

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**INDICADORES ENTOMOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA DOENÇA DE
CHAGAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE SALVADOR**

FERNANDA CARDOSO LANZA

Salvador – Bahia

2019

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

**INDICADORES ENTOMOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA DOENÇA DE
CHAGAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE SALVADOR**

FERNANDA CARDOSO LANZA

Orientador: Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para obtenção do grau de Mestre.

Salvador – Bahia

2019

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Instituto Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

L297i Lanza, Fernanda Cardoso.
Indicadores entomológicos e epidemiológicos da doença de chagas na Região Metropolitana de Salvador. / Fernanda Cardoso Lanza. - 2019.
73 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, 2019.

1. Doença de Chagas. 2. *Trypanosoma cruzi*. 3. Triatomíneos. I. Título.

CDU 616.937

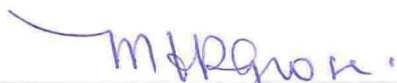
" INDICADORES ENTOMOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA DOENÇA DE CHAGAS NA REGIÃO METROPOLITANA DE SALVADOR."

FERNANDA CARDOZO LANZA

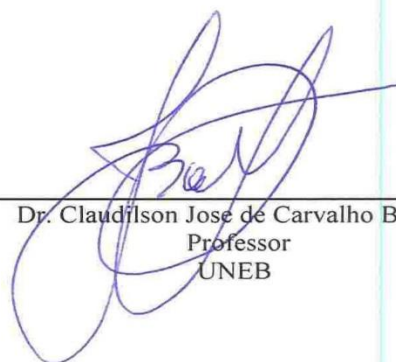
FOLHA DE APROVAÇÃO

Salvador, 27 de setembro de 2019.

COMISSÃO EXAMINADORA



Dra. Maria Fernanda Rios Grassi
Pesquisadora
IGM/Fiocruz



Dr. Claudilson Jose de Carvalho Bastos
Professor
UNEB



Dra. Isadora Cristina de Siqueira
Pesquisadora
IGM/FIOCRUZ

FONTES DE FINANCIAMENTO

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

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia – FAPESB

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida e por me acompanhar sempre. Por permitir alcançar mais este objetivo, guiando meus passos e pensamentos.

Agradeço, em especial, ao que tenho de mais valioso: a minha família. Agradeço aos meus pais e minha irmã. Muito obrigado pelo apoio nos momentos difíceis, carinho, amor, compreensão e dedicação sempre. Aos meus tios, tias, primos, primas e amigos, pelos sorrisos que me restauraram as forças nos momentos de cansaço. A todos da minha família que de forma direta ou indireta colaboraram com mais essa conquista.

Agradeço ao Prof. Mitermayer Galvão dos Reis, por ter me orientado durante esse período, pela sua atenção, presença e dedicação. Aos colegas Gilmar Ribeiro Jr., Fred Luciano Neves Santos, Ianei Carneiro, José Maurício Albuquerque Cunha, Diego Lopes Paim Miranda, Renato Barbosa Reis, Rodrigo Gurgel Gonçalves; aos colaboradores da DIVEP/SESAB e CCZ/SSA, Cristiane Medeiros, Gabriel Muricy, Eliaci Couto e Fabiano Simões; e a Sra. Ana Fiscina e a equipe da Biblioteca de Ciências Biomédicas Eurydice Pires de Sant'Anna que colaboraram e me ajudaram no desenvolvimento deste trabalho.

Aos participantes da banca examinadora, Dra. Maria Fernanda Grassi, Dra. Isadora Siqueira e Dr. Claudilson Bastos, por terem aceitado o meu convite e à todos os professores cujos ensinamentos foram essenciais em minha formação.

Agradeço a todos que de alguma forma colaboraram para a conquista de mais essa vitória na minha vida.

“O conhecimento nos faz responsáveis.”
(*Che Guevara*).

LANZA, Fernanda Cardoso. Indicadores Entomológicos e Epidemiológicos da Doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador. 2019. 73 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.

RESUMO

INTRODUÇÃO: A doença de Chagas (DC) é causada pelo *Trypanosoma cruzi*. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que seis a sete milhões de pessoas estejam infectadas no mundo. Devido ao crescimento imobiliário e ao desmatamento nos centros urbanos, os triatomíneos se aproximaram das populações humanas, resultando no encontro frequente destes vetores nas residências. **OBJETIVO:** O objetivo deste trabalho foi identificar as áreas vulneráveis para transmissão da doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador (RMS) com base na análise dos indicadores entomológicos e epidemiológicos. **MATERIAL E MÉTODOS:** Os dados entomológicos foram obtidos dos registros do Centro de Controle de Zoonoses de Salvador (CCZ/SSA), Laboratório Central da Bahia (LACEN/BA) e do Instituto Gonçalo Moniz/Fundação Oswaldo Cruz (IGM/FIOCRUZ). Para o diagnóstico de infecção pelo *T. cruzi* foram realizados o exame parasitológico direto (microscopia) e o teste da PCR nos triatomíneos. Para identificar as áreas com vegetação e as áreas desmatadas, utilizamos imagens de satélite da plataforma online MapBiomas. Os dados epidemiológicos foram obtidos mediante consulta do banco de dados da Diretoria de Vigilância Epidemiológica/Secretaria de Saúde do Estado da Bahia (DIVEP/SESAB) e da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA). Utilizamos as informações sobre as taxas de dispensação de benzonidazol, autorização de internação hospitalar por DC, óbitos por DC, números de casos de DC por cadastro autorreferido do SIAB e registro de doadores de sangue do HEMOBA. Para o geoprocessamento utilizamos os softwares Qgis® e ArcMap®. **RESULTADOS:** A análise dos dados referentes ao encontro de triatomíneos foi realizada apenas para o município de Salvador. A maioria das notificações foram do bairro de Patamares. Foram registradas 1518 notificações de triatomíneos, no período de 2007 a 2019, de todos os estágios ninfais, e 99,53% foram da espécie *Triatoma tibiamaculata* e 0,47% da espécie *Panstrongylus geniculatus*. A maioria dos triatomíneos foram encontrados no ambiente peridomicílio. No intradomicílio, só foram encontrados exemplares adultos. Observou-se que 56% dos insetos analisados por biologia molecular estavam infectados pelo *T. cruzi*. Em Salvador, os triatomíneos foram encontrados em áreas que ainda apresentam remanescentes de floresta e relacionado ao desmatamento recente. A análise dos dados epidemiológicos foram realizadas para todos os municípios da RMS. **CONCLUSÕES:** Com base nos cinco indicadores epidemiológicos, os municípios mais vulneráveis para DC foram: São Sebastião do Passé, Mata de São João, Simões Filho e Dias d'Ávila. Os dados indicam que mais atenção deve ser dada e novas estratégias para controlar os vetores do *T. cruzi* devem ser desenvolvidas. Há necessidade de vigilância entomológica e monitoramento dos locais mais vulneráveis.

Palavras-Chave: Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Triatomíneos; Região Metropolitana de Salvador.

LANZA, Fernanda Cardoso. Entomological and Epidemiological Indicators of Chagas Disease in Metropolitan Region of Salvador. 2019. 73 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa) – Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Chagas disease (DC) is caused by *Trypanosoma cruzi*. It is estimated that 6 to 7 million people are infected worldwide. Due to the real estate growth and deforestation of the urban centers, the triatomines approached the human populations, resulting in the encounter of these vectors in residences. **OBJECTIVE:** The objective of this study was to identify vulnerable areas for Chagas disease transmission in the Salvador Metropolitan Region (RMS) based on the analysis of entomological and epidemiological indicators. **MATERIAL AND METHODS:** The entomological data were obtained from the records of the Zoonoses Control Center of Salvador (CCZ / SSA), Central Laboratory of Bahia (LACEN / BA) and Gonçalo Moniz Institute / Oswaldo Cruz Foundation (IGM / FIOCRUZ). For the diagnosis of *T. cruzi* infection, direct parasitological examination (microscopy) and PCR were performed on triatomines. In order to identify the vegetation areas and deforested areas we used satellite images of the online MapBiomas platform. Epidemiological data were obtained by consulting the database of the Department of Epidemiological Surveillance / Department of Health of the State of Bahia (DIVEP / SESAB) and the Hematology and Hemotherapy Foundation of Bahia (HEMOBA). We observed the rates of benznidazole dispensation, authorization of hospital admission for DC, deaths due to DC, numbers of DC cases by self-referenced SIAB registry and registry of blood donors from HEMOBA. For geoprocessing we used Qgis® and ArcMap® software. **RESULTS:** The analysis of the data regarding the triatomine findings was performed only for the city of Salvador. Most reports were of Patamares neighborhood. A total of 1518 triatomine notifications were recorded from 2007 to 2019, of all nymphal stages, and 99.53% were found to be *Triatoma tibiamaculata* and 0.47% of the species *Panstrongylus geniculatus*. Most triatomines were found in the peridomiciliary environment. In the home, only adult specimens were found. It was observed that 56% of the insects analyzed by molecular biology were infected by *T. cruzi*. In Salvador, triatomines were found in areas that still have remnants of forest and that are related to recent deforestation. The analysis of epidemiological data was performed for all municipalities of the RMS. **CONCLUSIONS:** Based on the five epidemiological indicators, the most vulnerable municipalities for DC were: São Sebastião do Passé, Mata de São João, Simões Filho and Dias d'Ávila. The data indicates that more attention should be given and new strategies to control the vectors of *T. cruzi* should be developed. There is a necessity for entomological surveillance and monitoring of the most vulnerable sites.

Key words: Chagas disease; *Trypanosoma cruzi*; Triatomines; Metropolitan Region of Salvador

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Formas evolutivas do <i>T. cruzi</i>	17
Figura 2 – Insetos triatomíneos.	18
Figura 3 – Ciclo evolutivo de um triatomíneo.....	19
Figura 4 – Médico e pesquisador Manuel Augusto Pirajá da Silva.....	19
Figura 5 – Médico Adriano de Azevedo Pondé.	20
Figura 6 – Médico Alexandre Leal Costa e médico Guilherme Rodrigues da Silva.....	22
Figura 7 – Pesquisador Ítalo Sherlock.....	22
Figura 8 – Distribuição dos casos de infecção pelo <i>T. cruzi</i> , com base em estimativas oficiais e status de transmissão vetorial.	25
Figura 9 – Sinais clínicos da DC na fase aguda.	26
Figura 10 – Sinais clínicos da DC crônica.	27
Figura 11 – Métodos diagnóstico para DC na fase aguda.	28
Figura 12 - Métodos diagnóstico para DC na fase crônica.....	29
Figura 13 – PCR.	29
Figura 14 - Mapa da Região Metropolitana de Salvador.	34
Figura 15 – Fluxograma de obtenção de triatomíneos.	38
Figura 16 – Notificações de triatomíneos no município de Salvador, no período de 2007 a 2019.	42
Figura 17 – Notificações de ocorrência de triatomíneos na cidade de Salvador entre 2007 e 2019, por ambiente de coleta.	44
Figura 18 – Resultado da taxa de infecção dos triatomíneos pelo <i>T. cruzi</i>	44

Figura 19 – Notificação de triatomíneos do intradomicílio e infectados no município de Salvador.	45
Figura 20 – Áreas de vegetação, desmatamento e infraestrutura urbana, no período de 2007 a 2017 e unidades domiciliares com notificações de triatomíneos, entre 2007 e 2019, no município de Salvador.	45
Figura 21 – Áreas de vegetação, desmatamento, infraestrutura urbana e população, por bairros.	46
Figura 22 – Prevalência da dispensação de benzonidazol na Região Metropolitana de Salvador entre 2008 e 2018.	48
Figura 23 – Prevalência das internações por doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador entre 2007 e 2017.	50
Figura 24 – Prevalência dos registros de óbitos por doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador entre 2007 e 2017.	52
Figura 25 – Prevalência de indivíduos que se autorreferem com doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador entre 1998 e 2015 de acordo com os registros do Sistema de Informação da Atenção Básica.	54
Figura 26 - Prevalência de doadores de sangue do HEMOBA não negativos para doença de Chagas entre 2008 e 2018.	56
Figura 27 – Resultado da análise estatística espacial de agrupamento.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Bairros com notificação de triatomíneos na cidade de Salvador entre 2007 e 2019	42
Tabela 2 – Ocorrência de triatomíneos na cidade de Salvador entre 2007 e 2019.....	43
Tabela 3 – Dados de dispensação de benzonidazol na Região Metropolitana de Salvador, 2008 a 2018.....	47
Tabela 4 – Internações por doença de Chagas nos municípios da Região Metropolitana de Salvador, 2007 a 2017.	49
Tabela 5 – Número de óbitos por doença de Chagas, municípios da Região Metropolitana de Salvador, 2007 a 2017.	51
Tabela 6 – Número de casos de doença de Chagas por cadastro autorreferido no Sistema de Informação da Atenção Básica, maiores de 15 anos nos municípios da Região Metropolitana de Salvador, 1998 a 2015.....	53
Tabela 7 – Número de doadores de sangue dos municípios da Região Metropolitana de Salvador, não negativos para doença de Chagas, no período de 2008 a 2018.	55

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AIH	Autorização de Internação Hospitalar
BA	Bahia
BHC	Hexaclorobenzeno
°C	Graus Celsius
CA	Califórnia
CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
CID	Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde
CMIA	Quimioluminescência
DC	Doença de Chagas
DIVEP	Diretoria de Vigilância Epidemiológica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DTU	<i>Discrete Typing Unit</i>
ELISA	Imunoensaio enzimático
EUA	Estados Unidos da América
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
Hab.	Habitantes
HAI	Hemaglutinação indireta
HEMOBA	Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IFA	Imunofluorescência indireta
IFN	Índice de Infecção Natural
IgG	Imunoglobulina G
IGM	Instituto Gonçalo Moniz
IL	Illinois
km	Quilômetros
km ²	Quilômetros quadrados
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
LPBM	Laboratório de Patologia e Biologia Molecular
µL	Micro litro

ng	Nano grama
nm	Nano metro
OMS / WHO	Organização Mundial de Saúde / World Health Organization
OPAS / PAHO	Organização Panamericana da Saúde / Pan American Health Organization
pb	Pares de bases
PBS	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PIB	Produto Interno Bruto
PIT	Posto de Informação de Triatomíneo
Prof.	Professor
RMS	Região Metropolitana de Salvador
SESAB	Secretaria da Saúde do Estado da Bahia
SIAB	Sistema de Informação de Atenção Básica
SIH	Sistema de Informações Hospitalares
SIM	Sistema de Informação de Mortalidade
SMS	Secretária Municipal de Saúde
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SSA	Salvador
SUS	Sistema Único de Saúde
SUVISA	Superintendência de Vigilância em Saúde
SVO	Serviço de Verificação de Óbitos
TC	<i>Trypanosma cruzi</i>
UD	Unidade Domiciliar
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 ASPECTOS GERAIS.....	17
2.2 HISTÓRICO DA DOENÇA DE CHAGAS NA BAHIA	19
2.3 URBANIZAÇÃO DA DOENÇA DE CHAGAS.....	23
2.4 VARIABILIDADE GENÉTICA DO <i>T. CRUZI</i>	24
2.5 EPIDEMIOLOGIA.....	25
2.6 ASPECTOS CLÍNICOS.....	26
2.7 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO.....	27
2.8 FATORES AMBIENTAIS E SOCIOECONÔMICOS ASSOCIADOS A DOENÇA DE CHAGAS.....	30
3. JUSTIFICATIVA	32
4. OBJETIVOS	33
4.1 OBJETIVO GERAL.....	33
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
5. METODOLOGIA.....	34
5.1 DESENHO DO ESTUDO	34
5.2 ÁREA DE ESTUDO	34
5.3 INDICADORES DE VULNERABILIDADE DA TRANSMISSÃO DA DOENÇA DE CHAGAS.....	36
5.3.1 Entomológicos	36
5.3.2 Ambientais.....	36
5.3.3 Epidemiológicos	37
5.4 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS	37
5.5 EXAMES PARA DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO PELO <i>T. CRUZI</i>	38
5.5.1 Exame parasitológico direto	38
5.5.2 Exame parasitológico molecular	39
5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA E ESPACIAL DOS DADOS	39
5.6.1 Geoprocessamento.....	40
6. RESULTADOS	42
5.1 ANÁLISE DOS INDICADORES ENTOMOLÓGICOS E AMBIENTAIS	42
6.1.1 Identificação das espécies de triatomíneos e áreas de ocorrência	42

6.1.2 Taxa de infecção dos triatomíneos pelo <i>T. cruzi</i>	44
6.5 ANÁLISE DOS INDICADORES EPIDEMIOLÓGICOS	47
6.5.1 Dispensação de Benzonidazol	47
6.5.2 Autorização de Internação Hospitalar (AIH).....	48
6.5.3 Óbitos por doença de Chagas	50
6.5.4 Dados do Sistema de Informação de Atenção Básica (SIAB).....	52
6.5.5 Registros de doadores de sangue do HEMOBA.....	54
6. DISCUSSÃO	58
7. CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS	63

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) é causada pelo *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909) e apresenta diferentes formas de transmissão: vetorial, por meio de insetos triatomíneos; oral, pela ingestão de alimentos contaminados; por transfusão de sangue ou transplante de órgãos; transmissão transplacentária, amamentação, por relações sexuais e por acidentes laboratoriais. Recentemente, foi observado o aumento dos casos e surtos da DC por infecção oral em áreas rurais (NOBREGA *et al.*, 2009; SOUZA-LIMA *et al.*, 2013; DARIO *et al.*, 2016) e, principalmente, nas áreas urbanas (BASTOS *et al.*, 2010; NOYA *et al.*, 2010; DOMINGUES *et al.*, 2015; NOYA *et al.*, 2015).

Os triatomíneos possuem hábitos alimentares quase que exclusivamente hematófago. Eles se infectam ao se alimentarem de animal infectado pelo *T. cruzi* e eliminam as formas infectantes do parasita nas fezes logo após a realização do repasto sanguíneo. Apresentam cinco estágios ninfais antes de se tornarem adultos e todos os estágios evolutivos são capazes de transmitir o *T. cruzi* ao hospedeiro vertebrado (SCHOFIELD *et al.*, 2009).

Estima-se atualmente que cerca de seis a sete milhões de pessoas estejam acometidas pela doença em todo o mundo (WHO, 2019). No Brasil, estima-se existir 1,9 a 4,6 milhões de pessoas com DC (BRASIL, 2019). Na Bahia, são registrados, em média, 624 óbitos anuais (SESAB *et al.*, 2019).

O perfil epidemiológico da DC está mudando como consequência da transição demográfica das populações rurais para as áreas urbanas (DIAS *et al.*, 2016). Por exemplo, na Região Metropolitana de Salvador, devido ao crescimento imobiliário e ao desmatamento, os triatomíneos se aproximaram das populações humanas, resultando no encontro frequente destes vetores nas residências. As construções em áreas próximas aos remanescentes florestais levaram ao aumento do número de triatomíneos intrusivos no domicílio e peridomicílio, mesmo em residências com estrutura física adequada, como já descrito em Salvador, Bahia (DIAS-LIMA *et al.*, 2000; RIBEIRO JR *et al.*, 2015).

As análises dos fatores que contribuem para o aumento da capacidade invasiva das espécies de vetores são de grande importância para avaliar e monitorar o processo de domiciliação, e também para direcionar as medidas de controle contra os vetores da doença de Chagas (COSTA *et al.*, 2003). Vale ressaltar ainda que o estudo da distribuição geográfica de vetores também é essencial para a compreensão do risco de transmissão da DC (GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012).

As informações obtidas neste estudo possibilitarão a identificação das áreas vulneráveis ao risco de transmissão da doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador. Esperamos gerar informações que possam contribuir para melhoria das medidas de controle e desenvolvimento de políticas de saúde pública para o combate de triatomíneos e prevenção da doença de Chagas nos municípios identificados como vulneráveis, levando benefícios à população.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS

A DC é causada pelo protozoário hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*. Foi descrita em 1909 por Carlos Chagas, enquanto trabalhava na campanha antipalúdica no município de Lassance – MG (DIAS *et al.*, 1945).

O *T. cruzi* pertence a ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e ao subgênero Schizotrypanum. Possui uma região chamada cinetoplasto, no qual se concentra o DNA mitocondrial e sua posição em relação ao núcleo é utilizada para classificar a forma evolutiva do protozoário. O *T. cruzi* apresenta três formas evolutivas: epimastigota (forma de multiplicação do parasita no vetor ou em cultura); tripomastigota (estágio infectante do parasito); amastigota (estágio evolutivo que se multiplica dentro das células hospedeiras) (figura 1). O ciclo evolutivo do *T. cruzi* está associado a dois tipos de hospedeiros, invertebrados (insetos vetores) e vertebrados (mamíferos principalmente). No ciclo no hospedeiro invertebrado, o *T. cruzi* se transforma em epimastigota e diferencia-se em tripomastigota metacíclico, o qual é eliminado pelas fezes do inseto vetor. No hospedeiro vertebrado, a forma tripomastigota, após penetrar as células, diferencia-se em amastigota e se multiplica por divisão binária intracelular. Os amastigotas se transformam em tripomastigotas, as células parasitadas rompem-se infectando as células vizinhas ou vão para corrente sanguínea, e assim o ciclo de repete (BRENER, 1973; ROSSI *et al.*, 2003).

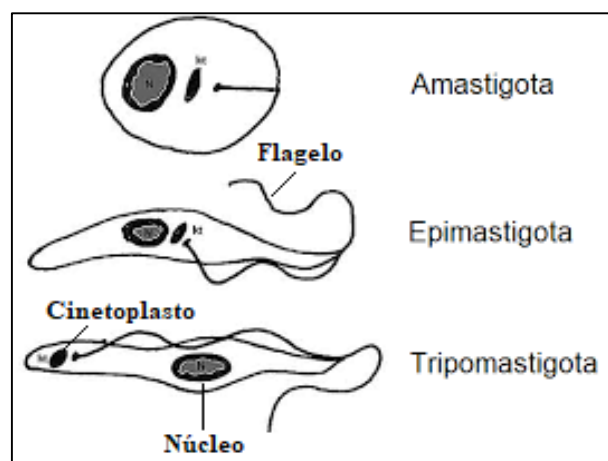


Figura 1 – Formas evolutivas do *T. cruzi*.
Fonte: adaptado de (ROSSI *et al.*, 2003).

A transmissão do *T. cruzi* pode ocorrer de diversas maneiras, sendo a transmissão vetorial a principal forma de infecção aos humanos, sendo responsável por aproximadamente

80% dos casos no século XX registrados no Brasil (DIAS, 1987; DIAS *et al.*, 1999). As outras formas de transmissão são: transfusional, oral, transplantes de órgãos, congênita, aleitamento materno, sexual e acidentes laboratoriais (DIAS, 1989; HERWALDT, 2001; DIAS *et al.*, 2011; NORMAN *et al.*, 2013; ARAÚJO *et al.*, 2017). Recentemente, foram relatados diversos casos e surtos de transmissão oral da doença através da ingestão de alimentos contaminados, tanto em áreas rurais quanto urbanas (NOBREGA *et al.*, 2009; BASTOS *et al.*, 2010; NOYA *et al.*, 2010; SOUZA-LIMA *et al.*, 2013; DOMINGUES *et al.*, 2015; NOYA *et al.*, 2015; DARIO *et al.*, 2016).

Os vetores da doença de Chagas são insetos da ordem Hemiptera, Família Reduviidae, Subfamília Triatominae (figura 2). Estão distribuídos em cinco tribos e 18 gêneros, totalizando 153 espécies reconhecidas (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Destes gêneros, *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* apresentam as espécies, epidemiologicamente, mais importantes (SCHOFIELD, 1994). Os triatomíneos são conhecidos popularmente no Brasil, de acordo com a região do país, como barbeiro, chupança, bicho-de-frade, bicho-de-parede, bicudo, cascudo, chupão, chupa-chups, fincão, percevejo, percevejo-do-sertão, percevejo-gaudério, procotó, rondão, vuvum (LENT, 1999).



Figura 2 – Insetos triatomíneos.

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

Estes insetos ocupam diversos nichos ecológicos, sendo encontrados no intra, peridomicílio e ambiente silvestre (NOIREAU *et al.*, 2009). Possuem hábitos alimentares hematófagos, com cinco estádios ninfais antes de se tornarem adultos (figura 3). Todos os seus estádios evolutivos são capazes de transmitir o *T. cruzi* ao hospedeiro vertebrado (SCHOFIELD *et al.*, 2009).

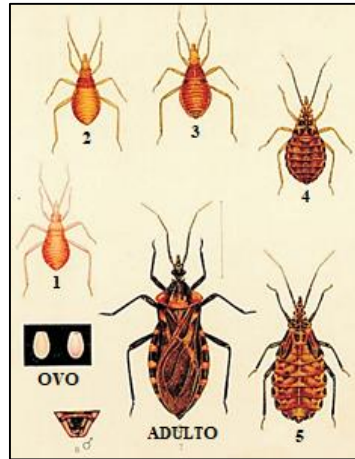


Figura 3 – Ciclo evolutivo de um triatomíneo.
Espécie *Panstrongylus megistus*.

Fonte: adaptado do Guia de Triatomíneos da Bahia (GURGEL-GONCALVES, 2012).

2.2 HISTÓRICO DA DOENÇA DE CHAGAS NA BAHIA

Os primeiros relatos da existência de triatomíneos na Bahia surgiram na década de 1910, quando o médico e pesquisador Manuel Augusto Pirajá da Silva (figura 4) recebeu do estudante de medicina Álvaro Edmundo Gonçalves alguns insetos capturados em uma casa de palha no município de Mata de São João, Região Metropolitana de Salvador, aproximadamente 60 km da capital. Pirajá da Silva foi até essa área e encontrou ninhos dos insetos nas casas e moradores com marcas de picada nas faces (DA SILVA, 1911).



Figura 4 – Médico e pesquisador Manuel Augusto Pirajá da Silva.

Fonte: acessado em <http://www.historia-bahia.com/bibliografia/piraja-silva.htm>

Pirajá da Silva também recebeu e examinou triatomíneos encontrados em Salvador pelo Professor Anísio Circundes de Carvalho, no bairro de Brotas (Solar da Boa Vista – antigo Asilo São João de Deus) e da cidade de Feira de Santana capturados pelo Prof. Antônio Bastos de Freitas Borja. Nesta mesma época, ele teve informações através do Prof. João Garcêz Fróes da existência de triatomíneos na Estação de Parafuso (município de Camaçari), que ligava a

estação da Calçada em Salvador à de São Francisco no município de Alagoinhas, e nos municípios de Candeias e São Francisco do Conde (DA SILVA, 1911; BRUMPT *et al.*, 1912; FALCÃO, 2008). Em 1912, Álvaro Edmundo Gonçalves continuou com as pesquisas e registrou, pela primeira vez, a presença de *Panstrongylus megistus* infectados pelo *T. cruzi* no centro da cidade de Salvador (Beco dos Calafates, Fazenda Grande do Retiro) e nas localidades de Mata de São João, Candeias (Pitanga), Pojuca e Santo Amaro (Petinga) (GONÇALVES, 1912).

Passados quase 40 anos, a DC, melhor conhecida por pesquisadores da região, se revelou como um sério problema de saúde pública. Em 1942, os pesquisadores Rui Pondé, Otávio Mangabeira Filho e Geth Jansen encontraram dois casos com xenodiagnóstico positivo, um cão portador do *T. cruzi* e triatomíneos infectados no município de Jacobina (PONDÉ *et al.*, 1942). Em 1944, o médico Adriano de Azevedo Pondé (figura 5) demonstrou o encontro de triatomíneos da espécie *P. megistus* nas cidades de Salvador, Cachoeira, Conceição de Feira, Camaçari, Senhor do Bonfim, Coração de Maria, Alagoinhas, Mata de São João e Santo Amaro. Em Salvador, os triatomíneos foram encontrados nos distritos de Brotas (Acupe, Baixa do Silva, Avenida Candeias, Engenho Velho, Quintas das Beatas, Brongo, Boca da Mata, Rua Machado de Assis, Brongo da Boa Vista, Matatú Pequeno, Cruz da Redenção, Alto do Saldanha e Cabula), Mares, Nazaré (Tororó, Fonte Nova do Desterro e Largo de Nazaré), Sé (Edifício da Cia. Linha Circular), Vitória (Alto das Pombas, Caetano Moura, Baixa dos Gantois, Areia Preta e Hospital Português), Santo Antônio (Boca do Rio, Curuzú e Progresso da Liberdade) Itapoã, Praia da Cruz e Ilha de Maré. Neste mesmo trabalho, Pondé identificou a ocorrência de casos humanos nos municípios de Salvador, Cruz das Almas, Maragogipe, Coração de Maria, Jaguaripe, Afonso Pena, Senhor do Bonfim, Santo Amaro, Mata de São João, Jaguaquara, Castro Alves, Cachoeira e Mundo Novo (PONDÉ, 1946).



Figura 5 – Médico Adriano de Azevedo Pondé.

Fonte: acessado em <http://sociedades.cardiol.br/sbc-ba/adriano.asp>

Nos anos de 1949 e 1950, Otávio Mangabeira Filho realizou um inquérito sobre a distribuição de triatomíneos na área urbana de Salvador, demonstrando os principais bairros e logradouros infestados por triatomíneos, com alta taxa de infecção por *T. cruzi*: Brotas (Acupe, Alto Formoso, Alto do Saldanha, Alto de Santa Rita, Baixa de São Cosme, Beijú de Brotas, Boa Vista, Campinas, Engenho Velho, Machado de Assis, Matatú Grande, Matatú Pequeno, Pitangueiras, Quintas das Beatas, Socêgo, Torre e Usina do Dique), Mares (Alto do Cacau, Cabrito, Lobato, Tanque e Santa Luzia), Nazaré (Saúde e São Miguel), Rua do Passo (Taboão e Baixa dos Sapateiros), Penha (Boa Viagem, Caminho de Areia e Massaranduba), Santana (Baixa do Dique, Campo da Pólvora e Tororó), Santo Antônio (Baixa das Quintas, Barbalho, Cabula, Caixa d'Água, Cidade Nova, Cruz do Cosme, Estrada da Liberdade, Goméa, Pau Miudo, Ramos de Queiroz, Soledade e Tanque da Conceição), São Pedro (Mercês), Sé (Ajuda, Pelourinho e Terreiro) e Vitória (Avenida Oceânica, Alto do Gato, Baixa do Canela, Calabar, Camarão, Campo Santo, Chame-Chame, Federação, Garcia, Mirante, Rio Vermelho, Roça da Sabina e São Lázaro) (MANGABEIRA FILHO, 1952).

Em 1951 e 1952, o médico Gildo Aguirre, estando à frente do Serviço Nacional de Malária, fez extensa investigação sobre a incidência de triatomíneos nos domicílios e sua infecção pelo *T. cruzi* em vários bairros da capital e diversos municípios do interior, visando medidas de profilaxia da doença de Chagas. Devido à aplicação de inseticidas, como o hexaclorobenzeno (BHC), o controle dos triatomíneos foi alcançado, observando-se redução acentuada em suas populações (ANÔNIMO, 1952; AGUIRRE, 1954).

Em 1954, para avaliar a eficácia das intervenções realizadas em Salvador, o médico Alexandre Leal Costa (figura 6A), fez uma busca desses insetos nas áreas prioritárias da cidade, tais como: Calabar, Mirante e Campo Santo; tendo observado a diminuição acentuada de triatomíneos. Ele também relatou o encontro de triatomíneos no bairro da Sé, onde foram capturados 113 insetos, todos da espécie *Triatoma rubrofasciata* (COSTA, 1955). Em 1964, o também médico Guilherme Rodrigues da Silva (figura 6B) relatou infestações por *Panstrongylus megistus* infectados por *T. cruzi*, que provavelmente transmitiu a doença para várias famílias que viviam nas áreas de Acupe de Brotas e Federação (SILVA, 1966).

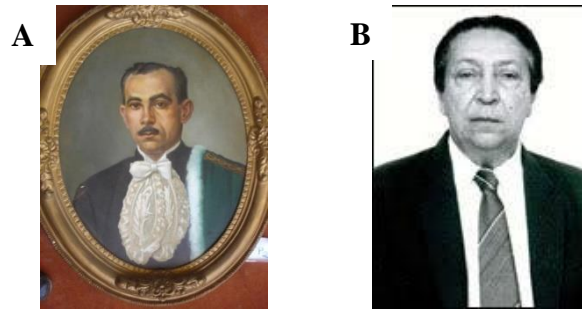


Figura 6 – Médico Alexandre Leal Costa e médico Guilherme Rodrigues da Silva
 (A) Alexandre Leal Costa. Fonte: acessado em <https://cparq.ufba.br/dralexandre-leal-da-costae>. (B) Guilherme Rodrigues da Silva. Fonte: acessado em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652006000200013.

No início da década de 1970, em um dos últimos trabalhos realizados na cidade de Salvador, foram encontrados no Centro Histórico (Pelourinho) pelo pesquisador Ítalo Sherlock (figura 7), 149 exemplares da espécie *P. megistus* e 452 *T. rubrofasciata*. Destes, 16% estavam infectados por *T. cruzi* (SHERLOCK *et al.*, 1974).



Figura 7 – Pesquisador Ítalo Sherlock.
 Fonte: acessado em <http://www.parasitologia.org.br/socioshonarios6.php>.

Da década de 1980 a 2000, vários adultos de *Triatoma tibiamaculata* e *T. rubrofasciata* foram capturados por habitantes dentro de suas casas e apartamentos nos bairros de Pituvaçu/Patamares, Valéria, Barroquinha, Mussurunga, Castelo Branco, Sé, Fazenda Grande III e Brotas, em Salvador (DIAS-LIMA *et al.*, 2000; RIBEIRO JR *et al.*, 2015). Esses estudos demonstraram a ocorrência frequente de *T. tibiamaculata* infectados nas residências próximas às áreas desmatadas. As altas taxas de infecção e associação observada entre *T. tibiamaculata* e marsupiais indicam uma intensa transmissão enzoótica de *T. cruzi* em remanescentes da Mata Atlântica perto das residências (SHERLOCK *et al.*, 1974; BARRETT *et al.*, 1979). Nas últimas décadas, tem-se observado o aparecimento de triatomíneos em andares elevados situados em edifícios da área urbana da cidade (dados não publicados).

2.3 URBANIZAÇÃO DA DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas está associada, de forma geral, à pobreza, às condições precárias de moradia nas habitações das populações sob risco e com a transmissão ao homem ocorrendo em ambientes rurais e peri-urbanos (DIAS *et al.*, 2016). Porém, devido aos fenômenos migratórios, o perfil epidemiológico da doença de Chagas está mudando (MOSCATELLI *et al.*, 2013). Estudos recentes evidenciam que os triatomíneos em grandes centros urbanos podem oferecer risco de transmissão do *T. cruzi* à população humana em cidades densamente povoadas e ter ciclos de transmissão doméstico (DYE-BRAUMULLER *et al.*, 2019).

O crescimento significativo da população nas áreas urbanas, levou a mudanças no uso da terra (OGUZ, 2005). Como consequência, o desmatamento e o aumento da urbanização causou mudanças na relação vetor-hospedeiro, como já foi descrito para vários vetores (ALLAN *et al.*, 2003; SARKAR *et al.*, 2010). Os triatomíneos, comumente encontrados em ambientes silvestres, tem sido encontrados em residências de áreas urbanas (OBARA *et al.*, 2002; ALARCÓN DE NOYA *et al.*, 2010; NOYA-ALARCÓN *et al.*, 2011; DIAS *et al.*, 2016).

Estudos no Texas, EUA, mostraram que uma em cada três pessoas sem teto relata ter visto o triatomíneo na cidade (INGBER *et al.*, 2018) e que os triatomíneos podem estabelecer um nicho ecológico em áreas metropolitanas densamente povoadas (DIAS-LIMA *et al.*, 2000; RIBEIRO JR *et al.*, 2015; DYE-BRAUMULLER *et al.*, 2019). No Brasil, na região amazônica, a domiciliação não é comum, mas o número de registros de intrusão de triatomíneos está aumentando entre os domicílios nas áreas urbanas e peri-urbanas (FÉ *et al.*, 2009). Em São Paulo, esporadicamente, triatomíneos são encontrados nos arredores da cidade, alguns em situações incomuns, como estações de metrô (MYERS *et al.*, 2000; RIBEIRO *et al.*, 2016), indicando a importância da vigilância entomológica desses vetores mesmo em grandes centros urbanos (CERETTI-JUNIOR *et al.*, 2018).

Embora a possibilidade de transmissão vetorial da doença de Chagas nestas áreas urbanas seja muito pequena, ela não pode ser ignorada. Se infectados, os triatomíneos que invadem as residências, para os quais são atraídos por vários fatores, inclusive a luz, podem transmitir o *T. cruzi* para os humanos e animais domésticos. Também é importante considerar o risco de transmissão oral, sendo esta a forma de transmissão do *T. cruzi* mais frequentemente observada na região amazônica do Brasil (AGUILAR *et al.*, 2007). Acidentes como resultado do manuseio do inseto por seres humanos ou ingestão por animais domésticos também podem ocorrer em grandes centros urbanos, onde as pessoas geralmente não estão familiarizadas com a aparência desses vetores (DARIO *et al.*, 2016; CERETTI-JUNIOR *et al.*, 2018).

2.4 VARIABILIDADE GENÉTICA DO *T. CRUZI*

Diversos trabalhos demonstraram que o *T. cruzi* apresenta uma grande variabilidade genética, com várias subpopulações circulantes, tanto no ambiente doméstico como no silvestre. (SOUTO *et al.*, 1996; ZINGALES *et al.*, 1997; MACEDO *et al.*, 1998; MACEDO *et al.*, 2001; YEO *et al.*, 2005; MILES *et al.*, 2009; ZINGALES, 2018).

Em 1996, Souto e colaboradores, estudando o gene que codifica o RNA ribossomal (24S α rDNA) e o gene de miniexon de várias cepas de diferentes regiões, sugeriram a divisão do *T. cruzi* em duas linhagens principais, *T. cruzi* I (TCI) e *T. cruzi* II (TCII), e indicaram a existência de linhagens híbridas (TC1/2) (SOUTO *et al.*, 1996). A divisão das cepas de *T. cruzi* em duas linhagens foi evidenciada através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), demonstrando ampliações de dois produtos distintos: um fragmento de 125 pares de bases (pb) e outro de 110 pb para o gene 24S α rDNA e um fragmento de 300 pb e outro de 350 pb para o gene de miniexon. Os autores observaram uma associação entre as cepas que produziam ampliações de 125 pb e 300 pb, sendo definido como TCI. Da mesma forma, foi observada uma correlação entre as cepas que geravam fragmentos de 110 pb e 350 pb, definido como TCII. A presença de ambos os produtos de amplificação do 24S α rDNA com o produto de amplificação do miniexon do TCI, definiu-se o TC1/2, correspondente à perfis híbridos (ZINGALES *et al.*, 1997).

