

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LARISSA FERREIRA FERNANDES

**PRESENÇA DE DNA HUMANO EM FEZES DE TRIATOMÍNEOS ENCAMINHADOS
PARA PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* NO SUL DE MINAS GERAIS**

ALFENAS/MG

2025

LARISSA FERREIRA FERNANDES

**PRESENÇA DE DNA HUMANO EM FEZES DE TRIATOMÍNEOS ENCAMINHADOS
PARA PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* NO SUL DE MINAS GERAIS**

Projeto apresentado como parte dos requisitos para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Biomedicina da Universidade Federal de Alfenas– MG, sob a orientação do Prof. Dr. Fabio Antônio Colombo.

ALFENAS/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Fernandes, Larissa Ferreira .

Presença de DNA humano em fezes de triatomíneos encaminhados para pesquisa de *Trypanosoma cruzi* no sul de Minas Gerais / Larissa Ferreira Fernandes. - Alfenas, MG, 2025.

39 f. : il. -

Orientador(a): Fábio Antônio Colombo.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) -
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Doença de Chagas. 2. *Trypanosoma cruzi*. 3. Triatomíneos. 4. DNA humano. 5. Monitoramento epidemiológico. I. Colombo, Fábio Antônio, orient. II. Título.

LARISSA FERREIRA FERNANDES

**PRESENÇA DE DNA HUMANO EM FEZES DE TRIATOMÍNEOS ENCAMINHADOS
PARA PESQUISA DE *Trypanosoma cruzi* NO SUL DE MINAS GERAIS**

A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova o Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do curso de Biomedicina da Universidade Federal de Alfenas–MG.

Aprovado em: 15/12/2025

Prof. Dr. Fábio Antônio Colombo
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Prof^a. Me. Isabella Maria Monteiro de Souza
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Prof^a. Dr^a. Juliana Barbosa Nunes
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

À minha família, que é a base que me mantém de pé; ao meu avô, cujas lembranças permanecem vivas e se tornam luz nos dias mais escuros, e à criança que um dia eu fui: hoje seu sonho se realiza, e o orgulho que você sempre quis dar aos seus pais é real.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me permitir viver esse sonho, e por amparar minhas escolhas e por me dar força para superar todos os obstáculos.

Ao meu orientador, Fábio, por todas as conversas e ensinamentos que foram essenciais para me moldar como uma futura profissional.

À minha mãe e ao meu pai, que sempre me incentivaram e nunca me deixaram desistir. Só nós sabemos o quanto significa eu estar aqui hoje. Todas as noites sem dormir e todos os momentos difíceis valeram a pena, a menininha chorona de vocês cresceu. Vocês são meu lar e sempre serão. Esse trabalho é nosso.

Ao meu avô, José, que não está fisicamente comigo, mas a quem tive a sorte de ter por perto durante treze anos, tenho certeza que estaria feliz pela sua "fia". Santo Agostinho disse uma vez que "só sente saudade quem ama e só deixa saudade quem foi amor", e eu te amo do tamanho da minha saudade.

À minha avó, Rosa, que me dá os abraços mais apertados quando chego em casa e sempre diz o quanto sente saudade.

À toda a minha família, que aguarda ansiosamente a minha formatura. Vocês me acompanharam em todas as fases e tornaram cada uma delas mais leve e mais feliz. O apoio e as palavras de encorajamento me fortaleceram em todos os momentos. Não tenho palavras para expressar a minha gratidão. Muito obrigada por estarem comigo.

Ao meu namorado, que suportou todos os surtos e choros durante o processo. Você me apoiou, não me deixou vacilar e me mostrou que a distância é apenas um detalhe para quem quer estar perto. Obrigada por ser você e por estar sempre presente.

À família que eu construí na UNIFAL: vocês ressignificaram o período que passei aqui e foram sinônimo de casa. Obrigada por serem apoio em todos os momentos. Levo comigo cada risada e choro compartilhados. Tenho certeza que não vamos parar aqui. Sempre vou me lembrar do quanto fui feliz aos vinte anos com vocês.

Esse trabalho tem um pedacinho de cada pessoa que eu amo. Palavras de gratidão não são suficientes para expressar o quanto cada um de vocês foi importante para o meu crescimento. Mas, ainda assim, obrigada.

RESUMO

A Doença de Chagas permanece como relevante problema de saúde pública nas Américas, mesmo após avanços no controle da transmissão vetorial. Nesse contexto, a vigilância entomológica continua sendo fundamental, especialmente em regiões onde espécies silvestres e peridomiciliares de triatomíneos mantêm contato com populações humanas. O presente estudo teve como objetivo avaliar a presença de DNA humano em fezes de triatomíneos encaminhados para pesquisa de *Trypanosoma cruzi* no Sul de Minas Gerais, como indicador do risco de transmissão vetorial. Foram analisadas 32 amostras de triatomíneos coletados em dez municípios da região, previamente classificados morfológicamente como hematófagos. A detecção de *T. cruzi* e de DNA humano foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), utilizando primers e sondas específicas. Os resultados demonstraram positividade de 87,5% das amostras para *T. cruzi* por qPCR, evidenciando maior sensibilidade da técnica molecular em relação ao exame parasitológico convencional. A presença de DNA humano foi identificada em 37,5% das amostras analisadas, todas também positivas para o parasito, indicando contato direto entre os vetores e humanos. Todos os insetos analisados pertenciam à espécie *Panstrongylus megistus*, reconhecida pela elevada capacidade de adaptação ao ambiente domiciliar. Os achados evidenciam a manutenção do risco de transmissão vetorial da Doença de Chagas na região estudada, reforçando a importância da vigilância entomológica contínua e do monitoramento molecular como ferramentas estratégicas para a prevenção e o controle da doença.

Palavras-chave: Doença de Chagas. *Trypanosoma cruzi*. Triatomíneos. DNA humano. Monitoramento epidemiológico.

ABSTRACT

Chagas disease remains a relevant public health problem in the Americas, despite advances in vector control strategies. In this context, entomological surveillance continues to play a key role, particularly in regions where sylvatic and peridomestic triatomine species maintain contact with human populations. This study aimed to evaluate the presence of human DNA in feces of triatomines submitted for *Trypanosoma cruzi* investigation in southern Minas Gerais, Brazil, as an indicator of vectorial transmission risk. A total of 32 triatomine samples collected from ten municipalities in the study area were analyzed, all previously classified as hematophagous through morphological identification. Detection of *T. cruzi* and human DNA was performed using real-time polymerase chain reaction (qPCR) with specific primers and probes. The results revealed a positivity rate of 87.5% for *T. cruzi* by qPCR, highlighting the higher sensitivity of molecular methods compared to conventional parasitological examination. Human DNA was detected in 37.5% of the analyzed samples, all of which were also positive for the parasite, indicating direct contact between vectors and humans. All specimens were identified as *Panstrongylus megistus*, a species known for its high adaptability to domestic environments. These findings demonstrate the persistence of vectorial transmission risk of Chagas disease in the region and reinforce the importance of continuous entomological surveillance and molecular monitoring as essential tools for disease prevention and control.

