



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

JACKELINE MONSALVE LARA

O RISCO DE TRANSMISSÃO ORAL NO MUNICÍPIO DE
MARCELINO VIEIRA - ÁREA DE SURTO DA DOENÇA DE
CHAGAS NO NORDESTE BRASILEIRO - AVALIADO POR
MEIO DE INDICADORES ENTOMOLÓGICOS,
SOCIOECONÔMICOS E EDUCACIONAIS

CAMPINAS

2021

JACKELINE MONSALVE LARA

**O RISCO DE TRANSMISSÃO ORAL NO MUNICÍPIO DE
MARCELINO VIEIRA - ÁREA DE SURTO DA DOENÇA DE CHAGAS
NO NORDESTE BRASILEIRO - AVALIADO POR MEIO DE
INDICADORES ENTOMOLÓGICOS, SOCIOECONÔMICOS E
EDUCACIONAIS**

*Tese apresentada ao Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas como parte
dos requisitos exigidos para a obtenção do título
de Doutora em Biologia Animal na Área de
Relações Antrópicas, Meio Ambiente e
Parasitologia.*

Orientador: CARLOS EDUARDO ALMEIDA

Coorientadora: MARIA RITA DONALISIO CORDEIRO

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA
ALUNA JACKELINE MONSALVE LARA E
ORIENTADA PELO PROF. DR. CARLOS
EDUARDO ALMEIDA.

CAMPINAS

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

L32r	<p>Lara, Jackeline Monsalve, 1977- O risco de transmissão oral no município de Marcelino Vieira-área de surto da doença de Chagas no Nordeste Brasileiro - avaliado por meio de indicadores entomológicos, socioeconômicos e educacionais / Jackeline Monsalve Lara. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.</p> <p>Orientador: Carlos Eduardo Almeida. Coorientador: Maria Rita Donalisio Cordeiro. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.</p> <p>1. Vetores de doenças. 2. Triatominae. I. Almeida, Carlos Eduardo. II. Cordeiro, Maria Rita Donalisio, 1957-. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.</p>
------	--

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: The risk of oral transmission in the municipality of Marcelino Vieira -Chagas disease outbreak area in Northeastern Brazil - assessed through entomological, socioeconomic and educational indicators

Palavras-chave em inglês:

Disease vectors

Triatominae

Área de concentração: Relações Antrópicas, Meio Ambiente e Parasitologia

Titulação: Doutora em Biologia Animal

Banca examinadora:

Carlos Eduardo Almeida [Orientador]

Jane Margaret Costa de Frontin Werneck

Kaio Cesar Chaboli Alevi

João Aristeu da Rosa

Silmara Marques Allegretti

Data de defesa: 13-08-2021

Programa de Pós-Graduação: Biologia Animal

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-0759-255>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/9552627707784401>

Campinas, 13 de agosto de 2021

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Eduardo Almeida

Profa. Dra. Jane Margaret Costa de Frontin Werneck

Prof. Dr. Kaio Cesar Chaboli Alevi

Prof. Dr. João Aristeu da Rosa

Profa. Dra. Silmara Marques Allegretti

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa de Biologia Animal na Área de Relações Antrópicas, Meio Ambiente e Parasitologia do Instituto de Biologia.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo por proporcionar o desenvolvimento desta tese. Processo FAPESP 16/08176-9, modalidade Auxílio Jovem Pesquisador, coordenado pelo Prof. Dr. Carlos E. Almeida – orientador da tese aqui apresentada.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo 434260/2018-5), que financiou este estudo com recursos do Projeto Universal, também coordenado pelo Prof. Dr. Carlos E. Almeida.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

À Dra. Lúcia Maria Abrantes Aguiar (Chefe do núcleo de Entomologia da Secretaria de Estado da Saúde Pública do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil) pela gentileza ao providenciar todo o trabalho de campo.

Aos técnicos da Secretaria Municipal de Saúde de Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte pela ajuda fundamental em campo; em especial, bem como à prefeitura de Marcelino Vieira pelo auxílio logístico fornecido.

À Profa Dra. Silmara M. Allegretti toda dedicação ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal -UNICAMP.

Ao Mauricio Liliuso Doutorando do IB/Unicamp, pelos auxílios desde os trabalhos de campo a bancada e pela criteriosa leitura dessa tese – UNICAMP.

À Profa. Dra. Elaine Folly Ramos - Universidade Federal da Paraíba - UFPB, Departamento Engenharia e Meio Ambiente – DEMA, pela sua colaboração nas coletas em campo.

Ao Prof. Dr. Danilo Ciccone Miguel do Instituto de Biologia (UNICAMP) pelas orientações na detecção da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* nos vetores e pelo suporte na elaboração dos experimentos.

À Profa. Dra. Fernanda R. Gadelha do Departamento de Bioquímica e Biologia Tecidual, UNICAMP, pelas orientações na detecção da infecção natural por *T. cruzi* nos vetores e pelo suporte para o cultivo do parasita.

À Cleanne Limeira, mestre do Departamento de Bioquímica e Biologia Tecidual - UNICAMP, pela ilustração da *network* que mostra a relação entre os ecótopos e a presença de *Triatoma brasiliensis brasiliensis* e o *Trypanosoma cruzi*.

À Dayane Pires-Silva, doutoranda do programa de pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, UNICAMP pelo suporte no trabalho de bancada.

À Dra. Fernanda V. H. M. Fontes (Instituto de Biologia – Unicamp) pelo suporte no trabalho de Biologia Molecular.

À Dra. Carolina Valença-Barbosa (Instituto de Biologia – Unicamp) pelo suporte na organização do material de campo e pelo auxílio para o trabalho envolvendo Biologia Molecular.

À Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini, por nos disponibilizar o Laboratório de Diversidade Genética da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) para a realização dos experimentos de Biologia Molecular.

À Profa. Dra. Marlene Tikudo Ueta, ao Prof. Dr. Kaio C Alevi e à Profa. Dra Silmara M Alegretti, por revisar cuidadosamente a tese na pré-banca.

À Banca examinadora dessa tese, pela análise criteriosa desse documento, aprimorando-o.

RESUMO

A doença de Chagas é uma doença tropical negligenciada, associada ao baixo nível socioeconômico. A moléstia afeta cerca de oito milhões de pessoas, principalmente aos latino-americanos. Os casos de infecção, atualmente, são baseados em relatos de casos agudos, sendo a maioria associados às transmissões orais. Na região semiárida do nordeste do Brasil, surtos desse tipo de transmissão têm aumentado nos últimos anos. No ano de 2016, na cidade de Marcelino Vieira, no estado do Rio Grande do Norte, um total de 18 casos foram reportados, causando dois óbitos. Moradores de áreas rurais de quatro municípios incluindo Marcelino Vieira ingeriram caldo de cana – provavelmente triturado com insetos vetores da doença de Chagas infectados por *Trypanosoma cruzi*. As unidades domiciliares (UD) na área rural de Marcelino Vieira foram investigadas para uma melhor compreensão dos fatores relacionados ao surto na região. Também foram usados indicadores entomológicos, informações socioeconômicas e sobre as condições de moradia por meio de entrevistas domiciliares. Foram encontrados triatomíneos (principalmente *Triatoma brasiliensis brasiliensis*) em 54% (36/67) das UD e em todos os afloramentos rochosos inspecionados (n = 7). No geral, 26% (119/458) dos *T. b. brasiliensis* examinados estavam infectados por *T. cruzi* em ecótopos artificiais, com prevalência semelhante no ambiente silvestre 23% (35/154). A variação local na prevalência de *T. cruzi* (0-100%) foi correlacionada com a presença de determinados ecótopos onde os insetos foram encontrados. As altas prevalências de infecção natural de triatomíneos por *T. cruzi* ocorreram principalmente em pilhas de madeira e telhas. Das pessoas entrevistadas, 95% reconheciam os triatomíneos e tinham o conhecimento sobre a rota clássica de transmissão (infecção por vetores) da doença. Porém, apenas 7,5% admitiram saber que a infecção por *T. cruzi* também pode ser adquirida por via oral – o que representa um risco por essa via. Destacamos a proximidade física entre humanos e populações de vetores infectados como um fator de risco adicional para infecções orais/vetoriais. Essa situação não pode ser mudada, mas deve se informar a população sobre os riscos e reforçar as ações executadas pelos serviços de vigilância.

Palavras-Chave: Vigilância vetorial, Indicadores entomológicos, Triatominae.

ABSTRACT

Chagas disease is a neglected tropical disease strongly associated with low socioeconomic status, affecting nearly 8 million people – mainly Latin Americans. The current infection risk is based on acute case reports, most of which are typically associated with oral transmissions. In the semi-arid region of Northeastern Brazil, serious outbreaks of this transmission type have surged in the last years. Recently occurred in 2016 in the state of Rio Grande do Norte. Rural residents of four municipalities surrounding Marcelino Vieira ingested sugar cane juice – which was probably ground with *Trypanosoma cruzi*-infected insects. Eighteen cases of Chagas disease were confirmed serologically, with two deaths reported. Socioeconomic information, schooling of residents and the structure of peridomestic and domestic environments in the rural area of Marcelino Vieira, along with entomological indicators, were investigated to understand better the factors related to the outbreaks in this region. We found triatomines (mainly *Triatoma brasiliensis brasiliensis*) in 54% (36/67) of domiciliary units and all rocky outcrops inspected (n = 7). Overall, 26% (119/458) of examined *T. b. brasiliensis* were infected by *T. cruzi* in artificial ecotopes, with almost the same prevalence in the sylvatic environment (23%; 35/154). Among all ecotopes investigated, wood/tile/brick piles were the ones linked to high insect infestations and triatomine *T. cruzi* infection prevalence. Ninety-five percent of people interviewed recognized the triatomines and knew the classic route of transmission of disease – triatomine bite-dependent. However, only 7.5% admitted knowledge that Chagas disease can also be acquired orally – which poses a risk this transmission route currently recognized. Here, we highlight the physical proximity between humans and triatomine populations with high *T. cruzi* infection prevalence as an additional risk factor to oral/vector contaminations. In sum, residents have low income, low level of education, and/or a willful disregard for the routes of Chagas disease transmission (specifically oral transmission), a combination of factors that may have favored the Chagas disease outbreak. This situation cannot be changed, but the population must be informed about the risks and reinforced the actions taken by the surveillance services.

KEYWORDS: Vector surveillance, Entomological indicators, Triatominae.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Alagoas: AL

Bahia: BA

Ceará: CE

Doença de Chagas: DC

Densidade triatomínica domiciliar: DTD

Densidade triatomínica silvestre: DTS

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

Índice de colonização domiciliar: ICD

Índice de infecção natural: IN

Índice de infecção natural silvestre: INS

Índice de infestação domiciliar: ID

Falso negativo: FN

Falso positivo: FP

Fundação Nacional de Saúde: FUNASA

Microscopia óptica: MO

Não analisado: NA

PA: Paraíba

Piauí: PI

Pernambuco: PE

Prevalência de colonização em ecótopos: PCE

Prevalência dos ecótopos em unidades domiciliares: PEU

Programa de Controle da Doença de Chagas: PCDCh

Polymerase Chain Reaction: PCR

Rio Grande do Norte: RN

Unidades Domiciliares: UD

Verdadeiro negativo: VN

Verdadeiro positivo: VP

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
<i>Vetores no Nordeste brasileiro</i>	<i>13</i>
<i>Surtos de Doença de Chagas</i>	<i>15</i>
<i>Avaliação da sensibilidade e especificidade da Microscopia Óptica.....</i>	<i>17</i>
OBJETIVOS.....	18
<i>Objetivo Geral</i>	<i>18</i>
<i>Objetivos Específicos</i>	<i>18</i>
MATERIAIS E MÉTODOS	19
<i>Questões éticas.....</i>	<i>19</i>
<i>Área de estudo.....</i>	<i>19</i>
<i>Perfil demográfico e socioeconômico dos moradores</i>	<i>20</i>
<i>Conhecimento dos moradores sobre a doença de Chagas e fontes de informação</i>	<i>21</i>
<i>Características da construção de moradias</i>	<i>21</i>
<i>Investigação de vetores da doença de Chagas</i>	<i>21</i>
<i>Investigação da infecção natural.....</i>	<i>24</i>
<i>Relação entre a infecção por Trypanosoma cruzi, habitat e locais ocupados por</i> <i>Triatoma brasiliensis brasiliensis</i>	<i>25</i>
<i>Sensibilidade e Especificidade da Microscopia Óptica frente ao teste molecular ..</i>	<i>25</i>
<i>Mapeamento e a relação entre infecção por Trypanosoma cruzi, habitat e</i> <i>localidades para Triatoma brasiliensis brasiliensis</i>	<i>26</i>
<i>Análises Estatísticas</i>	<i>26</i>
RESULTADOS.....	27
<i>Perfil sociodemográfico e socioeconômico dos moradores</i>	<i>27</i>
<i>Conhecimento dos moradores sobre a doença de Chagas e fontes de informação</i>	<i>28</i>
<i>Características da construção de moradias</i>	<i>30</i>

<i>Investigação de vetores da doença de Chagas</i>	31
Capturas de insetos.....	31
Ecótopos	31
Indicadores entomológicos para ambientes antrópicos	35
Indicadores entomológicos para ambientes silvestres.....	35
Estatísticas para os indicadores entomológicos.....	37
Comparação da detecção de <i>Trypanosoma cruzi</i> em insetos via microscopia óptica ...	37
<i>Relação entre a infecção por Trypanosoma cruzi, habitat e localidades de Triatoma brasiliensis brasiliensis</i>	39
<i>Sensibilidade e especificidade da microscopia óptica para o diagnóstico de infecção natural de Trypanosoma cruzi</i>	39
DISCUSSÃO	41
CONCLUSÕES	45
PERSPECTIVAS PARA ESTUDOS COMPLEMENTARES	46
REFERÊNCIAS	47
Anexo 1. Trabalhos publicados	61
Anexo 2. Formulário. Dados demográficos	71
Anexo 3. Formulário. Conhecimento dos moradores	72
Anexo 4. Formulário. Características dos domicílios	73

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) está entre as mais graves doenças tropicais. Estima-se que oito milhões de pessoas estejam infectadas no mundo com essa moléstia, principalmente na América Latina, ocasionando cerca de 10.000 mortes por ano (WHO, 2020). Tal enfermidade está na lista de doenças tropicais negligenciadas, as quais são assim caracterizadas por ocorrerem em populações com maior vulnerabilidade social, saneamento básico inadequado e proximidade física com os vetores (FUENTES-VICENTE *et al.*, 2018). A infecção humana apresenta risco de mortalidade na fase aguda, mas a principal causa de óbito está associada com a cardiopatia nos casos crônicos (DIAS, 2007). O tratamento específico com benznidazol ou Nifurtimox é eficaz nos casos agudos e congênitos, diminuindo sua eficácia para os casos crônicos (BRASIL, 2017). O agente etiológico é o protozoário *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado da família Trypanosomatidae. Os vetores são insetos pertencentes à subfamília Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) (LENT e WYGODZINSKY, 1979; COSTA *et al.*, 2021). São insetos hematófagos em ambos os sexos e durante todos os estágios de desenvolvimento ninfal (MOREIRA *et al.*, 2017), tanto adultos quanto qualquer dos cinco estádios ninfais do vetor pode transmitir o *T. cruzi*. Esses insetos possuem, metamorfose hemimetábola, com uma expectativa de vida média de um a dois anos (GALVÃO, 2014).

O Programa Brasileiro de Controle da Doença de Chagas (PCDCh) foi implementado nos anos 80 e final dos 90. Em 2006, o Brasil foi considerado livre da transmissão vetorial por *Triatoma infestans* – vetor introduzido e adaptado aos domicílios e que causou o maior número de casos de infecção chagásica no passado (FERREIRA e SILVA, 2006).

Ao final dos anos 80 *T. infestans* foi encontrado em 120 municípios (95 na BA, 15 em PE, seis no PI e quatro na PB), em 1994, estava limitada a 48 municípios mostrando redução de 60% e, em 1996, houve 79,2% de redução (BRANDÃO *et al.*, 2015). Hoje a espécie está controlada com poucos focos residuais na BA e está considerada em vias de eliminação. E, de maneira oposta, os táxons *Triatoma brasiliensis brasiliensis* e *T. pseudomaculata* têm sido capturadas em inquéritos de 1979 até 1997. *Triatoma infestans* nunca alcançou o estado do Rio Grande do Norte (RN) (COSTA *et al.*, 2003a), onde focos hiperendêmicos de transmissão por vetores nativos foram registrados no passado nesse estado (LUCENA, 1970). Assim, fica claro que vetores têm papel importante na transmissão da doença de Chagas no RN como vetores primários.

No Brasil, as principais espécies de importância epidemiológica para a doença de Chagas são aquelas encontradas no peridomicílio e no domicílio, a saber: *T. b. brasiliensis*, *Panstrongylus megistus*, *T. pseudomaculata*, e *T. sordida* (COSTA *et al.*, 2003a). O principal vetor na região do semiárido nordestino brasileiro é *T. b. brasiliensis*, encontrado nos estados de Alagoas (AL), Bahia (BA) (acima do Rio São Francisco), Ceará (CE), RN e, com maior predomínio, no Piauí (PI), Paraíba (PA) e Pernambuco (PE) (COSTA *et al.*, 2003a; COSTA *et al.*, 2014; GALVÃO, 2014). No ambiente silvestre essa espécie pode ser encontrada em afloramentos rochosos, já no ambiente antrópico ela está presente em abrigo de animais domésticos, entulhos, amontoados de materiais de construção, poleiros, locais de armazenagem de diversos tipos de materiais, entre outros locais (COUTINHO *et al.*, 2012). No domicílio, os triatomíneos podem ser encontrados em fendas nas paredes das casas, sob as camas, atrás de quadros e móveis, etc. (COURA, 2013). *T. pseudomaculata* também é comum no Nordeste em ambiente peridomiciliar, onde ocupa os mesmos ecótopos que *T. b. brasiliensis* (DIOTAIUTI *et al.*, 2000; DIAS *et al.*, 2001).

Vetores no Nordeste brasileiro

O Nordeste brasileiro possuiu no passado focos hiperendêmicos de transmissão chagásica (DIAS *et al.*, 2000). Foi a segunda região do Brasil em número de infectados e índice de infestação triatomínica nos inquéritos nacionais entre 1975 e 1980, em municípios com 66,9% infestação por *Panstrongylus megistus* e 24,9% por *T. b. brasiliensis* (SILVEIRA, 2011). Ainda existe a preocupação pelo risco de transmissão, pois é uma região com altos índices de moradias precárias favorecendo a colonização de triatomíneos. A região possui espécies de difícil controle, entre as quais: *T. b. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata* – por se tratarem de vetores nativos e que podem invadir o domicílio a partir de seus focos silvestres (ALMEIDA *et al.*, 2008; ALMEIDA *et al.*, 2016); somado a uma baixa cobertura de cuidados sanitários do PCDCCh devido à infraestrutura precária dos municípios (DIAS *et al.*, 2000).

Considerando a infecção natural (IN) por *T. cruzi* bem como dispersão, infestação, colonização intradomiciliar e número total de capturas, as espécies de triatomíneos responsáveis pela ocorrência da doença de Chagas no Nordeste brasileiro podemos mencionar: *T. b. brasiliensis*, *T. sordida*, *P. megistus*, e *T. pseudomaculata* (NEIVA e LENT, 1940; ALENCAR, 1987). A diversa distribuição das espécies de vetores pode ser explicada pelas

características ecológicas de cada região, pela ação antrópica e capacidade de colonização e domiciliação de cada espécie (ALMEIDA *et al.*, 2004).

Muito embora a incidência de novos casos da doença tenha diminuído (WHO, 2020), observa-se alternância por aquelas espécies com tendência à diminuição. No CE, a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) avaliou os índices de infestação e IN de *T. b. brasiliensis* em Quixeré. Por meio do controle químico regular, de 1970 a 1994, a densidade de triatomíneos por domicílio reduziu de 18% para 4% e a IN passou de 1,37% para 0,16%, demonstrando a necessidade da continuidade do controle domiciliar. *Triatoma brasiliensis brasiliensis* e *T. pseudomaculata* têm respondido também ao controle – embora com menos resultados por serem nativas da região (DIAS *et al.*, 2000). Segundo Galvão (2014) outros vetores estão presentes no semiárido nordestino, como *R. nasutus*, *P. lutzi* e *T. petrocchia*, além de outros membros do complexo *T. brasiliensis*.

O termo complexo *Triatoma brasiliensis*, se refere ao conjunto de espécies que no passado foram consideradas apenas com variação cromáticas de *T. b. brasiliensis* s.l. Após abordagens moleculares e ecológicas, mostraram que tais diferenças de coloração representam, na verdade quatro espécies distintas (COSTA *et al.*, 2020; LILIOSO *et al.*, 2020). Schofield e Galvão (2009), baseados principalmente na morfologia e distribuição geográfica, incluíram *T. lenti*, *T. melanocephala* e *T. petrocchia*, em um grupo que eles denominaram subcomplexo *T. brasiliensis*. Mais detalhes sobre a evolução da taxonomia de *T. b. brasiliensis* s.l. são abordados no último parágrafo deste tópico.

Os vetores autóctones do Nordeste brasileiro apresentam alta reinfestação domiciliar após os tratamentos com inseticidas e casas já tratadas; e, em geral, iniciam o processo de reinfestação em seis meses após as borrificações (DIAS *et al.*, 2000). Isso acontece devido à impossibilidade de erradicação de focos silvestres que mantém populações que continuamente invadem os domicílios e com altos índices de IN (ALMEIDA *et al.*, 2016), além dos focos residuais de áreas tratadas (ALMEIDA *et al.*, 2008). Mesmo diante da expectativa da eliminação da transmissão vetorial da doença de Chagas, as secretarias de saúde dos municípios precisam sustentar atividades rotineiras e onerosas para a manutenção de baixos índices de infestação por *T. b. brasiliensis*, pois o deslocamento para áreas rurais (muitas vezes muito distantes do centro das cidades e de difícil acesso) para inspeções e aplicações de inseticidas implica em alto consumo de combustível e trabalho técnico. As inspeções resultam em grande dispêndio para o Estado em uma região já assolada pela seca e carência em todos os âmbitos sociais. Outro problema comum é a descontinuidade das operações, que é frequentemente

observada quando os recursos repassados escasseiam ou quando outras endemias ou epidemias se tornam prioridade (DIAS *et al.*, 2000).

