeps*, a distribuição espacial apresentou agregação significativa em distâncias de zero a 775m tendendo, a partir dessa distância, a um padrão de distribuição regular (Gráfico 8).

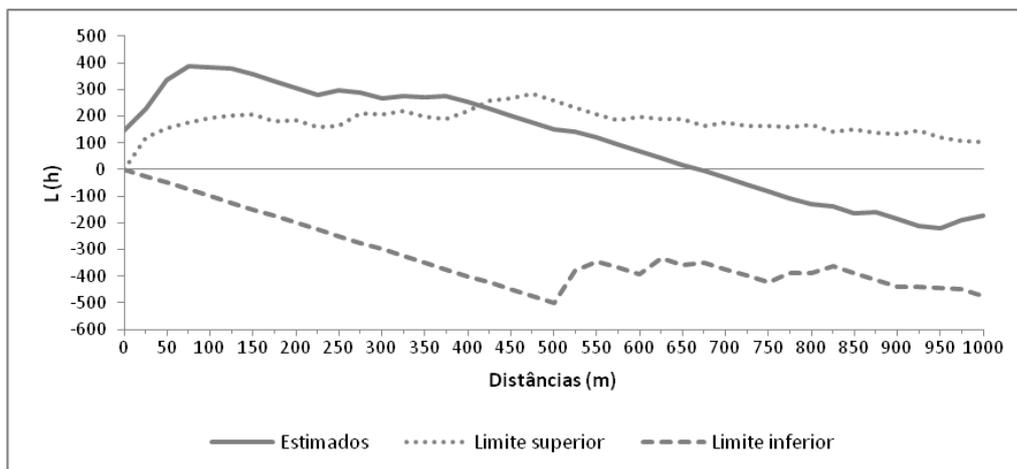
Gráfico 8 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de *T. vitticeps* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.



FONTE: Elaborado pelo autor.

O padrão espacial da distribuição de triatomíneos positivos foi de agregação em distâncias até 400m (Gráfico 9).

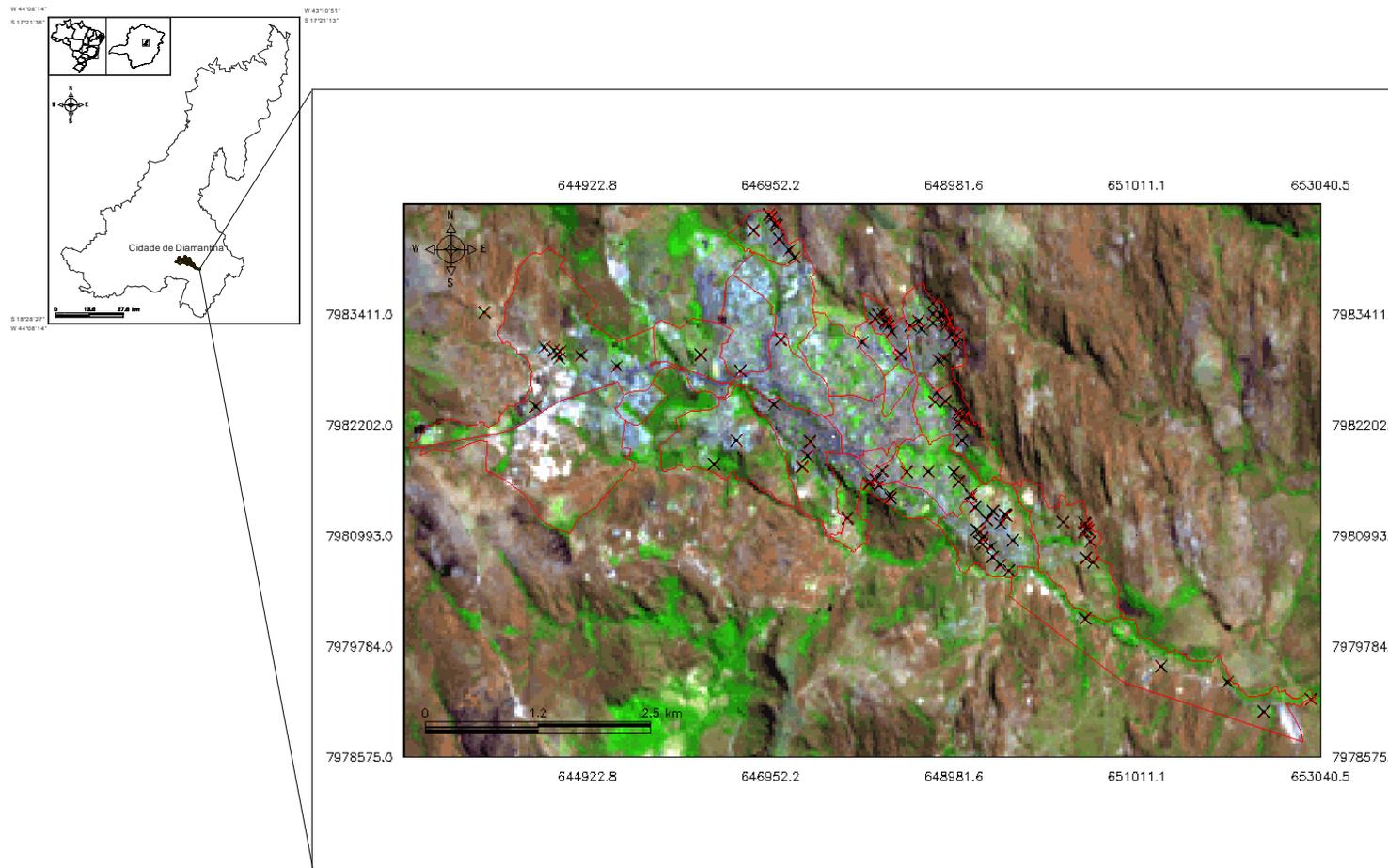
Gráfico 9 – Estimador da função K expresso em valores de $L(h)$ para a distribuição de triatomíneos positivos para tripanossomatídeos na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014.



FONTE: Elaborado pelo autor.

A distribuição dos triatomíneos na área urbana de Diamantina é exibida na Figura 18.

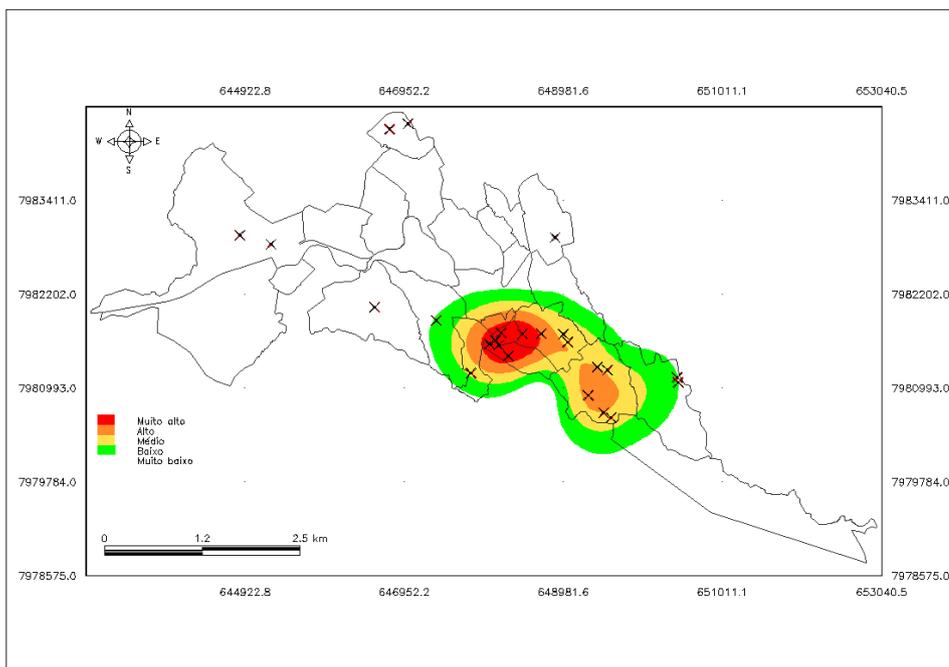
Figura 18 – Distribuição espacial de triatomíneos em imóveis (X) na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Imagem é composição falsa-cor RGB – 654, do sensor LANDSAT-8 OLI (28 de agosto de 2014).



FONTE: Elaborada pelo autor.

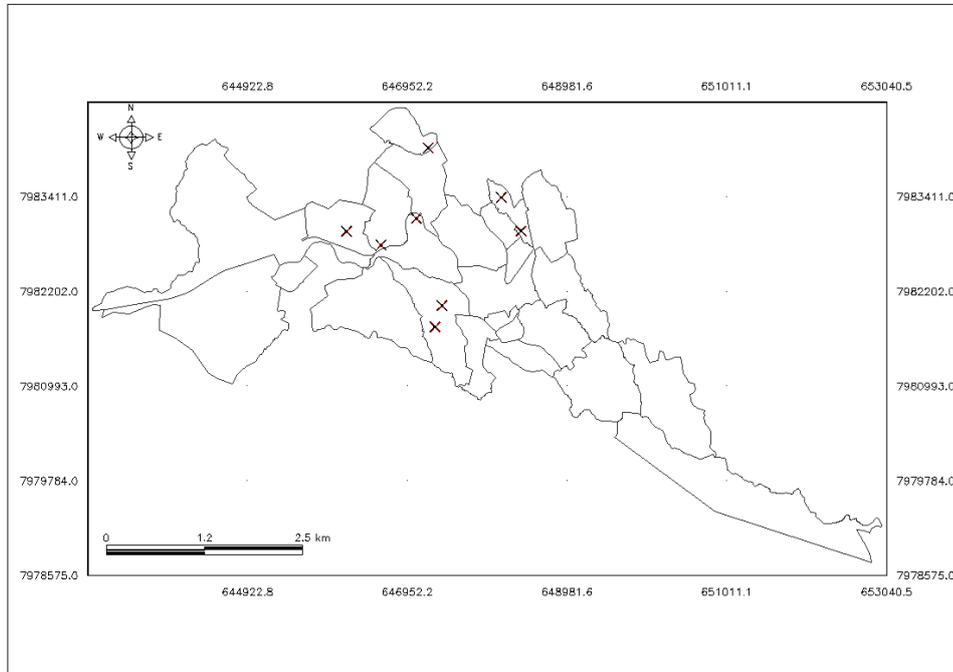
As figuras 19 a 23 apresentam a distribuição de triatomíneos e de exemplares positivos para tripanossomatídeos na cidade de Diamantina, com os respectivos mapas de Kernel (exceto *P. megistus* que não apresentou distribuição agregada).

Figura 19 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de *P. geniculatus* em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.



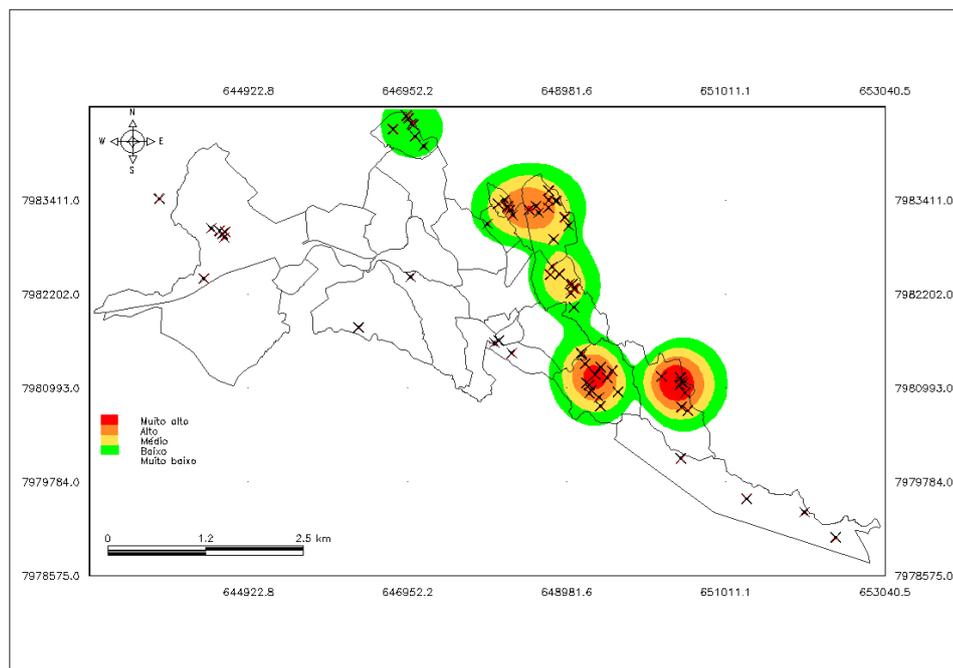
FONTE: Elaborado pelo autor.

Figura 20 – Distribuição espacial de imóveis infestados por *P. megistus* na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados



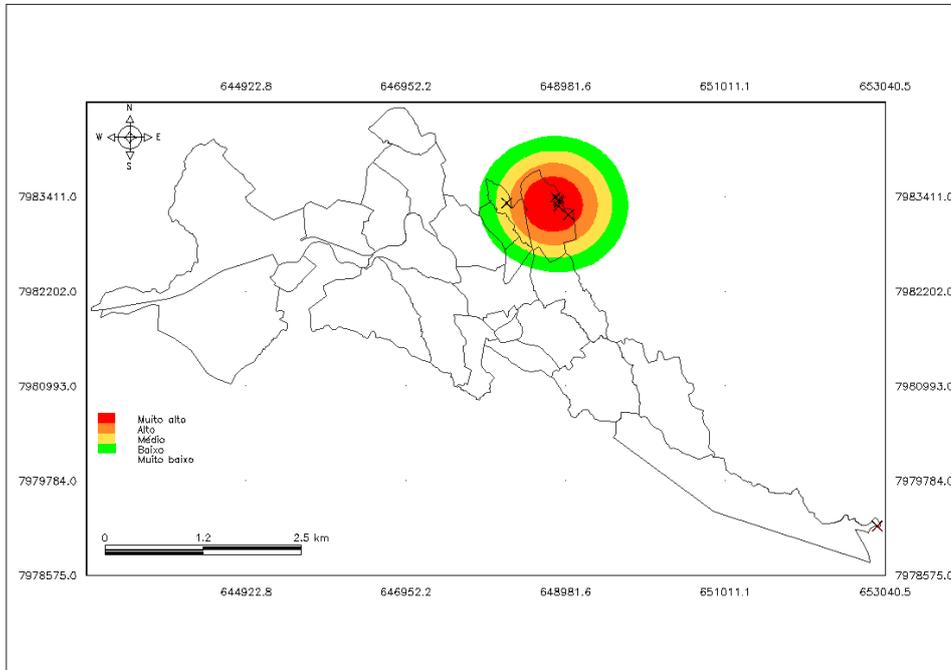
FONTE: Elaborada pelo autor.

Figura 21 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de *T. arthurneivai* em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.



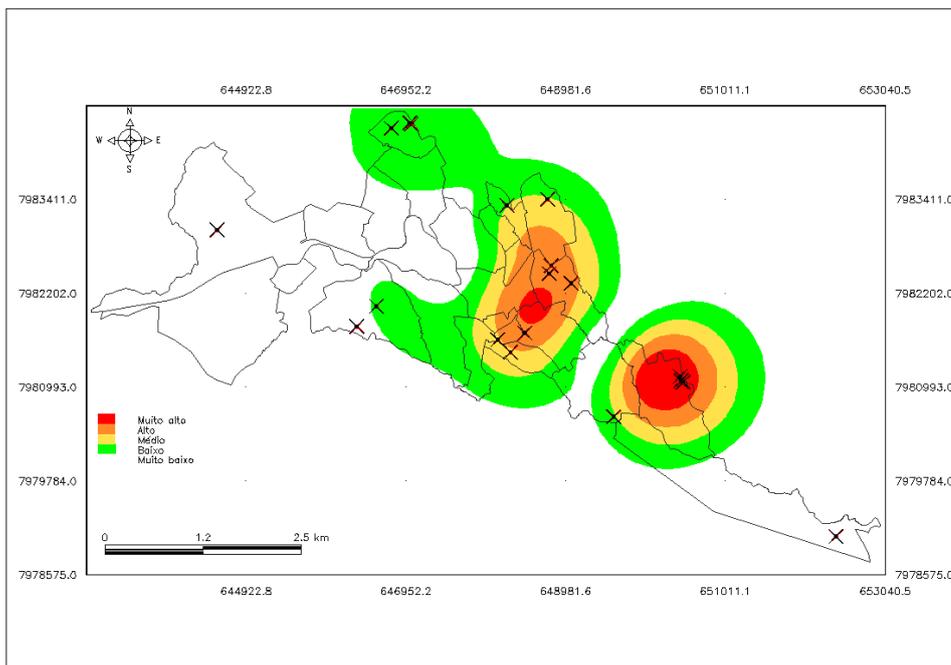
FONTE: Elaborada pelo autor.

Figura 22 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de *T. vitticeps* em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.



FONTE: Elaborada pelo autor.

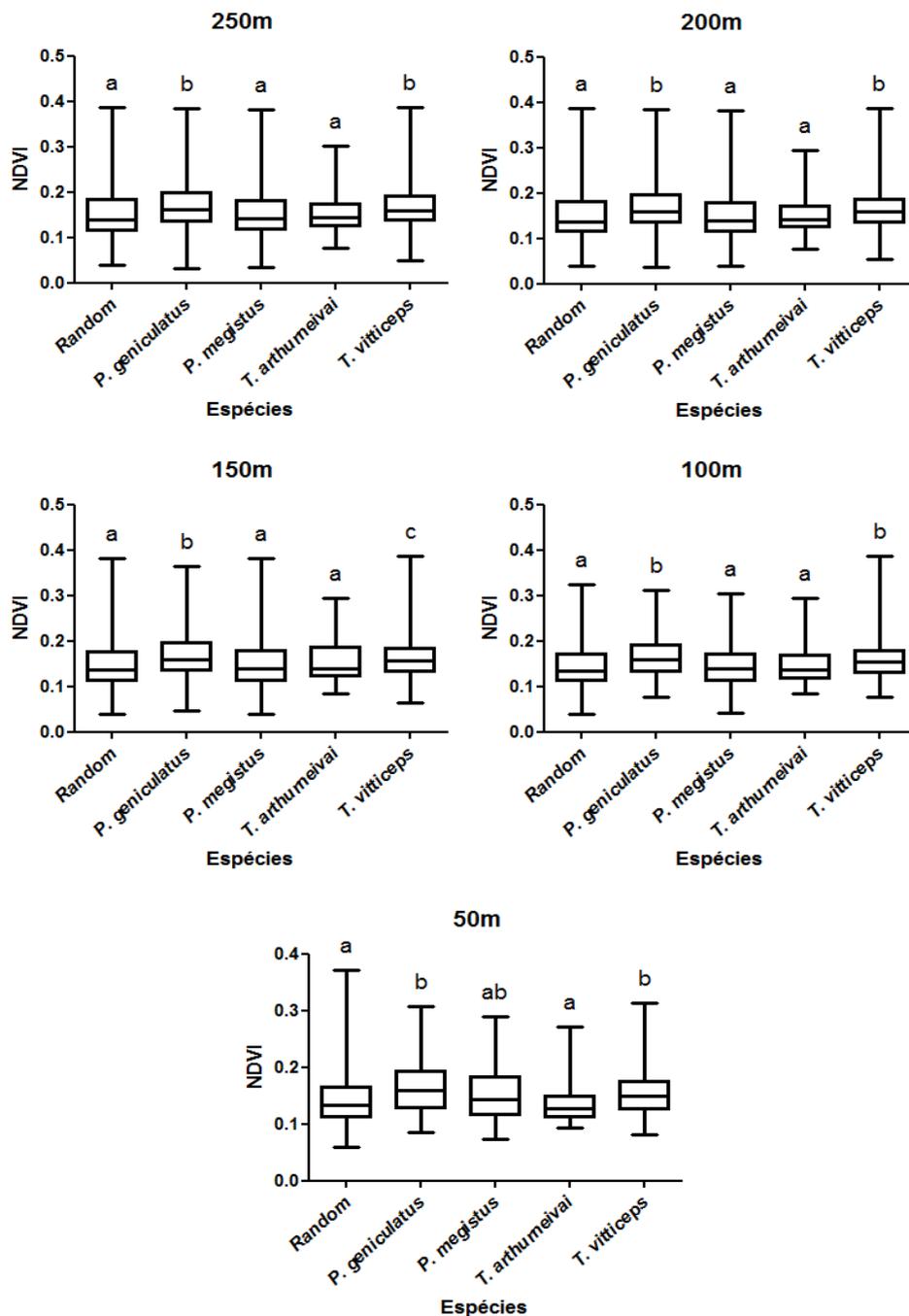
Figura 23 – Estimador de densidades de Kernel para a distribuição de triatomíneos positivos em ambiente domiciliar na área urbana da cidade de Diamantina, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. X representam imóveis infestados.



FONTE: Elaborada pelo autor.

A distribuição espacial de *P. geniculatus* e *T. vitticeps* apresentaram diferença estatisticamente significativa nos valores de NDVI para todas as distâncias analisadas, conforme representado no gráfico 10.

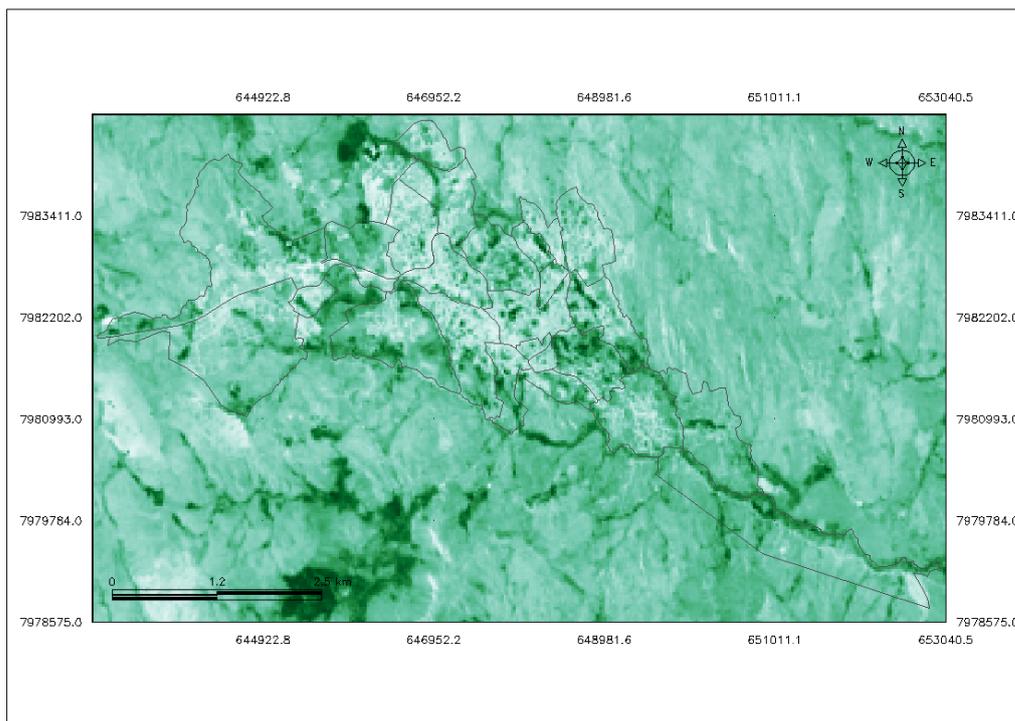
Gráfico 10 – Valores de NDVI em entornos de imóveis infestados e não infestados (pontos aleatórios 'Random'), com diferentes raios, na cidade de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014. Legenda: Letras diferentes apontam as diferenças estatisticamente significativas entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).



FONTE: Elaborado pelo autor.

A figura 24 mostra a distribuição do NDVI na área urbana de Diamantina.

Figura 24 – Índice de Vegetação da Diferença Normalizada (NDVI) da área urbana de Diamantina e entorno. NDVI obtido das bandas 4 e 5 do sensor LANDSAT-8 OLI (28 de agosto de 2014). Áreas em tons mais escuros representam maior quantidade de biomassa verde.

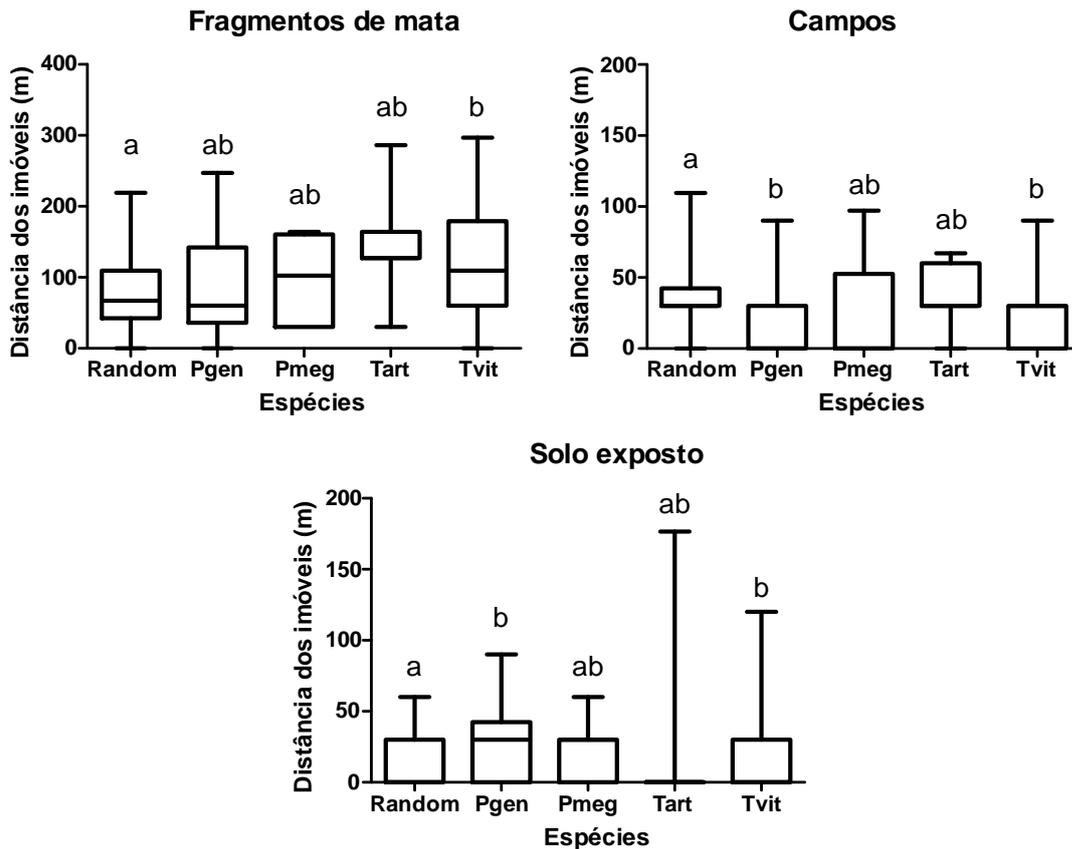


FONTE: Elaborada pelo autor.

Em relação à distância entre os imóveis infestados por triatomíneos e os diferentes tipos de cobertura de terreno, foi observada maior proximidade entre áreas de campo e a ocorrência de *P. geniculatus* e *T. vitticeps*, diferindo significativamente dos pontos de 'pseudo-ausência' de triatomíneos, que estavam mais próximos de áreas com solo exposto (Gráfico 11).

Os resultados referentes a essas análises na área urbana de Diamantina estão publicadas em artigo científico no periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (Apêndice VI).

Gráfico 11 – Distâncias entre imóveis infestados e tipos de cobertura de solo de acordo com a espécie de triatomíneo, município de Diamantina, 2011 a 2014. Legenda: Random: pontos aleatórios de pseudo-ausência; Pgen: *P. geniculatus*; Pmeg: *P. megistus*; Tart: *T. arthurneivai*; Tvit: *T. vitticeps*. Caixas representam medianas e percentis 10 e 90. Suíças representam valores mínimos e máximos. Letras diferentes apontam as diferenças estatisticamente significativas entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).



FONTE: Elaborado pelo autor.

4.3 Avaliação de conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e doença de Chagas entre moradores do município de Diamantina, Minas Gerais

Foram entrevistados 583 moradores (215 homens e 368 mulheres), sendo 388 da área urbana e 195 da área rural do município. O número de entrevistados por estrato de infestação foi de 81 (sem infestação), 105 (baixa infestação), 141 (média infestação) e 256 (alta infestação), com médias de idade de 39,16 (Desvio Padrão: $\pm 17,2$), 41,17 ($\pm 19,1$), 39,03 ($\pm 20,6$) e 40,5 ($\pm 19,5$) anos, respectivamente. O número de crianças e adolescentes foi 77 pessoas.

Não foi observada associação entre o número de entrevistados que afirmou saber reconhecer o triatomíneo e a categoria de infestação da localidade em que residiam e, quando exibidos os exemplares de hemípteros para identificação, 76,5% dos entrevistados reconheceram corretamente os triatomíneos, não havendo associação estatisticamente significativa entre a proporção de acertos e as localidades segundo o índice de infestação (Tabela 9).

Em relação à faixa etária, igualmente não foi observada associação estatisticamente significativa entre os acertos, comparados os entrevistados menores de 25 anos e os com idade maior ou igual a 25 anos ($\chi^2 = 1,692$, $p = 0,2280$). Entretanto, quando comparadas as zonas de residência a proporção de acertos foi maior entre moradores da zona rural (85.1%) do que entre os da área urbana (71.9%) ($\chi^2 = 12,555$, $p = 0,0006$).

O triatomíneo mais apontado foi o *P. megistus* adulto (381 vezes), seguido pela ninfa da mesma espécie (95 vezes). O exemplar de *R. neglectus* foi apontado em 76 oportunidades.

Quando perguntados se já tinham visto os 'barbeiros', 71,4% (416) dos entrevistados responderam positivamente, sendo a resposta associada à infestação da localidade (Tabela 9). Os locais mais relatados foram dentro de casa (43,3%), em locais associados a atividades laborais no meio rural – garimpos, matas, roças (19,1%), e em serviços de saúde (7,5%).

No que se refere à avaliação das condutas adotadas caso o entrevistado encontrasse um triatomíneo foi observada associação estatisticamente significativa entre os índices de infestação e as condutas dos moradores, sendo maior o percentual de condutas adequadas (entregar o inseto para algum serviço de referência) entre os moradores das áreas de média e alta infestação, em relação aos moradores das áreas sem infestação e de baixa infestação. Da mesma forma, uma vez questionados sobre a existência de algum lugar onde poderia levar algum barbeiro, a proporção de respostas afirmativas foi crescente conforme a categoria de infestação da localidade de residência dos entrevistados (Tabela 9). Os locais mais indicados foram os serviços de saúde e as escolas, que nas áreas rurais muitas vezes funcionam como PIT (Tabela 10).

Tabela 9 – Conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e a doença de Chagas entre moradores de áreas com diferentes níveis de infestação vetorial domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Questões relacionadas aos triatomíneos e à doença de Chagas	Localidades por estrato de infestação triatomínica								χ^2	p-valor
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação			
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Afirmou conhecer o 'barbeiro'									4,7	0,193
Sim	50	61,7	56	53,3	79	56,0	164	64,1		
Não	31	38,3	49	46,7	62	44,0	92	35,9		
Reconheceu o 'barbeiro'									4,2	0,237
Corretamente	61	75,3	76	72,4	103	73,0	206	80,5		
Incorretamente	20	24,7	29	27,6	38	27,0	50	19,5		
Já viu o 'barbeiro'									15,6	0,001
Sim	61	75,3	63	60,0	92	65,2	200	78,1		
Não	20	24,7	42	40,0	49	34,8	56	21,9		
Conduta adotada caso encontre um 'barbeiro'									18,5	<0,001
Adequada (encaminha o inseto ao serviço de referência)	30	37,0	41	39,0	82	58,2	145	56,6		
Inadequada (mata ou encaminha incorretamente) ou não sabe	51	63,0	64	61,0	59	41,8	111	43,4		
Existe algum local onde pode levar o barbeiro na região?									41,5	<0,001
Sim	43	53,1	63	60,0	110	78,0	208	81,3		
Não	15	18,5	11	10,5	5	3,5	16	6,3		
Não sabe	23	28,4	31	29,5	26	18,4	32	12,5		
Conhece alguém que foi picado pelo 'barbeiro'?									32,0	<0,001
Sim	30	37,0	24	22,9	20	14,2	72	28,1		
Não	49	60,5	71	67,6	94	66,7	166	64,8		
Não sabe	2	2,5	10	9,5	27	19,1	18	7,0		
O 'barbeiro' transmite alguma doença?									4,3	0,233
Sim	78	96,3	99	94,3	126	89,4	234	91,4		
Não	3	3,7	6	5,7	15	10,6	22	8,6		
Qual o nome da doença que o 'barbeiro' transmite?									5,0 ^a	0,169 ^a
Doença de Chagas	68	84,0	93	87,7	111	77,6	216	84,4		
Outra*	6	7,4	3	2,8	9	6,3	12	4,7		
Não sabe ou não respondeu	7	8,6	10	9,4	23	16,1	28	10,9		
Existe algum serviço de controle da doença de Chagas na região?									18,1	<0,001
Sim	26	32,1	31	29,5	48	34,0	126	49,2		
Não	55	67,9	74	70,5	93	66,0	130	50,8		

^a agrupadas as categorias "outra doença" e "não sabe ou não respondeu"

FONTE: Elaborada pelo autor.