Keywords: Chagas disease. *Trypanosoma cruzi*. Triatomines. Human DNA. Epidemiological monitoring.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 12 |
| 2.1 A DOENÇA DE CHAGAS..... | 12 |
| 2.2 AGENTE ETIOLÓGICO..... | 14 |
| 2.3 CICLO BIOLÓGICO..... | 15 |
| 2.4 VETORES..... | 17 |
| 2.5 TRANSMISSÃO..... | 20 |
| 2.6 EPIDEMIOLOGIA..... | 21 |
| 2.7 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO..... | 22 |
| 3 JUSTIFICATIVA..... | 25 |
| 4 OBJETIVOS..... | 26 |
| 4.1 OBJETIVO GERAL..... | 26 |
| 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 26 |
| 5 METODOLOGIA..... | 27 |
| 5.1 ÁREA DE ESTUDO..... | 27 |
| 5.2 AMOSTRAGEM..... | 27 |
| 5.3 MÉTODO DIRETO - ANÁLISE PARASITOLÓGICA..... | 28 |
| 5.4 MÉTODO INDIRETO - REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (qPCR) COM PRIMERS DE <i>T. cruzi</i> | 28 |
| 5.5 qPCR PARA DETECTAR SANGUE HUMANO..... | 29 |
| 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 30 |
| 7 CONCLUSÃO..... | 34 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 35 |

1 INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas, também denominada tripanossomíase americana, é uma zoonose parasitária de grande relevância médica e social nas Américas. Descrita pela primeira vez em 1909 por Carlos Chagas, no estado de Minas Gerais, a enfermidade constitui um marco histórico para a medicina, pois foi a primeira vez que um pesquisador identificou de forma integral o agente etiológico (*Trypanosoma cruzi*), o vetor (triatomíneos) e o hospedeiro humano, além de descrever os aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção (CHAGAS, 1909; NEVES, 2016). Desde então, a Doença de Chagas consolidou-se como um importante problema de saúde pública, atingindo principalmente populações em situação de vulnerabilidade social, em áreas rurais e periurbanas da América Latina (RASSI JR.; RASSI; MARIN-NETO, 2010).

O *T. cruzi* é um protozoário flagelado pertencente à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae, apresentando ciclo heteroxênico que envolve hospedeiros vertebrados, geralmente mamíferos, e hospedeiros invertebrados, representados por insetos hematófagos da subfamília Triatominae (COURA, 2014; LIDANI et al., 2019). Esses insetos, popularmente conhecidos como “barbeiros”, alimentam-se de sangue de diferentes espécies e atuam como vetores biológicos do parasito, eliminando formas tripomastigotas metacíclicas infectantes nas fezes durante o repasto sanguíneo. A penetração do parasito pela pele ou mucosas lesadas constitui o principal mecanismo da transmissão vetorial clássica da doença (NEVES, 2016).

Atualmente, estima-se que entre 6 e 7 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *T. cruzi* no mundo, concentradas majoritariamente na América Latina, onde a doença permanece endêmica em 21 países (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018; BRASIL, 2024). No Brasil, embora o controle vetorial domiciliar tenha reduzido de forma significativa a transmissão associada a *Triatoma infestans*, a Doença de Chagas apresenta mudanças importantes em seu perfil epidemiológico, com variações regionais nos mecanismos de transmissão e na manifestação clínica da infecção (COURA, 2014; BRASIL, 2021).

Na região Norte do país, observa-se o predomínio da transmissão oral, associada principalmente à ingestão de alimentos contaminados, com destaque para o consumo de açaí e outros produtos regionais manipulados de forma inadequada.

Essa via tem sido responsável por surtos de casos agudos, frequentemente caracterizados por elevada parasitemia e manifestações clínicas mais intensas, o que reforça a relevância dessa forma de transmissão no cenário epidemiológico atual da doença (BRASIL, 2024). Em contraste, nas regiões Sul e Sudeste, incluindo o Sul de Minas Gerais, predominam casos crônicos da Doença de Chagas, geralmente associados a infecções agudas ocorridas no passado, muitas vezes de forma assintomática ou não diagnosticada, refletindo a história da transmissão vetorial clássica nessas áreas.

Nesse contexto, a vigilância entomológica assume papel fundamental na identificação de vetores, no monitoramento da circulação do parasito e na prevenção de novos casos. A análise de fezes de triatomíneos coletados em campo constitui uma das principais ferramentas para a detecção de *T. cruzi* e para a compreensão das dinâmicas de infecção vetorial (NEVES, 2016). Além disso, a pesquisa de DNA humano nas fezes desses insetos representa um importante indicador epidemiológico, uma vez que evidencia o contato direto entre o vetor e o hospedeiro humano, permitindo inferir o comportamento alimentar das espécies e o risco potencial de transmissão (GOMES et al., 2017; RIBEIRO et al., 2019).

No estado de Minas Gerais, especialmente na região Sul, ainda são frequentes as notificações de triatomíneos capturados em domicílios e peridomicílios, os quais são encaminhados para análise em laboratórios de referência em vigilância entomológica e diagnóstico parasitológico (BRASIL, 2021). Os triatomíneos analisados neste estudo foram encaminhados ao Laboratório de Parasitologia Clínica da UNIFAL-MG, referência da região macro-sul de Minas Gerais, responsável por receber, identificar e investigar insetos coletados pelos agentes de serviços de saúde locais. Esse fluxo de encaminhamento reforça a importância do laboratório como ponto estratégico na vigilância da Doença de Chagas, permitindo a detecção precoce de vetores infectados e a avaliação do risco epidemiológico regional.

Estudos anteriores realizados na mesma região, como o conduzido por Faria et al. (2021), já investigaram a infecção por *T. cruzi* em triatomíneos em períodos anteriores, evidenciando a presença do parasito e a relevância da vigilância contínua. A comparação dos resultados obtidos no presente estudo com aqueles descritos por Faria et al. (2021) sugere um aumento nos níveis de infecção dos vetores ao longo do tempo, o que pode estar relacionado a fatores ambientais,

ecológicos e à maior interação entre triatomíneos, reservatórios silvestres e populações humanas. Esses achados reforçam a necessidade de monitoramento permanente, mesmo em áreas consideradas sob controle da transmissão vetorial clássica.