A maioria das espécies de triatomíneos pode se alimentar em uma ampla variedade de mamíferos e esse ecletismo mantém complexos ciclos de transmissão de *T. cruzi*, especialmente no ambiente silvestre (FUENTES-VICENTE *et al.*, 2018). As fontes alimentares primárias dos triatomíneos têm diminuído em decorrência do desmatamento causado pela criação de gado, agricultura e abertura de rotas para o transporte (KILPATRICK e RANDOLPH, 2012), por exemplo casos relacionados com *T. infestans* em 2014 a 2016 se caracterizava por ocorrer em regiões recém desmatadas próximas a fronteira agrícola (SILVA, 1986).

Desta forma, os triatomíneos vêm se aproximando do homem em busca por novos recursos tróficos. Assim, humanos e animais domésticos passaram a entrar no ciclo epidemiológico da doença de Chagas em áreas rurais (SCHMUNIS e YADON, 2010). Devido a essas mudanças sociais e ecológicas, surtos da doença de Chagas têm sido observados com maior frequência (NOYA e GONZÁLEZ, 2015). É provável que os membros do complexo *T. brasiliensis* estejam entre os vetores envolvidos em surtos no semiáridos brasileiro, por sua ampla distribuição geográfica (COSTA *et al.*, 2014) e altos índices de infecção natural por *T. cruzi* (LILIOSO *et al.* 2017; 2020).

O complexo *T. brasiliensis* compreende um grupo de espécies que foram elevados a níveis taxonômicos específicos e subespecíficos, a partir de um estudo amplo, iniciado pela Dra. Jane Costa, do Instituto Oswaldo Cruz, da Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro (COSTA, 1997). A referida pesquisadora desenvolveu estudos multidisciplinares, sobre a biologia, ecologia, distribuição geográfica, estrutura genética e taxonomia (COSTA & FELIX, 2007; COSTA *et al.*, 2003a,b; 2006; 2007a,b; 2009; 2013, 2014) das variações cromáticas de *T. b. brasiliensis* s.l. e verificaram que se trataram de unidades evolutivas independentes, resultando em uma chave dicotômica para a identificação de cada membro do grupo (DALE *et al.*, 2018): *T. brasiliensis*, *T. bahiensis*, *T. juazeirensis*, *T. lenti*, *T. melanica*, *T. petrocchia*, e *T. sherlocki*, dentre os quais *T. brasiliensis* foi dividido em duas subespécies *T. b. brasiliensis* e *T. b. macromelasoma*.

Surtos de Doença de Chagas

No Brasil, os surtos já registrados ultimamente em humanos têm sido atribuídos à transmissão oral, em áreas rurais, urbanas e periurbanas, envolvendo alimentos contaminados

com fezes de triatomíneos, como suco de cana-de-açúcar, açaí, frutas, entre outros (SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 1991; PACHECO *et al.*, 2021). Atualmente o principal mecanismo de transmissão, é pela ingestão acidental de alimento contaminado com fezes de triatomíneos, o que vem superando os números de infecção clássica dada pelo repasto sanguíneo sobre o hospedeiro – uma vez que os triatomíneos têm o hábito de defecar durante sua alimentação, liberando o parasito pelas fezes (DIAS, 2007; COURA, 2013, 2015). A transmissão vetorial, na maioria das vezes, está vinculada a desigualdades sociais, acometendo habitantes de casas precárias em áreas rurais, o que facilita a colonização do vetor (DIAS, 2007). Além disso, os pacientes apresentam dificuldade de acesso à rede de serviços de saúde, minimizando as notificações (DIAS *et al.*, 2015).

Os surtos de doença de Chagas ocorridos no Nordeste brasileiro não são priorizados se comparados com surtos em outras áreas do Brasil. Por exemplo, no ano de 1986, no município de Catolé do Rocha, na PB, ocorreu um surto causado pelo consumo de caldo de cana (SHIKANAI-YASUDA *et al.*, 1991). Dias *et al.* (2008) reportaram um surto no estado da BA – possivelmente associado com *T. sordida*, o que resultou em óbitos; embora exista a suspeita de que a infecção aconteceu pela via oral – mas evidências concretas não foram encontradas. Outro surto com características similares ocorreu em 2006, no estado do CE, nos municípios de Aratuba e Redenção – a suspeita da fonte de infecção foi o consumo de uma sopa de origem vegetal (PAMPLONA, 2009). Recentemente, em 2019, um surto de doença de Chagas ocorreu no estado de PE. Para esse último evento, as autoridades não conseguiram obter informações ecoepidemiológicas, porém se acredita que a fonte do surto foi o consumo de alimentos contaminados em um evento religioso (GÓES, 2019). Nos últimos anos foi registrado um surto chagásico no estado de RN, nos municípios de Tenente Ananias, Marcelino Vieira, Alexandria e Pilões, dos quais dez casos ocorreram em Marcelino Vieira (VARGAS *et al.*, 2018). Mais oito casos foram confirmados nos demais municípios (totalizando 18 casos), havendo duas mortes (VARGAS *et al.*, 2018).

Em situações de surtos chagásicos é importante realizar o levantamento dos possíveis fatores: (i) sociais, associados com comportamentos humanos que propiciaram seu acontecimento, tendo em vista que tais surtos recentes aconteceram via infecção oral e (ii) em um contexto ecoepidemiológico é necessário realizar o levantamento dos vetores que ocorrem na região, bem como da prevalência de IN por *T. cruzi* na fauna de vetores encontrada (COURA, 2015). Esse trabalho é classicamente realizado através da microscopia óptica (MO), que é um método amplamente usado e de baixo custo, mas cuja sensibilidade e especificidade é limitada

em insetos com baixa carga parasitária (LARDEUX *et al.*, 2016). Além disso, existe a dificuldade para diferenciar *T. cruzi* de outros tripanosomatídeos (PIZARRO *et al.*, 2007; MOREIRA *et al.*, 2017). A técnica molecular é outro método usado, especialmente na pesquisa. A *Polymerase Chain Reaction* (PCR) apresenta maior exatidão, embora seja um método mais trabalhoso e caro (PIZARRO *et al.*, 2007).

As propriedades da MO devem ser comparadas com um padrão de referência para avaliar sua acurácia (neste caso, a PCR), através de testes estatísticos que expressam os acertos e os erros desse método ao estimar o diagnóstico. A sensibilidade e a especificidade indicam a proporção de identificações corretas em relação a um padrão e são ajustadas a um instrumento de medida (ROZENFELD, 2000).

Avaliação da sensibilidade e especificidade da Microscopia Óptica

A sensibilidade de um teste diagnóstico (como a MO) é definida como a proporção de espécimes positivos para *T. cruzi*, fornecendo um resultado chamado de verdadeiro positivo. Sensibilidade é a propriedade do teste de detectar o parasito em espécimes quando verdadeiramente está presente. A especificidade é definida como a proporção de espécimes não infectados por *T. cruzi* quando o teste foi negativo. Fornecendo o resultado de verdadeiro negativo. É a propriedade de um teste diagnóstico de detectar a ausência da doença quando verdadeiramente não está presente no indivíduo (ROZENFELD, 2000). Uma alta sensibilidade implica em poucos casos verdadeiros e que deixaram de ser classificados como positivos. Por outro lado, a baixa especificidade implica em falsos positivos entre os selecionados como infectados. Uma baixa sensibilidade detecta muitos casos verdadeiros que podem deixar de ser classificados como tal e uma alta especificidade serão incluídos poucos casos falsos entre os selecionados como infectados (ROZENFELD, 2000).

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar os indicadores entomológicos dos vetores na área de surto recente de doença de Chagas, descrevendo o perfil socioeconômico e nível de conhecimento da população residente na área do surto chagásico, no município de Marcelino Vieira, RN.

Objetivos Específicos

- ✓ Descrever o perfil socioeconômico da população com residência na área do surto chagásico.
- ✓ Avaliar o conhecimento da população sobre a doença de Chagas, com enfoque nas vias de infecção.
- ✓ Examinar estrutura das casas e anexos do peridomicílio.
- ✓ Identificar as espécies de vetores circulantes na área do surto e sua distribuição ecotípico-espacial.
- ✓ Verificar a prevalência da IN nos vetores usando dois métodos diagnósticos de *T. cruzi*: MO e PCR.
- ✓ Mapear a distribuição das espécies vetores de *T. cruzi* na área de estudo.
- ✓ Estimar a sensibilidade e especificidade da MO em relação ao teste molecular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Questões éticas

Para desenvolver as entrevistas com os moradores, esse projeto foi submetido à Plataforma Brasil, sendo aprovado sob o protocolo nº 2.631.532 (Anexo 1).

As coletas foram feitas com o auxílio de técnicos da Secretaria de Saúde de Marcelino Vieira. Os coletores solicitaram a permissão dos moradores para coletar insetos em suas casas. As coletas tiveram a autorização do IBAMA (Licença No 58373-1) e todo o procedimento foi cadastrado no SISGEN (A5C8D0D) (Anexo 2).

Área de estudo

O município de Marcelino Vieira, RN foi escolhido porque foi onde a maioria (n=10) dos casos da doença de Chagas foram registrados. Além disso, ele alberga a moenda de cana-de-açúcar que suspeita-se ser fonte do surto (VARGAS *et al.*, 2018). Este município está situado na microrregião de Pau dos Ferros e mesorregião do Oeste Potiguar, distante 400 quilômetros da capital do estado (Natal) nas coordenadas geográficas: latitude: 6° 17' 38" Sul, longitude: 38° 10' 4" Oeste (Figura 1) e sua altitude é de cerca de 230 m. Ele ocupa uma área de aproximadamente 346 km², e sua população no censo de 2010 foi de 8.265 habitantes, sendo 40,79% na zona rural. Marcelino Vieira está dentro do bioma da Caatinga e faz parte do semiárido nordestino, caracterizado por um baixo volume pluviométrico que, em um período chuvoso de fevereiro a maio, pode alcançar os 750 mm. Os afloramentos rochosos são comuns no município, principalmente na área rural (IBGE, 2019). O estudo foi realizado no mês de fevereiro do ano 2018. O mês de fevereiro está caracterizados por ter temperatura máxima de 31,8 e mínimas de 22,2 °C. Os maiores acumulados de precipitação em 24 horas registrados no mês de fevereiro são 120 mm no ano 2000, a umidade relativa do ar é de 66% e tempo de insolação chega a 2700 horas anuais. As principais atividades econômicas são a criação de animais como galinhas, bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. As lavouras podem ser temporárias ou permanentes. As temporárias produzem cana-de-açúcar, tomate e milho, ao passo que as permanentes produzem coco da baía, banana e goiaba (IBGE, 2019).

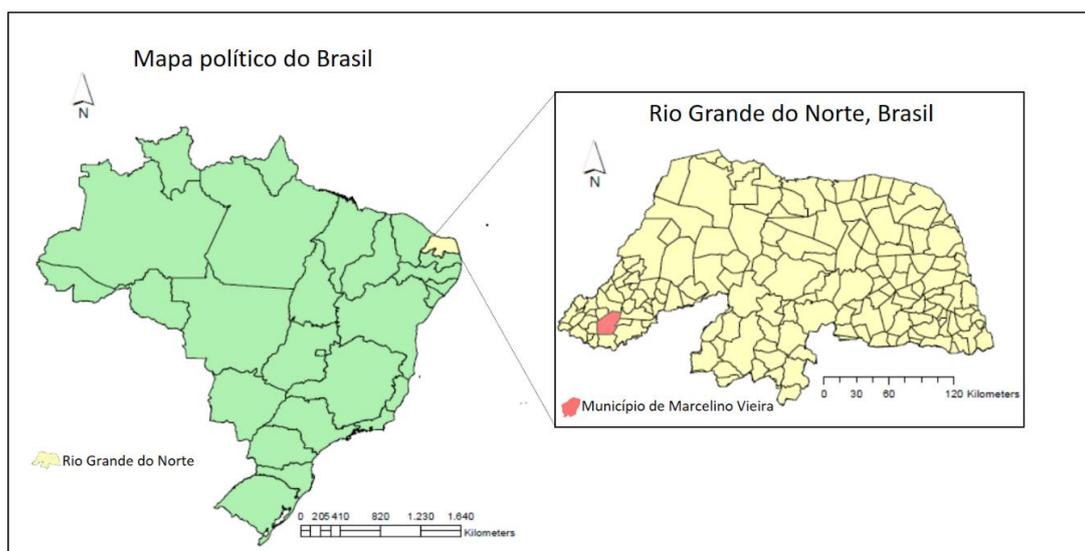


Figura 1. Município de Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, Brasil Este o município de Marcelino Vieira foi escolhido, pois teve o maior número de infecções registradas do surto e está localizado na fonte potencial: o engenho para moenda de caldo de cana (VARGAS *et al.*, 2018).

Perfil demográfico e socioeconômico dos moradores

Foi realizado um estudo transversal com 67 residentes de unidades domiciliares (UD) (termo usado para a combinação de ambientes peridomiciliares e intradomiciliares) na área rural de Marcelino Vieira. As UD foram selecionadas visando abranger todas as localidades da área rural. Assim, todas as UD contendo moradores acima dos 18 anos da área rural do município foram visitadas.

Após a assinatura (ou impressão digital) do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, um morador maior de 18 anos de cada residência foi entrevistado. Com a participação de agentes da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA), as perguntas visaram investigar características socioeconômicas da população e o conhecimento sobre a doença de Chagas. Também foram realizadas observações sobre a estrutura da casa e anexos do peridomicílio na área de estudo.

As variáveis coletadas foram: número de moradores no domicílio, sexo, idade e anos de estudo de cada um dos moradores. As idades foram agrupadas em faixas etárias de 18 a 30, 31 a 59 e 60 anos ou mais. As características socioeconômicas foram as sugeridas pelo Critério de Classificação Econômica Brasil 2018 (KAMAKURA e MAZZON, 2018), baseadas na pontuação da posse de itens e o nível de escolaridade. Realizou-se uma adaptação de acordo com a realidade dos residentes redistribuindo os pontos, e definindo as categorias segundo a

renda familiar mensal: Classe A R\$954; B1 R\$715,15; B2 R\$536,6; C1 R\$402,4; C2 R\$301,9; D e E R\$226,7 (Anexo 3).

Conhecimento dos moradores sobre a doença de Chagas e fontes de informação

Foi aplicado questionário com perguntas que objetivaram determinar o conhecimento dos moradores sobre a doença de Chagas, o vetor, fatores de risco para a colonização vetorial, vias de infecção e as fontes de informação da doença. Algumas perguntas foram direcionadas à avaliação do risco de infecção clássica – via repasto sanguíneo do vetor e posterior defecação do inseto.

Foram avaliados os conhecimentos dos moradores com perguntas que abordavam o reconhecimento do vetor (foi mostrado um mostruário com 5 triatomíneos de diferentes espécies e outros insetos, como besouros), a identificação dos ecótopos associados à infestação, o nome correto da doença, o conhecimento da transmissão pela via clássica e formas alternativas (como a via oral), se tiveram contato com o vetor e, por último, a fonte de informação sobre a doença, tais como escolas, rádio, TV, agentes de saúde, entre outros (Anexo 4).

Características da construção de moradias

Foi avaliada a construção de cada moradia por meio de inspeção e cada UD foi classificada pela sua probabilidade de colonização por triatomíneos. Foi registrado se as paredes eram revestidas e se o telhado tinha forro para evitar a colonização do inseto. Essa avaliação foi adaptada de uma pesquisa produzida pela FUNASA para orientar programas de melhoria de moradias (FUNASA, 2017) (Anexo 5).

Investigação de vetores da doença de Chagas

Para conhecer o perfil entomológico da fauna de triatomíneos e os ecótopos onde se encontravam, foram vistoriados 67 domicílios na área rural de Marcelino Vieira, nos quais foram investigados o ambiente domiciliar e o peridomicílio. Esta busca abrangeu todos os domicílios rurais de Marcelino Vieira com moradores presentes no ato da visita. Também foram realizadas capturas em afloramentos rochosos da área silvestre mais próximas às casas. Outros ecótopos naturais foram investigados, como cactos. Os insetos foram identificados de acordo com chaves taxonômicas desenvolvidas por Lent & Wygodzinsky (1979), Galvão (2014) e Dale *et al.*, (2018).

Todas as coletas foram acompanhadas pelos agentes das secretarias municipais de saúde. Em cada local de captura de triatomíneos foram registradas as coordenadas geográficas (X,Y) por meio de aparelho marcador de posicionamento global (mais conhecido por GPS - *Global Positioning System*). As coletas foram manuais por exaustão no período diurno nas UD. Com ajuda de pinças, os exemplares foram armazenados vivos em recipientes de plástico (Fig. 2) rotulados com todas as informações da procedência do material (ex: data, ecótopo, coletor, etc.), bem como com a coordenada geográfica obtida pelo GPS.



Figura 2. Armazenamento de triatomíneos capturados

Considerou-se o intradomicílio, todos os ambientes fechados por portas, onde foram examinadas as frestas das paredes, atrás de quadros, colchões, armários, embaixo de móveis como camas e cadeiras (ALMEIDA, 2008), (Fig. 3). Foi considerado como peridomicílio os anexos no entorno (<200 m) das casas, onde foram revistados currais, chiqueiros, casinhas de cachorro, poleiros e gaiolas. Além dos abrigos de animais é comum encontrar materiais empilhados (ecótopos artificiais) como telhas, tijolos, lenha, entulhos, entre outros, os quais também foram considerados anexos peridomiciliares. No que se refere às coletas de triatomíneos nas áreas silvestres, foram pesquisados todos os afloramentos rochosos (sete) a distâncias entre 100 e 200 metros das UD.



Figura 3. Buscas de triatomíneos no domicílio de UD, Marcelino Vieira, RN



Figura 4. Busca de triatomíneos em afloramentos rochosos área rural de Marcelino Vieira, RN

Os ambientes silvestres se diferenciam do peridomiciliar por estar afastados das UD a uma distância de mais de 100 metros (Fig. 4). Os afloramentos rochosos são os principais habitats de *T. b. brasiliensis* (LENT e WYGODZINSKY, 1979), também os cactos conhecidos no Nordeste como xiquexique (VALENÇA-BARBOSA *et al.*, 2014). As coletas foram

divididas em quatro localidades (A, B, C e D) e fora das localidades em pontos silvestres (O). As buscas nos ambientes silvestres foram desenvolvidas nos horários noturnos com ajuda de lanternas (MARCONDES, 2011).

As populações de insetos foram definidas como o grupo de triatomíneos que foram coletados em um mesmo ponto, ecótopo e data. Os indicadores entomológicos foram calculados, incluindo (i) índice de infestação domiciliar (ID) = (número de UD com triatomíneos x 100/número de UD vistoriadas), (ii) densidade triatomínica domiciliar (DTD) = (número de triatomíneos capturados/número de UD vistoriadas), (iii) índice de colonização domiciliar (ICD) = (número de UD com ninfas x 100/número de UD vistoriadas) e (iv) o índice/prevalência de infecção natural por *T. cruzi* (IN) = número de triatomíneos infectados x 100/número de triatomíneos examinados (OPS, 2003).

Foi avaliada a prevalência de ecótopos presentes nas UD (PEU) = (presença de ecótopos / UD investigadas) e a prevalência de colonização dos ecótopos (PCE) = (Ecótopos inspecionados / ecótopos com triatomíneos).

O índice de infecção natural por *T. cruzi* no ambiente silvestre (INS) foi calculado separadamente da IN. A densidade triatomínica no ambiente silvestre (DTS) foi estimada de acordo com Almeida *et al.* (2009), usando a seguinte equação: $DTS = \text{triatomíneos totais coletados} / \text{total de coletores} / \text{horas de trabalho no ambiente silvestre}$.

Investigação da infecção natural

O diagnóstico de IN do vetor pela via clássica foi feito por MO, após extração das fezes de cada vetor por meio da compressão abdominal, diluídas em 50 µl de solução salina sobre uma lâmina. Em seguida, os tripanosomatídeos foram procurados no campo óptico (GOMES, 1996; LILIOSO, 2015). Tal procedimento é o mesmo utilizado rotineiramente pelas secretarias de saúde sob orientação do Ministério da Saúde.

Dentre as populações de vetores investigados para infecção por *T. cruzi*, 163 espécimes foram examinados por ambas as técnicas de MO e PCR. Os 163 espécimes foram selecionados aleatoriamente de 13 populações coletadas na área de estudo.

Para o diagnóstico molecular de *T. cruzi* foram escolhidos entre cinco e 10 espécimes de populações aleatórias, das quais três eram de *T. pseudomaculata*. A extração de DNA foi realizada a partir do conteúdo abdominal dos insetos vetores, os quais foram colocados por 10 minutos em água destilada para amolecer, e retirar o conteúdo intestinal (10 a 25 mg) com o uso de pinças e tesouras. Foi usado o kit de extração da Qiagen® *DNA Isolation: DNeasy Blood*

& *Tissue* seguindo as recomendações do fabricante. As amostras extraídas foram armazenadas a -20 °C.

