

Vinicius Fernandes de Paiva

Entomoepidemiologia da doença de Chagas em regiões amazônicas de fronteira
(Brasil-Bolívia e Brasil-Peru): diversidade, rastreamento molecular de *Trypanosoma*
cruzi e análise das fontes alimentares dos insetos vetores

Relatório de Pós-doutorado realizado na
Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Instituto Biologia, Araraquara.

Supervisor(a): Prof. Dr. João Aristeu da
Rosa

Cossupervisor(a): Prof. Dr. Kaio Cesar
Chaboli Alevi

Fapesp – nº 2023/09822-5

Araraquara

2024

Relatório Científico – Bolsas Concedidas como Itens Orçamentários em Auxílios

Projeto: Entomoepidemiologia da doença de Chagas em regiões amazônicas de fronteira (Brasil-Bolívia e Brasil-Peru): diversidade, rastreamento molecular de *Trypanosoma cruzi* e análise das fontes alimentares dos insetos vetores

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. João Aristeu da Rosa

Beneficiário: Dr. Vinícius Fernandes de Paiva

Instituição Sede do projeto: Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCFAR).
Universidade Estadual Paulista (UNESP). Campus de Araraquara. Araraquara, SP, Brasil.

Processo nº: 2023/09822-5

Período de vigência do projeto: 01 de agosto de 2023 a 24 novembro 2024.

Prof. Dr. João Aristeu da Rosa

1. RESUMO DO PROJETO

A doença de Chagas é uma doença negligenciada causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* que atinge cerca de oito milhões de pessoas em todo o mundo. A transmissão vetorial, pelo contato com a urina/fezes de triatomíneos infectados pelo protozoário, é considerada a principal via de contaminação. Cerca de 67 espécies de triatomíneos estão presentes no Brasil, sendo, pelo menos, 30 espécies notificadas na região amazônica. Diversos estados que compõem a Amazônia brasileira (também conhecida como Amazônia Legal) fazem fronteira com outros países. Entre eles, Acre e Amazonas fazem fronteira entre Brasil-Peru e Acre, Rondônia e Mato Grosso entre Brasil-Bolívia. Diante da diversidade de espécies de triatomíneos encontradas na Amazônia legal [representada, nessa proposta, pelos estados do Acre (onze espécies) e Rondônia (sete espécies)], bem como no Peru (18 espécies) e na Bolívia (pelo menos 15 espécies), instala-se um alerta epidemiológico, pois a maioria das espécies são consideradas potenciais vetores do *T. cruzi*. Diante disso e, sobretudo, do pouco conhecimento entomoepidemiológico da doença nas regiões amazônicas de fronteira, o presente projeto tem como objetivo analisar a diversidade e a(s) fonte(s) alimentar(es) da entomofauna de Triatominae, bem como realizar um rastreamento molecular dos genótipos de *T. cruzi* presentes nesses insetos vetores.

2. REALIZAÇÕES NO PERÍODO

No primeiro ano de desenvolvimento do projeto de pesquisa todas as coletas previstas no Acre (Assis Brasil, Feijó e Mâncio Lima) e uma em Rondônia (Guajará-mirim) foram realizadas, também identificamos e caracterizamos morfológicamente os triatomíneos (com foto documentação dos espécimes), analisamos os triatomíneos através de marcadores moleculares, da sua fonte alimentar e das unidades de tipagem discretas (DTUs) de *T. cruzi*.

Nos meses referentes à vigência desse relatório foi realizada a coleta em Rondônia (item 2.1.4 do relatório), houve a publicações de artigos e resumos (item 6 do relatório) e o posterior cancelamento da bolsa.

2.1 Coletas

As coletas foram realizadas por busca ativa diurna (em palmeiras) e passiva noturna (por armadilhas luminosas do tipo Luiz de Queiroz, Malaise tradicional e lençol com fonte luminosa) em três municípios do Acre e um município de Rondônia (Guajará-Mirim).

A seguir faço um breve relato das expedições anteriores (Acre) e relato com detalhes a expedição de Rondônia.