Posteriormente, baseado em análises de outros marcadores genéticos, foi proposta a subdivisão do grupo TCII em cinco subgrupos, denominados TCIIa-TCIIe (BRISSE *et al.*, 2000; BRISSE *et al.*, 2001).

Atualmente, cada subgrupo passou a ser classificado como um grupo independente, referido como *Discrete Typing Units* I-VI (DTUs I-VI) (TIBAYRENC, 2003; ZINGALES *et al.*, 2009). DTU é um conjunto de isolados geneticamente semelhantes e que é identificado por marcadores moleculares ou imunológicos comuns (TIBAYRENC, 1998). Os grupos TCI e TCIIb correspondem, respectivamente, as DTUs TCI e TCII. Os subgrupos TCIIa, TCIIc, TCIIId e TCIIe correspondem às DTUs TCIV, TCIII, TCV e TCVI, respectivamente (ZINGALES *et al.*, 2009). Uma nova linhagem de *T. cruzi* associada a morcegos foi descrita mais recentemente. Este novo genótipo foi denominado TCbat ou DTU TCVII, e foi encontrado em morcegos de ambientes antrópicos das regiões Centro e Sudeste do Brasil (MARCILI *et al.*, 2009). Foi descrito pela primeira vez em humanos, na Colômbia, em uma menina de cinco anos e a via de transmissão mais provável foi a vetorial (RAMÍREZ *et al.*, 2014).

2.5 EPIDEMIOLOGIA

A doença de Chagas é um problema médico–social grave mundial, especialmente, na América Latina, com sérias consequências para a saúde pública e economias nacionais. É uma doença endêmica em 21 países latino-americanos (Argentina, Belize, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, Guiana, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname, Uruguai e Venezuela), sendo a transmissão vetorial a principal forma de infecção (PAHO, 2016; WHO, 2019). Nas últimas décadas, devido a globalização e migração de populações da América Latina para o resto do mundo, a DC foi registrada em países não endêmicos, como os Estados Unidos, Canadá, diversos países da Europa, Ásia e Oceania. A principal forma de transmissão nestes países ocorre por transfusão de sangue, transplante de órgãos e por via vertical (HOTEZ *et al.*, 2012; WHO, 2019).

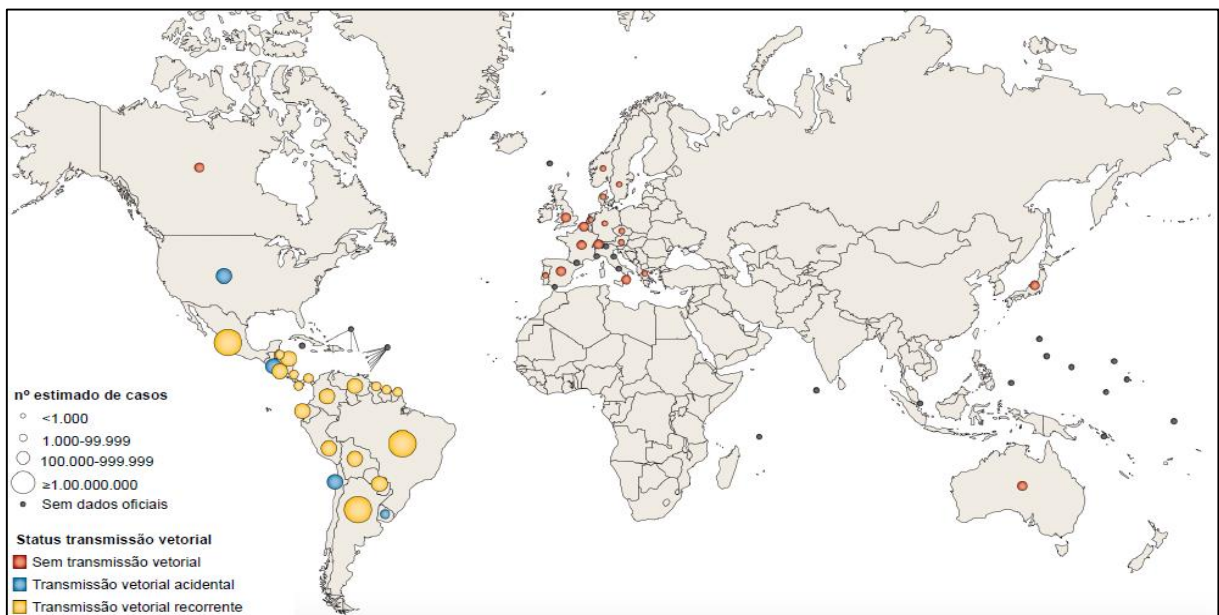


Figura 8 – Distribuição dos casos de infecção pelo *T. cruzi*, com base em estimativas oficiais e status de transmissão vetorial.

Fonte: adaptado de (WHO, 2010).

Na figura 8, observa-se o número absoluto estimado de casos da DC por transmissão vetorial recorrente na América Latina, por transmissão vetorial acidental em outros países da América e sem transmissão vetorial em países da Europa, Ásia e Oceania.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), cerca de seis a sete milhões de pessoas encontram-se infectadas pelo *T. cruzi* em todo o mundo (WHO, 2019) e 70 milhões de pessoas estão sob risco de transmissão (PAHO, 2016). Calcula-se que o número de pessoas infectadas em países não endêmicos distribuídos entre quatro continentes (América do Norte,

Europa, Ásia e Oceania) seja superior a 390 mil pessoas (COURA *et al.*, 2010; RASSI *et al.*, 2010).

Na América Latina, estima-se uma incidência anual de 28 mil a 30 mil casos agudos da doença e cerca de 12 mil óbitos a cada ano (WHO, 2015; PAHO, 2019). No Brasil, estima-se existir 1,9 a 4,6 milhões de pessoas com DC (BRASIL, 2019). Na Bahia, são registrados, em média, 624 óbitos anuais (SESAB *et al.*, 2019).

2.6 ASPECTOS CLÍNICOS

A doença de Chagas apresenta duas fases clínicas: aguda e crônica. A fase aguda ocorre logo após a infecção. É assintomática na maioria dos casos (98%), porém, quando sintomática pode ser caracterizada pela presença de febre, adenopatia, edema, hepatoesplenomegalia, podendo apresentar chagoma de inoculação e/ou edema inflamatório oftalmo-glanglionar (sinal de Romaña) (figura 5) (DIAS, 1997). Esta fase dura em média de um a quatro meses e é caracterizada por elevada parasitemia (RASSI JR *et al.*, 2000).

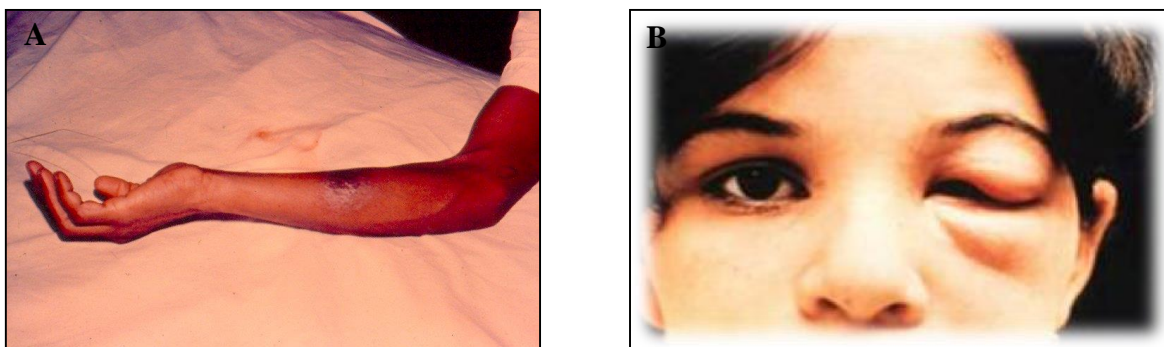


Figura 9 – Sinais clínicos da DC na fase aguda.
(A) Chagoma de inoculação e (B) Sinal de Romaña. Fonte: acessado em <http://chaguismo.blogspot.com/2013/08/sinais-e-sintomas.html>

Após a fase aguda, a maioria dos indivíduos evolui naturalmente para a fase crônica, que pode durar por toda a sua vida (RASSI JR *et al.*, 2000; PRATA, 2001; RASSI JR *et al.*, 2009; RASSI *et al.*, 2010). Esta fase é marcada por parasitemia subpatente, sendo impossível isolar o parasita na grande maioria dos casos (PRATA, 1994). Mais da metade dos infectados (60-75%) apresenta a forma indeterminada da doença, caracterizada pela ausência de sinais e sintomas clínicos e; alterações radiográficas e eletrocardiográficas (DIAS, 1989; RIBEIRO *et al.*, 1998). Entretanto, 30-35% dos infectados evoluem para a fase crônica sintomática, desenvolvendo as formas cardíaca e/ou digestiva (RASSI, 1982; DO CRUZ, 1987).

Na fase crônica, a forma cardíaca pode ser do tipo arritmica ou congestiva. Na arritmica ocorre mal-estar passageiro com término espontâneo durante repouso ou esforço físico,

taquicardia ventricular, bradiarritmias por bloqueio atrioventricular. A congestiva, por sua vez, caracteriza-se pela presença acentuada cardiomegalia (figura 10A), flacidez, dilatação das câmaras, presença de trombose intracavitária, podendo apresentar ainda aneurisma e fibrose na ponta do ventrículo esquerdo (TANOWITZ *et al.*, 1992; MARIN-NETO *et al.*, 1999; BRENER *et al.*, 2000; RASSI JR *et al.*, 2009). Na forma digestiva, os órgãos digestórios apresentam um aumento, principalmente o esôfago e cólon, devido ao desenvolvimento de megaesôfago e megacólon (figura 10B), respectivamente (BRENER *et al.*, 2000; COURA, 2007).

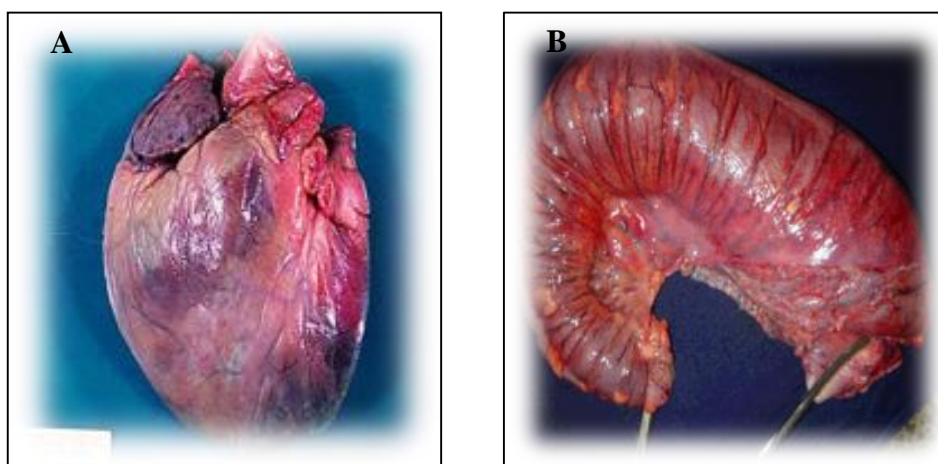


Figura 10 – Sinais clínicos da DC crônica.

(A) Cardiomegalia e (B) Megacólon. Fonte: acessado em <https://www.microbiologybook.org/Portuguese/para-port-chapter3.htm>

2.7 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

De acordo com o II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, o diagnóstico laboratorial da DC depende da fase clínica. Na aguda, o diagnóstico pode ser realizado por exame direto através de esfregaço sanguíneo; por exame indireto através do xenodiagnóstico e hemocultura; ou ensaios de PCR. Na fase crônica, assim como na aguda, podem ser utilizados o xenodiagnóstico, hemocultura e PCR, mas o diagnóstico comumente utilizado é o sorológico, baseado na detecção de anticorpos imunoglobulina G (IgG) no soro dos portadores da DC (DIAS *et al.*, 2016). De acordo com as recomendações da OMS, dois testes sorológicos de metodologias distintas devem ser utilizados para realizar o diagnóstico da DC. Entre eles, os testes mais utilizados são: a hemaglutinação indireta (HAI), imunofluorescência indireta (IFA), imunoenensaio enzimático (ELISA) e quimioluminescência (CMIA). A confirmação do caso ocorre quando pelo menos dois testes (distintos) são reagentes (PRATA, 1994; MÜLLER *et al.*, 2014).

O diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na fase aguda consiste na observação do parasito, já que nessa fase o número de parasitos na corrente sanguínea é elevado. O esfregaço sanguíneo e a gota espessa são realizados com uma gota de sangue entre lâmina e lamínula (figura 11A) e observado diretamente com o auxílio de um microscópio (DIAS *et al.*, 2016). O xenodiagnóstico consiste em verificar se barbeiros não infectados, após sugarem sangue de um portador suspeito, irão infectar-se (figura 11B) (DIAS, 1940). A hemocultura consiste na transferência de uma amostra de sangue para um meio de cultura favorável à multiplicação do *T. cruzi* (figura 11C). Uma pequena quantidade do parasito é capaz de produzir uma população grande o suficiente para ser detectado através de observação direta no microscópio (BEZERRA *et al.*, 2010).

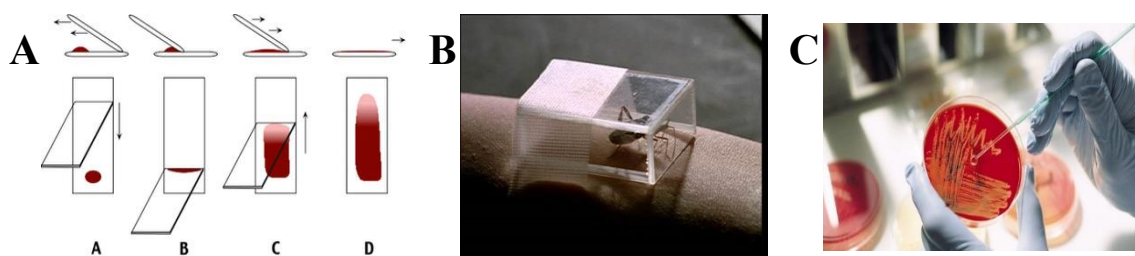


Figura 11 – Métodos diagnóstico para DC na fase aguda.

(A) Esfregaço sanguíneo. Fonte: acessado em <http://soranadia.blogspot.com.br/2015/10/esfregaco-sanguineo.html>. (B) Xenodiagnóstico. Fonte: acessado em <http://www.expedientesx.es/2008/11/expediente-xs02e022f-emasculata/>. (C) Hemocultura. Fonte: acessado em <https://www.portalped.com.br/especialidades-da-pediatria/neonatalogia/sepse-neonatal-o-estado-da-arte/attachment/hemocultura-analise-diagnostica/>

Na fase crônica, o xenodiagnóstico e hemocultura apresentam baixa sensibilidade devido ao número reduzido de parasitas circulantes. Nessa fase, em virtude da elevada titulação de anticorpos anti-*T. cruzi*, o diagnóstico é essencialmente sorológico, utilizando um teste com elevada sensibilidade e outro de alta especificidade (DIAS *et al.*, 2016). O ELISA (figura 12A) mostra-se um ensaio adequado para o diagnóstico indireto do *T. cruzi*, por ter alta sensibilidade e especificidade. Já o teste de HAI (figura 12B) não é tão sensível, pois apresenta, com frequência, resultados falso-negativos. As metodologias IFA (figura 12C) e CMIA são muito utilizadas atualmente, sendo consideradas testes de referência. Os testes de detecção de anticorpos são suscetíveis a problemas de especificidade por causa de reações cruzadas em caso de infecção por outros parasitos da família Trypanosomatidae (ex: *Leishmania spp.*) (CARVALHO *et al.*, 1993; BRITTO *et al.*, 1995). Além disso, são de uso limitado para avaliar a eficácia do tratamento e nas infecções congênitas (MÜLLER *et al.*, 2014).

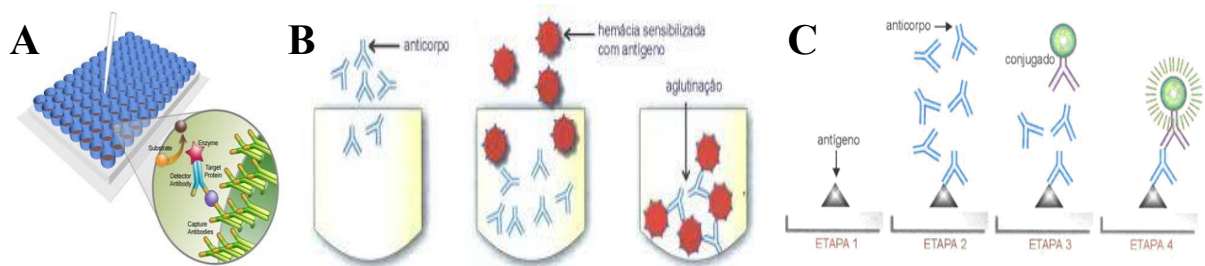


Figura 12 - Métodos diagnóstico para DC na fase crônica.

(A) ELISA. Fonte: acessado em <http://www.gmotesting.com/Testing-Options/Immuno-analysis/ELISA>. (B) HAI. Fonte: acessado em http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cd07_08.pdf. (C) IFA. Fonte: acessado em http://www.liacentralsorologica.com.br/noticias_chagas.html.

Atualmente, a PCR é uma alternativa promissora para o diagnóstico da DC. Este ensaio baseia-se na amplificação de seqüências alvo do DNA (figura 13) do *T. cruzi* em amostras de sangue e/ou tecidos dos portadores, reservatórios e triatomíneos (MÜLLER *et al.*, 2014). O diagnóstico molecular é importante para a identificação precoce de transmissão congênita em recém-nascidos, quando a presença de anticorpos anti-*T. cruzi* podem produzir resultados falso-negativos e a observação microscópica é pouco sensível; diagnóstico de infecções orais; detecção precoce de infecção em receptores de órgãos de doadores portadores da DC; monitoramento da reativação em doentes cronicamente infectados e imunossuprimidos; avaliação da resposta ao tratamento (SCHIJMAN, 2018).

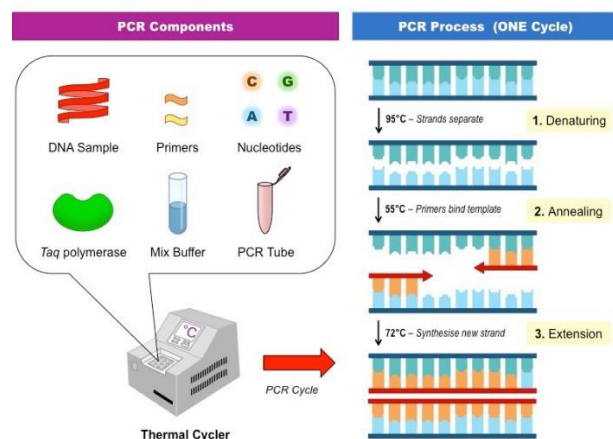


Figura 13 – PCR.

Fonte: acessado em <http://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-3-genetics/35-genetic-modification-and/pcr.html>.

A necessidade de desenvolver testes rápidos para diagnóstico existe. Recentemente, vários testes para detectar a infecção por *T. cruzi* estão sendo comercializados e utilizados para diagnosticar a DC, diminuindo o tempo entre diagnóstico e início do tratamento,

principalmente, em ambientes com recursos limitados, sem a necessidade de um laboratório e de técnicos especializados (SÁNCHEZ-CAMARGO *et al.*, 2014).

Para o tratamento da infecção causada pelo *T. cruzi*, o medicamento utilizado no Brasil é o benzonidazol. Após indicação médica, o medicamento é fornecido gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde (SUS) mediante solicitação das Secretarias Estaduais de Saúde. Deve ser utilizado em pessoas que tenham a doença aguda assim que ela for identificada. Nos casos de doença crônica, a indicação restringe-se aos portadores que não apresentam sintomas e com exames sem alterações (forma indeterminada) ou em formas clínicas iniciais, devendo ser avaliados caso a caso. Em ambos os casos, não há garantia de eficácia total do tratamento. Em casos de intolerância ou que não respondam ao tratamento com benzonidazol, especialmente casos agudos e de reativação da doença de Chagas em imunossuprimidos, o Ministério da Saúde disponibiliza o nifurtimox como alternativa de tratamento (BRASIL, 2019).

2.8 FATORES AMBIENTAIS E SOCIOECONÔMICOS ASSOCIADOS A DOENÇA DE CHAGAS

Na DC, assim como em outras doenças transmitidas por vetores, os determinantes sociais e os fatores ambientais exercem total influência sobre o número de casos da doença. Segundo a OMS, determinantes sociais estão associados com as condições dos locais onde as pessoas vivem e trabalham, tais como moradia, alimentação, escolaridade, renda e emprego, podendo influenciar na ocorrência de problemas de saúde e fatores de risco à população (BUSS *et al.*, 2007). O Brasil é um país diverso em seu contexto socioeconômico, demonstrando um cenário desigual, com várias regiões com baixos níveis socioeconômicos e baixo índice de desenvolvimento humano (IDH). Historicamente, estas áreas apresentam altas taxas de infestação de triatomíneos e populações vivendo em condições de vulnerabilidade (DIOTAIUTI *et al.*, 1995).

As alterações climáticas, tais como distribuição das chuvas, temperatura e umidade, influenciam na expansão das áreas de transmissão de doenças relacionadas a vetores (OPAS *et al.*, 2008), mas, raramente, é o principal determinante para o aumento da prevalência e alcance geográfico destas doenças. No entanto, os impactos nos ecossistemas provocados por atividades humanas mostraram ser mais impactantes (ROGERS *et al.*, 2000; REITER, 2001). As mudanças ambientais, tais como o desmatamento pra construção de condomínios e expansão de fronteiras agrícolas, contribuem para substituição das áreas de mata atlântica por áreas

degradadas, favorecendo a migração e adaptação de vetores e consequente emergência de doenças e/ou sua expansão para novos ecótopos (VASCONCELOS *et al.*, 2006).

O desmatamento aliado ao movimento migratório de populações da zona rural para zona urbana consiste no principal motivo para o aumento dos casos de DC. Existem relatos na literatura demonstrando o risco da transmissão da DC nas áreas desmatadas recentemente (RIBEIRO JR *et al.*, 2015; RODRIGUEZ *et al.*, 2017). Com o desmatamento, mamíferos silvestres (hospedeiros vertebrados), que eram a fonte de alimento para triatomíneos, foram removidos do seu habitat e novas fontes de alimento começaram a aparecer em áreas peridomésticas. Assim, os triatomíneos silvestres tendem a colonizar progressivamente os domicílios e formar o ciclo doméstico da DC (COURA *et al.*, 2014). Análises das camadas de cobertura do solo, obtidas através de imagens de satélite, podem ser usadas para monitorar mudanças de habitat de espécies, permitindo avaliar as condições favoráveis para a dispersão dos vetores, seu desenvolvimento e sobrevivência (OMUMBO *et al.*, 2002).

3. JUSTIFICATIVA

Os dados históricos e os encontros recentes de triatomíneos por moradores da Região Metropolitana Salvador (RMS), demonstram a necessidade de estudos para identificação de indicadores entomológicos, epidemiológicos, ambientais e socioeconômicos associados a ocorrência destes vetores e sua distribuição geográfica para determinar os municípios mais vulneráveis a transmissão do *T. cruzi*.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Identificar as áreas vulneráveis para transmissão da doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador (RMS) com base na análise dos indicadores entomológicos e epidemiológicos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar as espécies de triatomíneos, verificar a taxa de infecção pelo *T. cruzi* e determinar as áreas de ocorrência dos vetores;
- Avaliar os indicadores associados à ocorrência de triatomíneos;
- Classificar os municípios da RMS com base nos registros epidemiológicos referentes à: (1) dispensação de Benzonidazol, (2) Autorização de Internação Hospitalar (AIH), (3) atestado de óbito, (4) dados autorreferidos do Sistema de Informação da Atenção Básica (SIAB), (5) dados da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado da Bahia (HEMOBA).

5. METODOLOGIA

5.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo descritivo do tipo corte transversal, retrospectivo, desenvolvido a partir de uma análise histórica de informações entomológicas e epidemiológicas, no período de 2007 a 2019.

5.2 ÁREA DE ESTUDO

Este estudo foi desenvolvido em áreas urbanas da Região Metropolitana de Salvador (RMS) que compreendem os municípios de Camaçari, Candeias, Dias d'Ávila, Itaparica, Lauro de Freitas, Madre de Deus, Mata de São João, Pojuca, Salvador, São Francisco do Conde, São Sebastião do Passé, Simões Filho e Vera Cruz (figura 14). É a segunda maior aglomeração urbana do Nordeste e a sétima do Brasil, com uma área de 4.375,123 km² e 4.015.205 habitantes. O Produto Interno Bruto (PIB) é de R\$ 107.670.081, além de uma renda per capita de R\$ 27.235,56 (IBGE, 2018).

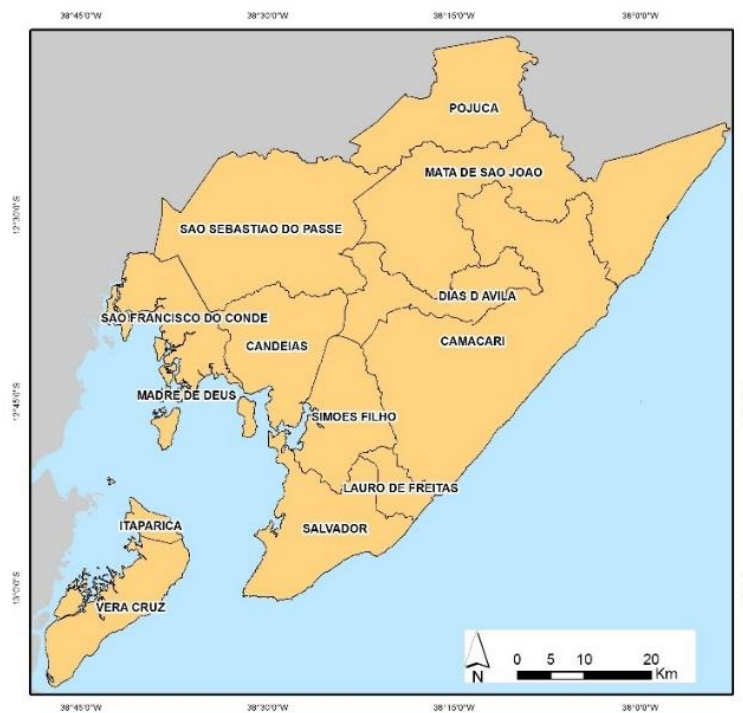


Figura 14 - Mapa da Região Metropolitana de Salvador.

- Camaçari: possui a quarta maior população do Estado com estimativa de 293.723 habitantes e densidade demográfica de 309,65 hab/Km² de acordo com o último censo. Possui 784,558 Km² de área da unidade territorial e terceiro maior PIB per capita do Estado (R\$71.012,33) (IBGE, 2018).
- Candeias: possui uma estimativa de 86.677 habitantes e densidade demográfica de 321,87 hab/Km². A área da unidade territorial é de 251,628 Km² e PIB per capita é de R\$38.121,89 (IBGE, 2018).
- Dias d'Ávila: possui uma estimativa de 79.685 habitantes e densidade demográfica de 360,64 hab/Km². A área da unidade territorial é de 184,230 Km² e PIB per capita é de R\$42.670,66 (IBGE, 2018).
- Itaparica: possui uma estimativa 22.114 habitantes e densidade demográfica de 175,58 hab/Km². A área da unidade territorial é de 118,040 Km² e PIB per capita é de R\$8.854,52 (IBGE, 2018).
- Lauro de Freitas: possui uma estimativa 195.095 habitantes e densidade demográfica de 2.833,38 hab/Km². A área da unidade territorial é de 57,664 Km² e PIB per capita é de R\$29.516,68 (IBGE, 2018).
- Madre de Deus: possui uma estimativa 20.737 habitantes e densidade demográfica de 539,61 hab/Km². A área da unidade territorial é de 32,201 Km² e PIB per capita é de R\$24.350,15 (IBGE, 2018).
- Mata de São João: possui uma estimativa 46.014 habitantes e densidade demográfica de 63,46hab/Km². A área da unidade territorial é de 604,292 Km² e PIB per capita é de R\$22.153,50 (IBGE, 2018).
- Pojuca: possui uma estimativa 39.045 habitantes e densidade demográfica de 113,97 hab/Km². A área da unidade territorial é de 308,702 Km² e PIB per capita é de R\$25.494,19 (IBGE, 2018).
- Salvador: é a capital do Estado, possui a maior população com estimativa de 2.857.329 habitantes e densidade demográfica de 3.859,44 hab/Km². A área da unidade territorial é de 692,818 Km² e PIB per capita é de R\$19.812,07 (IBGE, 2018).

- São Francisco do Conde: possui uma estimativa 39.338 habitantes e densidade demográfica de 126,24 hab/Km². A área da unidade territorial é de 269,609 Km² e o PIB per capita é o maior do Estado (R\$219.845,83) (IBGE, 2018).
- São Sebastião do Passé: possui uma estimativa 44.164 habitantes e densidade demográfica de 78,30 hab/Km². A área da unidade territorial é de 536,584 Km² e PIB per capita é de R\$14.725,24 (IBGE, 2018).
- Simões Filho: possui uma estimativa 132.906 habitantes e densidade demográfica de 586,65 hab/Km². A área da unidade territorial é de 201,577 Km² e PIB per capita é de R\$34.293,63 (IBGE, 2018).
- Vera Cruz: possui uma estimativa 42.706 habitantes e densidade demográfica de 125,33 hab/Km². A área da unidade territorial é de 299,734 Km² e PIB per capita é de R\$11.815,02 (IBGE, 2018).

5.3 INDICADORES DE VULNERABILIDADE DA TRANSMISSÃO DA DOENÇA DE CHAGAS

5.3.1 Entomológicos

Os dados entomológicos foram obtidos dos registros do Centro de Controle de Zoonoses de Salvador (CCZ-SSA), Laboratório Central da Bahia (LACEN-BA) e do Laboratório de Patologia e Biologia Molecular do Instituto Gonçalo Moniz/Fundação Oswaldo Cruz (LPBM/IGM/FIOCRUZ).

Para a análise, foram considerados os seguintes indicadores entomológicos: número de triatomíneos capturados (adultos, ninfas e infectados); número de triatomíneos encontrados no intradomicílio, peridomicílio e extradomicílio e índice de infecção natural (IFN) (número de triatomíneos infectados/número de triatomíneos examinados x 100).

5.3.2 Ambientais

Um dos indicadores ecológicos mais associados à ocorrência domiciliar dos triatomíneos é o desmatamento e a vegetação. Para identificar as áreas desmatadas nos municípios da RMS, utilizamos informações de sensoriamento remoto através de imagens de satélite da plataforma online MapBiomas (<http://mapbiomas.org/>). O processamento das imagens foi feito a partir da

plataforma Google Earth Engine[®] (<https://earthengine.google.com/>), que disponibiliza séries históricas anuais de cobertura e uso da terra, bem como modelos de transição da cobertura vegetal entre diferentes períodos. Obtivemos os mapas de uso e ocupação da terra nos municípios da RMS no período de dez anos, entre 2007 e 2017. As classes selecionadas para este mapeamento foram: florestamento, desmatamento, infraestrutura urbana e população.

5.3.3 Epidemiológicos

Os registros de dispensação de benzonidazol (2008 a 2018), autorização de internação hospitalar (AIH) por DC (2007 a 2017), certificados óbitos por DC (2007 a 2017) e dados do Sistema de Informação de Atenção Básica (SIAB) (1998 a 2015) foram obtidos mediante consulta do banco de dados da Diretoria de Vigilância Epidemiológica/Secretaria de Saúde do Estado da Bahia (DIVEP/SESAB). Os dados referentes aos doadores de sangue não negativos para DC foram obtidos através dos registros da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA).

A análise dos dados e os cálculos das taxas de dispensação de benzonidazol, internações, mortalidade, pessoas que se autorreferem com DC e de doadores de sangue não negativos para infecção pelo *T. cruzi*, foram realizados considerando o número estimado de habitantes em cada município [(soma do n° de casos/ n° de habitantes) x 100000], desta forma, obtivemos a taxa para cada 100 mil habitantes.

5.4 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DOS TRIATOMÍNEOS

Em Salvador, no ano de 2019, possuem 29 Postos de Informação de Triatomíneos (PITs) distribuídos pela cidade, no entanto, 3 encontram-se desativados. A população entrega os exemplares nestes PITs para serem encaminhados ao Centro de Controle de Zoonoses (CCZ). O CCZ examina o material e identifica a espécie flagelada. Os triatomíneos capturados pela população e/ou profissionais das Secretarias Municipais de Saúde (SMS) devem seguir as orientações, conforme o fluxograma abaixo (figura 15):

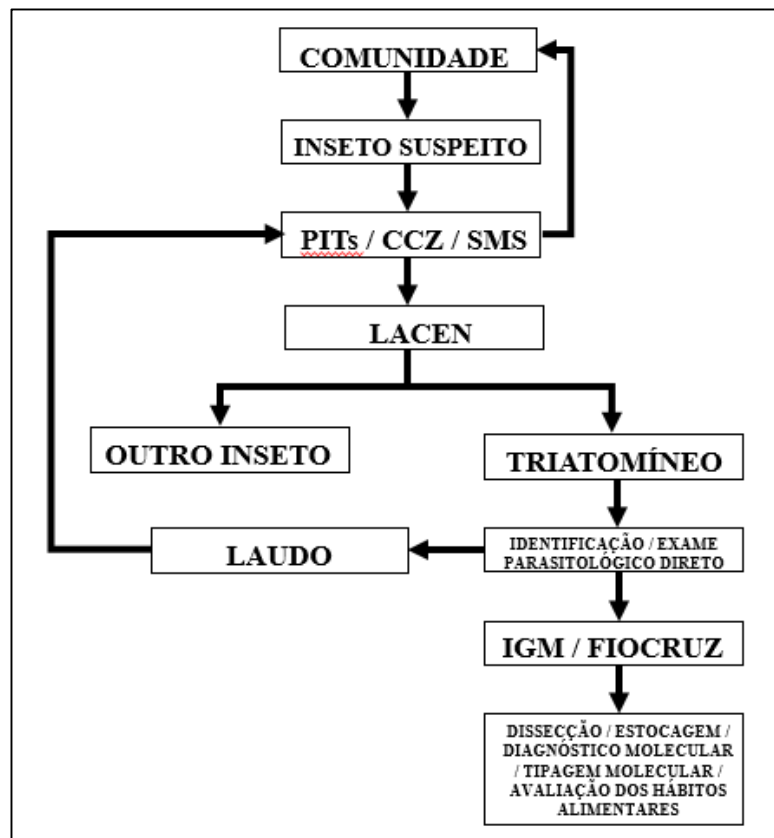


Figura 15 – Fluxograma de obtenção de triatomíneos.

Os triatomíneos recebidos foram categorizados quanto ao local de coleta na Unidade Domiciliar (UD), intradomicílio (dentro do domicílio); peridomicílio (área em um raio de até 50 metros em torno do domicílio) e extradomicílio (ambiente silvestre), identificados por sexo, estágio ninfal e caracterização morfológica utilizando chaves taxonômicas (LENT *et al.*, 1979).

As informações de cada vetor foram registradas em formulário padronizado de levantamento entomológico e foram realizadas dissecação abdominal e isolamento do conteúdo intestinal para análises parasitológicas posteriores.

5.5 EXAMES PARA DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO PELO *T. CRUZI*

5.5.1 Exame parasitológico direto

Foi realizada compressão abdominal dos triatomíneos para análise do conteúdo intestinal e coleta de fezes. O material coletado foi diluído em PBS (*Phosphate Buffer Saline*) e, em seguida, retirados aproximadamente 20 μ L desta solução para realização do exame com auxílio do microscópio óptico (SILVA *et al.*, 1993).

Após o exame, os espécimes positivos para flagelado foram acondicionados, isoladamente, em tubos eppendorf de 2mL contendo álcool 70% para posterior exame parasitológico molecular.

5.5.2 Exame parasitológico molecular

Para realização do exame molecular, foi feita extração de DNA do conteúdo intestinal dos triatomíneos utilizando o kit comercial DNAzol[®] (Invitrogen, CA, EUA) modificado (anexo 1). A concentração do DNA foi determinada por espectrofotômetro Nanodrop-1000[®] (Nanodrop, CA, EUA). A pureza das amostras foi avaliada pela razão entre as densidades das absorbâncias observadas a 260 e 280 nm. Para as análises moleculares, a concentração de DNA foi ajustada para cerca de 100 ng/μL e mantida à -20°C.

Posteriormente, foi realizada uma PCR convencional utilizando os *primers* de detecção com três oligonucleotídeos TCC (5'-CCCCCTCCCAGGCCACACTG-3'), TCI (5'-GTGTCCGCCACCTCCTTCGGGCC - 3'), TCII (5'-CCTGCAGGCACACGTGTGTGTG-3'), capazes de detectar *T. cruzi* utilizando como alvo genes de miniexon (*miniexon gene intergenic spacer*) (SOUTO *et al.*, 1996) (anexo 2). As amplificações foram realizadas no termociclador MasterCycle[®] Gradient (Eppendorf, Hamburgo, Alemanha).

Com o intuito de confirmar as amplificações, foram feitas eletroforeses em gel de agarose a 2%, corados com brometo de etídio, visualizados sob luz UV e fotodocumentados no MultiDoc-It[™] Imaging Systems (UVP, CA, EUA). Foram utilizados com referência de tamanho marcadores de pares de bases com 100bp (Invitrogen, CA, EUA).