Dessa forma, a investigação da presença de DNA humano em fezes de triatomíneos coletados e encaminhados para análise no Sul de Minas Gerais configura-se como um indicador relevante de risco epidemiológico, uma vez que evidencia a interação direta entre o vetor e a população local. O presente trabalho tem como objetivo avaliar a incidência de DNA humano em amostras fecais de triatomíneos, contribuindo para o entendimento do comportamento alimentar desses vetores e para o fortalecimento das ações de vigilância entomológica da Doença de Chagas na região. Os resultados obtidos poderão subsidiar estratégias de monitoramento, prevenção e controle, reforçando a integração entre pesquisa científica, saúde pública e educação sanitária.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A DOENÇA DE CHAGAS

A Doença de Chagas foi descrita pela primeira vez em 1909 por Carlos Chagas, após a observação do parasito *T. cruzi* no trato digestivo de um triatomíneo. Na época, o sanitarista integrava a equipe de Oswaldo Cruz, médico, bacteriologista e sanitarista brasileiro, considerado um dos principais responsáveis pela consolidação da medicina experimental e da saúde pública no Brasil, além de diretor do então Instituto Soroterápico Federal, localizado no Rio de Janeiro, seu mentor e diretor, e chefiava os trabalhos de combate à malária em Minas Gerais. Com a atenção voltada para insetos hematófagos, encontrou nos barbeiros, comuns na região, uma espécie de tripanossoma distinta das já conhecidas. Chagas encaminhou os barbeiros infectados para o laboratório de Oswaldo Cruz, no Rio de Janeiro, onde, ao conseguir infectar micos, comprovou que a hipótese teorizada pelo pesquisador estava correta: a nova espécie de tripanossoma circulava entre o vetor, mamíferos e, possivelmente, humanos (CHAGAS, 1909). Essa possibilidade foi confirmada ainda em 1909, a partir do exame de uma criança que apresentava sintomas semelhantes aos observados em animais infectados por *T. cruzi*. Considerado o primeiro caso clínico da Doença de Chagas, esse achado possibilitou a caracterização da fase aguda da enfermidade. Naquele mesmo período, Carlos Chagas conseguiu definir o agente etiológico (*T. cruzi*), esclarecer os diferentes aspectos da biologia nos hospedeiros vertebrado e invertebrado, identificar os reservatórios e descrever os principais aspectos da patologia e sintomas característicos da fase aguda (NEVES, 2016).

Esses achados permitiram não apenas a compreensão do ciclo do parasito, mas também a caracterização clínica da infecção em humanos, a qual se manifesta em fases distintas: aguda e crônica. A fase aguda, que dura de quatro a oito semanas (A PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018), geralmente é assintomática ou manifesta sintomas inespecíficos, como febre, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia, pode causar também, cardiomegalia e microtrombose em decorrência da alta proliferação parasitária. A infecção por transmissão vetorial está associada a sinais característicos: a inflamação no local da inoculação, denominada chagoma, pode persistir por semanas. Quando a porta de entrada do parasita é a

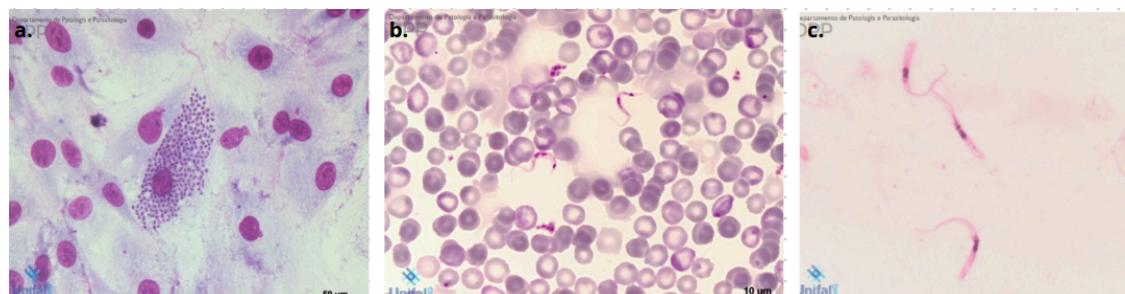
conjuntiva, o hospedeiro vertebrado pode apresentar o sinal de Romanã, caracterizado por edema palpebral unilateral e do tecido periocular (LIDANI et al., 2019; RASSI JUNIOR; RASSI; MARIN-NETO, 2010). Infecções agudas congênitas são também assintomáticas; entretanto, em surtos de doença de Chagas por alimentos, a fase aguda apresenta evolução rápida e manifestações clínicas mais graves (HOCHBERG; MONTGOMERY, 2023). Além disso, a infecção congênita pode ocasionar abortamentos, partos prematuros, nascimento de bebês com baixo peso e natimortalidade (NEVES, 2016). Em geral, a forma aguda grave da doença de Chagas é rara, acometendo principalmente crianças e idosos (HOCHBERG; MONTGOMERY, 2023). Com o término dessa fase inicial, a infecção pode evoluir para a forma crônica, caracterizada por manifestações clínicas tardias e persistência do parasito nos tecidos do hospedeiro.

Após o término da fase aguda, a maioria dos indivíduos apresenta uma infecção assintomática que pode persistir por anos ou décadas, conhecida como forma indeterminada ou latente da doença. Nesta fase, o parasito permanece no organismo em níveis baixos e o paciente não apresenta sinais clínicos aparentes (MONTGOMERY, 2023). Entretanto, cerca de 30 a 40% dos casos evoluem para a forma crônica da doença de Chagas (NEVES, 2016; CUCUNUBÁ et al., 2024; NUNES et al., 2023; HOCHBERG; MONTGOMERY, 2023). As manifestações clínicas podem se apresentar sob duas formas principais: cardíacas e digestivas, podendo ocorrer isoladamente ou de maneira concomitante. A cardiomiopatia chagásica crônica é a forma mais comum e grave, caracterizada principalmente por insuficiência cardíaca congestiva, distúrbios do sistema de condução, tromboembolia e cardiomegalia (NEVES, 2016; CUCUNUBÁ et al., 2024). Essas alterações podem levar a acidente vascular cerebral e morte súbita, em decorrência da substituição do músculo cardíaco por áreas de fibrose e pelo exsudato inflamatório. As manifestações clínicas gastrointestinais, embora menos frequentes, também representam uma forma importante de comprometimento crônico. O desenvolvimento de megaesôfago e megacólon resulta da destruição dos neurônios esofágicos e da consequente interrupção da motilidade dos órgãos afetados. Os sintomas mais comuns incluem disfagia, regurgitação, tosse e dor retro intestinal. As complicações mais graves estão associadas à constipação severa, gerando ruptura do tecido e perfuração intestinal, o que leva à peritonite e, em casos extremos, ao óbito (NEVES, 2016; HOCHBERG; MONTGOMERY, 2023; GUARNER, 2019).