Tabela 10 – Locais para onde os moradores encaminham os triatomíneos segundo o nível de infestação domiciliar por triatomíneos da localidade de residência. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Local de referência para levar o triatomíneo	Categoria de infestação domiciliar							
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Escola	0	0	0	0	26	23,4	1	0,5
Posto de saúde	15	34,9	21	32,8	46	41,4	109	54,2
Secretaria Municipal de Saúde	7	16,3	14	22,0	26	23,4	47	23,4
Zoonoses / SUCAM	12	27,9	20	31,3	4	3,6	30	14,9
Superintendência Regional de Saúde	3	7,0	2	3,1	1	0,9	5	2,5
Vigilância Sanitária	2	4,6	0	0	0	0	2	1,0
Outros*	1	2,3	6	9,4	4	3,6	6	3,0
Não sabe, mas sabe que tem	3	7,0	1	1,6	4	3,6	1	0,5

* "Assistente Social, Bombeiros, Ministério da Saúde, Laboratório, Universidade, Instituto Estadual de Florestas, Secretaria do Meio Ambiente, casa de funcionário da Secretaria Municipal do Turismo."

FONTE: Elaborada pelo autor.

Do total de entrevistados, 25% (146) afirmaram conhecer alguém que já foi picado pelo inseto, sendo maior a proporção entre os moradores da área sem infestação. Também foi observado que 92,1% (537) dos entrevistados responderam que o barbeiro pode transmitir alguma doença, sendo que 83,7% (488) afirmaram ser essa a doença de Chagas, contudo não houve associação entre essas respostas e a infestação da localidade. Entre o total dos que responderam à questão, 195 o fizeram após a leitura das alternativas (Tabela 9).

Quanto a conhecer alguém que tem a doença de Chagas 59,2% (345) dos entrevistados responderam positivamente, sendo que 50,7% das respostas (183/361) apontaram amigos e/ou conhecidos. Entre os familiares, os pais corresponderam a 11,4% (41) das respostas, seguidos de 6,4% (23) para avós, 5,26% (19) para irmãos, e 23,6% (85) incluíram outros familiares. Dez pessoas (2,8%) relataram serem portadoras da infecção.

No que diz respeito aos órgãos que a doença pode atingir, o coração foi indicado em 73% das oportunidades (394/540), seguido por 6,3% (34) para o fígado, por 5,9% (32) para os pulmões, de 3,3% (18) para os rins, de 2,6% (14) para o intestino e de 1,7% (9) para o esôfago, sendo essas as alternativas presentes no questionário. Outras opções apresentadas pelos moradores incluíram sangue,

cabeça, olhos, pernas, pele, músculo, costas, peito, sistema nervoso e baço e corresponderam a 7,2% (39) das indicações. Ademais, 93 das pessoas não souberam responder à questão mesmo após a leitura das opções disponíveis. Um total de 191 pessoas respondeu a questão após a leitura das alternativas.

Sobre quais medidas os próprios moradores poderiam adotar para evitar os barbeiros em casa, predominaram em todas as áreas investigadas as respostas relacionadas à limpeza e organização da casa (Tabela 11).

Tabela 11 – Condutas para evitar barbeiros em casa apontadas por moradores de áreas com diferentes índices de infestação domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Condutas para evitar barbeiros em casa	Categoria de infestação domiciliar							
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Limpeza e organização da casa	35	30,4	55	38,7	81	28,6	98	36,8
Manejo do galinheiro e de outros anexos	17	14,8	13	9,15	42	14,8	46	17,3
Utilização de inseticidas	13	11,3	15	10,6	26	9,2	19	7,1
Evitar frestas ou entulhos (esconderijos)	33	28,7	34	23,9	64	22,6	48	18,1
Olhar e limpar cama e colchões	0	0	2	1,4	14	5,0	15	5,6
Outros*	5	4,4	7	4,9	23	8,1	15	5,6
Não sabe	12	10,4	16	11,3	34	12,0	25	9,4

*"Evitar certas plantas próximo à casa (abacateiro, bananeira, espinheiro); Evitar água parada (caixas d'água, pneus e garrafas); Matar ou capturar o barbeiro; Manter o ambiente claro; Mandar olhar a casa; Telar as janelas; Evitar roupas penduradas na porta; Manter a casa fechada; Evitar luzes acesas; Queimar o lixo; Receber visitas dos agentes de saúde; Colocar panos embaixo das portas; Pintar a casa de branco; Não acumular lama na porta; Não jogar lixo na rua."

FONTE: Elaborada pelo autor.

Em relação à existência de serviço de controle da doença de Chagas no município, 39,6% (231) dos entrevistados respondeu afirmativamente, estando as maiores proporções associadas às áreas de média e alta infestação (Tabela 9). Foi facultado aos moradores apresentarem sugestões para o serviço de controle, tendo sido apresentadas 241 sugestões, conforme a Tabela 12.

Os resultados referentes aos conhecimentos e atitudes da população de Diamantina sobre os triatomíneos e a doença de Chagas estão no manuscrito em

anexo, aceito para publicação no periódico Ciência & Saúde Coletiva (Apêndices VII e VIII).

Tabela 12 – Sugestões apresentadas para o serviço de controle da doença de Chagas por moradores de áreas com diferentes níveis de infestação domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Sugestões	Categoria de infestação domiciliar							
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Aumentar as visitas	16	55,2	12	38,7	21	42,9	45	34,1
Dar continuidade ao combate e borrifação	1	3,5	2	6,5	6	12,2	15	11,4
Trazer informações	5	17,2	7	22,6	2	4,1	13	9,9
Atividades de limpeza (capinar, tirar lixos)	2	6,9	1	3,2	0	0	5	3,8
Outros*	2	6,9	0	0	3	6,1	4	3,0
Nenhuma	3	10,3	9	29,0	17	34,7	50	37,9

*"Melhorar o serviço de saúde todo; Achar uma vacina para não infectar; Valorizar o trabalho e salário dos agentes; Todo mundo ajudar no controle; Trazer médico; Prefeito olhar mais para nós; Ter um lugar para levar os barbeiros; Encanamento de esgoto para a população; Cobrar mais dos moradores."

FONTE: Elaborada pelo autor.

4.4 Captura de triatomíneos em ambiente silvestre

As armadilhas em ambiente silvestre tiveram sucesso de captura de um exemplar macho de *T. arthurneivai*, após quatro semanas de permanência das armadilhas em campo, na área de reserva do Campus JK (sucesso de captura de 0,03%). As buscas em possíveis ecótopos próximos à armadilha resultaram negativas.

4.5 Infecção por *Trypanosoma cruzi* em reservatórios

As capturas de pequenos mamíferos resultaram em 18 animais, sendo 11 na área da reserva do Campus JK (sucesso de captura de 5,3%) e sete na área urbana da cidade de Diamantina (sucesso de captura de 4,4%) (Tabela 13). Todos os animais estavam negativos para a infecção por tripanossomatídeos em todos os métodos utilizados (lâmina corada, xenodiagnóstico e PCR).

Tabela 13 – Número de pequenos mamíferos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica de acordo com a espécie e local de captura no município de Diamantina, Minas Gerais, maio de 2014.

Espécie	Local de captura	Número de indivíduos
<i>Cavia aperea</i>	Silvestre	1
<i>Cerradomys subflavus</i>	Silvestre	2
<i>Didelphis albiventris</i>	Urbana	6
<i>Oligoryzomys sp.</i>	Silvestre	1
<i>Rattus rattus</i>	Urbana	1
<i>Thrichomys apereoides</i>	Silvestre	7
Total	-	18

FONTE: Elaborada pelo autor.

4.6 Caracterização molecular de *T. cruzi* de amostras de fezes de triatomíneos

Foram analisadas 245 amostras de fezes de triatomíneos. Os resultados para detecção de *T. cruzi* apontaram positividade de 15,9% (39) para o kDNA. A PCR do rDNA obteve positividade em 25,6% das amostras, 10,3% para o SL-IR e 18% para o COII.

As figuras 25 e 26 mostram os padrões de banda obtidos para os produtos amplificados no rDNA e no SL-IR.

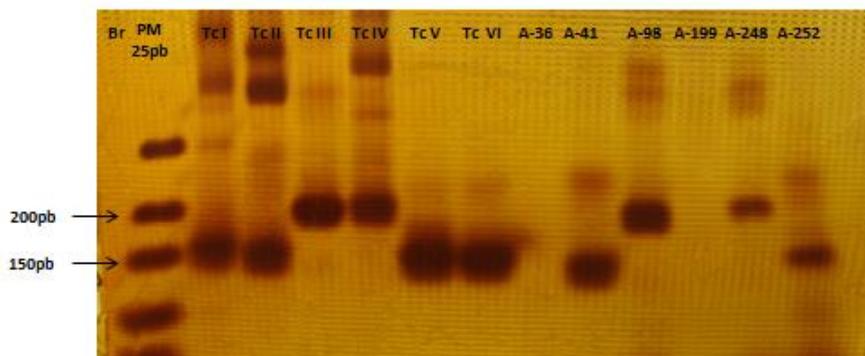
A diagnose da DTU foi possível para 12,8% das amostras positivas para o kDNA, apontando a presença de três grupos relacionados a duas espécies de triatomíneos conforme a Tabela 14.

Figura 25 – Perfis de bandas obtidos pela amplificação de fragmento de DNA de *T. cruzi* presente no conteúdo intestinal de triatomíneos capturados no município de Diamantina – MG por meio da análise do polimorfismo do gene da região 3' do gene 24S α rDNA. Legenda: PM – padrão de peso molecular de 25 pb; P209 cl1 TcI – clone de referência: amplicon de 110pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* I); MAS cl1 TcII – clone de referência: amplicon de 125pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* II); CAN III cl1 TcIV – clone de referência: amplicon de 120pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* IV); Bug 2148 cl1 TcV – clone de referência: amplicon de 110pb ou 110+125pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* V); A – amostras amplificadas em análise.



FONTE: Fotografia do acervo pessoal do autor, tirada por Gabriel Ferreira Caran.

Figura 26 – Perfis de DNA obtidos pela genotipagem de DNA de *Trypanosoma cruzi* presente no conteúdo intestinal de triatomíneos capturados no município de Diamantina-MG por meio da análise do polimorfismo da região intergênica de genes do mini-exon de *Trypanosoma cruzi*. Legenda: PM – padrão de peso molecular de 25 pb; P209 cl1 TcI – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* I); MAS cl1 TcII – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* II); M5631 cl1 TcIII – clone de referência: amplicon de 200pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* III); CAN III cl1 TcIV – clone de referência: amplicon de 200pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* IV); Bug 2148 cl1 TcV – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* V); Tulahuen cl2 TcVI – clone de referência: amplicon de 150-157pb (DNA de *Trypanosoma cruzi* VI); Br – controle negativo da reação; A – amostras amplificadas em análise.



FONTE: Fotografia do acervo pessoal do autor, tirada por Raphael Queiroz Reis.

Tabela 14 – DTU detectadas em amostras de fezes de triatomíneos capturados e identificados nas atividades de vigilância entomológica no município de Diamantina, Minas Gerais, entre setembro de 2011 e agosto de 2014, conforme a localidade e espécie de triatomíneo.

Espécie	Localidade	rDNA	Mini-exon	RFLP-COII	DTU
		Souto et. al. 1996	Burgos et. al. 2007	Freitas et. al. 2006	
<i>T. vitticeps</i>	Bairro Palha	110pb	150/157pb	262+81+30pb	TcI
<i>T. vitticeps</i>	Sítio Morrinhos	125pb	150/157pb	212+81+30pb	TcII
<i>T. vitticeps</i>	Vila Extração	125pb	150/157pb	212+81+30pb	TcII
<i>P. geniculatus</i>	Bairro Santo Inácio	110pb	200pb	294+81+30pb	TcIII
<i>T. vitticeps</i>	Bairro Cazuza	110pb	200pb	294+81+30pb	TcIII

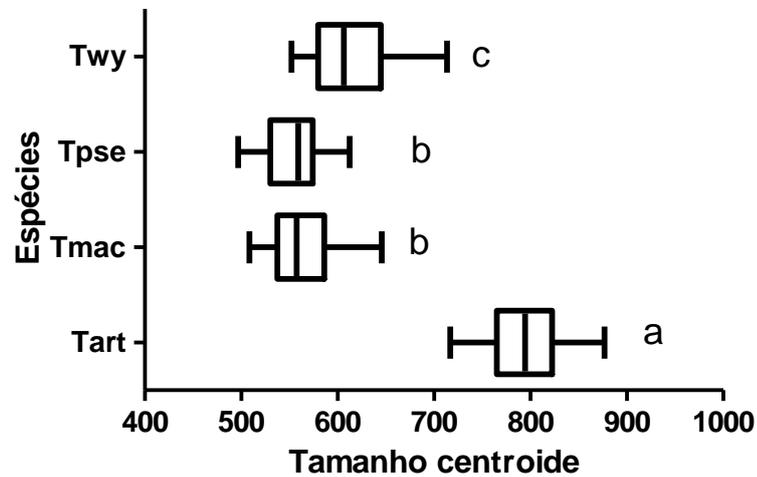
FONTE: Elaborada pelo autor.

4.7 Análises morfométricas e moleculares para o complexo '*Triatoma maculata*'

A análise morfométrica discriminou as espécies do complexo '*Triatoma maculata*'. O tamanho centroide não apresentou diferença estatisticamente significativa entre *T. maculata* e *T. pseudomaculata*. As demais espécies tiveram diferentes tamanhos de centroide (Kruskal-Wallis: 129,1; $p < 0,0001$) (Gráfico 12).

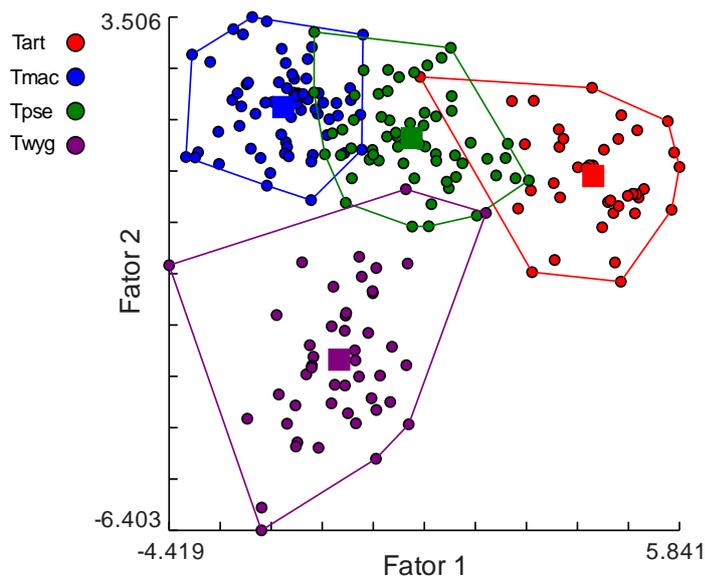
A análise da regressão entre as variáveis de conformação e o tamanho isométrico revelou resíduo alométrico significativo ($p < 0,05$), apontando para a influência do tamanho na conformação das asas. Na análise discriminante a primeira variável canônica (fator 1) descreveu 47% da variação total da forma e discriminou *T. arthurneivai* das demais espécies. A segunda variável canônica (fator 2) descreveu 34% da variação, segregando *T. wygodzinskyi* das demais espécies (Gráfico 13). Um terceiro fator descreveu 19% das variações. A árvore UPGMA gerada com as distâncias de Mahalanobis agrupou *T. maculata* e *T. pseudomaculata*, esses próximos a *T. wygodzinskyi* e *T. arthurneivai* discrepante de todos (Tabela 15; Figura 27).

Gráfico 12 – Tamanho centroide para asas de *T. arthurneivai* (Tart), *T. maculata* (Tmac), *T. pseudomaculata* (Tpse) e *T. wygodzinskyi* (Twy). Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas, $p < 0,05$ (Kruskal-Wallis).



FONTE: Elaborado pelo autor.

Gráfico 13 – Mapa fatorial da Análise Discriminante para variáveis de forma de asas de *T. arthurneivai* (Tart), *T. maculata* (Tmac), *T. pseudomaculata* (Tpse) e *T. wygodzinskyi* (Twyg). Quadrados representam os centroides dos grupos. Fator 1 e Fator 2 representam as variáveis canônicas da forma.



FONTE: Elaborado pelo autor.

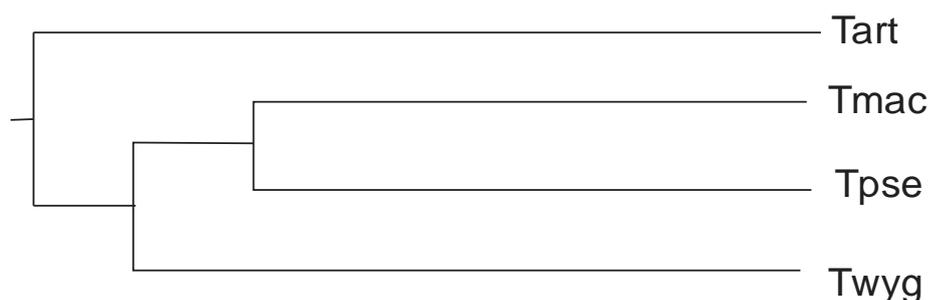
Tabela 15 – Distâncias de Mahalanobis para variáveis de conformação para asas de *T. arthurneivai* (Tart), *T. maculata* (Tmac), *T. pseudomaculata* (Tpse) e *T. wygodzinskyi* (Twyg).

Espécies	Distâncias de Mahalanobis			
Tart	0,0	---	---	---
Tmac	6,4*	0,0	---	---
Tpse	5,1*	4,2*	0,0	---
Twyg	6,4*	5,1*	5,0*	0,0

*Diferenças significativas ($p < 0,05$) computadas por teste de permutações (10000) após correção de Bonferroni.

FONTE: Elaborado pelo autor.

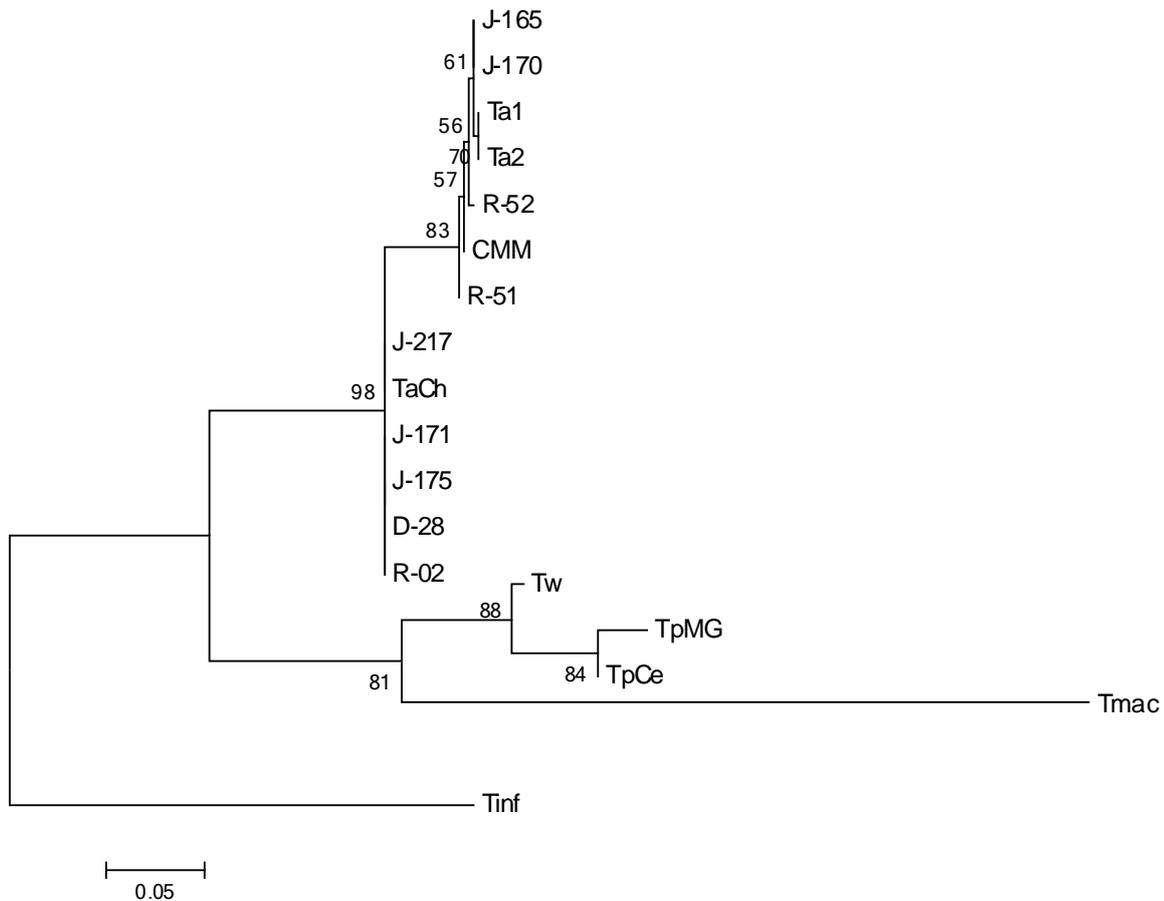
Figura 27 – Árvore UPGMA derivada das distâncias de Mahalanobis para as variáveis de conformação de asas de *T. arthurneivai* (Tart), *T. maculata* (Tmac), *T. pseudomaculata* (Tpse) e *T. wygodzinskyi* (Twyg).



FONTE: Elaborada pelo autor.

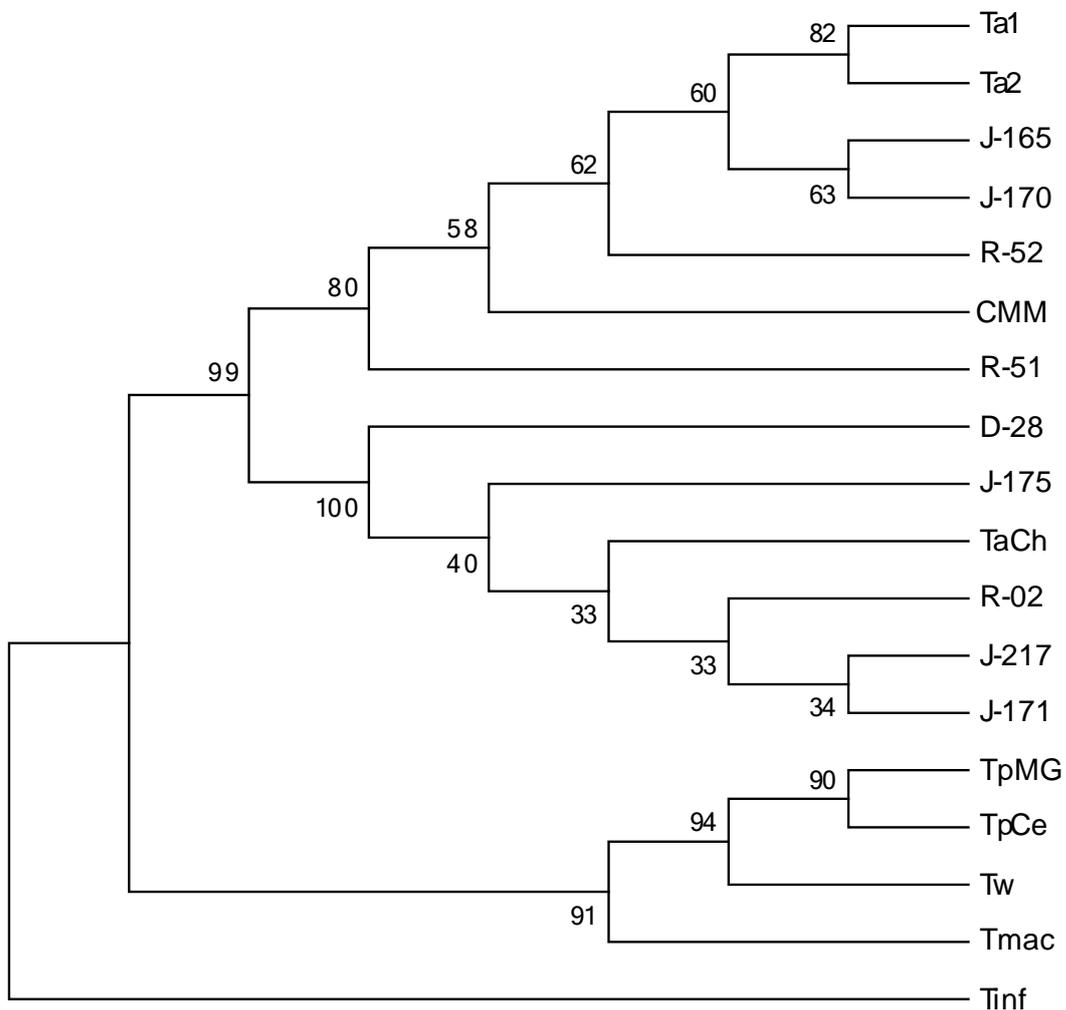
O sequenciamento do CytB originou um fragmento de 399pb. Após o alinhamento foram observados 300 sítios conservados, 99 sítios variáveis, 63 sítios parcimônia informativos e 36 *singletons*. A árvore de máxima verossimilhança para o grupo é exibida na figura 28. O modelo posicionou um clado formado por *T. maculata*, irmão de outro formado por *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi*, que seriam, nessa construção, espécies irmãs. Outro ramo agrupou todos os exemplares de *T. arthurneivai* sendo que dentro desse clado houve dois agrupamentos. Resultados semelhantes foram encontrados para a árvore construída mediante modelo de máxima parcimônia (Figura 29). As distâncias genéticas entre os exemplares de *T. arthurneivai* foram todas inferiores a 4,3%, e entre todas as espécies foram maiores 11%, exceto para *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi*, para as quais as distâncias foram menores ou iguais a 5,5% (Tabela 16).

Figura 28 – Árvore consenso de Máxima Verossimilhança para filogenia de espécies do complexo '*Triatoma maculata*' baseada em fragmento do CytB. Algoritmo utilizado HKY+G. Tinf: *T. infestans*; TpCE: *T. pseudomaculata* de Sobral, Ceará; TpMG: *T. pseudomaculata* de Francisco Badaró, Minas Gerais; Tw: *T. wygodzinskyi* de São João da Boa Vista, São Paulo; Tmac: *T. maculata* de Mucajaí, Roraima; R-02, D-28, J-175, J-171, TaCh, J-217, R-51, R-52, Ta1, Ta2, J-170 e J-165: *T. arthurneivai* de Diamantina, Minas Gerais; CMM: *T. arthurneivai* de Couto de Magalhães de Minas, Minas Gerais. Números representam os valores de *bootstrap*.



FONTE: Elaborado pelo autor.

Figura 29 – Árvore consenso de Máxima Parcimônia para filogenia de espécies do complexo '*Triatoma maculata*' baseada em fragmento do CytB. Tinf: *T. infestans*; TpCE: *T. pseudomaculata* de Sobral, Ceará; TpMG: *T. pseudomaculata* de Francisco Badaró, Minas Gerais; Tw: *T. wygodzinskyi* de São João da Boa Vista, São Paulo; Tmac: *T. maculata* de Mucajaí, Roraima; R-02, D-28, J-175, J-171, TaCh, J-217, R-51, R-52, Ta1, Ta2, J-170 e J-165: *T. arthurneivai* de Diamantina, Minas Gerais; CMM: *T. arthurneivai* de Couto de Magalhães de Minas, Minas Gerais. Números representam os valores de *bootstrap*.



FONTE: Elaborado pelo autor.

Tabela 16 – Distância genética (distância p) em valores percentuais entre *T. arthurneivai*, *T. infestans*, *T. maculata*, *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi*, baseada em alinhamento de sequência de fragmento de 399 pb do gene do CytB.

		<i>Triatoma arthurneivai</i>																
Sequências		CMM	D-28	J-165	J-170	J-171	J-175	J-217	R-02	R-51	R-52	Ta1	Ta2	TaCh	Tinf ¹	Tmac ²	TpCe ³	TpMG ⁴
<i>Triatoma arthurneivai</i>	CMM																	
	D-28	3,5																
	J-165	0,5	4,0															
	J-170	0,5	4,0	0,0														
	J-171	3,5	0,0	4,0	4,0													
	J-175	3,5	0,0	4,0	4,0	0,0												
	J-217	3,5	0,0	4,0	4,0	0,0	0,0											
	R-02	3,5	0,0	4,0	4,0	0,0	0,0	0,0										
	R-51	0,3	3,3	0,8	0,8	3,3	3,3	3,3	3,3									
	R-52	0,5	3,5	0,5	0,5	3,5	3,5	3,5	3,5	0,8								
	Ta1	0,8	4,3	0,3	0,3	4,3	4,3	4,3	4,3	1,0	0,8							
	Ta2	0,8	4,3	0,3	0,3	4,3	4,3	4,3	4,3	1,0	0,8	0,0						
	TaCh	3,5	0,0	4,0	4,0	0,0	0,0	0,0	0,0	3,3	3,5	4,3	4,3					
	Tinf ¹	13,8	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,5	13,8	13,0	13,0	13,3			
	Tmac ²	13,5	15,0	14,0	14,0	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0	13,8	14,0	13,8	13,8	15,0	15,8		
	TpCe ³	12,0	11,5	12,0	12,0	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	12,3	12,3	11,8	11,8	11,5	14,0	12,0	
TpMG ⁴	13,0	12,5	13,0	13,0	12,5	12,5	12,5	12,5	12,5	13,3	13,3	12,8	12,8	12,5	13,8	12,8	2,3	
Tw ⁵	12,8	11,8	12,8	12,8	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8	13,0	13,0	12,5	12,5	11,8	14,5	11,3	4,0	5,5

¹ *Triatoma infestans* (colônia LATEC); ² *Triatoma maculata* (Mucajá, RR); ³ *Triatoma pseudomaculata* (Sobral, CE); ⁴ *Triatoma pseudomaculata* (Francisco Badaró, MG); ⁵ *Triatoma wygodzinskyi* (São João da Boa Vista, SP).

FONTE: Elaborado pelo autor.

5.1 Indicadores entomológicos e distribuição espacial de triatomíneos no município de Diamantina

A transmissão vetorial da infecção por *T. cruzi* no Brasil encontra-se controlada, o que decorre, em grande medida, do impacto da virtual eliminação do *T. infestans* do território nacional, além do controle da infestação domiciliar por espécies nativas. Entretanto, a recorrente invasão de triatomíneos autóctones, com variados graus de adaptação ao ambiente domiciliar, justifica a manutenção da vigilância entomológica nos municípios (SILVEIRA, 2011b; ABAD-FRANCH et al., 2013).

Nesse contexto, o município de Diamantina, localizado no Vale do Jequitinhonha, representa uma área onde houve transmissão vetorial ativa do *T. cruzi* no passado, tendo sido as espécies mais importantes do ponto de vista epidemiológico o *T. infestans* e o *P. megistus* (DIAS et al., 1985; DIAS, 2010). Nos três anos que compreenderam o presente estudo, 975 exemplares de oito espécies de triatomíneos foram encontrados no ambiente domiciliar no município de Diamantina. Esses números apontam tanto uma alta diversidade de espécies como um grande número de exemplares capturados nesse município, sobretudo quando comparado com outras áreas do estado de Minas Gerais: Villela et al. (2005) verificaram a presença de 1531 exemplares pertencentes a quatro espécies em 46 municípios da região centro-oeste do estado, entre 2000 e 2003; Paula et al. (2010), em 16 municípios das regiões do Alto Paranaíba e do Triângulo Mineiro, detectaram 990 exemplares de cinco espécies, entre 2002 e 2004; Santos et al. (2014), no município de Açucena, Vale do Rio Doce assinalaram 70 triatomíneos de três espécies entre 2006 e 2009.

A diversidade da fauna triatomínica encontrada no município de Diamantina pode ser atribuída à variedade de características ambientais na extensão do mesmo, que está inserido em uma zona de tensão entre o Cerrado e a Mata Atlântica e, nas áreas mais elevadas (cerca de 1000m), há presença marcada dos campos rupestres, os quais dominam a paisagem (GONTIJO, 2008). Quando analisada a distribuição das diferentes espécies, tal hipótese é reforçada, haja vista as diferenças tanto no sentido latitudinal como altitudinal, sendo *P. megistus* e *P. geniculatus* observados ao longo de todo o município, *P. diasi* e *T. pseudomaculata*

restritas à porção setentrional, *T. arthurneivai* e *T. vitticeps* ocorrendo na porção meridional e *T. sordida* no extremo ocidental.