2.1.1 Assis Brasil, Acre

As coletas iniciais foram realizadas por busca ativa diurna (em palmeiras *Attalea phalerata*) e passiva noturna (por armadilhas luminosas do tipo Luiz de Queiroz, Malaise tradicional e lençol com fonte luminosa) em três localidades de Assis Brasil, Acre, Brasil e uma de Añapari, Peru (municípios que são interligados por uma ponte sobre o rio Acre). Ao todo, 40 triatomíneos foram coletados no município de Assis Brasil, AC. Além disso, para as coletas noturnas, 10 armadilhas Luiz de Queiróz e cinco armadilhas Malaise foram instaladas e permaneceram nos períodos diurno e noturno entre 17/10/2023 a 21/10/2023. As coletas utilizando a armadilha Luiz Queiróz resultaram na captura de uma fêmea de *Rhodnius stali*, além de insetos de outras ordens que foram acondicionados em álcool 70%.

2.1.2 Feijó, Acre

A expedição começou no dia 05/05/2024. A chegada em Rio Branco, AC se deu na mesma noite pelo horário local, seguindo viagem para Feijó no dia seguinte chegando à noite. As coletas foram realizadas nos dias 07 a 13 de maio de 2024. No dia 15 retorno para Rio Branco. No dia 16 de maio houve deslocamento, organização e logística para retorno às cidades de origem. As coletas consistiram na busca ativa no exame detalhado das brácteas das palmeiras e passiva com armadilhas durante o dia e à noite. Ao todo, 125 triatomíneos foram coletados no município de Feijó, Acre.

2.1.3 Mâncio Lima, Acre

As coletas foram realizadas nos dias 09 a 15 de junho de 2024, sendo que no último dia só houve coleta passiva. No dia 16 retorno para Cruzeiro do Sul. No dia 17 de junho houve deslocamento, organização e logística para retorno à Rio Branco e posteriormente às cidades de origem. Foram amostradas mais de 10 localidade/pontos, entretanto

somente 4 pontos resultaram em coleta de triatomíneos, nos permitindo encontrar 18 espécimes no total.

2.1.4 Guajará-Mirim (RO)

Participaram da coleta em Guajará-Mirim (RO) o Dr. Yago Visinho dos Reis FCFAR/Araraquara-SP, Jociel Klleiton Santos Santana - FCFAR/Araraquara-SP, Dr. Vinícius Fernandes de Paiva, Dr. André Luiz Rodrigues Menezes – IFRO e o Sr. Oswaldo, morador de Guajará-Mirim, que atuou como guia para as coletas.

A expedição teve início em 02/11/24 com o deslocamento dos pesquisadores de Araraquara (SP) para Porto Velho (RO). Após chegada em Rondônia, a equipe se deslocou a partir de Porto Velho até Guajará-Mirim (RO) no mesmo dia. As coletas foram realizadas entre os dias 03/11 e 11/11/24. No dia 12/11 a equipe retornou de Guajará-Mirim para Porto Velho, e no dia 13/11 os pesquisadores retornaram para Araraquara.

No dia 03/11/2024, foi realizado o reconhecimento da área para definição dos pontos de coleta e posicionamento das armadilhas. Durante esse dia a equipe se apresentou também para os moradores, mostrando os triatomíneos e explicando brevemente sobre a doença de Chagas e sobre a importância dos trabalhos de busca de triatomíneos. Próximo ao local previsto para as coletas existe uma base da Reserva Extrativista do Rio Ouro Preto, onde foi possível deixar os equipamentos ao final do dia.

No dia 04/11/2024 iniciou-se as buscas ativas por meio do exame detalhado das brácteas. Ao longo do primeiro dia, foram amostradas duas palmeiras (*Attalea speciosa*) próximo de uma residência, sendo coletados quatro triatomíneos. Ao final da tarde, 10 armadilhas luminosas Luiz de Queiroz foram montadas em uma trilha relativamente íngreme, as quais foram dispostas a cada 10 metros aproximadamente. A partir das 18h, nesse mesmo local foi armado o lençol com luz mista, o qual foi mantido até as 21h. Nenhum triatomíneo foi coletado. No retorno à base de apoio para deixada do material, foi possível encontrar cinco adultos de *Rhodnius* sp. nas paredes, que foram atraídos pela luz.