O diagnóstico da infecção natural foi feito com a amplificação de fragmentos do DNA do cinetoplasto (kDNA) de *T. cruzi* (quando presente) pela PCR usando o primer kDNA 121 (*Forward*) AAATAATGTACGGG (T/G) GAGATGCATGA e 122 (*Reverse*) GGTTTCGATTGGGGTTGGTGAATATA (STURM *et al.*, 1989; WINCKER *et al.*, 1994). As condições da PCR foram as seguintes: 80 µl de DNA, 10x tampão Taq com KCl, 3,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM dNTPs de 10 pmol de cada primer, 1U Taq polimerase em um volume final de 20 µl. A ciclagem de temperatura foi: 95°C por 5 minutos; seguida por 35 ciclos a 95°C por 45 segundos, 65°C por 45 segundos, 72°C por 45 segundos e uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Para diminuir a ação de inibidores contidos nas fezes e no sangue na reação de PCR foi usado BSA 0,003% (*Bovine Serum Albumine*). O produto da PCR foi visualizado em gel de agarose 2%. A ausência da banda específica de 330 pares de bases no gel foi interpretada como inexistência de infecção por *T. cruzi* na amostra. Todas as PCR foram realizadas com um controle positivo *T. cruzi* Dm28c (TcI) e um controle negativo: reagentes da PCR sem DNA + 1 ml de água destilada.

Relação entre a infecção por Trypanosoma cruzi, habitat e locais ocupados por Triatoma brasiliensis brasiliensis

Foram examinados 612 espécimes de *T. b. brasiliensis* por MO de modo a mostrar a relação entre a prevalência de *T. cruzi*, entre os ecótopos e localidades. Na localidade A, 21,8% (60/275) das amostras foram coletadas em galinheiros; o restante foi coletado em pilhas de lenha no ambiente peridomiciliar e de afloramentos rochosos (n = 10) os quais foram todos positivos para *T. cruzi*. Exceto para galinheiros, os habitats peridomiciliares restantes (pilhas de madeira, pilhas de tijolos e pilhas de madeira combinado com pilhas de tijolos) exibiram alta proporção de insetos infectados (> 45%).

Sensibilidade e Especificidade da Microscopia Óptica frente ao teste molecular

Foi comparada a prevalência da infecção natural pela MO e PCR para 159 espécimes de *T. b. brasiliensis*. Posteriormente foi avaliada a sensibilidade (S) e especificidade (E) da MO considerando a PCR como padrão ouro para diagnosticar a presença de *T. cruzi* nos triatomíneos. Para esse fim, foram calculadas a S e E segundo as relações explicitadas na tabela 1:

Tabela 1: Sensibilidade e Especificidade do teste de Microscopia Ótica (MO) em relação ao teste molecular PCR (padrão ouro) para detecção de infecção natural por *T. cruzi*.

		Infecção (PCR)	
		Positiva	Negativa
MO	Positiva	VP(A)	FP (B)
	Negativa	FN (C)	VN (D)

VP-verdadeiro positivo; VN-verdadeiro negativo; FP-falso positivo; FN- falso negativo

$$\text{Sensibilidade} = A / (A + C)$$

$$\text{Especificidade} = D / (B + D)$$

Mapeamento e a relação entre infecção por *Trypanosoma cruzi*, habitat e localidades para *Triatoma brasiliensis brasiliensis*

As coordenadas geográficas (X,Y) obtidas em campo por meio de GPS foram projetadas no mapa da região de estudo disponibilizado pelo IBGE. Os mapas de distribuição espacial das espécies de vetores, da infecção por *T. cruzi* e dos ecótopos foram elaborados utilizando-se o *software* ARC-Map 10.5.

Para explorar a interação entre fontes de habitat, prevalência de *T. cruzi* e localidades, foi utilizado o *software* Cytoscape 3.7.2 (SHANNON *et al.*, 2003) para construir uma rede. Para isso, usamos apenas insetos positivos para infecção natural por *T. cruzi* via MO.

Análises Estatísticas

Para avaliar a relação entre os indicadores entomológicos obtidos e as localidades foi usado o teste Qui-quadrado e para avaliar a detecção do *Trypanosoma cruzi* entre as técnicas tradicional e molecular foi utilizado o teste Qui-quadrado de McNemar. A significância estatística foi avaliada usando 95% de confiança intervalos e um alfa de 0,05. Todas as análises foram conduzidas usando o R (*R Development Core Team*, versão 3.6.3; <https://www.r-project.org/>).

RESULTADOS

Perfil sociodemográfico e socioeconômico dos moradores

Foi entrevistada uma pessoa por cada UD (total 67), com 18 anos de idade ou mais. As faixas etárias encontradas foram 18 a 30 anos (17,9%), 31 a 59 (43,3%) e 60 anos e mais (38,8%). A maioria possuía menos de cinco anos de estudo ou era analfabeto (Tabela 2).

Tabela 2. Nível de escolaridade dos 67 residentes entrevistados na área rural próximos a surto chagásico ocorrido em Marcelino Vieira. Rio Grande do Norte. Brasil, 2018.

Nível de escolaridade	N	Anos de estudo	%
Analfabeto /fundamental I incompleto/ fundamental I completo I (1-5º ano)	37	< 5 anos	55,2
Fundamental incompleto II / Fundamental completo II (6-9º ano)	22	6-8 anos	32,8
Médio incompleto / Médio completo	8	9 anos ou mais	11,9

Para quem tem rendimentos mensais as principais fontes de renda provem da aposentadoria por idade ou incapacidade (55,2%) e programas sociais governamentais (6,0%), atividades pecuárias (31,3%) (Fig. 5 e 6) e outras 7,5%. A maioria das famílias (30,3%) recebem uma renda mensal de R\$301,9 (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição das famílias de Marcelino Vieira, segundo o Critério de Classificação Econômica Brasil, (ABEP, 2018), com adaptação segundo o salário mínimo para 2018.

Classe	Renda média familiar (R\$)	Número de famílias	%
A	954,00	1	1,5
B1	715,5	2	3,0
B2	536,6	8	12,2
C1	402,4	18	27,3
C2	301,9	20	30,3
D-E	226,7	18	25,7



Figura 5. Criação de galinhas no peridomicílio, de UD no município de Marcelino Vieira, RN



Figura 6. Criação de cabras no peridomicílio de UD no município de Marcelino Vieira, RN

Conhecimento dos moradores sobre a doença de Chagas e fontes de informação

Quanto ao conhecimento dos residentes sobre a doença de Chagas, 95% dos entrevistados (Fig. 7) reconheceram o inseto vetor, conheciam o ecótopo que ocupa nas UD, e a maioria dos entrevistados (92,5%) sabe que o triatomíneo transmite uma doença. Apenas 7,5% relataram conhecer a transmissão da doença pela via oral. Nos últimos três anos, 30% dos moradores acreditam ter sido picados pelo vetor (Tabela. 4). A maioria deles perceberam pelo fato de achar insetos ingurgitados de sangue ao redor de onde estavam dormindo (por exemplo, debaixo das camas, atrás de móveis, cortinas, etc.).



Figura 7. Entrevista moradora do município de Marcelino Vieira (a foto foi publicada com a permissão do morador).

Tabela 4: Respostas de moradores da área de estudo (n = 67 entrevistados) sobre a doença de Chagas, Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, Brasil, 2018.

Perguntas	Frequência (sim/total)	%
Conhece o vetor (barbeiro/procotó)	64/67	95,0
Sabem onde pode-se esconder o vetor	52/67	77,6
Se transmite doença	62/67	92,5
Conhece o nome correto da doença	44/67	71,0
Sabe como se transmite	62/67	92,5
Conhece outra forma de transmissão além da clássica	5/67	7,5
Já teve contato com o inseto nos últimos 3 anos	20/67	30

As principais fontes de informação sobre a doença de Chagas vieram da comunidade (vizinhos) (49,3%), (Tabela 5).

Tabela 5. Fontes onde a população obteve informação sobre a doença de Chagas, Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, 2018.

Fonte de informação	n=67*	%
Vizinho	33	49,3
Família	13	19,4
Escola	9	13,4
TV	9	13,4
Agente de saúde	5	7,5
Quando foi picado	1	1,5

*um entrevistado pode ter mais de uma resposta

Características da construção de moradias

Verificamos que 97% (65/67) das casas pesquisadas não possuíam telhados com forro; no entanto, apenas 12% (8/67) não possuíam paredes rebocadas (Fig. 8 e 9).



Figura 8. Casa na área rural de Marcelino Vieira, RN sem reboco completo e teto sem forro



Figura 9. Casa na área rural de Marcelino Vieira, RN rebocada e teto sem forro

Investigação de vetores da doença de Chagas

Capturas de insetos

No levantamento entomológico, foi notado que 35% (24/67) das casas tinham triatomíneos no peridomicílio. Dentro das moradias, foram capturados seis espécimes de *T. b. brasiliensis* em duas casas (uma única fêmea adulta em uma UD e cinco ninfas em paredes rebocadas em outra). *T. b. brasiliensis* foi a espécie mais capturadas em todos os ecótopos (98-100%), exceto por um galinheiro com uma importante infestação de (n = 251) *T. pseudomaculata* e *R. nasutus* (n = 7). A espécie mais capturada neste estudo foi *T. b. brasiliensis* o qual tem maior relevância epidemiológica por estar envolvido em surtos no passado (COSTA *et al.*, 2003a).

Ecótopos

Foi calculada a prevalência dos ecótopos presentes nas UD (PEU) e a prevalência de colonização dos ecótopos (PCE). No geral, galinheiros (Fig. 10) foram os ecótopos mais comuns encontrados nas UD (PEU = 85%). No entanto, encontramos uma maior colonização de insetos em pilhas de madeira (PCE = 47,1%) (Fig.11, 12 e 13). Tanto o PEU quanto o PEC

variaram entre as localidades (Tabela 6). Para ambos os indicadores, a distribuição foi significativa entre localidades em $p < 0,05$.



Figura 10. Busca de triatomíneos em pilhas de telha ao lado do galinheiro no peridomicílio de UD no município de Marcelino Vieira, RN.



Figura 11. Busca de triatomíneos em pilhas de madeira no peridomicílio de UD no município de Marcelino Vieira, RN.



Figura 12. Amontoado de madeira próximo a engenho onde foi moído o caldo de cana suspeito de originar o surto no município de Marcelino Vieira, RN.



Figura 13. Amontoado de madeira próximo a engenho no município de Marcelino Vieira, RN.

Tabela 6. Ecótopos susceptíveis e infestados com *Triatoma brasiliensis brasiliensis* em Marcelino Vieira, RN, 2018.

Ecótopo (n)	Localidades									
	A		B		C		D		Total	
UDs pesquisadas	39		9		14		5		67	
	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC
Pilha de telha/tijolo	30,8 (12/39)	41,7 (5/12)	77,8 (7/9)	42,9 (3/7)	57,1 (8/14)	12 (1/8)	60 (3/5)	33,3 (1/3)	45 (30/67)	43,3 (13/30)
Pilha de madeira	30,8 (12/39)	33,3 (4/12)	33,3 (3/9)	100 (3/3)	7 (7/14)	100 (7/7)	20 (1/5)	0 (0/1)	25,4 (17/67)	47,1 (8/17)
Galinheiro	87,2 (34/39)	26,1 (9/34)	66,7 (6/9)	0 (0/6)	93 (13/14)	38,5 (5/13)	80 (4/5)	100 (4/4)	85,1 (57/67)	31,6 (18/57)
Cocheira	5,1 (2/39)*	0	0	0	0	0	20 (1/5)*	100 (1/1)*	1,5 (1/67)*	100 (1/1)*
Armazém	2,6 (1/39)	100 (1/1)	-	-	-	-	-	-	1 (1/67)	100 (1/1)

% prevalência de ecótopos em UD (%PEU) = presença de ecótopos/ UD investigadas. Prevalência de colonização dos ecótopos (%PCE) = Ecótopos inspecionados com triatomíneos. *número insuficiente para ser considerado

Indicadores entomológicos para ambientes antrópicos

No geral, o valor de infestação domiciliar (ID) foi (35,8%), o índice de colonização domiciliar (ICD) foi 32,8%, a densidade triatomínica domiciliar (DTD) foi 7,7, refletindo o número de triatomíneos coletados em relação ao número de casas inspecionadas. Em geral, a prevalência de IN por *T. cruzi* em habitats antropogênicos foi de 25%. Esses indicadores variaram entre localidades. Como a localidade A (0%) e a C (100%). As localidades B e C estavam um pouco mais próximas aos afloramentos rochosos e mostraram ID, DTD e ICD mais elevados. A DTD apresentou variação 3,1 (A) a 16,9 (C). Para todos os indicadores, a distribuição foi significativa entre as localidades em $p < 0,05$.

Indicadores entomológicos para ambientes silvestres

Todas as localidades tinham focos silvestres (afloramentos rochosos) próximas das UD (<250 m), com alguma localidade tendo mais de um foco (localidade C), (Fig. 14). No geral, coletamos 1.096 insetos em ambientes silvestres, variando de 29 (C2) a 287 (D). Só foi possível testar a IN para *T. cruzi* em alguns indivíduos em ambientes silvestres (INS) pois, a maioria dos insetos estavam magros demais para serem analisados ou morreram logo após a coleta. A IN teve variações nos ambientes antropogênicos, mesmo dentro da mesma localidade - por exemplo, na localidade A, onde nenhum inseto no peridomicílio estava infectado; no entanto, encontramos 100% (10/10) de IN em insetos no ambiente silvestre onde foram achadas fezes de *Galea spixii* (Rodentia: Caviidade) conhecido como preá (Tabela 7). A densidade triatomínica silvestre (DTS) foi de 9,7. DTS variou de 1,8 (C2) a 17,9 (D). Para os indicadores, a distribuição foi significativa entre localidades a $p < 0,05$.

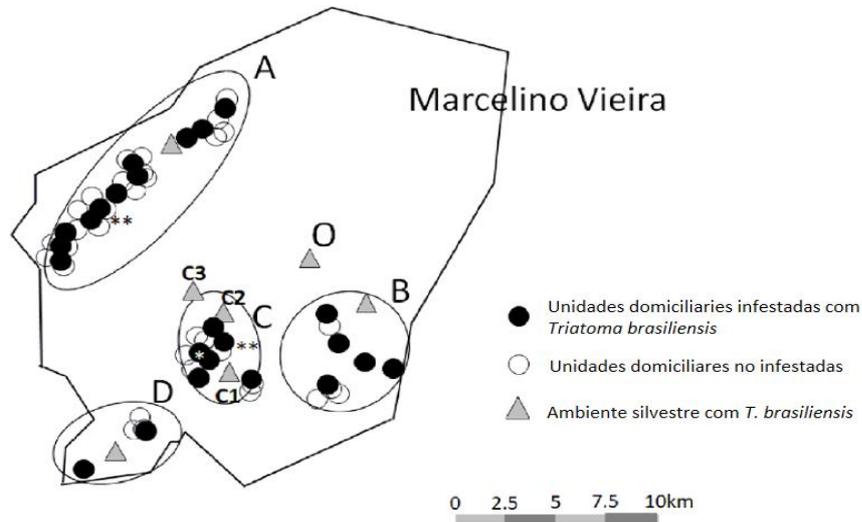


Figura 14. Localidades Marcelino Vieira. Rio Grande do Norte.

Tabela 7. Indicadores entomológicos baseados nas capturas de *Triatoma brasiliensis brasiliensis* nos afloramentos rochosos no município de Marcelino Vieira, RN

Localidades	n (coletados)	INS (infec/an)	DTS
A	119	100% (10/10)	7,4
B	127	NA	7,9
C1*	237	0% (0/6)	17,9
C2*	29	9% (3/34)	1,8
C3*	104	0% (0/6)	6,5
D	287	24% (23/98)	17,9
O	193	NA	12,1
Total	1,096	25,5% (35/154)	9,7

INS = índice de infecção natural Silvestre de *T. cruzi*; Infec= n insetos infectados; an= n insetos analisados. *devido a localidade C tinha três ambientes silvestres, nós os indicamos no mapa. NA = não analisado

Estatísticas para os indicadores entomológicos

Foi realizado o teste Qui quadrado para os indicadores entomológicos e as localidades onde foram coletados os quais evidenciaram que existe significância entre eles (todos $\chi^2 > 100,6$, $df = 3-6$, $p < 0,0001$).

Comparação da detecção de *Trypanosoma cruzi* em insetos via microscopia óptica

Selecionamos aleatoriamente 159 amostras de *T. b. brasiliensis* analisadas pela MO e PCR para identificar a infecção por *T. cruzi*. O número de espécimes variou entre as amostras coletadas dentro das localidades, de modo que mais amostras foram incluídas de áreas com maior importância epidemiológica. Por exemplo, analisamos 30 insetos no engenho de cana-de-açúcar (e provável local do surto - população "vii" na localidade B), e 34 insetos de um local com numerosas infestações ($n = 191$ insetos coletados). No entanto, em locais onde havia menos infestações ($n < 70$), analisamos menos amostras (5-20). Os insetos das populações "vii" e "ix" apresentaram a maior prevalência por *T. cruzi*, considerando o tamanho da amostra, utilizando tanto MO (93% e 100%, respectivamente) e PCR (100% para ambas populações) (Tabela 8). Não encontramos diferença estatística na prevalência identificada pelos métodos de MO e PCR ($\chi^2 = 3,03$, $df = 1$, $p = 0,081$).

Tabela 8. Detecção de *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma brasiliensis brasiliensis* em populações analisadas pela microscopia óptica (MO) e reação em cadeia da polimerase (PCR), capturados em locais em Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte

<i>T. b. brasiliensis</i> local de coleta	Ecótopo	Localidade	OM%	PCR%
I	Silvestre	O	100 (1/1)	100 (1/1)
Ii	Peridomicílio		0 (0/5)	40 (2/5)
Iii	Peridomicílio		0 (0/7)	42,9 (3/7)
Iv	Peridomicílio	A	0 (0/10)	0 (0/10)
V	Peridomicílio		0 (0/8)	0 (0/8)
Vi	Silvestre		100 (8/8)	100 (8/8)
Vii	Peridomicílio		93,3 (28/30)	100 (30/30)
Viii	Peridomicílio	B	100 (4/4)	100 (4/4)
Ix	Peridomicílio		100 (34/34)	100 (34/34)
X	Peridomicílio		100 (10/10)	90 (9/10)
Xi	Peridomicílio	C	0 (0/4)	75 (3/4)
Xii	Silvestre		46,2 (6/13)	57,1 (8/13)
Xiii	Peridomicílio		100 (5/5)	100 (5/5)
Xiv	Peridomicílio	C	75 (15/20)	75 (15/20)
Total			69,8 (111/159)	76,7 (122/159)

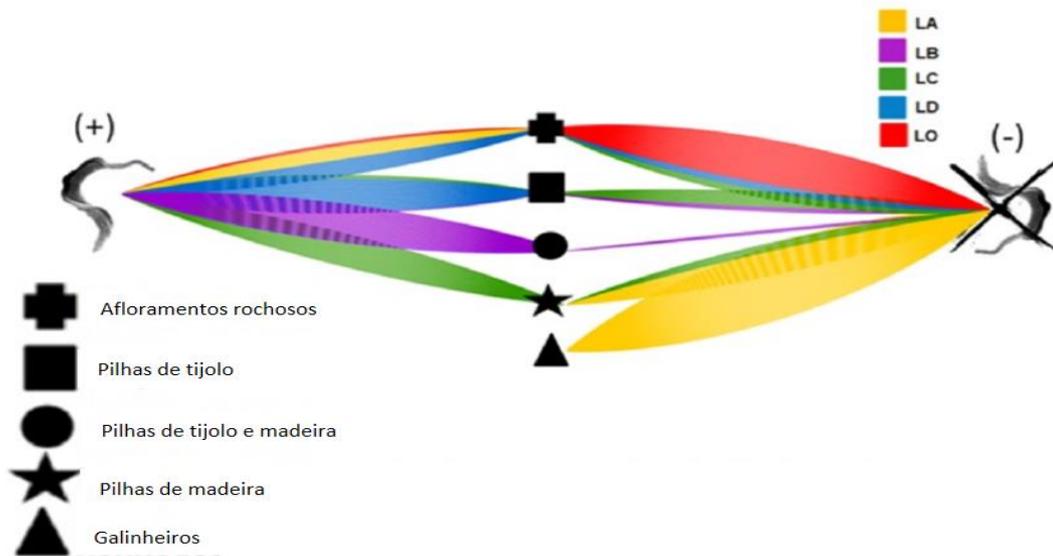


Figura 15. Rede de relações entre os habitats, localidades e Infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em *Triatoma brasiliensis brasiliensis* (n = 612). A largura das conexões indica o tamanho da amostra. A cor da conexão indica localidade. Os nós centrais representam os ecótipos, enquanto os da direita e os polos esquerdos indicam a infecção positiva e negativa de *T. cruzi* nos insetos.

Relação entre a infecção por Trypanosoma cruzi, habitat e localidades de Triatoma brasiliensis brasiliensis

A presença de pilhas de tijolos parece ser mais suscetível de abrigar triatomíneos infectados. Insetos infectados foram identificados em todas as localidades que tiveram afloramentos rochosos, com um total de 22% (35 /154) (Fig. 15).

Sensibilidade e especificidade da microscopia óptica para o diagnóstico de infecção natural de Trypanosoma cruzi

A prevalência da infecção natural pela MO foi estimada em 67,3% (107/159) e pelo PCR 76,1% (121/159) (Tabela 9). Considerando-se a PCR como método padrão ouro na identificação da infecção a da PCR a sensibilidade da MO foi 85% e a especificidade 89%.

Tabela 9. Cálculo da Sensibilidade e especificidade da microscopia óptica para o diagnóstico de infecção natural de *Trypanosoma cruzi*

Triatomíneos investigados	PCR (+)	PCR (-)	Total
Microscopia óptica (+)	103	4	107
Microscopia óptica (-)	18	34	52
Total	121	38	159

VP-verdadeiro positivo, VN- verdadeiro negativo, FP- falso positivo;
FN- falso negativo

$$\text{Sensibilidade} = \frac{103}{103 + 18} \times 100 = 85,1\% \quad \text{Especificidade} = \frac{34}{4 + 34} \times 100 = 89,5\%$$

DISCUSSÃO

Embora, desde 1980, a transmissão vetorial da doença de Chagas tenha diminuído drasticamente no Brasil, casos agudos continuam sendo reportados (COURA *et al.*, 2002). A maioria dos moradores próximos à área do surto chagásico estava na faixa etária dos 31 a 59 anos, possuía menos de cinco anos de estudo, sendo isto confirmado na hora de assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Isso pode ser explicado pelas dificuldades do transporte dos moradores das áreas rurais até a escola mais próxima. Vários estudos sugerem que há uma forte associação entre baixo nível de escolaridade e infecção por *T. cruzi* (OLIVEIRA-MARQUES *et al.*, 2005; BORGES-PEREIRA *et al.*, 2021; AGUILAR *et al.*, 2007). Condições econômicas que estão vinculadas ao nível de escolaridade, também estão relacionadas a taxas de transmissão, como o observado por Marques *et al.*, (2010).