Embora *T. sordida* tenha sido registrado em apenas uma localidade, dados anteriores da Superintendência Regional de Saúde de Diamantina (não publicados) reforçam a ideia da distribuição restrita da espécie às localidades limítrofes com os municípios de Augusto de Lima e Monjolos, na vertente oeste da Cordilheira do Espinhaço. Já o *R. neglectus*, que no presente estudo foi encontrado apenas na localidade de Pinheiro, registros anteriores apontam sua presença mais dispersa no município (SUPERINTENDÊNCIA REGIONAL DE SAÚDE DE DIAMANTINA, dados não publicados).

O elevado número de exemplares capturados em Diamantina pode estar relacionado à constante solicitação da equipe do estudo aos agentes de controle de zoonoses a coletarem o maior número possível de insetos durante as atividades de captura, o que difere das normativas para pesquisa e captura de triatomíneos que se atém à coleta de uma amostra e não a totalidade dos insetos encontrados (VINHAES et al., 2014). É crível, porém, que esse dado ainda assim esteja subestimado, visto que nem todos os atendimentos às notificações foram acompanhados pelos pesquisadores. Entretanto, essa abordagem permitiu dimensionar com maior precisão o quantitativo de insetos presentes em ambientes domiciliares, tanto mais considerando que na maior parte dos estudos as informações são obtidas por meio de dados secundários referentes a registros de atividades de campo.

Panstrongylus megistus foi a espécie mais frequente no município de Diamantina, o que se deve, em grande parte, à densidade das colônias peridomiciliares, especialmente nos galinheiros, devido à farta disponibilidade de alimento. Esses locais podem constituir-se em uma fonte de dispersão para o intradomicílio (SILVA et al., 2003). Apesar de a espécie ser apta a estabelecer colônias intradomiciliares, o predomínio peridomiciliar dessa foi também observado em outras áreas de Minas Gerais (MACHADO DE ASSIS et al., 2009; PAULA et al., 2010; VILLELA et al., 2010; BELISÁRIO et al., 2013) além de outras unidades da federação, como o Distrito Federal (MAEDA et al., 2012) e o estado de Sergipe (LIMA et al., 2012).

Fato relevante concernente à colonização por *P. megistus* foi o encontro de grande proporção de exemplares adultos e ninfas de quinto estágio. Isso pode se

dever à maior dificuldade de detecção de ninfas de tamanhos diminutos. Contudo, a observação de insetos em estádios mais avançados também sugere que os eventos de colonização eram relativamente antigos haja vista o *P. megistus* apresentar normalmente um ciclo anual, sendo necessário um longo período para estabelecimento de colônias com o perfil observado (DIAS, 1955; DIAS, DIAS, 1968; VILLELA et al., 2005).

No intradomicílio a maior parte dos exemplares foi capturada nos quartos de dormir, o que pode estar relacionado à busca do inseto por fontes sanguíneas. Embora a maioria dos achados intradomiciliares tenha correspondido a insetos adultos, possivelmente invasores, ninfas, inclusive de estádios mais avançados também foram capturadas nesse ambiente, algumas portando tripanossomatídeos, o que aponta para o risco para a transmissão do parasito.

Outro ponto a ser ressaltado é que quase um terço das notificações de *P. megistus* resultou em atendimentos positivos (com captura de mais insetos), atestando a capacidade não só de invasão, mas também de colonização do ambiente domiciliar pela espécie no município. Tal informação se faz ainda mais relevante pelo fato de que a população reconhece principalmente os adultos dessa espécie, sendo a notificação importante passo para detecção e posterior extirpação de colônias domiciliares por agentes de controle, como observado também por Villela et al. (2007) e Villela et al. (2009).

O número de notificações de *P. megistus* foi maior em dois períodos: entre os meses de outubro e janeiro e em abril. Esses períodos correspondem, respectivamente, ao início e ao fim do período chuvoso, que também acumulam as temperaturas mais elevadas no ano, quando se observam maiores proporções de adultos e ninfas de 5º estágio. Padrão semelhante fora observado também por Dias (1955) e Dias e Dias (1968) no município de Bambuí, por Villela et al. (2005) em 46 municípios da região centro-oeste de Minas Gerais, além de Maeda et al. (2012), no Distrito Federal. Nesse sentido Dias et al. (dados não publicados) observaram forte correlação positiva entre o número de adultos capturados na região do Vale do Jequitinhonha e valores de temperatura e precipitação registrados historicamente nas estações meteorológicas da área.

A distribuição espacial do *P. megistus* apresentou padrão disperso por todo o município. Isso pode ser explicado, em certa medida, pela manutenção de focos silvestres em capões e matas ciliares, conforme assinalado por Forattini (1980).

Essas áreas em geral são protegidas por abrigarem nascentes de água usadas tanto para consumo humano como para irrigação da pequena agricultura e, na proximidade de tais locais, é onde a população rural da região normalmente se estabelece (RIBEIRO et al., 2007). A relação entre o *P. megistus* e a vegetação é ainda endossada pela observação de que a componente *greenness* contribuiu positivamente no modelo de distribuição da espécie para o município de Diamantina.

Em contraste com a zona rural, na área urbana da cidade de Diamantina foram capturados apenas adultos de *P. megistus*, sem indícios de colonização. Entretanto, a ocorrência da espécie nessa área está provavelmente relacionada à manutenção de pequenos fragmentos de mata na cidade (Figura 24) onde há presença de gambás (*Didelphis albiventris*) que são fonte alimentar habitual deste triatomíneo (FORATTINI et al., 1970; SANTOS-JÚNIOR et al., 2011; SANTOS-JÚNIOR et al., 2013).

A segunda espécie mais frequentemente capturada no município de Diamantina foi *T. vitticeps*, que é um triatomíneo frequentemente encontrado em domicílios, entretanto com raros registros de colonização domiciliar. Em geral apresenta-se altamente infectado por tripanossomos e, com efeito, no município de Diamantina apresentou 17,6% de exemplares infectados, sendo responsável por quase 77% do total de insetos positivos entre todas as espécies. Essas altas taxas de infecção devem estar relacionadas às fontes alimentares desse triatomíneo, as quais incluem, entre outros vertebrados, diversos mamíferos (DIAS et al., 1989; GONÇALVES et al., 2000; LOROSA et al., 2003; SANTOS et al., 2006; SOUZA et al., 2011), sendo pertinentes, dessa forma, investigações futuras no município para esclarecer suas fontes de alimentação e, conseqüentemente, de infecção nesse local.

Quase a totalidade das capturas de *T. vitticeps* correspondeu a exemplares adultos detectados no intradomicílio pelos próprios moradores, sendo raros os atendimentos positivos para a espécie, apontando a não formação de colônias neste ambiente. Isso pode ser explicado pela dispersão ativa desses insetos por meio do voo, sendo 'atraídos' pela luz elétrica nos domicílios, como sugerido por Dias et al. 1989. Nesse ambiente os cômodos mais infestados foram os quartos e as salas, o que pode indicar uma busca de alimento pelo inseto, uma vez que esses cômodos são onde há maior permanência de pessoas repousando.

As notificações de *T. vitticeps* ocorreram durante todos os meses do ano, com menor frequência entre junho e agosto. Corroborando esse achado, Dias et al. (dados não publicados) observaram para o Vale do Jequitinhonha que o número de adultos capturados dessa espécie possui significativa correlação direta com a precipitação. Em Diamantina os meses mais secos correspondem justamente ao período com menor número de exemplares capturados. Nesse sentido, Souza et al. (2010), no estado de Minas Gerais, observaram igualmente que a distribuição da espécie tem relação com a precipitação anual e com a precipitação no trimestre mais úmido. Além disso, esses autores observaram a influência da umidade na eclosão dos ovos, sendo o sucesso de eclosão drasticamente reduzido em valores de umidade relativa inferiores a 50% e mais ainda em torno de 20%. Sendo assim, a dispersão nos meses mais úmidos pode garantir a colonização mais eficiente de novos sítios aumentando a chance de eclosão dos ovos e sobrevivência das ninfas.

Por outro lado, a captura majoritária de machos, alcançando uma proporção de 4,2:1, chama a atenção por se contrapor à ideia de dispersão unicamente para colonização de novos sítios pelas fêmeas. Essa observação é, também, diametralmente oposta ao que está descrito para outras áreas de ocorrência de *T. vitticeps* (DIAS et al., 1989; GONÇALVES et al., 1998; GONÇALVES et al., 2000; LEITE et al., 2010). Essa pode ser uma particularidade das populações do triatomíneo na região, motivada por características ambientais. Para *T. infestans*, Gürtler et al. (2014), observaram influência da relação entre peso/comprimento no voo de fêmeas, o que não alterou o voo dos machos. Além disso, esses autores constataram que em ecótopos com maior disponibilidade de alimento o número de fêmeas voadoras é menor. Considerando que os estudos sobre *T. vitticeps* estão concentrados em áreas de Mata Atlântica enquanto Diamantina está em uma região de transição com características mais marcantes de Cerrado, é possível que as relações tróficas nesses ambientes sejam distintas.

As ninfas corresponderam a apenas seis (1,7%) dos exemplares capturados, sinalizando a baixa capacidade de colonização domiciliar de *T. vitticeps*. Entretanto, o fato de cinco dessas ninfas terem sido encontradas ingurgitadas sob um colchão serve de alerta para um potencial de colonização intradomiciliar por populações de *T. vitticeps* e a necessária vigilância sobre essa espécie.

Além de ter sido a espécie mais frequentemente notificada no município de Diamantina, *T. vitticeps* foi também a mais dispersa nas localidades tanto rurais

quanto urbanas, estando em quase 20% do total. A altitude parece influenciar na distribuição desse triatomíneo, que esteve restrito à porção meridional do município, majoritariamente em áreas com altitude em torno de 1000 m, na margem esquerda do Rio Jequitinhonha. Essa região corresponde em grande parte ao platô de Diamantina, onde o relevo é deveras acidentado. Leite et al. (2010) observaram no estado do Espírito Santo que a invasão domiciliar por *T. vitticeps* está fortemente correlacionada às variações de inclinação do terreno o que é sugerido pela presença de abrigos de hospedeiros entre as anfractuosidades das rochas. Observa-se, em Diamantina, que várias espécies de vertebrados habitam esses ambientes, incluindo aves, pequenos roedores, marsupiais e lacertílios (LESSA et al., 2008).

Na área urbana da cidade de Diamantina foram capturados 28,6% do total de exemplares de *T. vitticeps*, tendo sido a principal espécie capturada nessa área. A análise de padrões pontuais demonstrou que a infestação ocorre de forma agregada, com distribuição principalmente em bairros de periferia, com maior densidade nos limites da área urbana e a Serra dos Cristais, ao norte da cidade, próximo aos campos rupestres, o que pode estar relacionado à presença de focos naturais de onde os adultos dispersam. Essa ideia é reforçada pela presença de vegetação mais abundante nas áreas em que esse triatomíneo foi capturado, em comparação com as áreas centrais da cidade e as áreas onde houve capturas de *P. megistus* e *T. arthurneivai*.

A proporção de *T. vitticeps* infectados na área urbana foi alta, o que aponta a presença de reservatórios infectados nas circunvizinhanças, envolvendo pelo menos duas linhagens de *T. cruzi* (TcI e TcIII), além de TcII na área rural (Tabela 14). Tal diversidade de linhagens pode estar associada à também diversidade de fontes alimentares disponíveis, visto que TcI tem sido comumente associada a gambás e animais arborícolas enquanto TcII é uma linhagem encontrada frequentemente entre vetores domiciliares, animais sinantrópicos e humanos (inclusive no Vale do Jequitinhonha – OLIVEIRA et al., 2015), e TcIII parece ligada a animais escavadores (YEO et al., 2005; ABOLIS et al., 2011; CARRASCO et al., 2012).

O *P. geniculatus* foi a terceira espécie mais frequentemente capturada no município de Diamantina. Esse triatomíneo é encontrado em todos os países da América do Sul (exceto Chile), além de Trinidad, Panamá, Costa Rica, Nicarágua e México (CARCAVALLO et al., 1999; LEITE et al., 2007).

No Brasil é uma espécie com registros nos biomas da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (GURGEL-GONÇALVES et al., 2012). Apesar do caráter silvestre, adultos invadem eventualmente os domicílios (SILVEIRA, 2000), havendo ainda registro de formação de colônias associadas à criação de suínos em ambiente peridomiciliar no norte do país (VALENTE et al., 1998). No município de Diamantina foram encontrados exclusivamente adultos, com maior frequência no intradomicílio. Contudo, o encontro de três exemplares em um canil chama atenção, pois os cães, além de servirem como fonte de alimento para triatomíneos (PIRES et al., 1999; FALAVIGNA-GUILHERME et al., 2001; FELICIANGELI et al., 2004; VILLELA et al., 2010; CANTILLO-BARRAZA et al., 2015), podem ser reservatórios do *T. cruzi* (GÜRTLER et al., 2007; RODRÍGUEZ-BONFANTE et al., 2011; PÉNEAU et al., 2014; MEJÍA-JARAMILLO et al., 2014; ALROY et al., 2015; SALDAÑA et al., 2015).

A alta positividade para tripanossomos observada nos *P. geniculatus* capturados pode ser explicada pela associação com diferentes mamíferos. Na natureza essa espécie já foi encontrada associada a tocas de tatus, sabidamente importantes reservatórios do flagelado, tanto no Brasil como na Argentina (CHAGAS, 1912; MARTINS et al., 1940; BARRETTO, 1979; ALVARADO-OTEGUI et al., 2012). Na Venezuela foi encontrada colonizando uma caverna calcária, com presença de exemplares infectados, onde possivelmente se alimentava em morcegos, tatus e roedores (MOLINARI et al., 2007), além de um evento de formação de colônia intradomiciliar associada à *Rattus rattus* (REYES-LUGO, RODRIGUEZ-ACOSTA, 2000). A espécie foi também incriminada como responsável por surto de transmissão oral do *T. cruzi* que acometeu 103 pessoas com uma morte em escola na área urbana de Caracas (NOYA et al., 2010; MUÑOZ-CALDERÓN et al., 2013). No Peru *P. geniculatus* pode ter sido responsável por caso agudo de doença de Chagas em uma criança de seis anos em uma área onde seria o único triatomíneo ora encontrado, e onde também se relataram incidentes de picadas desse inseto entre humanos (VEGA et al., 2006). Ainda à espécie foi atribuída a suspeita de ter transmitido o *T. cruzi* a um homem de 28 anos em um subúrbio de Paramaribo, capital do Suriname (OOSTBURG et al., 2003).

Em Diamantina a maior parte dos exemplares de *P. geniculatus* (65,8%) foi capturada na sede municipal, tendo sido encontrada naturalmente infectada pela DTU TcIII, linhagem associada ao ciclo silvestre no Brasil e países vizinhos. Essa

DTU foi também encontrada em *P. geniculatus* por Carrasco et al. (2012) em exemplares oriundos da Venezuela, entre os quais também encontraram TcI e TcIV. Nesse mesmo estudo TcIII fora a única DTU encontrada no tatu *Dasypus novencinctus* o que corrobora os achados de Llewellyn et al. (2009) em isolados de mamíferos de diversos países sulamericanos e Alvarado-Otegui et al. (2012) que observaram a linhagem em tatus no Chaco Argentino.

De maneira semelhante ao *T. vitticeps*, na área urbana da cidade de Diamantina *P. geniculatus* foi capturado em locais com índices de vegetação mais altos que as áreas sem relatos de triatomíneos ou mesmo nas áreas de ocorrência de *P. megistus*, *T. arthurneivai*. Contudo, a distribuição dessa espécie esteve mais concentrada em bairros periféricos ao limite sul sendo possível inferir que estas áreas estão próximas de focos naturais do triatomíneo.

A quarta espécie mais capturada foi *T. arthurneivai* que, além de ter sido observada em imóveis da área urbana de Diamantina, também o foi em 11 localidades rurais do município.

As informações sobre a ecologia dessa espécie são muito escassas visto que a maioria dos trabalhos publicados nesse sentido referem-se ao *T. wygodzinskyi*, espécie com a qual fora, por muitos anos, confundida (SANTOS et al., 2007; CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2011). A descrição do *T. arthurneivai* data de 1940, tendo sido os exemplares capturados no atual município de Santana do Riacho, na porção meridional da Cordilheira do Espinhaço. A paisagem local é dominada por campos rupestres que formam área de contiguidade no sentido norte até a região de Diamantina.

Em Diamantina, entre 2011 e 2014, a espécie ocorreu sempre em simpatria com *T. vitticeps*, inclusive na área urbana. Sua distribuição esteve associada positivamente à altitude e à variável *greenness* e negativamente ao *brightness* e ao *wetness*. Apesar dessa sobreposição de áreas de ocorrência, diferentemente do *T. vitticeps* o *T. arthurneivai* não apresentou positividade para tripanossomatídeos mesmo em localidades onde aquele estivera infectado, o que pode sinalizar distinção entre as fontes alimentares desses triatomíneos.

O *T. pseudomaculata* representa uma das espécies com importância epidemiológica secundária no Brasil. Sua ocorrência acompanha as áreas abertas dos biomas Cerrado e Caatinga, ocorrendo em troncos de árvores secas e ninhos de aves (FORATTINI, 1980; DIAS-LIMA et al., 2003; GURGEL-GONÇALVES et al.,

2012). Em Diamantina foi encontrado em regiões próximas a chapadas, na margem direita do rio Jequitinhonha.

Embora outros trabalhos apontem caráter peridomiciliar (MACHADO DE ASSIS et al., 2007; MACHADO DE ASSIS et al., 2009; CARVALHO-COSTA et al., 2010), os achados de Diamantina corresponderam exclusivamente a adultos encontrados no intradomicílio, com registro de um exemplar infectado. Alguns relatos apontam, ainda, a capacidade de colonização do intradomicílio, sendo que um desses estudos foi realizado no estado do Ceará e o outro no município de Berilo, na região do Vale do Jequitinhonha, a cerca de 100 km das localidades de ocorrência da espécie no município de Diamantina (FROTA et al., 1999; MACHADO DE ASSIS et al., 2007).

Geralmente apontada como espécie de regiões secas (MACHADO DE ASSIS et al., 2009), estranhamente em Diamantina os arredores das áreas de ocorrência deste triatomíneo apresentaram uns dos mais altos valores de NDVI quando comparados a outras espécies. Essa diferença pode ser devido ao uso de uma única cena no cálculo do índice de vegetação, mais ainda levando em conta que essa correspondeu ao final do período chuvoso. Nesse sentido, Carbajal de la Fuente et al. (2009) observaram relação entre a distribuição do inseto e a variação do NDVI. Visto que as áreas de ocorrência de *T. pseudomaculata* em Diamantina passam por períodos de intensa estiagem, é possível que nesses períodos o NDVI seja baixo.

O fato do *T. pseudomaculata* ter sido encontrado apenas em localidades rurais do norte do município possibilitou a distinção entre as áreas de ocorrência dessa espécie e *T. arthurneivai*, cujas identificações, segundo Dias (2010), poderiam ser confundidas dadas as semelhanças morfológicas e a coocorrência das espécies no município. Com efeito, ambas as espécies foram capturadas, porém foi possível perceber uma clara diferença latitudinal nas distribuições das mesmas: enquanto *T. arthurneivai* esteve restrito às porções meridionais do município, em altitudes mais elevadas e áreas mais frias, o *T. pseudomaculata* foi encontrado em áreas menos elevadas e com mais altos valores medianos de NDVI, *brightness* e *wetness* ao norte do município. Esse achado pode contribuir para a diagnose específica da espécie.

O *T. sordida*, embora seja a principal espécie em número de exemplares capturados pelas ações de controle vetorial no Brasil, no município de Diamantina esteve limitada a uma colônia peridomiciliar encontrada em galinheiro na localidade

de Pedras, no extremo oeste do município. Essa região corresponde à depressão do Rio São Francisco, onde predomina a vegetação de Cerrado, bioma no qual a espécie está amplamente dispersa (FORATTINI, 1980; GURGEL-GONÇALVES et al., 2012). Os habitats mais comuns desse triatomíneo são troncos e entrecascas de árvores, podendo ocorrer também em palmeiras, de onde se dispersam ativa ou passivamente (DIOTAIUTI et al., 1993; BAR, WISNIVESKY-COLLI, 2001; VIANNA, 2011).

O *P. diasi*, assim como o *T. pseudomaculata*, foi encontrado na porção norte do município, sendo que as duas espécies ocorreram em simpatria. Trata-se de uma espécie silvestre, sem importância na transmissão da infecção ao homem, tendo sido encontrada também na região centro-oeste de Minas Gerais (VILLELA et al., 2005) e em outros sete estados brasileiros nas regiões Centro-Oeste, Nordeste, Norte e Sudeste (SILVEIRA et al., 1984; GURGEL-GONÇALVES et al., 2012). Dias (2010) observou que a espécie que não havia sido reportada nos primeiros inquéritos entomológicos empreendidos na região do Vale do Jequitinhonha entre 1975 e 1983 foi posteriormente encontrada em 20 de 34 municípios pesquisados entre 2001 e 2008, sugerindo que atividades de eletrificação do meio rural e alterações ambientais focais possam favorecer a convergência de exemplares durante o voo para o interior das habitações.

Restrito a um exemplar durante o período de estudo, *R. neglectus* foi encontrado em uma notificação de macho em um galinheiro. Na natureza é encontrada com grande frequência em colônias estabelecidas em palmeiras de diversas espécies (BARRETTO, 1979; ABAD-FRANCH et al., 2015). Diotaiuti e Dias (1984) encontraram numerosas colônias desse triatomíneo em macaúbas (*Acrocomia aculeata*) na região metropolitana de Belo Horizonte, estando 15,9% dos exemplares infectados por tripanossomatídeos. Gurgel-Gonçalves e Cuba-Cuba (2007) detectaram colônias desse triatomíneo associadas a ninhos de pássaros da família Furnariidae em palmeiras da espécie *Mauritia flexuosa* em veredas no Distrito Federal. Rodrigues et al. (2014) encontraram a mesma espécie colonizando palmeiras em uma área central da cidade de Araçatuba, estado de São Paulo, onde os insetos dispersavam desses ecótopos para apartamentos próximos onde foram encontrados ingurgitados inclusive com sangue humano. Carvalho et al. (2014) também detectaram colônias da espécie em palmeiras da espécie exótica *Livistona australis* na praça principal da cidade de Monte Alto, São Paulo, e Vianna et al.

(2014) observaram a colonização em palmeiras imperiais (*Roystonea oleracea*) em área rural do estado de Goiás. Em Diamantina esse triatomíneo provavelmente deve também colonizar palmeiras.

5.2 Avaliação de conhecimentos e atitudes sobre triatomíneos e doença de Chagas entre moradores do município de Diamantina

A vigilância entomológica com participação comunitária representa, atualmente, a principal estratégia para controle da transmissão vetorial da doença de Chagas, sendo a população corresponsável pela detecção e notificação de triatomíneos, sobretudo em áreas cuja infestação domiciliar encontra-se a níveis subpatentes aos métodos de busca direta por agentes de saúde (SILVA et al., 1999; VILLELA et al., 2005). Entretanto, com os níveis de controle vetorial alcançados no Brasil a falsa ideia da erradicação da doença de Chagas tem emergido, o que, somado ao aparecimento de outros agravos com maior visibilidade, como a dengue, redundou no afrouxamento ou mesmo abandono das atividades de controle triatomínico em muitos municípios da área endêmica (SCHOFIELD et al., 2006; ABAD-FRANCH et al., 2013).

Os resultados ora apresentados apontam uma capacidade de reconhecimento dos triatomíneos semelhantes entre as localidades estudadas em Diamantina, independente do histórico de infestação e da faixa etária dos entrevistados. Em outros estudos, Silveira et al. (2009) e Villela et al. (2009) observaram, em Mambaí e Buritinópolis (Goiás), e Bambuí (Minas Gerais), respectivamente, que as pessoas mais jovens não conhecem os vetores como os adultos. Essa discordância com os dados da literatura pode estar vinculada ao fato de os autores terem trabalhado em faixas etárias distintas, e a inclusão de adultos jovens, nesse estudo, pode ter levado a um resultado positivo no reconhecimento do vetor em Diamantina. Outra possibilidade a ser considerada é a diferença de infestação nessas áreas, visto que nas áreas estudadas por esses autores, *T. infestans* foi o principal vetor e, após as atividades de controle e também devido a alterações ambientais, a infestação intradomiciliar por outras espécies é quase nula, o que pode fazer com que os mais jovens não reconheçam o inseto. Em Diamantina, por outro lado, o encontro recorrente de triatomíneos nas casas (principalmente *T. vitticeps*) pode favorecer a

manutenção da habilidade dos moradores em reconhecê-los, inclusive entre os mais jovens.

No presente estudo os moradores da zona rural tiveram mais acertos na identificação dos insetos, o que pode estar relacionado ao caráter predominantemente rural da doença e, conseqüentemente, à maior difusão e abordagem no contexto de educação em saúde entre moradores dessas áreas. Contudo, a infestação por triatomíneos em áreas urbanas, como observado em Diamantina, ressalta a importância de tratar do assunto também nesse contexto.

A capacidade de reconhecimento dos triatomíneos não esteve associada com a infestação das localidades, porém foi possível observar que as condutas adotadas pelos moradores são diferentes, sendo que os residentes das áreas de maior infestação foram mais propensos a encaminharem os insetos aos serviços de referência, além de estarem mais bem informados sobre a existência do serviço de controle no município de estudo. Isso pode decorrer do maior volume de notificações dos insetos pelos moradores, o que conseqüentemente demanda a presença dos agentes de saúde para o atendimento, aumentando a divulgação local do serviço. Nesse sentido, Buttenheim et al. (2014) observaram que a participação das pessoas em uma campanha de controle de triatomíneos no Peru estava espacialmente agregada e diretamente relacionada à participação dos vizinhos, sugerindo esse efeito de mobilização local.

A constatação de que muitos moradores das localidades consideradas sem infestação e de baixa infestação já terem visto os triatomíneos dentro da sua própria casa ou de outrem, suscita reflexão sobre a necessidade de maior divulgação acerca do correto encaminhamento dos insetos ao serviço, uma vez que as localidades sem presença relatada desses podem, na verdade, estar em condição de subnotificação.

Assim como observado por Villela et al. (2009) na região centro-oeste do estado de Minas Gerais, o principal triatomíneo identificado pela população foi o *P. megistus* adulto, o que, de acordo com esses autores está relacionado à importância epidemiológica da espécie na região e à ênfase da imagem do mesmo nos materiais de divulgação e educação em saúde. À semelhança desse estudo, *P. megistus* é a principal espécie capturada no município de Diamantina desde as fases iniciais do PCDC (DIAS, 2010). Essa observação é reforçada em trabalhos que demonstram que a maior frequência de detecção pelos moradores corresponde a exemplares

adultos enquanto as ninfas são principalmente encontradas durante os trabalhos de busca pelos agentes de combate a endemias (SILVA et al., 1999; VILLELA et al., 2005).

Grande parte dos entrevistados respondeu positivamente tanto para conhecer alguém que já foi picado pelo vetor, como para alguém que tenha a doença de Chagas, o que pode se explicar pelo fato do Vale do Jequitinhonha representar uma área com alta prevalência da infecção pelo *T. cruzi*, com grande contingente de chagásicos crônicos (PEREIRA, COURA, 1986; MONTOYA, 1998). Nessa região, assim como no Brasil de modo geral, a cardiopatia chagásica é a forma clínica sintomática mais comum na fase crônica da doença de Chagas (PEREIRA, COURA, 1986; MONTOYA, 1998; ANDRADE et al., 2011). A importância desta forma clínica no contexto regional pode ter sido responsável pela maior proporção de pessoas ter respondido que o coração é o órgão afetado pela doença, o que também foi observado em outras áreas do Brasil (SILVEIRA et al., 2009; VILLELA et al., 2009; MAEDA, GURGEL-GONÇALVES, 2012).

No estudo desenvolvido por Villela et al. (2009), a limpeza geral da casa foi mencionada como a principal forma para evitar a presença dos triatomíneos, seguida pela utilização de inseticida. No presente estudo, também foi mencionada principalmente a limpeza geral da casa, porém a utilização de inseticidas foi pouco mencionada, ficando em quarto lugar entre as respostas. Tal fato pode estar relacionado à diferença entre as espécies de triatomíneos encontradas invadindo domicílios nas duas regiões. Enquanto no centro-oeste de Minas Gerais predominam as capturas de *P. megistus* (94% dos insetos entre 2000 e 2003) (VILLELA et al., 2005), espécie com elevado potencial de colonização, no município de Diamantina, a maior parte das notificações corresponderam a outras espécies, principalmente *T. vitticeps*, que têm menor frequência de colonização domiciliar. Sendo assim, a borrifação de inseticidas nem sempre é realizada pelos agentes de saúde quando os moradores notificam um inseto, o que pode gerar um entendimento de menor importância desta ação.

A principal sugestão apresentada pelos entrevistados para melhorias no serviço de controle da doença no município foi a de aumentar o número de visitas pelos agentes de combate a endemias, o que pode estar relacionado tanto a uma herança do caráter assistencialista e verticalizado das ações nas fases iniciais do PCDCh, como também ao enfraquecimento das atividades na esfera municipal, já

que muitas localidades, que não geram a demanda, podem ficar longos períodos sem receber qualquer ação direcionada à doença de Chagas. Além disso, essas sugestões concentram-se principalmente em ações do serviço para os moradores, sendo possível perceber que a população muitas vezes não se reconhece como coparticipante no processo de vigilância entomológica da doença de Chagas.

Nessa perspectiva, as diretrizes para vigilância entomológica no estado de Minas Gerais preconizam a busca ativa de triatomíneos em todas as residências de um percentual de localidades por município de acordo com a região do estado, porém, a obrigatoriedade dessas ações só foi estabelecida no segundo semestre de 2014, quando o controle desses vetores passou a integrar o elenco de ações prioritárias da vigilância ambiental (FERRAZ et al., 2014). O município de Diamantina passou a desenvolver essas atividades, previstas para 20% do total de localidades. A adoção desse modelo integrado entre o serviço e os moradores poderá futuramente ajudar a preencher as lacunas identificadas pelos entrevistados, favorecendo o envolvimento da população em ações coletivas para a vigilância entomológica da doença de Chagas, inclusive em áreas silenciosas para notificações. Reflexo disso já foi observado no município quando da detecção de ninfas de *P. megistus* durante uma pesquisa entomológica na localidade de Tombador, que não notificara nenhum inseto durante o período do presente estudo.

5.3 Análises morfométricas e moleculares do complexo '*Triatoma maculata*'

As análises morfométricas têm sido amplamente utilizadas com êxito em estudos com triatomíneos. No estudo das espécies do complexo '*maculata*' e das morfologicamente semelhantes, *T. arthurneivai* e *T. wygodzinskyi*, a morfometria de asas foi apta a discriminar as espécies. No caso do tamanho centroide, *T. arthurneivai* foi a maior espécie, seguida por *T. wygodzinskyi*, *T. maculata* e *T. pseudomaculata*, essas últimas com exemplares que, além de apresentarem menor tamanho, não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si. Essas observações são consoantes com as diferenças de tamanho entre as espécies apresentadas por Lent e Wygodzinsky (1979), que apontam que o *T. arthurneivai* possui comprimento de 22 mm para os machos e entre 19,5 e 21 mm para as fêmeas, *T. wygodzinskyi* tem machos com comprimento entre 19 mm e 19,5mm e fêmeas entre 19 mm e 20 mm. Já o *T. pseudomaculata* tem machos entre 17 e 19

mm de comprimento e fêmeas maiores, com 19 a 20 mm. O *T. maculata*, por sua vez, apresenta machos com 16,5 a 21,5 mm de comprimento e as fêmeas apresentam entre 17,5 e 22 mm.

Quando consideradas as variáveis de conformação, a análise fatorial discriminou todas as quatro espécies estudadas. Santos et al. (2007), por meio de morfometria de cabeça e tórax também observaram essa distinção entre estas espécies. Carbajal de La Fuente et al. (2011) igualmente observaram a distinção entre *T. arthurneivai* e *T. wygodzinskyi* por meio de morfometria de asas. No presente estudo a árvore UPGMA das distâncias de Mahalanobis agrupou *T. maculata* e *T. pseudomaculata* em um grupo mais similar a *T. wygodzinskyi* enquanto *T. arthurneivai* ficou separado das demais espécies.