No dia 05/11/24 três palmeiras foram amostradas, sendo duas *A. speciosa* e uma *O. bataua*, e foram coletados 12 triatomíneos. As armadilhas foram mantidas na localidade da noite anterior, sendo apenas realizado a troca das baterias. Dois lençóis com luz mista foram instalados na base. No lençol não foi capturado nenhum triatomíneo, mas foram coletados dois *Rhodnius* sp. novamente nas paredes.

No dia 06/11/24 apenas uma palmeira (*A. speciosa*) foi amostrada e quatro triatomíneos foram coletados. Não foi possível continuar com a amostragem desse ponto devido às chuvas. Ao final da tarde as armadilhas foram retiradas.

No dia 07/11/24 foram amostradas quatro palmeiras, sendo duas *A. speciosa* e duas *O. bataua*. Foram coletados no total 2 triatomíneos. No final da tarde, 08 armadilhas foram posicionadas, sendo 04 armadilhas posicionadas próximos ao local de coleta do dia 05/11 (P2), e 04 próximas ao local de coleta do dia 06/11 (P3). Nas armadilhas do ponto 3, um *R. pictipes* foi coletado. O lençol com luz mista foi montado em área urbana, dentro do câmpus da UNIR, local que tem frequentes relatos de invasão por triatomíneos. O lençol ficou montado das 18 às 19h, mas que precisou ser retirado devido às chuvas. Nenhum triatomíneo foi coletado.

No dia 08/11/24 foram amostradas três *A. speciosa*, sendo coletados 11 triatomíneos. Ao final da tarde, 10 armadilhas foram posicionadas ao redor da área de coleta ativa. Um *R. montenegrensis* foi coletado. Além disso, também foi montado o lençol com luz mista das 18h até as 19h, mas que precisou ser interrompido devido à chuva.

No dia 09/11/24 foram amostradas duas palmeiras, sendo uma *A. speciosa* e uma *O. bataua*, e foram coletados sete triatomíneos. Ao final do dia as armadilhas foram desmontadas. Nenhum triatomíneo foi coletado. O lençol com luz mista foi posicionado em uma fazenda, próximo a um afloramento rochoso e algumas palmeiras. Nenhum triatomíneo foi coletado.

No dia 10/11/24 foram amostradas duas palmeiras sendo uma *A. speciosa* e uma *O. bataua*, e foram coletados 34 triatomíneos. No final da tarde, 10 armadilhas foram posicionadas próximas do local onde seriam realizadas as coletas por busca ativa no dia 11/11 (P8). Nenhum triatomíneo foi coletado. No início da noite o lençol foi novamente montado na UNIR, onde foi possível coletar 6 *Rhodnius* sp. que estavam nas paredes de um dos prédios do campus, e um *Panstrongylus geniculatus*, atraído pela luz mista.

Por fim, no dia 11/11/24 foram amostradas três palmeiras *A. speciosa*, nas quais foram coletados 10 triatomíneos. Entre o final do dia 11 e manhã do dia 12, os triatomíneos foram contabilizados e fixados. No total foram coletados 100 triatomíneos. As outras ordens de insetos, coletadas nas armadilhas com lençol branco com fonte de luz mista e Luiz de Queiroz passaram por triagem e foram acondicionados em álcool 70%.

2.2. Análises moleculares

No município de Assis Brasil, foi caracterizada a presença de *T. cruzi* e *Trypanosoma rangeli* nos triatomíneos. Diversos espécimes tiveram o status específico corroborado por meio do citocromo b (cytb), sendo identificados como *Rhodnius montenegrensis*. Inclusive, um dos manuscritos está submetido para publicação (Parasites & Vectors), envolvendo o relato dessa espécie pela primeira vez no Peru, bem como a caracterização dos tripanosomatídeos e fontes alimentares desses espécimes, uma vez que potencialmente podem entrar em contato com os seres humanos.

Outro importante resultado foi a coleta de *Cavernicola pilosa* no município de Cruzeiro do Sul, uma espécie rara de ser encontrada. Foi possível inclusive confirmar a presença de *T. cruzi marinkalei*. Esses resultados também serão publicados, e o artigo está pronto para submissão.