A principal fonte de renda é a aposentadoria, que é coerente com a faixa etária observada e com a alta incidência de pessoas com comorbidades – o que as deixa dependente da renda governamental. Só 4,5% das famílias têm um rendimento mensal maior do que o salário mínimo no Brasil (R\$ 954). Neste estudo, a renda permanente dos moradores entrevistados foi difícil de avaliar, uma vez que a renda dos trabalhadores rurais não é permanente devido aos ciclos produtivos das lavouras e dos animais.

O conhecimento da população sobre a via de transmissão de *T. cruzi* também pode afetar positivamente a taxa de infecção entre os residentes. A maioria dos entrevistados conhece a via clássica de transmissão da doença de Chagas por meio da defecação do vetor após o repasto sanguíneo, mas só 7% conhece o risco da infecção pela via oral (que também é dependente do vetor). De acordo com Colosio *et al.* (2007), em Paiçandu, estado do Paraná, a maioria da população desconhece as formas de transmissão da doença. Maeda & Gurgel-Gonçalves, (2012) registram que em áreas rurais do Distrito Federal, os habitantes desconhecem os hábitos de alimentação do vetor.

O estudo de Daflon-Teixeira *et al.*, (2019) sugere que a estrutura das moradias, como paredes sem cobertura podem ser um fator de risco para a colonização de triatomíneos, pois as fendas podem funcionar como refúgios. Os tetos sem cobertura (12%), podem facilitar a circulação do vetor.

Foram encontrados triatomíneos da espécie *T. b. brasiliensis* no intradomicílio em duas casas. Esse achado é similar com o estudo de Barbosa-Silva *et al.*, (2016), no estado de RN (DAFLON-TEIXEIRA *et al.*, 2019) e no CE (VASCONCELOS *et al.*, 2013). Nestes estudos

foi comum encontrar insetos em paredes com cobertura. Contudo, deve-se considerar o encontro de adultos como uma possível invasão acidental pois os insetos alados têm destacada capacidade de dispersão e são atraídos pela luz artificial. No entanto, foram encontradas cinco ninfas em um intradomicílio em paredes de alvenaria – o que pode indicar o encontro de domiciliados devido à sua inferior capacidade de dispersão, pois ainda não possuem asas. A Organização Pan-Americana da Saúde (2003) aponta que o encontro de ninfas no intradomicílio indica colonização pois triatomíneos são capazes de voar apenas na fase adulta, portanto, são residentes e não invasores. Esse achado é importante, pois o PCDCh envolveu melhorias nas moradias, com alterações no material de construção das casas e substituição de casas de pau a pique por de alvenaria (VINHAES e DIAS, 2000). Entretanto, só isso parece não ter sido eficiente para evitar a colonização de *T. b. brasiliensis*, o que pode resultar em risco de transmissão da doença de Chagas aos humanos (DIAS *et al.*, 2000; COURA, 2013). A presença de triatomíneos no domicílio é um indicador para que as vigilâncias entomológicas e epidemiológicas intervenham na moradia através da busca e borrifação com inseticida após o encontro de mais espécimes, associadas a medidas educativas específicas para a prevenção de colonização do vetor, mesmo que seja capturado um único exemplar adulto (OPS, 2003).

Com relação à vigilância entomológica, a espécie de triatomíneo mais coletada em todos os ecótopos foi *T. b. brasiliensis*, seguido de *T. pseudomaculata* e *R. nasutus*, as quais são espécies nativas do Nordeste brasileiro (DIAS *et al.*, 2000). Estudos similares apontam também *T. b. brasiliensis* como o triatomíneo mais frequente nos domicílios, a saber: Liliuso, (2015) na PA e RN, Coutinho *et al.*, e Sarquis *et al.*, (2012) no estado de CE. Além de *T. b. brasiliensis* foram encontradas no intradomicílio no RN espécies como *T. pseudomaculata*, *T. petrochiae*, *P. diasi*, *P. megistus*, *P. lutzi*, e *R. nasutus* (COSTA *et al.*, 2003a).

As localidades com altos valores de DTD também tiveram alta infestação nos peridomicílios, o que sugere que a densidade triatomínica pode influenciar positivamente na infestação. Com respeito às distâncias entre os afloramentos rochosos e as UD, a maioria das casas se localizavam próximas a uma formação rochosa dentro do alcance capacidade de voo dos triatomíneos (~500 metros) (CECERE *et al.*, 2004). Exceto para a localidade D cujo número de casas investigadas (n=5) foi insuficiente fazer uma dedução robusta sobre o papel dos focos silvestres como fonte de infestação domiciliar.

Em relação com os anexos presentes nas UD os galinheiros foram os ecótopos mais comuns, presentes em 85,1% das UD investigadas, das quais só 31,6% estavam infestados. As pilhas de telhas foram as menos prevalentes (25,4-45%) das quais 43-47% estavam infestadas

por triatomíneos. No entanto, as populações coletadas nestes últimos ecótopos mostraram uma alta prevalência de infecção por *T. cruzi*. É muito comum encontrar materiais de construção empilhados no peridomicílio sem previsão de uso, os quais se tornam ecótopos artificiais adequados para infestações dos triatomíneos. Essa constatação também verificada por Coutinho *et al.*, (2012) no estado de CE. De acordo com Lilio *et al.*, (2020), esses ecótopos podem ser potenciais refúgios para o encontro dos vetores e reservatórios de *T. cruzi*.

Existem muitos fatores que influenciam a infestação das UD por triatomíneos, como a proximidade dos animais domésticos dos afloramentos rochosos. Embora a maioria das pessoas não possa realocar suas casas para mais longe do habitat natural para triatomíneos, os residentes devem ser informados sobre fatores de risco que possam determinar positivamente as infestações triatomínicas (DIAS *et al.*, 2007). Ou seja, entender a relação entre infestação e ecótopos pode reduzir o risco de transmissão de doenças. A prevalência dos insetos infectados nos peridomicílios foi maior que na área silvestre, com exceção dos galinheiros. Portanto, programas educativos seriam de grande utilidade para informar aos residentes acerca do risco associado ao ecótopos artificiais nos peridomicílios.

A MO apresentou 85% de verdadeiros positivos (sensibilidade) e 89% de verdadeiros negativos (especificidade) para a detecção de *T. cruzi*. No que se refere ao confronto das técnicas PCR e MO para diagnosticar a prevalência de IN nos triatomíneos, foi achada uma diferença de 8% – que não foi significativa estatisticamente. Nos resultados de Lima-Oliveira *et al.*, (2020), Moreira *et al.*, (2017), Vinhaes *et al.*, (2014) foi enfatizado que a infecção por *T. cruzi* pode ser subestimada pela MO. Além disso, Vinhaes *et al.*, (2014), reportaram que a prevalência por *T. cruzi*, identificada pela MO pode apresentar um viés causado pelo estado nutricional dos insetos. Segundo esses autores isso está geralmente associado ao pouco conteúdo intestinal para ser extraído de insetos mantidos por longos períodos em jejum até a análise ou também no caso de morte em que o inseto está seco. Esses autores também reportam a dificuldade na diferenciação de *T. cruzi* de outro tripanosomatídeo com características morfológicas similares ao *T. cruzi*, como *Blastocrithidia triatomae* e *T. rangeli*. É importante ressaltar que *T. rangeli* já foi encontrado em *T. b. brasiliensis* no RN (LIMA-OLIVEIRA *et al.*, 2020). No entanto, dada a falta de evidências estatísticas, a MO ainda é válida para estimar a prevalência de *T. cruzi* se os insetos forem frescos e vivos.

O estado de RN apresenta uma alta circulação de *T. cruzi* (BARBOSA-SILVA *et al.*, 2016; LIMA-OLIVEIRA *et al.*, 2020) comparados com os estados de CE e PA (DAFLON-TEIXEIRA *et al.*, 2019; COUTINHO *et al.*, 2012), onde a prevalência pode variar de (2,9–

20,3%). A alta circulação de *T. cruzi* no estado de RN, evidenciou-se no estudo de Vicente e Camara (2019), que identificou a positividade para *T. cruzi* em 16 dos 40 cães investigados. Esses estudos ressaltam o risco de transmissão do parasita ao homem e a necessidade de monitorar as infestações domiciliares de *T. b. brasiliensis* para prevenir surtos - principalmente no estado do RN.

CONCLUSÕES

Existem elementos que não podem ser mudados como a proximidade dos afloramentos rochosos e os anexos das residências humanas. *Triatoma brasiliensis brasiliensis* é a espécie preponderante na localidade com base em outros estudos prévios e nos atuais resultados. Outras espécies foram coletadas nas áreas de estudo e dada a atração dos triatomíneos por fontes luminosas, não é possível afirmar com precisão qual das espécies ou quais as espécies foram responsáveis pelo surto. A área estudada é compatível com a possibilidade de vetores terem sido triturados nas moendas de caldo de cana como já evidenciado anteriormente em outros estudos. *Triatoma brasiliensis brasiliensis* apresentou índices de infecção natural compatíveis com a manutenção dos ciclos domiciliares e silvestres de *T. cruzi*. Deste modo, as recomendações para o controle dos vetores são a inspeção regular das casas e anexos, a educação dos moradores e a pulverização após encontro das espécies no domicílio. É necessário aprimorar o conhecimento da população na área do surto no tocante aos riscos de infecção por via oral. Entretanto, um fator agravante foi o baixo nível de escolaridade geral da população. Deve-se usar recursos para que essa população tenha acesso a informação de maneira simples. Sabe-se que a comunidade pode ser forte aliada no combate aos vetores. Por outro lado, as vigilâncias epidemiológicas e entomológicas devem também ser permanentes, além do diagnóstico precoce e tratamento adequado dos pacientes infectados, visando diminuir o impacto da infecção na morbidade e mortalidade nas áreas de risco.

PERSPECTIVAS PARA ESTUDOS COMPLEMENTARES

O surto se estendeu aos municípios de Tenente Ananias, Alexandria e Pilões além de Marcelino Vieira (VARGAS *et al.*, 2018). Esses municípios estão localizados ao sudeste do estado e entre eles tem uma distância de 17 a 30 km. As atividades da moenda da cana começam às três da manhã quando ainda não amanheceu, sob luz artificial, o que atrai os triatomíneos, os quais possuem hábitos noturnos, facilitando a contaminação dos alimentos ali processados (NOIREAU e DUJARDIN, 2001). Neste estudo foi observado a existência de entulhos infestados por *T. b. brasiliensis* positivos para *T. cruzi* próximos ao local de moenda de cana-de-açúcar, que possivelmente gerou o surto chagásico (VARGAS *et al.*, 2018). O número de entrevistados que tiveram contato com o vetor é fator preocupante; portanto deve-se aumentar os monitoramentos triatomínicos para interromper a transmissão chagásica. Os resultados deste estudo ressaltam a necessidade urgente de se fazer um estudo sorológico na área de surto, especialmente onde foram encontrados triatomíneos infectados nos peridomicílios. De acordo com dados publicados por WHO (2020), é necessário um diagnóstico amplo para tratar pacientes infectados por *T. cruzi* na fase específica da doença (aguda e crônica).

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, HM.; ABAD-FRANCH, F.; DIAS, J.C.; JUNQUEIRA, A.C.; COURA, J.;
Chagas disease in the amazon region. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz
 [online]. 2007, v. 102, suppl 1. 47-56. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007005000098>. Epub 31 Agos. de 2007. ISSN 1678-8060.
- ALENCAR, J.E. **História natural da doença de Chagas no Estado do Ceará.** Imprensa Univ. Univ. Fed. do Ceará, 1987.
- ALMEIDA, C. E.; PACHECO, R. S.; Dotson E.; D'Avila, A.; COSTA, J. **Population structure of *Triatoma brasiliensis* inferred from variation in mitochondrial DNA sequences: an attempt to understanding domiciliary colonization, invasion and reinfestation.** In: VII International Meeting on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases/31th Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease, 2004, Valencia, Espanha. Annals of the VII International Meeting on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases/31th Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease, 2004.
- ALMEIDA, C.E.; MARCET, P.; GUMIEL, M.; TAKIYA, D.; CARDOZO-DE-ALMEIDA, M.; PACHECO, R.; LOPES, L.; DOTSON, E.; COSTA, J. **Phylogenetic and phenotypic relationships among *Triatoma carcavalloii* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) and related species collected in domiciles in Rio Grande do Sul State, Brazil.** J. Vector Ecol 34(2):164-73, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2009.00023.x>. doi 10.1111/j.1948-7134.2009.00023
- ALMEIDA, C.E.; FAUCHER, L.; LAVINA, M.; COSTA, J.; HARRY, M. **Molecular individual-based approach on *Triatoma brasiliensis*: inferences on triatomine foci, *Trypanosoma cruzi* natural infection prevalence, parasite diversity and feeding sources.** PLoS Negl. Trop. Dis. 10, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004447>. doi 10.1371/journal.pntd.0004447
- ALMEIDA, C.E.; PACHECO, R.S.; HAAG, K.; DUPAS, S.; DOTSON, E.M.; COSTA, J. **Inferring from the cyt b gene the *Triatoma brasiliensis* neiva, 1911 (hemiptera: reduviidae: triatominae) genetic structure and domiciliary infestation in the state**

of paraíba, brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg. 78, 791–802, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2008.78.791>. doi 10.4269/ajtmh.2008.78.791

BARBOSA-SILVA, A.N.; DA CÂMARA, A.C.J.; MARTINS, K.; NUNES, D.F.; DE OLIVEIRA, P.I.C.; DE AZEVEDO, P.R.M.; CHIARI, E.; GALVÃO, L.M. DA C. **Characteristics of triatomine infestation and natural *Trypanosoma cruzi* infection in the state of Rio Grande do Norte, Brazil.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 49, 57–67, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0300-2015>. doi 10.1590/0037-8682-0300-2015

BORGES-PEREIRA, J.; ZAUZA. P., GALHARDO, M.C., NOGUEIRA, J., PEREIRA, G.R., CUNHA, R.V. **Doença de Chagas na população urbana do distrito sanitário de Rio Verde, Mato Grosso do Sul, Brasil.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 34 (5), 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822001000500009>. doi 10.1590/S0037-86822001000500009

BRANDÃO H.; FONSECA E.; SANTOS R.; RIBEIRO-JUNIOS G.; SANTOS, R. RIBEIRO, G.; SANTOS, C.G.; COVA, B.; WILL, R.M.; REIS, M. **Descrição de focos residuais de *Triatoma infestans* (klug, 1834) no município de Novo Horizonte, Bahia.** Rev. baiana saúde pública. v. 39, Suppl. 1 LACEN 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.22278/2318-2660.2015.v39.n0.a2234>. doi 10.22278/2318-2660.2015.v39.n0.a2234

BRASIL. **Guia de vigilância em saúde.** Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em serviços, in: Ministério da Saúde (Ed.). Brasília, DF, pp. 441–461, 2017.

CECERE, M.C.; VAZQUEZ-PROKOPEC, G.M.; GÜRTLER, R.E.; KITRON, U. **Spatio-temporal analysis of reinfestation by *Triatoma infestans* (hemiptera: reduviidae) following insecticide spraying in a rural community in Northwestern Argentina.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 71, 803–810, 2004.

COLOSIO, R.; FALAVIG, FALAVIGNA-GUILHERME, A.L.; GOMES, M.L.; MARQUES, D.S.; LALA, E.R.; DE ARAÚJO, S. **Conhecimentos e atitudes sobre a doença de Chagas entre profissionais de saúde dos municípios de Maringá e Paçandu, Paraná.** Ciência, Cuid. e Saúde 6, 355–363. 2007. Disponível em:

https://doi.org/10.4025/ciencu_idsaude.v6i0.5328. doi10.4025/ciencu_idsaude.v6i0.5328

- COSTA, J. 1997. *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera-Reduviidae-Triatominae): estudos morfológicos biológicos e isoenzimáticos sobre diferentes padrões cromáticos. Ph.D. thesis, post-graduation course in Parasitic Biology, Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ.
- COSTA, J.; FELIX, M. *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem. Inst. Oswaldo Cruz 102 (1), 2007a. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007000100015>. doi: 10.1590/S0074-02762007000100015
- COSTA, J.; ALMEIDA, C.E.; DOTSON, E.M.; LINS, A.; VINHAES M.; SILVEIRA, A.C. **The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a Chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999.** Mem Inst Oswaldo Cruz 98 (4), 2003a. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000400002>. doi: 10.1590/S0074-02762003000400002
- COSTA, J.; ALMEIDA, C.E.; DUJARDIN, J.P.; BEARD, C.B. **Crossing Experiments Detect Genetic incompatibility among populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Heteroptera, Reduviidae, Triatominae).** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(5): 637-639, 2003b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762003000500009>. doi: 10.1590/S0074-02762003000500009
- COSTA, J.; ALMEIDA, C.E.; ESPERANÇA, G.; MORALES, N.; MALLET, J.; GONÇALVES, T.; PRADO, A. **First record of *Megaselia scalaris* (Loew) (Diptera: Phoridae) infesting laboratory colonies of *Triatoma brasiliensis* Neiva (Hemiptera: Reduviidae).** Neotrop. entomol. 36 (6), 2007b. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000600026>. doi: 10.1590/S1519-566X2007000600026
- COSTA, J.; ARGOLO, A.M.; FELIX, M. **Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae).** Zootaxa 1385: 47–52, 2006. <https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.1385.1.3>. doi: 10.11646/ZOOTAXA.1385.1.3

- COSTA, J.; CORREIA, N.; NEIVA, V.; GONÇALVES, T.C.; FELIX, M. **Revalidation and redescription of *Triatoma brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956 and an identification key for the *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae).** Mem Inst Oswaldo Cruz; 108(6): 785–789, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0074-0276108062013016>. doi: 10.1590/0074-0276108062013016
- COSTA, J.; DORNAK, L.; ALMEIDA, C.E.; PETERSON, T. **Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions.** Costa *et al.* Parasites & Vectors, 7:238. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-238>. doi: 10.1186/1756-3305-7-238
- COSTA, J.; NEIVA, V.; ALMEIDA, C.E. **O complexo *Triatoma brasiliensis* (hemiptera, reduviidae, triatominae) como modelo de estudo: uma abordagem multidisciplinar e ecoepidemiológica.** Atualidades em medicina tropical no Brasil: Vetores. Ed. Rio Branco: Stricto Sensu, 2020. <https://doi.org/10.35170/ss.ed.9786586283129.06>. doi: 10.35170/ss.ed.9786586283129.06
- COSTA, J.; PETERSON, A.; DUJARDIN, J.P. **Morphological evidence suggests homoploid hybridization as a possible mode of speciation in the Triatominae (Hemiptera, Heteroptera, Reduviidae).** Infect Genet Evol; 9(2):263-70, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.12.005>. doi: 10.1016/j.meegid.2008.12.005
- COSTA, J.; PETERSON, A.T.; BEARD, C. BEN. **Ecologic niche modeling and differentiation of populations of *Triatoma brasiliensis* neiva, 1911, the most important Chagas' disease vector in Northeastern Brazil (hemiptera, reduviidae, triatominae).** Am. J. Trop. Med. Hyg, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2002.67.516>. doi:10.4269/ajtmh.2002.67.516
- COURA, J. R. **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**, 2^o edição. Rio de Janeiro, 2013.
- COURA, J. R. **The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions - A comprehensive review.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz 110, 277–282, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0074-0276140362>. doi: 10.1590/0074-0276140362

- COURA, J. R.; JUNQUEIRA, A.C.V.; FERNANDES, O.; VALENTE, S.A.S.; MILES, M.A. **Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil.** *Trends Parasitol.* **2002.** Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(01\)02200-0](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(01)02200-0). doi: 10.1016/S1471-4922(01)02200-0
- COUTINHO, C. F. S.; SOUZA-SANTOS, R.; LIMA, M. M. **Combining geospatial analysis and exploratory study of triatomine ecology to evaluate the risk of Chagas disease in a rural locality.** *Acta Trop.* 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.10.005>. doi: 10.1016/j.actatropica.2011.10.005
- DAFLON-TEIXEIRA, N.F.; N.F., COUTINHO, C.; GOMES, T.F.; TOMA, H.K.; DUARTE, R.; BÓIA, M.N.; CARVALHO-COSTA, F.A.; ALMEIDA, C.E.; LIMA, M.M. **Multiple approaches to address potential risk factors of Chagas disease transmission in Northeastern Brazil.** *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 100, 296–302, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0480>. doi: 10.4269/ajtmh.18-0480
- DALE, C.; ALMEIDA, C.E.; ENDOÇA, J.V.; OLIVEIRA, J.; ROSA, J.A.; GALVÃO, C.; COSTA, J. **An updated and illustrated dichotomous key for the Chagas disease vectors of *Triatoma brasiliensis* species complex and their epidemiologic importance.** *Zookeys.* (805): 33–43, 2018. Disponível em: <https://10.3897/zookeys.805.25559>. doi: 10.3897/zookeys.805.25559
- DIAS, J. **Globalizacion e inequidad Chagas.** *Cad. Saúde Pública* 23, 13–22, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2007001300003>. doi: 10.1590/S0102-311X2007001300003
- DIAS, J.; RAMOS, A.; GONTIJO, E.; LUQUETTI, A.; SHIKANAI-YASUDA, A.M.; COURA, J.R.; TORRES, R.M.; MELO, J.R.; DE ALMEIDA, E.; DE OLIVEIRA JUNIOR, W.; SILVEIRA, A.C.; DE REZENDE, J.M.; PINTO, F.S.; FERREIRA, A.W.; RASSI, A.; FRAGATA FILHO, A.A.; DE SOUSA, A.S.; CORREIA, D.; JANSEN, A.M.; ANDRADE, G.M.Q. DE PAOLI DE CARVALHO BRITTO, C.F.; PINTO, A.Y.D.N.; RASSI JUNIOR, A.; CAMPOS, D.E.; ABAD-FRANCH, F.; SANTOS, S.E.; CHIARI, E.; HASSLOCHER-MORENO, A.M.; MOREIRA, E.F.; MARQUES, D.S.D.O., SILVA, E.L., MARIN-NETO, J.A., GALVÃO, L.M.D.C., XAVIER, S.S.; VALENTE, S.A.D.S.; CARVALHO, N.B.; CARDOSO, A.V.; E