5.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA E ESPACIAL DOS DADOS

Após a checagem e revisão das informações, os dados foram compilados e analisados descritivamente através do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versão 10 (Chicago, IL, EUA). Para verificar a associação entre a distribuição do número de triatomíneos capturados e as localidades de estudo, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Em relação a identificação de diferença significativa dos índices entomológicos entre as localidades do estudo, foi utilizado o teste ANOVA. Para comparações entre proporções utilizamos o teste de χ^2 ou o teste exato de Fisher, quando apropriado. Em todos os testes, adotamos um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

5.6.1 Geoprocessamento

Utilizamos o sistema de informação geográfica do software QGIS[®] versão 3.8 e ArcMap[®] versão 10.5 para a visualização, análise e determinação dos padrões das informações analisadas. A forma de exibição dos dados foi por quebras naturais com cinco classes.

A unidade espacial utilizada para o georeferenciamento foi o ponto de coordenada geográfica obtido através de GPS, ou o ponto de coordenada obtida recursivamente a partir do endereço disponível no formulário de dados de triatomíneos, ou ainda a partir do centróide da rua do bairro, caso não houvesse informação específicas do endereço.

Os arquivos.shp com os limites geográficos dos municípios da RMS foram obtidos a partir do IBGE. Os arquivos “raster” resultante foram convertidos para “.shp” com o auxílio da ferramenta “*Conversor*”, no Arcmap[®], e então determinada e calculada a área de influência para cada classe de feição do índice de vegetação de diferença normalizado (NDVI), que é um indicador gráfico simples que pode ser usado para analisar medições de sensoriamento remoto, tipicamente, mas não necessariamente, de uma plataforma espacial, e avaliar se o alvo sendo observado contém ou não vegetação viva.

A ferramenta de *Hot Spot Analysis* (Getis-Ord Gi Statistic) do ArcMap[®] 10.5 demonstra os bairros com hotspots de ocorrência dos vetores com significância estatística, através da estatística espacial.

Para identificar as áreas de vegetação, desmatamento e infraestrutura urbana por bairro do município de Salvador utilizamos as informações de sensoriamento remoto disponibilizado pelo sistema MapBiomias (<http://mapbiomas.org/>) cujo processamento das informações é feito a partir da plataforma Google Earth Engine[®], que disponibiliza séries históricas anuais de cobertura e uso da terra, bem como modelos de transição da cobertura vegetal em diferentes períodos, para todo o território Brasileiro. Os dados obtidos foram classificados através da NDVI e foram selecionadas as seguintes variáveis: (a) vegetação, (b) desmatamento e (c) infraestrutura urbana e de (d) população. Esses dados foram utilizados para classificar os bairros de Salvador, e analisar a relação de influência sobre a ocorrência dos triatomíneos. Para avaliar-se o grau de interação entre as variáveis utilizamos o coeficiente de correlação (R), que gera uma matriz de correlação entre as variáveis independentes e a variável dependente (número de triatomíneos). Para a avaliação dos

modelos ajustados em regressão linear simples e múltipla, nos níveis de defasagem entre as variáveis, utilizou-se o coeficiente de determinação (R^2).

Através do método dos mínimos quadrados ordinários foram ajustados modelos lineares simples, analisando as combinações das variáveis de vegetação, populacionais e a variável dependente. O coeficiente de correlação linear varia de -1 a 1 e quanto maior o coeficiente de correlação, maior é a relação direta e proporcional existente entre o número de triatomíneos, quando o coeficiente se apresenta positivo. Caso o valor seja negativo a relação mostra-se inversamente proporcional, e maior tanto quanto maior for o valor apresentado. Também foram ajustados todos os modelos lineares simples e múltiplos possíveis (equações 1, 2, 3 e 4).

$$(1) \hat{Y} = a + b\hat{X}_1 + c\hat{X}_2 + d\hat{X}_3 + e\hat{X}_4 + \varepsilon$$

$$(2) \hat{Y} = a + b\hat{X}_1 + c\hat{X}_2 + d\hat{X}_3 + \varepsilon$$

$$(3) \hat{Y} = a + b\hat{X}_1 + c\hat{X}_2 + \varepsilon$$

$$(4) \hat{Y} = a + b\hat{X}_1 + \varepsilon$$

Em que: Y é o número de triatomíneos; e X1, X2, X3 e X4 são as variáveis climáticas; “a”, “b”, “c”, “d” e “e” são os parâmetros dos modelos.

Para as variáveis epidemiológicas foi feita uma análise de agrupamento. A ferramenta *Grouping Analysis (Spatial Statistics)* do ArcMap® 10.5 foi utilizada para associar os municípios com maior prevalência, sem considerar o efeito da associação espacial nos modelos matemáticos aplicados.

6. RESULTADOS

6.1 ANÁLISE DOS INDICADORES ENTOMOLÓGICOS E AMBIENTAIS

6.1.1 Identificação das espécies de triatomíneos e áreas de ocorrência

As análises entomológicas foram realizadas apenas para o município de Salvador. A partir da análise dos locais de encontro dos triatomíneos, obteve-se as coordenadas geográficas para o georreferenciamento de 1511 (99,53%) dos 1518 registros (figura 16).

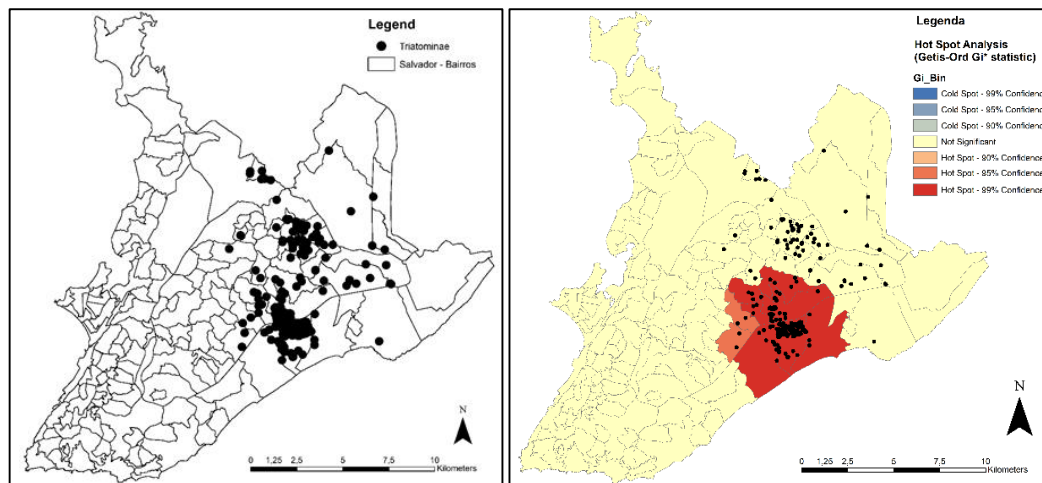


Figura 16 – Notificações de triatomíneos no município de Salvador, no período de 2007 a 2019.

Após o georreferenciamento, observou-se que os insetos foram capturados em bairros da zona urbana da cidade, e 78,97% foi proveniente do bairro de Patamares (tabela 1).

Tabela 1 – Bairros com notificação de triatomíneos na cidade de Salvador entre 2007 e 2019

Bairro	Total de triatomíneos	%
Boca da Mata	11	0,73
Cajazeiras VI	1	0,07
Cajazeiras VIII	1	0,07
Cajazeiras X	16	1,06
Cajazeiras XI	2	0,13
Canabrava	18	1,19
Cassange	93	6,15
Castelo Branco	1	0,07
Centro Administrativo da Bahia	2	0,13
Fazenda Grande I	19	1,26
Fazenda Grande II	21	1,39
Fazenda Grande III	9	0,60
Fazenda Grande IV	3	0,20
Itinga	2	0,13

Jardim das Margaridas	1	0,07
Mussurunga	32	2,12
Palestina	8	0,53
Patamares	1194	78,97
Trobogy	52	3,44
Vale dos Lagos	3	0,20
Piatã	4	0,26
Nova Brasília	4	0,26
São Cristovão	4	0,26
Pituaçu	3	0,20
Jardim Nova Esperança	3	0,20
São Rafael	2	0,13
Itapuã	1	0,07
Nova Esperança	1	0,07
Jaguaribe	1	0,07
Total	1512	100

Conforme dados obtidos do CCZ/SSA, LACEN/BA e LPBM/IGM/FIOCRUZ, foram registradas 1518 notificações de triatomíneos de todos os estágios ninfais, no período de 2007 a 2019. Os dados dos anos de 2014, 2015 e 2019 não foram fornecidos (tabela 2).

Tabela 2 – Ocorrência de triatomíneos na cidade de Salvador entre 2007 e 2019.

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Total
Adulto	102	161	172	121	77	58	51	2	1	84	160	222	1	1212
Ninfa 1° estágio	8	4	1	1	1									15
Ninfa 2° estágio	17	11	7	1	3						4			43
Ninfa 3° estágio	19	35	12	24	8									98
Ninfa 4° estágio	8	21	23	9	4									65
Ninfa 5° estágio	12	43	17	7	1		1				1			82
Não informado							1			1		1		3
Total	166	275	232	163	94	58	53	2	1	85	165	223	1	1518

Dentre os triatomíneos notificados, a maioria, 99,53% (n=1511), foram da espécie *Triatoma tibiamaculata* e os demais, 0,47% (n=7) foram da espécie *Panstrongylus geniculatus*. Considerando apenas a espécie *T. tibiamaculata*, foi observado o padrão de encontro destes triatomíneos, predominantemente, no ambiente peridomiciliar e os encontrados no ambiente intradomiciliar eram todos adultos (figura 17).

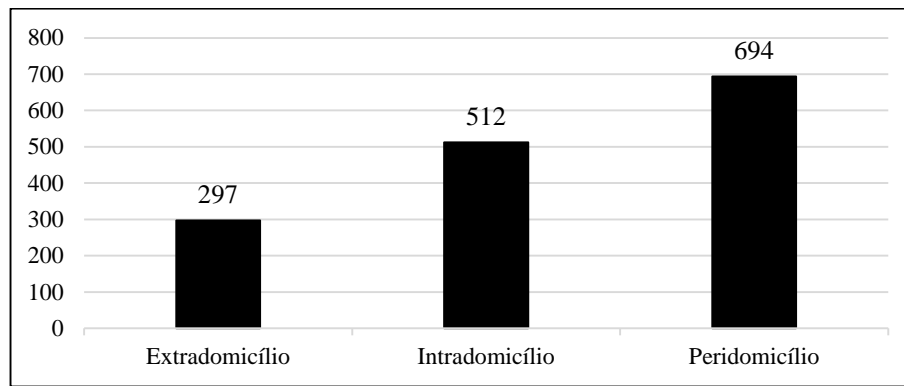


Figura 17 – Notificações de ocorrência de triatomíneos na cidade de Salvador entre 2007 e 2019, por ambiente de coleta.

6.1.2 Taxa de infecção dos triatomíneos pelo *T. cruzi*

Dos 1518 triatomíneos, 737 (48,55%) foram analisados por exame parasitológico direto através de compressão abdominal. O IFN foi 54% (n=398) para flagelados. O exame parasitológico molecular foi realizado em 157 (39,44%) amostras de DNA extraídas dos triatomíneos positivos no exame direto. O DNA do *T. cruzi* foi detectado em 56% (n=88) das amostras (figura 18). Para as demais amostras, não foi possível a realização do exame parasitológico molecular em virtude das condições desfavoráveis de análise dos insetos através da compressão abdominal.

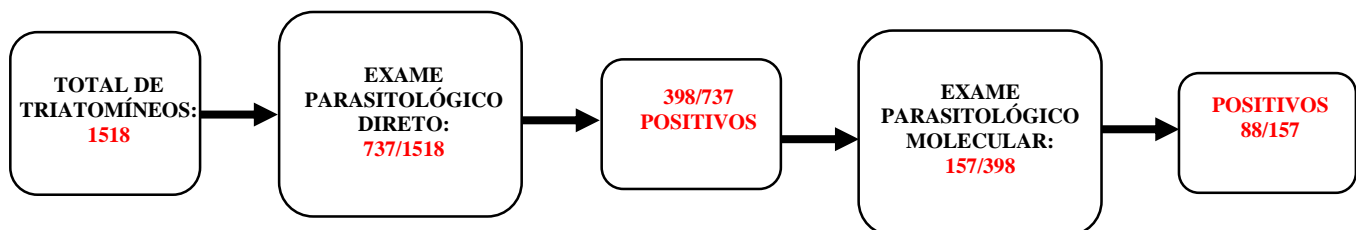


Figura 18 – Resultado da taxa de infecção dos triatomíneos pelo *T. cruzi*.

Após os exames parasitológicos, foi possível determinar que houve notificações de triatomíneos infectados pelo *T. cruzi* no ambiente intradomiciliar (figura 19).

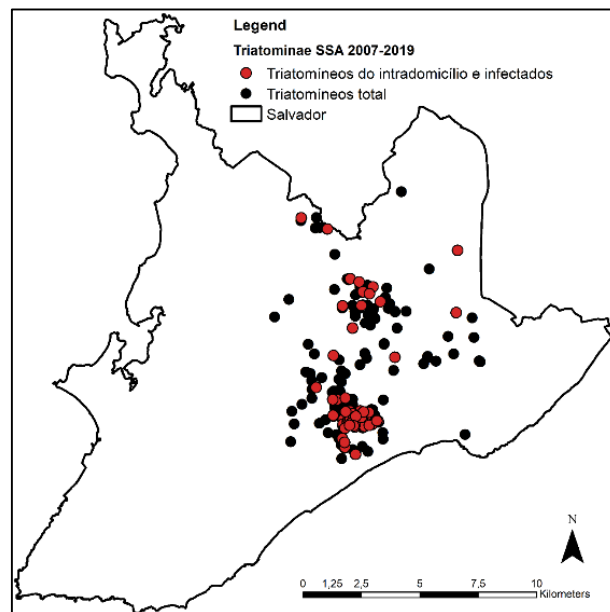


Figura 19 – Notificação de triatomíneos do intradomicílio e infectados no município de Salvador.

Após o geoprocessamento dos dados de sensoriamento através da NDVI, observou-se que a distribuição espacial das unidades domiciliares infestadas ocorre em diversos bairros da zona urbana da cidade, com forte associação bairros que apresentam remanescentes florestais de mata atlântica (figura 20). Apesar disso, outras variáveis parecem ser determinantes na distribuição dos vetores do *T. cruzi* na cidade de Salvador.

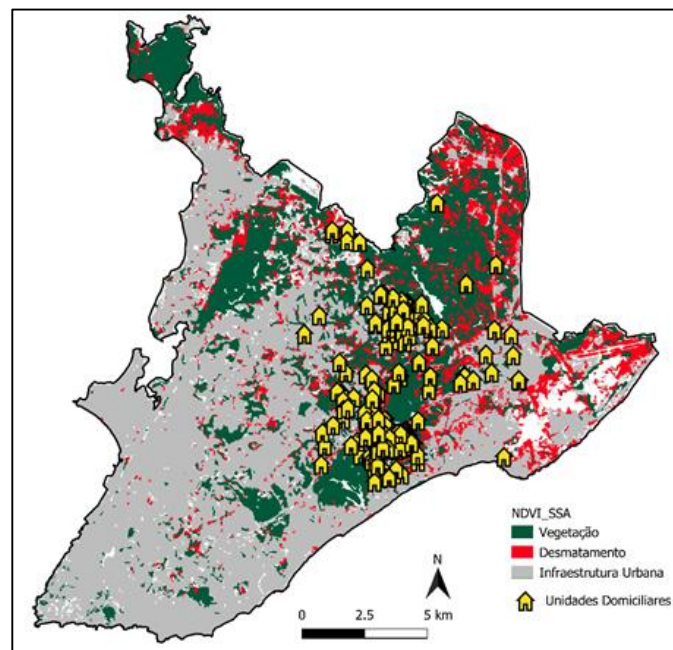


Figura 20 – Áreas de vegetação, desmatamento e infraestrutura urbana, no período de 2007 a 2017 e unidades domiciliares com notificações de triatomíneos, entre 2007 e 2019, no município de Salvador.

O município de Salvador possui área de 692,818 Km². A área de vegetação corresponde a 76,40 Km², 11% da sua área territorial. No período de 2007 a 2017, a área de vegetação suprimida, levando em consideração o desmatamento e a infraestrutura urbana, foi 34,49 Km² (5%). O bairro de Patamares, onde houve o maior número de notificações de triatomíneos, possui uma área de 4,62 Km², da qual 60% são remanescentes de floresta e 11,3% foi a área desmatada, no período de 2007 a 2017, para construção de empreendimentos imobiliários. Abaixo podemos observar a classificação dos bairros de Salvador de acordo com as variáveis analisadas: (a) vegetação, (b) desmatamento, (c) infraestrutura urbana e (d) população (figura 21).

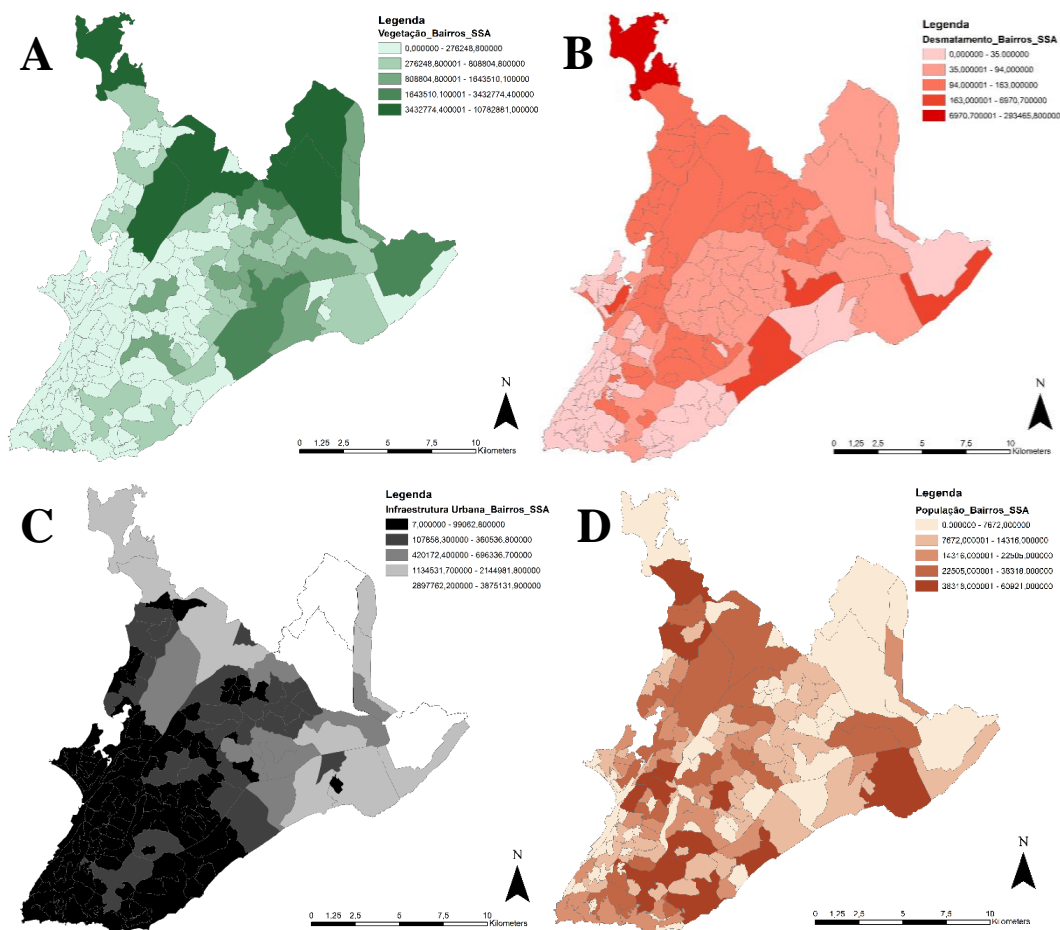


Figura 21 – Áreas de vegetação, desmatamento, infraestrutura urbana e população, por bairros. (A) Áreas com mais vegetação, por bairros, do município de Salvador, no período de 2007 a 2017. (B) Áreas mais desmatadas, por bairros, do município de Salvador, no período de 2007 a 2017. (C) Áreas com maior infraestrutura urbana por bairros, do município de Salvador, no período de 2007 a 2017. (D) Áreas com maior população, por bairros, do município de Salvador, de acordo com IBGE, 2010.

De acordo com a análise estatística de correlação multivariada, levando em consideração as variáveis vegetação, desmatamento, infraestrutura urbana e população, apenas as variáveis vegetação e desmatamento apresentaram valores significativos ($p < 0,05$). A análise permitiu observar que a cada 400 m² de área desmatada há ocorrência de um triatomíneo. Não foi levado em consideração os limites espaciais.

6.5 ANÁLISE DOS INDICADORES EPIDEMIOLÓGICOS

6.5.1 Dispensação de Benzonidazol

Os dados referentes a dispensação de benzonidazol correspondem ao período de 2008 a 2018. Durante este período foram registrados 116 pacientes que solicitaram o medicamento (tabela 3). Salvador teve a maior taxa de dispensação com 4/10⁵ hab, seguida de Vera Cruz com 2,5/10⁵ hab (figura 22).

Tabela 3 – Dados de dispensação de benzonidazol na Região Metropolitana de Salvador, 2008 a 2018.

Município	Nº	Taxa (total)*
Camaçari	1	0,39
Candeias	0	0,00
Dias d'Ávila	0	0,00
Itaparica	0	0,00
Lauro de Freitas	2	1,17
Madre de Deus	0	0,00
Mata de São João	0	0,00
Pojuca	0	0,00
Salvador	111	4,09
São Francisco do Conde	0	0,00
São Sebastião do Passé	0	0,00
Simões Filho	1	0,82
Vera Cruz	1	2,58

Fonte: Planilha DIVEP. Dados atualizados em 21/05/2018. *Para cada 100 mil habitantes. Nº = Pacientes.

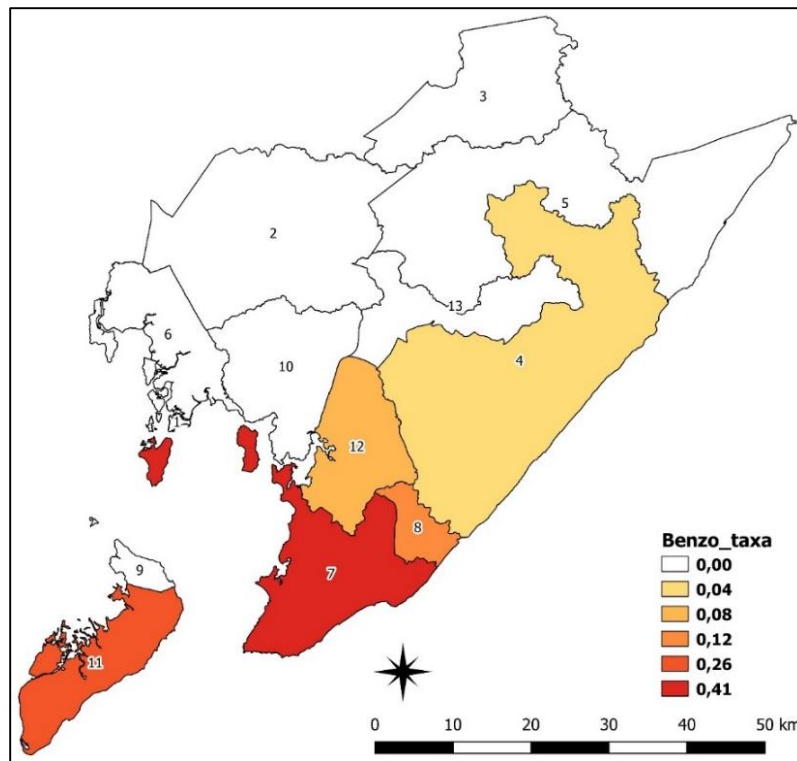


Figura 22 – Prevalência da dispensação de benzonidazol na Região Metropolitana de Salvador entre 2008 e 2018.
 (1) = Madre de Deus; (2) = São Sebastião do Passé; (3) = Pojuca; (4) = Camaçari; (5) = Mata de São João;
 (6) = São Francisco do Conde; (7) = Salvador; (8) = Lauro de Freitas; (9) = Itaparica; (10) = Candeias;
 (11) = Vera Cruz; (12) = Simões Filho; (13) = Dias d'Ávila.

6.5.2 Autorização de Internação Hospitalar (AIH)

Os dados referentes ao número de internações por doença de Chagas correspondem ao período de 2007 a 2017. Há 114 registros de internações nos municípios da RMS durante este período (tabela 4). Os municípios com maior prevalência (p) de internações por doença de Chagas foram Mata de São João com $p=14,4/10^5$ hab; Madre de Deus com $p=11/10^5$ hab; e Itaparica com $p=9,5/10^5$ hab (figura 23; anexo 3).

Tabela 4 – Internações por doença de Chagas nos municípios da Região Metropolitana de Salvador, 2007 a 2017.

Município Residência RMS	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	Total	Taxa (total)*	Taxa (média/ano)*
Camaçari	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	4	1,57	0,14
Candeias	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	4	4,76	0,43
Dias d'Ávila	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	2,87	0,26
Itaparica	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	9,53	0,87
Lauro de Freitas	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2	1,17	0,11
Madre de Deus	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	11,00	1,00
Mata de São João	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	1	6	14,45	1,31
Pojuca	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2,93	0,27
Salvador	8	16	9	8	4	2	4	7	12	3	6	79	2,91	0,26
São Francisco do Conde	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2,92	0,27
São Sebastião do Passé	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2	4,71	0,43
Simões Filho	3	0	0	0	2	0	0	1	2	1	0	9	7,41	0,67
Vera Cruz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,00	0,00
Total	14	19	11	13	8	3	4	11	17	6	8	114	-	-

Fonte: Ministério da Saúde - Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS). Dados tabulados em 21/05/2018. * Para cada 100 mil habitantes.

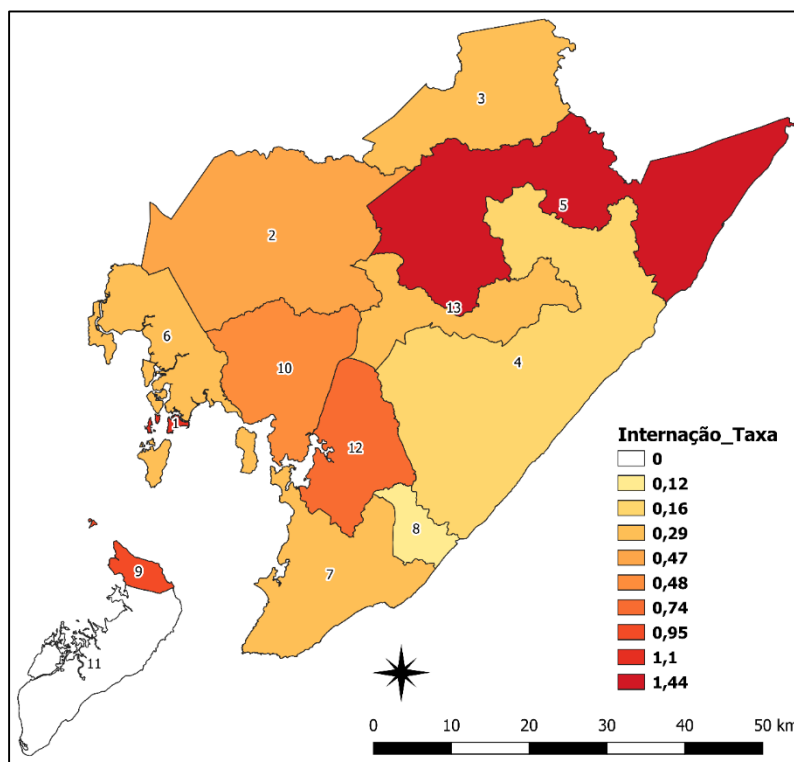


Figura 23 – Prevalência das internações por doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador entre 2007 e 2017.

(1) = Madre de Deus; (2) = São Sebastião do Passé; (3) = Pojuca; (4) = Camaçari; (5) = Mata de São João; (6) = São Francisco do Conde; (7) = Salvador; (8) = Lauro de Freitas; (9) = Itaparica; (10) = Candeias; (11) = Vera Cruz; (12) = Simões Filho; (13) = Dias d'Ávila.

6.5.3 Óbitos por doença de Chagas

Os dados referentes ao número de óbitos por doença de Chagas corresponderam ao período de 2007 a 2017. Foram registrados 2.011 óbitos na RMS durante este período (tabela 5). Os óbitos por doença de Chagas tiveram maior prevalência (p) nos municípios de Candeias com $p=139/10^5$ hab; São Francisco do Conde com $p=125,6/10^5$ hab; e Mata de São João com $p=122,8/10^5$ hab (figura 24; anexo 4).

Tabela 5 – Número de óbitos por doença de Chagas, municípios da Região Metropolitana de Salvador, 2007 a 2017.

Município Residência RMS	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	Total	Taxa (total)*	Taxa (média/ano)*
Camaçari	10	12	11	18	18	11	15	11	10	16	5	137	53,68	4,88
Candeias	12	13	8	13	14	12	16	8	9	6	6	117	139,09	12,64
Dias d'Ávila	3	8	3	2	4	2	4	4	4	3	1	38	54,58	4,96
Itaparica	0	0	0	1	1	3	3	2	2	1	0	13	61,92	5,63
Lauro de Freitas	9	8	13	8	17	12	12	10	9	9	8	115	67,23	6,11
Madre de Deus	0	0	2	0	0	2	2	1	2	2	3	14	76,99	7,00
Mata de São João	3	7	4	5	7	4	4	4	3	8	2	51	122,81	11,16
Pojuca	1	0	2	6	4	1	1	3	2	1	0	21	61,57	5,60
Salvador	121	132	108	129	125	125	113	132	133	122	99	1339	49,39	4,49
São Francisco do Conde	2	7	5	5	3	3	6	3	4	2	3	43	125,64	11,42
São Sebastião do Passé	5	3	3	4	4	1	5	4	5	1	4	39	91,80	8,35
Simões Filho	5	7	8	5	2	6	1	8	3	8	5	58	47,77	4,34
Vera Cruz	4	2	2	2	4	1	1	3	3	2	2	26	67,10	6,10
Total	175	199	169	198	203	183	183	193	189	181	138	2011	-	-

Fonte: SESAB/SUVISA/DIS/Sistema de Informação sobre Mortalidade – SIM. Dados atualizados em 11/04/2018. * Para cada 100 mil habitantes.

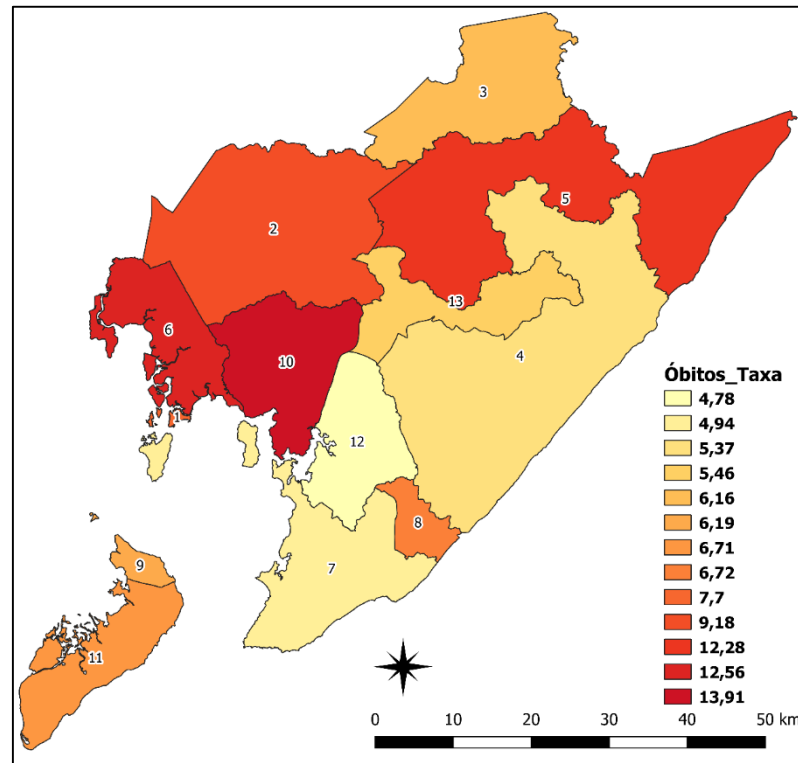


Figura 24 – Prevalência dos registros de óbitos por doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador entre 2007 e 2017.

(1) = Madre de Deus; (2) = São Sebastião do Passé; (3) = Pojuca; (4) = Camaçari; (5) = Mata de São João; (6) = São Francisco do Conde; (7) = Salvador; (8) = Lauro de Freitas; (9) = Itaparica; (10) = Candeias; (11) = Vera Cruz; (12) = Simões Filho; (13) = Dias d'Ávila.

6.5.4 Dados do Sistema de Informação de Atenção Básica (SIAB)

O número de casos de doença de Chagas por cadastro autorreferido no SIAB corresponderam ao período de 1998 a 2015. Foram registrados 29.467 casos de pessoas que se autorreferem com doença de Chagas (tabela 6).

As maiores prevalências (p) registradas pelo SIAB foram observadas nos municípios de Candeias com $p=157,5/10^5$ hab; São Francisco do Conde com $p=152,5/10^5$ hab; e Mata de São João com $p=103,9/10^5$ hab (figura 25; anexo 5).

Tabela 6 – Número de casos de doença de Chagas por cadastro autorreferido no Sistema de Informação da Atenção Básica, maiores de 15 anos nos municípios da Região Metropolitana de Salvador, 1998 a 2015.

Região de Saúde/Município	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	TOTAL	Taxa (total)*	Taxa (média/ano)*
Camaçari	14	77	72	49	48	46	45	46	49	53	63	73	88	107	109	112	112	112	1275	499,53	27,75
Candeias	0	173	178	177	158	151	163	145	145	136	137	145	142	139	134	131	132	0	2386	2836,39	157,58
Dias d'Ávila	5	3	2	0	0	0	11	19	27	20	43	41	48	38	40	38	38	0	373	535,70	29,76
Itaparica	0	0	9	15	7	8	10	9	4	4	14	14	16	16	16	15	15	0	172	819,28	45,52
Lauro de Freitas	40	76	67	84	86	83	50	50	118	106	98	102	96	86	90	86	86	86	1490	871,13	48,40
Madre de Deus	0	16	17	12	10	9	9	7	7	5	7	6	5	5	4	3	3	3	128	703,95	39,11
Mata de São João	0	30	24	25	49	51	40	45	47	46	48	50	53	55	55	52	51	56	777	1871,07	103,95
Pojuca	39	42	27	28	24	22	20	22	23	29	23	24	31	33	32	30	29	29	507	1486,54	82,59
Salvador	132	1096	1084	1116	941	1017	1108	1228	1216	1285	1214	1187	1213	1096	1078	1021	945	962	18939	698,61	38,81
São Francisco do Conde	41	45	43	42	40	40	29	34	46	46	50	49	42	70	82	88	76	77	940	2746,45	152,58
São Sebastião do Passé	4	29	59	66	66	55	58	43	46	46	51	42	38	41	39	41	42	0	766	1802,99	100,17
Simões Filho	0	50	54	54	51	55	58	53	52	37	109	105	93	99	56	87	79	35	1127	928,21	51,57
Vera Cruz	0	33	35	35	35	34	34	33	33	35	35	35	35	35	35	35	35	35	587	1514,92	84,16
Total	275	1670	1671	1703	1515	1571	1635	1734	1813	1848	1892	1873	1900	1820	1770	1739	1643	1395	29467	-	-

Fonte: Ministério da Saúde - Sistema de Informação de Atenção Básica – SIAB. * Para cada 100 mil habitantes.

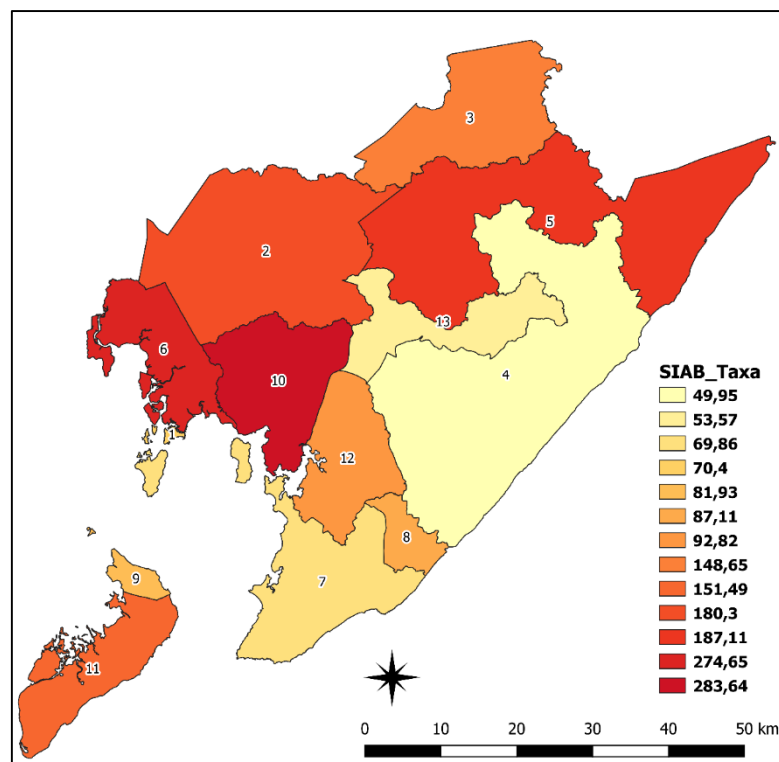


Figura 25 – Prevalência de indivíduos que se autorreferem com doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador entre 1998 e 2015 de acordo com os registros do Sistema de Informação da Atenção Básica.

(1) = Madre de Deus; (2) = São Sebastião do Passé; (3) = Pojuca; (4) = Camaçari; (5) = Mata de São João; (6) = São Francisco do Conde; (7) = Salvador; (8) = Lauro de Freitas; (9) = Itaparica; (10) = Candeias; (11) = Vera Cruz; (12) = Simões Filho; (13) = Dias d'Ávila.

6.5.5 Registros de doadores de sangue do HEMOBA

No período de dez anos, entre fevereiro de 2008 e fevereiro de 2018, 494.010 doadores e 816.346 doações foram examinados (MIRANDA *et al.*, 2019). Destes, 1317 eram doadores com resultado não-negativo para DC, naturais e/ou residentes de municípios da RMS (tabela 7). As maiores prevalências (p) e médias anuais foram observadas em Salvador com $p=40,87/10^5$ hab; Lauro de Freitas com $p=30,98/10^5$ hab; e Simões Filho com $p=29,65/10^5$ hab (figura 26; anexos 6 e 7).