A análise molecular foi igualmente efetiva na discriminação das espécies, contudo a topologia das árvores resultantes diferiu da encontrada na morfometria, já que nas geradas pela análise molecular foi formado um grupo composto por *T. wygodzinskyi* e *T. pseudomaculata*, com *T. maculata* como espécie irmã do grupo e *T. arthurneivai* isolado desses. O agrupamento de *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi* como espécies irmãs na análise molecular do CytB corrobora os achados de Carbajal de La Fuente et al. (2008) utilizando padrão de sensilas antenais. Esses autores observaram que essas duas espécies guardam características mais semelhantes entre si do que com *T. maculata*. Os resultados aqui apresentados são coerentes também com Hypsa et al. (2002), os quais constataram, por análises moleculares de fragmentos de genes ribossomais, esse agrupamento de *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi*, ora erroneamente identificado como *T. arthurneivai* do estado de São Paulo (SANTOS et al., 2007; CARBAJAL DE LA FUENTE et al., 2011). Hypsa et al. (2002) observaram ainda o agrupamento de *T. maculata* longe das outras duas espécies e possivelmente mais próxima de *T. brasiliensis*. Essas observações foram, mais recentemente, endossadas por Justi et al. (2014) que, empregando marcadores mitocondriais e nucleares obtiveram árvores filogenéticas nas quais *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi* figuraram como espécies irmãs e mais próximas de espécies do complexo 'matogrossensis' (*Triatoma costalimai*, *Triatoma williami* e *Triatoma guazu*), enquanto *T. maculata* apareceu como próxima de espécies do complexo 'brasiliensis' (*Triatoma brasiliensis*, *Triatoma juazeirensis*, *Triatoma melanica*, *Triatoma sherlocki*).

Os resultados ora apresentados, embora limitados às espécies morfológicamente semelhantes ao *T. maculata*, corroboram, em parte, os achados da literatura, com a adição de *T. arthurneivai*, o que até então não aparecera em nenhum dos estudos citados. Logicamente as controvérsias a respeito do complexo '*maculata*' devem ser mais profundamente analisadas e, com a disponibilidade de dados moleculares de mais esta espécie, os resultados poderão ser mais elucidativos.

- O município de Diamantina apresentou alta riqueza de espécies de triatomíneos, demonstrada por oito espécies encontradas no ambiente domiciliar entre 2011 e 2014, sendo elas *P. diasi*, *P. geniculatus*, *P. megistus*, *R. neglectus*, *T. arthurneivai*, *T. pseudomaculata*, *T. sordida* e *T. vitticeps*;
- Detectou-se infestação da área urbana da cidade de Diamantina por *P. megistus*, *T. arthurneivai*, *P. geniculatus* e *T. vitticeps* com predomínio das duas últimas com alta taxa de infecção natural por *T. cruzi*;
- A distribuição espacial de imóveis positivos para triatomíneos na cidade de Diamantina apresentou padrão agregado para *P. geniculatus*, *T. arthurneivai* e *T. vitticeps*, sendo as áreas de maior ocorrência localizadas em bairros periféricos;
- Nas áreas rurais, as espécies se mostraram dispersas em diferentes regiões do município: *P. geniculatus* e *P. megistus* ocorreram em toda a extensão do município, *P. diasi* e *T. pseudomaculata* ocorreram na parte norte, *T. arthurneivai* e *T. vitticeps* ocorreram na porção sul e *T. sordida* no limite oeste do município;
- Em função da ocorrência maior dispersão de *P. megistus*, *T. arthurneivai* e *T. vitticeps* foi tentada a construção de modelos lineares generalizados empregando variáveis derivadas de transformação *Tasselled Cap*. Entretanto, essa metodologia não apresentou alto poder preditivo para descrever a distribuição das referidas espécies, embora tenha revelado associações entre as variáveis;
- A ocorrência de *P. megistus* esteve positivamente associada à altitude e ao *greenness* e negativamente ao *wetness*;
- A ocorrência de *T. arthurneivai* esteve positivamente associada à altitude e ao *greenness* e negativamente ao *brightness* e ao *wetness*;
- A ocorrência de *T. vitticeps* esteve positivamente associada à altitude;
- Seis espécies foram encontradas no intradomicílio: *P. diasi*, *P. geniculatus*, *T. arthurneivai*, *T. pseudomaculata*, *P. megistus* e *T. vitticeps*, sendo que as duas últimas apresentaram, além de adultos, ninfas neste ambiente;
- Os cômodos mais frequentemente infestados no intradomicílio foram o quarto de dormir e a sala;

- No peridomicílio foram encontrados exemplares de *P. geniculatus*, *R. neglectus*, *T. arthurneivai*, *T. sordida*, *P. megistus* e *T. vitticeps*, sendo que as três últimas apresentaram ninfas neste ambiente;
- A infestação em anexos peridomiciliares ocorreu com maior frequência no galinheiro, sendo que a presença de ninfas foi observada também no engenho e no paiol;
- Uma única captura em ambiente silvestre não viabilizou descrição precisa sobre a colonização de triatomíneos em ecótopos silvestres;
- Foram detectadas três DTU do *T. cruzi* circulantes entre triatomíneos (TcI, TcII e TcIII), tendo sido o *T. vitticeps* infectado por todas e o *P. geniculatus* somente infectado por TcIII;
- Entre roedores e marsupiais capturados na área urbana e rural de Diamantina não foi detectada infecção natural por *T. cruzi*;
- A população de localidades urbanas e rurais de Diamantina reconhece triatomíneos que estão presentes no município, todavia, em localidades com baixo triatomismo domiciliar os moradores demonstraram não conhecer as condutas adequadas de notificação dos insetos aos serviços de controle locais, fato que ressalta a importância da intensificação das ações correspondentes de educação em saúde no município;
- As análises moleculares e morfométricas de espécies morfologicamente semelhantes ao *T. maculata* distinguiram nitidamente as espécies, sendo que a análise filogenética de fragmento do gene do *cytB* posicionou *T. pseudomaculata* e *T. wygodzinskyi* como espécies irmãs entre si e mais próximas de *T. maculata* do que de *T. arthurneivai*.

No contexto atual de controle da transmissão vetorial do *T. cruzi* no Brasil, em que as atividades de vigilância entomológica são realizadas na esfera municipal, o presente estudo trouxe informações que contribuem para o aprimoramento das respectivas ações no município de Diamantina, Minas Gerais.

Do ponto de vista ecoepidemiológico, algumas questões recorrentes foram reforçadas, como a importância do *P. megistus* como principal vetor domiciliar no município. Além disso, outras questões emergiram e merecem aprofundamento, como a infestação domiciliar por espécies de triatomíneos de características ecológicas pouco conhecidas, e a invasão de vetores em ambiente urbano, ainda pouco estudado.

Futuras investigações poderão ser levadas a cabo para analisar melhor algumas questões aqui levantadas. A título de exemplo cabe mencionar a identificação das fontes alimentares dos triatomíneos, a ampliação das amostragens de animais silvestres e a inclusão de animais domésticos como cães e gatos na avaliação da infecção por *T. cruzi*, objetivando entender melhor as inter-relações entre os ciclos silvestre e domiciliar do parasito. Em particular, seria ideal, também, trabalhar com a infecção humana na área estudada, em termos de prevalência e caracterização de populações do *T. cruzi* eventualmente encontradas, como complemento ao presente trabalho.

Na perspectiva da participação comunitária na vigilância entomológica sobressaiu o fato de que a detecção dos insetos ocorre principalmente por notificação. O fortalecimento da vigilância por meio da promoção da educação em saúde, estruturação do serviço e resposta constante às notificações deve garantir a continuidade do processo e dos níveis de controle alcançados.

Finalmente, o trabalho abre perspectivas para estudos em uma região com histórico de transmissão vetorial ativa da infecção chagásica, porém com poucos estudos sobre a ecoepidemiologia da mesma. Nesse sentido, a integração entre os serviços de saúde locais e as instituições de extensão, ensino e pesquisa como a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri e o Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ se apresenta como importante catalisador para realização de tais investigações, como demonstrado no presente estudo.

- ABAD-FRANCH, F.; MONTEIRO F. A. Biogeography and evolution of Amazonian triatomines (Heteroptera: Reduviidae): implications for Chagas disease surveillance in humid forest ecoregions. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, p. 57-69, 2007. Supplement I.
- ABAD-FRANCH, F. et al. Certifying the interruption of Chagas disease transmission by native vectors: *cui bono*? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 2, p. 251-254, 2013.
- ABAD-FRANCH, F. et al. On palms, bugs, and Chagas disease in the Americas. **Acta Tropica**, Basel, v. 151, p. 126-141, 2015.
- ABOLIS, N. G. et al. *Trypanosoma cruzi* I-III in southern Brazil causing individual and mixed infections in humans, sylvatic reservoirs and triatomines. **Acta Tropica**, Basel, v. 120, p. 167-172, 2011.
- ALROY, K. A. et al. Prevalence and transmission of *Trypanosoma cruzi* in people of rural communities of the High Jungle of Northern Peru. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 9, n. 5, p. e000379, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003910>>.
- ALVARADO-OTEGUI, J. A. et al. The sylvatic transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* in a rural area in the humid Chaco of Argentina. **Acta Tropica**, Basel, v. 124, p. 79-86, 2012.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Stuttgart, v. 22, n. 3, p. 711-728, 2013.
- ALVES, U. P.; NODA, J. Os transmissores da doença de Chagas da região de Sorocaba, estado de São Paulo, Brasil. **Arquivos de Higiene e Saúde Pública**, São Paulo, v. 29, n. 101, p. 141-157, 1964.
- ANONYMOUS. Recommendations from a Satellite Meeting. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, p. 429-432, 1999. Supplement I.
- ANDRADE, J. P. et al. I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. Resumo Executivo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 434-442, 2011.
- ANDRADE, A. R. O. et al. Spatial distribution and environmental factors associated to phlebotomine fauna in a border area of transmission of visceral leishmaniasis in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Parasites & Vectors**, London, v. 7, n. e260, 2014. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-260>>.
- APT, W. et al. Congenital infection by *Trypanosoma cruzi* in an endemic area of Chile: a multidisciplinary study. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 107, n. 2, p. 98-104, 2013.
- ARAÚJO, R. F. et al. Description of a newly discovered *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) foci in Ibipeba, state of Bahia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 47, n. 4, p. 513-516, 2014.
- AUFDERHEIDE, A. C. et al. A 9,000-year record of Chagas disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 101, n. 7, p. 2034-2039, 2004.

- BACIGALUPO, A. et al. Sylvatic foci of the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Chile: description of a new focus and challenges for control programs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 5, p. 633-641, 2010.
- BAIG, M. H. A. et al. Derivation of a Tasselled cap transformation based on Landsat 8 at-satellite reflectance. **Remote Sensing Letters**, [s. l.], v. 5, n. 5, p. 423-431, 2014.
- BARBOSA, S. E. et al. Biogeography of Brazilian populations of *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) based on molecular marker and paleo-vegetational data. **Acta Tropica**, Basel, v. 99, p. 144-154, 2006.
- BARBOSA, S. E. et al. Experimental evidence for a demographic cline in *Panstrongylus megistus* populations. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 6, p. 773-775, 2001.
- BARRETTO MP. Epidemiologia. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. **Trypanosoma cruzi e doença de Chagas**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 1979, p. 89-151.
- BATISTA, T. A.; GURGEL-GONÇALVES, R. Ecological niche modelling and differentiation between *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 and *Rhodnius nasutus* Stal, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 8, p. 1165-1170, 2009.
- BELISÁRIO, C. J. **Caracterização morfológica e molecular de híbridos do cruzamento entre *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) e *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Hemiptera: Reduviidae)**. [Dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 2006, 82 p.
- BELISÁRIO, C. J. et al. Biological aspects of crosses between *Triatoma maculata* (Erichson, 1848) and *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964 (Hemiptera:Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 4, p. 517-521, 2007.
- BELISÁRIO, et al. Profile of the *Trypanosoma cruzi* vector infestation in Jaboticatubas, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 6, p. 779-782, 2013.
- BENÍTEZ, J. A. et al. Urban outbreak of acute orally acquired Chagas disease in Táchira, Venezuela. **The Journal of Infection in Developing Countries**, Sassari, v. 7, n. 8, p. 638-641, 2013.
- BRANDÃO, H. R. et al. Descrição de focos residuais de *Triatoma infestans* (Klug, 1834) no município de Novo Horizonte, Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, Salvador, v. 39, p. 91-104, 2015. Suplemento 1.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. Portaria n. 1.399, de 15 de dezembro de 1999. Regulamenta a NOB SUS 01/96 no que se refere às competências da União, estados, municípios e Distrito Federal, na área de epidemiologia e controle de doenças, define a sistemática de financiamento e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 17 dez. 1999. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/web%20Funasa/Legis/pdfs/portarias_m/pm_1399_1999.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2010.

BRIONES, M. R. S. et al. The evolution of two *Trypanosoma cruzi* subgroups inferred from rRNA genes can be correlated with the interchange of American mammalian faunas in the Cenozoic and has implications to pathogenicity and host specificity. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 104, p. 219-232, 1999.

BRISSE, S. et al. Identification of six *Trypanosoma cruzi* lineages by sequence-characterised amplified region markers. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 111, p. 95-105, 2000.

BRISSE, S. et al. Characterisation of large and small subunit rRNA and mini-exon genes further supports the distinction of six *Trypanosoma cruzi* lineages. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 31, n. 11, p. 1218-1226, 2001.

BRUM-SOARES, L. M. et al. Morbidade da doença de Chagas em pacientes autóctones da microrregião do Rio Negro, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 2, p. 170-177, 2010.

BURGOS, J. M. et al. Direct molecular profiling of minicircle signatures and lineages of *Trypanosoma cruzi* bloodstream populations causing congenital Chagas disease. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 37, n. 12, p.1319-1327, 2007.

BUTTENHEIM, A. M. et al. Is participation contagious? Evidence from a household vector control campaign in urban Peru. **Journal of Epidemiology & Community Health**, London, v. 68, p. 103-109, 2014.

CABRERA, R., et al. New focus of active transmission of Chagas disease in indigenous populations in the Peruvian Amazon basin. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 3, p. 367-372, 2013.

CÂMARA, G. et al. SPRING: Integrating remote sensing and GIS object-oriented data modelling. **Computers & Graphics**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 395-403, 1996.

CAMARGO, M. E. et al. Inquérito sorológico da prevalência de 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.

CANÇADO, J. R. Long term evaluation of etiological treatment of Chagas disease with benznidazole. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 29-37, 2002.

CANTILLO-BARRAZA, O. et al. Eco-epidemiological study of an endemic Chagas disease region in the Colombia reveals the importance of *Triatoma maculata* (Hemiptera: Reduviidae), dogs and *Didelphis marsupialis* in *Trypanosoma cruzi* maintenance. **Parasites & Vectors**, London, v. 8, n. e482, 2015. Disponível em: <

CARBAJAL DE LA FUENTE, A. L. et al. Inferences about antennal phenotype: the “*Triatoma maculata*” (Hemiptera: Triatominae) is valid? **Acta Tropica**, Basel, v. 106, p.16-21, 2008.

CARBAJAL DE LA FUENTE, A. L. et al. The association between the geographic distribution of *Triatoma pseudomaculata* and *Triatoma wygodzinskyi* (Hemiptera: Reduviidae) with environmental variables recorded by remote sensors. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 9, p. 54-61, 2009.

CARBAJAL DE LA FUENTE, A. L. et al. Comparative biology of two sister species of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 1, p. 15-18, 2010.

CARBAJAL DE LA FUENTE, A. L. et al. Misidentification of two Brazilian triatomines, *Triatoma arthurneivai* and *Triatoma wygodzinskyi*, revealed by geometric morphometrics. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 178-183, 2011.

CARCAVALLO, R. U. et al. Geographical distribution and alti-latitude dispersion. In: CARCAVALLO, R. U. et al. **Atlas dos vetores da doença de Chagas nas Américas**. v. III. Rio de Janeiro: FIOCRUZ. 1999. p. 747-792.

CARCAVALLO, R. U. et al. Phylogeny of the Triatominae (Hemiptera: Reduviidae). Proposals for taxonomic arrangements. **Entomología y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 1-99, 2000. Suplemento I.

CARRASCO, H. J. et al. Geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Venezuela. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 6, n. 6, p. e1707, 2012. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001707>>.

CARVALHO, D. B. et al. A novel association between *Rhodnius neglectus* and the *Livistona australis* palm tree in an urban center foreshadowing the risk of Chagas disease transmission by vectorial invasions in Monte Alto City, São Paulo, Brazil. **Acta Tropica**, Basel, v. 130, p. 35-38, 2014.

CARVALHO-COSTA, F. A. et al. Sylvatic and peridomestic populations of *Triatoma pseudomaculata* are not significantly structured by habitat, as revealed by two genetic markers. **Journal of Vector Ecology**, Santa Ana, v. 35, n. 2, p. 295-300, 2010.

CEBALLOS, L. A. et al. First finding of melanic sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera:Reduviidae) colonies in the Argentine Chaco. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 46, n. 5, p. 1195-1202, 2009.

CHAGAS, C. Nova tripanozomiase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 2, p. 159-228, 1909.

CHAGAS, C. Sobre um *Trypanosoma* do tatú, *Tatusia novencincta*, transmitido pelo *Triatoma geniculata* Latr (1811). Possibilidade de ser o tatú um depósito do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior. Nota prévia. **Brazil Médico**, Rio de Janeiro, v. 26, p. 305-336, 1912.

CHAVEZ-JUNIOR, P. S. An improved Dark-Object Subtraction technique for atmospheric scattering correction of multispectral data. **Remote Sensing of Environment**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 459-179, 1988.

COMINETTI, M. C. et al. Geographical distribution of *Trypanosoma cruzi* in triatomine vectors in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 47, n. 6, p. 747-755, 2014.

CORRÊA, R. R. et al. Presença do *Triatoma arthurneivai* em Sorocaba (Hemiptera: Reduviidae). **Revista Paulista de Medicina**, São Paulo, v. 60, p. 267, 1962.

- CORRÊA, R. R. et al. Nota sobre o *Triatoma arthurneivai*. Seu criadouro extradomiciliar (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 217-232, 1965.
- CORTÉS, L. A.; SUÁREZ, H. A. Triatomíneos (Reduviidae: Triatominae) em um foco de enfermidade de Chagas em Talaigua Nuevo (Bolívar, Colombia). **Biomedica**, Bogotá. v. 25, p. 568-574, 2005.
- COSTA, F. N., et al. Eriocaulaceae na Cadeia do Espinhaço: riqueza, endemismo e ameaças. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 4, n. 1-2, p. 89-97, 2008.
- COSTA, J. et al. Revalidation and redescription of *Triatoma brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956 and an identification key for *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 6, p. 785-789, 2013.
- COSTA, J. et al. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. **Parasites & Vectors**, London, v. 7, p. e238, 2014. Disponível em: <
- COURA, J. R. Chagas disease: what is known and what is needed – a background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102. p. 113-122, 2007. Supplement I.
- COURA, J. R. Present situations and new strategies for Chagas disease chemotherapy – a proposal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 4, p. 549-554, 2009.
- COURA, J. R. Chagas disease: control, elimination and eradication. Is it possible? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 8, p. 962-967, 2013a.
- COURA, J. R. The discovery of Chagas disease (1908-1909): great successes and certain misunderstandings and challenges. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 4, p. 389-390, 2013b.
- COURA, J. R. et al. Chagas disease in the Brazilian Amazon. IV. A new cross-sectional study. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 159-165, 2002a.
- COURA, J. R. et al. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 18, n. 4, p. 171-176, 2002b.
- COURA, J. R.; JUNQUEIRA, A. C. V. Risks of endemicity, morbidity and perspectives regarding the control of Chagas disease in the Amazon Region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 2, p. 145-154, 2012.
- CRIST, E. P.; CICONE, R. C. A physically-based transformation of Thematic Mapper data – the TM Tasselled Cap. **IEEE Transactions on Geosciences and Remote Sensing**, [s. l.], v. 22, n. 3, p. 256-263, 1984.
- D'ÁVILA, D. A. et al. Probing population dynamics of *Trypanosoma cruzi* during progression of the chronic phase in Chagas disease. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 47, n. 6, p. 1718-1725, 2009.

DIAMANTINA. **Plano diretor do município de Diamantina/MG – Volume I.**

Technum Consultoria: Brasília, 2009, 114 p. Disponível em:

http://www.camaradiamantina.com.br/Plano%20Diretor/DI_rel%C3%B3rio%20t%C3%A9cnico_volume%20I_09-08-11.pdf . Acessado em 19 de Setembro de 2014.

DIAS, E. Variações mensais da incidência das formas evolutivas do *Triatoma infestans* e do *Panstrongylus megistus* no município de Bambuí, Estado de Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 2-3-4, p. 457-462, 1955.

DIAS, E. Profilaxia da doença de Chagas. **O Hospital**, [s. l.], v. 51, n. 3, p. 53-67, 1957.

DIAS, J. C. P. Mecanismos de transmissão. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. **Trypanosoma cruzi e doença de Chagas**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1979, p. 89-151.

DIAS, J. C. P. Vigilância epidemiológica em doença de Chagas. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 43-59, 2000. Suplemento 2.

DIAS, J. C. P. Doença de Chagas, ambiente, participação e Estado. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, p. 165-169, 2001. Suplemento.

DIAS, J. C. P. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 81-87, 2006.

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

DIAS, J. C. P. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and the interruption of transfusional Chagas disease. Historical aspects, present situation, and perspectives. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, p. 11-18, 2007b. Supplement I.

DIAS, J. C. P. Os primórdios do controle da doença de Chagas (Em homenagem a Emmanuel Dias, pioneiro do controle, no centenário de seu nascimento). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, p. 12-18, 2011. Supplement II.

DIAS, J. C. P. Human Chagas disease and migration in the context of globalization: some particular aspects. **Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], Article ID 789758, 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1155/2013/789758> >.

DIAS, J. V. L. **Vigilância epidemiológica da doença de Chagas em municípios pertencentes à Gerência Regional de Saúde de Diamantina**. [Dissertação de mestrado]. Belo Horizonte: Instituto René Rachou, 2010, 117p.

DIAS, E.; PELLEGRINO, J. Alguns ensaios com o Gamexanne no combate aos transmissores da doença de Chagas. **Brazil Médico**, Rio de Janeiro, v. 62, p. 185-190, 1948.

DIAS, E.; DIAS, J. C. P. Variações mensais da incidência das formas evolutivas do *Triatoma infestans* e do *Panstrongylus megistus* no município de Bambuí, Estado de Minas Gerais (II.^a nota: 1951 a 1964). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 2, p. 209-226, 1968.

DIAS, J. C. P. et al. Doença de Chagas em Minas Gerais: situação atual e perspectivas. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 37, p. 7-28, 1985.

DIAS, J. C. P. et al. Fonte alimentar e potencial vetorial de *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) com relação à doença de Chagas humana no estado do Espírito Santo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, p. 165-173, 1989. Suplemento IV.

DIAS, J. V. L. et al. Capture of *Triatoma arthurneivai* (Hemiptera: Reduviidae) using a new luminous trap in Southeast Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, n. 6, p. 774-776, 2011.

DIAS-LIMA, A. G., et al. Wild habitat and related fauna of *Panstrongylus lutzi* (Reduviidae, Triatominae). **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 40, n. 6, p. 989-990, 2003.

DIOTAIUTI, L.; DIAS, J. C. P. Ocorrência e biologia do *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 em macaubeiras da periferia de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 79, n. 3, p. 293-301, 1984.

DIOTAIUTI, L. et al. 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, 1993.

DIOTAIUTI, L. et al. (Org.) **Triatomíneos**. Belo Horizonte: CPqRR, Fiocruz, 2008. CD-ROM.

DIXON, P. M. Ripley's K-function. In: EL-SHAARAWI, A. H., PIEGORSCH, W. W. **Encyclopedia of Environmetrics**, Chichester: John Wiley & Sons, v. 3, p. 1796-1803, 2002. Disponível em: <http://www.biostat.umn.edu/~dipankar/pubh8472/RipleysK.pdf>

DONALISIO, M. R. et al. Microspatial distributional patterns of vectors of cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Northeastern Brazil. **Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], Article ID 642910, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/642910>.

DRUCK, S. et al (Org.). **Análise espacial de dados geográficos**. Planaltina, DF: EMBRAPA Cerrados, 2004. 209 p.

EITEN, G. Natural Brazilian vegetation types and their causes. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 64, n. 1, p. 35-65, 1992.

ELITH, J; LEATHWICK, J. R. Species distribution models: ecological explanation and prediction across space and time. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, Palo Alto, v. 40, p. 677-697, 2009.

FALAVIGNA-GUILHERME, A. L. et al. Secondary triatomine species in dwellings and other nearby structures in municipalities under epidemiological surveillance in the state of Paraná, Brazil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 9, n. 6, p. 385-392, 2001.

FELICIANGELI, M. D. et al. Mixed domestic infestation by *Rhodnius prolixus* Stål, 1859 and *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811, vector incrimination, and seroprevalence for *Trypanosoma cruzi* among inhabitants in El Guamito, Lara State,

Venezuela. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 71, n. 4, p. 501-505, 2004.

FERRAZ, M. L. et al. Vigilância ambiental. In: LAGUARDIA F. C. et al. **Instrutivo para execução e avaliação das ações de vigilância em saúde: projeto fortalecimento da vigilância em saúde em Minas Gerais (Resolução SES nº4.238/2014)**. Belo Horizonte: Autêntica, 2014. p. 111-154.

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

FITZ, P. R. **Geoprocessamento sem complicação**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008. 160 p.

FLORENZANO, T. G. **Os satélites e suas aplicações**. São José dos Campos: SindCT, 2008. 48 p.

FERNANDES, A. J. et al. The threat of reintroduction of natural transmission of Chagas disease in Bambuí, Minas Gerais state, Brazil, due to *Panstrongylus megistus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 2, p. 285-289, 1992.

FORATTINI, O. P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 14, n. 3, p. 265-299, 1980.

FORATTINI, O. P. et al. Dados sobre a biologia do *Triatoma arthurneivai* no sudeste do estado de São Paulo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 2, n. 2, p. 186-193, 1968.

FORATTINI, O. P. et al. Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana. I – Observações sobre o *Panstrongylus megistus* e suas relações com focos naturais da infecção, em área urbana da cidade de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 19-30, 1970.

FORATTINI, O. P. et al. Aspectos ecológicos da tripanossomíase americana. IV – Mobilidade de *Triatoma arthurneivai* em seus ecótopos naturais. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 183-187, 1972.

FREITAS, J. M. et al. Ancestral genomes, sex, and the population structure of *Trypanosoma cruzi*. **PLoS Pathogens**, San Francisco, v. 2, n. 3, p. e24, 2006. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.0020024>>.

FROTA, F. C. C. et al. Infecção humana causada pelo *Trypanosoma cruzi*, num foco urbano de *Triatoma pseudomaculata*, na cidade de Sobral, Norte do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 32, p. 85-86, 1999. Suplemento I.

GALVÃO, C.; JUSTI, S. A. An overview on the ecology of Triatominae (Hemiptera:Reduviidae). **Acta Tropica**, Basel, v. 151, p. 116-125, 2015.

GATRELL, A. C. et al. Spatial point pattern analysis and its application in geographical epidemiology. **Transactions of the Institute of British Geographers**, London, v. 21, n. 1, p. 256-274, 1996.

GIANNINI, T. C. et al. Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 3, p. 733-749, 2012.

GOMES, M. L. et al. *Trypanosoma cruzi*: optimization of Polymerase Chain Reaction for detection in human blood. **Experimental Parasitology**, New York, v. 88, n. 1, p. 28-33, 1998.

GONÇALVES, T. C. M. et al. Feeding patterns of *Triatoma vitticeps* in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 348-352, 2000.

GONTIJO, B. M. Uma geografia para a Cadeia do Espinhaço. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 4, n. 1-2, p. 7-15, 2008.

GUHL, F. et al. From ancient to contemporary molecular eco-epidemiology of Chagas disease in the Americas. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 44, n. 9, p. 605-612, 2014.

GUIMARÃES, R. J. P. S. et al. A geoprocessing approach for studying and controlling schistosomiasis in the state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 105, n. 4, p. 524-531, 2010.

GURGEL-GONÇALVES, R.; CUBA-CUBA, C. A. Estrutura de populações de *Rhodnius neglectus* Lent e *Psammolestes tertius* Lent & Jurberg (Hemiptera, Reduviidae) em ninhos de pássaros (Furnariidae) presentes na palmeira *Mauritia flexuosa* no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 157-163, 2007.

GURGEL-GONÇALVES, R.; CUBA-CUBA, C. A. Predicting the potential geographical distribution of *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Reduviidae) based on Ecological Niche Modeling. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 46, n. 4, p. 952-960, 2009.

GURGEL-GONÇALVES, R. et al. Geometric morphometrics and ecological niche modelling for delimitation of near-sibling triatomine species. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 25, n. 1, p. 84-93, 2011.

GURGEL-GONÇALVES, R. et al. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based in ecological niche modeling. **Journal of Tropical Medicine**. V. 2012, Article ID 705326, 15 p, 2012. Disponível em:<
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/705326>>.

GÜRTLER, R. E. et al. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. **Parasitology**, London, v. 134, n. 1, p. 69-82, 2007.

GÜRTLER, R. E. et al. Key sources habitats and potential dispersal of *Triatoma infestans* populations in Northwestern Argentina: implications for vector control. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 8, p. e3238, 2014. Disponível em: <
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003238>>.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, London, v. 41, p. 95-98, 1999.

HERBRETAU, V. et al. Sizing up human health through Remote Sensing: uses and misuses. **Parassitologia**, Roma, v. 47, p. 63-69, 2005.

HERRERA, L. Una revision sobre reservorios de *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* (Chagas, 1909), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas. **Boletín de Malariología y Salud Ambiental**, Maracay, v. 50, n. 1, p. 3-15, 2010.

HILL, J.; AIFADOPOLOU, D. Comparative analysis of Landsat-5 TM and SPOT HRV-1 data for use in multiple sensor approaches. **Remote Sensing of Environment**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 55-70, 1990.

HUANG, C. et al. Derivation of tasseled cap transformation based on Landsat 7 at-satellite reflectance. **International Journal of Remote Sensing**, [s. l.], v. 23, n. 8, p. 1741-1748, 2002.

HYPISA, V. et al. Phylogeny and biogeography of Triatominae (Hemiptera: Reduviidae): molecular evidence of a New World origin of the Asiatic clade. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 23, p. 447-457, 2002.

HUTCHINSON, G. E. Homage to Santa Rosalia, or why are there so many kinds of animals? **American Naturalist**, Chicago, v. 93, p. 145-159, 1959.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **População residente censo 2010**. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=312160&search=minas-gerais|diamantina>>. Acessado em: Julho de 2014.

JACKSON, Y. et al. Chagas disease in Australia and New Zealand: risk and needs for public health interventions. **Tropical Medicine & International Health**, Oxford, v. 19, n. 2, p. 212-218, 2014.

JANSEN, A. M. et al. The multiple and complex and changeable scenarios of the *Trypanosoma cruzi* transmission cycle in the sylvatic environment. **Acta Tropica**, Basel, v. 151, p. 1-15, 2015.

JUAREZ, E. Observações sobre o ciclo evolutivo do *Triatoma arthurneivai*, em condições de laboratório (Hemiptera, Reduviidae). **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 4, n. 1, p. 13-18, 1970.

JURBERG, J. et al. *Triatoma pintodiasi* sp. nov. do subcomplexo *T. rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 4, n. 1, p. 43-56, 2013.

JUSTI, S. A. et al. Molecular phylogeny of Triatomini (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Parasites & Vectors**, London, v. 7, p. e149, 2014. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-149>>.

KAUTH, R. J.; THOMAS, G. S. The Tasseled Cap – a graphic description of the spectral-temporal development of agricultural crops as seen by LANDSAT. In: **Proceedings of the Symposium on Machine Processing of Remotely Sensed Data**, West Lafayette: Purdue University, June 29–July 1, 4B41–4B45. 1976. Disponível em: http://docs.lib.purdue.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1160&context=lars_symp

KROPF, S. P. Ciência, saúde e desenvolvimento: a doença de Chagas no Brasil (1943-1962). **Tempo**, Niterói, v. 19, p. 107-124, 2005.