SILVA, R.A.; DA COSTA, V.M.; VIVALDINI, S.M.; OLIVEIRA, S.M.; VALENTE, V.D.C.; LIMA, M.M.; ALVES, R.V. **2 nd brazilian consensus on chagas disease, 2015**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 49, 3–60, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0505-2016>. doi: 10.1590/0037-8682-0505-2016

DIAS, J.C.P.; BASTOS, C.; ARAÚJO, E.; MASCARENHAS, A.V.; NETTO, E.M.; GRASSI, F.; SILVA, M. Tatto, E., Mendonça, J., Araújo, R.F., Shikanai-Yasuda, M.A., Aras, R. **Acute Chagas disease outbreak associated with oral transmission**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000300014>. doi: 10.1590/S0037-86822008000300014

DIAS, J.C.P.; MACHADO, E.M.; FERNANDES, A.L.; VINHAES, M.C. **General situation and perspectives of Chagas disease in Northeastern region, Brazil**. Cad. Saúde Pública 16 Suppl 2, 13–3, 4, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2000000800003>. doi: 10.1590/S0102-311X2000000800003

DIAS, J.C.P.; VINHAES, M.C.; SILVEIRA, A.C.; SCHOFIELD, C.J.; CARDOSO, B.; COURA, J.R. **Pesquisas prioritárias sobre doença de Chagas na Amazônia: agenda de curto-médio prazo**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822001000500017>. doi: 10.1590/S0037-86822001000500017

DIOTAIUTI, L.; FARIA FILHO, O.F.; PINTO DIAS, J.C.; PIRES, H.H.R.; SCHOFIELD, C.J. **Aspectos operacionais do controle do *Triatoma brasiliensis***. Cad. Saúde Pública 16, 61–67, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2000000800006>. doi: 10.1590/S0102-311X2000000800006

FERREIRA, I.D.L.M.; SILVA, T. P.T.E. **Transmission elimination of Chagas' disease by *Triatoma infestans* in Brazil: An historical fact**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822006000500018>. doi: 10.1590/S0037-86822006000500018

FUENTES-VICENTE, J.A.; GUTIÉRREZ-CABRERA, A.E.; FLORES-VILLEGAS, A.L.; LOWENBERGER, C.; Benelli, G.; Salazar-Schettino, P.M.; Córdoba-Aguilar, A. **What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma***

when estimating prevalence of infection of *Triatoma infestans* by *Trypanosoma cruzi*. J. Vector Ecol. 41, 285–29, 1, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvec.12224>. doi: 10.1111/jvec.12224

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. **Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease.** Bull. Am. museum Nat. Hist. 163, p. 123–520, 1979.

LILIOSO, M. **Ecoepidemiologia de *Triatoma brasiliensis* nos estados da Paraíba e Rio Grande do Norte: indicadores entomológicos e estruturas ecotípica e composicional etária Rio.** Universidade Federal da Paraíba – UFPB Centro, 2015.

LILIOSO, M.; FOLLY-RAMOS, E.; ROCHA, F.; RABINOVICH, J.; CAPDEVIELLE-DULAC, C.; HARRY, M.; MARCET, P.; COSTA, J.; ALMEIDA, C.E. **High *Triatoma brasiliensis* densities and *Trypanosoma cruzi* prevalence in Domestic and peridomestic habitats in the State of Rio Grande do Norte, Brazil: The Source for Chagas Disease Outbreaks?** Am. J. Trop. Med. Hyg., 96(6), pp. 1456–1459, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0823>. doi: 10.4269/ajtmh.16-0823

LILIOSO, M.; REIGADA, C.; PIRES-SILVA, D.; FONTES, F. VON H.M., LIMEIRA, C.; MONSALVE-LARA, J.; FOLLY-RAMOS, E.; HARRY, M.; COSTA, J.; ALMEIDA, C.E. **Dynamics of food sources, ecotypic distribution and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma brasiliensis* from the Northeast of Brazil.** PLoS Negl. Trop. Dis. 14, e0008735, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008735>. doi: 10.1371/journal.pntd.0008735

LIMA-OLIVEIRA, T.M.; FONTES, F. VON H.M.; LILIOSO, M., PIRES-SILVA, D.; TEIXEIRA, M.M.G.; MEZA, J.G.V.; HARRY, M.; FILEE, J.; COSTA, J., VALENCA-BARBOSA, C.; FOLLY-RAMOS, E.; ALMEIDA, C.E. **Molecular eco-epidemiology on the sympatric Chagas disease vectors *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma petrochiae*: ecotopes, genetic variation, natural infection prevalence by trypanosomatids and parasite genotyping.** Acta Trop. 105188, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105188>. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.105188

LUCENA, D.T. **Estudos sobre a doença de Chagas no nordeste do Brasil.** Rev. Bras.

Malariol. Doenças Trop., 1970.

- MAEDA, M.H.; GURGEL-GONÇALVES, R. **Conhecimentos e práticas de moradores do Distrito Federal, Brasil, em relação à doença de Chagas e seus vetores**, 2012. Rev. Patol. Trop. 41, 15–26. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/rpt.v41i1.17749>. doi: 10.5216/rpt.v41i1.17749
- MARCONDES, C. B. Entomologia Medica e Veterinária, 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2011.
- MARQUES, É.; OTÁVIO, M.; SILVA, R.C.; PAIXÃO, C.; BUZZATI, H., NOGUEIRA, A.; PEREIRA, C. **Estudo clínico-epidemiológico da doença de Chagas no distrito de Serra Azul, Mateus Leme, centro-oeste do estado de Minas Gerais**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 43, 178–181, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000200014>. doi: 10.1590/S0037-86822010000200014
- MOREIRA, O.C.; VERLY, T.; FINAMORE-ARAÚJO, P.; GOMES, S.A.O.; LOPES, C.M.; DE SOUSA, D.M.; AZEVEDO, L.R.; DA MOTA, F.F.; D’AVILA-LEVY, C.M.; SANTOS-MALLET, J.R.; BRITTO, C. **Development of conventional and real-time multiplex PCR-based assays for estimation of natural infection rates and *Trypanosoma cruzi* load in triatomine vectors**. Parasites and Vectors 10, 1–14, 2017a. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2343-x>. doi: 10.1186/s13071-017-2343-x
- NEIVA, A.; LENT, H. **Estudos sobre triatomídeos do Chile: interessante caso de provável polimorfismo**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1940. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0074-02761940000200007>. doi: 10.1590/s0074-02761940000200007
- NOIREAU, F.; DUJARDIN, J.P. **Flight and nutritional status of sylvatic *Triatoma sordida* and *Triatoma guasayana***. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 96, 385–389, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762001000300018>. doi: 10.1590/S0074-02762001000300018
- NOYA, B.A.; GONZÁLEZ, O.N.; **An ecological overview on the factors that drives to *Trypanosoma cruzi* oral transmission**. Acta Trop. 151, 94–102. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.06.004>. doi:

0.1016/j.actatropica.2015.06.004

OLIVEIRA-MARQUES, D.S.; BONAMETTI, A.M.; MATSUO, T.; GREGORI, F. **The epidemiologic profile and prevalence of cardiopathy in *Trypanosoma cruzi* infected blood donor candidates.** Londrina, Paraná, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0036-46652005000600003>. doi: [10.1590/s0036-46652005000600003](https://doi.org/10.1590/s0036-46652005000600003)

OPAS - Organização Panamericana de Saúde. **Guia para amostragem aplicada a atividades de vigilância e controle vetorial da doença de Chagas.** 2003. Disponível em: <http://www1.paho.org/Portuguese/AD/DPC/CD/dch-guia-muestreo.htm>. Acesso em 14 de jun. de 2021.

PACHECO, L., SANTANA, L., BARRETO, B., SANTOS, E., MEIRA, C. **Transmissão oral da doença de Chagas: Uma revisão de literatura.** Res., Soc. Dev. 10, n.2, e31910212636, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12636>. doi: 10.33448/rsd-v10i2.12636

PAMPLONA G.C.I.; ROLIM, D.B.; DA JUSTA, R.; NETO, P.; LIMA, D.C.; VILAR, F., OTHO, J.; NOGUEIRA, L.; MARIA DE LIMA POMPEU, M.; TEIXEIRA, M.J.; QUEIRÓZ DE SOUSA, A. **Microepidemia de doença de Chagas aguda por transmissão oral no Ceará.** Cad. Saúde Colet., Rio Janeiro. 2009.

PIZARRO, J.C.; LUCERO, D.E.; STEVENS, L. **PCR reveals significantly higher rates of *Trypanosoma cruzi* infection than microscopy in the Chagas vector, *Triatoma infestans*: High rates found in Chuquisaca, Bolivia.** BMC Infect. Dis. 7, 1–8, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-66>. doi: 10.1186/1471-2334-7-66

ROZENFELD, S. **Fundamentos da vigilância sanitária [on line].** Rio de Janeiro: Editora **Fiocruz.** 301, 2000. Available from Scielo books. Disponível em: <https://static.scielo.org/scielobooks/d63fk/pdf/rozenfeld-9788575413258.pdf>. Acesso em: 11 de jun. 2021.

SARQUIS, O.; CARVALHO-COSTA, F.A.; TOMA, H.K.; GEORG, I.; BURGOA, M.R.; LIMA, M.M. **Eco-epidemiology of Chagas disease in Northeastern Brazil: *Triatoma brasiliensis*, *T. pseudomaculata* and *Rhodnius nasutus* in the sylvatic, peridomestic**

and domestic environments. Parasitol. Res. 110, 1481–1485, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2651-6>. doi: 10.1007/s00436-011-2651-6

SCHMUNIS, G.A.; YADON, Z.E. **Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem.** Acta Trop., 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.11.003>. doi: 10.1016/j.actatropica.2009.11.003

SHANNON, P.; MARKIEL, A.; OZIER, O., BALIGA, N.S.; WANG, J.T.; RAMAGE, D.; AMIN, N.; SCHWIKOWSKI, B.; IDEKER, T.; **Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks.** Genome Res 13 (11), 2498–2504, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>. doi: 10.1101/gr.1239303

SHIKANAI-YASUDA, M.; MARCONDES, C.; GUEDES, L.; SIQUEIRA, G., BARONE, A.; DIAS, J.; NETO, V. TOLEZANO, J.; PERES, B.; ARRUDA JR, E.; LOPES, M.; SHIROMA, M.; CHAPADEIRO, E. **Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil.** Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 33(5), 351–357, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46651991000500003>. doi: 10.1590/S0036-46651991000500003

SCHOFIELD, C.J; GALVÃO, C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. Acta Trop, v.110, p.88–100, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.01.010>. doi: 10.1016/j.actatropica.2009.01.010

SILVA, L.J. Descoberta do *Trypanozoma cruzi* e verificação da tripanozomíase americana; retrospecto histórico. Cad. Saúde Pública 2 (2), 1986. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1986000200002>. doi: 10.1590/S0102-311X1986000200002

SILVEIRA, A.C. **O Inquérito triatomínico (1975-1983).** Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 44 (suppl 2), 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011000800005>. doi: 10.1590/S0037-86822011000800005

STURM, N.R.; DEGRAVE, W.; MOREL, C.; SIMPSON, L. **Sensitive detection and**

schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease. Mol. Biochem. Parasitol. 33, 205–214, 1989. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(89\)90082-0](https://doi.org/10.1016/0166-6851(89)90082-0). doi: 10.1016/0166-6851(89)90082-0

VALENÇA-BARBOSA, C.; LIMA, M.M.; SARQUIS, O.; BEZERRA, C.M.; ABAD-FRANCH, F. **A common caatinga cactus, *Pilosocereus gounellei*, is an important ecotope of wild *Triatoma brasiliensis* populations in the Jaguaribe Valley of Northeastern Brazil.** Am J Trop Med Hyg. 90(6): 1059, 2014. Disponível em: <https://10.4269/ajtmh.13-0204>. doi: 0.4269/ajtmh.13-0204

VARGAS, A.; MALTA, J.M.A.S.; COSTA, V.M. DA; CLÁUDIO, L.D.G.; ALVES, R.V.; CORDEIRO, G. DA S.; AGUIAR, L.M.A.; PERCIO, J.; **Investigação de surto de doença de Chagas aguda na região extra-amazônica**, Rio Grande do Norte, Brasil, 2016. Cad. Saúde Pública 34, 1–8, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0102-311x00006517>. doi: 10.1590/0102-311x00006517

VASCONCELOS, A.S.O.B.; MALTA, J.M.A.S.; COSTA, V.M. DA; CLÁUDIO, L.D.G.; ALVES, R.V.; CORDEIRO, G. DA S.; AGUIAR, L.M.A.; PERCIO, J. **Doença de Chagas: situação vetorial no município de Limoeiro do Norte – CE, no período de 2006 a 2009.** Rev Inst Adolfo Lutz. São Paulo, 2013; 72(4):295-301.

VICENTE, T.; CAMARA, A.C.; ***Trypanosoma cruzi* circulating among dogs and triatomines in the endemic countryside of the State of Rio Grande do Norte, Brazil.** Acta Trop, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105067>. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.1050671.

VINHAES, M.; DE OLIVEIRA, S.; REIS, P.; DE LACERDA SOUSA, A.C.; SILVA, R.; OBARA, M.; BEZERRA, C.; DA COSTA, V.; ALVES, R.; GURGEL-GONÇALVES, R. **Assessing the vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis.** Acta Trop. 137, 105–10, 2014 Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.05.007>. doi: 10.1016/j.actatropica.2014.05.007.

VINHAES, M.C.; DIAS, J.C. **Chagas disease in Brazil.** Cad. saúde pública. Ministério da

Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Esc. Nac. Saúde Pública 16 Suppl 2, 7–12, 2000.
Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2000000800002>. doi:
10.1590/S0102-311X2000000800002

WHO, World Health Organization., 2020. **Chagas Disease (American Trypanosomiasis): Targets and Milestones For Overcoming Neglected Tropical Diseases 2011-2020.**
Disponível em: <https://www.who.int/chagas/strategy/milestones/en/>. Acesso em: 11 de ago. 2020.

WINCKER, P.; BRITTO, C.; PEREIRA, J.B.; CARDOSO, M.A.; OELEMANN, W.; MOREL, C.M. **Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area.** Am. J. Trop. Med. Hyg. 51 (6), 771–777, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1994.51.771>. doi: 10.4269/ajtmh.1994.51.771

ANEXOS

Anexo 1. Trabalhos publicados

A editora Elsevier proporciona ao autor o direito de incluir o artigo em sua tese ou dissertação, desde que este documento não tenha propósito comercial.

Continuação anexo 1.

Acta Tropica 215 (2021) 105803



Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica

The risk of oral transmission in an area of a Chagas disease outbreak in the Brazilian northeast evaluated through entomological, socioeconomic and schooling indicators

Jackeline Monsalve-Lara^a, Maurício Lilioso^a, Carolina Valença-Barbosa^a, Patricia J Thyssen^a, Danilo C Miguel^a, Cleanne Limeira^b, Fernanda R Gadelha^b, Fernanda V H M Fontes^a, Dayane Pires-Silva^a, L Lynnette Dornak^c, Marli M Lima^{d,1}, Maria R Donalísio^{e,1}, Carlos E Almeida^{a,1,1,1}

^a Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Brasil

^b Instituto de Biologia, Departamento de Bioquímica e Biologia Tecidual, UNICAMP, Brasil

^c University of Wisconsin-Platteville, WI, USA

^d Laboratório de Ecoepidemiologia da doença de Chagas, Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz, Brasil

^e Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, Campinas, SP, Brasil

^f Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução (PPGBioEvo), Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Brasil

ARTICLE INFO

Keywords:

Vector surveillance
Entomological indicators
Triatominae

ABSTRACT

Chagas disease is a neglected tropical disease strongly associated with low socioeconomic status, affecting nearly 8 million people – mainly Latin Americans. The current infection risk is based on acute case reports, most of which are typically associated with oral transmissions. In the semi-arid region of Northeastern Brazil, serious outbreaks of this transmission type have surged in the last years. One of those occurred in 2016 in the state of Rio Grande do Norte. Rural residents of four municipalities surrounding Marcelino Vieira ingested sugar cane juice – which was probably ground with *Trypanosoma cruzi*-infected insects. Eighteen cases of Chagas disease were confirmed serologically, with two deaths reported. Socioeconomic information, schooling of residents and the structure of peridomestic and domestic environments in the rural area of Marcelino Vieira, along with entomological indicators, were investigated to understand better the factors related to the outbreaks in this region. We found triatomines (mainly *Triatoma brasiliensis*) in 35% (24/67) of domiciliary units and all rocky outcrops inspected ($n = 7$). Overall, 25% (91/357) of examined *T. brasiliensis* were infected by *T. cruzi* in artificial ecotopes, with almost the same prevalence in the sylvatic environment (22%; 35/154). Among all ecotopes investigated, wood/tile/brick piles were the ones linked to high insect infestations and triatomine *T. cruzi* infection prevalence. Ninety-five percent of people interviewed recognized the triatomines and knew the classic route of transmission of disease – triatomine bite-dependent. However, only 7.5% admitted knowledge that Chagas disease can also be acquired orally – which poses a risk this transmission route currently recognized. Here, we highlight the physical proximity between humans and triatomine populations with high *T. cruzi* infection prevalence as an additional risk factor to oral/vector contaminations. In sum, residents have low income, low level of education, and/or a willful disregard for the routes of Chagas disease transmission (specifically oral transmission), a combination of factors that may have favored the Chagas disease outbreak. We here provide recommendations to avoid further outbreaks.

* Corresponding author at: Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Dept. Biologia Animal, IB, Campus Universitário Zeferino Vaz, UNICAMP, Rua Monteiro Lobato, 255, Barão Geraldo, Campinas, São Paulo, 13083-862 Brazil.

E-mail address: almeida_ce@hotmail.com (C.E. Almeida).

¹ contributed equally as last authors

<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105803>

Received 9 October 2020; Received in revised form 16 December 2020; Accepted 17 December 2020

Available online 26 December 2020

0001-706X/© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

1. Introduction

The protozoan parasite, *Trypanosoma cruzi*, is the etiologic agent of Chagas disease – one of the most relevant neglected tropical diseases in Latin America (WHO, 2020). Classic transmission occurs via excreta from blood-sucking bugs that are eliminated during or shortly after the blood meal of infected insects. These blood-sucking bugs belong to the Triatominae subfamily (Hemiptera: Reduviidae) (Lent and Wygodzinsky, 1979). *Triatoma infestans*, the primary vector, was likely introduced from the Bolivian Andes and adapted to households across Brazil – probably during a period known as “the sugar age” (1530–1700), during the exploration of sugar cane, coffee, and ores in Colonial Brazil (Gurgel et al., 2009). The Southern Cone countries (Argentina, Brazil, Chile, Uruguay, Paraguay, Bolivia and Peru) joined efforts in 1991 to combat transmission by *T. infestans* and to control the transmission via blood-organ donations (Schmunis and Yadon, 2010). As a result, Brazil was effectively free of *T. infestans* by 1996, and has eliminated transfusional Chagas disease transmissions nearly completely (Dias, 2007). However, native vectors, such as *T. brasiliensis* and *T. pseudomaculata*, currently challenge control measures by invading and colonizing human domiciles in endemic regions in northeastern Brazil (Dias et al., 2000; Lima et al., 2015). Additionally, outbreaks by oral contamination have been reported in several Brazilian regions (Dias et al., 2016). The oral route is recognized currently as the main source of infection, especially in the Brazilian Amazon, and most likely the result of the consumption of fresh açai berries and juice in this region (Dias et al., 2001; WHO, 2020).

Chagas disease outbreaks in the Amazon region have been intensively investigated from epidemiological, ecological, and molecular perspectives. Such work has led to the genotyping of the parasite from vectors, *T. cruzi* reservoirs, and humans (e.g. Coura et al., 2002; Monteiro et al., 2012; Jansen et al., 2018) as well as studies that detailed additional eco-epidemiologic features of the outbreaks (Briceño-León, 2007; Coura et al., 2013). Outside Amazônia, as in the state of Santa Catarina (southern Brazil), an oral Chagas disease outbreak in 2005 led to research that tracked the parasite through molecular techniques in its reservoirs (*Didelphis aurita* and *D. albiventris*). The results of this study suggest that *T. tibiamaulata* was the responsible vector (Steindel et al., 2008). In the municipality of Guarapari, in the state of Espírito Santo (southeastern Brazil), an oral case of Chagas disease transmission resulted in the death of a two-year-old child (Dario et al., 2016). From this incident, the sylvatic (rodents) and domestic (dogs) reservoirs of *T. cruzi* were examined. Through genotyping the parasite (DTUs I, II, III and IV) in the human, fatal case they found the same genotypic combination harbored by the vector (*T. vitticeps*) (Dario et al., 2016).