Tabela 7 – Número de doadores de sangue dos municípios da Região Metropolitana de Salvador, não negativos para doença de Chagas, no período de 2008 a 2018.

Municípios	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	Total	Taxa (total)*	Taxa (média/ano)*
Camaçari	2	3	2	1	5	2	11	7	7	13	0	53	20,76	1,88
Candeias	3	1	2	1	3	3	0	1	2	2	1	19	22,58	2,05
Dias d'Ávila	1	1	1	1	0	1	1	0	2	3	1	12	17,23	1,56
Itaparica	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	9,52	0,86
Lauro de Freitas	5	1	0	1	4	7	5	7	11	10	2	53	30,98	2,81
Madre de Deus	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	3	16,49	1,49
Mata de São João	0	2	0	1	0	1	0	1	0	0	0	5	12,04	1,09
Pojuca	1	2	0	0	0	1	1	0	1	0	0	6	17,59	1,59
Salvador	121	47	56	71	160	95	143	124	151	125	15	1108	40,87	3,71
São Francisco do Conde	1	0	0	1	1	1	0	3	2	1	0	10	29,21	2,65
São Sebastião do Passé	1	0	0	0	2	0	0	0	1	1	0	5	11,76	1,06
Simões Filho	4	3	4	2	7	4	4	4	1	3	0	36	29,65	2,69
Vera Cruz	3	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	5	12,90	1,17
Total	142	61	65	79	184	115	165	149	178	160	19	1317	-	-

Fonte: Fundação HEMOBA. *Para cada 100 mil habitantes.

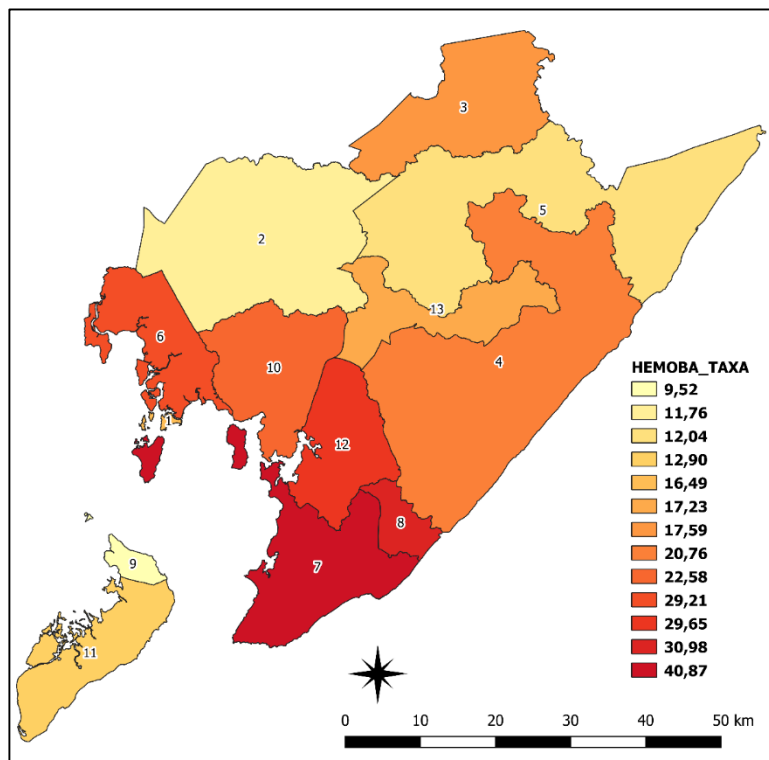


Figura 26 - Prevalência de doadores de sangue do HEMOBA não negativos para doença de Chagas entre 2008 e 2018.

(1) = Madre de Deus; (2) = São Sebastião do Passé; (3) = Pojuca; (4) = Camaçari; (5) = Mata de São João; (6) = São Francisco do Conde; (7) = Salvador; (8) = Lauro de Freitas; (9) = Itaparica; (10) = Candeias; (11) = Vera Cruz; (12) = Simões Filho; (13) = Dias d'Ávila.

Através da análise estatística espacial de agrupamento foi possível determinar os municípios da RMS com similaridade, de acordo com as prevalências das cinco variáveis epidemiológicas: (1) dispensação de benzonidazol; (2) autorização de internação hospitalar por doença de Chagas; (3) óbitos por doença de Chagas; (4) casos de doença de Chagas autorreferido

no Sistema de Informação da Atenção Básica, maiores de 15 anos; (5) sorologia não negativa para *T. cruzi* detectados na triagem sorológica do HEMOBA.

Os municípios com maiores valores das variáveis estudadas ao risco de transmissão do *T. cruzi* são: São Sebastião do Passé; Mata de São João; Simões Filho e Dias d'Ávila (figura 27).

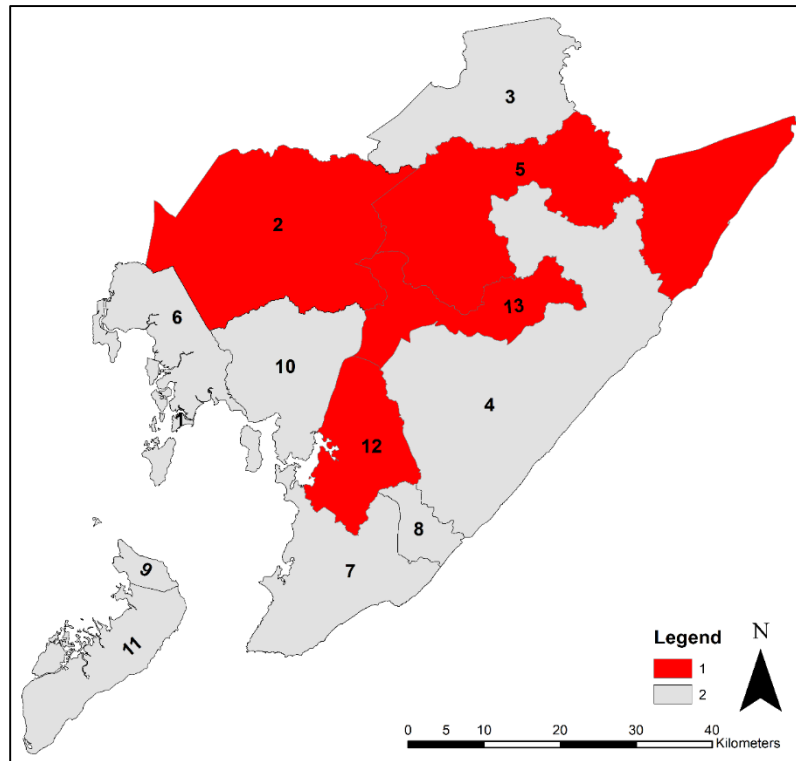


Figura 27 – Resultado da análise estatística espacial de agrupamento.

Legenda: (1) Municípios da Região Metropolitana de Salvador com maior prevalência da doença de Chagas, de acordo com os indicadores epidemiológicos. (2) Municípios da Região Metropolitana de Salvador com menor prevalência da doença de Chagas, de acordo com os indicadores epidemiológicos.
 (1) = Madre de Deus; (2) = São Sebastião do Passé; (3) = Pojuca; (4) = Camaçari; (5) = Mata de São João; (6) = São Francisco do Conde; (7) = Salvador; (8) = Lauro de Freitas; (9) = Itaparica; (10) = Candeias; (11) = Vera Cruz; (12) = Simões Filho; (13) = Dias d'Ávila.

6. DISCUSSÃO

Os dados entomológicos demonstram que na cidade de Salvador existe o risco de exposição aos triatomíneos e transmissão do *T. cruzi* ao homem e animais domésticos. De acordo com a distribuição dos triatomíneos notificados, observamos que eles estão presentes em vários locais da zona urbana da cidade, onde existe remanescentes florestais que passaram por um processo de desmatamento recente. A maioria das notificações de triatomíneos ocorreu no bairro de Patamares e este fato pode estar relacionado ao expressivo desmatamento e crescimento imobiliário neste bairro nos últimos anos (DIAS-LIMA *et al.*, 2000; RIBEIRO JR *et al.*, 2015). Além disso, a existência de um PIT em um dos condomínios e as campanhas de conscientização realizadas pelo CCZ nesta área, podem ter causado um viés de amostragem.

Observamos também que quase todos os triatomíneos foram da espécie *T. tibiamaculata*. Esta espécie é silvestre, conhecida por estar em processo de peridomiciliação e típica do bioma de mata atlântica (DIAS-LIMA *et al.*, 2000; RIBEIRO JR *et al.*, 2015). O encontro dessa espécie foi maior no peridomicílio, com a ocorrência de todos os estádios ninfais. Os triatomíneos notificados no intradomicílio foram todos adultos.

Após a análise da taxa de infecção em 737 dos triatomíneos notificados, através do exame parasitológico direto por compressão abdominal, houve positividade para flagelados em 54% das amostras. Esta técnica pode estar sujeita a erros do observador, pois a microscopia direta impossibilita afirmar que o flagelado observado é mesmo *T. cruzi*. Ao realizar o exame parasitológico molecular para confirmação da infecção por *T. cruzi*, através da PCR, nestas amostras positivas (n=398), apenas 157 amostras confirmaram o resultado anterior. Isso demonstra a importância da realização do diagnóstico molecular como confirmação dos achados no parasitológico direto.

Com o desmatamento, para construção de empreendimentos, os animais que habitam as regiões de mata atlântica, principalmente os mamíferos, e que são fonte de alimento para os triatomíneos, são afugentados e têm sua população reduzida ou até mesmo exterminadas destes locais (COLLI, 2003). Como consequência, os vetores buscam por alimento dentro dos domicílios e/ou peridomicílio, tornando a população humana e animais domésticos (cães e gatos) vulneráveis ao risco de infecção pelo *T. cruzi*

(DIAS, 2001). Além disso, o desmatamento está associado a alterações climáticas, que podem interferir no potencial reprodutivo do vetor e, portanto, ter importância epidemiológica (GORLA, 2002). Quando há aumento da temperatura, as taxas de eclosão dos ovos, reprodução e dispersão dos triatomíneos aumentam (DE CASAS *et al.*, 1999), como já foi mostrado em um estudo com o *Triatoma infestans* (GORLA, 2002). As mudanças ambientais podem explicar a dispersão do *T. tibiamaculata*, uma espécie silvestre e típica da vegetação de mata atlântica (SHERLOCK, 1979). Embora não tenha sido possível fazer a correlação entre o desmatamento e a ocorrência dos triatomíneos para todos os municípios da RMS, as cidades desta região apresentam o mesmo tipo de vegetação e níveis de desmatamento consideráveis.

Vários estudos sobre o encontro de triatomíneos na Região Metropolitana de Salvador, realizados entre as décadas de 1910 e 1950, demonstraram que a espécie notificada peridomiciliando e/ou domiciliando as residências foi *Panstrongylus megistus* (GONÇALVES, 1912). Após medidas de intervenção e controle dos triatomíneos na década de 1950, observou-se redução acentuada desta espécie, porém não deixou de ser notificada em algumas localidades (ANÔNIMO, 1952; AGUIRRE, 1954). Na década de 1960, a espécie *Triatoma rubrofasciata* começou a ser notificada com mais frequência (COSTA, 1955). A partir da década de 1970, começaram a surgir as primeiras notificações do *Triatoma tibiamaculata* peridomiciliando casas e apartamentos. Estes fatos indicam que quando uma espécie é controlada nada impede que outra espécie diferente, inclusive silvestre, passe a domiciliar ou peridomiciliar determinado local (DIAS-LIMA *et al.*, 2000; RIBEIRO JR *et al.*, 2015).

Apesar da ocorrência histórica de triatomíneos em vários municípios da RMS, apenas os dados entomológicos de Salvador foram fornecidos. Isso se deve ao fato da vigilância ser mais intensa neste município por ser a capital do Estado. Além disso, os municípios da RMS são classificados pelo Ministério da Saúde como sendo de baixo risco para doença de Chagas (SESAB *et al.*, 2018), o que possivelmente influencia no direcionamento de recursos para o desenvolvimento de medidas de vigilância ativa contra os vetores.

A partir da análise dos indicadores epidemiológicos, observamos que existem municípios mais vulneráveis ao risco de transmissão da doença de Chagas na Região Metropolitana de Salvador. Levando em consideração a quantidade de habitantes, os

indicadores epidemiológicos podem atingir uma proporção mais ou menos significativa, ou seja, os dados, em números absolutos, podem ser inexpressivos, mas quando comparado com a população do município, e os municípios comparados entre si, o quadro se modifica. O resultado da análise estatística espacial de agrupamento, utilizando as cinco variáveis estudadas, indicou que os municípios com maior vulnerabilidade para transmissão da doença de Chagas são: São Sebastião do Passé, Mata de São João, Simões Filho e Dias d'Ávila.

Considerando a dispensação de benzonidazol, observa-se que muitos pacientes informam o endereço do município de Salvador no cadastro para solicitar o medicamento, mas residem em outros municípios, levando a um viés referente à procedência dos pacientes. O critério utilizado para dispensação é para o tratamento da doença de Chagas aguda e crônica (FERREIRA, 1974). Atualmente, de acordo com o II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, a única contraindicação é para pacientes com a doença na forma cardíaca grave (DIAS *et al.*, 2016). Todavia, existem estudos com resultados em que o tratamento com benzonidazol está associado a redução da mortalidade, retardo da doença na forma cardíaca e menor parasitemia em pacientes com DC crônica. O tratamento em pessoas com até 50 anos apresentam melhor o resultado, porém nada impede que pacientes com mais idade possam ser tratados. Casos suspeitos de Chagas, excluindo situações de surtos, só são tratados após confirmação laboratorial (CARDOSO *et al.*, 2018; CAMARA *et al.*, 2019).

Os casos de internações e óbitos por doença de Chagas são mais prevalentes nos indivíduos na fase crônica. Apesar das distorções que possam haver, resultantes da forma de coleta desses dados, são observadas reduções dos casos. Estudos mostram que números cada vez menores de internações são registrados a cada ano nos sistemas público e privado de saúde, sendo pouco significativas quando comparadas com a endemicidade da doença no país (FRANÇA *et al.*, 1996; VINHAES *et al.*, 2000). Isto pode ocorrer devido à dificuldade das redes hospitalares em estabelecer o diagnóstico. Para os registros de óbitos não existe uma orientação oficial para doença de Chagas, como em outras endemias. Esta é uma discussão levantada também pelo Ministério da Saúde/Serviço de Verificação de Óbitos (SVO). A avaliação clínica por uma equipe médica, definirá a causa básica que levou a óbito, podendo utilizar a Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados com a Saúde (CIDs): B57.0, B57.1, B57.2, B57.3, B57.4 e B57.5 (OMS, 1980).

Com relação aos registros do SIAB das pessoas que se autorreferem portadoras da doença de Chagas, um critério que pode estar associado a um indivíduo a se autorreferenciar como positivo pode ser o resultado não negativo para doença de Chagas durante a triagem em uma doação de sangue. Além disso, não existe a possibilidade de determinar a incidência, apenas a prevalência, pois não é possível ter certeza de que os casos registrados a cada ano são novos ou repetidos. Observamos também uma grande dissociação entre o número de dispensação de benzonidazol e de indivíduos que se autorreferem portadoras da doença Chagas.

A prevalência da infecção pelo *T. cruzi* em doadores de sangue ou candidatos à doação é um importante indicador epidemiológico, exercendo papel de marcador de risco da doença de Chagas transfusional e medidor do nível de transmissão da doença em uma região (DIAS *et al.*, 1998; MELO *et al.*, 2009). No Brasil, com os resultados favoráveis de combate ao vetor e a obrigatoriedade da realização dos testes sorológicos nos hemocentros, a ocorrência de reações sorológicas não negativas para *T. cruzi* tiveram uma queda significativa no decorrer dos anos (MONCAYO, 2003; OPS, 2006). Contudo um dos maiores problemas na triagem sorológica de doadores de sangue é a alta frequência de reações indeterminadas, devido à baixa especificidade dos testes, fazendo com que doadores sejam rotulados como portadores da doença, além de promover o descarte desnecessário de bolsas de sangue e perdas financeiras para o Sistema Único de Saúde (SUS) (MORAES-SOUZA *et al.*, 2006; MORAES-SOUZA *et al.*, 2011). A avaliação da distribuição da reatividade entre os municípios da RMS mostra que Salvador tem a maioria das sorologias reativas quando comparada com os outros municípios. Isto se deve a grande confluência de indivíduos de diversas localidades, apresentando um alto índice demográfico.

Este trabalho apresentou limitações importantes, como a dificuldade em estabelecer parceria com todos os municípios envolvidos. Apesar das cartas oficiais enviadas juntamente com a proposta do projeto para as Prefeituras e Secretarias Municipais de Saúde, reuniões articuladas com a DIVEP e com as lideranças em saúde dos municípios, não foi possível estabelecer parceria com todos os convocados. Por este motivo, a maioria dos dados foram obtidos de fontes secundárias e devido à ausência dos registros epidemiológicos dos municípios da RMS, não foi possível analisar estes dados e correlacioná-los aos indicadores ambientais.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os indicadores analisados, foi possível sugerir que existem áreas de maior vulneráveis para transmissão do *T. cruzi* ao homem e seus animais domésticos, em Salvador, considerando que: mais de 1500 triatomíneos foram notificados de 2007 a 2019; existe uma associação entre as áreas de ocorrência de triatomíneos, o desmatamento recente e a presença de remanescentes de mata atlântica; o sucessivo encontro de triatomíneos infectados pelo *T. cruzi* no ambiente intradomicíliar das residências.

A partir dos indicadores epidemiológicos, observamos que na Região Metropolitana de Salvador os municípios mais vulneráveis ao risco de transmissão do *T. cruzi* são: São Sebastião do Passé; Mata de São João; Simões Filho e Dias d'Ávila. Estes dados indicam ainda que mais atenção deve ser dada aos sistemas de vigilância da doença de Chagas.

Devido as limitações enfrentadas neste estudo, como a falta de dados de todos os municípios, novas metodologias devem ser empregadas, a fim de atualizar a classificação de risco para doença de Chagas na RMS.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR H. M. *et al.* Chagas disease in the Amazon region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 1, p. 47-56, 2007.
- AGUIRRE, G. Palestra proferida no Congresso Estadual de Prefeitos (Mimeografada). Salvador, Bahia 1954.
- ALARCÓN DE NOYA B. *et al.* Large urban outbreak of orally acquired acute Chagas disease at a school in Caracas, Venezuela. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 201, n. 9, p. 1308–1315, 2010.
- ALLAN B. F.; KEESING, F.; OSTFELD, R. S. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. **Conservation Biology**, v. 17, p. 267–272, 2003.
- ALONSO-PADILLA, J. *et al.* Strategies to enhance access to diagnosis and treatment for Chagas disease patients in Latin America. **Expert Review of Anti-Infective Therapy**, v. 17, n. 3, p. 145-157, 2019.
- Campanha contra doença de Chagas em Salvador. **Revista Brasileira de Malariologia & Doenças Tropicais**, v. 4, n. 2, p. 202. 1952.
- ARAÚJO, P. F. *et al.* Sexual transmission of American trypanosomiasis in humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 6, p. 437-446, 2017.
- BARRETO, M. A. F. *et al.* Entomological triatomine indicators in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 24, n. 4, p. 1483-1493, 2019.
- BARRETT, T. V. *et al.* An outbreak of acute Chagas's disease in the São Francisco Valley region of Bahia, Brazil: triatomine vectors and animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene**, v. 73, p. 703-709, 1979.
- BASTOS, C. J. *et al.* Clinical outcomes of thirteen patients with acute chagas disease acquired through oral transmission from two urban outbreaks in northeastern Brazil. **PLoS Neglected Tropical Disease**, v. 4, n. 6, p. 711, 2010.
- BERN, C. *et al.* *Trypanosoma cruzi* and Chagas' Disease in the United States. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 4, p. 655-681, 2011.
- BEZERRA, R. C.; A. V. MED. *Trypanosoma cruzi*, hemocultura: uma abordagem prática. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Doença de Chagas: o que é, causas, sintomas, tratamento e prevenção. 2019. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doenca-de-chagas>. Acesso em: 18 jul. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de consolidação nº.5, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Diário Oficial da União 28 set 2017. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2017/prc0005_03_10_2017.html. Acesso em: 08 abr. 2019.

BRAZ, L. M. A. **Comparação da reao em cadeia da polimerase com o exame microscópico na deteco do *Trypanosoma cruzi* em amostras procedentes do trato digestório do *Tiatoma infestans*** (Tese). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BRENER, Z. Biology of *Trypanosoma cruzi*. **Annual Reviews in Microbiology**. 1973.

BRENER, Z.; ANDRADE, Z.; BARRAL-NETTO, M. **Trypanosoma cruzi e doena de Chagas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 2^a ed.

BRISSE, S.; BARNABÉ, C.; TIBAYRENC, M. Identification of six *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages by random amplified polymorphic DNA and multilocus enzyme electrophoresis. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 1, p. 3544, 2000.

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

BRITTO, C. *et al.* *Trypanosoma cruzi*: Parasite detection and strain discrimination in chronic chagasic patients from northeastern Brazil using PCR amplification of kinetoplast DNA and nonreactive hybridization. **Experimental parasitology**, v. 81, 1995.

BRUMPT, E.; DA SILVA, P. Existence du "*Schizotrypanum cruzi*" (Chagas, 1909)   Bahia (Mata de São João): biologie du *Conorhinus megistus*. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 5, p. 22-26, 1912.

BUSS, P. M.; PELLEGRINI FILHO, A. A saúde e seus determinantes sociais. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 17, n. 1, p. 77-93, 2007.

CAMARA, E. J. N. *et al.* Elevated IL-17 levels and echocardiographic signs of preserved myocardial function in benznidazole-treated individuals with chronic Chagas' disease. **International Journal of Infectious Disease**, v. 79, p. 123-130, 2019.

CARDOSO, C. S. *et al.* Beneficial effects of benznidazole in Chagas disease: NIH SaMi-Trop cohort study. **PLoS neglected tropical disease**, v. 12, n. 11, 2018.

CARVALHO, M. R. *et al.* Chagas' disease diagnosis: evaluation of several tests in blood bank screening. **Transfusion**, v. 33, n. 10, p. 830-834, 1993.

CERETTI-JUNIOR, W. *et al.* Occurrences of triatomines (Hemiptera: Reduviidae) and first reports of *Panstrongylus geniculatus* in urban environments in the city of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, p. 33, 2018.

CHAGAS, C. Nova tripanozomiasse humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 1, n. 2, p. 159-218, 1909.

COLLI, G. R. *et al.* A fragmentao dos ecossistemas e a biodiversidade brasileira: uma síntese. In: D. M. RAMBALDI E OLIVEIRA, D. A. S. D. (Ed.). **Fragmentao**

de Ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2003. p. 415.

COSTA, A. L. **Triatomíneos e tripanosomas por eles veiculados em zona central da cidade do Salvador – Bahia.** (Tese). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Estado da Bahia, Salvador, 1955. 81 p.

COSTA, J. *et al.* The epidemiologic importance of *Triatoma brasiliensis* as a chagas disease vector in Brazil: a revision of domiciliary captures during 1993-1999. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 4, p. 443-449, 2003.

COURA, J. R.; VIÑAS, P. A.; DO OSWALDO, A. C. V. Ecoepidemiology, short history and control of Chagas disease in the endemic countries and the new challenge for non-endemic countries. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 7, p. 856-862, 2014.

COURA, J. R. R. Chagas disease: what is known and what is needed--a background article. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 1, p. 113-122, 2007.

COURA, J. R. R.; VIÑAS, P. A. Chagas disease: a new worldwide challenge. **Nature**, v. 465, n. 7301, p. 7, 2010.

DA SILVA, P. Notas de parasitologia. O barbeiro (*Conorhinus megistus* Burm.) na Bahia. **Arquivos Brasileiros de Medicina**, v. 1, n. 3, p. 627-632, 1911.

DARIO, M. A. *et al.* Ecological scenario and *Trypanosoma cruzi* DTU characterization of a fatal acute Chagas disease case transmitted orally (Espírito Santo state, Brazil). **Parasites & Vectors**, v. 9, p. 477, 2016.

DE CASAS, S. I. C. *et al.* **Bioclimatic factors and zones of life (Atlas of Chagas disease vector in the Americas).** Rio de Janeiro: Fiocruz, v. 3, p. 396, 1999.

DIAS-LIMA, A. G.; SHERLOCK, Í. A. Sylvatic vectors invading houses and the risk of emergence of cases of Chagas disease in Salvador, State of Bahia, Northeast Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 611-613, 2000.

DIAS, E. Técnica do xenodiagnóstico na moléstia de Chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 35, n. 2, p. 335-342, 1940.

DIAS, E.; LARANJA, F. S.; DO CRUZ, N. G. Doença de Chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 1945.

DIAS, J. The indeterminate form of human chronic Chagas' disease: a clinical epidemiological review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, p. 147-156, 1989.

DIAS, J. Cecílio Romãna, o sinal de Romãna e a doença de Chagas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 5, p. 407-413, 1997.

DIAS, J.; NETO, V.; DE LUNA, E. Mecanismos alternativos de transmissão do *Trypanosoma cruzi* no Brasil e sugestões para sua prevenção. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 375-379, 2011.

- DIAS, J. C. P.; SCHOFIELD, C. J. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na iniciativa do Cone Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, n. 4, p. 373-383, 1998.
- DIAS, J.; SCHOFIELD, C. The evolution of Chagas disease (American trypanosomiasis) control after 90 years since Carlos Chagas discovery. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 1, p. 103-121, 1999.
- DIAS, J. C. C. *et al.* [Brazilian Consensus on Chagas Disease, 2015]. **Epidemiologia e Serviços de Saúde : Revista do Sistema Unico de Saúde do Brasil**, v. 25, n. spe, p. 7-86, 2016.
- DIAS, J. C. P. Control of chagas disease in Brazil. **Parasitology Today**, v. 3, n. 11, p. 336-341, 1987.
- DIAS, J. C. P. Doença de Chagas, ambiente, participação e Estado. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, p. 165-169, 2001.
- DIAS J. V. *et al.* Spatial distribution of triatomines in domiciles of an urban area of the Brazilian Southeast Region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 1, p. 43-50, 2016.
- DIOTAIUTI, L. *et al.* Inter-relation of sylvatic and domestic transmission of *Trypanosoma cruzi* in areas with and without domestic vectorial transmission in Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 4, p. 443-448, 1995.
- DO CRUZ, B. Z. Pathogenesis and immunopathology of chronic Chagas' disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 1987.
- DOMINGUES, C. S. *et al.* Oral Outbreak of Chagas Disease in Santa Catarina, Brazil: Experimental Evaluation of a Patient's Strain. **PLOS One**, 2015.
- DYE-BRAUMULLER, K. C. *et al.* Identification of triatomines and their habitats in a highly developed urban environment. **Vector-Born and Zoonotic Diseases**, v. 19, n. 4, p. 265-273, 2019.
- FALCÃO, E. C. **Pirajá da Silva: o incontestável descobridor do Schistosoma Mansoni / Piraja da Silva: the undisputed finder of Schistosoma Mansoni**. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. v. 1, p. 314.
- FÉ N. F. *et al.* Ocorrência de triatomíneos em ambiente silvestres e domiciliares do município de Manaus, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 6, p. 642-646, 2009.
- FERRAZ FILHO, A. N.; RODRIGUES, V. L. C. C. Distribuição e índice de infecção natural de triatomíneos capturados na região de Campinas, São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 20, n. 1, p. 25-30, 1987.
- FERREIRA, H. O. Tratamento da infecção chagásica com RO 7-1051. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 10. Curitiba, Paraná. 1974.

FRANÇA, S. B.; ABREU, D. M. X. Morbidade hospitalar por doença de Chagas no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, n. 2, p. 109-115, 1996.

FREITAS, Y. B. N. *et al.* Natural infection by *Trypanosoma cruzi* in triatomines and seropositivity for Chagas disease of dogs in rural areas of Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 2, p. 190-197, 2018.

GONÇALVES, A. E. **Contribuição para o estudo do mal de Chagas na Bahia.** (Tese). Faculdade de Medicina da Bahia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 1912.

GORLA, D. E. Variables ambientales registradas por sensores remotos como indicadores de la distribución geográfica de *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Ecología Austral**, v. 12, n. 2, p. 117-127, 2002.

GURGEL-GONÇALVES, R. **Guia de Triatomíneos da Bahia.** 2012. 112 p.

GURGEL-GONÇALVES, R. *et al.* Geographic Distribution of Chagas Disease Vectors in Brazil Based on Ecological Niche Modeling. **Journal of Tropical Medicine.** 2012.

GURGEL-GONÇALVES, R. *et al.* Distribuição geográfica, infestação domiciliar e infecção natural de triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) no Estado do Piauí, Brasil, 2008. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 1, n. 4, p. 57-64, 2010.

HERWALTD, B. L. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 4, p. 659-688, 2001.

HOTEZ, P. J. *et al.* Chagas disease: "the new HIV/AIDS of the Americas". **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 5, 2012.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Panorama de configuração dos municípios. 2018. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/panorama>. Acesso em: 20 nov. 2018.

INGBER A. *et al.* Chagas disease knowledge and risk behaviors of the homeless population in Houston, TX. **Journal of Racial and Ethnic Health Disparities**, v. 5, n. 2, p. 229-234, 2018.

LENT, H. Evolução dos conhecimentos sobre vetores da doença de Chagas 90 anos após sua descoberta. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 1, p. 89-92, 1999.

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 163, n. 3, p. 123-520, 1979.

MACEDO, A. M.; PENA, S. D. J. Genetic Variability of *Trypanosoma cruzi*: Implications for the Pathogenesis of Chagas Disease. **Parasitology Today**, v. 14, n. 3, p. 119-124, 1998.

MACEDO, A. M. *et al.* Usefulness of microsatellite typing in population genetic studies of *Trypanosoma cruzi*. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 3, p. 407-413, 2001.

- MANGABEIRA FILHO, O. **Doença de Chagas em Salvador**. Feira de Santana: Congresso Regional da Associação Bahiana de Medicina. 1952.
- MARCILI, A. *et al.* A new genotype of *Trypanosoma cruzi* associated with bats evidenced by phylogenetic analyses using SSU rDNA, cytochrome b and Histone H2B genes and genotyping based on ITS1 rDNA. **Parasitology**, v. 136, n. 6, p. 641-655, 2009.
- MARIN-NETO, J.; SIMÕES, M.; SARABANDA, A. V. Chagas' heart disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, p. 247-280, 1999.
- MELO, A. S. *et al.* Prevalência de infecção chagásica em doadores de sangue no estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 2, p. 69-73, 2009.
- MILES, M. A. *et al.* The molecular epidemiology and phylogeography of *Trypanosoma cruzi* and parallel research on *Leishmania*: looking back and to the future. **Parasitology**, v. 136, n. 12, p. 1509-1528, 2009.
- MIRANDA, D. L. P. *et al.* Seroprevalence of *trypanosoma cruzi* infection among blood donors in the state of Bahia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, 2019.
- MONCAYO, A. Chagas' disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone Countries. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 5, p. 577-591, 2003.
- MORAES-SOUZA, H.; FERREIRA-SILVA, M. M. O controle da transmissão transfusional. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 2, p. 64-67, 2011.
- MORAES-SOUZA, H. *et al.* Perfil sorológico para doença de Chagas dos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberaba. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 28, n. 2, p. 110-114, 2006.
- MOSCATELLI G. *et al.* Impact of migration on the occurrence of new cases of Chagas disease in Buenos Aires city, Argentina. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 7, n. 8, p. 635-637, 2013.
- MOSCATELLI G. *et al.* Urban Chagas disease in children and women in primary care centres in Buenos Aires, Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 5, p. 644-648, 2015.
- MÜLLER, C. D. *et al.* Diagnóstico Sorológico em Doença de Chagas com Ênfase na Reação em Cadeia da Polimerase. **NewsLab**, v. 121, p. 5, 2014.
- MYERS N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.
- NOBREGA, A. A. *et al.* Oral transmission of Chagas disease by consumption of acai palm fruit, Brazil. **Emerging Infectious Disease**, v. 15, n. 4, p. 653-5, 2009.
- NOIREAU, F.; DIOSQUE, P.; JANSEN, A. *Trypanosoma cruzi*: adaptation to its vectors and its hosts. **Veterinary Research**, p. 26, 2009.

- NORMAN, F. F.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Chagas disease and breast-feeding. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 10, p. 1561-1566, 2013.
- NOYA-ALARCÓN O. *et al.* Primer registro de *Panstrongylus geniculatus* (Latreille, 1811) en los municipios Alto Orinoco y Atures, estado Amazonas, Venezuela. **Boletín de Malariología y Salud Ambiental**, v. 51, n. 1, p. 81-85, 2011.
- NOYA, B. A. A. *et al.* Update on oral Chagas disease outbreaks in Venezuela: epidemiological, clinical and diagnostic approaches. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 3, p. 377-386, 2015.
- NOYA, E. G. *et al.* The stability of a crystal with diamond structure for patchy particles with tetrahedral symmetry. **The Journal Chemical Physics**, v. 132, n. 23, p. 234-511, 2010.
- OBARA M. T. *et al.* Sistema de armadilha modificada para captura de Triatomíneos (Hemiptera: Reduviidae) em diferentes ecótopos. **Entomologia y Vectores**, v. 9, n. 4, p. 583-590, 2002.
- OCAÑA-MAYORGA, S. *et al.* Influence of ecological factors on the presence of a triatomine species associated with the arboreal habitat of a host of *Trypanosoma cruzi*. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 567, 2018.
- OGUZ H. **Modeling Urban Growth and Land Use/Land Cover Change in the Houston Metropolitan Area from 2002-2030**. Doctoral dissertation, Texas: A&M University, 2005.
- OLIVEIRA, J. D.; ALEVI, K. C. Taxonomic status of *Panstrongylus herreri* Wygodzinsky, 1948 and the number of Chagas disease vectors. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 3, p. 434-435, 2017.
- OMS. ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Manual da classificação estatística internacional de doenças, lesões e causas de óbitos**. São Paulo - Brasil: Ministério da Saúde / Universidade de São Paulo. 1980.
- OMUMBO, J. A. *et al.* Updating Historical Maps of Malaria Transmission Intensity in East Africa Using Remote Sensing. **Photogrammetric Engineering and Remote Sensing**, v. 68, n. 2, p. 161-166, 2002.
- OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Mudanças climáticas e ambientais e seus efeitos na saúde: cenários e incertezas para o Brasil. **Série Saúde Ambiental 1**. 2008.
- OPS. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas**. 2006. Disponível em: <http://ops-uruguay.bvsalud.org/pdf/chagas19.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2019.
- PAHO. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Enfermedades infecciosas desatendidas en las Américas: historia de éxito e innovación para llegar a los más necesitados**. 2016. Disponível em: <https://www.paho.org/enfermedades-infecciosas-desatendidas-historias/#page/42>. Acesso em: 08 abr. 2019.

- PAHO. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas disease**. 2019. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/49653?locale-attribute=pt>. Acesso em: 18 jul. 2019.
- PONDÉ, A. A. A doença de Chagas na Bahia. **Arquivos da Universidade de Medicina da Bahia**, v. 1, p. 333-456, 1946.
- PONDÉ, R.; MANGABEIRA FILHO, O.; JANSEN, G. Alguns dados sobre a leishmaniose visceral americana e doença de Chagas no Nordeste Brasileiro (Relatório de uma excursão realizada nos Estados do Ceará, Pernambuco e Baía). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, p. 333-352, 1942.
- PRATA, A. Chagas' disease. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 8, n. 1, p. 61-76, 1994.
- PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 1, n. 2, p. 92-100, 2001.
- RAMÍREZ, J. D. *et al.* First report of human *Trypanosoma cruzi* infection attributed to TcBat genotype. **Zoonoses Public Health**, v. 61, n. 7, p. 477-479, 2014.
- RASSI, A. Etiological treatment of Chagas' disease. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 38, n. 4, p. 277-281, 1982.
- RASSI, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. A. Chagas disease. **The Lancet Infectious Disease**, v. 375, n. 9723, p. 1388-1402, 2010.
- RASSI JR, A.; RASSI, A.; LITTLE, W. C. Chagas' Heart Disease. **Clinical Cardiology**, p. 883-889, 2000.
- RASSI JR, A.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. Chagas heart disease: pathophysiologic mechanisms, prognostic factors and risk stratification. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 152-158, 2009.
- REITER, P. Climate change and mosquito-borne disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, p. 141-161, 2001.
- RIBEIRO, A.; DA ROCHA, M. Forma indeterminada da doença de Chagas: considerações acerca do diagnóstico e do prognóstico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, p. 301-314, 1998.
- RIBEIRO A. R. *et al.* *Trypanosoma cruzi* isolated from a triatomine found in one of the biggest metropolitan areas of Latin America. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 2, p. 183-189, 2016.
- RIBEIRO JR, G. *et al.* Frequent House Invasion of *Trypanosoma cruzi*-Infected Triatomines in a Suburban Area of Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 4, p. e0003678, 2015.
- RODRIGUEZ, I. G.; LOAIZA, J. R. American trypanosomiasis, or Chagas disease, in Panama: a chronological synopsis of ecological and epidemiological research. **Parasites & Vectors**. 2017.