- KROPF, S. P. et al. O. Doença de Chagas: a construção de um fato científico e de um problema de saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 2, p. 347-365, 2000.
- LAGROTTA, M. T. F., et al. Identification of key areas for *Aedes aegypti* control through geoprocessing in Nova Iguaçu, Rio de Janeiro State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 1, p. 70-80, 2008.
- LANA, M. et al. Clinical and laboratory status of patients with chronic Chagas disease living in a vector-controlled area in Minas Gerais, Brazil, before and nine years after aetiological treatment. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 8, p. 1139-1147, 2009.
- LEITE, G. R. et al. Insecta, Hemiptera, Reduviidae, *Panstrongylus geniculatus*: Geographic distribution map. **Check List**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 147-152, 2007.
- LEITE, G. R. et al. Influence of the landscape on dispersal of sylvatic triatomines to anthropic habitats in the Atlantic Forest. **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 38, n. 4, p. 651-663, 2010.
- LENT, H. Novo triatoma do estado de Minas Gerais (Brasil) (Hemiptera, Reduviidae). **Revista de Entomologia**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1-3, p. 349-352, 1951.
- LENT, H.; MARTINS, A. V. Estudos sobre os triatomídeos do Estado de Minas Gerais, com descrição de uma espécie nova. **Revista de Entomologia**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 877-886, 1940.
- LENT, H; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, New York, v. 163, n. 3, p. 123-520, 1979.
- LESSA, L. G. et al. Mamíferos da Cadeia do Espinhaço: riqueza, ameaças e estratégias para conservação. **Megadiversidade**, Belo Horizonte, v. 4, n. 1-2, p. 218-232, 2008.
- LIMA, A. F. R. et al. Triatomines in dwellings and outbuildings in an endemic area of Chagas disease in northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 45, n. 6, p. 701-706, 2012.
- LITVOC, J. et al. Determinantes do processo de infestação domiciliar por *Panstrongylus megistus*: o papel da habitação e do desmatamento. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 443-449, 1990.
- LLEWELLYN, M. S. et al. *Trypanosoma cruzi* llc: Phylogenetic and phylogeographic insights from sequence and microsatellite analysis and potential impact on emergent Chagas disease. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 3, n. 9, p. e510, 2009. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000510>>.
- LOBSER, S. E.; COHEN, W. B. MODIS tasselled cap: land cover characteristics expressed through transformed MODIS data. **International Journal of Remote Sensing**, [s. l.], v. 28, n. 22, p. 5079-5101, 2007.
- LOROSA, E. S. et al. Foco de doença de Chagas em Arcádia, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 98, n. 7, p.885-887, 2003.

- LOROSA, E. S. et al. Foco da doença de Chagas em São Fidélis, no Estado do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 4, p. 419-420, 2008.
- LYMAN, D. F. et al. Mitochondrial DNA sequence variation among triatomine vectors of Chagas' disease. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 60, n. 3, p. 377-386, 1999.
- MACHADO DE ASSIS, G. F. et al. Domiciliation of *Triatoma pseudomaculata* (Corrêa e Espínola 1964) in the Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 4, p. 391-396, 2007.
- MACHADO DE ASSIS, G. F. et al. Entomological surveillance of Chagas disease in Berilo municipality, Jequitinhonha Valley, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 6, p. 615-621, 2009.
- MAEDA, M. H.; GURGEL-GONÇALVES, R. Conhecimentos e práticas de moradores do Distrito Federal, Brasil, em relação à doença de Chagas e seus vetores. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, p. 15-26, 2012.
- MAEDA, M. H. et al. Occurrence of synanthropic triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in the Federal District of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 45, n. 1, p. 71-76, 2012.
- MARCILI, A. et al. A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. **Parasitology**, London, v. 136, n. 6, p. 641-655, 2009.
- MARKWELL, T. J. Video camera count of burrow-dwelling fairy prions, sooty shearwaters, and tuatara on Takapourewa (Stephens Island), New Zealand. **New Zealand Journal of Zoology**, Wellington, v. 24, n. 3, p. 231-237, 1997.
- MARTINS, A. V. et al. Estudos sobre a Tripanosomiase americana em Minas Gerais, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 35, n. 2, p. 285-301, 1940.
- MEJÍA-JARAMILLO, A. M. et al. Genotyping of *Trypanosoma cruzi* in a hyper-endemic area of Colombia reveals an overlap among domestic and sylvatic cycles of Chagas disease. **Parasites & Vectors**, London, v. 7, p. e108, 2014. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-7-108>>
- MILES, M. A. et al. 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. et al. Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas' disease in Amazonian Brazil. **Nature**, London, v. 272, n. 27, p. 819-821, 1978.
- MOLINARI, J. et al. *Panstrongylus geniculatus* (Heteroptera: Reduviidae: Triatominae): Natural infection with *Trypanosoma cruzi* under cavernicolous conditions in Paraguaná Peninsula, Venezuela. **Journal of Cave and Karst Studies**, Huntsville, v. 69, n. 2, p. 285-287, 2007.

MONTEIRO, F. A. et al. Mitochondrial DNA variation of *Triatoma infestans* populations and its implication on the specific status of *T. melanosoma*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, p. 229-238, 1999. Supplement I.

MONTOYA, R. A. **Morbidade da doença de Chagas no município de Berilo, Minas Gerais, Brasil**. Estudos seccional e longitudinal da cardiopatia chagásica crônica (1987-1997) [tese de doutorado]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 1998, 153 p.

MORENO, E. C.; BARACHO, L. Vigilância epidemiológica no Programa de Controle da doença de Chagas em Minas Gerais, Brasil (1984-1998). **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 113-116, 2000. Suplemento 2.

MORILLO, C. A. et al. Randomized trial of benznidazole for Chronic Chagas' cardiomyopathy. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 373, n. 14, p. 1295-1306, 2015.

MUÑOZ-CALDERÓN, A. et al. Oral transmission of Chagas disease: Typing of *Trypanosoma cruzi* from five outbreaks occurred in Venezuela shows multiclinal and common infections in patients, vectors and reservoirs. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 17, p. 113-122, 2013.

NÓBREGA, A. A. et al. Oral transmission of Chagas disease by consumption of Açaí palm fruit, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 15, n. 4, p. 653-655, 2009.

NOYA, B. A. et al. Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 201, n. 9, p. 1308-1315, 2010.

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

OLIVEIRA, M. F. et al. Tratamento etiológico da doença de Chagas no Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 209-228, 2008.

OLIVEIRA, E. F. et al. Biotic factors and occurrence of *Lutzomyia longipalpis* in endemic area of visceral leishmaniasis, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 107, n. 3, p. 396-401, 2012.

OLIVEIRA, E. C. et al. Geographic information systems and logistic regression for high-resolution malaria risk mapping in a rural settlement of the southern Brazilian Amazon. **Malaria Journal**, London, v. 12, p. e420, 2013. Disponível em: <<https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-12-420>>.

OLIVEIRA, M. T. et al. *Trypanosoma cruzi* Discrete Typing Units (TcII and TcVI) in samples of patients from two municipalities of the Jequitinhonha Valley, MG, Brazil, using two molecular typing strategies. **Parasites & Vectors**, London, v. 8, p. e568, 2015. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-1161-2>>

OOSTBURG, B. F. J. et al. Case report: the first parasitologically confirmed autochthonous case of acute Chagas disease in Suriname. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 97, p. 166-167, 2003.

ORTÍ-LUCAS, R. M. et al. Impact of Chagas disease in Bolivian immigrants living in Europe and the risk of stigmatization. **Journal of Parasitology Research**, [s. l.], v. 2014. Article ID 514794, 7 pages, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2014/514794>>

PAULA, A. S. et al. Testing the sister-group relationship of the Rodiniini and Triatomini (Insecta: Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 35, p. 712-718, 2005.

PAULA, M. B. C. et al. Occurrence of positivity for *Trypanosoma cruzi* in triatomine from municipalities in Southern Brazil, from 2002 to 2004. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 1, p. 9-14, 2010.

PAVIA, P. X. et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* infection in triatomine vectors by amplification of the histone H2A/SIRE and the SNO-RNA-CL1 genes. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 23-30, 2007.

PELLEGRINO, J. Novos dados sobre a distribuição de triatomídeos e sua infecção pelo *Schizotrypanum cruzi* no Estado de Minas Gerais (Brasil). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 48, p. 639-667, 1950.

PÉNEAU, J. et al. Genetic diversity of *Trypanosoma cruzi* circulating in mammals and triatomines collected in urban areas, in French Guiana. **Academic Journal of Suriname**, Paramaribo, v. 5, p. 456-460, 2014.

PEREIRA, J. B.; COURA, J. R. Morbidade da doença de Chagas. Estudo seccional em uma área endêmica, Virgem da Lapa, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 19, n. 3, p. 139-148, 1986.

PEREIRA, J. M. et al. Climatic factors influencing triatomine occurrence in Central-Western Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 3, p. 335-341, 2013.

PÉREZ-MOLINA, J. A. et al. Distribution of *Trypanosoma cruzi* discrete typing units in Bolivian migrants in Spain. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 21, p. 440-442, 2014.

PESSOA, S. B. Domiciliação de triatomíneos e epidemiologia da doença de Chagas. **Arquivos de Higiene e Saúde Pública**, São Paulo, v. 27, p. 161-171, 1962.

PINTO, C. M. et al. TcBat a bat-exclusive lineage of *Trypanosoma cruzi* in the Panama Canal Zone, with comments on its classification and the use of the 18S rRNA gene for lineage identification. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 12, n. 6, p. 1328-1332, 2012.

PIRES, H. H. R. et al. Peridomiciliary infestation with *Triatoma sordida* Stal, 1859 in the county of Serra do Ramalho, Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 2, 147-149, 1999.

POINAR-JUNIOR, G. *Triatoma dominicana* sp. n. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), and *Trypanosoma antiquus* sp. n. (Stercoraria: Trypanosomatidae), the

first fossil evidence of a Triatominae-Trypanosomatid vector association. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 5, n. 1, p. 72-81, 2005.

POINAR-JUNIOR, G. *Panstrongylus hispaniolae* sp. N. (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), a new fossil triatominae in Dominican amber, with evidence of gut flagellates. **Paleodiversity**, Stuttgart, v. 6, p. 1-8, 2013.

PONZONI, F. J.; SHIMABUKURO, Y. E. **Sensoriamento remoto no estudo da vegetação**. São José dos Campos: Parêntese, 2009. 127 p.

PRATA, A. Evolution of the clinical and epidemiological knowledge about Chagas disease 90 years after its discovery. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, p. 81-88, 1999. Supplement I.

QGIS Development Team. **QGIS Geographic Information System**. Open Source Geospatial Foundation Project, 2013. Disponível em: <<http://qgis.osgeo.org>>

QUISBERTH, S. et al. "Andean" and "non-Andean" ITS-2 and mtCytB haplotypes of *Triatoma infestans* are observed in the Gran Chaco (Bolivia): Population genetics and the origin of reinfestation. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 11, p. 1006-1014, 2011.

RAMÍREZ, J. D. et al. First report of human *Trypanosoma cruzi* infection attributed to TcBat genotype. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 61, p. 477-479, 2014.

RASSI-JUNIOR, A. et al. Chagas disease. **Lancet**, London, v. 375, p. 1388-1402, 2010.

REYES-LUGO, M.; RODRIGUEZ-ACOSTA, A. Domiciliation of the sylvatic Chagas disease vector *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811 (Triatominae: Reduviidae) in Venezuela. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 94, p. 508, 2000.

RIBEIRO, E. M. et al. Agricultura familiar e programas de desenvolvimento rural no Alto Jequitinhonha. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Brasília, v. 45, n. 4, p. 1075-1102, 2007.

RIPLEY, B. D. **Spatial statistics**. Wiley: Hoboken. 1981. 252 p.

RODRIGUES, V. L. C. C. et al. Prevalência, índices de infecção e hábitos alimentares de triatomíneos capturados em uma área de vigilância epidemiológica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 25, n. 3, p. 183-190, 1992.

RODRIGUES, V. L. C. C. et al. Colonization of palm trees by *Rhodnius neglectus* and household and invasion in an urban area, Araçatuba, São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 56, n. 3, p. 213-218, 2014.

RODRÍGUEZ-BONFANTE, C. C. et al. Persistence of Chagas disease active transmission among dogs in Venezuela rural community. **Revista Costarricense de Salud Pública**, San Jose, v. 20, n. 2, p. 97-101, 2011.

ROJAS, M. E. et al. Estudio sero-epidemiológico y entomológico sobre la enfermedad de Chagas en un área infestada por *Triatoma maculata* (Erichson 1848)

en el centro-occidente de Venezuela. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 10, p. 2323-2333, 2008.

ROLÓN, M. et al. First report of colonies of sylvatic *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in the Paraguayan Chaco, using a trained dog. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 5, n. 5, p. e1026, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001026>>.

ROSA, J. A. et al. Morphological study of the thorax of the five nymphal instars of *Triatoma arthurneivai* Lent & Martins (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 49, n. 3, p. 289-293, 2005.

ROUSE-JUNIOR, J. W. et al. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. In: **Third Earth Resources Technology Sattelite-1 Symposium**. Technical Presentations NASA, Washington, v. 1, p. 309-317, 1973.

SALDAÑA, A. et al. Risk factors associated with *Trypanosoma cruzi* exposure in domestic dogs from a rural community in Panama. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 7, p. 936-944, 2015.

SANGENIS, L. H. C. et al. Autochthonous transmission of Chagas disease in Rio de Janeiro State, Brazil: a clinical and eco-epidemiological study. **BMC Infectious Diseases**, London, v. 15, p. e4, 2015. Disponível em: <<http://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-014-0732-8>>.

SANTINI, M. S. et al. *Lutzomyia longipalpis* presence and abundance distribution at different micro-spatial scales in an urban scenario. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 9, n. 9, p. e0004091, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003951>>.

SANTOS, C. B. et al. Peridomestic colonies of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infected with *Trypanosoma cruzi* in rural areas of the state of Espírito Santo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 5, p. 471-473, 2005.

SANTOS, C. B. et al. Dynamics of feeding and defecation in *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) and its potential in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 5, p. 543-546, 2006.

SANTOS, S. M. et al. Evolutionary relationships on genetic and phenetic characters between *Triatoma maculata*, *Triatoma pseudomaculata* and morphologically related species (Reduviidae:Triatominae). **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 7, p. 469-475, 2007.

SANTOS, A. et al. Evaluation of the Chagas Disease Control Program in Açucena municipality, Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 47, n. 2, p. 186-192, 2014.

SANTOS-JÚNIOR, J. E. et al. Evaluation of natural foci of *Panstrongylus megistus* in a forest fragment in Porto Alegre, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 5, p. 575-583, 2013.

SANTOS-JÚNIOR, J. E. et al. First report of *Panstrongylus megistus* sylvatic focus in municipality of Bambuí, state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 4, p. 510-513, 2011.

SCHOFIELD, C. J. The biosystematics of Triatominae. In: SERVICE, M. W. **Biosystematics of Haematophagous insects**. v. 37. Claredon Press: Oxford, 1988. p. 284-312.

SCHOFIELD, C. J. **Triatominae: Biología y control**. West Sussex: Eurocommunica Publications, 1994. 80 p.

SCHOFIELD, C. J.; GALVÃO, C. Classification, evolution, and species group within the Triatominae. **Acta Tropica**, Basel, v. 110, p. 88-100, 2009.

SCHOFIELD, C. et al. The future of Chagas disease. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 22, n. 12, p. 583-588, 2006.

SCHOLTE, R. G. C. et al. Spatial distribution of *Biomphalaria* spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. **Geospatial Health**, Napoli, v. 6, n. 3, p. 95-101, 2012.

SCHOLTE, R. G. C. et al. Predictive risk mapping of schistosomiasis in Brazil using Bayesian geostatistical models. **Acta Tropica**, Basel, v. 132, p. 57-63, 2014.

SEGOVIA, M. et al. Molecular epidemiologic source tracking of orally transmitted Chagas disease, Venezuela. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 19, n. 7, p. 1098-1101, 2013.

SESSA, P. A.; CARIAS, V. R. D. Infecção natural de triatomíneos no estado do Espírito Santo por flagelados morfologicamente semelhantes ao *Trypanosoma cruzi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 19, n. 2, p. 99-100. 1986.

SESSA, P. A. et al. Soroprevalência da doença de Chagas em crianças em idade escolar do Estado do Espírito Santo, Brasil, em 1999-2000. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 6, p. 1765-1769, 2002.

SHENG, L. et al. A tasseled cap transformation for CBERS-02B CCD data. **Journal of Zhejiang University Science B**, Hangzhou, v. 12, n. 9, p. 780-786, 2011.

SHIKANAI-YASUDA, M. A.; CARVALHO, N. B. Oral transmission of Chagas Disease. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 54, n. 6, p. 845-852, 2012.

SILVA, R. A. et al. Doença de Chagas no Estado de São Paulo: Comparação entre pesquisa ativa de triatomíneos em domicílios e notificação de sua presença pela população em área sob vigilância entomológica. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 32, n. 6, p. 653-659, 1999.

SILVA, R. A. et al. Situação atual da vigilância entomológica da doença de Chagas no Estado de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 8, n. 87, p. 4-13, 2011.

SILVA, M. B. A. et al. Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the State of Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma* infection rates between 2006 and 2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 45, n. 1, p. 60-65, 2012.

- SILVEIRA, A. C. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 35-42, 2000. Suplemento 2.
- SILVEIRA, A. C. O inquérito triatomínico (1975-1983). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, p. 26-32, 2011a. Suplemento II.
- SILVEIRA, A. C. Os novos desafios e perspectivas futuras do controle. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, p. 122-124, 2011b. Suplemento II.
- SILVEIRA, A. C. et al. Distribuição de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar, no período 1975/83, Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 36, p. 15-312, 1984.
- SILVEIRA, A. C. et al. Avaliação do sistema de vigilância entomológica da doença de Chagas com participação comunitária em Mambai e Buritinópolis, Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 1, p. 39-46, 2009.
- SILVEIRA, A. C. et al. O inquérito de soroprevalência da infecção chagásica humana (1975-1980). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 44, p. 33-39, 2011. Suplemento II.
- SONODA, I. V. et al. Susceptibility of *Triatoma infestans* to deltamethrin in Rio Grande do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 4, p. 668-670, 2009.
- SOTO, H. et al. Investigación de vectores y reservorios em brote de Chagas agudo por posible transmisión oral em Aguachica, Cesar, Colombia. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 4, p. 746-756, 2014.
- SOUTO, R. P. et al. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdam, v. 83, p.141-152, 1996
- SOUZA, E. S. **Descrição de uma nova espécie de *Rhodnius* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) da Amazônia**. [Dissertação de mestrado]. Araraquara: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, 2016, 86 p.
- SOUZA, R. C. M. **Caracterização da infestação domiciliar e dinâmica de populações de *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) e *Trypanosoma cruzi* em Itanhomi, Minas Gerais**. [Tese de doutorado]. Belo Horizonte: Centro de Pesquisas René Rachou, 2009, 136 p.
- SOUZA, R. C. M. et al. Analysis of the geographical distribution of *Triatoma vitticeps* (Stal, 1859) based on data of species occurrence in Minas Gerais, Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 10, p. 720-726, 2010.
- SOUZA, R. C. M. et al. Feeding behavior of *Triatoma vitticeps* (Reduviidae: Triatominae) in the state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 1, p. 16-22, 2011.
- SOUZA, R. C. M. et al. Does *Triatoma brasiliensis* occupy the same environmental niche space as *Triatoma melanica*? **Parasites & Vectors**, London, v. 8, p. e361, 2015. Disponível em: <

- SOUZA-LIMA, R. C. et al. Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 46, n. 4, p. 510-514, 2013.
- STEINDEL, M. et al. 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 Diseases**, New York, v. 60, p. 25-32, 2008.
- STEVERDING, D. The history of Chagas disease. **Parasites & Vectors**, London, v. 7, p. e317, 2014.
- STUMPF, I. V. K. et al. *Triatoma arthurneivai* e *Rhodnius neglectus* no Estado do Paraná. (Reduviidae, Triatominae). **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 24, p. 301-303, 1981.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde. Consenso Brasileiro em doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, p. 1-29. 2005. Suplemento III.
- TAMURA, K. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetic Analysis Version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, Chicago, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.
- TIBAYRENC, M.; AYALA, F. J. Isozyme variability in *Trypanosoma cruzi*, the agent of Chagas' Disease: Genetical, taxonomical, and epidemiological significance. **Evolution**, Lancaster, v. 42, n. 2, p. 277-292, 1988.
- TOMASINI, N.; DIOSQUE, P. Evolution of *Trypanosoma cruzi*: clarifying hybridisations, mitochondrial introgressions and phylogenetic relationships between major lineages. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 3, p. 403-413, 2015.
- VALENTE, V. C. et al. Chagas disease in the Amazon Basin: association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) with domestic pigs. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 35, n. 2, p. 99-103, 1998.
- VALLEJO, G. A. et al. Species-specific detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* in vector and mammalian host by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle kDNA. **Acta Tropica**, Basel, v. 72, p. 203-212, 1999.
- VEJA, S. et al. Primer caso de enfermedad de Chagas aguda em la Selva Central del Perú: investigación de colaterales, vectores y reservorios. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, Lima, v. 23, n4, p. 288-292, 2006.
- VIANNA, E. N. et al. The exotic palm *Roystonea oleracea* (Jacq.) O.F. Cook as a rural biotype for *Rhodnius neglectus* Lent, 1954, in Caçu, State of Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 47, n. 5, p. 642-645, 2014.
- VIEIRA, J. P. G. et al. Estudo da precipitação mensal durante a estação chuvosa em Diamantina, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 14, p. 762-767, 2010.
- VILLELA, M. M. et al. Vigilância entomológica da doença de Chagas na região centro-oeste de Minas Gerais, Brasil, entre os anos de 2000 e 2003. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 3, p. 878-886, 2005.

- VILLELA, M. M. et al. Vigilância epidemiológica da doença de Chagas em programa descentralizado: avaliação de conhecimento e práticas de agentes municipais em região endêmica de Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 10, p. 2428-2438, 2007.
- VILLELA, M. M. et al. Avaliação de conhecimentos e práticas que adultos e crianças têm acerca da doença de Chagas e seus vetores em região endêmica de Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 8, p. 1701-1710, 2009.
- VILLELA, M. M. et al. Análise da fonte alimentar de *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) e sua atual importância como vetor do *Trypanosoma cruzi*, no Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 2, p. 125-128, 2010.
- VINHAES, M. C. et al. Assessing the vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis. **Acta Tropica**, Basel, v. 137, p. 105-110, 2014.
- WALECKX, E. et al. New insights on the Chagas disease main vector *Triatoma infestans* (Reduviidae, Triatominae) brought by the genetic analysis of Bolivian sylvatic populations. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 11, p. 1045-1057, 2011.
- WANDERLEY, D. M. V. Vigilância entomológica da doença de Chagas no Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 28-32, 1991.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates. **The Weekly Epidemiological Record**, Geneve, v. 90, p. 33-44, 2015.
- YARBROUGH, L. D. et al. Using At-Sensor Radiance and Reflectance Tasseled Cap Transforms Applied to Change Detection for the ASTER Sensor. In: KING, R. L.; YOUNAN, N. H. (Eds.) **Proceedings of the Third International Workshop on the Analysis of Multi-Temporal Remote Sensing Images**, 16-18 May 2005a, Biloxi, Mississippi. doi: 10.1109/AMTRSI.2005.1469857.
- YARBROUGH, L. D. et al. Quickbird 2 tasseled cap transform coefficients: a comparison of derivation methods. In: **Paper presented at Pecora 16 "Global Priorities in Land Remote Sensing"**, Sioux Falls, October 23–27. 2005b. Disponível em: <http://www.asprs.org/a/conference-archive/pecora16/>.
- YEO, M. et al. Origins of Chagas disease: *Didelphis* species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 35, p. 225-233, 2005.
- ZINGALES, B. et al. A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meetings recommends TcI to TcVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 7, p. 1051-1054, 2009.
- ZINGALES, B. et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: Rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 12, n. 2, p. 240-253, 2012.

Apêndice I – Formulário para preenchimento de dados referentes aos triatomíneos capturados pelo serviço municipal de controle da doença de Chagas.

ORIENTAÇÕES PARA O PREENCHIMENTO DO LIVRO DE CONTROLE DE TRIATOMÍNEOS

Certifique-se de que o registro está datado e se os campos conferem com a ficha de notificação ou com a ficha de atividades de campo e com o livro de exames da Secretaria Municipal de Saúde de Diamantina (SMS);

Confira se os insetos encontram-se devidamente separados para permitir a identificação posterior;

Para cada triatomíneo será feito um registro;

Certifique se o registro do livro corresponde ao registro do pote ou saquinho do inseto;

Preencha o livro com caneta de tinta azul ou preta;

O inseto será recolhido depois de realizado o exame na SMS;

Todo o registro será datado e assinado pelo responsável;

O preenchimento será feito conforme exemplo abaixo.

Código: ____ / ____ (Exemplo D/1 é o primeiro captado por Dimas) Dimas: D João: J

R: Raphael

Data exame: _____

1. Número de registro SMS: vide número no livro de exames

2. Data de recebimento pelo colaborador: vide ficha de notificação / campo

3. Localidade de captura: vide ficha de notificação ou campo

4. Município de captura: DIAMANTINA

5. Nome do morador: vide ficha de notificação ou campo

6. Espécie de triatomíneo: vide ficha de notificação ou campo

7. Local de captura: () Intradomicílio: _____

() Peridomicílio: _____

8. Sexo / instar: () M () F () N1 () N2 () N3 () N4 () N5

9. Resultado exame: () POSITIVO () Negativo () Seco / Não examinado

10. Tipo de atividade: () Notificação () Atendimento () Pesquisa Ativa

Assinatura: _____

Apêndice II – Questionário utilizado para avaliar conhecimentos e práticas da população sobre triatomíneos e doença de Chagas

Nome: _____ Idade: _____

Sexo: (M) (F) Escolaridade _____

Localidade: _____ Data: ____/____/____

1 – Você sabe reconhecer o “barbeiro”? () Sim () Não

2 – Qual(is) dos insetos você identifica como barbeiro? (1) - (2) - (3) - (4) - (5) - (6)

3 – Você já viu o inseto? () Sim, onde? _____ () Não

4- O que você deve fazer caso encontre um barbeiro?

() Matar

() Avisar ou entregar o inseto ao agente de saúde

() Levar para algum local.

Onde? _____

() Não sabe o que deve fazer

5 – Você, ou alguém da família, já foi picado pelo “barbeiro”? () Sim

Quem? _____ () Não () Não sabe ou não se lembra

6 – Você sabe se ele pode transmitir alguma doença? () Sim () Não

7 – Qual o nome da doença? _____ () Li as opções

(1) Xistose (2) Febre amarela (3) Doença de Chagas (4) Dengue (5) Calazar

8 – Você já ouviu falar da doença de Chagas? () Sim () Não

9 – Você sabe que órgãos esta doença pode atingir? _____ () Li as opções

(1) Fígado (2) Esôfago (3) Pulmão (4) Intestinos (5) Coração (6) Rins

10 – Você conhece alguém que tem esta doença? () Sim, quem? _____ () Não

11 – Existe algum local onde você possa levar os barbeiros que capturar (Posto de Informação de Triatomíneo), na sua região? () Sim, onde? _____ (

) Não () Não sabe

12 – O que se deve fazer para evitar “barbeiros” em casa? _____

13 – Você sabe se existe algum serviço de controle da doença de Chagas no seu município? () Sim () Não

14 – Você quer dar alguma sugestão para este serviço?

Apêndice III – Mostruário de hemípteros utilizado para respostas da questão “Qual(is) desses insetos você identifica como barbeiro?”



Apêndice IV – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação de adultos em pesquisa



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e
Mucuri
Comitê de Ética em Pesquisa



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Você está sendo convidada(o) a participar de uma pesquisa intitulada: “Conhecimentos e práticas da população do município de Diamantina em relação à doença de Chagas e seus vetores”, a se realizar entre os moradores deste município. Essa pesquisa é coordenada pelo Professor Herton Helder Rocha Pires e contará ainda com a colaboração das Professoras Liléia Diotaiuti e Rosana Passos Cambraia e dos estudantes Dimas Ramon Mota Queiroz e João Victor Leite Dias.

A sua participação não é obrigatória sendo que a qualquer momento da pesquisa você poderá desistir e retirar seu consentimento. Caso você não queira participar, não terá prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

Os objetivos desta pesquisa são: Avaliar os conhecimentos e práticas que a população do município de Diamantina tem sobre a doença de Chagas e seus insetos transmissores, para ajudar na melhoria do combate a esta doença. Caso você decida aceitar o convite, participará da seguinte forma: respondendo a questionário semi-estruturado composto de perguntas de múltipla escolha (com opções para escolher) e de livre resposta (dissertativas) sobre os seus conhecimentos sobre a doença de Chagas e seus transmissores. O tempo previsto para a sua participação é de aproximadamente quinze minutos.

Os riscos relacionados com sua participação são a identificação de seu nome dentro do conjunto da pesquisa, e serão minimizados pela manutenção de seu nome em sigilo, sendo utilizado um número como referência.

Os benefícios relacionados com a sua participação incluem: proporcionar maiores conhecimentos sobre o que a população de Diamantina pensa acerca da doença de Chagas e seus vetores e, assim, ajudar na criação de propostas para manutenção de seu controle.

Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em seminários, congressos e similares, entretanto, os dados e informações obtidos por meio da sua participação serão confidenciais e sigilosos (ficarão em segredo), não possibilitando sua identificação. A sua participação bem como a de todas as pessoas envolvidas será voluntária, não havendo remuneração para tal. Qualquer gasto financeiro da sua parte em relação à pesquisa será ressarcido pelo responsável pela pesquisa. Não está prevista indenização por sua participação, mas em qualquer momento se você sofrer algum dano, comprovadamente decorrente desta pesquisa, terá direito à indenização.

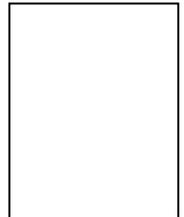
Você receberá uma cópia deste termo onde constam o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação, agora ou em qualquer momento.

Coordenador(a) do Projeto _____
Endereço: Farmácia Análises Clínicas / UFVJM, Rod. MGT-367, Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, Diamantina, Minas Gerais
Telefone: 3835321236 _____

Declaro que entendi os objetivos, a forma de minha participação, riscos e benefícios da mesma e aceito o convite para participar. Autorizo a publicação dos resultados da pesquisa a qual garante o anonimato e o sigilo referente à minha participação.

Nome do sujeito da pesquisa: _____

Assinatura do sujeito da pesquisa: _____



Informações – Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM – Campus JK
Rodovia MGT-367, Km 583, nº 5000 – Alto da Jacuba – Caixa Postal 38 –
39.100-000 – Diamantina/MG
Tel.: (38)3532-1240 - Coordenadora Profa. Agnes Maria Gomes Murta; Secretária
(Dione de Paula) - Email: cep.secretaria@ufvjm.edu.br ou cep@ufvjm.edu.br.

Apêndice V – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para participação de menores de idade em pesquisa



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e
Mucuri
Comitê de Ética em Pesquisa



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Como voluntário, seu/sua dependente está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa intitulada: “Conhecimentos e práticas da população do município de Diamantina em relação à doença de Chagas e seus vetores”, a se realizar entre os moradores deste município. Essa pesquisa é coordenada pelo Professor Herton Helder Rocha Pires e contará ainda com a colaboração das Professoras Liléia Diotaiuti e Rosana Passos Cambraia e dos estudantes Dimas Ramon Mota Queiroz e João Victor Leite Dias.

A participação não é obrigatória sendo que a qualquer momento da pesquisa você poderá desistir e retirar o consentimento da participação de seu dependente. Caso você aceite a participação, não terá prejuízo em sua relação ou de seu dependente com o pesquisador ou com a Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM).

Os objetivos desta pesquisa são: Avaliar os conhecimentos e práticas que a população do município de Diamantina tem sobre a doença de Chagas e seus insetos transmissores, para ajudar na melhoria do combate a esta doença. Caso você permita a participação de seu dependente, ele/ela participará da seguinte forma: respondendo a questionário semi-estruturado composto de perguntas de múltipla escolha (com opções para escolher) e de livre resposta (dissertativas) sobre os seus conhecimentos sobre a doença de Chagas e seus transmissores. O tempo previsto para a participação é de aproximadamente quinze minutos.

Os riscos relacionados com sua participação são a identificação do nome do menor dentro do conjunto da pesquisa, e serão minimizados pela manutenção do nome em sigilo, sendo utilizado um número como referência.

Os benefícios relacionados com a participação incluem: proporcionar maiores conhecimentos sobre o que a população de Diamantina pensa acerca da doença de Chagas e seus vetores e, assim, ajudar na criação de propostas para manutenção de seu controle.

Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em seminários, congressos e similares, entretanto, os dados e informações obtidos por meio da participação de seu dependente serão confidenciais e sigilosos (ficarão em segredo), não possibilitando sua identificação. A participação de todas as pessoas envolvidas será voluntária, não havendo remuneração para tal. Qualquer gasto financeiro da sua parte ou de seu dependente em relação à pesquisa será ressarcido pelo responsável pela pesquisa. Não está prevista indenização pela participação de seu

dependente, mas em qualquer momento se ele/ela sofrer algum dano, comprovadamente decorrente desta pesquisa, terá direito à indenização. Você receberá uma cópia deste termo onde constam o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sobre sua participação, agora ou em qualquer momento.

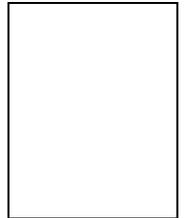
Coordenador(a) do Projeto _____
 Endereço: Farmácia Análises Clínicas / UFVJM, Rod. MGT-367, Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, Diamantina, Minas Gerais
 Telefone: 3835321236 _____

Declaro que entendi os objetivos, a forma de participação, riscos e benefícios da mesma e autorizo o meu dependente a participar. Autorizo a publicação dos resultados da pesquisa a qual garante o anonimato e o sigilo referente à sua participação.