In the Brazilian Northeast, research on Chagas disease outbreaks is not prioritized compared with other areas of Brazil, even though outbreak events are also serious. For example, in 1986 in the municipality of Catolé do Rocha in Paraíba, an outbreak occurred from oral infection via sugarcane juice ingestion (Shikanai-Yasuda et al., 1991). Dias et al. (2008) reported an outbreak in Bahia possibly associated *T. sordida* with fatal cases; however direct evidence for the oral infection was not found. Another outbreak with similar characteristics occurred in the state of Ceará, in the municipalities of Aratuba and Redenção in 2006. This event was thought to be caused by the consumption of contaminated vegetable soup (Pamplona De Góes Cavalcanti et al., 2009). Finally, a recent (2019) Chagas disease outbreak occurred in the state of Pernambuco, (Góes, 2019). Authorities could not obtain detailed eco-epidemiologic information, although it is believed that this outbreak was a result of contaminated food or beverage associated with a religious event. Each of these events exemplifies the connection with outbreaks and oral infection as a result of food or beverage contamination in semiarid region of Brazilian Northeast.

This study examines factors surrounding another recent outbreak in the state of Rio Grande do Norte in 2016 documented by Vargas et al. (2018). In total, 18 cases were confirmed serologically in the municipalities of Tenente Ananias, Marcelino Vieira, Alexandria and Pilões (10

in Marcelino Vieira alone), and two deaths were reported. Based on the patient reports, Vargas et al. (2018) suggested that infections occurred from a single event involving the consumption of sugarcane juice – probably obtained by the grinding of sugar cane with *T. cruzi* infected insects. *Triatoma brasiliensis* were found infected by the parasite in the same location of the sugar cane mill in Marcelino Vieira (Vargas et al., 2018). Considering the high *T. cruzi* prevalence in domestic and peridomestic *T. brasiliensis* populations in Rio Grande do Norte, Lillioso et al. (2017) proposed that this species is the likely vector involved in the outbreak. Our objective was to understand the factors related to Chagas disease outbreaks in northeastern Brazil, and more specifically on the case of Marcelino Vieira. Because this municipality was the center of this outbreak, we concentrated our efforts on this location. We described the eco-epidemiological conditions, the socioeconomic status of the residents, and the housing structures in the rural area. Also, we evaluated the knowledge of people regarding the risk factors related to Chagas disease, including the potential for oral infections. To determine additional factors possibly linked to the outbreak, we mapped the distribution of infected/non-infected insect populations and their foci – in both sylvatic and peridomestic ecotopes.

2. Materials and methods

2.1. Ethics statement

This research was approved by the UNICAMP Research Ethics Committee (protocol No. 2631,532). The collection and transportation of triatomines were conducted with the assistance of technicians from the municipal and state health departments and had the Sisbio IBAMA License N° 58,373–1 approval. We obtained permission from homeowners/residents to collect insects from all dwellings and properties, and all interviewed residents signed (or printed digitally) a Free and Informed Consent Form (FICF). The SISGEN register is A5C8D0D.

2.2. Study area and environments

We conducted the study in the municipality of Marcelino Vieira (6° 17' 38" S, 38° 10' 01" W), located within the Caatinga biome in Northeastern Brazil. The region is characterized by seasonally dry forests with a mosaic of thorny shrub vegetation (IBGE, 2017). We chose this site because (i) it had the most recorded infections of the outbreak, and (ii) it is the location of the sugar cane mill – the potential source of the outbreak. Inspections for triatomine infestations were conducted in the following environments: the sylvatic (rocky outcrops), the peri-domestic, and the intra-domestic. Although peri-domestic and intra-domestic environments are markedly different (see topic “2.4”), we employed the term domiciliary unit (DU) for the combination of peri-domestic and intra-domestic environments from each house to apply the entomological indications (see topic “2.4”).

2.3. Surveys with rural property residents

We conducted a cross-sectional study through interviews with residents of 67 DUs from our rural localities of Marcelino Vieira by using a questionnaire. These DUs included patients affected by the Chagas disease outbreak. One resident (over the age of 18) from each dwelling was interviewed to obtain socioeconomic and educational information. Specifically, we collected data on age, gender and years of schooling of residents. We grouped them into the following age groups: 18–30, 31–59 and over 60 years. To establish the socioeconomic characteristics, we followed the Brazilian Association of Research Companies (ABEP), which is based on a proprietorship score and level of education. We classified the total income per household based on Kamakura and Mazzon (2016), but it was adapted to the reality of the local residents from the rural and poor site studied, as follows: monthly family income (in USD) for 5 classes (A-E) of more than \$270.7 (A), \$203.2 (B1),

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

\$152.4 (B2), \$114.3 (C1), \$85.7 (C2), \$226.7 (D), and \$64.4 (E).

2.3.1. The resident's knowledge regarding Chagas disease-related risk transmissions

We evaluated the Chagas disease and vector knowledge of each resident. Specifically, the questions focused on the (i) recognition of triatomine by morphology; (ii) identification of ecotopes associated with DU infestation; (iii) recognition of the disease name; (iv) knowledge of classic disease transmission; (v) knowledge of alternative forms of disease transmission (as oral); (vi) potential contact with triatomines; and (vii) source of knowledge regarding Chagas disease (e.g. schools, TV, technicians from the health departments, etc.). To test vector recognition, we presented each respondent with a selection of immature and adult triatomines and non-hematophagous insects (e.g., beetles).

2.3.2. Characteristics of dwellings construction

We evaluated the construction of each dwelling via home inspection and classified it by its probability of triatomine colonization. For example, we recorded whether walls were coated and whether the roof had a ceiling to prevent the insect colonization. The survey conducted here was adapted from a survey produced by FUNASA (Brazilian Health Foundation) to guide house improvement programs (FUNASA, 2017).

2.4. Insect captures and entomological indicators

We searched for triatomines inside homes (intra-domestic), which includes all areas closed by doors where humans live or work (Almeida et al., 2008). In these environments, we examined cracks in the walls, the back of paintings, mattresses, cabinets, curtains, and under/behind furniture. We also searched peridomestic environments, represented by spaces surrounding homes. In these environments, several man-made structures are found – mainly shelters for domesticated animals (e.g., chicken, goats, cows, and dogs). Besides livestock shelters, it is common to find woodpiles and brick/tile piles (i.e., artificial ecotopes) to store material for rudimentary ovens and to build houses, walls, roads, fences and other purposes. We took note of all ecotopes found in each house visited.

We also examined the primary and native sylvatic ecotopes of *T. brasiliensis* (e.g., rocky outcrops; Lent and Wygodzinsky, 1979) as well as alternative natural ecotopes (e.g., xique-xique cacti, lower tree trunks, downed trees, and animal dwellings; Valença-Barbosa et al., 2014). We identified these locations using Google Earth Pro-software (Wuthrich, 2006) or by consulting the residents. We divided sampling into four groups of localities (A, B, C and D) – distributed according to their geographic proximity. Sylvatic points that were not around DUs

were also considered, named “O” (outside localities; Fig. 1). In this environment we performed searches in beginning at sunset (~17:00 local time) and continued collection for approximately five hours. All insects were collected using cap lamps, gloves, and tweezers.

2.5. Ecotypic indicators

The Ecotypic Prevalence in DUs (EPD) reflects the prevalence of a given ecotope in each locality. It is represented by the presence of ecotopes/houses investigated. The Prevalence of Ecotypic insect colonization (PEC) considers the EPD / ecotopes with triatomines.

2.6. Entomological indicators in anthropic habitats

All collected triatomines were kept alive after the capture. We assessed species, evolutionary stage, and gender (if adults) of each sample in the laboratory. Entomological indicators were calculated according to Pan American Health Organization (OPAS, 2003), as follows:

- i) Domiciliary infestation index (DI) = number of DU with adult triatomines x 100 / number of DU inspected;
- ii) Domiciliary triatomine density (DTD) = number of captured triatomines / number of DU inspected;
- iii) Domiciliary colonization index (DCI) = number of DU with nymphs x 100 / number of DU inspected;
- iv) Natural Infection index by *T. cruzi* (NI) = the number of infected triatomines x 100 / number of examined triatomines.

2.7. Entomological indicators in sylvatic habitats

The natural infection index/prevalence by *T. cruzi* in the sylvatic environments (NIS) was calculated apart from NI. The triatomine density in the sylvatic environment (TDS) was estimated according to Almeida et al. (2009), using the following equation: TDS = total triatomines collected / total collectors/work hours in the sylvatic environment.

2.8. *Trypanosoma cruzi* natural infection

We developed our procedure using traditional optical microscopy techniques (OM). We obtained triatomine feces using abdominal compression and deposited the sample on a slide, adding 5µL of saline solution. We then covered the slide with a 22 x 22 mm glass coverslip. We examined the intestinal content using a binocular optical microscope with a 400x magnification by screening all fields for *T. cruzi*. We

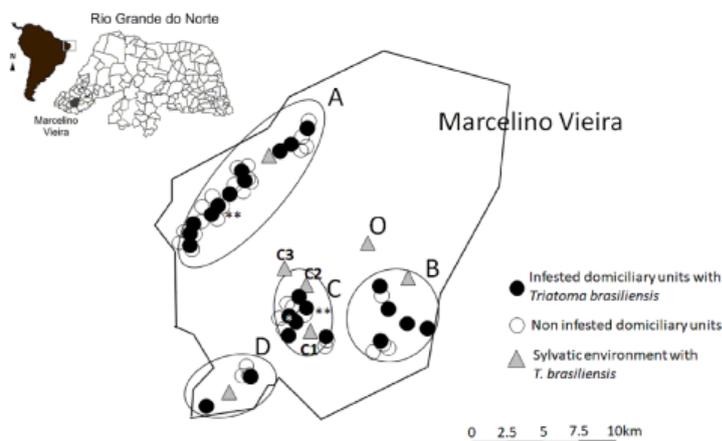


Fig. 1. Survived localities (A, B, C and D) in Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, Brazil. Black dots show domiciles positive for triatomine captures. Open circles show domiciles where triatomines were not found. Triangles are sylvatic locations surveyed for *Triatoma brasiliensis*. The point O was a sylvatic environment outside any locality. Because locality C had three sylvatic environments they are indicated as C1–3. Asterisks indicate points where we found concomitant infestation by *T. brasiliensis* and *Rhodnius nasutus* (*) or by *T. brasiliensis* and *T. pseudomaculata* (**).

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

conducted the molecular diagnosis simultaneously using Polymerase Chain Reaction (PCR), for comparative purposes, to assure that the trypanosomatids observed were *T. cruzi*. We macerated the gut of a portion of collected insects using a sterile crusher and liquid nitrogen. We then used The DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) to isolate the DNA, following the manufacturer's protocol. We used PCRs the primers 121 and 122 (*T. cruzi* kDNA), as previously described by Sturm et al. (1989) and Wincker et al. (1994), with termocycles described by Moreira et al. (2017). For all insects that tested positive for *T. cruzi*, we amplified the 330 bp fragment. If positive for *T. cruzi*, an amplicon could be seen in 2% (w/v) agarose gels by electrophoresis at 80 V for 40 min. We used samples with water as controls for comparison with the DNA Dm28 strain from *T. cruzi* culture (TcI). An additional PCR was conducted to verify intestinal DNA did not have inhibitors for amplification; therefore, for the same samples, we amplified the mitochondrial CytB gene as the target. For this purpose, we amplified the insect Cyt B gene as the target, by using the cybTprR /CYTBR (Oliveira et al., 2017) and 7432F primers (Monteiro et al., 2003), with PCR conditions previously described.

2.9. Statistics

We used chi-square analysis to evaluate the significance among entomological indicators obtained among localities and McNemar's chi-square to compare traditional and molecular techniques for *T. cruzi* detection. We evaluated statistical significance using 95% confidence intervals and an alpha of 0.05. All analyses were conducted using the R (R Development Core Team, version 3.6.3; <https://www.r-project.org/>).

2.10. Relationships among *Trypanosoma cruzi* infection, habitat and localities for *Triatoma brasiliensis*

To explore the interaction among habitat sources, *T. cruzi* prevalence and localities, we used the software Cytoscape 3.7.2 (Shannon et al., 2003) to build a network. For this purpose, we used only insects that tested for the *T. cruzi* natural infection via OM.

3. Results

3.1. Surveys with rural property residents

We interviewed 67 people – composed of one person per DU inspected. Respondents varied among age groups: (i) 17.9% were 18–30 years old, (ii) 43.3% were 31–59 years old and (iii) 38.8% were 60 years old or older. Most respondents were women (76.1%). The majority of people also had less than five years of schooling or were illiterate (Table 1).

For the ones who have a formal monthly salary, the main source of income derived from retirement related to age or disabilities (55.2%), governmental social programs (6.0%), from livestock and subsistence farming activities (31.3%) and other activities 7.5%. According to socioeconomic parameters, families should receive a minimum monthly of USD 197.91 (see: <https://www.gov.br/>; dollar quotation in September 16, 2020); but 25% lived with on less than USD 40.5. Therefore, family

Table 1

Level education of 67 residents interviewed in the rural area from the municipality where the Chagas disease outbreak occurred: Marcelino Vieira. Rio Grande do Norte. Brazil. 2018.

Education level	N	Years of schooling	%
Illiterate / Incomplete elementary I / Complete Elementary I	37	< 5 years	55.2
Incomplete Elementary II / Complete Elementary II	22	6–8 years	32.8
Incomplete High School / Complete High school	8	9 years or more	11.9

income is mostly dependent on self-subsistence agricultural activities (Table 2).

Regarding the knowledge of the residents on Chagas disease, 95% of those interviewed recognized the insect vector, knew the ecotope it occupies in DUs, and most of the respondents (92.5%) understood that the triatomine transmits a disease. Only 7.5% reported that they knew the disease could be transmitted by contaminated food/drink (oral route). Thirty percent of the interviewees said they believe to have been bitten by the vector in the last 3 years. Most of them supposed to have been bitten by the finding of blood-engorged insects around where they were sleeping (e.g. under beds, behind furniture, curtains, etc.) (Table 3). The main sources of information on Chagas disease came from within the community (i.e., neighbors) according to 49.3% of respondents (Table 4).

3.2. Characteristics of dwellings construction

We found that 97% (65/67) of the houses surveyed did not have covered roofs; however, only 12% (8/67) did not have plastered walls (i.e., walls without a coating).

3.3. Insect captures

In the entomological survey, we found 35% (24/67) of houses had triatomines in the peridomiciles. Inside dwellings, we captured six specimens of *T. brasiliensis* in two houses (a single adult female in one DU and 5 nymphs in coated walls in a second DU). *Triatoma brasiliensis* was also the most captured species in all ecotopes (98–100%), except for a chicken coop – which exhibited an abundant ($N = 251$) infestation by *T. pseudomaculata*. *Rhodnius nasutus* ($N = 7$) were also found in a chicken crop. Because *T. brasiliensis* has greater epidemiological relevance (Costa et al., 2003) and was more abundant, in this study, we will only report on findings associated with this species.

3.3.1. Ecotopes

We measured the prevalence for the finding of key-ecotopes (Ecotypic Prevalence in DUs; EPD) and the proportion of those with triatomine infestations (Prevalence of Ecotypic Colonization; PEC). Overall, henhouses were the most common ecotope found in DUs (EPD=85%). However, we found greater insect colonization in wood-piles (PEC=47.1%). Both EPD and PEC varied among localities (Table 5). For both indicators, the distribution was significant among localities at $p < 0.05$ (see details in topic 3.4.1)

3.4. Entomological indicators for anthropogenic environments

Overall, the value of domiciliary infestation (DI) (35.8%) was slightly, yet not significantly, higher than the overall domiciliary colonization index (DCI) (32.8%). Domiciliary triatomine density (DTD) was 7.7, reflecting the number of triatomines collected relative to the number of houses inspected. Overall, natural *T. cruzi* infection prevalence in anthropogenic habitats (NI) was 25%. These indicators varied among localities; and the most remarkable variation was in the NI,

Table 2

Distribution of monthly income, according to ABEP (2018), with adaptation according to the minimum salary for 2018. Data from people interviewed in Marcelino Vieira, RN, Brazil.

Class	Average family monthly income (USD*)	Number of families	%
A	270.7	1	1.5
B1	203.2	2	3.0
B2	152.4	8	12.2
C1	114.3	18	27.3
C2	85.7	20	30.3
D-E	64.2	18	25.7

* 1 BRL = 0.18 USD (average dollar for September 2020).

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

Table 3

Responses from residents from the study area ($n = 67$) on Chagas disease transmission and vector identification. Answers were recorded as yes or no. Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, Brazil, 2018.

Questions	$n =$	Percent
	67	
Do you know the vector? (barbeiro/procotó)	64/67	95.5
Do you know where it hides?	52/67	77.6
Do you know whether the insect transmits any disease?	62/67	92.5
Do you know the name of the disease?	44/67	71.0
Do you know how the disease is transmitted?*	62/67	92.5*
Do you know another form of infection? (as orally)	5/67	7.5
Do you think you have had contact with "barbeiros" or have been bitten by these insects in the last 3 years?	20/67	30
People who answered they knew the disease is transmitted only via the insect's bite		

Table 4

Sources where the residents obtained information about Chagas disease in Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, Brazil, 2018.

Source of information	$n = 67^*$	%
Neighbor	33	49.3
Family	13	19.4
School	9	13.4
TV	9	13.4
Vector control surveillance agents	5	7.5
When it was bitten	1	1.5

* an resident may have had more than one answer.

ranging from 0% (A) to 100% (C). Localities B and C were slightly closer to rocky outcrops and exhibited higher DI, DTD, and DCI. DTD also had high variation, ranging from 3.1 (A) to 16.9 (C) (Table 6). For all indicators, the distribution was significant among localities at $p < 0.05$ (see details in topic 3.4.1).

3.4.1. Entomological indicators for sylvatic environments

All localities had sylvatic foci (rocky outcrops) physically close to DUs (<250 m), with some locality having more than one focus (e.g., C; Fig. 1). Overall, we collected 1,096 insects in sylvatic environments, varying from 29 (C2) to 287 (D). We had only a few specimens for which to test the natural index of *T. cruzi* infection in the sylvatic environments (NIS) because most of the insects either were too emaciated to be analyzed or died shortly after collection. For indicators in anthropogenic environments, the natural infection also ranged among sylvatic environments, even within the same locality. For example, in the locality A, where no peridomestic insects were infected; however, we found 100% (10/10) infection in bugs from the sylvatic environment. In the sylvatic habitat, overall triatomine density (TDS) was 9.7. TDS ranged from 1.8

Table 5

Ecotopes susceptible and infested with by *Triatoma brasiliensis* in Marcelino Vieira, RN, 2018. Values below the localities indicate number of DUs surveyed.

Ecotope (n)	Localities								Total 67	
	A 39		B 9		C 14		D 5			
	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC	%EPD	%PEC
Piles of tiles/bricks	30.8(12/39)	41.7(5/12)	77.8(7/9)	42.9(3/7)	57.1(8/14)	12(1/8)	60(3/5)	33.3(1/3)	45(30/67)	43.3(13/30)
Woodpiles	30.8(12/39)	33.3(4/12)	33.3(3/9)	100(3/3)	7(7/14)	100(7/7)	20(1/5)	0(0/1)	25.4(17/67)	47.1(8/17)
Hen house	87.2(34/39)	26.1(9/34)	66.7(6/9)	0(0/6)	93(13/14)	38.5(5/13)	80(4/5)	100(4/4)	85.1(57/67)	31.6(18/57)
Pigsty	5.1(2/39)*	0	0	0	0	0	20(1/5)*	100(1/1)*	1.5(1/67)*	100(1/1)*
Food storage	2.6(1/39)	100(1/1)	-	-	-	-	-	-	1(1/67)	100(1/1)

% Ecotypic Prevalence in DUs (%EPD) = presence of ecotopes /houses investigated. Prevalence of Ecotypic insect's colonization (%PEC) = Ecotopes inspected/ ecotopes with triatomines. *insufficient number for consideration.

(C2) to 17.9 (D) (Table 7). For indicators, the distribution was significant among localities at $p < 0.05$ (see details in topic 3.4.1).

3.4.1. Statistics for the entomological indicators

Chi-squared tests evidenced that the composition of entomological indications among localities were all significant (all $\chi^2 > 100.6$, $df = 3-6$, $p < 0.0001$).

3.5. Comparison of *Trypanosoma cruzi* detection on insects via traditional and molecular methods

We randomly selected 159 samples of *T. brasiliensis* for PCR analysis to identify infection by *T. cruzi*. We based the criterion on ecotypic/

Table 6

Entomological indicators based on the search for *Triatoma brasiliensis* in the 67 domiciliary units inspected.

Entomological indicators	Capture points					Total 67
	A 39	B 9	C 14	D 5		
DI	28.2% (11/39)	55.6% (5/9)	42.9% (6/14)	40% (2/5)	35.8% (24/67)	
DTD	3.1 (119/39)	14.1 (127/9)	16.9 (237/14)	7(35/5)	7.7 (518/67)	
DCI	23.1% (9/39)	55.6% (5/9)	42.9% (6/14)	40% (2/5)	32.8% (22/67)	
NI	0% (0/163)	82.5% (33/40)	23.8% (30/126)	100% (28/28)	25.4% (91/357)	

DI = Domiciliary infestation index; DTD = Domiciliary triatomine density; DCI = Domiciliary colonization index; NI = Natural Infection index by *T. cruzi*.

Table 7

Entomological indicator based on the search for *Triatoma brasiliensis* in the rocky outcrops Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, Brazil, 2018.

Localities	n (collected)	NIS (Infected/ analyzed)	TDS	Dist. from the nearest residence
A	119	100% (10/10)	7.4	50 m
B	127	NA	7.9	100 m
C1*	237	0%(0/6)	17.9	100 m
C2*	29	9%(3/34)	1.8	50 m
C3*	104	0%(0/6)	6.5	100 m
D	287	24%(23/98)	17.9	250 m
O	193	NA	12.1	740 m
Total	1096	25.5%(35/154)	9.7	

NIS = natural index of *T. cruzi* infection in the sylvatic environments; *because the locality C had three sylvatic environments, we indicated them in the map. NA = not analyzed. TDS = triatomine density in the sylvatic environment.