- ROGERS, D. J.; RANDOLPH, S. E. The global spread of malaria in a future, warmer world. **Science**, v. 289, n. 5485, p. 1763-1766, 2000.
- ROSSI, M. A.; RAMOS, S. G.; BESTETTI, R. B. Chaga's heart disease: clinical pathological correlation. **Frontiers in Bioscience**, v. 8, p. 94-109, 2003.
- SÁNCHEZ-CAMARGO, C. L. *et al.* Comparative Evaluation of 11 Commercialized Rapid Diagnostic Tests for Detecting *Trypanosoma cruzi* Antibodies in Serum Banks in Areas of Endemicity and Nonendemicity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 7, p. 2506-2512, 2014.
- SARKAR S. *et al.* Chagas disease risk in Texas. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 10, p. e836, 2010.
- SCHIJMAN, A. G. Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi*. **Acta Tropica**, v. 184, p. 59-66, 2018.
- SCHOFIELD, C. J. *Triatominae: biología y control*. West Sussex: Eurocommunica; 1994.
- SCHOFIELD, C. J.; GALVÃO, C. Classification, evolution, and species groups within the *Triatominae*. **Acta Tropica**, v. 110, n. 2-3, p. 88-100, 2009.
- SESAB. SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA & SUVISA. SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA E PROTEÇÃO DA SAÚDE. Boletim epidemiológico da doença de Chagas. 2019. Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/agravo/doenca-de-chagas/>. Acesso em: 18 jul. 2019.
- SESAB. SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DA BAHIA & SUVISA. SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILÂNCIA E PROTEÇÃO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico da Doença de Chagas. 2018. Disponível em: <http://www.saude.ba.gov.br/agravo/doenca-de-chagas/2018-boletim-epidemiologico-doencas-de-chagas-n-01/>. Acesso em: 18 jul. 2019.
- SHERLOCK, Í.; SERAFIM, E. M. Fauna triatomenae do estado da Bahia, Brasil: VI-prevalência geográfica da infecção dos tratomíneos por *T. cruzi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 8, p. 129-142, 1974.
- SHERLOCK, I. A. Vetores. In: Z. Brener e Z. Andrade (Ed.). ***Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas***. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. p.42-88
- SILVA, G. R. **Doença de Chagas em Famílias de Duas Áreas Restritas da Cidade do Salvador, Bahia** (Tese). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1966. 143 p.
- SILVA, I. G.; LUQUETTI, A. O.; SILVA, H. H. G. Importância do método de obtenção das dejeções dos triatomíneos na avaliação da suscetibilidade triatomínica para *Trypanosoma cruzi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 26, n. 1, p. 19-24, 1993.
- SILVEIRA, E. A. *et al.* Correlation between infection rate of triatomines and Chagas Disease in Southwest of Bahia, Brazil: a warning sign? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 3, p. 1941-1951, 2016.

SOUTO, R. P. *et al.* DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 83, n. 2, p. 141-152, 1996.

SOUZA-LIMA, R. D. *et al.* Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 46, n. 4, p. 510-514, 2013.

STEINDEL, M. *et al.* Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 60, n. 1, p. 25-32, 2008.

TANOWITZ, H. B. *et al.* Chagas' disease. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 5, n. 4, p. 400-419, 1992.

TIBAYRENC, M. Genetic epidemiology of parasitic protozoa and other infectious agents: the need for an integrated approach. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 85-104, 1998.

TIBAYRENC, M. Genetic subdivisions within *Trypanosoma cruzi* (Discrete Typing Units) and their relevance for molecular epidemiology and experimental evolution. **Kinetoplastid Biology and Disease**. 2003.

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

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

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Working to overcome the global impact of neglected tropical disease: first WHO report on neglected tropical disease**. 2010. Disponível em: <http://gamapserv.who.int/mapLibrary/app/searchResults.aspx>. Acesso em: 08 abr. 2019.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**. 2019. Disponível em: [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em: 08 abr. 2019.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease in Latin American: an epidemiological update based on 2010 estimates. **Weekly Epidemiological Record**, v. 90, n. 6, p. 33-44, 2015.

YEO, M. *et al.* Origins of Chagas disease: Didelphis species are natural hosts of *Trypanosoma cruzi* I and armadillos hosts of *Trypanosoma cruzi* II, including hybrids. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 2, p. 225-233, 2005.

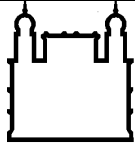
ZINGALES, B. *Trypanosoma cruzi* genetic diversity: Something new for something known about Chagas disease manifestations, serodiagnosis and drug sensitivity. **Acta Tropica**, v. 184, p. 38-52, 2018.

ZINGALES, B. *et al.* A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 7, p. 1051-1054, 2009.

ZINGALES, B. *et al.* Molecular epidemiology of American trypanosomiasis in Brazil based on dimorphisms of rRNA and mini-exon gene sequences. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 1, p. 105-112, 1997.

ANEXOS

Anexo 1 - Protocolo de extração e purificação de DNA de triatomíneos e tecidos rígidos. Kit DNazol® (Invitrogen, CA, EUA) modificado.

	CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ			Código IGM-POP-LPBM-002
				Página 2/19
DATA EMISSÃO	DATA DE VIGÊNCIA	PRÓXIMA REVISÃO	Versão n. 01	
SET/2017	10/09/2020	SET/2020		
ÁREA EMITENTE: LABORATÓRIO DE PATOLOGIA E BIOLOGIA MOLECULAR				
ASSUNTO: Isolamento de DNA de tecidos animais (KIT DNAZOL) – Versão Simplificada				

PROTÓCOLO PARA EXTRAÇÃO DE DNA:

OBJETIVO

Isolar DNA oriundos de tecidos rígidos.

APLICAÇÃO

Este POP aplica-se unicamente ao Laboratório de Patologia e Biologia Molecular do IGM.

DIVULGAÇÃO

Este POP é divulgado eletronicamente na pasta de rede do LPBM na rede IGM local onde deverão estar todos os demais POPs do LPBM. Sua consulta está disponível somente para o pessoal do Laboratório de Patologia e Biologia Molecular do IGM. Uma cópia em papel pode ser emitida pelo Responsável Documentação de acordo com as seguintes restrições:

- Nome da pessoa ou entidade destinatária desta cópia deve constar do quadro de Usuários Principais com a menção "Cópia papel".;
- Prévia autorização do responsável para a aprovação deste POP.

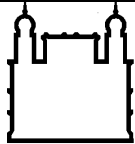
EMISSÃO, REVISÃO E APROVAÇÃO

Este POP foi:

- Emitido por : Gilmar Ribeiro Jr**
- Revisado por : Comissão de Revisão de POPs - LPBM**
- Aprovado por : Mitermayer Galvão dos Reis – Chefe do LPBM**

USUÁRIOS PRINCIPAIS

Acesso	Nome	Área
Via rede	Mitermayer Galvão dos Reis	Chefe do LPBM
Via rede	Luciano Kalabric Silva	Tecnologista em Saúde/LPBM
Via rede	Gilmar Ribeiro Júnior	Técnico em Saúde Pública
Cópia papel	Laboratório de Patologia e Biologia Molecular	LPBM
Via rede	Gilmar Ribeiro Júnior	Responsável Documentação

	<p style="text-align: center;">CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO</p> <p style="text-align: center;">MONIZ</p>			<p style="text-align: center;">Código IGM-POP-LPBM-002</p>
				<p style="text-align: center;">Página 3/19</p>
	<p style="text-align: center;">DATA EMISSÃO</p> <p style="text-align: center;">SET/2017</p>	<p style="text-align: center;">DATA DE VIGÊNCIA</p> <p style="text-align: center;">10/09/2020</p>	<p style="text-align: center;">PRÓXIMA REVISÃO</p> <p style="text-align: center;">SET/2020</p>	<p style="text-align: center;">Versão n. 01</p>
<p>ÁREA EMITENTE: LABORATÓRIO DE PATOLOGIA E BIOLOGIA MOLECULAR</p>				
<p>ASSUNTO: Isolamento de DNA de tecidos animais (KIT DNAZOL) – Versão Simplificada</p>				

HISTÓRICO

VERSÃO	DATA	PÁGINA	NATUREZA DA MUDANÇA
1	15/03/2013	1 a 4	Criação do Documento
2	18/03/2013	1 a 4	Revisão do Documento

DESCRIÇÃO

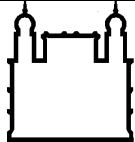
1. CAMPO DE APLICAÇÃO

Este protocolo utiliza condições estridentes para permitir o isolamento do DNA de tecidos animal. Em combinação com protocolos de PCR o diagnóstico molecular para detecção de infecções pode ser firmado, além de genotipagens e caracterizações moleculares.

2. PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

A técnica pode ser dividida em 3 etapas: **Lise Celular**, **Precipitação do DNA**, **Lavagem do DNA** e **Solubilização da Solução**.

Durante a etapa de **LISE CELULAR** as células são isoladas umas das outras e o DNA é separado da maioria dos contaminantes orgânicos pela ação da solução de uma solução de lise comercial (DNAzol®, Invitrogen), contendo detergentes, isotiocianato de guanidina e fenol tamponado. A solução do DNAzol® mantém a integridade do DNA total, enquanto desnatura e dissolve outros componentes da amostra.

	CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ			Código IGM-POP-LPBM-002
				Página 4/19
	DATA EMISSÃO SET/2017	DATA DE VIGÊNCIA 10/09/2020	PRÓXIMA REVISÃO SET/2020	Versão n. 01
ÁREA EMITENTE: LABORATÓRIO DE PATOLOGIA E BIOLOGIA MOLECULAR				
ASSUNTO: Isolamento de DNA de tecidos animais (KIT DNAZOL) – Versão Simplificada				

A etapa de **PRECIPITAÇÃO DO DNA** é realizada com a adição de Isopropanol PA. Após uma ultracentrifugação o DNA precipita no fundo do tubo sob a forma de um precipitado esbranquiçado.

Subseqüentemente, na fase de **LAVAGEM DO DNA**, a solução alcoólica é dispensada e o DNA é lavado por algumas vezes com etanol a 70%. Após uma ultracentrifugação o DNA precipita no fundo do tubo sob a forma de um precipitado esbranquiçado.

Na etapa final, **SOLUBILIZAÇÃO DA SOLUÇÃO**, a solução alcoólica de lavagem é dispensada e o tubo contendo o DNA é deixado aberto sobre a bancada para secar. Tipicamente, o DNA é dissolvido Buffer FG3 (FlexiGene Hydration buffer – Quiagen) ou ainda em água bidestilada ou em solução 8mM de NaOH, dosado e congelado a -70°C até o uso.

3. TERMINOLOGIA, DEFINIÇÃO E SÍMBOLOS

4. CUIDADOS

Precauções para prevenir a contaminação

- Sempre use luvas descartáveis. A pele sempre contém bactérias e fungos que podem contaminar uma preparação;
- Utilize as boas práticas microbiológicas para prevenir a contaminação por micróbios;
- Use plásticos estéreis, descartáveis e pipetadores automáticos reservados para o trabalho com DNA para prevenir contaminação cruzada com DNA de materiais compartilhados.

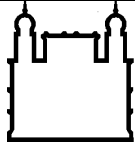
Outras precauções

- É recomendado utilizar tubos descartáveis feitos de polipropileno claro, quando trabalhar com volumes menores de 1,5mL de DNAzol® LS.
- Para volumes maiores, use vidrarias ou tubos de polipropileno e teste para ter certeza que estes materiais resistem a centrifugações de 12.000g com DNAzol®. Não utilize tubos que possam vazar ou quebrar.
- Equilibre cuidadosamente os pesos dos tubos antes de centrifugar.

5. PROTOCOLO

5.1 MATERIAIS

- ✓ Galeria para tubos de microcentrifuga de 1,5 e 2 ml
- ✓ Micropipetadores de 20µL, 200µL, 1000µL
- ✓ Ponteiras estéreis com barreiras compatíveis com os micropipetadores acima.
- ✓ Tubos de microcentrifuga de 1,5 ml estéreis

	CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ			Código IGM-POP-LPBM-002
				Página 5/19
	DATA EMISSÃO SET/2017	DATA DE VIGÊNCIA 10/09/2020	PRÓXIMA REVISÃO SET/2020	Versão n. 01
ÁREA EMITENTE: LABORATÓRIO DE PATOLOGIA E BIOLOGIA MOLECULAR				
ASSUNTO: Isolamento de DNA de tecidos animais (KIT DNAZOL) – Versão Simplificada				

- ✓ Ultra-microcentrífura refrigerada
- ✓ Banho Maria à 65°C
- ✓ Pistilos de maceração autoclavados;
- ✓ Recipientes para descarte SEPARADAMENTE de resíduos líquidos e ponteiras

5.2 REAGENTES

- ✓ Água bi-destilada
- ✓ DNAzol® LS (Invitrogen)
- ✓ Isopropanol (100%)
- ✓ Etanol 75%
- ✓ Solução 8mM NaOH
- ✓ Hipoclorito (descarte de ponteiras)

Cuidados:

Cuidado: O DNAzol usado no protocolo é tamponado para prevenir produtos de oxidação que poderiam danificar o DNA. Todavia, deve-se ter cuidado, porque soluções contendo DNAzol podem causar lesões químicas à pele e danificar vestimentas. Deste modo, uso de luvas, óculos de segurança e jaleco quando se estiver manuseando esta substância. Se possível trabalhe em capela química para evitar a inalação dos vapores.

Todos os líquidos resultantes do processo de isolamento de DNA não devem entrar em contato com hipoclorito e soluções ácidas e devem ser armazenados em recipiente de polipropileno com tampa e descartados como resíduos químicos.

5.3 PROCEDIMENTOS

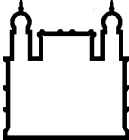
Todas as etapas desta parte do protocolo devem ser realizadas em uma área limpa, livre de aerossóis de ácidos nucleicos preferencialmente nas condições estéreis de um fluxo laminar (fluxo laminar 1 - área pré-amplificação).

Preparação dos reagentes

1. Mantenha a solução de isopropanol 100% suficientes para as etapas de precipitação.
2. Prepare soluções de etanol a 70% suficientes para as etapas de lavagem.
3. Descontamine os pistilos em solução de NaOH 1M por 24 horas antes da sua utilização.

Tratamento das Amostras

- a) Pesar e separar um volume entre 25 e 50 mg do tecido;
- b) Fragmentar o tecido em pequenos pedaços e ajustar o peso de todas as amostras antes da extração;

	CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ			Código IGM-POP-LPBM-002
				Página 6/19
	DATA EMISSÃO SET/2017	DATA DE VIGÊNCIA 10/09/2020	PRÓXIMA REVISÃO SET/2020	Versão n. 01
ÁREA EMITENTE: LABORATÓRIO DE PATOLOGIA E BIOLOGIA MOLECULAR				
ASSUNTO: Isolamento de DNA de tecidos animais (KIT DNAZOL) – Versão Simplificada				

CUIDADOS: Ao realizar este procedimento, esteja a par das boas praticas laboratoriais e de manipulação de animais com o uso de EPIs, evitando possíveis contaminações;

Todas as etapas desta parte do protocolo devem ser realizadas em uma área limpa, livre de aerossóis de ácidos nucléicos para evitar a contaminação das amostras:

Isolamento do DNA

A - LISE CELULAR

1. Emergir o tubo com o tecido em nitrogênio líquido, fazendo com que a amostra fique submersa por alguns segundos.
2. Macerar bem a amostra, tomando o cuidado de aguardar a maior parte do Nitrogênio Líquido dentro do tubo secar antes de realizar este procedimento.
3. Adicione em cada tubo de microcentrifuga de 2mL, 1000uL de DNAzol®.
Nota: Adicione primeiramente metade do volume de DNAzol®, misture a solução e em seguida adicione a outra metade
4. Misture o conteúdo dos tubos vigorosamente (20 sec. aproximadamente) e prossiga com a próxima amostra.
5. Após misturar a última amostra, aguarde **1 hora** para permitir que as amostras dissolvam;
6. Centrifugue os tubos por **5 min. a 10.000 rpm** em 4°C ou temperatura ambiente;

B – PRECIPITAÇÃO DO DNA

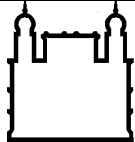
7. Transfira a fase aquosa superior (aprox. 1000µL) de todos os tudo em novos tubos de 1,5mL limpos devidamente identificados, tomando cuidado para não transferir a fase fenólica ou a interfase branca.
8. Adicione 500µL de Isopropanol PA em cada tubo. Misture os tubos por inversão e deixe 5 min à temperatura ambiente;
Nota: Caso haja a formação de uma emulsão muito espessa, que impossibilite extrair aprox. 1000µL, é aconselhável adicionar um volume de água livre de DNA e RNAses equivalente para recompor a amostra, agitar e re-centrifugar.
9. Centrifugue os tubos por **5 min. a 10.000rpm** em 4°C ou temperatura ambiente;

C – LAVAGEM DO DNA

10. Cuidadosamente, remova o sobrenadante e adicione 1 mL de etanol 75% (preparado com água DEPC);
11. Misture os tubos por inversão e deixe 5 min à temperatura ambiente;
12. Centrifugue os tubos por **5 min. a 13.000rpm** em 4°C ou temperatura ambiente;

D – ELUIÇÃO E DOSAGEM DO DNA

13. Cuidadosamente, remova o sobrenadante. O precipitado pode ser perdido nesta etapa. Deixe secar por alguns minutos em temperatura ambiente para que o etanol precipite completamente;

	<p style="text-align: center;">CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO</p> <p style="text-align: center;">MONIZ</p>			<p style="text-align: center;">Código IGM-POP-LPBM-002</p>
				<p style="text-align: center;">Página 7/19</p>
	<p style="text-align: center;">DATA EMISSÃO</p> <p style="text-align: center;">SET/2017</p>	<p style="text-align: center;">DATA DE VIGÊNCIA</p> <p style="text-align: center;">10/09/2020</p>	<p style="text-align: center;">PRÓXIMA REVISÃO</p> <p style="text-align: center;">SET/2020</p>	<p style="text-align: center;">Versão n. 01</p>
<p>ÁREA EMITENTE: LABORATÓRIO DE PATOLOGIA E BIOLOGIA MOLECULAR</p>				
<p>ASSUNTO: Isolamento de DNA de tecidos animais (KIT DNAZOL) – Versão Simplificada</p>				

14. Adicione **25uL da solução 8mM de NaOH (tampão de eluição)** em cada tudo e mantenha em banho Maria à 65°C por 15 minutos para solubilizar o DNA.
15. Dosar o DNA e congelar a -70°C.

6. FORMULÁRIOS ANEXOS

Não aplicável.

7. REFERÊNCIAS

1. CHOMCZYNSKI, P. & SACCHI, N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. **Anal Biochem** **162**: 156-9, 1987.
2. SAMBROOK, J., FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. **Molecular Cloning: A laboratory manual**. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 3. v.
3. Chomezynski, P, Mackey, K, Drews, R, Wilfinger, W (1997) DNAzol: a reagent for the rapid isolation of genomic DNA. *BioTechniques* 22: pp. 550-553

Anexo 2 – Reagentes e condições para a realização da PCR.

A. Reagentes utilizados para amplificação dos alvos moleculares

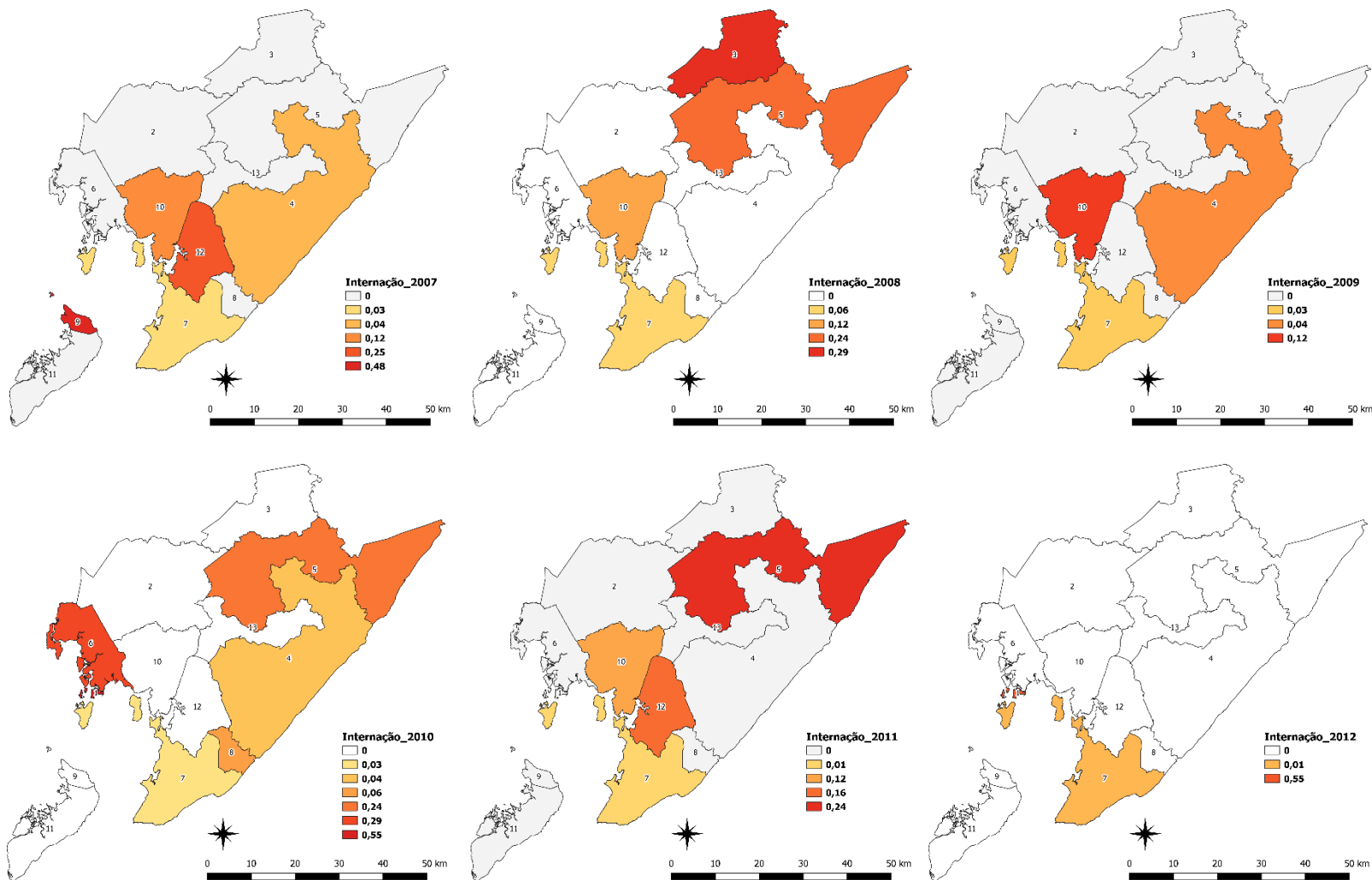
Reagentes	Concentração final	Tubo (uL)
H2O	-	17,85
10x buffer without Mg	1	2,5
MgCl (mM)	2,5	1,5
dNTPs (mM)	0.4	0,5
Primer A (TCC)	1	0,25
Primer B (TCI)	1	0,25
Primer C (TCII)	1	0,25
Taq (U/uL)	2	0,4
DNA (ng/uL)	100	1,5
Total volume (uL)	-	25

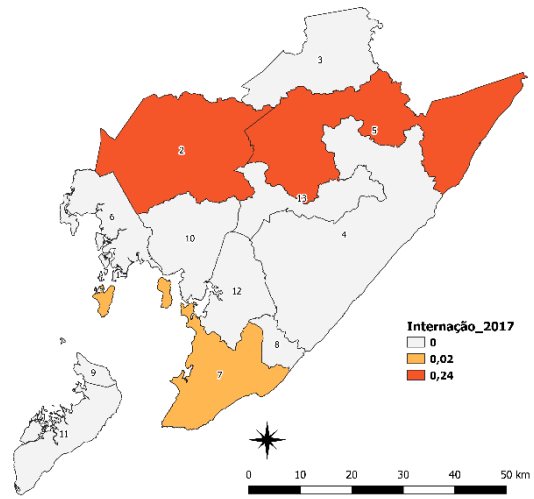
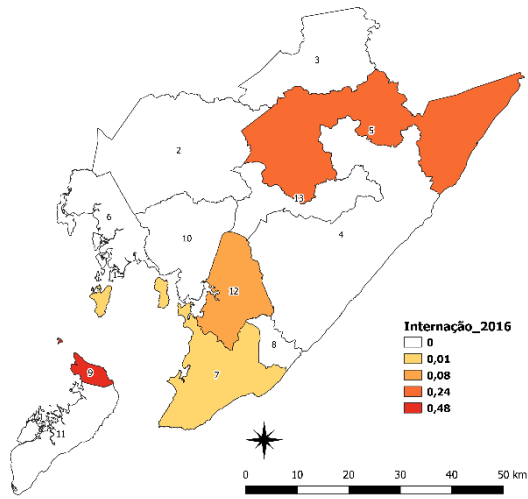
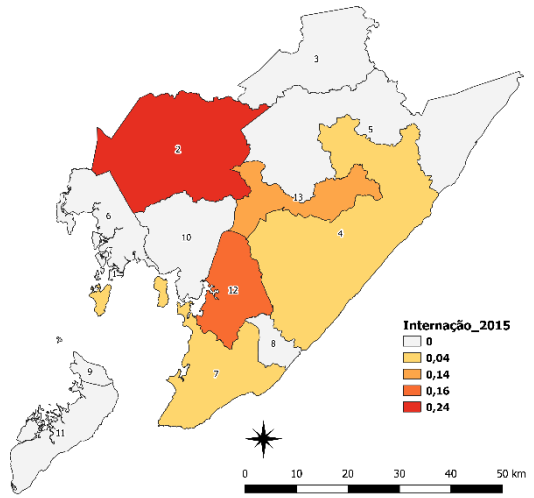
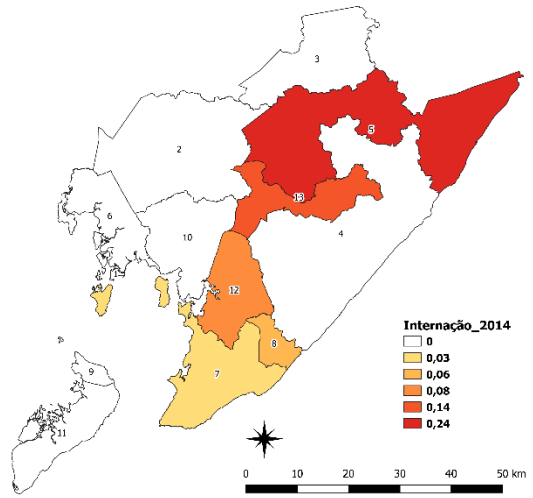
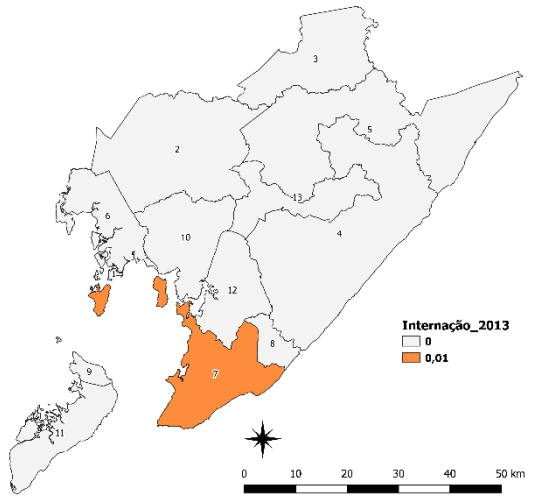
B. Condições de termociclagem utilizadas para amplificação dos alvos moleculares

Termociclador	Temperatura (°C)	Tempo (seg.)
Temperatura da Tampa	94	-
T1 - Desnaturação 1	94	180
T2 - Desnaturação 2	94	30*
T3 - Anelamento	60	30*
T4 - Alongamento	72	60*
T5 - Alongamento Final	72	600
Ao terminar manter a	12	∞

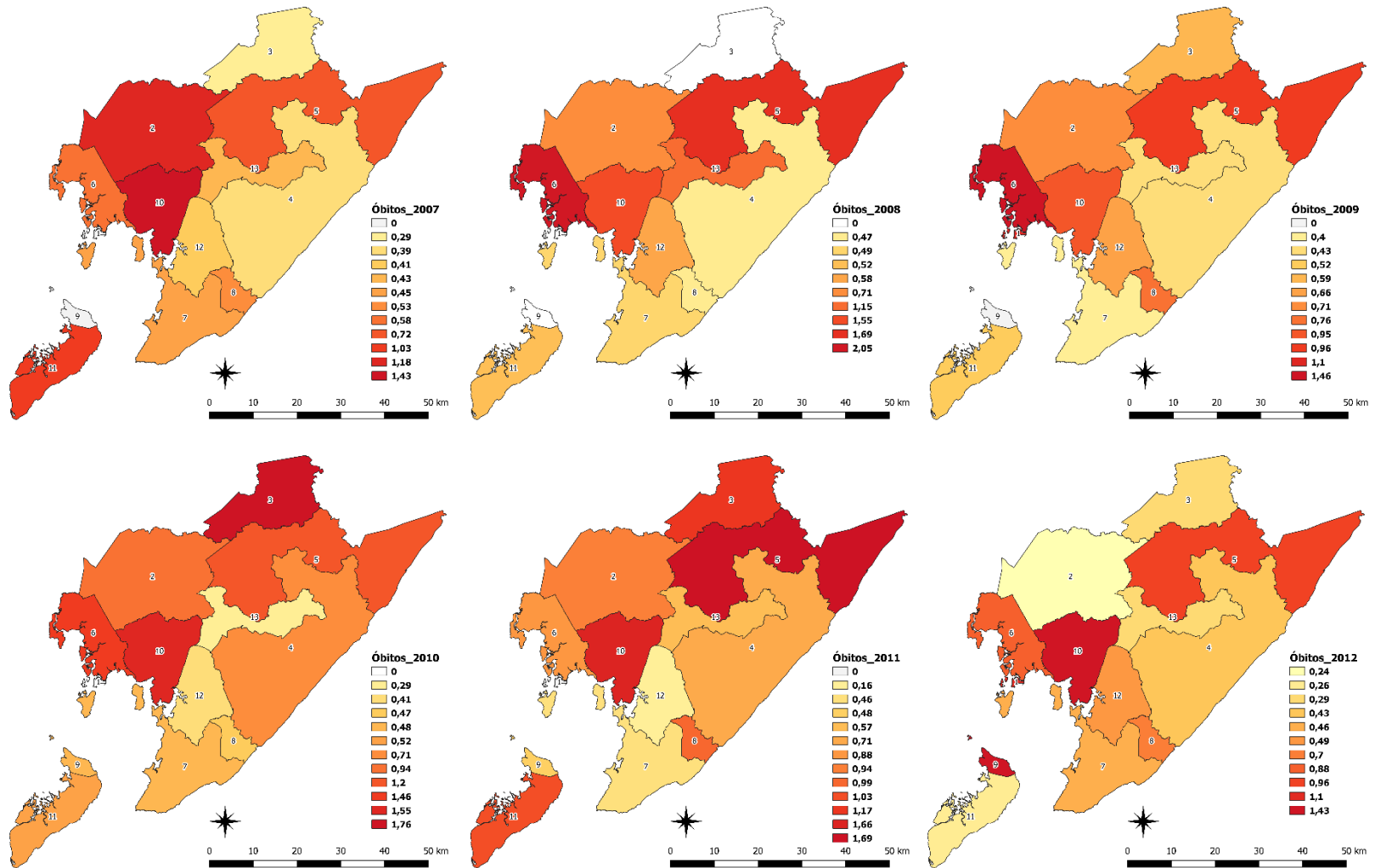
Legenda: *40 ciclos.

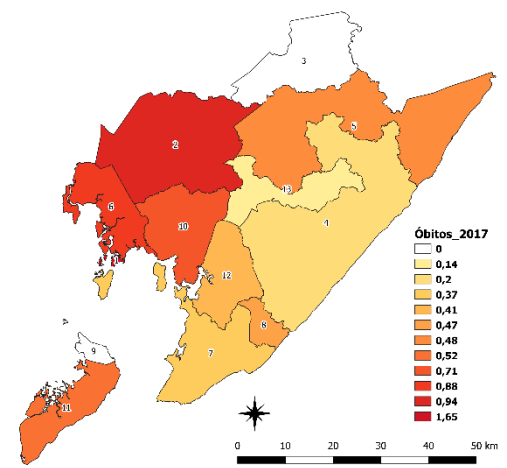
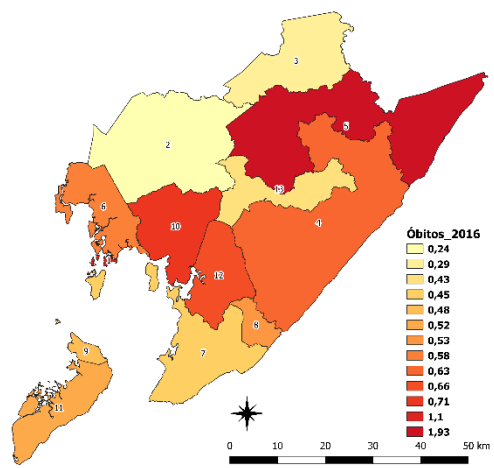
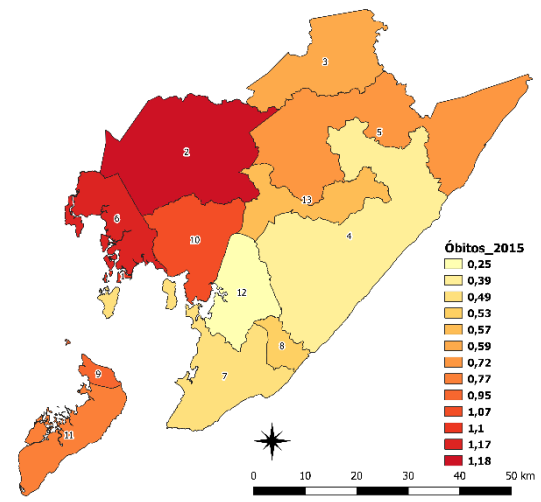
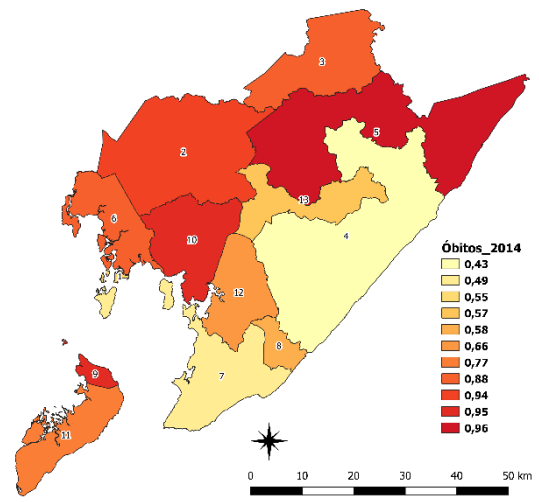
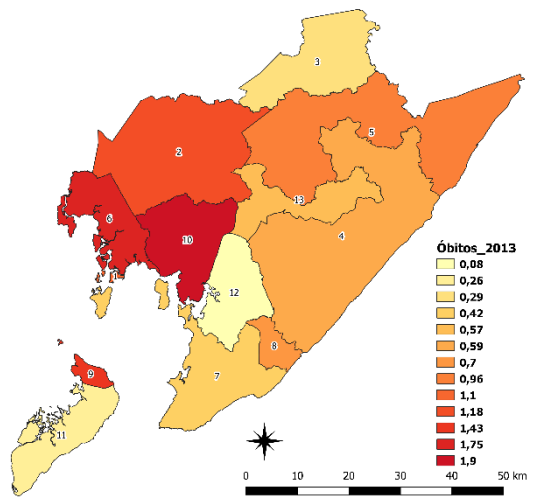
Anexo 3 - Média por ano da DC de acordo com AIH, no período de 2007 a 2017.