Nome do sujeito da pesquisa: _____

Assinatura do sujeito da pesquisa: _____

Assinatura do responsável: _____



Informações – Comitê de Ética em Pesquisa da UFVJM – Campus JK
 Rodovia MGT-367, Km 583, nº 5000 – Alto da Jacuba – Caixa Postal 38 - 39.100-000 – Diamantina/MG
 Tel.: (38)3532-1240 - Coordenadora Profa. Agnes Maria Gomes Murta; Secretária (Dione de Paula) - Email: cep.secretaria@ufvjm.edu.br ou cep@ufvjm.edu.br.

Spatial distribution of triatomines in domiciles of an urban area of the Brazilian Southeast Region

João Victor Leite Dias^{1,2/+}, Dimas Ramon Mota Queiroz², Helen Rodrigues Martins², David Eladio Gorla³, Herton Helder Rocha Pires², Liléia Diotaiuti¹

¹Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas, Belo Horizonte, MG, Brasil ²Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Departamento de Farmácia, Laboratório de Doenças Parasitárias, Diamantina, MG, Brasil ³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal, Córdoba, Argentina

*Reports of triatomine infestation in urban areas have increased. We analysed the spatial distribution of infestation by triatomines in the urban area of Diamantina, in the state of Minas Gerais, Brazil. Triatomines were obtained by community-based entomological surveillance. Spatial patterns of infestation were analysed by Ripley's K function and Kernel density estimator. Normalised difference vegetation index (NDVI) and land cover derived from satellite imagery were compared between infested and uninfested areas. A total of 140 adults of four species were captured (100 *Triatoma vitticeps*, 25 *Panstrongylus geniculatus*, 8 *Panstrongylus megistus*, and 7 *Triatoma arthurneivai* specimens). In total, 87.9% were captured within domiciles. Infection by trypanosomes was observed in 19.6% of 107 examined insects. The spatial distributions of *T. vitticeps*, *P. geniculatus*, *T. arthurneivai*, and trypanosome-positive triatomines were clustered, occurring mainly in peripheral areas. NDVI values were statistically higher in areas infested by *T. vitticeps* and *P. geniculatus*. Buildings infested by these species were located closer to open fields, whereas infestations of *P. megistus* and *T. arthurneivai* were closer to bare soil. Human occupation and modification of natural areas may be involved in triatomine invasion, exposing the population to these vectors.*

Key words: Triatominae - spatial analysis - vector control - urbanisation

Chagas disease represents a major public health issue in Latin American countries. Human infection occurs mainly by vector-borne transmission, in which the protozoan *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909) is transmitted by infected triatomines (Hemiptera: Reduviidae) (Rassi Jr et al. 2010).

In Brazil, Chagas disease transmission has been associated with people living in rural areas and with poor housing conditions in which triatomines are able to colonise (Coura 2007). The species primarily involved in transmission of *T. cruzi* in Brazil during the XX century was the domestic insect *Triatoma infestans* (Klug 1834). This allochthonous species was found in domiciles throughout nearly all the endemic area, although other species of triatomine bugs were of primary importance in large areas of Brazil, especially *Triatoma brasiliensis* Neiva 1911 and *Panstrongylus megistus* (Burmeister 1835) (Dias 2007).

After a sustained vector control program, Brazil was certified as free from *T. cruzi* transmission by *T. infestans* in 2006. Nevertheless, native triatomine species are continuously observed invading and colonising artificial environments (Abad-Franch et al. 2013). The expansion

of human-inhabited areas, including cities, may disturb sites where natural cycles of *T. cruzi* occur, leading triatomines to invade domiciles, and also maintaining synanthropic reservoirs close to dwellings (Coura 2007). In Brazil, reports of infestation by autochthonous triatomines in domiciles of urban areas have increased during recent years (Santana et al. 2011, Maeda et al. 2012, Carvalho et al. 2014, Rodrigues et al. 2014, Ribeiro Jr et al. 2015). The objective of this study was to evaluate the importance of this domestic invasion by triatomines and the spatial pattern of invasion occurrence in an urban scenario of the Southeast Region in Brazil.

MATERIALS AND METHODS

Study area - This study was performed in the urban area of the municipality of Diamantina, located in the Jequitinhonha Valley region, in the northeast of the state of Minas Gerais, Brazil. This region was one of the most important areas in terms of Chagas disease transmission in Brazil (Dias et al. 1985). In the early 1980s, 11.7% of the rural population of the Diamantina municipality were infected by *T. cruzi* (MS/SUCAM/DIDOC 1980).

The municipality has an area of 3,892 km², and its population was estimated at 47,803 people in 2014 (MP/IBGE 2014).

Climate is classified as Cwb, according to the Köppen-Geiger climate classification system (Alvares et al. 2013), and exhibits two distinct seasons: a rainy season that occurs between October-March and a dry season that occurs between April-September. The annual average temperature is 19°C and the annual precipitation is approximately 1,400 mm (Vieira et al. 2010).

doi: 10.1590/0074-02760150352

Financial support: CNPq, FAPEMIG, FIOCRUZ

+ Corresponding author: joao.dias@ufvjm.edu.br

Received 16 September 2015

Accepted 8 December 2015

Diamantina is located in the southern area of the municipality, at approximately 1,300 m above sea level, placed atop a plateau known as the Diamantina Plateau and surrounded by the Cristais Mountains, which are part of the Espinhaço Mountain Range. Diamantina is composed of 25 neighbourhoods. At least 31,654 people live in the city, which contains approximately 20,400 buildings (Diamantina 2009). In this area, soils are shallow and sandy, with a quartzite substrate. Vegetation is characterised by rocky fields known as *campos rupestres*, which are typical of the Espinhaço Mountain Range (Eiten 1992, Costa 2005, Vasconcelos 2011). Forest fragments are often found associated with watercourses (Diamantina 2009).

Since 1999, the central area of Diamantina has been recognised by the United Nations Educational, Scientific, and Cultural Organization as a World Heritage Site (UNESCO 2000), which implies the existence of specific laws for urban management, leading people to occupy peripheral areas of the city.

Triatomine collection - Triatomines were captured during the activities of entomologic surveillance of Chagas disease, between September 2011-August 2014. People who found a suspect insect in their houses sent it to the municipal health service where specific identification and a parasitological exam of triatomine faeces were performed using optical microscopy. When insects were confirmed to be triatomines, a public health agent visited the house and performed a full entomological evaluation according to the Southern Cone Initiative protocol (OPS 1993).

We verified the species identification of triatomine species and data associated with the insect collection was recorded (house address and geographic coordinates, name of householder, place where the triatomine was found, sex or nymph stage, positivity for trypanosome, and information about who captured the insect - whether it was captured by the house owner or a health professional).

Spatial analysis - Infested houses were geo-referenced with a handheld GPS unit (GPS Map 76S, Garmin™). The geographic coordinate recorded in front of the infested house was considered for analysis. A "shapefile" of the 25 urban neighbourhoods of Diamantina was drawn based on the Brazilian National Health Foundation sketches with the support of a Google Earth™ scene as a reference.

The pattern of the spatial distribution of different triatomine species and trypanosome-infected insects was evaluated using graphical analysis of univariate Ripley's K-function expressed as an L function. The analysis identifies clustered, randomly, or regularly distributed events in an area; pattern significance may be evaluated by simulations based on complete spatial randomness (Dixon 2002). Visually identified hotspots were calculated by a Kernel density estimator, which is a nonparametric interpolation technique based on the occurrence of events over a region of interest and smoothed by a searching radius (Gatrell et al. 1996).

The spatial analysis of triatomine invasion events was carried out using the K-function included in SPRING 5.2.7 (Câmara et al. 1996), in which we considered distances between zero-1,000 m. Significance was evaluated with 999 simulations considering a significance level of 5%. A quartic Kernel density estimation function was calculated in

TerraView 4.2.2 (dpi.inpe.br/terraview/) using an adaptive radius, which varies according to the number of events and the extent of the study area (Lagrotta et al. 2008).

We expected that vegetation cover would influence the occurrence of triatomine invasions because of the association between vegetation and the ecotopes of triatomines and their hosts. Vegetation cover [estimated from normalised density vegetation index (NDVI) imagery, see below] was compared between occurrence and nonoccurrence triatomine invasion sites. The coordinates of the infested houses served as the occurrence sites, whereas 150 random points generated over uninfested neighbourhoods served as the nonoccurrence sites.

The NDVI values were calculated from bands 4 (red - wavelength 0.636-0.673 μm) and 5 (near infrared - wavelength 0.851-0.879 μm) of the Operational Land Imager on the LANDSAT 8 satellite. Scene acquisition dates were 25 August 2013 and 28 August 2014 (earthexplorer.usgs.gov/). Atmospheric correction was performed using the dark object subtraction method (Chavez Jr 1988). NDVI values were calculated for each date using SPRING 5.2.7 (Câmara et al. 1996). Because vegetation could vary from year to year due to differences in rainfall, we calculated the difference in NDVI values between dates to evaluate its change throughout two consecutive years. Because the NDVI values showed little change between 2013-2014 (restricted to only a few changed pixels in the image), the most recent image was chosen to evaluate the NDVI in sites where triatomines were both found and not found.

To compare the NDVI values, buffers were drawn surrounding each occurrence and nonoccurrence points with radii of 50 m, 100 m, 150 m, 200 m, and 250 m. The NDVI average for each circle buffer was calculated and compared to triatomine occurrence and nonoccurrence points, by species.

The association between house invasion by triatomines and distance to land cover type was analysed. Land cover was classified into the following three classes according to NDVI values and based on field observations: bare soil (NDVI between 0-0.15), open fields (NDVI between 0.15-0.3), and forest (NDVI \geq 0.3). Distances between infested or uninfested houses and land cover classes were measured and compared according to species.

A Kruskal-Wallis test followed by Dunn's multiple-comparison tests, with a significance level of 0.05 (GraphPad Prism™ 5), was used to compare NDVI values with distances to the vegetation cover classes at both triatomine occurrence and nonoccurrence sites.

Ethics - This study was approved by the Ethical Committee of the Federal University of Jequitinhonha e Mucuri Valleys (protocol 520.250).

RESULTS

A total of 140 adult triatomines of four species were captured between September 2011-August 2014 and referred to the Diamantina health services. *Triatoma vitticeps* (Stål 1859) was the most frequent (73♂, 27♀), followed by *Panstrongylus geniculatus* (Latreille 1811) (15♂, 10♀), *P. megistus* (6♂, 2♀), and *Triatoma arthur-neivai* Lent & Martins 1940 (5♂, 2♀).

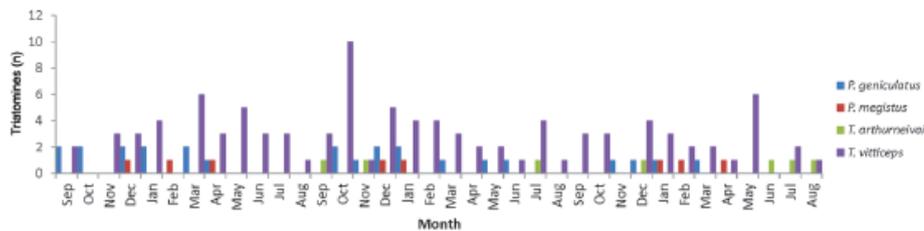


Fig. 1: number of triatomines by species captured in urban area of Diamantina, state of Minas Gerais, Brazil, September 2011-August 2014, according to month.

Among the captured triatomines, examination of infection in 33 insects was not possible because the specimens were dry and therefore did not present intestinal content for analysis. Of a total of 107 examined insects, none of the *P. megistus* (5 examined specimens) and *T. arthurneivai* (6 examined specimens) were infected; however, trypanosome infections were observed in *P. geniculatus* (5/13 examined specimens) and *T. vitticeps* (16/83 examined specimens), totalling 19.6% of the examined insects.

Most of the triatomines were captured inside houses (87.9%). Infested sites were primarily bedrooms (33.6%) and living rooms (32.1%), followed by bathrooms (6.4%), kitchens (5.7%), and utility areas (5.7%). Other locations included back yards (3.6%), balconies (0.7%), garages (2.1%), prison courtyard (0.7%), sports courts (0.7%), streets (2.9%), and walls (2.1%). Two cases in which insects (1.4%) were captured inside the houses lacked information about where the capture occurred and three (2.1%) triatomines had no site capture information. Infected *P. geniculatus* were captured in kitchens (2), living rooms (2), and utility areas (1), whereas infected *T. vitticeps* were captured in bedrooms (6), living rooms (4), walls (2), balconies (1), bathrooms (1), utility areas (1), and streets (1).

Captures occurred in all months, but were more frequent in December and January (Fig. 1). Only one specimen was captured by the public health services agent; all other specimens were captured by house owners who subsequently notified public health. There were 114 infested houses, largely distributed (72%) among 18 neighbourhoods. In 15 (13.2%) houses, multiple episodes of infestation occurred - twice in eight houses, three times in five houses, four times in one house, and six times in one house. In five houses, triatomines of two different species were captured - *T. vitticeps* and *P. geniculatus*. Among the infested houses, 112 (98.3%) were georeferenced, but two had incomplete addresses, which precluded house finding and geo-referencing. All the infested houses were made of brick and had roofs with slab and/or ceramic or asbestos tiles.

Regarding the spatial distribution of infested houses, only *P. megistus* did not present significant clustered distribution patterns by K-function analysis (Fig. 2A-D). Positivity for trypanosomes was clustered as well (Fig. 2E). The distributions of *P. geniculatus*, *T. arthurneivai*, and *T. vitticeps* exhibited an evident peripheral pattern (Fig. 3).

NDVI values were significantly higher in areas infested by *P. geniculatus* and *T. vitticeps* than in areas infested by other species or uninfested. No significant differences were observed between the NDVI values for *P. megistus* and *T. arthurneivai* infested areas and uninfested areas (Fig. 4).

Considering land cover, the area exhibited a highly heterogeneous pattern. However, some triatomine species were observed closer to specific land cover than others. In contrast to other species, houses infested by *T. vitticeps* were further away from forest fragments than uninfested areas. Houses infested by *T. vitticeps* and *P. geniculatus* were located significantly closer to open fields than uninfested random points. For these two species, an inverse trend was observed in areas surrounded by bare soil (Fig. 5).

DISCUSSION

Although originally associated with rural areas, reports of infestation by triatomines are increasing in urban areas, including those species known to be involved in *T. cruzi* transmission to humans (Guzman-Tapia et al. 2007, Santana et al. 2011, Maeda et al. 2012, Carvalho et al. 2014, Rodrigues et al. 2014, Ribeiro Jr et al. 2015).

Winged adult specimens of four triatomine species were captured throughout the year in the domiciles of an urban area of Diamantina. Two of these species were found naturally infected by trypanosomes. It is possible to infer that these trypanosomes were *T. cruzi*, what is supported by Reis et al. (2013), which detected kDNA of this parasite in faeces of triatomines from this region, including some of the insects in the present study.

T. vitticeps was the most frequently captured triatomine in Diamantina and was highly infected by trypanosomes, as also observed in other parts of Brazil (Dias et al. 1989, dos Santos et al. 2005, 2006a, 2014, Souza et al. 2010). Even with its low vector capability (dos Santos et al. 2006b), some reports incriminate the species in the transmission of *T. cruzi* to humans (Lorosa et al. 2003, 2008, Sengen et al. 2015), pointing out the importance of a close entomological surveillance on this species in its areas of occurrence.

In contrast to findings from other areas (Dias et al. 1989, Gonçalves et al. 1998, 2000, Leite et al. 2010), more males than females of *T. vitticeps* were captured in Diamantina. This discrepancy may be due to population

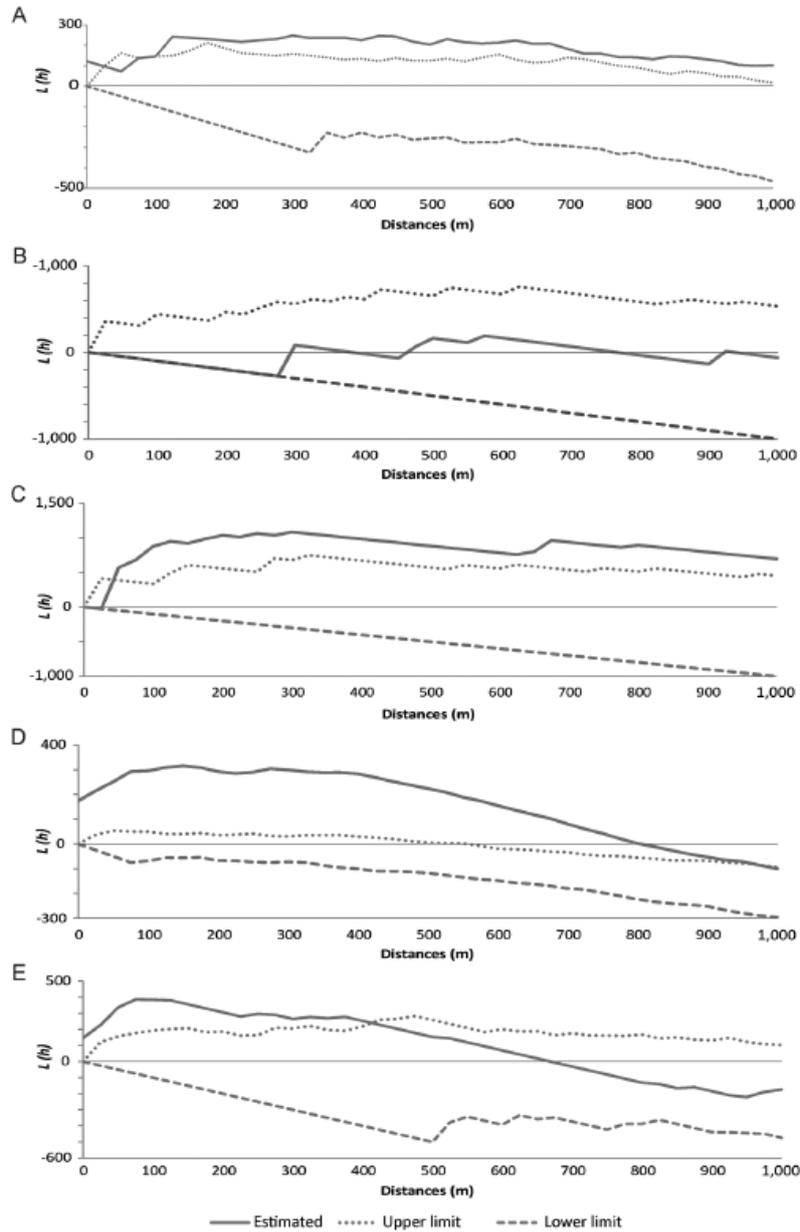


Fig. 2: K-function expressed as L-function values according to distances between buildings infested by triatomines in the city of Diamantina, state of Minas Gerais, Brazil, September 2011-August 2014. A: *Panstrongylus geniculatus*; B: *Panstrongylus megistus*; C: *Triatoma arthur-neivai*; D: *Triatoma vitticeps*; E: triatomines infected by trypanosomatids.

differences driven by environmental characteristics that may influence insect dispersal. Gürtler et al. (2014) observed an influence of weight/length ratio on the flight capability of females of *T. infestans* that was not observed for males. In addition to this, these authors demonstrated that females, in sites with constant food avail-

ability, were less prone to fly, and this behaviour may be associated with the maintenance of a high weight/length ratio. Most findings of *T. vitticeps* are reported from areas covered by the Atlantic Forest [states of Espírito Santo (ES) and Rio de Janeiro], but Diamantina is placed within a *Cerrado* biome, surrounded by rocky fields.

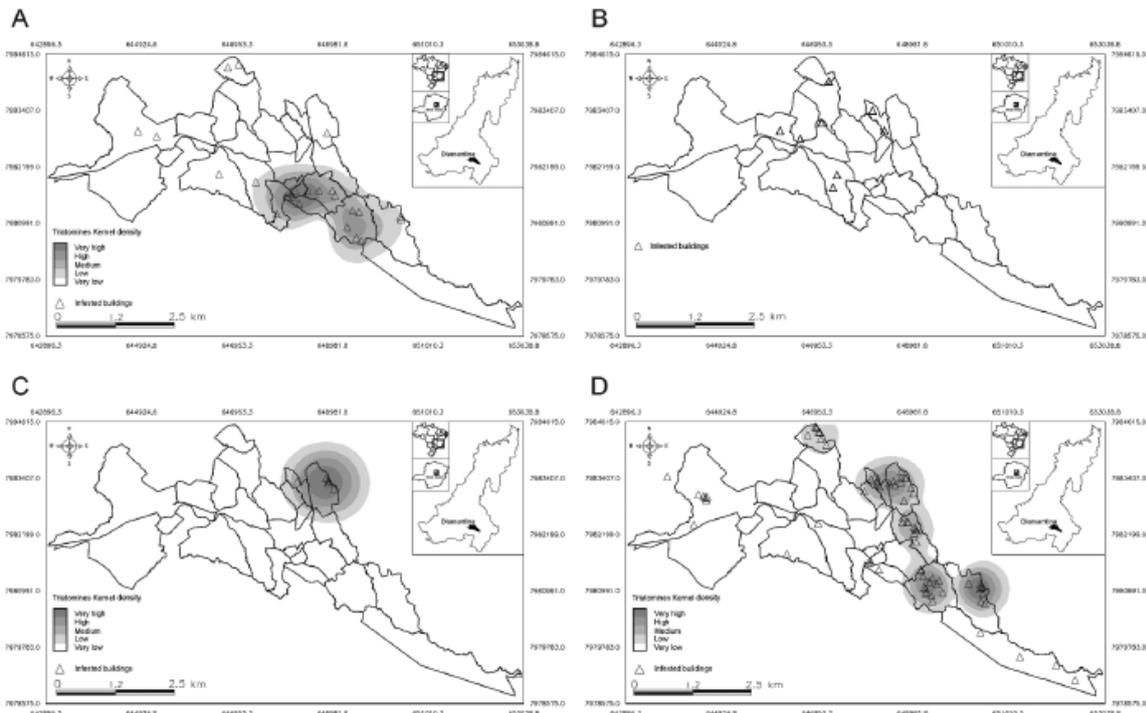


Fig. 3: spatial distribution of triatomines captured in the city of Diamantina, state of Minas Gerais, Brazil, September 2011-August 2014. A: *Panstrongylus geniculatus*; B: *Panstrongylus megistus*; C: *Triatoma arthurneivai*; D: *Triatoma vitticeps*.

The spatial distribution of infestation by *T. vitticeps* in Diamantina was clustered and was mainly observed in peripheral neighbourhoods. These areas represent the boundary between the urban area and the Cristais Mountains, a preserved area mainly covered by *campos rupestres*. This condition may explain the fact that domiciles infested by *T. vitticeps* were closer to open-fields than uninfested random points. The terrain in this area is irregular, exhibiting fissured rocks. Notably, Leite et al. (2010) observed that domiciliary infestation by *T. vitticeps* is associated with areas where the terrain is highly variable, in which crevices might be the shelter for triatomine hosts in ES.

Higher NDVI values close to *T. vitticeps* infested domiciles (even when those houses were far from forest fragments) might be associated with border areas with a low building density, so that circles around infested houses would include a smaller area lacking vegetation.

Although *P. geniculatus* is considered a sylvatic triatomine, it was observed colonising pigsties in Brazil (Valente et al. 1998) and was involved in oral acute Chagas disease urban outbreaks in Venezuela (Alarcón de Noya et al. 2010, Muñoz-Calderón et al. 2013) and vectorial transmission of *T. cruzi* in Peru (Vega et al. 2006). The high infection rates observed for this triatomine may be explained by its association with important hosts of *T. cruzi*, particularly armadillos (Chagas 1912, Martins et al. 1940, Barretto 1979, Alvarado-Otegui et al. 2012). Species distribution in Diamantina was more

conspicuous in areas close to open-fields and forest fragments that may be the natural foci of these species.

P. megistus is the most important *T. cruzi* vector in the vast areas of Brazil. In the urban area of Diamantina, this triatomine was randomly distributed in areas with low vegetation cover as estimated by NDVI values. However, it is worth remarking that isolated patches with high NDVI values were found next to houses infested by *P. megistus*. These patches may represent small forest fragments that would maintain the sylvatic foci of *P. megistus*, where adults could disperse from, as observed by Santos Jr et al. (2013), into other urban areas of Brazil. Flight represents the main dispersal mechanism for triatomines and, as observed for *T. infestans* and *Triatoma sordida*, these insects can easily span distances greater than 100 m (Schofield et al. 1991, 1992).

T. arthurneivai is a rarely captured species, reported only in areas covered by *campos rupestres*, located in the southern part of the Espinhaço Mountain Range (Lent & Martins 1940, Dias et al. 2011). Based on its restricted distribution and singular characteristics of vegetation and relief, Dias et al. (2011) proposed that the Espinhaço Mountain Range is the endemic area of this triatomine. The present study results agreed with these previous observations; infestations by *T. arthurneivai* were clustered in hotspots of occurrence found near borders between the urban area and the Cristais Mountains, a segment of the Espinhaço Mountain range.

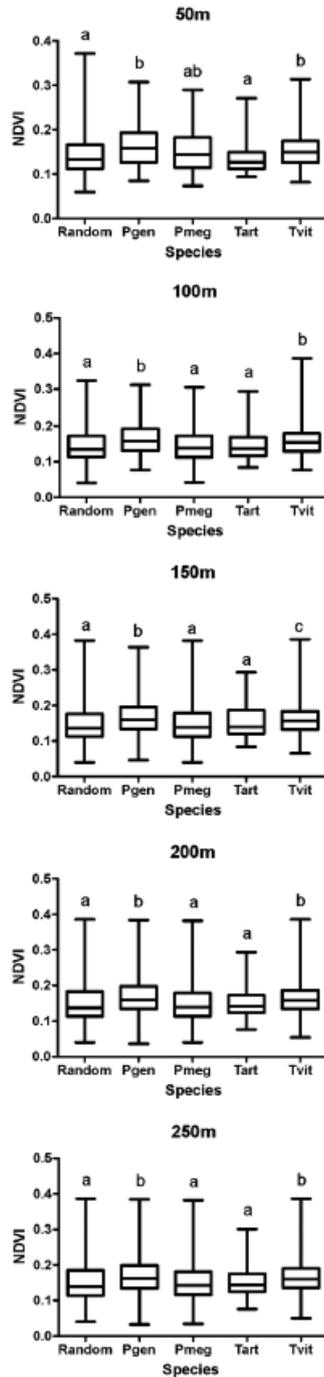


Fig. 4: normalized density vegetation index (NDVI) around triatomine-infested buildings and “uninfested” areas in the city of Diamantina, state of Minas Gerais, Brazil, according to radius surrounding infested and “uninfested” sites. Different letters represent significant statistical differences ($p \leq 0.05$) between groups in the Kruskal-Wallis test. Pgen: *Panstrongylus geniculatus*; Pmeg: *Panstrongylus megistus*; random: randomized points in uninfested areas; Tart: *Triatoma arthurneivai*; Tvit: *Triatoma vitticeps*.

Despite the success in eliminating domestic populations of triatomines, the Chagas disease control services of Brazil face challenges in maintaining the entomologic surveillance. Although most triatomines captured in Diamantina domiciles have low colonisation capacity in houses, their high prevalence of trypanosome infections may represent a considerable risk for the transmission of *T. cruzi* to humans. Thus, in areas such as Diamantina, where there is a mosaic of urban areas and naturally preserved environments that may function as “dispersive islands”, strengthening entomological surveillance efforts in these scenarios is needed.

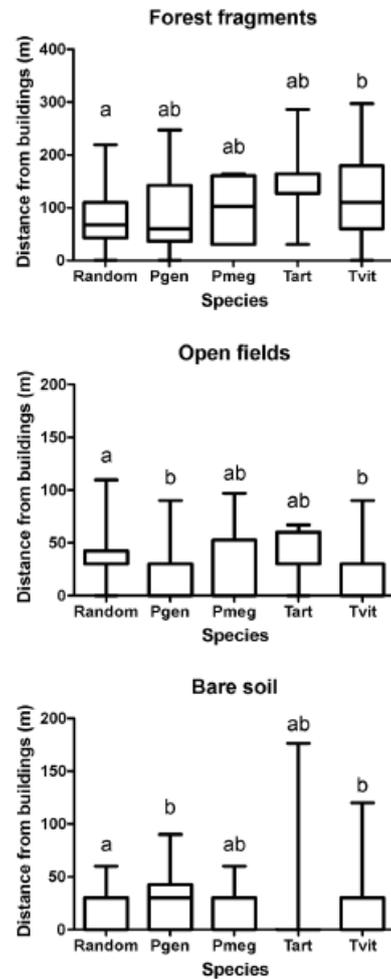


Fig. 5: distances from triatomine-infested buildings and “uninfested” points to areas with distinct land cover in the city of Diamantina, state of Minas Gerais, Brazil. Different letters represent significant statistical differences ($p \leq 0.05$) between groups in the Kruskal-Wallis test. Pgen: *Panstrongylus geniculatus*; Pmeg: *Panstrongylus megistus*; random: randomized points in uninfested areas; Tart: *Triatoma arthurneivai*; Tvit: *Triatoma vitticeps*.

ACKNOWLEDGEMENTS

To Adilson dos Santos, Ednilson Oliveira, Helder Souza, Josimar Ferreira, and Mauro Machado, for support in data collection, and to Kelly McMaster, for English revision.