2.2 AGENTE ETIOLÓGICO

Trypanosoma cruzi, pertence à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae, um grupo de parasitas eucariotos que compartilham um ancestral comum (JANSEN; XAVIER; ROQUE, 2020). Trata-se de um parasita intracelular hemoflagelado, com a capacidade de infectar diversas células do hospedeiro, especialmente macrófagos, fibroblastos e células epiteliais (LIDANI et al., 2019). O ciclo biológico de *T. cruzi* é heteroxênico, envolvendo um hospedeiro vertebrado, geralmente mamíferos, e um hospedeiro invertebrado, representado por hemípteros da Família Reduviidae e subfamília Triatominae. Durante esse ciclo, o parasito apresenta três formas evolutivas principais (Figura 1) : amastigotas, formas intracelulares encontradas nos hospedeiros vertebrados; epimastigotas, formas replicativas presentes no trato digestivo dos hospedeiros invertebrados; e tripomastigotas, formas extracelulares infectantes para os vertebrados. As tripomastigotas podem ser classificadas em tripomastigotas sanguíneas, originadas a partir da diferenciação das amastigotas nos tecidos do hospedeiro vertebrado e responsáveis pela disseminação sistêmica da infecção, e tripomastigotas metacíclicas, derivadas das epimastigotas no intestino do vetor e eliminadas nas fezes durante o repasto sanguíneo, constituindo a forma infectante transmitida ao hospedeiro humano (LIDANI et al., 2019; COURA, 2014).

Figura 1: Formas evolutivas de *T. cruzi*. (a) amastigota; (b) tripomastigota sanguínea; (c) epimastigota.



Fonte: Atlas de Parasitologia - UNIFAL-MG

A elevada variabilidade genética do *T. cruzi* reflete sua adaptação a múltiplos hospedeiros, vetores e ciclos de transmissão, constituindo um dos principais

desafios para a compreensão da epidemiologia e da patogênese da doença de Chagas. Atualmente, o parasito é classificado em seis Unidades de Tipagem Discretas (DTUs), TcI a TcVI, além do genótipo TcBat, reconhecidas com base em marcadores genéticos, moleculares e biológicos (NIELEBOCK, 2019). Essas DTUs apresentam distribuição geográfica e perfis epidemiológicos distintos, com TcI predominando em ciclos silvestres e infecções humanas na região amazônica, América Central e norte da América do Sul, enquanto TcII, TcV e TcVI estão mais associados a ciclos domésticos e a formas clínicas graves da doença no Cone Sul (NIELEBOCK, 2019). Estudos moleculares demonstram ainda que TcV é frequentemente identificado no sangue periférico de pacientes crônicos, especialmente em indivíduos oriundos da Bolívia, sendo comum a detecção de infecções mistas envolvendo diferentes DTUs (ABRAS et al., 2017). Além disso, evidências indicam que a distribuição das DTUs pode variar conforme o tecido analisado, uma vez que determinados genótipos apresentam tropismo tecidual distinto, o que contribui para a heterogeneidade das manifestações clínicas e dificulta sua identificação exclusivamente a partir de amostras sanguíneas (ABRAS et al., 2017; NIELEBOCK, 2019). Dessa forma, a caracterização genética das cepas de *T. cruzi* é fundamental para o entendimento da dinâmica de transmissão, da patogenicidade e das diferentes apresentações clínicas da doença de Chagas.

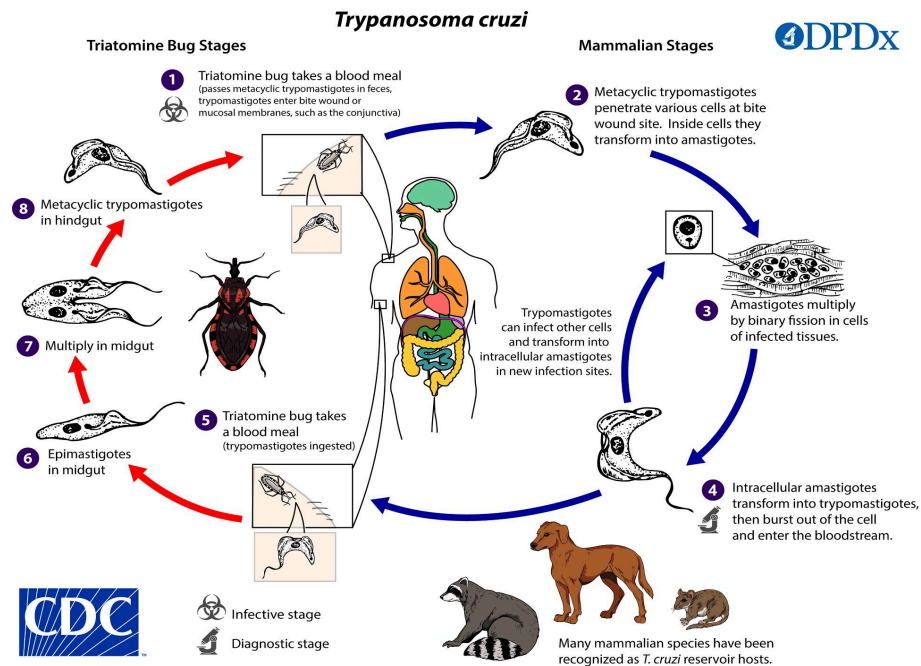
2.3 CICLO BIOLÓGICO

A infecção dos vetores (hospedeiros intermediários) ocorre durante o hematofagismo, quando os triatomíneos ingerem formas tripomastigotas presentes na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado (Figura 2). No estômago do inseto, essas formas evoluem para esferomastigotas, estruturas arredondadas, e posteriormente em epimastigotas. No intestino, os esferomastigotas podem se transformar em epimastigotas curtos, que se multiplicam por divisão binária, sendo responsáveis pela manutenção da infecção no vetor, ou em epimastigotas longos, que não se multiplicam nem se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos. Na ampola retal, porção terminal do tubo digestivo, os epimastigotas se diferenciam em tripomastigotas metacíclicos, forma infectante para o hospedeiro vertebrado, sendo posteriormente eliminados nas fezes ou na urina do inseto. Durante o processo de alimentação, o triatomíneo normalmente elimina as fezes contaminadas próximas ao

local da picada, possibilitando a penetração dos parasitos através da pele lesionada ou de mucosas adjacentes (NEVES, 2016).