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

geographical balancing. The number of samples varied across sampling spots within localities, such that more samples were included from areas with greater epidemiological importance. For example, we analyzed 30 insects from the site of the sugar cane mill (and probable outbreak site; population “vii” in locality B), and 34 insects from a site with reportedly numerous infestations ($n = 191$ insects collected). However, in sites where there were fewer infestations ($n < 70$), we analyzed fewer samples (5–20). Insects from populations “vii” and “ix” had the highest *T. cruzi* prevalence, considering their sample size, using both Optical Microscopy (OM) (93% and 100%, respectively) and PCR (100% for both populations) methods (Table 8). We found no statistical difference in prevalence identified by the OM and PCR methods ($\chi^2 = 3.03$, $df = 1$, $p = 0.081$).

3.6. Relationships among *Trypanosoma cruzi* infection, habitat and localities for *Triatoma brasiliensis*

We used a total of 612 specimens analyzed via OM method. From this analysis, we demonstrate the relationship among the *T. cruzi* prevalence, ecotopes, and localities. At locality A, 21.8% (60/275) of the analyzed sample was collected in henhouses; the remainder of the sample originated from woodpiles in the peridomestic environment (all of which were negative for *T. cruzi* natural infection) and from rocky outcrops ($n = 10$) – of which were all positive for *T. cruzi*. Except for henhouses, the remaining peridomestic habitats (woodpiles, tile piles and woodpiles combined with tile piles) exhibited high proportion of infected insects (>45%). The presence of tiles seems to be more likely to shelter *T. cruzi* infected bugs, as higher *T. cruzi* prevalence is observed for tile alone and for the combination of wood and tile piles. Infected insects were identified in all localities that had rocky outcrops, with an overall 22% (35/154) (Fig. 2).

4. Discussion

Although vector-borne Chagas disease transmission has declined dramatically in Brazil since 1980, acute cases of the disease continue to be reported (Coura et al., 2002). More importantly, outbreaks, like those in the northeastern region of Brazil, have appeared in the recent decades (Pamplona De Góes Cavalcanti et al., 2009; Vargas et al., 2018). In this study, we focused our analyses on the municipality of Marcelino Vieira in the Rio Grande do Norte State, in light of the recent Chagas disease outbreak (Vargas et al., 2018). We employed an integrative approach,

Table 8
Trypanosoma cruzi detection in *Triatoma brasiliensis* populations analyzed by Optical Microscopy (OM) and Polymerase Chain Reaction (PCR), captured in (sub) locations in Marcelino Vieira, Rio Grande do Norte, 2018.

<i>Triatoma brasiliensis</i> sampling spot	Ecotope	Locality	OM%	PCR%
I	Sylvatic	O	100(1/1)	100(1/1)
II	Peridomicile	A	0(0/5)	40(2/5)
III	Peridomicile		0(0/7)	42.9(3/7)
IV	Peridomicile		0(0/10)	0(0/10)
V	Peridomicile		0(0/8)	0(0/8)
VI	Sylvatic		100(8/8)	100(8/8)
VII	Peridomicile	B	93.3(28/30)	100(30/30)
VIII	Peridomicile		100(4/4)	100(4/4)
IX	Peridomicile	C	100(34/34)	100(34/34)
X	Peridomicile		100(10/10)	90(9/10)
XI	Peridomicile		0(0/4)	75(3/4)
XII	Sylvatic		46.2(6/13)	57.1(8/13)
XIII	Peridomicile	C	100(5/5)	100(5/5)
XIV	Peridomicile		75(15/20)	75(15/20)
Total			69.8(111/159)	76.7(122/159)

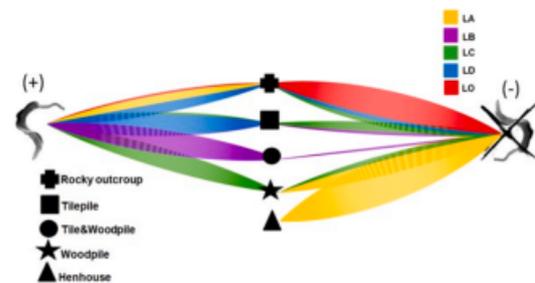


Fig. 2. Network showing the relationships among the habitats, localities, and *Trypanosoma cruzi* natural infection in *Triatoma brasiliensis* ($N = 612$). The thickness of the connections indicates sample size. The color of the connection indicates locality. The central nodes represent the ecotopes, whereas the right and left poles indicate the positive and negative infection of *T. cruzi* in the insects.

combining socioeconomic and entomological surveys, to identify factors potentially associated with the outbreaks (e.g., triatomine infestation and *T. cruzi* infection prevalence).

Most of the surveyed residents were 31 to 59 years old and had only minimal formal education (<5 years of schooling), as evident in the difficulties expressed by respondents when completing the informed consent form (FICF). Social conditions may explain this lack of formal education (e.g., transportation difficulty to schools in rural areas). Current research suggests that these factors (specifically literacy rates) are strongly associated with Chagas disease infection (Oliveira-Marques et al., 2005; Borges-Pereira et al., 2002; Aguilar et al., 2007). Economic conditions (especially those tied to level of education) also may be related to transmission rates. Marques et al. (2010) found that the highest prevalence of chronic Chagas disease was observed in people with low levels of education who also lived in poverty, as we have shown in our study. Retirement is an important source of income, which is consistent with the elderly population found and the ones with disabilities – probably caused by extreme poverty conditions. Moreover, only 4.5% of families have an income higher than the Brazil Minimum Monthly Wage (USD 197.91). In this study, the permanent income of surveyed residents was difficult to assess, since the income of rural workers is not permanent due to the productive cycles of crops and animals.

Awareness of transmission risk and mode may also affect infection rates among residents. Most of the respondents in our study reported that they understood the classic vector-borne transmission; however, only a small percentage of these respondents (7%) were aware of the risk of transmission through oral contamination. According to Colosio et al. (2007), in Paicandu-PR, the greatest knowledge gap in the population was a contributing factor to disease transmission.

Previous research suggests that dwelling structures may create habitat for, and increase colonization risk of, triatomine infestations because walls without coating can work as shelters for triatomines in their cracks, and the roofs without ceilings present a direct pathways between the house and the external area – facilitating the circulation of the vector. We found that 12% of the houses are without coating or ceilings, which is slightly higher than houses in both urban and rural areas across northeast in Brazil (8%) (IBGE-PNADC/T, 2019). Only *T. brasiliensis* was found inside DUs (intradomestic populations). Our results support the findings of other surveys in the Rio Grande do Norte State (Barbosa-Silva et al., 2016), and in the state of Ceara (Vasconcelos et al., 2018; Dafilon-Teixeira et al., 2019) regarding the prevalence of *T. brasiliensis* in anthropogenic habitats. What is more, we found a female *T. brasiliensis* inside a dwelling with coated walls. Although this individual could be an accidental invasion, we also found five nymphs inside a different dwelling with coated walls. The Pan American Health Organization (OPAS 2003) defined the finding of nymphs as indicators

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

of colonization because insects in this stage are unable to fly, and thus were likely residents rather than invaders.

The localities with the highest values of wild triatomine density were also those with the highest dwelling infestation, suggesting that triatomine density may act positively on infestations. Regarding the distances between rocky outcrops and DUs, all localities had sylvatic environments (<250 m) within the estimated range (550 m) of flight capacity (Cecere et al., 2004) for triatomines.

Chicken coops were present in 85.1% of the houses inspected, but of this, only 31.6% was infested. Although tile, brick and woodpiles were less prevalent in DUs (25.4–45%), 43–47% of these ecotypes were infested. Additionally, insect populations collected in these piles exhibited much higher *T. cruzi* prevalence, which was evidenced in the network. It is common to find piles of building materials and wood in proximity to structures and dwellings. These piles are readily used as artificial ecotopes by triatomines, as also observed by Coutinho et al. (2012) in Ceará. According to Lillioso et al. (2020), these ecotopes can shelter potential *T. cruzi* reservoirs, which are rodents of Caviid family (*Galea spixii* and *Kerodon rupestris*).

There are many factors that influence triatomine infestation in DUs (e.g., proximity of houses to rocky outcrops, debris piles near houses, and proximity of domesticated animals to living spaces). Although most people cannot relocate their houses further from the natural habitat for triatomines, educating residents about other factors in their control may reduce local infestation (Dias et al., 2000). That is, understanding the relationship between infestation and ecotopes may reduce transmission disease risk. We found that, with the exception of henhouses, the prevalence of infected insects in peridomestic environments was even larger than that for the sylvatic environment. Thus, educational programs could be used to inform residents about the risks associated with creating artificial ecotopes in the peridomestic environment.

We found no difference between the technique used to detect *T. cruzi*-infected triatomines. There is only an 8% difference between PCR and OM. Our results provide negligible support for the findings of Vinhaes et al. (2014), Moreira et al. (2017), and Lima-Oliveira et al. (2019) that *T. cruzi* infection can be underestimated by OM. Furthermore, Vinhaes et al. (2014) reported that prevalence of *T. cruzi*, as identified by OM by those involved in vector control measures, may be biased by the nutritional status of the insect at the time of capture and by exanimating dead insects (a result of low intestinal content). These last authors also reported difficulty of differentiating *T. cruzi* from other morphologically similar protozoa (*Blastocrithidia triatomae* and *T. rangeli*). It is important to note that *T. rangeli* has already been found in *T. brasiliensis* in the Rio Grande do Norte (Lima-Oliveira et al., 2019). However, given the lack of statistical evidence, we suggest the OM is still valid to estimate *T. cruzi* prevalence if insects are kept healthy and alive until analysis.

The state of Rio Grande do Norte appears to be an area of intense circulation of *T. cruzi* (Barbosa-Silva et al., 2016, 2019; Lima-Oliveira et al., 2019) if compared to the states of Ceará and Paraíba (Coutinho et al., 2012; Daflon-Teixeira et al., 2019), where the prevalence may be more variable (2.9–20.3%). These high *T. cruzi* circulation in Rio Grande do Norte State was also evidenced by Vicente and Camara (2019), who identified 40% (16/40) of dogs that were analyzed tested positive for *T. cruzi*. These studies underscore the risk of *T. cruzi* transmission to humans and the need to monitor *T. brasiliensis* domiciliary infestations to prevent outbreaks – particularly in the Rio do Norte state.

The outbreak extended to three municipalities beyond Marcelino Vieira: Tenente Ananias, Alexandria and Pilões (Vargas et al., 2018). These municipalities are located in the southwestern region of the state and are within a distance of 17 to 30 km from each other. We believe that the extent of the outbreak was underestimated because it was based on symptomatic patients that sought health assistance. Furthermore, the number of respondents that had contact with triatomines raises concern and should be a focus of future monitoring efforts if health officials seek to interrupt transmission. The results of our study highlight the need for a

human serological survey in the affected area, where peridomestic triatomine infestation by *T. cruzi* infected insects is high. According to WHO (2020), widespread diagnosis is required to treat patients infected by *T. cruzi* in the specific phase of the disease (acute and chronic), and in a timely fashion.

Concluding remarks

Thirteen percent of people reported they may have been bitten by triatomines in the last three years. Twelve percent of dwellings were found to be suitable for triatomine colonization (e.g. those living in a dwelling without coating or covered roof). Educational programs may change the way residents deal with spaces surrounding homes to avoid creating sites that attract *T. cruzi* infected insects. The proximity of infected bugs and humans is worrisome for both vector-borne and oral transmissions. We demonstrated that the population sampled in our study has all the characteristics of those affected by Chagas disease: low income, low level of education, and a willful disregard for the routes of Chagas disease transmission (specifically oral transmission). We reported that information about the disease usually comes from word of mouth in the community and still covers only the classic transmission route (via insect bites). Together, these factors present a situation that leads to increased risk of infections or new outbreaks because this scenario is probably similar for other points non investigated. Oral route transmission will be a challenge to public health programs working to combat Chagas disease; however, such programs that specifically target oral transmission and include community education and participation must be funded and administered in Northeastern Brazil.

Funding

CEA received grants from Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Sao Paulo (FAPESP), grant 16/08176–9, support type: Research Grants - Young Investigators Grants; <https://bv.fapesp.br/en/auxilios/94492/an-integrative-approach-to-morphological-and-molecular-diversity-of-triatoma-brasiliensis-the-main/>) and from the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq, process number 434,260/2018–5, 134,289/2019–6). CEA is a CNPq Research Productivity Granted - PQ-2 (306,357/2019–4). The funders had no role in study design, data collection, analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

CRedit authorship contribution statement

Jackeline Monsalve-Lara: Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing - original draft. **Maurício Lillioso:** Formal analysis, Investigation. **Carolina Valença-Barbosa:** Formal analysis. **Patricia J Thyssen:** Writing - original draft. **Danilo C Miguel:** Investigation, Methodology, Writing - original draft. **Cleanne Limeira:** Methodology, Writing - original draft. **Fernanda R Gadelha:** Investigation, Writing - original draft. **Fernanda V H M Fontes:** Investigation. **Dayane Pires-Silva:** Formal analysis, Writing - original draft. **L Lynnette Dornak:** Writing - original draft, Writing - review & editing. **Marli M Lima:** Writing - original draft. **Maria R Donalísio:** Conceptualization, Funding acquisition, Project administration, Writing - original draft, Writing - review & editing. **Carlos E Almeida:** Conceptualization, Funding acquisition, Project administration, Supervision, Writing - original draft, Writing - review & editing.

Declaration of Competing Interest

None.

Acknowledgments

We thank the technicians of Funasa for essential help in the field; in

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

special to Dr. Lúcia Maria Abrantes Aguiar (Secretaria de Estado da Saúde Pública do Rio Grande do Norte, Natal, Brasil.) for kindly arranging for all field work; to Professors Silmara M Allegretti and Fernanda J Cabral for all dedication to the Post Graduate Program in Animal Biology–Unicamp.

References

- Aguilar, H.M., Abad-Franch, F., Dias, J.C.P., Junqueira, A.C.V., Coura, J.R., 2007. Chagas disease in the Amazon Region. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* Vol. 102, 47–55. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007005000098>.
- Almeida, C.E., Folly-Ramos, E., Peterson, A.T., Lima-Neiva, V., Gumiel, M., Duarte, R., Lima, M.M., Locks, M., Beltrão, M., Costa, J., 2009. Could the bug *Triatoma sherlocki* be vectoring chagas disease in small mining communities in Bahia, Brazil? *Med. Vet. Entomol.* <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2009.00822.x>.
- Almeida, C.E., Pacheco, R.S., Haag, K., Dupas, S., Dotson, E.M., Costa, J., 2008. Inferring from the Cyt B gene the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: reduviidae: triatominae) genetic structure and domiciliary infestation in the State of Paraíba. *Brazil. Am. J. Trop. Med. Hyg.* 78, 791–802.
- Barbosa-Silva, A.N., Da Câmara, A.C.J., Martins, K., Nunes, D.F., de Oliveira, P.I.C., de Azevedo, P.R.M., Chiari, E., Galvão, L.M.da C., 2016. Characteristics of triatomine infestation and natural *Trypanosoma cruzi* infection in the state of Rio grande do norte. *Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 49, 57–67. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0300-2015>.
- Barbosa-Silva, A.N., Souza, R.de C.M.de, Diotaiuti, L., Aguiar, L.M.A., Camara, A.C.J.da, Galvao, L.M.da C., Chiari, E., 2019. Synanthropic triatomines (Hemiptera: reduviidae): infestation, colonization, and natural infection by trypanosomatids in the State of Rio Grande do Norte. *Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 52, e20190061 <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0061-2019>.
- Borges-Pereira, J., De Castro, J.A.F., Silva, Da, A.G., Zauza, P.L., Bulhões, T. P., Gonçalves, M.E., De Almeida, E.S., Salmito, M.D.A., Pereira, L.R.M., Alves Filho, F.L., Correia-Lima, F.G., Coura, J.R., 2.0.0.6, 2002. Soroprevalência da infecção chagásica no Estado do Piauí. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 39, 530–539. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822006000600004>.
- Briceno-León, R., 2007. Chagas disease and globalization of the Amazon. *Cad. Saude Publica.* Sup 1, S33–S40. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2007001300005>.
- Cecere, M.C., Vazquez-Prokopec, G.M., Gürtler, R.E., Kitron, U., 2004. Spatio-temporal analysis of reinfestation by *Triatoma infestans* (Hemiptera: reduviidae) following insecticide spraying in a rural community in Northwestern Argentina. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 71, 803–810. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2005\)042\[0571:sporbj\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2005)042[0571:sporbj]2.0.co;2).
- Colosio, R., Falavig, Ana, Lúcia Falavigna-Guilherme, A., Gomez, M., Marques, D., Lala, E., de Araújo, S., 2007. Conhecimentos e atitudes sobre a doença De Chagas entre profissionais de saúde dos municípios de Maringá e Paçandu Paraná. *Ciência, Cuid. e Saúde* 6, 355–363. <https://doi.org/10.4025/cienccuidsaude.v6i0.5328>.
- Costa, J., Almeida, C.E., Dotson, E.M., Lins, A., Vinhaes, M., Silveira, A.C., Beard, C.B., 2003. The Epidemiologic Importance of *Triatoma brasiliensis* as a Chagas Disease Vector in Brazil: A Revision of Domiciliary Captures during 1993–1999. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 98, 443–449.
- Coura, J.R., Albajar Viñas, P., Brum-Soares, L.M., de Sousa, A.S., Xavier, S.S., 2013. Morbidity of Chagas heart disease in the microregion of Rio Negro, Amazonian Brazil: a case-control study. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 108, 1009–1013. <https://doi.org/10.1590/0074-0276130425>.
- Coura, J.R., Junqueira, A.C.V., Fernandes, O., Valente, S.A.S., Miles, M.A., 2002. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends Parasitol.* 18 (4), 171–176. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(01\)02200-0](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(01)02200-0).
- Coutinho, C.F.S., Souza-Santos, R., Lima, M.M., 2012. Combining geospatial analysis and exploratory study of triatomine ecology to evaluate the risk of Chagas disease in a rural locality. *Acta Trop.* 121, 30–33. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.10.005>.
- Daflon-Teixeira, N.F., Coutinho, C., Gomes, T.F., Toma, H.K., Duarte, R., Bóia, M.N., Carvalho-Costa, F.A., Almeida, C.E., Lima, M.M., 2019. Multiple approaches to address potential risk factors of Chagas disease transmission in Northeastern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 100, 296–302. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0480>.
- Dario, M.A., Rodrigues, M.S., Barros, J.H.D.S., Xavier, S.C.D.C., D'Andrea, P.S., Roque, A.L.R., Jansen, A.M., 2016. Ecological scenario and *Trypanosoma cruzi* DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo State, Brazil). *Parasit Vectors* 9, 477. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1754-4>.
- Dias, J.C.P., Machado, E.M., Fernandes, A.L., Vinhaes, M.C., 2000. General situation and perspectives of Chagas disease in Northeastern Region, Brazil. *Cad. Saude Pública* 16 (Suppl 2), 13–34.
- Dias, J.C.P., 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.* 11–18. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762007005000092>.
- Dias, J.C.P., Ramos, A.N., Gontijo, E.D., Luquetti, A., Shikanai-Yasuda, M.A., Coura, J.R., Torres, R.M., Melo, J.R.da C., Almeida, E.A.de, Oliveira, W.de, Silveira, A.C., Rezende, J.M.de, Pinto, F.S., Ferreira, A.W., Rassi, A., Fragata, A.A., Sousa, A.S.de, Correia, D., Jansen, A.M., Andrade, G.M.Q., Brito, C.F.D.P.de C., Pinto, A.Y.das N., Rassi, A., Campos, D.E., Abad-Franch, F., Santos, S.E., Chiari, E., Hassloch-Moreno, A.M., Moreira, E.F., Marques, D.S.de O., Silva, E.L., Marin-Neto, J.A., Galvão, L.M.da C., Xavier, S.S., Valente, S.A.da S., Carvalho, N.B., Cardoso, A.V., Silva, R.A.E., Costa, V.M.da, Vivaldini, S.M., Oliveira, S.M., Valente, V.da C., Lima, M.M., Alves, R.V., 2016. II Consenso brasileiro em doença de Chagas, 2015. *Epidemiol. Serv. Saúde.* 7–86. <https://doi.org/10.5123/s1679-49742016002100002>, 2016.
- Dias, J.C.P., Vinhaes, M.C., Silveira, A.C., Schofield, C.J., Cardoso, B., Coura, J.R., 2001. Pesquisas prioritárias sobre doença de Chagas na Amazonia: agenda de curto-médio prazo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 34 (5), 497–498. <https://doi.org/10.1590/s0037-86822001000500017>.
- Dias, J.C.P., Bastos, C., Araújo, E., Mascarenhas, A.V., Netto, E.M., Grassi, F., Silva, M., Tatto, E., Mendonça, J., Araújo, R.F., Shikanai-Yasuda, M.A., Aras, R., 2008. Acute Chagas disease outbreak associated with oral transmission. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 1 41 (3), 296–300. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000300014>.
- FUNASA, 2017. Melhorias Habitacionais Para o Controle Da Doença De Chagas. <http://www.funasa.gov.br/melhorias-habitacionais-para-o-controle-da-doenca-de-chagas/>, accessed 10 June 2020.
- Góes, C., 2019. Chega a 40 Número De Pessoas Em Tratamento Por Causa De Surto De Doença De Chagas. <https://g1.globo.com/pe/pernambuco/noticia/2019/06/28/cheega-a-40-numero-de-pessoas-em-tratamento-por-causa-de-surto-de-doenca-de-chagas.ghtml/>, accessed 1 March 2020.
- Gurgel, C.B.M.F., Magdalena, C.V., Prioli, L., 2009. A Tripanossomíase Americana antes de Carlos Chagas. *Cad. Saude Colet* 17, 827–839.
- IBGE, 2017. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Marcelino Vieira. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rn/marcelino-vieira/>, accessed 13 April 2019.
- IBGE, 2019. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística/IBGE-PNADC/T. Sistema IBGE de Recuperação Automática - SIDRA. Pesquisa nacional por amostra de domicílios contínua anual. PNADC/A. <https://sidra.ibge.gov.br/home/pnadct/brasil/>, accessed 10 June 2020.
- Jansen, A.M., Xavier, S.C.D.C., Roque, A.L.R., 2018. *Trypanosoma cruzi* transmission in the wild and its most important reservoir hosts in Brazil. *Parasites and Vectors* 11, 502. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3067-2>.
- Kamakura, W., Mazzon, J.A., 2016. Critérios de estratificação e comparação de classificadores socioeconômicos no Brasil. *Rev. Adm. Empres.* (56), 55–70. <https://doi.org/10.1590/s0034-759020160106>.
- Lent, H., Wygodzinsky, P., 1979. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. museum Nat. Hist.* 163, 123–520.
- Lilioso, M., Reigada, C., Pires-Silva, D., Fontes, F., von, H.M., Limeira, C., Monsalve-Lara, J., Folly-Ramos, E., Harry, M., Costa, J., Almeida, C.E., 2020. Dynamics of food sources, ecotypic distribution and *Trypanosoma cruzi* infection in *Triatoma brasiliensis* from the northeast of Brazil. *PLoS Negl. Trop.* 201, 105188 <https://doi.org/10.1016/j.pnt.2020.10.016>.
- Lilioso, M., Folly-Ramos, E., Rocha, F., Rabinovich, J., Capdevielle-Dulac, C., Harry, M., Marcet, P., Costa, J., Almeida, C.E., 2017. High *Triatoma brasiliensis* densities and *Trypanosoma cruzi* prevalence in domestic and peridomestic habitats in the State of Rio Grande do Norte, Brazil: the Source for Chagas Disease Outbreaks? *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 96 (6), 1456–1459. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0823>, 2017.
- Lima-Oliveira, T.M., Fontes, F.von H.M., Lilioso, M., Pires-Silva, D., Teixeira, M.M.G., Meza, J.G.V., Harry, M., Filee, J., Costa, J., Valença-Barbosa, C., Folly-Ramos, E., Almeida, C.E., 2019. Molecular eco-epidemiology on the sympatric Chagas disease vectors *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma petrochiae*: ecotypes, genetic variation, natural infection prevalence by trypanosomatids and parasite genotyping. *Acta Trop.* 201, 105188 <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105188>.
- Lima, M.M., Carvalho-Costa, F.A., Toma, H.K., Borges-Pereira, J., de Oliveira, T.G., Sarquis, O., 2015. Chagas disease and housing improvement in northeastern Brazil: a cross-sectional survey. *Parasitol. Res.* 114, 1687–1692. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4350-1>.
- Marques, É., Otávio, M., Silva, R.C., Paixão, C., Buzzati, H., Nogueira, A., Pereira, C., 2010. Estudo clínico-epidemiológico da doença de Chagas no distrito de Serra Azul, Mateus Leme, centro-oeste do Estado de Minas Gerais clinic and epidemiological study on Chagas disease in the Serra Azul district of Mateus Leme, central-western region of the. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 43, 178–181. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822010000200014>.
- Monteiro, F.A., Barrett, T.V., Fitzpatrick, S., Cordon-Rosales, C., Feliciangeli, D., Beard, C.B., 2003. Molecular phylogeography of the Amazonian Chagas disease vectors *Rhodnius prolixus* and *R. robustus*. *Mol. Ecol.* 12, 997–1006. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.01802.x>.
- Monteiro, W.M., Magalhães, L.K.C., Oliveira, J.C., Guerra, J.A.de O., Silveira, H., Ferreira, L.C.de L., Toledo, M.J.de O., Barbosa, M.das G.V., 2012. Biological behavior of *Trypanosoma cruzi* stocks obtained from the state of Amazonas, Western Brazilian Amazon, in mice. *Rev. Soc. Bras. Med.* 45 (2), 209–214. <https://doi.org/10.1590/s0037-86822012000200014>.
- Moreira, O.C., Verly, T., Finamore-Araujo, P., Gomes, S.A.O., Lopes, C.M., De Sousa, D. M., Azevedo, L.R., Da Mota, F.F., D'Avila-Levy, C.M., Santos-Mallet, J.R., Brito, C., 2017. Development of conventional and real-time multiplex PCR-based assays for estimation of natural infection rates and *Trypanosoma cruzi* load in triatomine vectors. *Parasit Vectors* 10, 1–14. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2343-x>.
- Oliveira, J., Marcet, P.L., Takiya, D.M., Mendonça, V.J., Belintani, T., Barges, M.D., Mateo, L., Chagas, V., Folly-Ramos, E., Cordeiro-Estrela, P., Gurgel-Gonçalves, R., Costa, J., da Rosa, J.A., Almeida, C.E., 2017. Combined phylogenetic and morphometric information to delimit and unify the *Triatoma brasiliensis* species complex and the *brasiliensis* subcomplex. *Acta Trop.* 170, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.02.020>.
- Oliveira-Marques, D.S., Bonametti, A.M., Matsuo, T., Gregori-Junior, F., 2005. The epidemiologic profile and prevalence of cardiopathy in *Trypanosoma cruzi* infected blood donor candidates, londrina, paraná, brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 47 (6), 321–326. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652005000600003>.