REFERENCES

- Abad-Franch F, Diotaiuti L, Gurgel-Gonçalves R, Gürtler RE 2013. Certifying the interruption of Chagas disease transmission by native vectors: *cui bono?* *Mem Inst Oswaldo Cruz* 108: 251-254.
- Alarcón de Noya B, Diaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-Guevara R, Mauriello L, Zavala-Jaspe R, Suarez JA, Abate T, Naranjo L, Paiva M, Rivas L, Castro J, Márquez J, Mendoza I, Acquatella H, Torres J, Noya O 2010. Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. *J Infect Dis* 201: 1308-1315.
- Alvarado-Otegui JA, Ceballos LA, Orozco MM, Enriquez GF, Cardinal MV, Cura C, Schijman AG, Kitron U, Gürtler RE 2012. The sylvatic transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of the humid Chaco of Argentina. *Acta Trop* 124: 79-86.
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JLM, Sparovek G 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Z* 22: 711-728.
- Barretto MP 1979. Epidemiologia. In Z Brenner, Z Andrade (orgs.), *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*, Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, p. 89-151.
- Câmara G, Souza RCM, Freitas UM, Garrido J 1996. SPRING: integrating remote sensing and GIS by object-oriented data modeling. *Comput Graphics* 20: 395-403.
- Carvalho DB, Almeida CE, Rocha CS, Gardim S, Mendonça VJ, Ribeiro AR, Alves ZCPVT, Ruellas KT, Vedoveli A, Rosa JA 2014. A novel association between *Rhodnius neglectus* and the *Livistona australis* palm tree in an urban center foreshadowing the risk of Chagas disease transmission by vectorial invasions in Monte Alto city, São Paulo, Brazil. *Acta Trop* 130: 35-38.
- Chagas C 1912. Sobre um *Trypanosoma* do tatu, *Tatusia novencincta*, transmitido pelo *Triatoma geniculata* Latr (1811). Possibilidade de ser o tatu um depositário do *Trypanosoma cruzi* no mundo exterior. Nota prévia. *Braz Med* 26: 305-336.
- Chavez Jr PS 1988. An improved dark-object subtraction technique for atmospheric scattering correction of multispectral data. *Remote Sens Environ* 24: 459-479.
- Costa FN 2005. Campos rupestres. In AC Silva, LCVSF Pedreira, PA Almeida-Abreu (orgs.), *Serra do Espinhaço Meridional: paisagens e ambientes*, O Lutaador, Belo Horizonte, p. 139-145.
- Coura JR 2007. Chagas disease: what is known and what is needed - A background article. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (Suppl. I): 113-122.
- Diamantina 2009. *Plano diretor participativo do município de Diamantina/MG. Documento técnico*. Available from: camaradiamantina.com.br/PlanoDiretor/DI_relatório_técnico_volume_I_09-08-11.pdf.
- Dias JCP 2007. Southern Cone Initiative for the elimination of domestic populations of *Triatoma infestans* and the interruption of transfusional Chagas disease. Historical aspects, present situation, and perspectives. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 102 (Suppl. I): 11-18.
- Dias JCP, Feitosa VR, Ferraz Filho AN, Rodrigues VLC, de Alencar SA, Sessa PA 1989. Fonte alimentar e potencial vetorial de *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) com relação à doença de Chagas humana no estado do Espírito Santo, Brasil (Hemiptera, Reduviidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84 (Suppl. IV): 165-173.
- Dias JCP, Loyola CCP, Brenner S 1985. Doença de Chagas em Minas Gerais: situação atual e perspectivas. *Rev Bras Malariol Doencas Trop* 37: 7-28.
- Dias JVL, Avelar BA, Cirqueira-Júnior H, Diotaiuti L, Pires HHR 2011. Capture of *Triatoma arthurneivai* (Hemiptera: Reduviidae) using a new luminous trap in Southeast Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 44: 774-776.
- Dixon PM 2002. Ripley's K-function. In AH El-Shaarawi, WW Piegorisch (orgs.), *Encyclopedia of environmetrics*. Available from: biostat.umn.edu/~dipankar/pubh8472/RipleysK.pdf.
- dos Santos A, Letro RB, Bem VAL, Azeredo BV, Coelho GL, Diotaiuti L, Machado-de-Assis GF, Lana M 2014. Evaluation of the Chagas disease control program in Açucena municipality, Rio Doce Valley, state of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 47: 186-192.
- dos Santos CB, Ferreira AL, Leite GR, Ferreira GEM, Rodrigues AAF, Falqueto A 2005. Peridomiciliary colonies of *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infected with *Trypanosoma cruzi* in rural areas of the state of Espírito Santo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 471-473.
- dos Santos CB, Leite GR, Ferreira GEM, Ferreira AL 2006a. Infecção natural de *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) por flagelados morfológicamente semelhantes ao *Trypanosoma cruzi* no estado do Espírito Santo. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 89-91.
- dos Santos CB, Leite GR, Sessa PA, Falqueto A 2006b. Dynamics of feeding and defecation in *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) and its potential in the transmission of *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101: 543-546.
- Eiten G 1992. Natural Brazilian vegetation types and their causes. *An Acad Bras Cienc* 64: 35-65.
- Gatrell AC, Bailey TC, Diggle PJ, Rowlingson BS 1996. Spatial point pattern analysis and its application in geographical epidemiology. *Trans Inst Br Geogr* 21: 256-274.
- Gonçalves TCM, de Oliveira E, Dias LS, Almeida MD, Nogueira WO, Pires FDA 1998. An investigation on the ecology of *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) and its possible role in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the locality of Triunfo, Santa Maria Madalena municipal district, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 93: 711-717.
- Gonçalves TCM, Rocha DS, Cunha RA 2000. Feeding patterns of *Triatoma vitticeps* in the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Saude Publica* 34: 348-352.
- Gürtler RE, Cecere MC, Fernández MP, Vazquez-Prokopec GM, Ceballos LA, Gurevitz JM, Kitron U, Cohen JE 2014. Key sources habitats and potential dispersal of *Triatoma infestans* populations in northwestern Argentina: implications for vector control. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e3238.
- Guzman-Tapia Y, Ramirez-Sierra MJ, Dumonteil E 2007. Urban infestation by *Triatoma dimidiata* in the city of Mérida, Yucatán, México. *Vector Borne Zoonotic Dis* 7: 597-606.
- Lagrotta MTF, Silva WC, Souza-Santos R 2008. Identification of key areas for *Aedes aegypti* control through geoprocessing in Nova Iguaçu, Rio de Janeiro state, Brazil. *Cad Saude Publica* 24: 70-80.
- Leite GR, Santos CB, Falqueto A 2010. Influence of the landscape on dispersal of sylvatic triatomines to anthropic habitats in the Atlantic Forest. *J Biogeogr* 38: 651-663.
- Lent H, Martins AV 1940. Estudos sobre os triatomídeos do estado de Minas Gerais, com descrição de uma espécie nova. *Rev Entomol* 11: 877-886.
- Lorosa ES, Santos CM, Jurberg J 2008. Foco da doença de Chagas em São Fidélis, no estado do Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 41: 419-420.
- Lorosa ES, Valente MVMP, Cunha V, Lent H, Jurberg J 2003. Foco de doença de Chagas em Arcádia, estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 885-887.

- Maeda MH, Knox MB, Gurgel-Gonçalves R 2012. Occurrence of synanthropic triatomines (Hemiptera: Reduviidae) in the Federal District of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 45: 71-76.
- Martins AV, Versiani V, Tupinambá A 1940. Estudos sobre a tripanosomiase americana em Minas Gerais, Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 35: 285-301.
- MP/IBGE - Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão/Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2014. *Resolução nº 2*, Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 28 agosto 2014, Seção I, nº 165, p. 98-115.
- MS/SUCAM/DIDoch - Ministério da Saúde/Superintendência de Campanhas de Saúde Pública/Divisão de Doença de Chagas 1980. *Inquérito sorológico: prevalência por município*, Centro de Documentação do Ministério da Saúde, Brasília.
- Muñoz-Calderón A, Diaz-Bello Z, Valladares B, Noya O, López MC, Alarcón de Noya B, Thomas MC 2013. Oral transmission of Chagas disease: typing of *Trypanosoma cruzi* from five outbreaks occurred in Venezuela shows multiclonal and common infections in patients, vectors, and reservoirs. *Infect Genet Evol* 17: 113-122.
- OPS - Organización Panamericana de la Salud 1993. Taller de definición de indicadores para la certificación de la eliminación de *Triatoma infestans*. *Rev Soc Bras Med Trop* 26: 51-54.
- Rassi Jr A, Rassi A, Marin-Neto JA 2010. Chagas disease. *Lancet* 375: 1388-1402.
- Reis RQ, Caran GF, Dias JVL, Pires HHR, Diotaiuti LG, Martins HR 2013. Caracterização genética de *Trypanosoma cruzi* de triatomíneos naturalmente infectados oriundos de municípios do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. Anais da II Semana da Integração do Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Available from: sgea.ufvjm.edu.br/sintegra2013/files/publico/Anais_II_Sintegra_2013.pdf.
- Ribeiro Jr G, Gurgel-Gonçalves R, Reis RB, Santos CGS, Amorim A, Andrade SG, Reis MG 2015. Frequent house invasion of *Trypanosoma cruzi*-infected triatomines in a suburban area of Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 9: e0003678.
- Rodrigues VLCC, Pauliquevis Jr C, Silva RA, Wanderley DMV, Guirardo MM, Rodas LAC, Casanova C, Pachioni ML, Souza WA, Costa AJB, Baitelo D, Toniatti VLB 2014. Colonization of palm trees by *Rhodnius neglectus* and household and invasion in an urban area, Araçatuba, São Paulo state, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 56: 213-218.
- Sangenis LHC, Saraiva RM, Georg I, Castro L, Lima VS, Roque ALR, Xavier SCC, Santos LC, Fernandes FA, Sarquis O, Lima MM, Carvalho-Costa FA, Bóia MN 2015. Autochthonous transmission of Chagas disease in Rio de Janeiro state, Brazil: a clinical and eco-epidemiological study. *BMC Infect Dis* 15: e4.
- Santana KSO, Bavia ME, Lima AD, Guimarães ICS, Soares ES, Silva MMN, Mendonça J, Martin MS 2011. Spatial distribution of triatomines (Reduviidae: Triatominae) in urban areas of the city of Salvador, Bahia, Brazil. *Geospat Health* 5: 199-203.
- Santos Jr JE, Viola MG, Lorosa ES, Machado EMM, Ruas-Neto AL, Corseuil E 2013. Evaluation of natural foci of *Panstrongylus megistus* in a forest fragment in Porto Alegre, state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 46: 575-583.
- Schofield CJ, Lehane MJ, McEwen P, Catalá SS, Gorla DE 1991. Dispersive flight by *Triatoma sordida*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 85: 676-678.
- Schofield CJ, Lehane MJ, McEwen P, Catalá SS, Gorla DE 1992. Dispersive flight by *Triatoma infestans* under natural climatic conditions in Argentina. *Med Vet Entomol* 6: 51-56.
- Souza RCM, Diotaiuti L, Lorenzo MG, Gorla DE 2010. Analysis of the geographical distribution of *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) based on data of species occurrence in Minas Gerais, Brazil. *Infect Genet Evol* 10: 720-726.
- UNESCO - United Nations Educational, Scientific, and Cultural Organization 2000. World Heritage Committee 2000. Convention concerning the protection of the world cultural and natural heritage - report. Available from: whc.unesco.org/archive/1999/whc-99-conf209-22e.pdf.
- Valente VC, Valente SA, Noireau F, Carrasco HJ, Miles MA 1998. Chagas disease in the Amazon Basin: association of *Panstrongylus geniculatus* (Hemiptera: Reduviidae) with domestic pigs. *J Med Entomol* 35: 99-103.
- Vasconcelos MF 2011. O que são campos rupestres e campos de altitude nos topos de montanha do leste do Brasil? *Revista Brasil Bot* 34: 241-246.
- Vega S, Mendoza A, Cabrera R, Cáceres AG, Campos E, Ancca J, Pinto J, Torres S, Cabrera D, Yale G, Cevallos R, Náquira C 2006. Primer caso de enfermedad de Chagas aguda en la Selva Central del Perú: investigación de colaterales, vectores y reservorios. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 23: 288-292.
- Vieira JPG, Souza MJH, Teixeira JM, Carvalho FP 2010. Estudo da precipitação mensal durante a estação chuvosa em Diamantina, Minas Gerais. *Rev Bras Eng Agric Ambient* 14: 762-767.

Ciência & Saúde Coletiva

Decision Letter (CSC-2015-0779.R1)**From:** romeugo@gmail.com**To:** jvigento@yahoo.com.br, joao.dias@ufvjm.edu.br**CC:** cienciasaudecoletiva@fiocruz.br, raimangas.mangas1@gmail.com**Subject:** Ciência & Saúde Coletiva - Decision on Manuscript ID CSC-2015-0779.R1**Body:** 09-Sep-2015

Dear Mr. Dias:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Conhecimentos sobre triatomíneos e sobre a doença de Chagas em localidades com diferentes níveis de infestação vetorial" for publication in the *Ciência & Saúde Coletiva*.

In order for your manuscript to be edited, we would ask that you include the text in a single file with the: (1) Title (in Portuguese and in the foreign language); (2) Authors (full name, institution and e-mail); (3) Summary (in Portuguese and in the foreign language); (4) Keywords (in Portuguese and in the foreign language); (5) Full text of the article (from the introduction to the references) and (6) Illustrative material (if any, in up to 5 units).

We note that this file, which cannot be in PDF format, must have the same content as the manuscript which was reviewed. It is this version which shall be published.

The file and the declarations attached should be sent to the e-mail: cienciasaudecoletiva@fiocruz.br

Thank you for your contribution,

Prezado(a) Mr. Dias:

É um prazer aceitar o seu manuscrito intitulado "Conhecimentos sobre triatomíneos e sobre a doença de Chagas em localidades com diferentes níveis de infestação vetorial" para publicação na revista *Ciência & Saúde Coletiva*.

Para que o seu manuscrito seja editorado, solicitamos que você reúna em um único arquivo um texto com: (1) Título (em português e na língua estrangeira); (2) Autores (nome completo, instituição e e-mail); (3) Resumo (em português e na língua estrangeira); (4) Palavras-Chave (em português e na língua estrangeira); (5) Corpo completo do artigo (indo desde a introdução até as referências) e (6) Material ilustrativo (caso haja, em até cinco unidades).

Observamos que esse arquivo – que não pode ser em formato de PDF – deve ter o mesmo conteúdo do manuscrito que foi avaliado. É essa versão que será publicada.

O arquivo e as declarações em anexo devem ser enviados para o e-mail: cienciasaudecoletiva@fiocruz.br

Obrigado pela sua contribuição,

Sincerely, / Atenciosamente,
Dr. Romeu Gomes
Editor-in-Chief, *Ciência & Saúde Coletiva*
romeugo@gmail.com

Date Sent: 09-Sep-2015**File 1:** * Declarações-de-artigos-aprovados.doc Close Window

Título: Conhecimentos sobre triatomíneos e sobre a doença de Chagas em localidades com diferentes níveis de infestação vetorial

Title: Knowledge of triatomines and Chagas disease in localities with different levels of vector infestation

Autores:

João Victor Leite Dias^{1,2}

¹ Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas, Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ. Avenida Augusto de Lima 1715, Barro Preto. 30150-002 Belo Horizonte MG Brasil;

² Grupo Jequi Saúde Coletiva, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri;

e-mail: joao.dias@ufvjm.edu.br

Dimas Ramon Mota Queiroz

² Grupo Jequi Saúde Coletiva, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri;

³ Programa de Pós-graduação em Saúde, Sociedade e Ambiente, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

e-mail: dimasrmq@msn.com

Liléia Diotaiuti

¹ Laboratório de Triatomíneos e Epidemiologia da Doença de Chagas, Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ.

e-mail: diotaiut@cpqrr.fiocruz.br

Herton Helder Rocha Pires

² Grupo Jequi Saúde Coletiva, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri;

³ Programa de Pós-graduação em Saúde, Sociedade e Ambiente, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

e-mail: herton.pires@ufvjm.edu.br

Resumo A participação comunitária constitui a principal estratégia para manutenção da vigilância entomológica da doença de Chagas. O objetivo deste estudo foi avaliar conhecimentos sobre triatomíneos e a doença de Chagas entre moradores de oito localidades de Diamantina, Minas Gerais, atentando a uma eventual relação entre os conhecimentos e a infestação vetorial. Para avaliação dos conhecimentos foi aplicado questionário com questões fechadas e abertas a 583 moradores com idade igual ou superior a dez anos e, para avaliar a capacidade de reconhecimento de triatomíneos, foi apresentado mostruário com insetos. As respostas às questões fechadas foram analisadas quanto à frequência e associação com a infestação triatomínica. As respostas às questões abertas foram organizadas em eixos temáticos e analisadas descritivamente. Embora a capacidade de reconhecer os triatomíneos não tenha sido associada à infestação das localidades, os residentes em áreas com maior infestação demonstraram conhecer melhor os serviços de referência e a necessidade de encaminhar os insetos a estes. Não foi observada associação entre a infestação triatomínica e os conhecimentos sobre a doença de Chagas. Os resultados ora apresentados podem orientar ações de educação em saúde voltadas para a participação da comunidade na notificação de triatomíneos.

Palavras-chave: Conhecimento; Doença de Chagas; Controle vetorial.

Abstract Community participation represents the main strategy to maintain entomological surveillance of Chagas disease. This study aims to evaluate knowledge of triatomines and Chagas disease among residents from eight localities in the municipality of Diamantina, Minas Gerais, observing possible association between knowledge and vector infestation. In order to evaluate knowledge a questionnaire comprising multiple choices and open-ended questions was applied to 583 people being ten years old or more. To evaluate capability in recognizing triatomines, a showcase with insects was used. Response to multiple choice questions was evaluated according to frequency and association with triatomine infestation. Responses to open-ended questions were organized in themes and analyzed descriptively. It was observed that, although triatomine recognition ability was not significantly related to infestation levels of localities, people from most commonly infested areas were more informed about health services and the need to send the insects to them. No association was observed between triatomine infestation and specific knowledge about Chagas disease. These results may orient activities of health education involving community participation in triatomines notification.

Keywords: Knowledge; Chagas disease; Vector control.

Introdução

A doença de Chagas representa uma endemia de grande importância no continente Americano, onde acomete principalmente populações vulneráveis de zonas rurais que vivem em precárias condições de habitação. A transmissão vetorial

do *Trypanosoma cruzi* (Chagas 1909) responde como a principal forma de infecção ao homem 1. Os vetores são hemípteros hematófagos de 149 espécies, pertencentes à subfamília Triatominae, popularmente conhecidos como 'barbeiros' 2,3.

No Brasil, as ações de combate à doença de Chagas, desde os seus primórdios, focalizaram no controle de vetores no ambiente domiciliar, sendo conduzidas em forma de campanha na década de 1950, alcançando toda a área então endêmica em meados de 1980, por meio do Programa de Controle da Doença de Chagas (PCDCh), sob coordenação e execução direta do governo federal por meio da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) 4.

O PCDCh seguiu o modelo da Campanha de Erradicação da Malária, tendo sido estruturado em três grandes fases: fase de reconhecimento geográfico e levantamento triatomínico, fase de ataque ao vetor domiciliado e fase de vigilância entomológica. Nas duas primeiras fases as ações tinham caráter vertical, com presença ostensiva de agentes visitando residências em busca de insetos e aplicando inseticidas de ação residual nas habitações da área endêmica. Na fase de vigilância entomológica, por outro lado, a baixa infestação domiciliar dificultava a detecção de vetores por pesquisa direta dos agentes, não justificando, do ponto de vista de custo-efetividade, a permanência dos mesmos no campo, em extensas áreas, muitas vezes de difícil acesso. Nesse contexto, a detecção dos triatomíneos cabia majoritariamente aos moradores que, ao encontrarem algum inseto suspeito, encaminhavam para uma pessoa da comunidade, responsável por um dos Postos de Informação de Triatomíneos (PIT), geralmente sediados em escolas, postos de saúde ou residências. A partir dos PIT o inseto era enviado ao serviço de saúde para identificação e exame para detecção de tripanossomatídeos. Uma vez confirmado

que o inseto era um triatomíneo, um agente de campo visitava a residência notificante e conduzia uma busca de outros espécimes e, em caso positivo, executava a borrifação com inseticidas em todo o imóvel e em seus anexos peridomiciliares 5,6,7.

Atualmente, graças aos esforços de controle, a transmissão vetorial da infecção chagásica no Brasil encontra-se controlada 1. Nesse contexto, a vigilância entomológica com participação comunitária é reconhecida de forma mais ampla do que uma fase dentro do PCDCCh, constituindo-se como estratégia contínua e sustentada no tempo e espaço para prevenção de novas infecções 7.

O Vale do Jequitinhonha, localizado na porção nordeste do estado de Minas Gerais representa uma das regiões mais pobres no Brasil, tendo sido, no século XX, uma das áreas com maior incidência da doença de Chagas, com presença recorrente de triatomíneos nos domicílios, e também uma das primeiras regiões no país a empreender atividades de controle desses vetores 7,8,9.

As primeiras ações datam dos anos 1960, quando o Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu) levou a cabo a desinsetização de residências por meio de inseticidas, executada por agentes de saúde outrora envolvidos na Campanha de Erradicação da Malária 9,10. Nos anos 1970, as ações ficaram a cargo de consórcio estabelecido entre a Comissão de Desenvolvimento do Vale do Jequitinhonha (CODEVALE) e o Centro Regional de Saúde de Diamantina. Entre 1975 e 1976, grande parte da região se encontrava sob vigilância entomológica com participação ativa do professorado rural no recebimento de notificações de triatomíneos. Nos anos posteriores, entretanto, as atividades arrefeceram progressivamente devido ao enfraquecimento do papel executivo do Centro Regional e a baixa adesão dos municípios, o que favoreceu o recrudescimento das

colônias intradomiciliares de triatomíneos, sobretudo *Panstrongylus megistus* (Burmeister 1835) e *Triatoma infestans* (Klug 1834). Tal situação justificou a retomada das ações intensivas de levantamento triatomínico e ataque aos vetores na década de 1980, quando a SUCAM assumiu o PCDCh na região 7,11.

Desde o ano de 1999, a execução das ações de vigilância entomológica da doença de em todo o país está sob a responsabilidade dos municípios. As atividades consistem principalmente em notificações de insetos suspeitos por parte dos moradores ao serviço de referência (postos de saúde, escolas) e conseqüentemente visitas de agentes de combate a endemias aos imóveis notificantes em busca de outros triatomíneos, quando em caso positivo é realizada a desinsetização.

Nessa conjuntura, a participação da comunidade na notificação de triatomíneos é de fundamental importância para a manutenção do controle de vetores domiciliares. Entretanto, tem sido observado que, com o sucesso na redução da transmissão da infecção chagásica, somado ao aparecimento de outros agravos que carregam maior visibilidade na mídia e na comunicação em saúde, parte da população, principalmente os mais jovens, os quais não vivenciaram os contextos de transmissão ativa da doença de Chagas associada à alta infestação triatomínica, têm dificuldades em reconhecer e encaminhar devidamente os insetos aos serviços 12,13.

Nesse sentido, é necessário que a problemática vetorial da doença de Chagas permaneça nas ações de educação em saúde a fim de assegurar a sustentabilidade da vigilância, garantindo o acesso da população a informações que constituam conhecimento sobre a doença – conhecimento aqui compreendido como um fenômeno de relação entre sujeito e objeto, sendo a apreensão do objeto pelo sujeito considerada verdadeira do ponto de vista científico quando devidamente

consoante com a experimentação e observação 14. Sendo o conhecimento resultado de uma relação que envolve o sujeito, a incorporação deste à prática cotidiana depende, entre outras coisas, das crenças, interesses, valores e do contexto social das pessoas envolvidas 15.

Um dos grandes desafios para as ações de prevenção e controle de doenças é justamente transpor, tanto no nível das instituições como no nível individual, o hiato existente entre o que se sabe e o que se faz, distanciamento conhecido como “*know-do gap*” 16. De acordo com a Organização Mundial da Saúde 17, uma das ferramentas importantes para orientar estratégias de mitigação do “*know-do gap*” é a identificação dos conhecimentos da população a respeito das temáticas de interesse para a saúde, o que pode auxiliar no reconhecimento dos pontos fracos e lacunas como passo inicial nos processos de translação do conhecimento que em suma consiste na incorporação de conhecimentos adquiridos por meios científicos ou por evidência prática ao cotidiano de gestores, prestadores e usuários como forma de garantir a melhor assistência à saúde 18.

Em se tratando da vigilância entomológica da doença de Chagas, dado seu importante componente de participação popular, é possível inferir que pessoas que não conhecem os triatomíneos nem sua importância epidemiológica não notificam os insetos aos serviços de saúde, conseqüentemente não havendo atendimento e captura por agentes de controle, resultando em subnotificação do número de triatomíneos em áreas onde possa eventualmente ocorrer infestação.

Destarte, a identificação dos conhecimentos que as pessoas têm em relação aos triatomíneos e a doença de Chagas pode contribuir para a orientação de ações em saúde no sentido de fortalecer a participação comunitária na vigilância dos vetores da infecção chagásica. Assim, o presente estudo propôs avaliar tais

conhecimentos entre moradores de localidades com diferentes índices de infestação vetorial no município de Diamantina, localizado na região do Alto Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, região endêmica para a doença de Chagas.

Métodos

A área de estudo compreendeu localidades urbanas e rurais do município de Diamantina, localizado na região do Vale do Jequitinhonha, nordeste do estado de Minas Gerais, e que possuía, no ano de 2014, população estimada em 47.803 habitantes em uma área de 3.891,659 km², distribuídos em 333 localidades, sendo 25 bairros localizados na sede e 308 comunidades situadas no restante do município. A população urbana representa aproximadamente 87% da população total 19.

Segundo o Inquérito Sorológico Nacional, realizado no início da década de 1980, o município de Diamantina apresentava sorologia positiva para o *T. cruzi* em 11,7% da população, superando as médias do estado de Minas Gerais e do Brasil, que eram de 8,8% e 4,2%, respectivamente 20.

Para a definição das localidades de estudo, foi criado um critério em que todas as localidades do município foram agrupadas em quatro categorias conforme o número de triatomíneos capturados no ambiente domiciliar mediante notificações e atendimentos, entre os anos de 2001 e 2011, período para o qual se dispunham de informações entomológicas detalhadas.

Dessa forma, as categorias incluíram: localidades sem infestação (ausência de triatomíneos no período), localidades de baixa infestação (correspondentes ao tercil com menor número de triatomíneos – de um a cinco insetos), média infestação

(correspondentes ao segundo tercil – entre seis e 41 insetos) e alta infestação (correspondentes ao tercil das localidades com maior número de triatomíneos – entre 42 e 124 insetos). Foram selecionadas duas localidades de cada categoria, sendo uma pertencente ao núcleo urbano da sede municipal (bairros) e uma localizada fora da sede (localidades rurais), conforme divisão adotada pela Fundação Nacional de Saúde em que todas as localidades fora das sedes municipais constituem localidades rurais 21. Por questões logísticas e de maior facilidade de acesso, foi realizado sorteio entre as localidades que atendessem ao critério de estar no máximo a 40 km de distância da sede do município, sendo também semelhantes quanto ao relevo e vegetação (cerca de 1000 m acima do nível do mar e vegetação predominante de campo rupestre). Além disso, optou-se por sortear novamente uma localidade caso outra localidade limítrofe já tivesse sido sorteada.

Dessa forma, as localidades escolhidas com suas respectivas populações residentes, de acordo com dados da Prefeitura Municipal de Diamantina, foram: Bairro Serrano (291 habitantes) e Fazenda Bandeirinha (58) como localidades sem infestação, Bairro Santo Inácio (547) e Povoado do Vau (101) como baixa infestação, Bairro Gruta de Lourdes (328) e Povoado de Quartel do Indaiá (105) como média infestação, Bairro Cidade Nova (1298) e Vila de Extração (268) como alta infestação. Cabe ressaltar que os dados disponíveis sobre o tamanho das populações datavam de 2003, devido à carência de atualizações de registros pela prefeitura.

Embora tradicionalmente vinculada ao meio rural, a infestação triatomínica na sede municipal de Diamantina tem sido recorrente, sobretudo em bairros periféricos, o que justificou a necessidade de inclusão de localidades urbanas nesse estudo.

Para a levantamento dos conhecimentos da população sobre os vetores do *T. cruzi* e a doença de Chagas, foi aplicado questionário de acordo com os modelos de Silveira *et al* 12 e Villela *et al* 13. O instrumento continha doze questões de múltipla escolha e duas questões discursivas.

As questões de múltipla escolha versavam a respeito dos conhecimentos sobre os triatomíneos e condutas que devem ser adotadas em relação ao inseto (capacidade de o morador reconhecer o barbeiro entre insetos apresentados em mostruário, se alguma vez já tinha visto o inseto, se o entrevistado ou algum familiar fora picado pelo inseto, o que deveria fazer caso encontrasse um barbeiro, se o barbeiro transmitia alguma doença e, em caso positivo, qual seria a doença), sobre a doença de Chagas (se já ouvira falar sobre a doença, quais órgãos a mesma acomete, se conhece alguém que tenha a doença), e sobre saber ou não se existe algum local para onde possa levar os insetos e se há serviço de combate a esses insetos no município. As questões discursivas inquiriam sobre o que se deve fazer para evitar barbeiros em casa e se o morador gostaria de dar alguma sugestão ao serviço de controle da doença de Chagas no município.

Para avaliar a capacidade de reconhecimento de triatomíneos entre os entrevistados, ao início da aplicação do questionário foi exibido um mostruário com exemplares de hemípteros (um predador adulto, um adulto e uma ninfa de *P. megistus*, um adulto de *Rhodnius neglectus* Lent 1954, uma ninfa e um adulto de um hemíptero fitófago), sendo solicitado ao morador que apontasse qual ou quais insetos ele identificava como barbeiro. Foi considerado que o entrevistado conhecia o triatomíneo quando apontava pelo menos um exemplar corretamente, conforme Villela *et al* 13.

Os entrevistados foram adultos e crianças com idade igual ou superior a dez anos, abordados em suas próprias residências por dois entrevistadores previamente treinados que percorriam as localidades de casa em casa, objetivando cobrir o máximo de residências possível por localidade. Em cada casa eram entrevistadas individualmente todas as pessoas que quisessem participar do estudo e, no caso de menores, quando houvesse consentimento dos pais ou responsáveis. A coleta de dados foi conduzida entre dezembro de 2011 e setembro de 2013 com uma amostra significativa de 583 pessoas, considerando um nível de significância de 0,05.

A opção por incluir crianças no estudo foi baseada em observações anteriores que constataram que pessoas mais jovens têm dificuldades em reconhecer os triatomíneos, quando comparadas aos adultos, o que pode ser devido à perda de visibilidade da problemática da doença de Chagas no âmbito de transmissão vetorial controlada 12,13.

Após a aplicação dos questionários os entrevistadores reuniam os moradores da residência e conversavam a respeito dos triatomíneos e seu papel na transmissão infecção chagásica, além da importância da participação da população na detecção e no correto encaminhamento dos insetos aos serviços municipais de saúde.

Esse estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, sob o número de protocolo 084/11, respeitando as normas da resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. A participação na pesquisa foi condicionada à assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo participante ou, no caso de menores de 18 anos, pelos pais ou responsável legal.

As respostas foram tabuladas no programa Epi Info™ 3.5.4 22. As questões de múltipla escolha foram analisadas quanto à frequência das alternativas

apontadas, e analisadas quanto à associação com as diferentes categorias de infestação das localidades. A capacidade de reconhecer os triatomíneos foi também analisada de acordo com a faixa etária dos participantes e a zona de residência. As faixas etárias foram divididas entre pessoas com idade menor ou igual a 25 anos e maiores de 25 anos de idade, tendo sido adotado o critério devido ao período de nascimento daqueles coincidir com fases em que a transmissão vetorial da infecção chagásica já estava controlada na região. As análises estatísticas foram realizadas no programa BioEstat 5.0 23, sendo adotado teste de χ^2 com nível de significância de 0,05. As respostas às questões discursivas foram categorizadas de acordo com os eixos temáticos que emergiram do conteúdo das respostas dos entrevistados. Após a categorização, as frequências de respostas correspondentes a cada eixo foram analisadas de forma descritiva.

Resultados

Foram entrevistados 583 moradores (215 do sexo masculino e 368 do sexo feminino), sendo 388 da área urbana e 195 da área rural do município. O número de entrevistados por estrato de infestação foi de 81 (sem infestação), 105 (baixa infestação), 141 (média infestação) e 256 (alta infestação), com médias de idade de 39,16 (Desvio Padrão: $\pm 17,22$), 41,17 ($\pm 19,08$), 39,03 ($\pm 20,60$) e 40,52 ($\pm 19,50$) anos, respectivamente. Entre crianças e adolescentes menores de 18 anos foram entrevistadas 77 pessoas.

Não foi observada associação entre o número de entrevistados que afirmou saber reconhecer o triatomíneo e a categoria de infestação da localidade em que residiam e, quando exibidos os exemplares de hemípteros para identificação,

76,50% dos entrevistados reconheceram corretamente os triatomíneos, não havendo associação estatisticamente significativa entre a proporção de acertos e as localidades segundo o índice de infestação (Tabela 1). No tocante à faixa etária, igualmente não foi observada associação estatisticamente significativa entre os acertos, comparados os entrevistados menores de 25 anos e os com idade maior ou igual a 25 anos ($\chi^2 = 1,692$, $p = 0,2280$). Entretanto, quando comparadas as zonas de residência a proporção de acertos foi maior entre moradores da zona rural (85.13%) do que entre os da área urbana (71.91%) ($\chi^2 = 12,555$, $p = 0,0006$).

O triatomíneo mais apontado foi o *P. megistus* adulto (381 vezes), seguido pela ninfa da mesma espécie (95 vezes). O exemplar de *R. neglectus* foi apontado em 76 oportunidades.

Quando perguntados se já tinham visto os ‘barbeiros’, 71,36% (416) dos entrevistados responderam positivamente, sendo a proporção diferente entre as localidades (Tabela 1). Os locais mais relatados foram dentro de casa (43,28%), em locais associados a atividades laborais no meio rural – garimpos, matas, roças (19,13%), e em serviços de saúde (7,52%).

No que se refere à avaliação das condutas adotadas caso o entrevistado encontrasse um triatomíneo foi observada associação estatisticamente significativa entre os índices de infestação e as condutas referidas pelos moradores, sendo maior o percentual de condutas adequadas (entregar o inseto para algum serviço de referência) entre os moradores das áreas de média e alta infestação, em relação aos moradores das áreas sem infestação e de baixa infestação. Da mesma forma, uma vez questionados sobre a existência de algum lugar onde poderia levar algum barbeiro, a proporção de respostas afirmativas foi crescente conforme a categoria de infestação da localidade de residência dos entrevistados (Tabela 1). Os locais mais

indicados foram os serviços de saúde e as escolas, que nas áreas rurais muitas vezes funcionam como Postos de Informação de Triatomíneos (Tabela 2).

Do total de entrevistados, 25,04% (146) afirmaram conhecer alguém que já foi picado pelo inseto, sendo maior a proporção entre os moradores da área sem infestação. Também foi observado que 92,11% (537) dos entrevistados responderam que o barbeiro pode transmitir alguma doença, sendo que 83,71% (488) afirmaram ser essa a doença de Chagas, contudo não houve associação entre essas respostas e a infestação da localidade. Outras enfermidades apontadas incluíram febre amarela (2,06%), 'xistose'(0,86%), dengue (0,86%), calazar (0,52%), a malária (0,52%), o câncer (0,17%) e tuberculose (0,17%), sendo que estas três últimas não constavam entre as alternativas do questionário (Tabela 1).

Quanto a conhecer alguém que tem a doença de Chagas 59,18% (345) dos entrevistados responderam positivamente, sendo que 50,69% das respostas (183/361) apontaram amigos e/ou conhecidos. Entre os familiares, os pais corresponderam a 11,36% (41) das respostas, seguidos de 6,37% (23) para avós, 5,26% (19) para irmãos, e 23,55% (85) incluíram outros familiares. Dez pessoas (2,77%) relataram serem portadoras da infecção.