Os tripomastigotas metacíclicos que penetram no tecido após o repasto sanguíneo interagem com células do sistema fagocitário mononuclear da pele e das mucosas. Nesses locais, ocorre a transformação dos tripomastigotas em amastigotas, que se multiplicam por divisão binária. Posteriormente, essas formas evolutivas se diferenciam novamente em tripomastigotas, rompem a célula hospedeira e são liberadas no espaço intersticial. Ao alcançar a corrente sanguínea, os tripomastigotas podem infectar novos tecidos e órgãos ou serem eliminados pelo sistema imunológico do hospedeiro. É nessa etapa do ciclo que os triatomíneos se infectam ao ingerir sangue contendo parasitos, caracterizando a fase extracelular. Durante a fase aguda, a carga parasitária é elevada; contudo, com o avanço da resposta imune, há redução progressiva da parasitemia e transição para a forma crônica (NEVES, 2016).

A interação adequada entre os tripomastigotas de *T. cruzi* e as células hospedeiras é essencial para o estabelecimento e a progressão da infecção. Esse processo ocorre em três etapas principais: adesão do parasito à membrana celular e reconhecimento mútuo; internalização, que pode ocorrer por fusão ou invaginação da membrana do hospedeiro; e, por fim, a multiplicação intracelular dos amastigotas e sua diferenciação em tripomastigotas. Quando a célula hospedeira se encontra repleta de parasitos, há rompimento e liberação do conteúdo intracelular no interstício (NEVES, 2016). O ciclo intracelular apresenta duração variável, ocorrendo entre 48 e 72 horas em macrófagos e entre quatro e cinco dias em células não fagocíticas, refletindo a adaptação do *T. cruzi* aos diferentes tipos celulares do hospedeiro (NEVES, 2016).

Figura 2: Ciclo biológico do *T. cruzi*

Fonte: CDC (2021) - Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html>

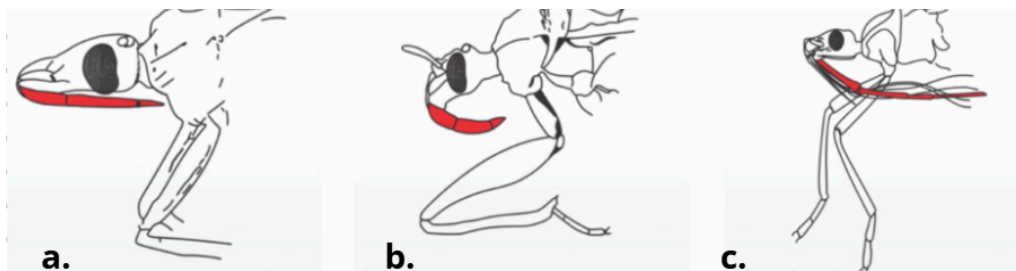
2.4 VETORES

Atualmente, são reconhecidas aproximadamente 140 espécies de triatomíneos com potencial para atuar como vetores do *T. cruzi*, agente etiológico da Doença de Chagas. Esses insetos pertencem à ordem Hemiptera, subordem Heteroptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae, sendo popularmente conhecidos como “barbeiros”. Apresentam hábitos hematófagos e ampla plasticidade ecológica, estando distribuídos predominantemente nas Américas. Entre os gêneros de maior relevância epidemiológica destacam-se *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma*, que reúnem as principais espécies vetoras do parasito (COURA, 2014). Dentre essas espécies, *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma dimidiata*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma sordida*, *Triatoma maculata*, *Panstrongylus geniculatus*, *Rhodnius ecuadoriensis* e *Rhodnius pallescens* são reconhecidas como os vetores de maior importância médica nas Américas. O *T. infestans* destaca-se como o principal vetor em grande parte da América do Sul, apresentando alta variabilidade genética e ampla distribuição geográfica, embora tenha sido eliminado de diversos países por meio de programas de controle vetorial (COURA, 2014). No Brasil, o vetor de maior

relevância é o *Panstrongylus megistus*, devido à sua ampla distribuição territorial, alta suscetibilidade ao *T. cruzi* e notável capacidade de adaptação do ambiente silvestre para o doméstico e peridoméstico (COURA, 2014).

Os insetos da ordem Hemiptera podem apresentar hábitos hematófagos, predadores ou fitófagos, diferenciando-se principalmente pelo formato do aparelho bucal (rosto), como demonstrado na Figura 3. Os hematófagos, como os barbeiros (Triatominae), possuem rostro curto e reto, adaptado à alimentação com sangue; os predadores apresentam rostro curto e curvo, utilizado para capturar outros insetos; e os fitófagos possuem rostro longo e reto, com aparência de quatro segmentos, que ultrapassa a região do pescoço e permite a sucção de seiva vegetal (REY, 2008; NEVES 2016). Os triatomíneos, popularmente conhecidos como barbeiros por picarem preferencialmente a face, área geralmente descoberta durante o sono, realizam hematofagia noturna. Alimentam-se de diversos hospedeiros vertebrados, variando conforme o ambiente: em áreas domiciliares, de humanos, cães e gatos; em peridomiciliares, de aves e pequenos mamíferos; e, em ambientes silvestres, de roedores, marsupiais e tatus, que atuam como reservatórios naturais do parasito. Os triatomíneos podem medir de dois a três centímetros, apresentam cabeça alongada, olhos salientes e antenas laterais; o rostro fica dobrado sob a cabeça, sem ultrapassar o primeiro par de patas (REY, 2008; ARGOLO, 2008).

Figura 3: Comparação quanto ao rostro de hemípteros. (a) hematófago, aparelho bucal reto e curto, não ultrapassa o primeiro parte de patas; (b) predador, aparelho bucal curto e curvo; (c) fitófago, aparelho bucal reto e longo, ultrapassa o primeiro par de patas.