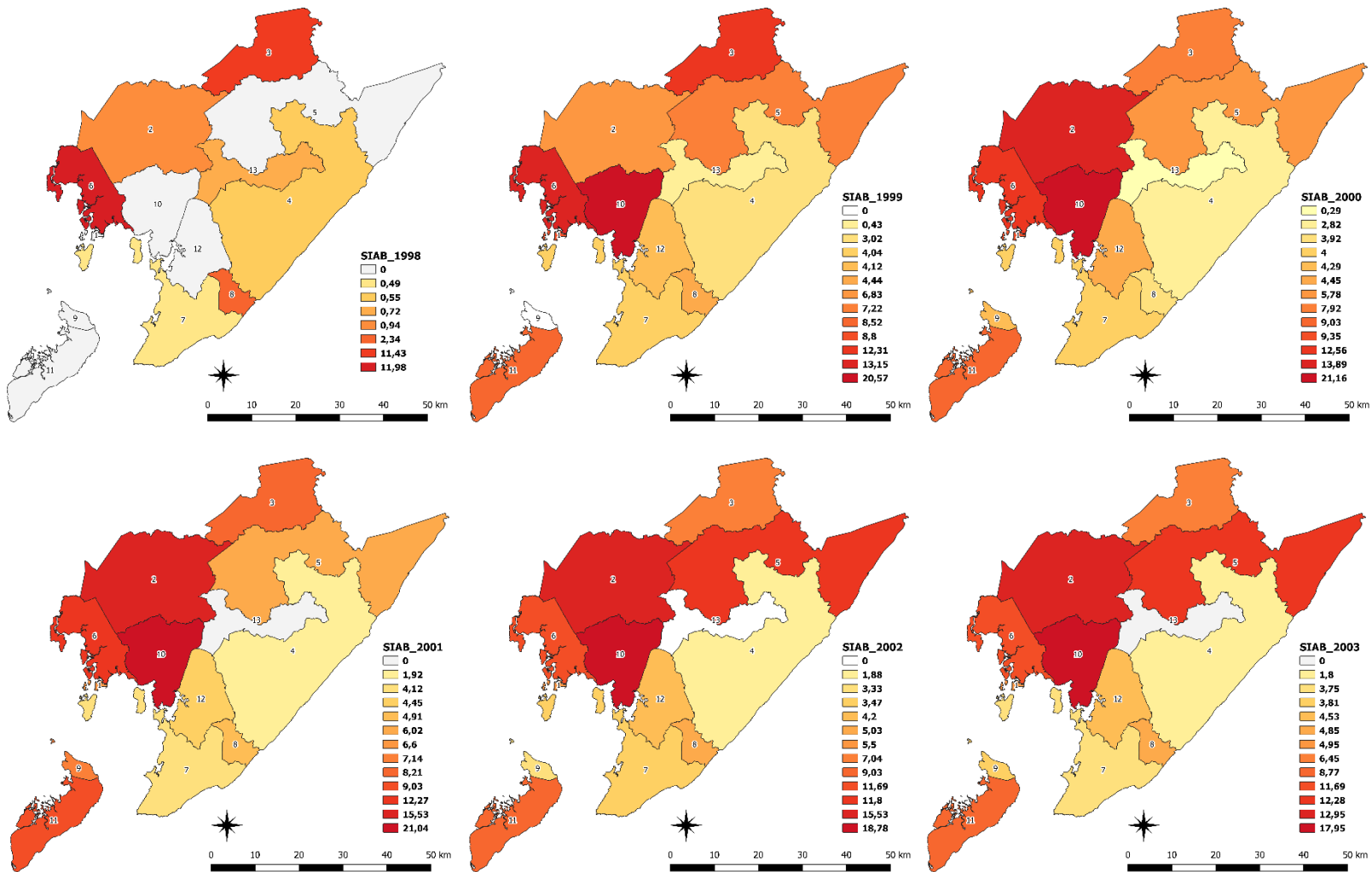


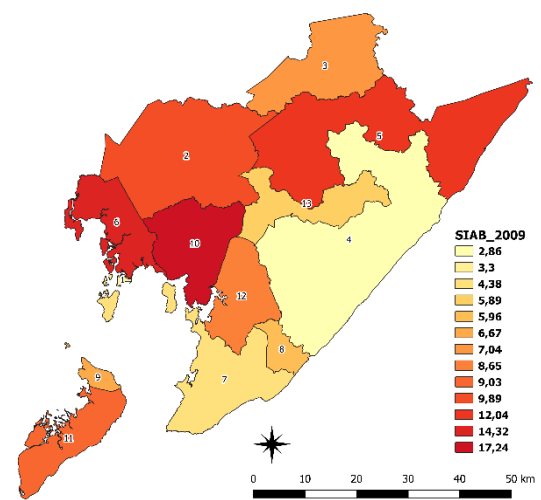
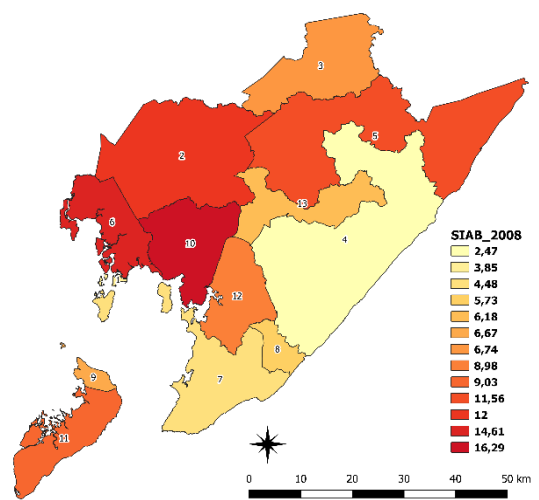
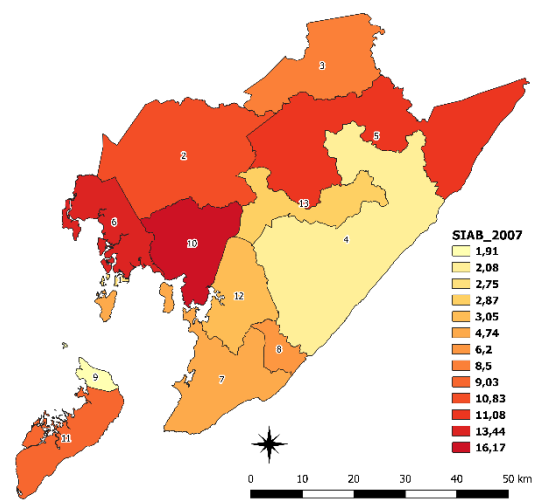
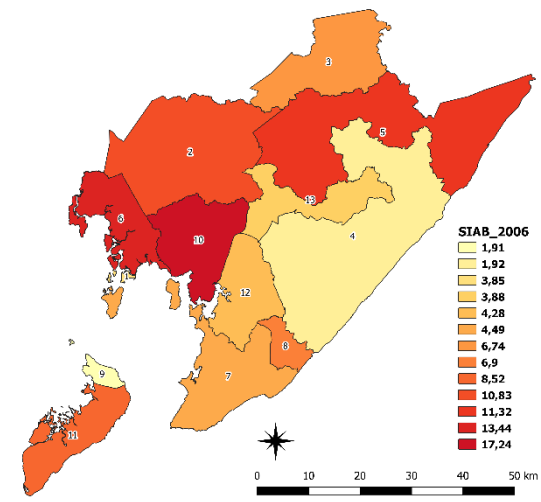
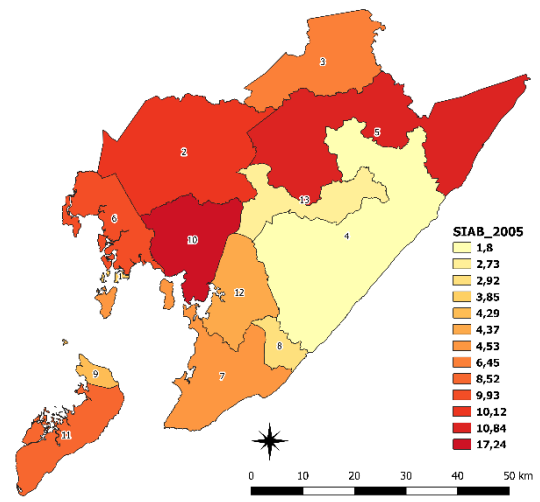
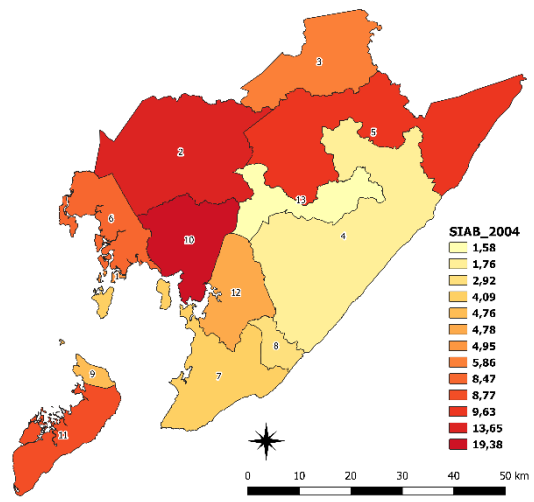
Anexo 4 - Média por ano da DC de acordo com os registros de óbitos, no período de 2007 a 2017.

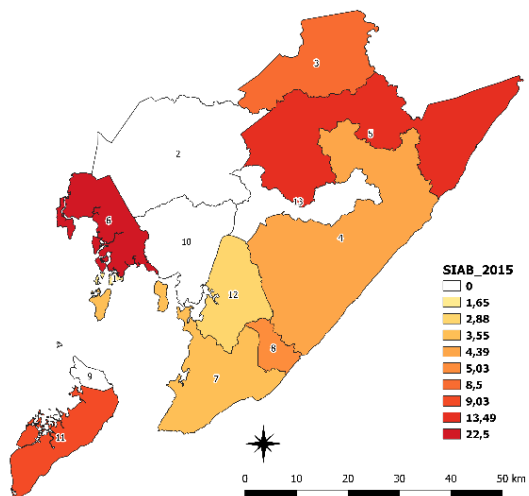
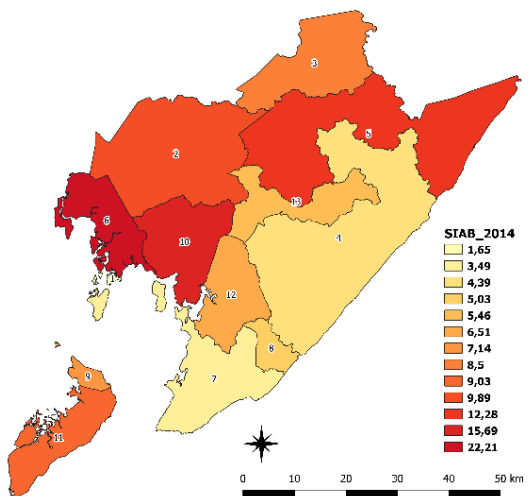
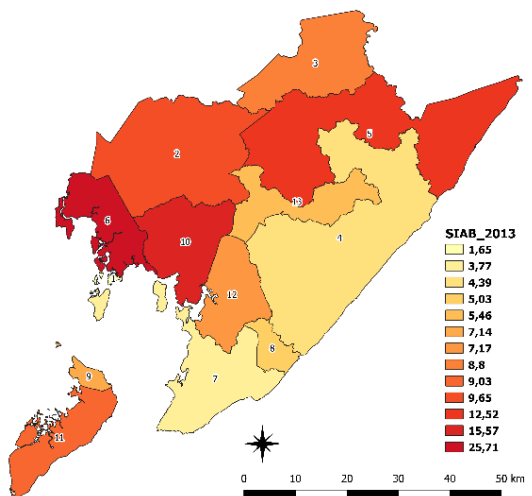
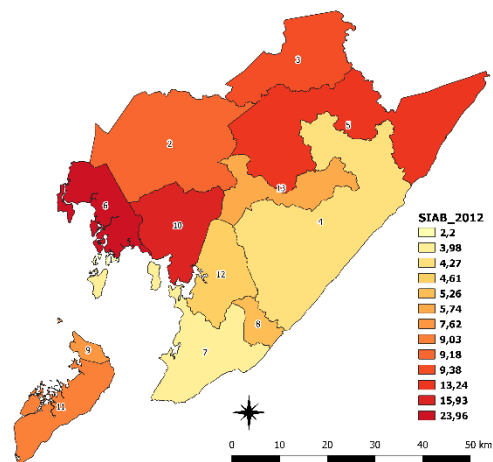
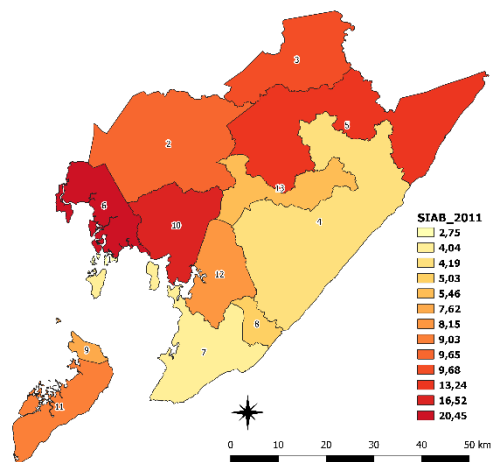
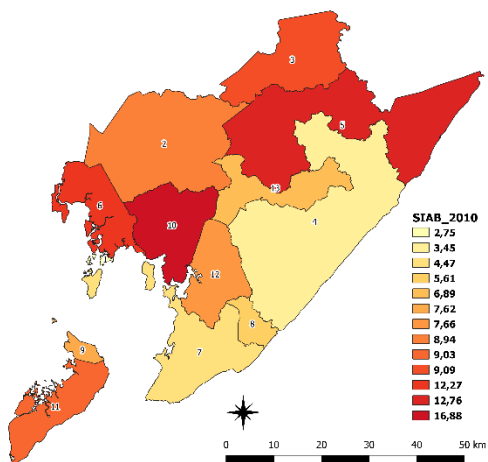




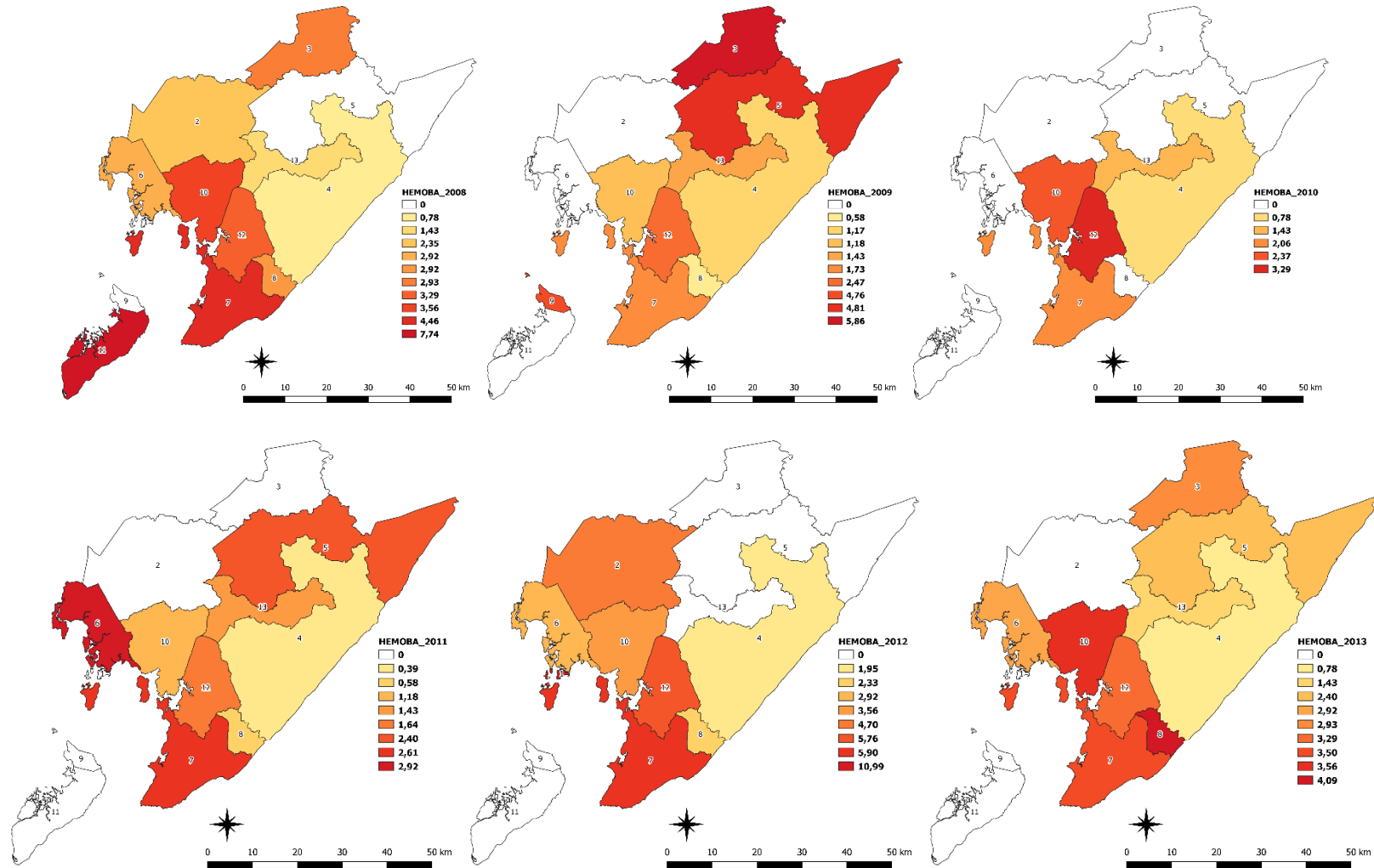
Anexo 5 - Média por ano dos indivíduos que se autorreferem com DC de acordo com os registros do SIAB, no período de 1998 a 2015.

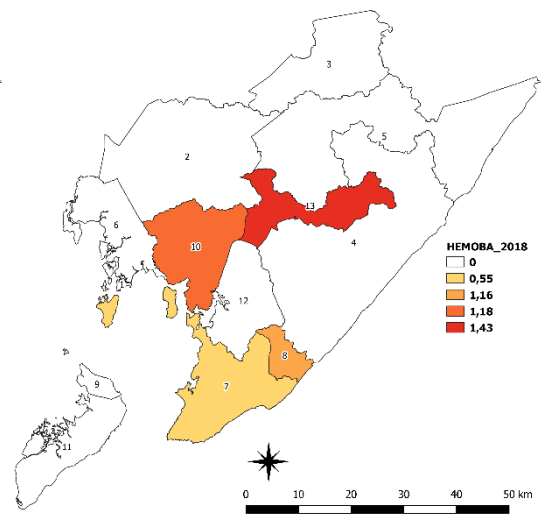
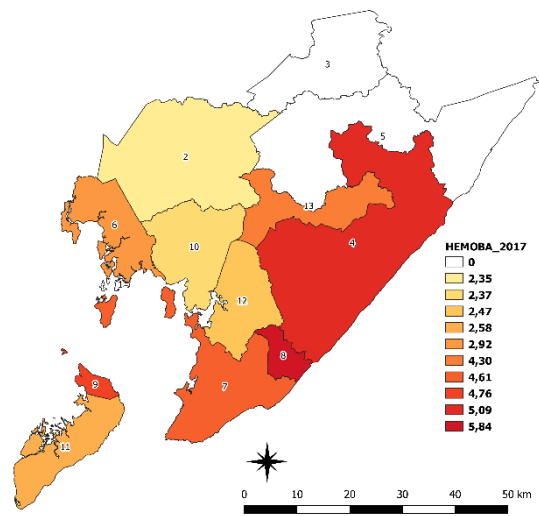
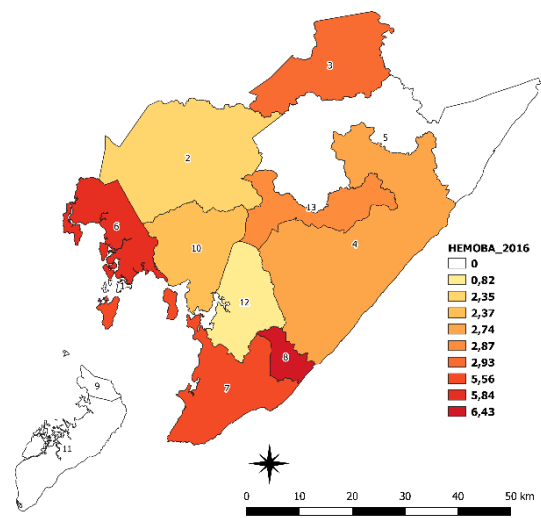
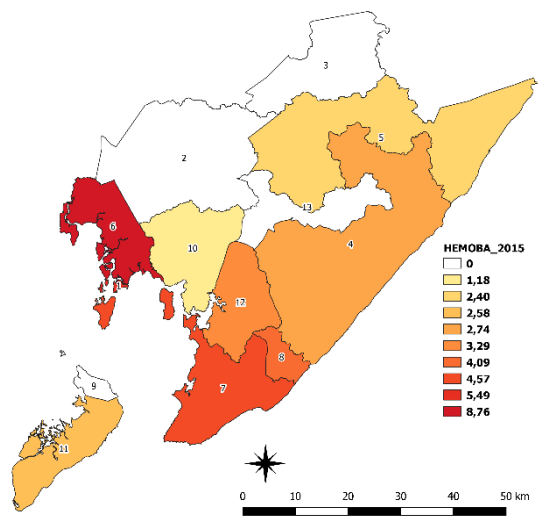
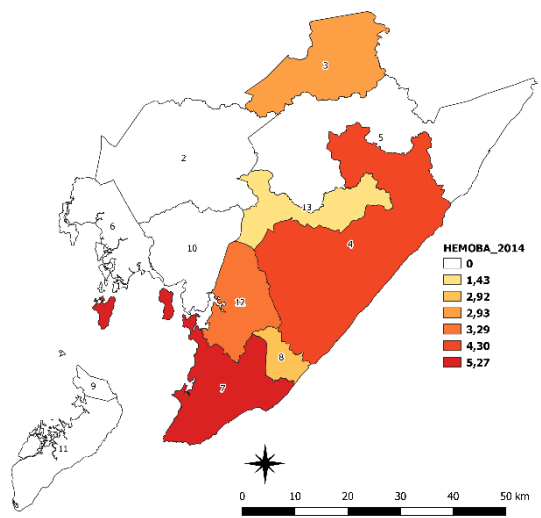






Anexo 6 - Média por ano de doadores de sangue do HEMOBA não negativos para DC, no período de 2008 a 2018.





**Anexo 7 – Artigo 1: Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection among
blood donors in the state of Bahia, Brazil.**

Anexo 8 – Artigo 2: Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi* transmission to humans and domestic animals in the State of Bahia, Brazil.

Major Article

Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection among blood donors in the state of Bahia, Brazil

Diego Lopes Paim Miranda^{[1],[2]}, Gilmar Ribeiro Jr^[2], Fernanda Cardoso Lanza^[2], Fred Luciano Neves Santos^[2], Renato Barbosa Reis^[2], Deborah Bittencourt Mothé Fraga^[2], Luciano Kalabric Silva^[2], Marinho Marques da Silva Neto^[3], Iraíldes de Jesus Santana^[3] and Mitermayer Galvão dos Reis^{[1],[2],[4]}

[1]. Faculdade de Medicina, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

[2]. Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, BA, Brasil.

[3]. Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

[4]. Universidade de Yale, New Haven, Connecticut, Estados Unidos da América.

Abstract

Introduction: Chagas disease (CD) affects 5.7-7.0 million individuals worldwide, and its prevalence reached 25.1% in the state of Bahia, Brazil. There is an association between the prevalence of CD, the socioeconomic status of the population, and the risk of re-emergence due to non-vectorial transmission, such as blood transfusion. This study determined the seroprevalence of *T. cruzi* infection among blood donors in the state of Bahia, located in northeastern Brazil, and their epidemiological profile during a 10-year period. **Methods:** We performed a descriptive cross-sectional study involving a database review. Data were collected from patients with non-negative results for *T. cruzi* infection during a 10-year period. **Results:** A total of 3,084 (0.62%) samples were non-negative for *T. cruzi* infection in an initial serological screening, and 810 (0.16%) samples were non-negative in the second screening. The correlation between infection and age (30 years or older) and between infection and lower educational level (12 years or less) in the first and second screening was statistically significant. The seroprevalence of *T. cruzi* infection was higher in men in the first screening. In addition, 99.52% of the municipalities of Bahia had at least one case of CD. Livramento de Nossa Senhora and Salvador presented the highest disease prevalence and recurrence, respectively. **Conclusions:** The seroprevalence of *T. cruzi* infection in these populations was lower than that found in other studies in Brazil but was comparatively higher in densely-populated areas. The demographic characteristics of our population agreed with previous studies.

Keywords: Chagas disease. Blood donor. Seroepidemiological studies.

INTRODUCTION

Human Chagas disease (CD), also known as American trypanosomiasis, is a vector-borne tropical disease caused by the protozoan hemoflagellate *Trypanosoma cruzi*. CD was discovered and initially described by Dr. Carlos Chagas in 1909, at Lassance, Minas Gerais, Brazil¹.

In Latin American countries, CD causes 12,000 to 14,000 deaths annually² and affects 5.7 to 7.0 million people³. More affordable traveling conditions from Latin America to non-

endemic areas and increasing international migration flows have increased *T. cruzi* infection beyond the borders of Latin America, and CD reached Europe, North America, and Oceania countries⁴⁻⁶.

The seroprevalence of *T. cruzi* infection decreased in Latin America (from 6.49% to 1.28%) and Brazil (from 6.96% to 0.21%) between 1970 and 2006⁷ as a consequence of control campaigns in endemic countries, which helped reduce vectorial and transfusion transmission. Despite this decreasing trend in endemic areas, neglected regions have a higher number of cases and infected individuals.

In Brazil, the overall prevalence of *T. cruzi* infection reached 4.2% between 2000 and 2002 in the northeast, and the infection rate was higher than 5%^{8,9}. More recently, micro-outbreaks of CD occurred via oral transmission in municipalities in the interior of the states of Santa Catarina and Bahia¹⁰.

Corresponding author: Dr. Mitermayer Galvão dos Reis.

e-mail: miter@bahia.fiocruz.br

Orcid: 0000-0002-3051-9060

Received 27 March 2019

Accepted 31 May 2019

Vectorial transmission is more common in endemic areas, in which the parasite is transmitted by contact with feces or urine of infected blood-sucking triatomine bugs (Hemiptera, Reduviidae). Other transmission routes include the consumption of contaminated foods or beverages, tissue and organ transplantation, mother-to-child transmission during pregnancy, laboratory accidents, induced or criminal infection, and blood transfusion. The transmission of *T. cruzi* via blood transfusion has increased because of urbanization and modernization of medicine¹¹ and is the predominant route of transmission in both endemic and non-endemic areas¹², especially in countries in which screening tests for CD are not mandatory in blood banks. Furthermore, *T. cruzi* tolerates extreme conditions, such as low temperatures (−80 to 4°C), and freezing and thawing¹³, indicating that the parasite can be transmitted in all blood components, including granulocytes, red blood cells, and plasma.

T. cruzi infection occurs predominantly in individuals living in rural areas⁸. However, the epidemiological status of CD has changed as a consequence of migration flows from rural areas to the periphery of large cities, where the presence of forest remnants increases the risk of disease transmission¹⁴⁻¹⁷.

Human CD is classified as a neglected transmitted disease, primarily affecting communities with higher social vulnerability, characterized by low income, poor housing and hygiene conditions, and low levels of schooling. For this reason, among parasitic diseases, CD is the most strongly associated with population vulnerability, in which the majority of seropositive individuals have these risk factors¹⁸.

Studies on CD should assess ecological, biological, social, and economic parameters to identify risk factors associated with disease development and progression. Furthermore, these studies reduce the risk of infection by producing knowledge for scientific and technological innovations.

Technologies capable of reducing the risk of transmitting infectious diseases through transfusion are critical to prevent the spread of contagious agents and ensure the quality of blood for transfusion¹⁹. Studies of discarded serological tests are capable of creating relevant technologies to improve the quality of blood transfusion. Serological screening has been used in several countries to improve public health programs. However, this type of testing is facing ethical, operational, and financial difficulties²⁰.

Training the teams responsible for collecting pre-donation information is critical, given that adequately collected epidemiological data may help avoid transmission and decrease costs in the public health system.

In addition to avoiding transmission, identifying individuals with suspected disease allows researchers to identify regions with a higher risk of transmission and the most relevant epidemiological characteristics associated with seropositivity. Moreover, identifying places of birth and residence with higher prevalence may help characterize areas with a higher risk of transmission in the state of Bahia.

Previous studies with blood donors reported that the percentage of non-negative results was higher among married

individuals, people in stable relationships⁷, and subjects with lower education levels²¹. The percentage of infection was higher in men²²⁻²⁵, although one study found that the rate was higher in women²¹. The number of cases was higher in older age groups, especially in individuals older than 30 years^{7,22,23,25,26}. Moreover, the percentage of infection between men and women differed according to age group²².

The objective of this study was to determine the seroprevalence of *T. cruzi* infection and describe the epidemiological profile of blood donors from the Hematology and Hemotherapy Foundation of Bahia (HEMOBA) with non-negative results for *T. cruzi* infection detected by screening tests during a 10-year period (February 2008 to February 2018) in the state of Bahia. The specific objectives were to determine the most relevant epidemiological characteristics of blood donors with inconclusive results for CD and identify the municipalities of origin of this population.

METHODS

Study design: Descriptive cross-sectional study involving a database review.

Target population: All blood donors from HEMOBA in the state of Bahia, Brazil, examined during the study period. HEMOBA is the official blood service in Bahia, and its units cover all health macro-regions in the state;

Diagnostic criteria: Non-negative results for *T. cruzi* infection;

Selection criteria:

- **Inclusion:** Donors with non-negative results for *T. cruzi* infection detected in serological screening tests performed at HEMOBA;
- **Exclusion:** Donors with negative serology in the second screening;

Variables: Gender, age, place of residence, place of birth, education level, racial group, marital status, number of annual blood donations, and test results in the first and second screening;

Clinical selection of candidates and release of blood bags:

To minimize the risk of *T. cruzi* infection via blood transmission, the Brazilian Ministry of Health has issued several ordinances, the most recent being Ordinance 5, which was published in the Official Gazette of the Union on September 28, 2017²⁷ and lists the criteria for the clinical selection of candidates for blood donation. HEMOBA created a standard computerized questionnaire (Hemovida System) following these criteria and disclosed the data for the study. The methodology used for the release of blood bags followed the recommendation of the Ministry of Health according to Ordinance 5.

Serological screening: High sensitivity tests are mandatory. Between January 1991 and January 2015, screening tests for CD among blood donors at HEMOBA used anti-*T. cruzi* antibodies and ELISA from MUREX (FRA) and BIOMÉRIEUX (FRA). Since February 2015, HEMOBA adopted serological screening by chemiluminescence using IgG and IgM class antibodies. These antibodies were purchased from ABBOTT (IL, USA)

until February 25, 2016, and from DIASORIN (ITA) since then to date. HEMOBA uses the same serological test in donors in the second screening and sends them to a referral unit in case of positivity.

Statistical analysis: Descriptive analyses were performed using the statistical package Epi Info 2000 (CDC, Atlanta, GE, USA). The χ^2 test was used to compare proportions, and a level of significance of 5% ($p < 0.05$) and a confidence interval of 95% were adopted in all tests. Qualitative variables were expressed as absolute numbers and relative frequency.

Georeferencing: The information was georeferenced using the software Qgis version 20.0 to identify groups with high rates of non-negative results for *T. cruzi* infection according to the place of residence. The natural breaks method with five class intervals was used because the variables were discrete.

Ethics

The adopted procedures were in accordance with the ethical standards of the Research Ethics Committee of the Gonçalo Moniz Institute (FIOCRUZ, Bahia, Brazil) and with the Helsinki Declaration of 1964, revised in 1975, 1983, 1989, 1996, and 2000. The consent form was waived because the analysis was based on a database. However, no personal identification data were used to ensure the complete anonymity of blood donors. The research did not cause any physical, psychic, moral, intellectual, social, cultural, or religious risk to blood donors.

RESULTS

During the 10-year study period (February 22, 2008 to February 21, 2018), 494,010 donors and 816,346 blood samples were examined at HEMOBA. In a preliminary analysis, 3,084 (0.62%) inconclusive samples were identified. All samples reactive for *T. cruzi* are considered non-negative by HEMOBA. Patients whose test results were non-negative or inconclusive were advised to return to HEMOBA to undergo a second screening. This orientation follows a protocol in which the blood center sends up to three letters to the donor's registered address, with an interval of 30 days between each of them. A total of 1,486 patients returned to the blood center for a second screening, of whom 810 (0.16%) were considered non-negative for *T. cruzi* infection.

Among the non-negative samples, 1,334 (43.26%) were analyzed by chemiluminescence using IgG and IgM antibodies and 1,750 (56.74%) by ELISA using anti-*T. cruzi* antibodies in the first screening, whereas 671 (45.15%) samples were analyzed by chemiluminescence using IgG and IgM antibodies and 815 (54.85%) by ELISA using anti-*T. cruzi* antibodies in the second screening.

The group of individuals positive for *T. cruzi* infection in the first and second screening (810) was analyzed by gender, age, racial group, marital status, educational level, place of residence, and place of birth.

In the first screening, the prevalence of non-negative results for *T. cruzi* infection was 0.62% (3048 samples) and was higher in men (PR, 1.0919; 95% CI, 1.02–1.17) and in blood donors aged 30 years or older (PR, 1.5863; 95% CI, 1.4676–1.7147).

The prevalence of non-negative results in donors with less than 12 years of schooling was 32% (PR, 1.3236; 95% CI, 1.2040–1.4550) when compared with those with at least 12 years of education. There was no statistically significant association between the place of birth and residence and the prevalence of non-negative serology in this population (**Table 1**).

The analysis of data from the second screening indicated that the prevalence of non-negative results for *T. cruzi* infection was 0.15% (810 samples). The prevalence was higher in blood donors aged 30 years or older (PR, 3.4497; 95% CI, 2.8547–4.1689) and donors with 12 years of schooling or less (PR, 2.6943; 95% CI, 2.1154–3.4317). There was no statistically significant association between non-negative serology, gender, and the place of birth and residence in Bahia (**Table 1**).

The data on the prevalence of non-negative results according to the marital status and racial group are shown in **Table 2**. Given the high miscegenation of the population in Bahia, it is difficult to classify the study sample into racial groups. Notwithstanding, there was no significant association between prevalence rates and racial groups.

The data on the place of residence of blood donors with non-negative results for *T. cruzi* infection were georeferenced and summarized in cartographic representations. The prevalence rates during the 10-year period in the first and second screening performed at HEMOBA is shown in **Figure 1**.

During the study period, 415 municipalities of Bahia were identified as places of residence of blood donors who presented at HEMOBA. Only the municipalities of Almadina and Jiquiriçá were not represented in the samples in this period. In addition, 608 cities outside of Bahia were identified as places of residence, with 11,656 donors (1.43%); however, these donors were not included in the geographical representations because these cities were outside the cartographic limit of the state.

According to the data from the first screening, the municipalities with the highest prevalence were Livramento de Nossa Senhora, located in the center-south of the state ($n=2$, 100%), Cotegipe ($n=14$, 6.31%), Wanderley ($n=17$, 6.69%), Sebastião Laranjeiras ($n=5$, 7.25%), Mulungu do Morro ($n=8$, 7.92%), Jaborandi ($n=4$, 8.33%), and Lajedinho ($n=1$, 10%). In the second screening, the municipalities with the highest prevalence were Livramento de Nossa Senhora ($n=2$, 100%), Boa Vista do Tupim ($n=1$, 3.85%), Wanderley ($n=11$, 4.33%), Botuporã ($n=1$, 4.7%), and Lajedinho ($n=1$, 10%).

The places of residence with at least one non-negative result per year between February 2008 and February 2018 in the second screening are shown in **Figure 2**.

The municipalities with the highest number of recurrences was Salvador (state capital) (11 out of 11 years), Feira de Santana (located in the north-central region of the state) (9 out of 11 years), Barreiras (8 out of 11 years), and Santo Antônio de Jesus (8 out of 11 years).

DISCUSSION

Human CD is endemic in Brazil, despite the success of government initiatives adopted in the past few decades.

TABLE 1: Factors associated with *T. Cruzi* infection in the first and second screening.

Characteristics	Seroprevalence of <i>T. cruzi</i> infection (2008-2018)									
	First screening					Second screening				
	Total	%*	PR	(95% CI)	p	Total	%*	PR	(95% CI)	p
Total	3084	0.62				810	0.16			
Sex										
Male	1908	0.65	1.0919	(1.0150-1.1733)	p < 0.05	470	0.16	0.9298	(0.8088-1.0689)	ns
Female	1176	0.59	1			340	0.17	1		
Age, years										
≥ 30	2196	0.44	1.5863	(1.4676-1.7147)	p < 0.001†	683	0.14	3.4497	(2.8547-4.1689)	p<0.001†
< 30	888	0.28	1			127	0.40	1		
Place of residence is located in Bahia										
Yes	3049	0.38	1.2657	(0.9075-1.7653)	ns	803	0.10	1.6667	(0.7922-3.5066)	ns
No	35	0.30	1			7	0.06	1		
Place of birth is located in Bahia										
Yes	2832	0.38	1.0743	(0.9447-1.2218)	ns	753	0.10	1.2629	(0.9649-1.6529)	ns
No	252	0.35	1			57	0.08	1		
Years of education										
≤ 12	2573	0.66	1.3236	(1.2040-1.4550)	p < 0.001†	738	0.19	2.6943	(2.1154-3.4317)	p<0.001†
> 12	511	0.50	1			72	0.07	1		

*% of total blood donors that belong to this category between 2008 and 2018. CI, confidence interval; ns, not significant. † Significant in a multivariate logistic regression analysis.

TABLE 2: Seroprevalence distribution according to marital status and racial group.

Characteristics	Seroprevalence of <i>T. cruzi</i> infection (2008-2018)			
	Sample 1		Sample 2	
	Total	%*	Total	%*
Total	3084	0.62	810	0.16
Marital status				
Married	1299	0.75	373	0.22
Separated	10	0.89	4	0.36
Divorced	57	0.62	20	0.22
Judicially separated	10	0.71	2	0.14
Single	1634	0.55	386	0.13
Widow	41	1.29	17	0.01
Others	33	0.50	8	0.12
Racial group				
Caucasian	172	0.59	45	0.15
Brazilian Caucasian	1069	0.60	277	0.16
Indian	4	0.27	1	0.07
Mixed	1422	0.66	400	0.18
Black	417	0.60	87	0.13
Asian	0	0	0	0

*% of total blood donors that belong to this category between 2008 and 2018.

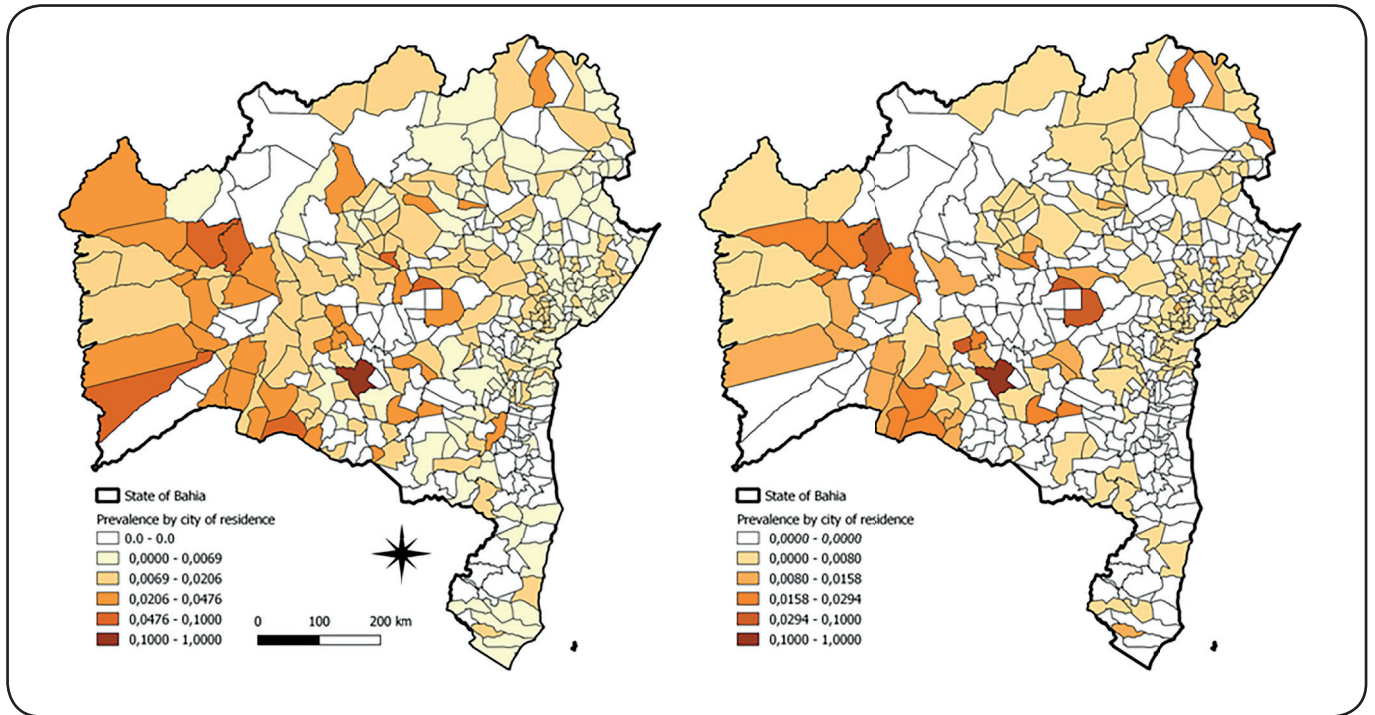


FIGURE 1: Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in the state of Bahia in the first screening (left) and second screening (right) between 2008 and 2018.