No que diz respeito aos órgãos que a doença pode atingir, o coração foi indicado em 72,96% das oportunidades (394/540), seguido por 6,30% (34) para o fígado, por 5,93% (32) para os pulmões, de 3,33% (18) para os rins, de 2,59% (14) para o intestino e de 1,67% (9) para o esôfago, sendo essas as alternativas presentes no questionário. Outras opções apresentadas pelos moradores incluíram sangue, cabeça, olhos, pernas, pele, músculo, costas, peito, sistema nervoso e baço e corresponderam a 7,22% (39) das indicações. Ademais, 93 das pessoas não

souberam ou não quiseram responder a essa questão mesmo após a leitura das opções disponíveis, sendo 20 dessas menores de 18 anos.

Sobre quais medidas os próprios moradores poderiam adotar para evitar os barbeiros em casa, predominaram em todas as áreas investigadas as respostas relacionadas à limpeza e organização da casa (Tabela 3).

Em relação à existência de serviço de controle da doença de Chagas no município, 39,62% (231) dos entrevistados respondeu afirmativamente, estando as maiores proporções associadas às áreas de média e alta infestação (Tabela 1). Foi facultado aos moradores apresentarem sugestões para o serviço de controle, tendo sido apresentadas 241 sugestões, conforme a Tabela 4.

Discussão

A vigilância entomológica com participação comunitária representa, atualmente, a principal estratégia para controle da transmissão vetorial da doença de Chagas. Nesse cenário a população contribui de forma relevante para a detecção e notificação de triatomíneos 24,25.

Entretanto, com os níveis de controle vetorial alcançados no Brasil, e mais especificamente com a certificação da eliminação da transmissão do *T. cruzi* pelo *T. infestans*, espécie alóctone principal incriminada na transmissão domiciliar, surgiu a falsa ideia da erradicação da doença de Chagas, o que, somado ao aparecimento de outros agravos com maior visibilidade, como a dengue, redundou no abandono das atividades de controle triatomínico em muitos municípios da área endêmica 26, 27.

Os resultados apontam uma capacidade de reconhecimento dos triatomíneos semelhantes entre as localidades no município de Diamantina, independentemente

do histórico de infestação e da faixa etária dos entrevistados. Em outros estudos, Silveira *et al* 12 e Villela *et al* 13 observaram, em Mambá e Buritinópolis (Goiás), e Bambuí (Minas Gerais), respectivamente, que as pessoas mais jovens não conhecem os vetores como os adultos. Essa discordância com os dados da literatura pode estar vinculada ao fato que no presente estudo foram contados como jovens as pessoas com idade igual ou inferior a 25 anos, enquanto os estudos supracitados trabalharam com faixas etárias mais baixas. Outra possibilidade a ser considerada é a diferença de infestação nessas áreas, visto que nas regiões estudadas por estes autores, *T. infestans* foi o principal vetor e, após as atividades de controle e também devido a alterações ambientais 28, a infestação intradomiciliar por outras espécies é quase nula, o que pode fazer com que os mais jovens não reconheçam o inseto. Em Diamantina, por outro lado, o encontro recorrente de triatomíneos nas casas pode favorecer a manutenção da habilidade dos moradores em reconhecê-los, inclusive entre os mais jovens.

No presente estudo os moradores da zona rural acertaram mais a identificação dos insetos. Isso pode estar relacionado à maior visibilidade que a doença de Chagas tem entre populações do meio rural, que são os que recebem ações direcionadas ao controle dos vetores com mais frequência devido ao caráter de transmissão predominante nessas áreas. Contudo, na cidade de Diamantina, assim como em outras regiões do Brasil e da América Latina, os crescentes relatos de triatomíneos em áreas urbanas, em alguns casos inclusive envolvidos na transmissão do *T. cruzi* ao homem, ressaltam a importância de tratar do assunto também nesse contexto 29,30,31.

Diferentemente da capacidade de reconhecimento dos triatomíneos, foi possível observar associação entre as atitudes dos moradores e a infestação domiciliar. Os

residentes das áreas de maior infestação afirmaram com maior frequência que deveriam encaminhar os insetos aos serviços de referência, além de estarem mais bem informados sobre a existência do serviço de controle no município de estudo.

Apesar de não ser possível, no presente estudo, afirmar que os conhecimentos e as atitudes dos moradores em relação aos triatomíneos refletem na prática das ações, não se pode igualmente descartar a possibilidade da infestação domiciliar estar subnotificada em localidades onde os moradores responderam que matariam ou não encaminhariam os triatomíneos aos serviços. Reforça essa hipótese a constatação de que muitos moradores das localidades consideradas sem infestação e de baixa infestação afirmaram já ter visto os triatomíneos dentro da sua própria casa ou de outrem. Essas observações suscitam reflexão sobre a necessidade de maior divulgação acerca do correto encaminhamento dos insetos ao serviço, uma vez que as localidades sem presença relatada desses podem, na verdade, estar em condição de subnotificação. Ademais, em localidades não notificantes, os serviços de referência não são acionados e os atendimentos às notificações não ocorrem. De acordo com Dias e Garcia 32, os atendimentos contribuem para a motivação da comunidade na continuidade das notificações e na participação ativa na vigilância sobre os vetores da infecção chagásica.

Além disso, a mobilização de pessoas da própria comunidade na vigilância entomológica pode estimular outras pessoas a aderir às ações. Nesse sentido, Buttenheim *et al* 33 observaram em Arequipa, Peru, que a participação de moradores de área urbana em uma campanha de controle de triatomíneos era maior quando seus vizinhos também aceitavam participar das atividades, e menor entre vizinhos que recusavam as ações, o que levou os autores a sugerirem uma espécie de contagiosidade da participação comunitária.

Assim como observado por Villela *et al* 13 em região do Estado de Minas Gerais, o principal triatomíneo identificado pela população foi o *P. megistus* adulto, o que, de acordo com esses autores está relacionado à importância epidemiológica da espécie no contexto local e a ênfase da imagem do mesmo nos materiais de divulgação e educação em saúde. À semelhança desse estudo, *P. megistus* é a principal espécie capturada no município de Diamantina desde as fases iniciais do PCDC 11. Essa observação é reforçada em trabalhos que demonstram que a maior frequência de detecção pelos moradores corresponde a exemplares adultos enquanto as ninfas são principalmente encontradas durante os trabalhos de busca pelos agentes de combate a endemias 24,25.

O fato do Vale do Jequitinhonha representar uma área com alta prevalência da infecção pelo *T. cruzi*, com grande contingente de chagásicos crônicos 34,35, pode ter refletido na grande proporção das pessoas que responderam positivamente tanto para conhecer alguém que já foi picado pelo vetor, como para alguém que tenha a doença de Chagas. Além disso, o caráter estigmatizante associado à doença de Chagas 36 também pôde ser percebido, mesmo que não intencionalmente, quando a maior parte dos entrevistados adotou o termo genérico 'conhecido' para designar quem tem a enfermidade.

A cardiopatia chagásica é a forma clínica sintomática mais comum na fase crônica da doença de Chagas no Brasil 37, com ocorrência acentuada em municípios no Vale do Jequitinhonha, acometendo até 42,7% e 55,7% dos infectados em estudos realizados nos municípios de Virgem da Lapa 34 e Berilo 35, respectivamente. A importância desta forma clínica no contexto regional pode ter sido responsável pela maior proporção de pessoas ter respondido que o coração é o

órgão afetado pela doença, o que também foi observado em outras áreas do Brasil 12,13,38.

Nos estudos desenvolvidos por Villela *et al* 13 e Maeda e Gurgel-Gonçalves 38, em Minas Gerais e no Distrito Federal, respectivamente, a limpeza da casa foi mencionada como a principal ação para evitar os triatomíneos, seguida pela utilização de inseticida. No presente estudo, também foi mencionada mais frequentemente a limpeza geral da casa, porém a utilização de inseticidas foi pouco referida, ficando em quarto lugar entre as respostas. Isto pode estar relacionado à diferença entre as espécies de triatomíneos encontradas em domicílios nessas regiões 25. Visto que em Diamantina atualmente a infestação é mais frequente por espécies com baixa capacidade de colonização, a borrifação de inseticidas nem sempre é realizada pelos agentes de saúde quando os moradores notificam um inseto, o que pode minorar a importância desta ação na perspectiva da população atendida 11.

A principal sugestão apresentada pelos entrevistados para melhorias no serviço de controle da doença foi aumentar o número de visitas pelos agentes, o que pode estar relacionado tanto a uma herança do caráter assistencialista e verticalizado das ações nas fases iniciais do PCDCh, como também ao enfraquecimento das atividades na esfera municipal, já que muitas localidades, que não geram a demanda, podem ficar longos períodos sem receber qualquer ação direcionada à doença de Chagas. Além disso, essas sugestões concentram-se em ações do serviço para os moradores, sendo possível perceber que a população muitas vezes não se reconhece como coparticipante no processo de vigilância entomológica.

Nessa perspectiva, as diretrizes para a vigilância no estado de Minas Gerais preconizam a busca ativa de triatomíneos em todas as residências de um percentual de localidades por município de acordo com a região do estado, porém, a obrigatoriedade dessas ações só foi estabelecida no segundo semestre de 2014, quando o controle desses vetores passou a integrar o elenco de ações prioritárias da vigilância ambiental. O município de Diamantina passou a desenvolver essas atividades, previstas para 20% do total de localidades a cada ano 39. A adoção desse modelo integrado entre o serviço e os moradores poderá ajudar a preencher as lacunas identificadas no estudo, favorecendo o envolvimento da população em ações coletivas para a vigilância entomológica da doença de Chagas, inclusive em áreas silenciosas.

Transpor o abismo existente entre o conhecimento científico e a aplicação prática na saúde tem sido um grande desafio para o controle de doenças de transmissão vetorial como a doença de Chagas, a dengue, as leishmanioses. Para que a vigilância entomológica da doença de Chagas seja mantida de forma sustentada no contexto de ações descentralizadas em que se encontra a saúde pública no Brasil, a participação comunitária é imprescindível 40. Dessa forma, as pesquisas que permitam identificar as carências no que diz respeito aos conhecimentos da comunidade podem subsidiar as ações em saúde ampliando o alcance e a efetividade junto à população.

Colaboradores

JVLD participou da concepção do estudo, coleta de dados, análise estatística, redação e revisão do manuscrito. DRMQ participou da coleta e análise dos dados,

da redação e revisão do manuscrito. LD participou na concepção do estudo, análise dos dados, redação e revisão do manuscrito. HHRP participou na concepção do estudo, coleta e análise de dados, além da redação e revisão final do manuscrito.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Pró-reitoria de Extensão e Cultura da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri pelo apoio financeiro e aos Agentes Comunitários de Saúde de Diamantina pelo apoio logístico.

Referências

- 1 – Rassi Jr A, Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet* 2010; 375:1388-1402.
- 2 – Costa J, Correia NC, Neiva VL, Gonçalves TCM, Felix M. Revalidation and redescription of *Triatoma brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956 and an identification key for *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2013; 108(6):785-789.
- 3 – Jurberg J, Cunha V, Cailleaux S, Raigorodski R, Lima MS, Rocha DS, Moreira FFF. *Triatoma pintodiasi* sp. nov. do subcomplexo *T. rubrovaria* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *Rev Pan-Amaz Saude* 2013; 4(1):43-56.
- 4 – Silveira AC, Pimenta-Júnior F. A inserção institucional do controle da doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* 2011; 44(Supl. 2):19-24.
- 5 – Moreno EC, Baracho L. Vigilância epidemiológica no Programa de Controle da

Doença de Chagas em Minas Gerais, Brasil (1984-1998). *Cad Saude Publica* 2000; 16(Supl. 2):113-116.

6 – Silveira AC, Dias JCP. O controle da transmissão vetorial. *Rev Soc Bras Med Trop* 2011; 44(Supl. 2):52-63.

7 – Dias JCP. Vigilância epidemiológica em doença de Chagas. *Cad Saude Publica* 2000; 16(Supl. 2):43-59.

8 – Dias JCP, CCP Loyola, Brener S. Doença de Chagas em Minas Gerais: situação atual e perspectivas. *Rev Bras Malariol Doenças Trop* 1985; 37:7-28.

9 – Machado de Assis GF, Azeredo BVM, Gorla D, Diotaiuti L, Lana M. Entomological surveillance of Chagas disease in Berilo municipality, Jequitinhonha Valley, Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42(6):615-621.

10 – Queiroz DRM. *A atividade de trabalho dos agentes e gestores do Programa de Controle da Doença de Chagas na região do Vale do Jequitinhonha: uma análise de conteúdo [dissertação]*. Diamantina (MG): Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri; 2015.

11 – Dias JVL. *Vigilância epidemiológica da doença de Chagas em municípios pertencentes à Gerência Regional de Saúde de Diamantina [dissertação]*. Belo Horizonte: Centro de Pesquisas René Rachou; 2010.

12 – Silveira AC, Rezende DF, Nogales AM, Cortez-Escalante JJ, Castro C, Macêdo V. Avaliação do sistema de vigilância entomológica da doença de Chagas com participação comunitária em Mambaí e Buritinópolis, Estado de Goiás. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42(1):39-46.

13 – Villela MM, Pimenta DN, Lamounier PA, Dias JCP. Avaliação de conhecimentos e práticas que adultos e crianças têm acerca da doença de Chagas e seus vetores em região endêmica de Minas Gerais, Brasil. *Cad Saude Publica* 2009; 25(8):1701-

1710.

14 – Hessen J. *Teoria do conhecimento*. 2ª Edição. São Paulo: Martins Fontes; 2003.

15 – Briceño-León R. Siete tesis sobre la educación sanitaria para la participación comunitaria. *Cad Saude Publica* 1996; 12(1):7-30.

16 – Bennett G, Jessani N, editors. *The knowledge translation toolkit: bridging the know-do gap: a resource for researchers*. New Delhi: SAGE; 2011.

17 – World Health Organization. Bridging the “Know-Do” Gap: Meeting on Knowledge Translation in Global Health. Geneva: WHO Document Production Services. 2006 Oct [acessado 2015 Mar 21]. Disponível em: http://www.cpc.unc.edu/measure/training/materials/high-impact-research-training-curricula/bridging-the-know-do-gap.pdf/at_download/file

18 – Graham ID, Logan J, Harrison MB, Straus SE, Tetroe J, Caswell W, Robinson N. Lost in knowledge translation: time for a map? *J Contin Educ Health Prof* 2006; 26(1):13-24.

19 – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [acessado 2015 Abr]. Disponível em:<<http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=312160&search=minas-gerais|diamantina>>

20 – Camargo ME, Silva GR, Castilho EA, Silveira AC. Inquérito sorológico da prevalência de infecção chagásica no Brasil, 1975/1980. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1984; 26(4):192-204.

21 – Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM). *Manual de normas técnicas da campanha de controle da doença de Chagas*. Brasília: Centro de Documentação do Ministério da Saúde; 1980.

22 – Epi Info™ Versão 3.5.4. Atlanta, USA: Centers for Disease Control and

Prevention; 2012.

23 – Ayres M, Ayres-Júnior M, Ayres DL, Santos AAS. BioEstat – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá: Belém – Pará, 2007. 364 pp.

24 – Silva RA, Bonifácio PR, Wanderley DMV. Doença de Chagas no Estado de São Paulo: Comparação entre pesquisa ativa de triatomíneos em domicílios e notificação de sua presença pela população em área sob vigilância entomológica. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32(6):653-659.

25 – Villela MM, Souza JB, Mello VP, Azeredo BVM, Dias JCP. Vigilância entomológica da doença de Chagas na região centro-oeste de Minas Gerais, Brasil, entre os anos de 2000 e 2003. *Cad Saude Publica* 2005; 21(3):878-886.

26 – Schofield C, Jannin J, Salvatella R. The future of Chagas disease. *Trends Parasitol* 2006; 22(12):583-588.

27 – Abad-Franch F, Diotaiuti L, Gurgel-Gonçalves R, Gürtler RE. Certifying the interruption of Chagas disease transmission by native vectors: *cui bono?* *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2013; 108(2):251-254.

28 – Santos-Júnior JE, Diotaiuti L, Dias JCP. First report of *Panstrongylus megistus* sylvatic focus in municipality of Bambuí, state of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106(4):510-513.

29 – Medrano-Mercado N, Ugarte-Fernandez R, Butrón V, Uber-Busek S, Guerra HL, Araújo-Jorge TC, Correa-Oliveira R. Urban transmission of Chagas disease in Cochabamba, Bolivia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2008; 103(5):423-430.

30 – Santana KSO, Bavia ME, Dias-Lima A, Guimarães ICS, Soares ES, Silva MMN, Mendonça J, Martin MS. Spatial distribution of triatomines (Reduviidae: Triatominae) in urban areas of the city of Salvador, Bahia, Brazil. *Geospat Health* 2011; 5(2):199-

203.

31 – Delgado S, Ernst KC, Pumahuanca MLH, Yool SR, Comrie AC, Sterling CR, Gilman RH, Náquira C, Levy MZ. A country bug in the city: urban infestation by the Chagas disease vector *Triatoma infestans* in Arequipa, Peru. *Int J Health Geogr* 2013; 12:48.

32 – Dias JCP, Garcia ALR. Vigilancia epidemiológica com participación comunitaria. Uma experiencia em enfermidade de Chagas. *Bol Oficina Sanit Panam* 1978; 84:533-544.

33 – Buttenheim AM, Paz-Soldan V, Barbu C, Skovira C, Calderón JQ, Riveros LMM, Cornejo JO, Small DS, Bicchieri C, Naquira C, Levy MZ. Is participation contagious? Evidence from a household vector control campaign in urban Peru. *J Epidemiol Community Health* 2014; 68:103-109.

34 – Pereira JB, Coura JR. Morbidade da doença de Chagas. Estudo seccional em uma área endêmica, Virgem da Lapa, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop* 1986; 19(3):139-148.

35 – Montoya RA. Morbidade da doença de Chagas no município de Berilo, Minas Gerais, Brasil. Estudos seccional e longitudinal da cardiopatia chagásica crônica (1987-1997) [tese]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz; 1998.

36 – Uchôa E, Firmo JOA, Dias EC, Pereira MSN, Gontijo ED. Signos, significados e ações associados à doença de Chagas. *Cad Saude Publica* 2002; 18(1):71-79.

37 – Andrade JP, Marin-Neto JA, Paola AAV, Vilas-Boas F, Oliveira GMM, Bacal F, Bocchi EA, Almeida DR, Fragata-Filho AA, Moreira MCV, Xavier SS, Oliveira-Júnior WA, Dias JCP, *et al.* I Diretriz Latino-Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. Resumo Executivo. *Arq Bras Cardiol* 2011; 96(6):434-442.

38 – Maeda MH, Gurgel-Gonçalves R. Conhecimentos e práticas de moradores do

Distrito Federal, Brasil, em relação à doença de Chagas e seus vetores. *Rev Patol Tropical* 2012; 41(1):15-26.

39 – Laguardia FC, Quintino ND, Gusmão RB, Moraes CAL, Oliveira PBB, organizadores. *Instrutivo para execução e avaliação das ações de vigilância em saúde: projeto fortalecimento da vigilância em saúde em Minas Gerais (Resolução SES n° 4.238/2014)*. Belo Horizonte: SES-MG; 2014.

40 – Abad-Franch F, Vega MC, Rolón MS, Santos WS, Rojas de Arias A. Community participation in Chagas disease vector surveillance: systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(6):e1207.

Tabela 1. Conhecimentos e práticas sobre triatomíneos e a doença de Chagas entre moradores de áreas com diferentes níveis de infestação vetorial domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Questões relacionadas aos triatomíneos e à doença de Chagas	Localidades por estrato de infestação triatomínica								χ^2	p-valor
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação			
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Afirma conhecer o 'barbeiro'									4,72	0,1933
Sim	50	61,73	56	53,33	79	56,03	164	64,06		
Não	31	38,27	49	46,67	62	43,97	92	35,94		
Reconhece o 'barbeiro'									4,23	0,2375
Corretamente	61	75,31	76	72,38	103	73,05	206	80,47		
Incorretamente	20	24,69	29	27,62	38	26,95	50	19,53		
Já viu o 'barbeiro'									15,56	0,0014
Sim	61	75,31	63	60,00	92	65,25	200	78,13		
Não	20	24,69	42	40,00	49	34,75	56	21,88		
Conduta adotada caso encontre um 'barbeiro'									18,47	0,0004
Adequada (encaminha o inseto ao serviço de referência)	30	37,04	41	39,05	82	58,16	145	56,64		
Inadequada (mata ou encaminha incorretamente) ou não sabe	51	62,96	64	60,95	59	41,84	111	43,36		
Existe algum local onde pode levar o barbeiro na região?									41,50	< 0,0001
Sim	43	53,09	63	60,00	110	78,01	208	81,25		
Não	15	18,52	11	10,48	5	3,55	16	6,25		
Não sabe	23	28,40	31	29,52	26	18,44	32	12,50		
Conhece alguém que foi picado pelo 'barbeiro'?									31,96	< 0,0001
Sim	30	37,04	24	22,86	20	14,18	72	28,13		
Não	49	60,49	71	67,62	94	66,67	166	64,84		
Não sabe	2	2,47	10	9,52	27	19,15	18	7,03		
O 'barbeiro' transmite alguma doença?									4,28	0,2331
Sim	78	96,30	99	94,29	126	89,36	234	91,41		
Não	3	3,70	6	5,71	15	10,64	22	8,59		
Qual o nome da doença que o 'barbeiro' transmite?									5,04 ^a	0,1686 ^a
Doença de Chagas	68	83,95	93	87,74	111	77,62	216	84,38		
Outra*	6	7,41	3	2,83	9	6,29	12	4,69		
Não sabe ou não respondeu	7	8,64	10	9,43	23	16,08	28	10,94		
Existe algum serviço de controle da doença de Chagas na região?									18,08	0,0004
Sim	26	32,10	31	29,52	48	34,04	126	49,22		
Não	55	67,90	74	70,48	93	65,96	130	50,78		

^a agrupadas as categorias "outra doença" e "não sabe ou não respondeu"

*Febre Amarela, Dengue, Xistose, Calazar, Malária, Câncer, Tuberculose.

Tabela 2. Locais para onde os moradores encaminham os triatomíneos segundo o nível de infestação domiciliar por triatomíneos da localidade de residência. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Local de referência para levar o triatomíneo	Categoria de infestação domiciliar							
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Escola	0	0	0	0	26	23,42	1	0,50
Posto de saúde	15	34,88	21	32,81	46	41,44	109	54,23
Secretaria Municipal de Saúde	7	16,28	14	21,88	26	23,42	47	23,38
Zoonoses / SUCAM	12	27,91	20	31,25	4	3,60	30	14,93
Superintendência Regional de Saúde	3	6,98	2	3,13	1	0,90	5	2,49
Vigilância Sanitária	2	4,65	0	0	0	0	2	1,00
Outros*	1	2,33	6	9,38	4	3,60	6	2,99
Não sabe, mas sabe que tem	3	6,98	1	1,56	4	3,60	1	0,50

* "Assistente Social, Bombeiros, Ministério da Saúde, Laboratório, Universidade, Instituto Estadual de Florestas, Secretaria do Meio Ambiente, casa de funcionário da Secretaria Municipal do Turismo."

Tabela 3. Conduas para evitar barbeiros em casa apontadas por moradores de áreas com diferentes índices de infestação domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Conduas para evitar barbeiros em casa	Categoria de infestação domiciliar							
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Limpeza e organização da casa	35	30,4	55	38,7	81	28,6	98	36,8
Manejo do galinheiro e de outros anexos	17	14,8	13	9,15	42	14,8	46	17,3
Utilização de inseticidas	13	11,3	15	10,6	26	9,2	19	7,1
Evitar frestas ou entulhos (esconderijos)	33	28,7	34	23,9	64	22,6	48	18,1
Olhar e limpar cama e colchões	0	0	2	1,4	14	5,0	15	5,6
Outros*	5	4,4	7	4,9	23	8,1	15	5,6
Não sabe	12	10,4	16	11,3	34	12,0	25	9,4

*"Evitar certas plantas próximo à casa (abacateiro, bananeira, espinheiro); Evitar água parada (caixas d'água, pneus e garrafas); Matar ou capturar o barbeiro; Manter o ambiente claro; Mandar olhar a casa; Telar as janelas; Evitar roupas penduradas na porta; Manter a casa fechada; Evitar luzes acesas; Queimar o lixo; Receber visitas dos agentes de saúde; Colocar panos embaixo das portas; Pintar a casa de branco; Não acumular lama na porta; Não jogar lixo na rua."

Tabela 4. Sugestões apresentadas para o serviço de controle da doença de Chagas por moradores de áreas com diferentes níveis de infestação domiciliar. Diamantina, Minas Gerais, Brasil.

Sugestões	Categoria de infestação domiciliar							
	Sem infestação		Baixa infestação		Média infestação		Alta infestação	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Aumentar as visitas	16	55,2	12	38,7	21	42,9	45	34,1
Dar continuidade ao combate e borrifação	1	3,5	2	6,5	6	12,2	15	11,4
Trazer informações	5	17,2	7	22,6	2	4,1	13	9,9
Atividades de limpeza (capinar, tirar lixos)	2	6,9	1	3,2	0	0	5	3,8
Outros*	2	6,9	0	0	3	6,1	4	3,0
Nenhuma	3	10,3	9	29,0	17	34,7	50	37,9

*"Melhorar o serviço de saúde todo; Achar uma vacina para não infectar; Valorizar o trabalho e salário dos agentes; Todo mundo ajudar no controle; Trazer médico; Prefeito olhar mais para nós; Ter um lugar para levar os barbeiros; Encanamento de esgoto para a população; Cobrar mais dos moradores."

Anexo I – Protocolo de extração de DNA pela metodologia de Gomes *et al.* (1998) – Fenol: Clorofórmio.

Homogeinizar cada amostra de sangue EDTA e coletar 150 μ L do conteúdo intestinal ou fezes de triatomíneo em microtubo de 1,5 mL, livre de DNA e RNAase e estéril; Adicionar 75 μ L de fenol tamponado com Tris-HCl pH = 8,0 e 75 μ L de clorofórmio gelado, agitar por aproximadamente 2 minutos;

Centrifugar a 14.000 rpm por 5 minutos;

Coletar o sobrenadante em tubo de microcentrifugação 1,5 mL;

Ao sedimento adicionar 100 μ L de água Milli-Q estéril, agitar por 1 minuto e centrifugar novamente a 14.000 rpm por 5 minutos. Coletar o sobrenadante e acrescentar ao tubo contendo o sobrenadante anterior;

Adicionar ao sobrenadante 400 μ L de clorofórmio gelado, homogeinizar por 2 minuto e centrifugar a 14.000rpm por 5 minutos;

Retirar os sobrenadante e precipitar o DNA no gelo por 15 minutos em presença de acetato de sódio 100mM (10% do volume do sobrenadante) e dois volumes de etanol absoluto gelado. Homogeinizar lentamente 20 vezes;

Após precipitação, centrifugar por 10 minutos, desprezar o sobrenadante, secar o tubo na bancada por 15 minutos;

Ressuspender em 20 μ L de água Milli-Q estéril;

Deixar o DNA por 24-36h a 4°C para completa solubilização;

Lavar com etanol 70% na proporção de dois volumes (40 μ L);

Precipitar no gelo por 20 minutos;

Repetir a etapa 8 (mas centrifugar pr 20 minutos);

Ressuspender em 10 μ L de água Milli-Q estéril;

Estocar a 4°C para completa solubilização do DNA antes de fazer a PCR.

Anexo II – Protocolo de extração de DNA de pernas de triatomíneos por meio do Kit Wizard PROMEGA®.

1. Colocar a perna em um microtubo devidamente rotulado. Lavar a pinça com hipoclorito antes de pegar cada perna.
2. Adicionar 300µl da solução de lise nuclear e macerar a perna com auxílio de um pistilo. (Entre uma pata e outra lavar a pinça e pistilo com hipoclorito e água MQ).
3. Deixar à temperatura ambiente ou no multi-block (56°C – 30min) até a solução se tornar viscosa (com bolhas).
4. Adicionar 100µl da solução de precipitação protéica e vortex vigorosamente por 20 a 30 segundos visualiza-se o precipitado disperso na solução.
5. Centrifugar a 14000 rpm por 3 min à temperatura ambiente, observando a formação de um “pellet” escuro.
6. Transferir cuidadosamente o sobrenadante para um novo tubo contendo 300µl de isopropanol (CH₃ CHOHCH₃) e misturar delicadamente (20min- 10 min de cada lado), até o aparecimento de uma massa (pontos) em suspensão – na maioria das vezes os pontos não aparecem.
7. Centrifugar a 14000 rpm à temperatura ambiente por 6 min e observar a formação de um pellet claro.
8. Descartar o sobrenadante (virar o microtubo), adicionar 300µl de etanol 70% à temperatura ambiente e inverter o tubo várias vezes delicadamente (5 min de cada lado).
9. Repetir os passos 7 (1 minuto) e 8, centrifugar mais 1 minuto.
10. Aspirar cuidadosamente o etanol (com pipeta) e colocar o tubo no multi-block até a evaporação total do etanol.
11. Adicionar 70µl da solução de hidratação de DNA e incubar a 65°C (ou até mais de 50°C) por 1h ou deixar “overnight” a temperatura ambiente, agitando periodicamente (2 a 3 vezes).

Anexo III – Autorização para captura e procedimentos com animais silvestres pelo Instituto Chico Mendes para Conservação da Biodiversidade



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 34066-1	Data da Emissão: 02/07/2012 16:22
Dados do titular	
Nome: Herton Helder Rocha Pires	CPF: 651.726.716-68
Título do Projeto: Estudo dos fatores envolvidos na distribuição de triatomíneos e infecção de vetores e reservatórios por <i>Trypanosoma cruzi</i> no município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil	
Nome da Instituição: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	DIAMANTINA	MG	Extração	Fora de UC Federal
2	DIAMANTINA	MG	Alto da Jacuba	Fora de UC Federal
3	DIAMANTINA	MG	Bairro Jardim	Fora de UC Federal
4	DIAMANTINA	MG	Bairro Rio Grande	Fora de UC Federal
5	DIAMANTINA	MG	Pinheiro	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Rodentia, Didelphimorphia, Reduviidae
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Didelphimorphia, Rodentia
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Reduviidae (*Qtde: 300)
4	Manutenção temporária (até 24 meses) de invertebrados silvestres em cativeiro	Reduviidae
5	Marcação de animais silvestres in situ	Rodentia, Didelphimorphia

* Qtde. de indivíduos por espécie/focalidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Sangue
2	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Amadilha luminosa, Outros métodos de captura/coleta(---), Amadilha de interceptação de voo, Captura manual
3	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Amadilha tipo gaiola com atração por iscas ("Box Trap/Tomahawk/Sheman")
4	Método de marcação (Invertebrados Terrestres)	Outros métodos de marcação(SerA&O colonizados em frascos individualizados com a esp&A@cie e origem)
5	Método de marcação (Outros mamíferos)	Tatuagem (tinta), Anel

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 15518952





Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 34066-1	Data da Emissão: 02/07/2012 16:22
Dados do titular	
Nome: Herton Helder Rocha Pires	CPF: 651.726.716-68
Título do Projeto: Estudo dos fatores envolvidos na distribuição de triatomíneos e infecção de vetores e reservatórios por Trypanosoma cruzi no município de Diamantina, Minas Gerais, Brasil	
Nome da Instituição : Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri	CNPJ: 16.888.315/0001-57

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Rastreamento de colônias de triatomíneos em abrigos de pequenos mamíferos	07/2012	08/2013
2	Coleta de sangue de pequenos mamíferos em áreas periurbanas e silvestres	07/2012	08/2013
3	Captura de pequenos mamíferos em áreas periurbanas e silvestres	07/2012	08/2013
4	Realização de xenodiagnósticos em pequenos mamíferos	07/2012	08/2013
5	Coleta de triatomíneos em meio silvestre	07/2012	10/2014
6	Processamento de amostras de tripanossomatídeos isolados de mamíferos e triatomíneos	07/2012	10/2014
7	Coleta ativa de triatomíneos em meio silvestre por rastreamento de pequenos mamíferos	07/2012	10/2014

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	As armadilhas utilizadas para captura de mamíferos deverão ser vistoriadas pelo menos duas vezes ao dia (matutino e vespertino) para minimizar a morte devido a hipotermia ou hipertermia.
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	João Victor Leite Dias	Colaborador	079.649.676-57	MG-12415373 SSP-MG	Brasileira
2	Liléia Gonçalves Diotaitui	Orientação	250.335.656-72	M305938 SSPMG-MG	Brasileira
3	Helen Rodrigues Martins	Colaborador	034.082.986-96	m-9.179.920 ssp-MG	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 15518952



Página 1/3