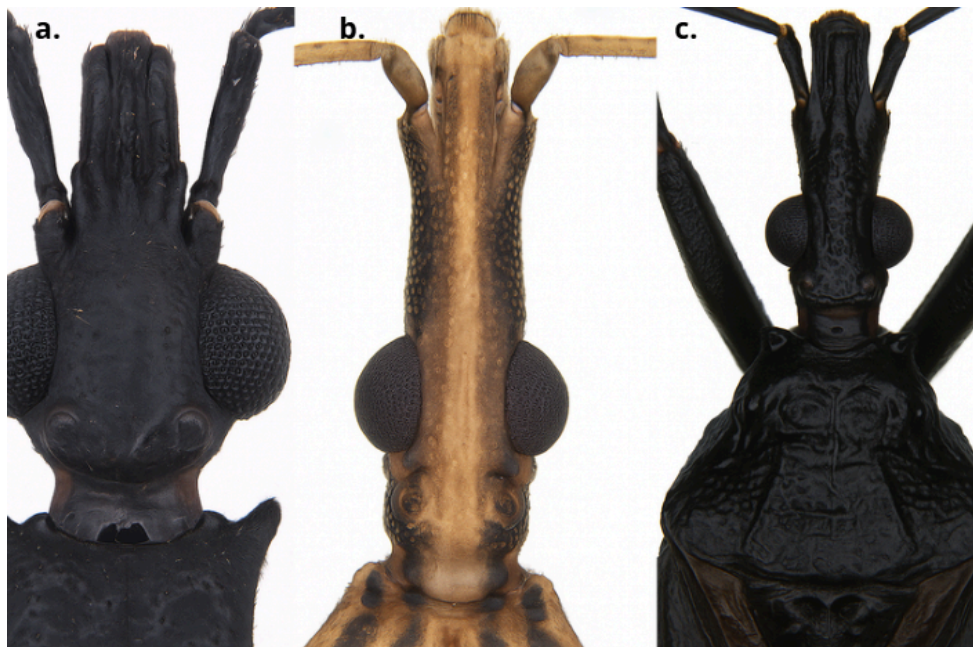
Fonte: Adaptado de Atlas iconográfico dos Triatomíneos do Brasil (2014).

Os barbeiros apresentam desenvolvimento hemimetábolo, ou seja, passam por metamorfose incompleta, com estágios de ovo, ninfa e adulto, sendo as formas jovens morfologicamente semelhantes às adultas. Ao longo de sua evolução, esses insetos se adaptaram ao ambiente domiciliar humano e as construções

peridomiciliares, como galinheiros, chiqueiros e tocas de animais, tornando-se importantes vetores na transmissão do *T. cruzi* aos seres humanos (ARGOLO et al., 2008). As fêmeas dos triatomíneos realizam a oviposição de forma livre no ambiente, e, em algumas espécies, os ovos apresentam substâncias adesivas que permitem sua fixação ao substrato. Essa característica contribui para a manutenção e expansão das populações, favorecendo a dispersão e colonização de novos ambientes (NEVES, 2016).

O exoesqueleto dos triatomíneos é dividido em cabeça, tórax e abdômen. A diferenciação entre os principais gêneros ocorre, principalmente, pela posição das bases das antenas, ou tubérculos anteníferos (Figura 4): no gênero *Panstrongylus*, as bases antenais localizam-se próximas aos olhos e a cabeça é mais curta; em *Rhodnius*, situam-se na extremidade anterior da cabeça, que é longa e estreita; e em *Triatoma*, encontram-se em posição intermediária (ARGOLO et al., 2008; REY, 2008).

Figura 4: Diferentes espécies de triatomíneos. (a) *Panstrongylus megistus*; (b) *Rhodnius pallescens*; (c) *Triatoma infestans*.



Fonte: Coleção de *Triatominae* - FCFAR - Unesp Araraquara (2020)

Os gêneros de maior relevância apresentam preferências ecológicas distintas. O gênero *Rhodnius* tende a colonizar habitações com telhados de palha, podendo também ser encontrado em peridomicílios e ecótopos naturais. *Panstrongylus* possui

ampla distribuição e elevada capacidade de adaptação, sendo registrado em ambientes silvestres, peridomiciliares e domésticos; algumas espécies mantêm o ciclo do *T. cruzi* em associação com tatus, devido à forte relação ecológica com esses mamíferos (REY, 2008). Já o gênero *Triatoma* apresenta hábitos predominantemente domésticos e peridomésticos, abrigando-se em frestas das casas durante o dia e saindo à noite para se alimentar de sangue humano ou de outros animais de sangue quente que se encontrem próximos.

Entre os fatores que influenciam a eficiência na transmissão do *T. cruzi* aos humanos, destacam-se o grau de associação entre vetor e parasito, a capacidade de colonização domiciliar, o potencial reprodutivo, a quantidade de parasitos eliminados nas fezes e o intervalo entre a alimentação e a defecação do inseto (REY, 2008; ARGOLO et al., 2008).

2.5 TRANSMISSÃO

A Doença de Chagas apresenta diferentes mecanismos de transmissão, sendo o de maior importância epidemiológica a via vetorial (NEVES, 2016). Nessa forma, a infecção ocorre pela penetração de tripomastigotas metacíclicos eliminados nas fezes dos triatomíneos durante o repasto sanguíneo. Esse tipo de transmissão envolve interações complexas entre *T. cruzi*, vetores e hospedeiros mamíferos, que sofrem influência de fatores como clima, desmatamento, urbanização, dispersão mediada por humanos, predação e comportamento humano. Tais fatores modulam diretamente a dinâmica da transmissão vetorial (CUCUNUBÁ et al., 2024).

A transmissão por transfusões sanguíneas constitui o segundo mecanismo de maior relevância epidemiológica (NEVES, 2016). Embora a triagem sorológica rigorosa de doadores e o controle vetorial domiciliar tenham reduzido significativamente os casos em países endêmicos da América Latina, essa via de transmissão permanece particularmente relevante em áreas não endêmicas, em razão dos fluxos migratórios de indivíduos infectados e da possibilidade de infecções crônicas assintomáticas não diagnosticadas (NEVES, 2016; CUCUNUBÁ et al., 2024).

A transmissão por transplante de órgãos ou medula óssea também é possível, podendo desencadear formas agudas graves devido à imunossupressão dos receptores. Isso ocorre principalmente quando há falhas na detecção de doadores

infectados, resultados falso-negativos ou quando o transplante de um doador infectado apresenta maior benefício que risco ao paciente (NEVES, 2016; CUCUNUBÁ et al., 2024).

A transmissão congênita ou vertical acontece quando amastigotas presentes na mãe colonizam a placenta, permitindo a liberação de tripomastigotas na circulação fetal ou durante o parto. Há evidências de que cargas parasitárias elevadas na corrente sanguínea materna aumentam o risco de infecção fetal (NEVES, 2016; CUCUNUBÁ et al., 2024). Esse mecanismo tende a assumir maior relevância epidemiológica à medida que a transmissão vetorial é controlada.