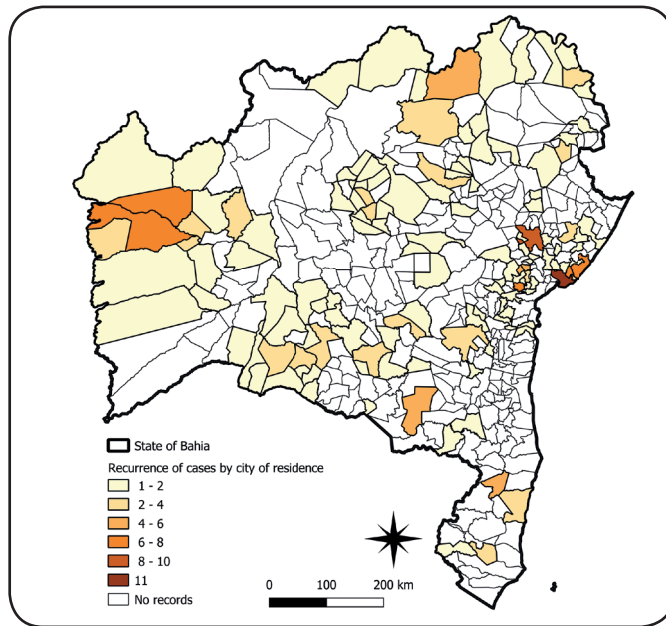


FIGURE 2: Recurrence of *Trypanosoma cruzi* infection (second sample) per year by municipality in the state of Bahia, Brazil, between 2008 and 2018.

Measures for eradicating vectorial transmission are constantly debated. However, much remains to be done because the disease is transmitted by other routes, including blood transfusion, which has gained importance in the epidemiological literature. Studies investigating the prevalence of CD in blood donors can provide quantitative epidemiological data and guide interventions in high-risk areas and population groups.

Among a population of 494,010 donors and 816,346 blood donations during the 10-year period, 3,084 (0.62%) samples were non-negative in the first screening. Among 1,486 donors, 810 (0.16%) samples were non-negative in the second screening. These rates may be underestimated because, despite strong guidance on the importance of second screening, many donors did not return to the blood units and therefore were not included in the analysis.

The prevalence rates were lower than those found in other studies conducted in Brazil but were relatively higher in densely-populated regions. Dias et al. (2000) found that the seropositivity for *T. cruzi* infection between 1987 and 1994 ranged from 0.77% to 2.22% in Bahia and from 0.69% to 0.88% in the northeast region of Brazil. Dias (1998) reported that the seropositivity between 1988 and 1990 in Brazil was 0.97% and decreased in the following years: 0.7–1.1% in 1991, 0.7% in 1993, and 0.75% in 1994; the seropositivity in the northeast of Brazil was 0.36% in 1994. In contrast, Monich (2016) found that the discard rate of donated blood in Curitiba between 2003 and 2012 varied from 0.6% to 0.9%, whereas Slavov et al. (2016) indicated that the discard rate in the state of São Paulo between 2012 and 2014 was 0.1%. It is worth mentioning that the methodology used in some studies did not involve second screening, and prevalence was calculated using donors with positive serology in the first screening. The prevalence in the present study using this approach was 0.62% (3,084 individuals).

The seroprevalence of *T. cruzi* infection was higher in individuals aged 30 years or older and individuals with 12 years or less of education in the first and second screening, and seroprevalence was significantly higher in men in the first screening. These results agree with previous studies²¹⁻²⁵. Data on seroprevalence rates according to marital status and racial group are summarized in **Table 1**.

With respect to the geographical distribution of the places of residence, 99.52% (415) of the municipalities of the state of Bahia and 608 municipalities outside the state borders had at least one diagnosed case of CD during the 10-years study period. Georeferencing was performed according to the place of residence rather than the place of birth because maternities are unavailable in many cities in the interior of the state. Moreover, the place of residence is a more reliable parameter because it represents, in most cases, the place where individuals are most exposed to infection throughout life.

Georeferencing enabled the identification of municipalities with higher seroprevalence (**Figure 1**). Increased access to blood transfusion services is a contributing factor for higher recurrence. Salvador, the state capital, is home to the HEMOBA headquarter and has the highest number of blood donors and donations, which may explain the higher rate of recurrence in this city. In addition, HEMOBA's blood collection stations were being implemented in municipalities of the state throughout the study period, which might have increased the number of blood donations.

Seroprevalence analysis of CD can accurately assess the risk of transfusion-related CD and the rate of disease transmission²⁸. This study identified high-prevalence regions in Bahia, allowing performing serological and epidemiological surveys in these areas and collecting epidemiological data to formulate health policies.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to The School of Medicine of the Federal University of Bahia, Oswaldo Cruz Foundation, and Foundation of Hematology and Hemotherapy of Bahia for the technical support.

Conflicts of Interests

The authors declare that there are no conflicts of interest associated with this study.

Financial Support

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (Project No. 0023/2013).

REFERENCES

- Chagas C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1909.
- Hotez PJ, Dumonteil E, Woc-Colburn L, Serpa JA, Bezek S, Edwards MS, et al. Chagas disease: "The New HIV/AIDS of the Americas". PLOS Negl Trop Dis. 2012;6(5):4-7.
- World Health Organization (WHO). Chagas disease (American Trypanosomiasis). Technical Report Series. Geneva: WHO, 2015; 2.
- Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. Acta Trop. 2010;115(1-2):14-21.
- Manne-Goehler J, Reich MR, Wirtz VJ. Access to care for Chagas disease in the United States: a health systems analysis. Am J Trop Med Hyg. 2015;93(1):108-13.
- Connors EE, Vinetz JM, Weeks JR, Brouwer KC. A global systematic review of Chagas disease prevalence among migrants. Acta Trop. 2016;156:68-78.
- Lima LM, Alves NP, Barbosa VF, Pimenta GA, Moraes-Souza H, Martins PRJ. Prevalence of Chagas disease in blood donors at the Uberaba Regional Blood Center, Brazil, from 1995 to 2009. Rev Soc Bras Med Trop. 2012;45(6):723-6.
- Dias JCP, Machado EM, Fernandes AL, Vinhaes MC. General Situation and perspectives of Chagas disease in Northeastern Region, Brazil. Cad Saude Publica. 2000;16(Suppl 2):13-34.
- Aras R, Velga M, Gomes I, Mota I, Rodrigues B, Rabelo R, et al. Prevalence of Chagas' Disease in Mulungu do Morro Northeastern Brazil. Arq Bras Cardiol 2002;78(5):441-3.
- Dias JP, Bastos C, Araújo E, Mascarenhas AV, Netto EM, Grassi F, et al. Acute Chagas disease outbreak associated with oral transmission. Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41(3):296-300.
- Rassi A, Rassi Jr A, Rezende JM. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). Infect Dis Clin. 2012;25:275-91.
- Wendel S. Transfusion transmitted Chagas disease: Is it really under control? Acta Trop. 2010;115(1-2):28-34.
- Goodhew B, Czaicki N, Forster K, Rajbhandary S, Hunter S, Brubaker AS. Trypanosoma cruzi Survival following Cold Storage: Possible Implications for Tissue Banking. PLoS One. 2014;9(12).
- Antonio F, Maegawa B, Damerou EF, Beltrame-botelho IT, Lopes A, Emmanuelle-machado P, et al. Autochthonous Chagas disease in Santa Catarina State, Brazil: report of the first case of digestive tract involvement. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36(5):609-12.
- Noya BA, Diaz-Bello Z, Colmenares C, Ruiz-guevara R, Mauriello L, Zavala-jaspe R, et al. Large Urban Outbreak of Orally Acquired Acute Chagas Disease at a Achool in Caracas, Venezuela. J Infect Dis. 2010;201(9):1308-15.
- Suárez J, Suárez CB, Alarcon de Noya B, Espinosa R, Chiurillo MA, Villaroel PA, et al. Enfermedad de Chagas sistémico en fase aguda

- por transmissão oral: diagnóstico integral de un caso autopsiado. *Gac Med Caracas*. 2010;118(3):212-22.
17. Sangenis LH, De Sousa AS, Sperandio da Silva GM, Xavier SS, Machado CR, Brasil P, et al. First report of acute Chagas disease by vector transmission in Rio de Janeiro State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2015;57(4):361-4.
 18. World Health Organization (WHO). Control of Chagas Disease: second report of the WHO expert committee. Technical Report Series. Geneva: WHO, 2002; 63.
 19. Carrazzone CF, Brito AM, Gomes YM. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2004;26(2):93-8.
 20. Monich AG, Dantas TW, Favero KB, Almeida PTR, Maluf EC, Capeletto CM, et al. Blood discard rate in a blood center in Curitiba – Brazil, Ten years of study. *Transfusion Apher Sci*. 2016;1353.
 21. Araújo AB, Vianna EES, Berne MEA. Anti-Trypanosoma cruzi Antibody Detection in Blood Donors in the Southern Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2008;12(6):480-2.
 22. Reiche EMV, Inouye MMZ, Pontello R, Morimoto HK, Jankevicius SI, Matsuo T, et al. Seropositivity for anti-trypanosoma cruzi antibodies among blood donors of the “Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná”, Londrina, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1996;38(3):223-40.
 23. Sobreira AC, Gomes FV, Silva MA, Oliveira MF. Prevalência de infecção chagásica em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Iguatu, CE. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2001;34(2):193-6.
 24. Silveira H, Mozart O, Norberg A, Pile E. Prevalência e formas clínicas de Trypanosoma cruzi em candidatas a doadores de sangue no Brasil. *Rev Saude Publica*. 2003;37(6):807-9.
 25. Slavov SN, Otaguiri KK, Pinto MT, Valente VB, Ubiali EMA, Covas DT, et al. Prevalence of Trypanosoma Cruzi antibodies in blood donors from the São Paulo State, Brazil, between 2012 and 2014. *J Infect Dev Ctries*. 2017;11(03):277-81.
 26. Sabino EC, Goncalvez TT, Salles NA, Silva GR, Chamone DF. Trends in the prevalence of Chagas’ disease among first-time blood donors in São Paulo, Brazil. *Transfusion*. 2003;43(7):853-6.
 27. Ministério da Saúde (MS). Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema Nacional de Vigilância em Saúde - Portaria de consolidação nº.5. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Brasília: MS; 2017.
 28. Dias JCP, Schofield CJ. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998;31(4):373-83.

Parasites & Vectors

Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi* transmission to humans and domestic animals in the State of Bahia, Brazil

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	PARV-D-19-00771	
Full Title:	Triatomine bugs maintain the risk of <i>Trypanosoma cruzi</i> transmission to humans and domestic animals in the State of Bahia, Brazil	
Article Type:	Research	
Section/Category:	Vector-Borne Zoonoses and One Health	
Funding Information:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (nº 014 2013 (PET0023/2013))	Mitermayer Galvão dos Reis
	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PROEP/CPqGM process 400904/2013-6)	Mitermayer Galvão dos Reis
Abstract:	<p>Background</p> <p>The identification of <i>Trypanosoma cruzi</i> and blood meal sources in synanthropic triatomines is important to assess the risk of Chagas disease transmission. We have identified <i>T. cruzi</i> and blood meal sources of triatomines caught in domiciles in the state of Bahia, northeastern Brazil, and mapped the occurrence of infected triatomines that fed on humans and domestic animals between 2012 and 2014.</p> <p>Methods</p> <p>Conventional PCR was applied to detect <i>T. cruzi</i> and blood meal sources (dog, cat, human, and bird) in a randomized sample of triatomines. Mapping was performed with QGIS20® software.</p> <p>Results</p> <p>In total, 5906 triatomines comprising fifteen species were collected from 127 out of 417 municipalities in Bahia. The molecular analyses of 695 triatomines revealed an ~10% <i>T. cruzi</i> infection rate, which was highest in the <i>T. brasiliensis</i> species complex. Most bugs were found to have fed on birds (74.2%), and other blood meal sources included dogs (6%), cats (0.6%) and humans (1%). <i>T. cruzi</i>-infected triatomines that fed on humans were detected inside houses. A spatial analysis showed a widespread distribution of <i>T. cruzi</i>-infected triatomines throughout Bahia. In addition, triatomines that fed on dogs, humans and cats were observed mainly in the Northeast Region of Bahia.</p> <p>Conclusions</p> <p>Our findings show that synanthropic triatomines maintain the risk of <i>T. cruzi</i> transmission to humans and domestic animals in Bahia, and there is a need to improve entomological surveillance strategies to identify the most vulnerable areas. Entomological and molecular techniques to evaluate <i>T. cruzi</i> infection and blood meal sources in synanthropic triatomines can be useful tools to identify areas with high transmission risks.</p>	
Corresponding Author:	Mitermayer Galvão dos Reis, Ph.D. Centro de Pesquisas Goncalo Moniz SALVADOR, BAHIA BRAZIL	
Corresponding Author E-Mail:	miter@bahia.fiocruz.br	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Centro de Pesquisas Goncalo Moniz	

Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Gilmar Ribeiro, Ph.D.
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Gilmar Ribeiro, Ph.D.
	Carlos G. S. dos Santos
	Fernanda Lanza
	Jamyllle Reis
	Fernanda Vaccarezza
	Camila Diniz
	Diego Lopes Paim Miranda
	Renato Freitas de Araújo
	Gabriel Muricy Cunha
	Cristiane Medeiros Moraes de Carvalho
	Eduardo Oyama Lins Fonseca
	Roberto Fonseca dos Santos
	Orlando Marcos Farias de Sousa
	Renato Barbosa Reis
	Wildo Navegantes de Araújo
	Rodrigo Gurgel-Gonçalves
	Mitermayer Galvão dos Reis
Order of Authors Secondary Information:	
Suggested Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response
Is this study a clinical trial?<hr><i>A clinical trial is defined by the World Health Organisation as 'any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes'.</i>	No
Are you submitting to an Article Collection?	No

[Click here to view linked References](#)

1 **Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi* transmission to**
2 **humans and domestic animals in the State of Bahia, Brazil**

3 Gilmar Ribeiro-Jr^{1,9} (gilmar@bahia.fiocruz.com), Carlos G. S. dos Santos^{1,3}
4 (carlosgustavoss@gmail.com), Fernanda Lanza¹ (fernanda.clanza@gmail.com),
5 Janylle Reis¹ (janylle_reis@hotmail.com), Fernanda Vaccarezza¹
6 (fernandavaccarezza.bio@gmail.com), Camila Diniz¹
7 (camila.d.carvalho@hotmail.com), Diego Lopes Paim Miranda^{1,5}
8 (diegolpmiranda@hotmail.com), Renato Freitas de Araújo²
9 (biirdeagle01@yahoo.com.br), Gabriel Muricy Cunha²
10 (cunha.gabrielmuricy@gmail.com), Cristiane Medeiros Moraes de Carvalho²
11 (crissmedeiros@hotmail.com), Eduardo Oyama Lins Fonseca⁴
12 (eduoyama@gmail.com), Roberto Fonseca dos Santos³ (insectavet@gmail.com),
13 Orlando Marcos Farias de Sousa⁸ (orlando.sousa@saude.gov.br), Renato Barbosa
14 Reis¹⁰ (georeis@gmail.com), Wildo Navegantes de Araújo⁷ (wildo@unb.br), Rodrigo
15 Gurgel-Gonçalves^{6**} (gurgelrg@hotmail.com), Mitermayer G. dos Reis †^{1,5,11**}
16 (miter@bahia.fiocruz.br)

17 ¹Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz – BA, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular,
18 Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA, CEP: 40296-710; ²SESAB /
19 Diretoria de Vigilância Epidemiológica – DIVEP. Centro de Atenção à Saúde José
20 Maria de Magalhães Netto. Av. Antônio Carlos Magalhães, s/nº, Parque Bela Vista -
21 CEP 41.820-000. ³SESAB / Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo
22 Moniz-LACEN. Rua Waldemar Falcão, 123 - Candeal, 40296-710. ⁴Instituto de
23 Tecnologias da Saúde (CIMATEC ITS), Av. Orlando Gomes, 1845 - Piatã, Salvador -
24 BA, 41650-010. ⁵Faculdade de Medicina – UFBA, Rua Reitor Miguel Calmon, s/n -
25 Vale do Canela, Salvador - BA, 40110-100; ⁶Laboratório de Parasitologia Médica e
26 Biologia de Vetores Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Campus,
27 Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte, Brasília 70910-900. Distrito Federal, Brazil;
28 ⁷Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília -
29 Campus Universitário Darcy Ribeiro, s/n, Asa Norte, Brasília 70910-900. Distrito
30 Federal, Brazil; ⁸Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de
31 Transmissão Vetorial, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde; SRTV
32 702, Via W 5 Norte - Brasília, DF, 70723-040; ⁹Faculdades Ruy Barbosa – Wyden, Rua
33 Theodomiro Baptista, 422 - Rio Vermelho, Salvador - BA, 41940-320; ¹⁰Universidade
34 Salvador – UNIFACS. ¹¹Yale University, New Haven, CT 06520, EUA.

35 **Short running title:** Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi*
36 transmission in Bahia.

37 † **Correspondence:** Mitermayer Galvão dos Reis, ¹Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz –
38 BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA, CEP: 40296-710 Tel.:
39 +55 71 99203 4137; email: miter@bahia.fiocruz.br

40 ** These authors contribute equally to this work.

42 **ABSTRACT**

43 **Background:** The identification of *Trypanosoma cruzi* and blood meal sources in
44 synanthropic triatomines is important to assess the risk of Chagas disease
45 transmission. We have identified *T. cruzi* and blood meal sources of triatomines caught
46 in domiciles in the state of Bahia, northeastern Brazil, and mapped the occurrence of
47 infected triatomines that fed on humans and domestic animals between 2012 and
48 2014.

49 **Methods:** Conventional PCR was applied to detect *T. cruzi* and blood meal sources
50 (dog, cat, human, and bird) in a randomized sample of triatomines. Mapping was
51 performed with QGIS20® software.

52 **Results:** In total, 5906 triatomines comprising fifteen species were collected from 127
53 out of 417 municipalities in Bahia. The molecular analyses of 695 triatomines revealed
54 an ~10% *T. cruzi* infection rate, which was highest in the *T. brasiliensis* species
55 complex. Most bugs were found to have fed on birds (74.2%), and other blood meal
56 sources included dogs (6%), cats (0.6%) and humans (1%). *T. cruzi*-infected
57 triatomines that fed on humans were detected inside houses. A spatial analysis
58 showed a widespread distribution of *T. cruzi*-infected triatomines throughout Bahia. In
59 addition, triatomines that fed on dogs, humans and cats were observed mainly in the
60 Northeast Region of Bahia.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85

Conclusions: Our findings show that synanthropic triatomines maintain the risk of *T. cruzi* transmission to humans and domestic animals in Bahia, and there is a need to improve entomological surveillance strategies to identify the most vulnerable areas. Entomological and molecular techniques to evaluate *T. cruzi* infection and blood meal sources in synanthropic triatomines can be useful tools to identify areas with high transmission risks.

Key words: Chagas disease, entomological surveillance, *T. cruzi*, blood meal; PCR.

Background

Chagas disease is the most frequent cause of heart failure in rural populations in vector-endemic countries in Latin America [1, 2]. Chagas disease is a chronic infection caused by *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), a protozoan transmitted by blood-feeding bugs [3]. No vaccines or effective antiparasitic treatments are available to cure Chagas cardiomyopathy, so vector surveillance and control are the main strategies to prevent human infection [4].

In Brazil, the control of Chagas disease vectors was implemented systematically from 1975–1983 when the main vector, *Triatoma infestans*, infested domiciles in 12 states. In 1991, Brazil integrated an international consortium to reduce vectorial transmission through insecticide spraying [5]. The systematic actions of chemical treatment were effective; in 2006, OMS certified Brazil as free of *T. cruzi* transmission by *T. infestans*. However, some recent outbreaks have been associated with oral transmission, mainly due to açai palm juice consumption [6], and new cases of vector-borne Chagas

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

84 disease transmitted by either sylvatic vectors invading houses or
85 domestic/peridomestic populations are being recorded in Brazil [7, 8].

86
87 Endemic areas for *T. cruzi* transmission in the state of Bahia were described a
88 few years after the discovery of Chagas disease and were mainly associated
89 with *Panstrongylus megistus* [9] and *T. infestans* [10]. More recently, outbreaks
90 of *T. cruzi* transmission associated with *Triatoma sordida* showed the potential
91 role of this species to transmit *T. cruzi* to humans [11, 12]. In addition, residual
92 foci of *T. infestans* were found in Bahia [13].

93
94 In Bahia, 26 triatomine species have been registered [14, 15]; most are strictly
95 associated with the external environment, but others are often detected inside
96 houses where they feed on domestic animals and humans. The identification of
97 *T. cruzi* and blood meal sources in synanthropic triatomines is important to
98 assess the risk of Chagas disease transmission in human dwellings. Here, we
99 identified *T. cruzi* and blood meal sources of triatomines caught in domiciles in
100 Bahia, northeast Brazil, and mapped the occurrence of infected triatomines that
101 fed on humans and domestic animals between 2012 and 2014.

102 103 **Methods**

104 *Study Area*

105 The state of Bahia has 417 municipalities, and it is situated in the Northeast
106 Region of Brazil (**Error! Reference source not found.**). In the western region of

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

107 Bahia, the Cerrado is the main biome, with relatively high precipitation and a
108 tropical climate. A tropical climate at altitude is observed in the city of Chapada
109 Diamantina; however, in the semiarid region, where the Caatinga biome
110 predominates, rainfall indices are very low and there are long dry periods. On
111 the marine coast, annual rainfall can exceed 1500 mm, and the main biome is
112 Atlantic Forest.

113

114 *Insect collection*

115 Information, GIS data and triatominae bugs were manually captured by a team
116 of trained agents from the Epidemiologic Surveillance team of Bahia State
117 Health Service (SESAB) and IGM/FIOCRUZ-BA. The collections were carried
118 out as established by the National Program for the Control of Chagas disease
119 [16] in the localities with prior history of infestation by triatomines. The
120 inspections of the internal and external walls of the residence and inside rooms
121 of the house unit and its annexes were carried out following the standardized
122 inspection protocol [17]. The specimens were captured inside the house and in
123 the peridomiciliary environment by health agents. Additionally, triatomines were
124 collected from the wild environment to serve as negative controls in the
125 analyses of blood meal sources, as DNA of humans and domestic animals
126 (cats, dogs and chickens) was not expected in sylvatic bugs. Metal forceps and
127 flashlights were used to survey crevices and nonluminous sites.

128

129 Sampled municipalities were selected by the Bahia state coordinated Chagas
130 Disease Control Program according to epidemiological priority criteria and the

131 capacity of each municipality to carry out the program activities. The teams
132 carried out collections based on the surveillance strategy of the Bahia Chagas
133 Disease Control Program.

134

135 The sampling was performed between 2012 and 2014. Triatomines were
136 identified using specific identification keys [18]. Then, triatomines were
137 photographed dorsally and ventrally, and the (1) head and wings, (2) legs, and
138 (3) abdomen were dissected. The samples were stored in 70% alcohol + 5%
139 glycerin at 5°C. The sample tubes were labelled with a QR code (**Error!**
140 **Reference source not found.**).

141

142 Standardized forms were completed in the field and went through a process of
143 double entry in an online Google Form®, available through the following links:
144 Type 1: <http://migre.me/rVrtw> and Type 2: <http://migre.me/rVrtY>. The data were
145 stored in different online Google Spreadsheet® links: Worksheet 1:
146 <http://migre.me/rVrBv> and Worksheet 2: <http://migre.me/rVrDK>. The sheets
147 were comparatively analyzed, and errors were corrected individually.

148

149 *T. cruzi* molecular detection and blood meal sources

150

151 Triatomines that were dead/dry or stored incorrectly and first- and second-stage
152 nymphs were not included in the molecular analyses to increase the efficacy of
153 DNA extraction with a DNAzol® commercial kit (Invitrogen, USA). Triatomine

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

154 dissection was carried out in a biological safety cabinet to avoid contamination
155 of the sample with human DNA. Obtained abdomen samples were macerated
156 with TissueLyser L-Beader® (Loccus, São Paulo), plastic disposable
157 maceration pistils and metal beads. Each sample was kept in a 2 ml autoclaved
158 conical tube with a screw cap, and 1000 ml of DNAzol and five autoclaved
159 stainless-steel metal beads were added.

160

161 After purification, the DNA concentration was determined by a NanoDrop®
162 spectrophotometer, and the samples were set to a concentration of ~100 ng/μL.
163 Conventional [19] and multiplex [20, 21] PCRs were performed with specific
164 primers to detect *T. cruzi* based on mini-circle of kinetoplast genes, mini-exon
165 genes (gene intergenic spacer mini-exon) and the cytochrome oxidase subunit
166 II (COII) gene).

167

168 To evaluate PCR inhibitors, the samples were subjected to amplification with an
169 ITS-2 nuclear rDNA marker [22]. For the amplification of molecular targets, a
170 commercial kit with Qiagen PCR Master MIX - QIAamp® was used. The
171 amplifications were performed in a Mastercycler Gradient® thermocycler
172 (Eppendorf). The PCR conditions and primers are described in Additional File 1.

173 Samples of *T. cruzi* cultures were obtained from the Experimental Chagas
174 Disease Laboratory (LACEI/CPqGM) and used for positive controls. The DNA
175 samples of dogs (*Canis familiaris L.*), bird (*Gallus L.*) and cat (*Felis catus L.*)
176 were obtained from the blood of healthy animals from the animal lab. The

177 human blood sample was obtained from the research team. All the samples
178 used as controls had the DNA purity evaluated with a Nanodrop®
179 spectrophotometer and adjusted to ~100 ng/μL concentration. Then, the
180 samples were aliquoted and kept at -70°C until use.

181

182 The amplified products (10 μl) were separated by electrophoresis in an agarose
183 gel, stained with SYBR Safe, visualized with blue light and photographed with a
184 Photo-documenter MultiDoc-it (UVP, Imaging Systems – USA). The images
185 were analyzed with UVP GelStudio™ (VisionWorks) software, and the results
186 were recorded in an electronic spreadsheet. PCR results were analyzed by
187 capillary electrophoresis in an Applied Biosystems ABI-3100 DNA sequencer.
188 The generated electropherograms were analyzed with GeneScan analysis
189 software version 3.1.

190

191 *Statistical analysis and mapping procedures*

192 *T. cruzi* infection of triatomine species and blood meal frequencies were
193 compared by the X^2 or Fisher's exact tests using the StartCalc tool in EpiInfo™.
194 For all statistical analyses, the confidence interval was evaluated, and a p-value
195 < 0.05 was defined. Records of triatomines in Bahia were referenced to
196 geographic coordinates using a GPS. When there was no information on the
197 specific GIS coordinates, we used the municipality centroid.
198 ArcGIS/ArcMap 10.5 software was used to map triatomine spatial distribution
199 and to perform spatial statistics. In order to determine if the spatial pattern

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
200 expressed of data is either clustered, dispersed, or random, the spatial
201 autocorrelation was evaluated by Global Moran's I, z-score and p-value
202 statistics interpretation at Spatial Autocorrelation Tool. To determine the
203 appropriate Distance Threshold or Radius to elaborate Kernel Density analysis,
204 we used the Incremental Spatial Autocorrelation Tool. This tool measures
205 spatial autocorrelation for a series of distance increments and reports, for each
206 distance increment, the associated Moran's Index, Expected Index, Variance, z-
207 score and p-value. Z-score peaks reflect distances where the spatial processes
208 promoting clustering are most pronounced. Hotspots were represented by
209 Kernel Density Analysis using Kernel Density tool. The layers (.shp) used during
210 this study were obtained from the IBGE website
211 (<https://downloads.ibge.gov.br/>).

212 **Results**

30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
213 In total, 5906 triatomines comprising fifteen species were collected from 127 of
214 417 municipalities in Bahia. Most of them (4640) were collected in 823
215 household units (intra- and peridomiciliary environments), especially in
216 peridomestic areas (90%). The remaining samples were obtained from the wild
217 environment. The distribution of sampled triatomines by species, collection
218 environments and municipalities are shown in **Error! Reference source not**
219 **found..**

51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
220 Intradomiciliary triatomines were collected in 55 municipalities where 610
221 specimens of 10 species were registered. Colonies of *T. sordida*, *T.*
222 *pseudomaculata* and *T. juazeirensis* were found in houses mainly in
223 municipalities in the Caatinga biome. Peridomiciliary triatomines were collected

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

224 in 97 municipalities where 4030 specimens of 13 species were registered. *T.*
225 *sordida* was the most captured and widely distributed species in Bahia state,
226 followed by *T. pseudomaculata* (**Error! Reference source not found.**). A colony
227 of *T. infestans* was detected with more than 400 specimens inside a chicken
228 coop five meters from a household. In the wild environment, 484 triatomines of
229 five species were captured in four municipalities.

230

231 In total, 696 triatomines were selected for molecular evaluation of *T. cruzi*
232 infection and blood meal analysis (**Error! Reference source not found.**). A total of
233 99.85% (n = 695) showed specific amplification for triatomine DNA with an ITS-
234 2 nuclear rDNA marker, indicating the DNA integrity of the samples. All
235 molecular targets evaluated have shown a spatial pattern expressed as
236 clustered and showed an appropriate radius, in miles, of 1.86 (*T. cruzi*), 2.11
237 (Man), 1,98 (Dog), 1,77 (Cat), 1.98 (Bird) (Fig. 4).

238

239 Almost 10% of the triatomines were infected by *T. cruzi* (CI: 0.075-0.121), and
240 the infection rate was highest in the *T. brasiliensis* species complex (**Error!**
241 **Reference source not found.**). The proportion of *T. cruzi*-infected triatomines
242 was higher in the wild environment ($X^2 = 134$, $p < 0.001$). Infected triatomines
243 were detected in 25 municipalities, mainly in the Caatinga biome (**Error!**
244 **Reference source not found.**). The kernel spatial analysis showed higher density
245 areas of *T. cruzi*-infected triatomines in northeast and central Bahia (**Error!**
246 **Reference source not found.** B).

247

248 Most bugs were found to have fed on birds (74.2%); other blood meal sources
249 were dogs (6%), cats (0.6%) and humans (1%) (**Error! Reference source not
250 found.**). Triatomines that fed on bird were detected widely in Bahia state (**Error!
251 Reference source not found.**), while those that fed on humans, dogs and cats
252 were mainly detected in the Northeast Region, near the state of Pernambuco
253 (**Error! Reference source not found.**).

254

255 Dog, cat and human molecular targets were detected only within the domestic
256 environment (intra- and peridomicile), and there was no significant difference
257 between them (X^2 dog = 3.4 p = 0.052; X^2 cat = 1.0 p = 0.297; X^2 human = 1.1 p
258 = 0.284). The frequency of triatomines that fed on birds was practically the
259 same as in the wild and peridomiciliary environments ($X^2 = 0.013$ p = 0.9076)
260 and statistically higher in the peridomiciliary environment than in intradomiciles
261 ($X^2 = 8.0$ p = 0.004).

262

263 *T. cruzi*-infected triatomines that fed on humans, dogs and cats were detected
264 inside houses. Triatomines that fed on dogs and humans were also detected in
265 peridomiciliary areas. All infected triatomines detected in the wild environment
266 contained bird DNA, and mixed blood sources were also observed (**Error!
267 Reference source not found.**).

268

269 **Discussion**

270

271 The most salient findings about *T. cruzi* infection and blood meal sources in
272 synanthropic triatomines in Bahia were as follows: 1) *T. cruzi*-infected triatomine
273 bugs may feed on human blood; 2) *T. cruzi*-infected triatomines have a
274 widespread distribution, but bugs that fed on dogs, humans and cats were
275 observed mainly in the Northeast Region; and 3) most bugs were found to have
276 fed on birds. These results show that synanthropic triatomines maintain the risk
277 of *T. cruzi* transmission to humans and domestic animals in Bahia.

278

279 During the two years of research, 15 of the 26 triatomine species of Bahia were
280 recorded. The species that infested the domestic environment of the sampled
281 municipalities most often were *Triatoma sordida*, *T. pseudomaculata* and the *T.*
282 *brasiliensis* species complex. The result differ from those observed before
283 systematic Chagas disease vector control was carried out between 1975 and
284 1983, when *P. megistus* and *T. infestans* were the most captured species inside
285 houses [10]. In our research, *P. megistus* was observed only in an invasive way
286 inside the residences, and *T. infestans* occurred in only one municipality. These
287 results show the success in controlling domestic triatomine species, with the
288 virtual elimination of *T. infestans* in Bahia municipalities [23, 24].

289

290 Our results also reveal the emergence of *T. juazeirensis*, *T. brasiliensis*, *T.*
291 *sherlocki*, *T. sordida* and *T. pseudomaculata*, which demonstrates their ability to
292 colonize synanthropic environments [25, 26]. In this scenario, there is a risk of

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

293 *T. cruzi* vector transmission and oral outbreaks of Chagas disease, as already
294 recorded with *T. sordida* in Bahia state [27]. *Triatoma juazeirensis* is a newly
295 described species [28] that is commonly misidentified as *T. brasiliensis*. Its
296 identification in Intradomiciliary environments adds new information about the
297 biological behavior of this species.

298

299 *T. cruzi* has been detected in vectors in all regions of Bahia. The evaluation of
300 *T. cruzi* infections in triatomines based on parasite morphology after optical
301 microscopy may result in underestimations [29]. Consequently, the risk of *T.*
302 *cruzi* transmission should be higher than entomological-parasitological routine
303 surveillance suggests [30]. For example, test-specific naïve indices of *T. cruzi*
304 infection in triatomines varied from 17.8%, considering only optical microscopy
305 results, to 41.5%, considering PCR results (23.1% positive by conventional
306 PCR and 41.3-41.4% by qPCR) [31]. Our results revealed a triatomine infection
307 rate of approximately 10% by conventional PCR, suggesting that the triatomine
308 infection in Bahia may be even higher than that observed in our study. These
309 infection rates also vary according to the species and development stage of the
310 sampled specimens. For example, the *T. cruzi* infection rates observed for *T.*
311 *tibiamaculata* ranged from 50-65% [32].

312

313 The *T. cruzi* infection rates observed in our work were similar to those obtained
314 in recent studies carried out in Pernambuco [33], Mato Grosso do Sul [34, 35]
315 Ceará [36, 37] and Bahia [32, 38]. *T. cruzi* infection rates of *T. sordida* were
316 generally less than 5% based on parasitological methods; however, other

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

317 researchers [31] estimated rates of 35% based on qPCR, a more sensitive
318 evaluation method, which reinforces the relevance of this species as a potential
319 *T. cruzi* vector. *T. infestans* was not found to be infected by *T. cruzi*, as all the
320 specimens were collected from a single colony in a chicken coop near the
321 household unit; this is an unusual situation for this species, as it is considered to
322 be exotic and domestic in Bahia [39].

323

324 The most frequent blood meal source detected in triatomines in Bahia was birds
325 (74%), similar to other works [32, 40]. Birds are an important link in the
326 domiciliation process of triatomines because they are a blood meal source
327 found widely in wild environments and commonly breed in human dwellings
328 [41], favoring the occurrence of triatomine colonies in these environments [42,
329 43].

330

331 Human, dog and cat DNA, at 1%, 6% and 0.6%, respectively, were observed
332 less frequently. It is important to point out that previous studies show the key
333 role of domestic animals in maintaining *T. cruzi* circulation within the human
334 dwelling, increasing *T. cruzi* transmission risk to humans and domestic animals
335 [44, 45].

336

337 The species found with human DNA were *T. brasiliensis*, *T. juazeirensis* and *T.*
338 *sordida*, and several other studies have revealed that these species are capable
339 of transmitting *T. cruzi* to humans in the domestic environment [46-48].

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

340 Regarding the spatial distribution of *T. cruzi* and blood meals, clusters of
341 infected triatomines that fed on humans and domestic animals in the Northeast
342 Region of Bahia were observed in the municipalities of Curaçá and Irecê.
343 Simulations of vulnerability to *T. cruzi* vector-borne transmission in Brazil based
344 on the most prevalent species [49] also indicated the Northeast Region of Bahia
345 as having high vulnerability to the vector-borne transmission of *T. cruzi*.

346

347 We conclude that triatomines remain widely distributed in Bahia, with relevant *T.*
348 *cruzi* infections and active feeding on human and domestic animals inside
349 houses, mainly in the Northeast Region of Bahia. Finally, our results contribute
350 to the mapping of Chagas Disease vector transmission risk in Bahia state.

351 **List of abbreviations**

352 *T. cruzi*: *Trypanosoma cruzi*; *T. brasiliensis*: *Triatoma brasiliensis*; PCR:
353 Polymerase Chain Reaction; *T. infestans*: *Triatoma infestans*; SESAB:
354 Epidemiologic Surveillance team of Bahia State Health Service; DNA:
355 Deoxyribonucleic acid; ITS-2: Internal transcribed spacer - 2; GPS: Global
356 Position System; GIS: Geographic Information System; *T. sordida*: *Triatoma*
357 *sordida*; *T. pseudomaculata*: *Triatoma pseudomaculata*; *P. megistus*:
358 *Panstrongylus megistus*; *T. juazeirensis*: *Triatoma juazeirensis*; *T. sherlocki*:
359 *Triatoma sherlocki*; qPCR: quantitative Polymerase Chain Reaction; *T.*
360 *tibiamaculata*: *Triatoma tibiamaculata*;

361 **Declarations**

362 **Ethics approval and consent to participate**

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

363 The adopted procedures were in accordance with the ethical standards of the
364 Research Ethics Committee of the Gonçalo Moniz Institute (FIOCRUZ, Bahia,
365 Brazil) nº 2.552.284 and with the Helsinki Declaration of 1964, revised in 1975,
366 1983, 1989, 1996, and 2000. The consent form was waived because the
367 analysis was based on a state surveillance service of Bahia – Brazil. However,
368 no personal identification data were used to ensure the complete anonymity of
369 participants. The research did not cause any physical, psychic, moral,
370 intellectual, social, cultural, or religious risk to the residents and animals of
371 inspected households.