Continuação anexo 1.

J. Monsalve-Lara et al.

Acta Tropica 215 (2021) 105803

- OPAS, 2003. Organização Pan-Americana da Saúde. Guia Para Amostragem Aplicada a Atividades De Vigilância e Controle Vetorial Da Doença De Chagas. <http://www1.paho.org/Portuguese/AD/DPC/CD/dch-guia-muestreo.htm/>. accessed 13 Abril 2019.
- Pampiona De Góes Cavalcanti, L., Rolim, D.B., Da Justa, R., Neto, P., Lima, D.C., Vilar, F., Otho, J., Nogueira, L., Maria De Lima Pompeu, M., Teixeira, M.J., Queiróz De Sousa, A., 2009. Microepidemia de doença de Chagas aguda por transmissão oral no Ceará. *Cad. Saúde Colet.* 17 (4), 911–921.
- Schmunis, G.A., Yadon, Z.E., 2010. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Trop* 115 (1–2), 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.11.003>.
- Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N.S., Wang, J.T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., Ideker, T., 2003. Cytoscape: a software Environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res* 13 (11), 2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>.
- Shikanai-Yasuda, M.A., Marcondes, C.B., Guedes, L.A., Siqueira, G.S., Barone, A.A., Dias, J.C., Amato Neto, V., Tolezano, J.E., Peres, B.A., Arruda Júnior, E.R., 1991. Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.* 33 (5), 351–357. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651991000500003>.
- Steindel, M., Kramer Pacheco, L., Scholl, D., Soares, M., de Moraes, M.H., Eger, I., Kosmann, C., Sincero, T.C.M., Stoco, P.H., Murta, S.M.F., de Carvalho-Pinto, C.J., Grisard, E.C., 2008. Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State. *Brazil. Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 60 (1), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2007.07.016>.
- Sturm, N.R., Degraeve, W., Morel, C., Simpson, L., 1989. Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease. *Mol. Biochem. Parasitol.* 205–214. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(89\)90082-0](https://doi.org/10.1016/0166-6851(89)90082-0).
- Valença-Barbosa, C., Lima, M.M., Sarquis, O., Bezerra, C.M., Abad-Franch, F., 2014. Modeling disease vector occurrence when detection is imperfect II: drivers of site-occupancy by synanthropic *Triatoma brasiliensis* in the Brazilian Northeast. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8 (issue 5), e2861. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002861>.
- Vasconcelos-Fidalgo, A.S.O., Costa, A.C., Silva Filho, J.D., Cândido, D., Freitas, E., Pereira, L., Andrade, M., Gomes, K.C., Bezerra, C., Oliveira, M.F., 2018. Insect vectors of Chagas disease (*Trypanosoma cruzi*) in Northeastern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 51 (2), 174–182. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0408-2017>.
- WHO, W.H.O., 2020. Chagas Disease (American Trypanosomiasis): Targets and Milestones For Overcoming Neglected Tropical Diseases 2011–2020. <https://www.who.int/chagas/strategy/milestones/en/>. accessed august 2020.
- Vargas, A., Malta, J.M.A.S., Costa, V.M.da, Claudio, L.D.G., Alves, R.V., Cordeiro, G.da S., Aguiar, L.M.A., Percio, J., 2018. Investigação de surto de doença de Chagas aguda na região extra-amazônica, Rio Grande do Norte, Brasil, 2016. *Cad. Saude Publica* 34, e00006517. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00006517>.
- Vicente, T., Camara, A.C., 2019. *Trypanosoma cruzi* circulating among dogs and triatomines in the endemic countryside of the State of Rio Grande do Norte. *Brazil. Acta Trop.* <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105067>.
- Vinhaes, M., de Oliveira, S., Reis, P., de Lacerda Sousa, A.C., Silva, R., Obara, M., Bezerra, C., da Costa, V., Alves, R., Gurgel-Gonçalves, R., 2014. Assessing the vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis. *Acta Trop* 137, 105–110. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.05.007>.
- Wincker, P., Britto, C., Pereira, J.B., Cardoso, M.A., Oelemann, W., Morel, C.M., 1994. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in a rural endemic area. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 51 (6), 771–777. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1994.51.771>.
- Wuthrich, D., 2006. Google Earth Pro. Geospatial Solut.

Anexo 2. Formulário. Dados demográficos

Levantamento de dados sócio-demomográficos sobre os moradores

1.	Sexo				
	M	F	Outro		
2.	Ha quanto tempo reside nesta moradia?				
3.	A casa é própria?				
	Sim	Não			
4.	Anos de estudo		Pontos		
	Analfabeto / Fundamental I incompleto (Primario inc.)		(0)		
	Fundamental (primario) I completo / Fundamental (Ginásio) II incompleto		(1)		
	Fundamental II completo / Médio incompleto (Ginásio Completo/Colegial Inc)		(2)		
	Médio completo / Superior incompleto (Colegial Completo/Superior inc.)		(4)		
	Superior completo (Superior Completo)		(7)		
5.	Qual é a fonte de renda da família?				
	Bolsa familia	Aposentadoria	Outra		
6.	Número de habitantes e idades				
7.	Qual meio de comunicação que a família utiliza?				
	TV	TV parabolica	Computador ou cel com internet		
	Outro				
			Pontos		
			Não	1	2
			3	4	4+
8.	Quantidade de automóveis de passeio exclusivamente para uso particular		(0)	(3)	(5)
9.	Empregados domésticos		(0)	(3)	(7)
10.	máquinas de lavar roupa, excluindo tanquinho		(0)	(2)	(4)
11.	Banheiros		(0)	(3)	(7)
12.	DVD		(0)	(1)	(3)
13.	Freezers		(0)	(2)	(4)
14.	Laptops, notebooks desconsiderando tablets, palms ou smartphones		(0)	(3)	(6)
15.	Lavadora de louças		(0)	(3)	(6)
16.	Micro-ondas		(0)	(2)	(4)
17.	Motocicleta de passeio exclusivamente particular		(0)	(1)	(3)
18.	Secadora roupa		(0)	(2)	(2)
19.	A água utilizada neste domicilio é proveniente de?				
20.	Rede geral de distribuição				
	Poço ou nascente				
	Outro meio				
	Total pontos				

Anexo 3. Formulário. Conhecimento dos moradores

1. Você conhece o inseto barbeiro?
Sim Não
2. Já teve contato com este inseto?
Sim Não
3. Sabe onde este inseto se esconde?
Sim Não
4. Sabe do que este inseto se alimenta?
Sim Não
5. Já foi picado ou alguém da família?
Sim Não
Quando? O que aconteceu?
6. Sabe o que fazer no caso de achar um barbeiro
Mata Guarda Não sabe
Outra
7. Você tem conhecimento se o barbeiro/procotó transmite alguma doença?
Sim Não
Que doença?
8. Como pode-se transmitir a doença de Chagas?
Picada Alimento contaminado
Outro
9. Como aprendeu sobre o inseto?
Escola Família Comunidade Agente de Saúde
Meios de comunicação Qual?
10. Foi realizada alguma dedetização
Sim Não Data
Agente de Saúde Sim Não

Observações _____



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Ecoepidemiologia da doença de Chagas em área de surto no Rio Grande do Norte: genotipagem do *Trypanosoma cruzi* nos vetores, mapeamento e identificação de fatores de risco

Pesquisador: Jackeline Monsalve Lara

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 86816917.6.0000.5404

Instituição Proponente: Instituto de Biologia - Unicamp

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.631.532

Apresentação do Projeto:

No passado, o semiárido nordestino apresentou focos hiperendêmicos de transmissão vetorial da doença de Chagas, no entanto, o cenário de transmissão vem mudando em todo o Brasil. Em 2016, foram oficialmente registrados surtos de transmissão chagásica em quatro municípios do Rio Grande do Norte. Tais surtos ocorrem geralmente pela via oral, estando associados com hábitos de vida da população local. Dentre os fatores de risco, tanto para a infecção vetorial quanto oral, destaca-se a prevalência de *Trypanosoma cruzi* nos vetores da área e a proximidade entre estes insetos e o homem. A identificação dos genótipos de *T. cruzi* em vetores pode ser útil para o rastreamento de surtos. Objetivo: o presente estudo pretende avaliar a infecção natural de *T. cruzi* nos vetores da região do evento, desenvolvendo a genotipagem e quantificação do parasita via PCR em tempo real além do perfil sociodemográfico dos moradores. Método: serão identificados os fatores que propiciam as infestações triatomínicas nos ambientes onde circulam humanos, com base no que se conhece sobre a biologia das espécies da região. Serão também levantados determinados hábitos dos moradores que possam propiciar surtos, como aqueles associados ao consumo de alimentos sem a devida higienização, bem como os de manter ambientes propícios para a multiplicação de vetores nos arredores das habitações. Em seguida, será ajustado um modelo de regressão logística para analisar a associação da presença de vetores em domicílios e as variáveis de interesse. Os

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.631.532

sítios de risco serão apontados espacialmente por meio de mapas temáticos, utilizando-se estimador de densidade Kernel. Resultados esperados: Com a abordagem transdisciplinar aqui apresentada pretende-se obter informações acerca da origem do surto, reconhecer variáveis ambientais e sociais associadas à presença de colônias de vetores em unidades domiciliares e mapear áreas de risco.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Investigar a diversidade de vetores e do parasita (*T. cruzi*) que eles albergam em unidades domiciliares na área onde o surto da doença de Chagas foi registrado no Rio Grande do Norte, identificando e mapeando os fatores associados ao risco de infecção chagásica nos municípios.

Objetivo Secundário: • Avaliar a diversidade e relevância epidemiológica dos triatomíneos coletados na área de estudo por meio de indicadores entomológicos; • Aplicar PCR em tempo real do material do tubo digestivo dos insetos para detectar a infecção natural, quantificar a carga parasitária, e genotipar o parasita; • Identificar variáveis ambientais que possam propiciar (i) as infestações triatomínicas, (ii) as altas prevalências de *T. cruzi* no peri e intradomicílio e (iii) a ocorrência de surtos Chagásicos; • Conhecer o perfil epidemiológico da população em risco.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

"Riscos: Não apresenta riscos

Benefícios: Hábitos da população local que propiciam a infecção oral chagásica, se levantados, podem ser usados para prevenir novos surtos através de medidas socioeducativas. O reconhecimento de tais hábitos pode também ser usado para a construção de mapas identificando situações de risco. Tais mapas podem ser forte aliados na prevenção de novos surtos, servindo como fontes de alerta para as secretarias de saúde—encarregas do controle vetorial." A pesquisadora confunde os benefícios científicos com os benefícios para os participantes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Não são tecnicamente convincentes os argumentos para o modelo proposto nem por que o tamanho amostral é 270.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O TCLE é bastante curto, fora do que encontra normalmente em projetos junto ao CEP. Em particular, falta uma análise dos riscos previsíveis. A análise de benefícios é adequada e informativa. O uso de termos com 'T.cruzi', 'genótipos', 'vetores', 'chagásicas' e 'parasito' não ajuda

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.631.532

peças que vivam em situação de risco para a Doença de Chagas a tomar uma decisão livre e esclarecida. No quesito, confidencialidade, lê-se que "As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação uma vez que não haverá nenhum registro que o vincule a sua residência" mas nos benefícios lê-se " Caso a busca do barbeiro seja positiva em sua residência e/ou anexos, agentes de saúde do município realizarão borrifação do domicílio e anexos infestados". Portanto, a confidencialidade dos dados será quebrada em caso de necessidade de ação dos agentes de saúde. O TCLE tem que ser claro nisso.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências: (1) Escrever o TCLE de forma menos técnica, explicitando riscos associados à participação; O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) é o documento que, além de explicar os detalhes da pesquisa (justificativa, objetivos, procedimentos, desconfortos, riscos, benefícios, grupos de alocação, entre outros aspectos), também deve informar e assegurar os direitos dos participantes. O TCLE deve ser conciso e de fácil compreensão por um indivíduo leigo. Não é desejável que o documento seja longo, com procedimentos excessivamente detalhados e com construções gramaticais complexas. Itens importantes que devem ser contemplados no TCLE: Justificativa, objetivos, procedimentos (neste item deverá constar as informações sobre o destino dos áudios gravados: Serão armazenados? Se sim, por quanto tempo? Como serão descartados? Pretende-se usar em projetos futuros ou será utilizado exclusivamente para este projeto?), desconforto (em termos de desconfortos, acrescentar uma frase com a estimativa do tempo necessário para a coleta de dados), riscos (toda pesquisa com seres humanos envolve riscos em tipos e gradações variadas, caso não consiga dimensionar o risco da pesquisa descreva que não há riscos previsíveis), benefícios (diretos e indiretos), sigilo e privacidade, ressarcimento e indenização (Colocar no TCLE sobre ressarcimento das despesas ou informação de que não haverá ressarcimento pela participação e informar o motivo (o pesquisador vai se deslocar até o participante? A coleta de dados será feita durante a rotina do participante?). O pesquisador DEVE SEMPRE informar se haverá ou não ressarcimento de despesas, para os casos de comparecimento em dias não previstos na rotina do participante), contato, consentimento, responsabilidade do pesquisador. As páginas devem ser numeradas e rubricadas. Consultar o TCLE segundo a estrutura básica apresentada na página do comitê de Ética da UNICAMP https://www.prp.unicamp.br/sites/default/files/3_estrutura_basica_tcle-versao_09outubro2015-disponivel_site.docx (2) O TCLE tem que ser claro quanto às condições de confidencialidade, caso haja barbeiros numa residência; (3) Tanto o projeto como o TCLE devem apresentar como Riscos "Não há riscos

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.631.532

previsíveis" e os benefícios descritos de vem ser apenas os diretos para os participantes, isto é, segundo os colocados no TCL, que estão adequados e informativos;(4) segundo os critérios de inclusão, o projeto de pesquisa prevê a inclusão de menores de idade, nestes caso a pesquisadora deverá inserir um TCLE direcionado ao responsável legal pelo menor e acrescentar um termo de assentimento livre e esclarecido para anuência dos adolescentes participantes da pesquisa. Tais participantes devem ser esclarecidos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta etapa possa lhe causar, na medida da sua compreensão e respeitados em suas singularidades. (5) Em relação ao documento anexado "Folha_rosto.pdf 24/10/2017 13:46:08" a pesquisadora assinou no local do patrocinador, quem deve assinar este campo é o patrocinador e não a pesquisadora, mas no caso da Fapesp, CAPES e CNPq esse campo deve ficar sem assinatura. Solicitamos adequações.

As adequações e recomendações citadas acima devem ser respondidas, em carta resposta (com resposta pontual a cada um dos questionamentos) anexada a Plataforma Brasil, com concomitantes correções nos respectivos documentos, apresentadas em destaque (tarja amarela).

Considerações Finais a critério do CEP:

Lembramos ao pesquisador que o estudo só pode ser iniciado após a aprovação pelo CEP, conforme compromisso assumido pelo mesmo com o cumprimento da resolução 466/2012, item XI.2 letra a. Quando for submeter respostas às pendências, verificar se o cronograma de realização da pesquisa, descrito na plataforma Brasil e no projeto anexado, está contemplando o início da coleta de dados APÓS a liberação do projeto pelo CEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1015733.pdf	04/04/2018 05:49:53		Aceito
Outros	AnexosecoepidemiologiaChagas.pdf	04/04/2018 05:45:02	Jackeline Monsalve Lara	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Ecoepidemiologachagas.pdf	04/04/2018 05:42:11	Jackeline Monsalve Lara	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	04/04/2018 05:40:12	Jackeline Monsalve Lara	Aceito

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 2.631.532

Outros	Carteirinhaestudante.pdf	03/04/2018 21:53:45	Jackeline Monsalve Lara	Aceito
Declaração do Patrocinador	Patrocinador.pdf	03/04/2018 21:49:05	Jackeline Monsalve Lara	Aceito
Folha de Rosto	Folha_rosto.pdf	24/10/2017 13:46:08	Jackeline Monsalve Lara	Aceito

Situação do Parecer:

Pendente

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 02 de Maio de 2018

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
 Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
 UF: SP Município: CAMPINAS
 Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **O RISCO DE TRANSMISSÃO ORAL NO MUNICÍPIO DE MARCELINO VIEIRA - ÁREA DE SURTO DA DOENÇA DE CHAGAS NO NORDESTE BRASILEIRO - AVALIADO POR MEIO DE INDICADORES ENTOMOLÓGICOS, SOCIOECONÔMICOS E EDUCACIONAIS**, não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 20 de agosto de 2021

Assinatura : *Jackeline Monsalve L.*
Nome do(a) autor(a): **JACKELINE MONSALVE LARA**
RG n.º

Assinatura : *Carlos Eduardo Almeida*
Nome do(a) orientador(a): **CARLOS EDUARDO ALMEIDA**
RG n.º 0901912971FP