Outra forma de transmissão é a via oral, que ocorre principalmente pela ingestão de alimentos contaminados por fezes de triatomíneos infectados, com destaque para produtos regionais como o açaí. No Brasil, essa via tem assumido crescente importância epidemiológica, especialmente na região Norte do país, onde está associada a surtos de Doença de Chagas aguda relacionados ao consumo de alimentos contaminados durante o processamento artesanal (NEVES, 2016; BRASIL, 2024; CUCUNUBÁ et al., 2024). As infecções adquiridas por essa via tendem a apresentar evolução clínica mais grave, frequentemente com altas taxas de letalidade, em decorrência da elevada carga parasitária inoculada (CUCUNUBÁ et al., 2024).

Por fim, a transmissão acidental pode ocorrer quando o sangue de animais, vetores ou indivíduos infectados entra em contato com pele lesada ou mucosas, embora seja considerada rara.

A compreensão dos diferentes mecanismos de transmissão é fundamental para interpretar os padrões de ocorrência, a distribuição geográfica e os fatores que influenciam a manutenção da Doença de Chagas nas populações humanas.

2.6 EPIDEMIOLOGIA

A Doença de Chagas é endêmica em 21 países da América Latina, distribuindo-se do sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina e do Chile, afetando principalmente populações rurais e de baixa renda, onde a transmissão vetorial é predominante (RASSI JR.; RASSI; MARIN-NETO, 2010). No Brasil, historicamente, a infecção esteve associada à transmissão domiciliar por *Triatoma infestans*, espécie cuja eliminação do ambiente domiciliar foi certificada pela

Organização Pan-Americana da Saúde em 2006, representando um marco no controle vetorial do país (PÉREZ-MOLINA; MOLINA, 2018).

Atualmente, observa-se uma mudança no perfil epidemiológico, com predominância de casos agudos relacionados à transmissão oral, especialmente na região Norte, onde a ingestão de alimentos contaminados com *T. cruzi*, como o açaí, é a principal fonte de infecção (BRASIL, 2015; BRASIL, 2024). Entre 2000 e 2013, cerca de 91% dos casos confirmados de doença de Chagas aguda ocorreram na região Norte, sendo o Pará responsável por aproximadamente 75% dos registros nacionais (BRASIL, 2015). Esse cenário se mantém nas últimas décadas, conforme apontam os boletins epidemiológicos recentes, com maior concentração de surtos entre os meses de agosto e novembro, coincidindo com o período de safra do açaí (BRASIL, 2015; BRASIL, 2024).

A análise do Ministério da Saúde (BRASIL, 2024) mostra que, entre 2012 e 2021, a região Norte concentrou 85% dos casos agudos notificados, mantendo o Pará como principal foco da transmissão. A transmissão vetorial extradomiciliar também foi identificada em alguns estados da Amazônia Legal, envolvendo espécies silvestres como *Rhodnius pictipes* e *Panstrongylus geniculatus*. Além disso, a ocorrência de surtos por via oral vem aumentando, enquanto a transmissão vetorial clássica e transfusional permanecem sob controle devido à vigilância entomológica e à triagem obrigatória em bancos de sangue (BRASIL, 2024).

Em contrapartida, nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, predominam casos crônicos decorrentes de infecções antigas, refletindo o sucesso dos programas de controle implementados nas décadas anteriores (RASSI JR.; RASSI; MARIN-NETO, 2010; BRASIL, 2021). Apesar dos avanços, a persistência de casos agudos na Amazônia e o risco de reintrodução em áreas antes controladas demonstram a importância da vigilância contínua e da integração entre ações de saúde, saneamento e educação sanitária (BRASIL, 2015; BRASIL, 2024).

2.7 DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO

O diagnóstico da Doença de Chagas pode ser realizado em qualquer fase da infecção e envolve a análise integrada dos dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais do paciente (LIDANI et al., 2019). Na fase aguda, a presença do parasito no sangue periférico pode ser detectada por métodos diretos, como o

esfregaço sanguíneo e o exame de gota espessa, sendo este último mais sensível por concentrar maior volume de sangue em menor área, embora a observação microscópica seja mais dificultada (NEVES, 2016).

A detecção parasitológica também pode ocorrer por meio de métodos de multiplicação do parasito, como a hemocultura e o xenodiagnóstico. Este último consiste na alimentação de triatomíneos não infectados com o sangue do paciente, seguida da análise para verificar a presença de infecção no vetor, sendo aplicável tanto em casos agudos quanto crônicos, entretanto, não é utilizado atualmente (LIDANI et al., 2019; NEVES, 2016).

Nas infecções crônicas, o diagnóstico baseia-se principalmente em testes sorológicos para detecção de anticorpos específicos (IgG anti-*T. cruzi*). Entre os métodos empregados destacam-se a imunofluorescência indireta (IFI), que detecta anticorpos do paciente por meio de uma reação fluorescente observada em microscopia; a hemaglutinação indireta (HAI), que evidencia a reação entre hemácias sensibilizadas com antígenos do parasito e anticorpos específicos do soro; e o ensaio imunoenzimático (ELISA), que utiliza antígenos específicos de *T. cruzi* para capturar anticorpos presentes na amostra, oferecendo maior sensibilidade e praticidade diagnóstica (NEVES, 2016; LIDANI et al., 2019).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) também é empregada no diagnóstico, apresentando alta sensibilidade por detectar pequenas quantidades de DNA do parasito na amostra. O PCR em tempo real (qPCR), além de permitir a detecção direta, possibilita estimar a intensidade da parasitemia e monitorar a resposta terapêutica. Diferentemente dos métodos sorológicos, essa técnica fornece resultados mais precisos, reduzindo o risco de falsos negativos (NEVES, 2016). Além dos testes específicos, exames laboratoriais de rotina são solicitados para avaliar o estado clínico geral do paciente e possíveis comprometimentos sistêmicos (LIDANI et al., 2019).

O tratamento da Doença de Chagas pode ser dividido em terapia antiparasitária, direcionada à eliminação do *T. cruzi*, e tratamento sintomático, voltado ao controle das manifestações clínicas da doença. No Brasil, o benznidazol é o fármaco de escolha, apresentando maior eficácia nas formas agudas, congênitas e nas reativações decorrentes de imunossupressão. No entanto, o tratamento possui duração prolongada, podendo chegar a até 90 dias, o que frequentemente leva à descontinuidade em razão dos efeitos adversos. Na fase crônica, o manejo

terapêutico é predominantemente sintomático, voltado à estabilização clínica e à prevenção de complicações, podendo incluir intervenções cirúrgicas em casos de comprometimento cardíaco ou digestivo (NEVES, 2016; LIDANI et al., 2019).