372 **Consent for publication**

373 Not applicable

374 **Availability of data and materials**

375 The datasets generated and/or analyzed during the current study are available
376 from the corresponding author on reasonable request.

377 **Competing interests**

378 The authors declare that there are no conflicts of interest associated with this
379 study.

380 **Funding**

381 Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) nº 014 2013
382 (PET0023/2013), PROEP/CPqGM process 400904/2013-6, Fiocruz/BA – IGM –
383 scientific initiation scholarship grand. The funding sources of this study had no

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

384 role in the study design, data collection, data analysis, data interpretation,
385 writing of the report, or in the decision to submit the paper for publication.

386 **Author's Contribution**

387 **Gilmar Ribeiro-Jr** – Outline of the research project, gathering of data, writing,
388 technical editing, statistical analysis calculation, triatominae DNA purification,
389 processing of triatomine samples, molecular evaluation, statistical analysis,
390 georeferencing and language editing; **Carlos G. S. dos Santos** - acquisition of
391 data from SESAB, gathering of data and proofreading; **Fernanda Lanza** –
392 Triatominae DNA purification, molecular evaluation of samples; **Jamylle Reis** –
393 Processing of triatomine samples; **Fernanda Vaccarezza** – Processing of
394 triatomine samples; **Camila Diniz** – Triatominae DNA purification, Processing of
395 triatomine samples; **Diego Lopes Paim Miranda** – proofreading and language
396 editing; **Renato Freitas de Araújo** – proofreading, georeferencing and
397 technical editing; **Gabriel Muricy Cunha** – acquisition of data from SESAB,
398 gathering of data and proofreading; **Cristiane Medeiros Moraes de Carvalho**
399 – acquisition of data from SESAB, gathering of data and proofreading; **Eduardo**
400 **Oyama Lins Fonseca** – acquisition of data from SESAB, gathering of data and
401 proofreading; **Roberto Fonseca dos Santos** – acquisition of data from SESAB,
402 gathering of data and proofreading; **Orlando Marcos Farias de Sousa** –
403 acquisition of data from SESAB, gathering of data and proofreading; **Renato**
404 **Barbosa Reis** – proofreading, georeferencing and technical editing; **Wildo**
405 **Navegantes de Araújo** – proofreading, georeferencing and technical editing;
406 **Rodrigo Gurgel-Gonçalves** – Outline of the research project, proofreading,
407 georeferencing and technical editing; **Mitermayer G. dos Reis** – Outline of the

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

408 research project, proofreading, georeferencing and technical editing, author
409 correspondence.

410 **Acknowledgments**

411 We are grateful to Oswaldo Cruz Foundation, and epidemiological surveillance
412 office (SESAB-DIVEP) for the technical support and entomology team for
413 coordinating the field collection of triatomines.

414 **Authors' information**

415 Not applicable

416 **Endnotes**

417 Not applicable

418 **REFERENCES**

- 419
- 420 1. Stanaway JD, Roth G. The burden of Chagas disease: estimates and
421 challenges. *Glob Heart* 2015, 10(3):139-144.
 - 422 2. Hotez PJ, Dumonteil E, Woc-Colburn L, Serpa JA, Bezek S, Edwards MS,
423 Hallmark CJ, Musselwhite LW, Flink BJ, Bottazzi ME. Chagas disease: "the new
424 HIV/AIDS of the Americas". *PLoS Negl Trop Dis* 2012, 6(5):e1498.
 - 425 3. Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae),
426 and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the American
427 museum of Natural History* 1979, 163(3):123-520.
 - 428 4. Moncayo Á, Silveira A. Current epidemiological trends of Chagas disease in
429 Latin America and future challenges: epidemiology, surveillance, and health
430 policies. *Elsevier* 2017:59-88.
 - 431 5. Silveira AC. Entomological survey (1975-1983). *Rev Soc Bras Med Trop* 2011,
432 44 Suppl 2:26-32.
 - 433 6. Santana RAG, Guerra M, Sousa DR, Couceiro K, Ortiz JV, Oliveira M, Ferreira
434 LS, Souza KR, Tavares IC, Morais RF *et al.* Oral Transmission of *Trypanosoma
435 cruzi*, Brazilian Amazon. *Emerg Infect Dis* 2019, 25(1):132-135.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
- 436 7. Abad-Franch F, Diotaiuti L, Gurgel-Goncalves R, Gurtler RE. Certifying the
437 interruption of Chagas disease transmission by native vectors: *cui bono?* Mem
438 Inst Oswaldo Cruz 2013, 108(2):251-254.
 - 439 8. Salvatella R, Irabedra P, Castellanos LG. Interruption of vector transmission by
440 native vectors and "the art of the possible". Mem Inst Oswaldo Cruz 2014,
441 109(1):122-125.
 - 442 9. Brumpt E, Silva Pd. Existence du "*Schizotrypanum cruzi*" Chagas, 1909, à
443 Bahia (Mata de São João) Biologie du *Conorhinus megistus*. Bull Soc Pathol
444 Exotique 1912, 5:22-26.
 - 445 10. SHETLOCK, Ítalo A. and SERAFIM, Elizete M. Fauna Triatominae no Estado
446 da Bahia, Brasil: as espécies e distribuição geográfica. Rev. Soc. Bras. Med.
447 Trop. 1972, vol.6, n.5, pp.265-276.
 - 448 11. Dias JP, Bastos C, Araujo E, Mascarenhas AV, Martins Netto E, Grassi F, Silva
449 M, Tatto E, Mendonca J, Araujo RF *et al.* Acute Chagas disease outbreak
450 associated with oral transmission. Rev Soc Bras Med Trop 2008, 41(3):296-
451 300.
 - 452 12. Bastos CJ, Aras R, Mota G, Reis F, Dias JP, de Jesus RS, Freire MS, de
453 Araujo EG, Prazeres J, Grassi MF. Clinical outcomes of thirteen patients with
454 acute chagas disease acquired through oral transmission from two urban
455 outbreaks in northeastern Brazil. PLoS Negl Trop Dis 2010, 4(6):e711.
 - 456 13. Araujo RF, Jose Mendonca V, Rosa JA, Matos JF, Lima SC, de Araujo
457 Figueiredo MA. Description of a newly discovered *Triatoma infestans*
458 (Hemiptera: Reduviidae) Foci in Ibipeba, State of Bahia, Brazil. Rev Soc Bras
459 Med Trop 2014, 47(4):513-516.
 - 460 14. Mendonca VJ, Alevi KC, Pinotti H, Gurgel-Goncalves R, Pita S, Guerra AL,
461 Panzera F, De Araujo RF, Azeredo-Oliveir MT, Rosa JA. Revalidation of
462 *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera: Reduviidae) and
463 phylogeny of the *T. brasiliensis* species complex. Zootaxa 2016, 4107(2):239-
464 254.
 - 465 15. Gurgel-Gonçalves R, Galvão C, Mendonça J, Neto E. Guia de triatomíneos da
466 Bahia. Ed. UEFS - Feira de Santana, BA. 2012.
 - 467 16. Brasil. Manual de normas técnicas da campanha de controle da doença de
468 Chagas. Ministério da Saúde/SUCAM Centro de Documentação do Ministério
469 da Saúde, Brasília 1980:167.
 - 470 17. Brasil. Controle da Doença de Chagas: Diretrizes Técnicas. Ministério da
471 Saúde Fundação Nacional de Saúde Brasília, DF 1996:80.
 - 472 18. Galvão C. Vetores da doença de Chagas no Brasil. 2014.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

473 19. Alevi KC, Rosa JA, Azeredo-Oliveira MT. Distribution of constitutive
474 heterochromatin in *Triatoma melanocephala* (Hemiptera, Triatominae). Genet
475 Mol Res 2014, 13(3):7899-7903.

476 20. Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B. DNA markers
477 define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. Mol Biochem
478 Parasitol 1996, 83(2):141-152.

479 21. Zingales B, Andrade SG, Briones MR, Campbell DA, Chiari E, Fernandes O,
480 Guhl F, Lages-Silva E, Macedo AM, Machado CR *et al.* A new consensus for
481 *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting
482 recommends TcI to TcVI. Mem Inst Oswaldo Cruz 2009, 104(7):1051-1054.

483 22. Marcilla A, Bargues MD, Ramsey JM, Magallon-Gastelum E, Salazar-Schettino
484 PM, Abad-Franch F, Dujardin JP, Schofield CJ, Mas-Coma S. The ITS-2 of the
485 nuclear rDNA as a molecular marker for populations, species, and phylogenetic
486 relationships in Triatominae (Hemiptera: Reduviidae), vectors of Chagas
487 disease. Mol Phylogenet Evol 2001, 18(1):136-142.

488 23. Silveira AC, Dias JC. The control of vectorial transmission. Rev Soc Bras Med
489 Trop 2011, 44 Suppl 2:52-63.

490 24. Brandão H, Fonseca E, Santos R, Júnior G, Santos C, Cova B, Will R, Reis M.
491 Descrição de focos residuais de *Triatoma infestans* (Klug, 1834) no município
492 de Novo Horizonte, Bahia. Rev. Baiana Saúde Públ 2015, 39:91.

493 25. Gurgel-Goncalves R, Galvao C, Costa J, Peterson AT. Geographic distribution
494 of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. J Trop
495 Med 2012, 2012:705326.

496 26. Walter A, do Rego I, Ferreira A, Rogier C, de pour le Développement F, de
497 Brasília B, de Saúde B, de du de des Armées F. Risk factors for reinvasion of
498 human dwellings by sylvatic triatomines in northern Bahia State, Brazil. Cad
499 Saúde Pública 2005, 21(3):974-978.

500 27. Shikanai-Yasuda MA, Carvalho NB. Oral transmission of Chagas disease. Clin
501 Infect Dis 2012, 54(6):845-852.

502 28. Costa J, Felix M. *Triatoma juazeirensis* sp. nov. from the state of Bahia,
503 Northeastern Brazil (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem Inst Oswaldo
504 Cruz 2007, 102(1):87-90.

505 29. Lardeux F, Aliaga C, Depickere S. Bias due to methods of parasite detection
506 when estimating prevalence of infection of *Triatoma infestans* by *Trypanosoma*
507 *cruzi*. J Vector Ecol 2016, 41(2):285-291.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
- 508 30. Haidamak J, Shimada MK, do Rocio Klisiowicz D, Reifur L. *Trypanosoma cruzi*
509 vector infection rate is underestimated in some localities in the state of Bahia.
510 Rev Patol Trop 2016, 45(1):55.
- 511 31. Minuzzi-Souza TTC, Nitz N, Cuba CAC, reports H-L. Surveillance of vector-
512 borne pathogens under imperfect detection: lessons from Chagas disease risk
513 (mis) measurement. Sci Rep 2018.
- 514 32. Ribeiro G, Jr., Gurgel-Goncalves R, Reis RB, Santos CG, Amorim A, Andrade
515 SG, Reis MG. Frequent house invasion of *Trypanosoma cruzi*-infected
516 triatomines in a suburban area of Brazil. PLoS Negl Trop Dis 2015,
517 9(4):e0003678.
- 518 33. Silva MBA, Barreto AVMS, da Silva HA, Galvao C, Rocha D, Jurberg J, Gurgel-
519 Goncalves R. Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the state of
520 Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma*
521 infection rates between 2006 and 2007. Rev Soc Bras Med Trop 2012,
522 45(1):60-65.
- 523 34. Cominetti MC, Csordas BG, Cunha RC, Andreotti R. Geographical distribution of
524 *Trypanosoma cruzi* in triatomine vectors in the State of Mato Grosso do Sul,
525 Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2014, 47(6):747-755.
- 526 35. Almeida PSd, Ceretti Júnior W, Obara MT, Santos HR, Barata JMS, Faccenda
527 O. Levantamento da fauna de Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) em
528 ambiente domiciliar e infecção natural por *Trypanosomatidae* no Estado de
529 Mato Grosso do Sul. Rev Soc Bras Med Trop 2008, 41(4):374-380.
- 530 36. Gonçalves TCM, Freitas ALC, Freitas SPC. Surveillance of Chagas disease
531 vectors in municipalities of the state of Ceará, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz
532 2009, 104(8):1159-1164.
- 533 37. Coutinho CFdS, Souza-Santos R, Teixeira NFD, Georg I, Gomes TF, Boia MN,
534 Reis NBd, Maia AdO, Lima MM. An entomoepidemiological investigation of
535 Chagas disease in the state of Ceará, Northeast Region of Brazil. Cad Saúde
536 Pública 2014, 30(4):785-793.
- 537 38. Mendonca VJ, de Oliveira J, Rimoldi A, Filho JC, de Araujo RF, da Rosa JA.
538 Triatominae survey (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in the south-central
539 region of the state of Bahia, Brazil between 2008 and 2013. Am J Trop Med
540 Hyg 2015, 92(5):1076-1080.
- 541 39. Garcia BA, de Rosas AR, Blariza MJ, Grosso CG, Fernandez CJ, Stroppa MM.
542 Molecular Population Genetics and Evolution of the Chagas' Disease Vector
543 *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Curr Genomics 2013, 14(5):316-
544 323.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

545 40. Lucero DE, Ribera W, Pizarro JC, Plaza C, Gordon LW, Pena R, Jr., Morrissey
546 LA, Rizzo DM, Stevens L. Sources of blood meals of sylvatic *Triatoma*
547 *guasayana* near Zurima, Bolivia, assayed with qPCR and 12S cloning. PLoS
548 Negl Trop Dis 2014, 8(12):e3365.

549 41. Rabinovich JE, Kitron UD, Obed Y, Yoshioka M, Gottdenker N, Chaves LF.
550 Ecological patterns of blood-feeding by kissing-bugs (Hemiptera: Reduviidae:
551 Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz 2011, 106(4):479-494.

552 42. da Silva RA, Scandar SAS, Rodrigues V. Cuidados do domicílio pela população
553 em área infestada por *Triatoma sordida*. Rev Baiana de Saúde Pública. 2011.

554 43. Ricardo-Silva A, Goncalves TC, Luitgards-Moura JF, Lopes CM, Silva SP,
555 Bastos AQ, Vargas NC, Freitas MG. *Triatoma maculata* colonises urban
556 domicilios in Boa Vista, Roraima, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2016,
557 111(11):703-706.

558 44. Curtis-Robles R, Wozniak EJ, Auckland LD, Hamer GL, Hamer SA. Combining
559 Public Health Education and Disease Ecology Research: Using Citizen Science
560 to Assess Chagas Disease Entomological Risk in Texas. PLoS Negl Trop Dis
561 2015, 9(12):e0004235.

562 45. Gottdenker NL, Chaves LF, Calzada JE, Saldana A, Carroll CR. Host life history
563 strategy, species diversity, and habitat influence *Trypanosoma cruzi* vector
564 infection in Changing landscapes. PLoS Negl Trop Dis 2012, 6(11):e1884.

565 46. de Souza RCM. Does *Triatoma brasiliensis* occupy the same environmental
566 niche space as *Triatoma melanica*? Parasite & Vector. 2015.

567 47. Costa J, Dornak LL, Almeida CE, Peterson AT. Distributional potential of the
568 *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future
569 climate conditions. Parasite Vector 2014, 7:238.

570 48. Batista VS, Fernandes FA, Cordeiro-Estrela P, Sarquis O, Lima MM. Ecotope
571 effect in *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) suggests phenotypic
572 plasticity rather than adaptation. Med Vet Entomol 2013, 27(3):247-254.

573 49. Vinhaes MC, de Oliveira SV, Reis PO, de Lacerda Sousa AC, Silva RA, Obara
574 MT, Bezerra CM, da Costa VM, Alves RV, Gurgel-Goncalves R. Assessing the
575 vulnerability of Brazilian municipalities to the vectorial transmission of
576 *Trypanosoma cruzi* using multi-criteria decision analysis. Acta Trop 2014,
577 137:105-110.

578

Table 1 – Triatomines collected at different environments in the state of Bahia State, Brazil, between 2013 and 2014.

Species	Intradomicile				Peridomicile				Wild environment				Not determined				Total	Distribution	
	Adult		Nymph	Subtotal	Adult		Nymph	Subtotal	Adult		Nymph	Subtotal	Adult		Nymph	Subtotal		N	%
	M	F			M	F			M	F			M	F					
<i>Panstrongylus geniculatus</i>	3	8	0	11	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	14	9	7.32
<i>P. lutzii</i>	2	4	0	6 (2)	4	4	0	8 (1)	0	0	0	0	1	1	0	2	16 (3)	4	3.25
<i>P. megistus</i>	0	3	0	3	6	7	2	15 (6)	0	0	0	0	3	2	0	5	23 (6)	5	4.07
<i>Psammolestes tertius</i>	0	0	0	0	6	8	0	14 (8)	0	0	0	0	0	0	0	0	14 (8)	2	1.63
<i>Triatoma brasiliensis</i>	23	16	0	39 (33)	19	24	44	87 (13)	10	14	27	51 (11)	1	0	0	1	178 (57)	20	16.26
<i>T. juazeirensis</i>	32	20	89	141 (58)	12	17	13	42 (35)	1	2	0	3 (3)	8	13	20	41	227 (96)	7	5.69
<i>T. melanica</i>	0	0	0	0	4	3	12	19 (7)	0	0	0	0	0	0	0	0	19 (7)	1	0.81
<i>T. infestans</i>	0	0	0	0	45	102	294	441 (80)	0	0	0	0	0	0	0	0	441 (80)	1	0.81
<i>T. lenti</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	5	6 (2)	0	0	0	0	7 (2)	1	0.81
<i>T. melanocephala</i>	6	6	0	12	1	2	0	3 (1)	0	0	0	0	1	1	0	2	17 (1)	12	9.76
<i>T. petrocchiai</i>	0	1	0	1 (1)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (1)	1	0.81
<i>T. pseudomaculata</i>	23	16	25	64 (26)	117	166	250	533 (55)	0	0	0	0	33	40	244	317	914 (81)	45	36.59
<i>T. sordida</i>	89	103	122	314 (201)	712	773	1370	2855 (92)	0	0	0	0	51	60	296	407	3576 (293)	70	56.91
<i>T. sherlocki</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	70	199	154	423 (58)	0	0	0	0	423 (58)	1	0.70
<i>T. tibiamaculata</i>	9	10	0	19 (3)	3	6	0	9	0	0	0	0	2	6	0	8	36 (3)	7	5.69
Total	187	187	236	610 (324)	932	1112	1986	4030 (298)	82	215	186	483 (74)	100	123	560	783	5906 (696)	127	100

Legend:

N = Number of municipalities with triatomine occurrence;

M: Males. F: Females

() = Selected samples for molecular biology experiments.

Table 2 – *Trypanosoma cruzi* – infected triatomines collected in Bahia by species between 2013 and 2014.

Triatominae	N	+	%	X²/Fisher	p
<i>P. lutzii</i>	3	0	0.0	-	-
<i>P. megistus</i>	6	0	0.0	-	-
<i>P. tertius</i>	8	2	25.0	2.1	0.14
<i>T. brasiliensis</i>	57	9	15.8	3.0	0.08
<i>T. infestans</i>	80	0	0.0	-	-
<i>T. juazeirensis</i>	96	6	6.2	0.7	0.39
<i>T. lenti</i>	2	0	0.0	-	-
<i>T. melanica</i>	7	2	28.6	2.9	0.08
<i>T. melanocephala</i>	1	0	0.0	-	-
<i>T. pseudomaculata</i>	81	10	12.3	0.5	0.45
<i>T. sherlocki</i>	58	25	43.1	55.0	0.00
<i>T. sordida</i>	293	11	3.75	20.0	0.00
<i>T. tibiamaculata</i>	3	2	66.7	11.0	0.00

Legend:**N** = Number of triatomine;**+** = Number of *T. cruzi* positive samples;**%** = Percent.**p** = p-value

- = data not suitable for statistical analysis.

24 **Table 3** Blood meal sources detected in triatomines collected at different environments in the state of Bahia, Brazil, between 2013 and 2014.

25

Species	Samples			Avian			Human			Dog			Cat		
	Intra	Peri	Wild	Intra	Peri	Wild	Intra	Peri	Wild	Intra	Peri	Wild	Intra	Peri	Wild
<i>P. lutzi</i>	2	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
<i>P. megistus</i>	0	6	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. tertius</i>	0	8	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. brasiliensis</i>	33	13	11	23	11	9	3	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>T. infestans</i>	0	80	0	0	80	0	0	0	0	9	5	0	0	0	0
<i>T. juazeirensis</i>	58	35	3	38	26	3	2	0	0	0	0	0	2	2	0
<i>T. lenti</i>	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. melanica</i>	0	7	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. melanocephala</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. pseudomaculata</i>	26	55	0	8	47	3	0	2	0	0	2	0	0	0	0
<i>T. sherlocki</i>	0	0	58	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>T. sordida</i>	201	92	0	120	77	0	0	0	0	16	5	0	0	0	0
<i>T. tibiamaculata</i>	3	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	324	298	73	193	258	65	5	2	0	27	13	0	2	2	0

26

27

Legend:

28

Samples = Number of samples;

29

Intra = Intradomicile;

30

Peri = Peridomicile;

31

Wild = Wild environment;

32 **Table 4** Paired analysis of molecular targets evaluated for *T. cruzi* and blood meal
 33 sources detected in triatomines collected in the state of Bahia State, Brazil, between
 34 2013 and 2014.

		<i>T. cruzi</i>	Human	Dog	Cat	Avian
Molecular Target	<i>T. cruzi</i>	68	1	3	1	53
	Human	1	7	2	1	5
	Dog	3	2	40	0	30
	Cat	1	1	0	4	4
	Avian	53	5	30	4	516

35

1 **Figure legends**

2

3 **Fig. 1** (A) Geolocation of Bahia state in Brazil. (B) Sampled municipalities (gray
4 polygons) and sample locations (black dots) of triatomines collected between 2013 and
5 2014.

6

7 **Fig. 2** Photographs in dorsal (A) and (B) ventral position of *T. juazeirensis*. C. After
8 triatomine dissection head, wings, legs and abdomen were stored and labeled to their
9 respective tubes through QRcode.

10

11 **Fig. 3** Maps showing the location of triatomine sampling points in the state of Bahia
12 between 2013 and 2014. A: Intradomiciliary environment. B: Peridomiciliary
13 environment. The heat gradient represents areas with the highest density of vectors by
14 Kernel density with radius of 1.5 miles.

15 **Fig. 4** Maps showing the distribution of triatomines by *T. cruzi* infection and blood meal
16 sources in the state of Bahia between 2013 and 2014. The grey lines and numbers
17 show the limits of the biomes at Bahia state. A. distribution of all triatomines used in
18 molecular evaluations; B. *T. cruzi* infected triatomines. A-F: Spatial distribution of
19 triatomines fed on birds (C), cat (D), dog (E) and human (F). The heat gradient
20 represents areas with the highest density of vectors by Kernel density with radius of 1.5
21 miles.

22

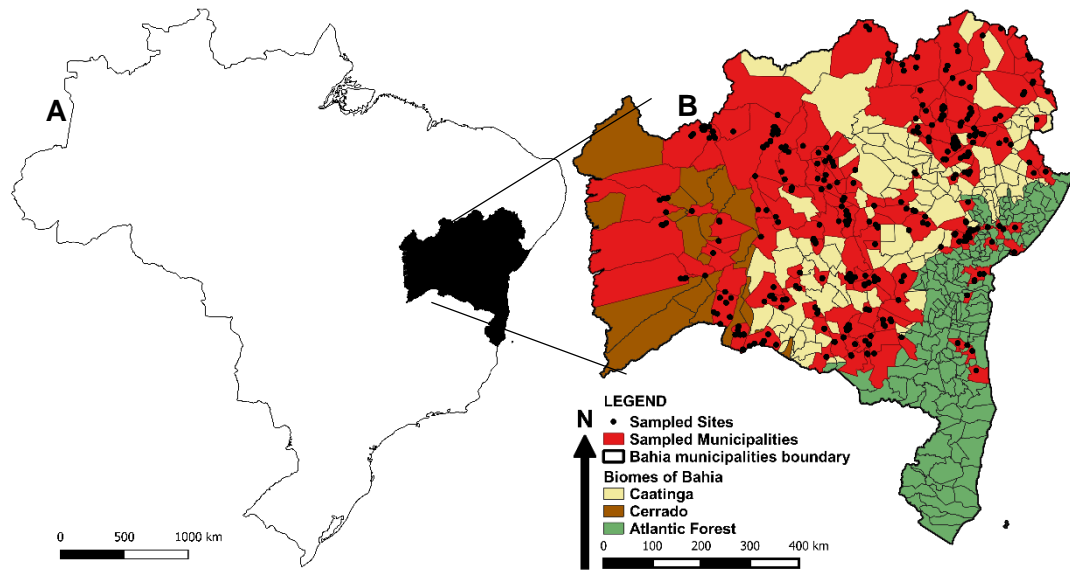
23

24

25

26

27



28

29 **Fig. 1** - (A) Geolocation of Bahia state in Brazil. (B) Sampled municipalities (red
30 polygons) and sample locations (black dots) of triatomines collected between 2013 and
31 2014.

32

33

34

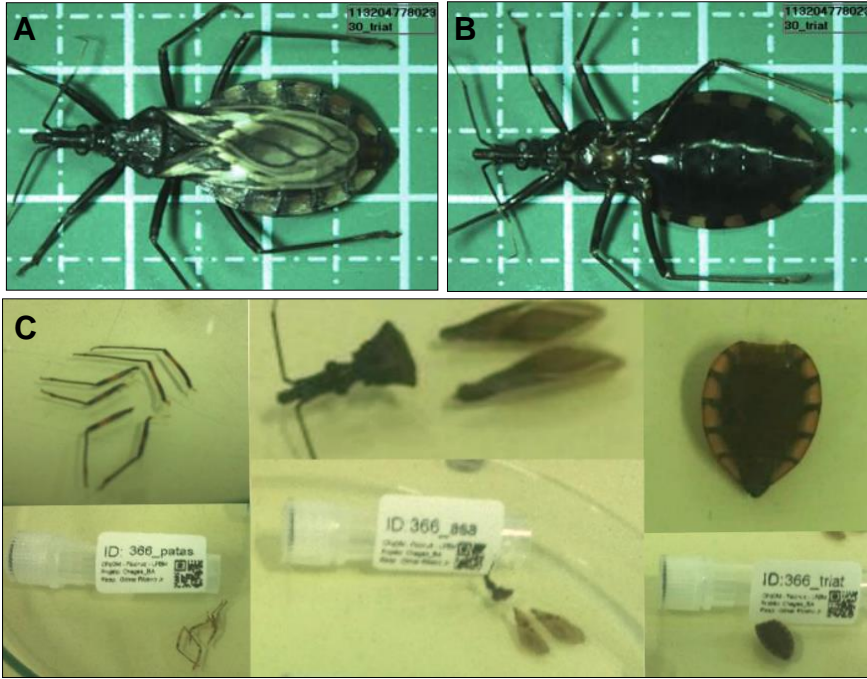
35

36

37

38

39



40

41
42

43 **Fig. 2** - Photographs in dorsal (A) and (B) ventral position of *T. juazeirensis*. C. After
44 triatomine dissection head, wings, legs and abdomen were stored and labeled to their
45 respective tubes through QRcode.

46

47

48

49

50

51

52

53

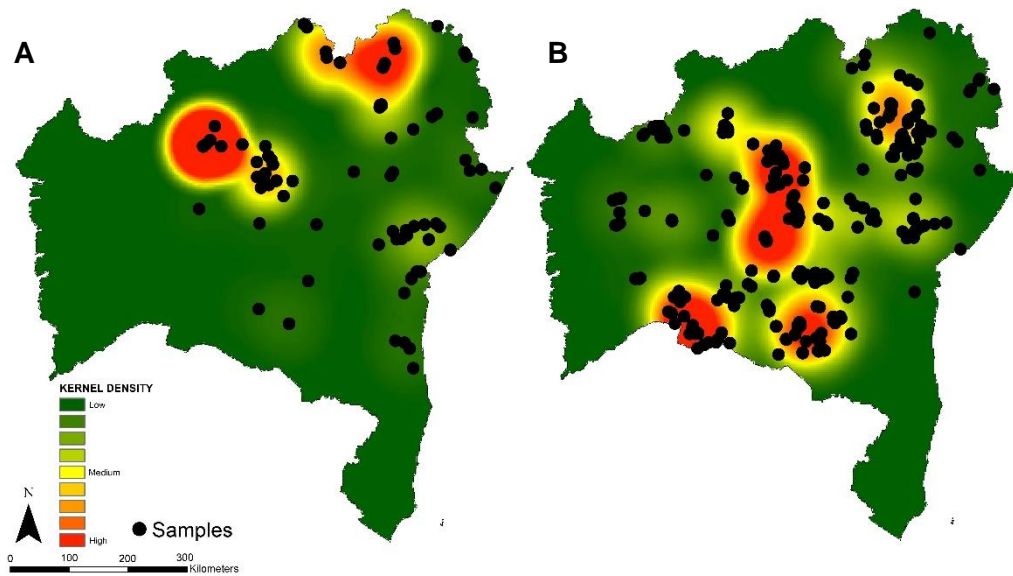
54

55

56

57

58



59

60

61 **Fig. 3** - Maps showing the location of triatomine sampling points in the state of Bahia
 62 between 2013 and 2014. A: Intradomiciliary environment. B: Peridomiciliary
 63 environment. The heat gradient represents areas with the highest density of vectors by
 64 Kernel density with radius of 1.5 miles.

65

66

67

68

69

70

71

72

73

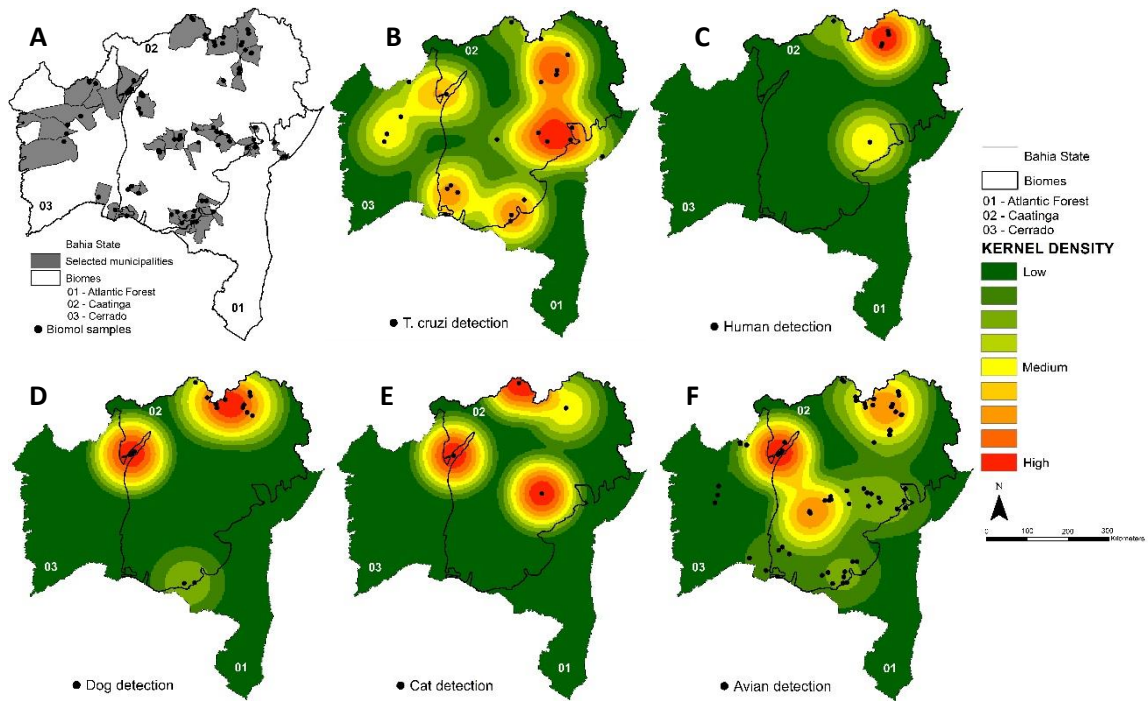
74

75

76

77

78



79

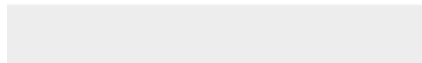
80 **Fig. 4 -** Maps showing the spatial distribution of triatomines: (A) Sampled municipalities
81 in grey polygon, and geolocation of samples, as black dots; (B) *T. cruzi* infection; and
82 (C-F) blood meal sources – human (C) , dog (D), cat (E) and avian (F) - of triatominae
83 in Bahia state, between 2013 and 2014. The white polygon and numbers represent the
84 limits of biomes in Bahia state. The heat gradient represents areas with higher density
85 of vectors by Kernel Density Tool, with a calculated radius of 1.86 (B), 2.11 (C), 1,98
86 (D), 1,77 (E), 1.98 (F).



Click here to access/download

Supplementary Material

Artigo 1 - Material Suplementar.docx



Cover letter

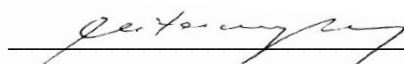
Salvador-BA/Brazil, July 18th, 2019.

To: Parasites and Vectors.
From: Gilmar Ribeiro Jr.

Dear Editor,

We submit the manuscript titled "Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi* transmission to humans and domestic animals in the State of Bahia, Brazil" for publication in your journal as an original research paper. This study is important because it shows that synanthropic triatomines maintain the risk of *T. cruzi* transmission to humans and domestic animals in Bahia, and there is a need to improve entomological surveillance strategies to identify the most vulnerable areas. Entomological and molecular techniques to evaluate *T. cruzi* infection and blood meal sources in synanthropic triatomines can be useful tools to identify areas with high transmission risks. We collect 5906 triatomines comprising fifteen species were collected from 127 out of 417 municipalities in Bahia. The molecular analyses of 695 triatomines revealed an important *T. cruzi* infection rate, which was highest in some species of the vectors. Most bugs were found to have fed on birds, and other blood meal sources included dogs, cats and humans. A spatial analysis showed a widespread distribution of *T. cruzi*-infected triatomines throughout Bahia. In addition, triatomines that fed on dogs, humans and cats were observed mainly in the Northeast Region of Bahia. We certify that there is **no conflict of interest** with any relationships or support. All contributing authors have signed this letter to confirm that they have participated in this study and concur with the submission and subsequent revisions submitted by the corresponding author.

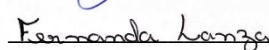
Yours sincerely,


Mitermayer Galvão dos Reis


* Corresponding Author.

Contribution Authors:


Carlos G. S. dos Santos


Fernanda Lanza


Jamylle Reis


Jamylle Reis


Jamylle Reis


Fernanda Vaccarezza

Fernanda Vaccarezza


Camila Diniz


Camila Diniz


Diego Lopes Paim Miranda

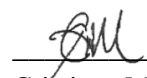
Diego Lopes Paim Miranda


Renato Freitas de Araújo

Renato Freitas de Araújo


Gabriel Muricy Cunha

Gabriel Muricy Cunha


Cristiane Medeiros Moraes de Carvalho


Eduardo Oyama Lins Fonseca

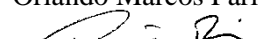

Roberto Fonseca dos Santos

Roberto Fonseca dos Santos

Roberto Fonseca dos Santos


Orlando Marcos Farias de Sousa

Orlando Marcos Farias de Sousa


Renato Barbosa Reis

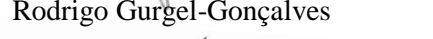
Renato Barbosa Reis


Wildo Navegantes de Araújo

Wildo Navegantes de Araújo


Rodrigo Gurgel-Gonçalves

Rodrigo Gurgel-Gonçalves


Mitermayer Galvão dos Reis

Mitermayer Galvão dos Reis

Title of the manuscript: **Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi* transmission to humans and domestic animals in the State of Bahia, Brazil**

All authors ensure that the proposed manuscript describes original research and is not published or under consideration by another scientific journal. All authors ensure that the results of the manuscript are not plagiarized. All authors acknowledge that the manuscript, after submission, may not have the order or the number of authors altered without providing any justification and/or information to **Parasites & Vectors**.

All authors declare that they agree, if the manuscript is accepted for publication, to the transfer of all copyrights to **Parasites & Vectors**.

TITLE PAGE

Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi* transmission to humans and domestic animals in the State of Bahia, Brazil.

Running title: Triatomine bugs maintain the risk of *Trypanosoma cruzi* transmission in Bahia.

Gilmar Ribeiro-Jr^{1-9*}, Carlos G. S. dos Santos¹⁻³, Fernanda Lanza¹, Janylle Reis¹, Fernanda Vaccarezza¹, Camila Diniz¹, Diego Lopes Paim Miranda¹⁻⁵, Renato Freitas de Araújo², Gabriel Muricy Cunha², Cristiane Medeiros Moraes de Carvalho², Eduardo Oyama Lins Fonseca⁴, Roberto Fonseca dos Santos³, Orlando Marcos Farias de Sousa⁸, Renato Barbosa Reis¹⁰, Wildo Navegantes de Araújo⁷, Rodrigo Gurgel-Gonçalves^{6**}, Mitermayer G. dos Reis^{1-5-11**}

¹Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz – BA, Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, - Salvador/BA, CEP: 40296-710; ²SESAB / Diretoria de Vigilância Epidemiológica – DIVEP. Salvador - CEP 41.820-000. ³SESAB / Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz-LACEN. ⁴Instituto de Tecnologias da Saúde (CIMATEC ITS), Salvador - BA, 41650-010. ⁵Faculdade de Medicina – UFBA, Salvador - BA, 40110-100; ⁶Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70910-900, Brazil; ⁷Núcleo de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70910-900, Brazil; ⁸Coordenação-Geral de Vigilância de Zoonoses e Doenças de Transmissão Vetorial, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde; Brasília, DF, 70723-040; ⁹Faculdades Ruy Barbosa – Wyden, Rio Vermelho, Salvador - BA, 41940-320; ¹⁰Universidade Salvador – UNIFACS. ¹¹Yale University, New Haven, CT 06520, EUA.

***Correspondence: Mitermayer Galvão dos Reis,** ¹Instituto Gonçalo Moniz, Fiocruz – BA, Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal - Salvador/BA, CEP: 40296-710 Tel.: +55 71 99203 4137; email: miter@bahia.fiocruz.br

** These authors contribute equally to this work.

Acknowledgments: Gonçalo Moniz Institute (FIOCRUZ/BA) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB)

Finnancial support: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) nº 014 2013 (PET0023/2013) and PROEP/CPqGM process 400904/2013-6.