Até a data de 22/06/2024 foi possível extrair o DNA de todos os triatomíneos coletados nas três expedições realizadas.

Em Feijó (AC) e Mâncio Lima (AC), foram capturados 125 e 18 triatomíneos, respectivamente. Para o município de Feijó, 114 já foram analisados e apresentaram uma taxa de infecção de aproximadamente 46%, enquanto em Mâncio Lima (AC), apenas dois apresentaram positividade para tripanosomatídeos (11%). Dentre os principais resultados preliminares nessas localidades podemos destacar a presença dos genótipos TcI, TcIV, TrA e possivelmente TrE. Devido a não amplificação de alguns marcadores, os mesmos serão repetidos para que seja possível a identificação dos tripanosomatídeos para alguns espécimes. Após isso, os manuscritos para essa localidade serão redigidos.

3. Plano de Gestão de dados

Devido aos resultados das análises moleculares ainda não estarem finalizados, os dados obtidos ainda não foram disponibilizados nos bancos de dados do Genbank, mas serão disponibilizados logo após a publicação dos manuscritos. Além disso, os dados de geolocalização também serão disponibilizados em plataformas como gbif para que possam ser utilizados em outros trabalhos que envolvam a distribuição das espécies relatadas no presente trabalho. Por fim, os resultados serão divulgados em eventos científicos e irão compor dissertações e teses de alunos vinculados com a pós-graduação.

4. Descrição e avaliação do apoio institucional recebido no período

A instituição sede forneceu todo suporte técnico-científico necessário para a realização da etapa do projeto.

5. Plano de atividades para o próximo período

O beneficiário foi aprovado em concurso público para o cargo de professor de ensino fundamental e médio da Seduc-SP e assim que tomou posse solicitou o cancelamento da concessão da Bolsa Concedida como Item Orçamentário em Auxílios e foi atendido no dia 24/11/2024. Manuscritos e resumos foram publicados e ainda outros estão sendo produzidos e enviados para publicação.

6. Lista das publicações resultantes do auxílio

a) Trabalhos apresentados em conferências nacionais;

Em Assis Brasil (AC), as análises da fonte alimentar mostraram pela primeira vez a associação de *R. montenegrensis* com Jupará (*Potos flavus*). Esses resultados foram apresentados no XXIX Congresso Brasileiro de Entomologia e XIII Congresso Latino-Americano.



b) Artigos em revistas científicas indexadas:

Durante o período da concessão da bolsa o beneficiário publicou os artigos:

- 1) Revisiting the taxonomy and geographic distribution of the subspecies *Triatoma protracta woodi* Usinger, 1939 (Hemiptera: Triatominae) <https://doi.org/10.52707/1081-1710-49.2.S10>
- 2) Some Considerations on the Taxonomy and Geographical Distribution of *Triatoma sinaloensis* Ryckman, 1962, and *Triatoma rubida* (Uhler, 1894) (Hemiptera: Reduviidae), in Mexico <https://doi.org/10.3958/059.049.0335>
- 3) Triatomines in the city: A study of *Rhodnius neglectus* in Jaboticabal, São Paulo, Brazil, and its epidemiological implications <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0133-2024>
- 4) *Hospesneotomae* n. gen. of the Triatomini tribe presents a turnaround in the taxonomy of the *Triatoma protracta* species complex <https://doi.org/10.1038/s41598-025-91399-w>
- 5) *Rhodnius montenegrensis* Rosa et al., 2012 (Hemiptera, Triatominae) in Peru: a warning for the transmission of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in periurban areas. Acta tropica, v. 270, p. 107799, 2025 <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2025.107799>

c) Artigos preparados ou submetidos em revistas científicas indexadas:

- 1) *Cavernicola pilosa* Barber, 1937 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) infected by *Trypanosoma cruzi marinkellei*: First report for the state of Acre, Western Brazilian Amazon.
- 2) Triatomines and trypanosomes on Marajó Island, Pará, Brazil: new insights into diversity, domiciliary invasion and new occurrences.