O sucesso terapêutico depende de múltiplos fatores, como a fase e a duração da infecção, idade do paciente, precocidade do diagnóstico, comorbidades, métodos utilizados para avaliação da resposta ao tratamento e tempo de acompanhamento clínico. A suscetibilidade do genótipo de *T. cruzi* ao fármaco utilizado também é determinante para o alcance da cura (NEVES, 2016; LIDANI et al., 2019).

3 JUSTIFICATIVA

A Doença de Chagas permanece endêmica nas Américas e continua representando um relevante problema de saúde pública, especialmente em função das mudanças nos padrões de transmissão observadas nas últimas décadas (CUCUNUBÁ et al., 2024; BRASIL, 2024). Embora as ações de controle tenham sido eficazes na redução da transmissão vetorial clássica por espécies estritamente domiciliadas, como *Triatoma infestans*, a persistência de vetores silvestres e peridomiciliares, a exemplo de *Panstrongylus megistus* e *Triatoma sordida*, evidencia a necessidade de manutenção da vigilância entomológica, inclusive em regiões consideradas de menor risco histórico (BRASIL, 2021).

Nesse contexto, a análise do comportamento alimentar dos triatomíneos assume papel central na avaliação do risco epidemiológico, uma vez que a identificação de fontes sanguíneas humanas indica contato direto entre vetor e hospedeiro, sugerindo processos de intrusão domiciliar e adaptação ao ambiente antrópico. A detecção molecular de DNA humano em fezes de triatomíneos configura-se, portanto, como uma abordagem relevante para inferir a frequência dessas interações e o potencial de transmissão vetorial, mesmo em áreas onde a transmissão domiciliar clássica foi reduzida (GOMES et al., 1998).

No Sul de Minas Gerais, estudos realizados em período anterior, como o conduzido por Faria et al. (2021), demonstraram a circulação de *T. cruzi* em triatomíneos coletados entre 2014 e 2020, evidenciando a persistência do risco de transmissão na região. Considerando que fatores ambientais, climáticos e sociais podem modificar a dinâmica dos vetores e dos ciclos de transmissão ao longo do tempo, torna-se necessária a atualização desses dados em um contexto epidemiológico mais recente (CUCUNUBÁ et al., 2024).

Dessa forma, o presente estudo justifica-se por atualizar e complementar os achados de investigações anteriores, ao associar a detecção de *T. cruzi* à pesquisa de DNA humano em amostras fecais de triatomíneos coletados no Sul de Minas Gerais. Essa abordagem integrada permite uma avaliação mais refinada do risco epidemiológico regional, contribuindo para o fortalecimento das ações de vigilância entomológica e para o direcionamento de estratégias de prevenção e controle da Doença de Chagas, alinhadas à realidade local (BRASIL, 2021; FARIA et al., 2021).

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a presença de DNA humano em fezes de triatomíneos encaminhados para pesquisa de *T. cruzi* no Sul de Minas Gerais por meio de qPCR.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

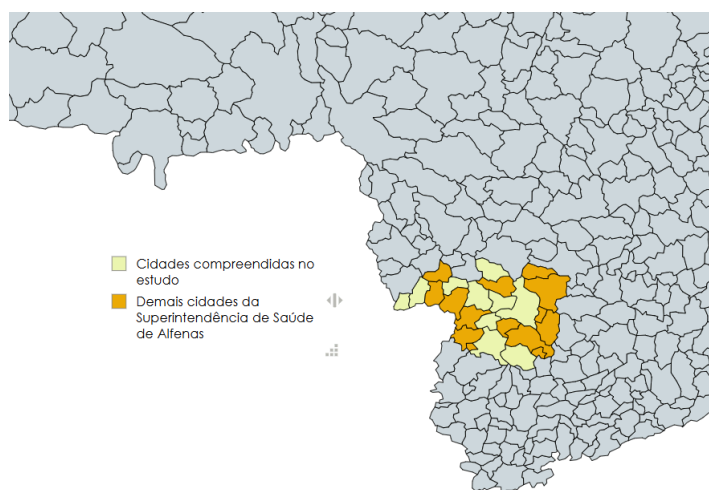
- Analisar as amostras de fezes de triatomíneos previamente encaminhadas ao laboratório para pesquisa de *T. cruzi* e catalogadas sob os critérios de espécie, município e data de encaminhamento.
- Conduzir a análise molecular das amostras por qPCR para detecção de *T. cruzi* e de DNA humano, utilizando protocolos e controles padronizados.
- Determinar a incidência de DNA humano nas amostras analisadas, indicando a proporção de triatomíneos com contato prévio com sangue humano, a fim de avaliar a ocorrência de interação entre vetor e hospedeiro humano e discutir suas possíveis implicações epidemiológicas para o risco de transmissão vetorial na região.
- Contribuir com dados preliminares que possam subsidiar estudos futuros sobre o risco de transmissão vetorial da Doença de Chagas no Sul de Minas Gerais.

5 METODOLOGIA

5.1 ÁREA DE ESTUDO

O estudo foi realizado em dez dos 24 municípios pertencentes à Superintendência Regional de Saúde de Alfenas, integrante da região macro-sul do estado de Minas Gerais, Brasil. Foram incluídos os municípios de Alfenas, Arceburgo, Areado, Campestre, Conceição da Aparecida, Divisa Nova, Guaranésia, Juruaia, Monte Belo e Poço Fundo (Figura 5). Esses municípios mantêm parceria e credenciamento junto ao Laboratório de Parasitologia Clínica da UNIFAL - MG, referência regional, para onde são encaminhados os triatomíneos capturados em ações de vigilância entomológica domiciliar e peridomiciliar, conforme os fluxos estabelecidos pela rede de vigilância em saúde.

Figura 5: Cidades participantes da Superintendência de Saúde de Alfenas, no Sul de Minas Gerais.



Fonte: Autora

5.2 AMOSTRAGEM

Os triatomíneos utilizados no presente trabalho foram coletados por agentes das equipes de Vigilância Epidemiológica dos municípios participantes, vinculados ao Programa Nacional de Controle da Doença de Chagas (PCDCh), no período de agosto a novembro de 2025. As investigações entomológicas foram realizadas

predominantemente em áreas rurais, abrangendo ambientes domiciliares e peridomiciliares, embora também tenham sido incluídas áreas urbanas.

Ao longo do período do estudo, 58 triatomíneos foram recebidos pelo Laboratório de Parasitologia Clínica da Universidade Federal de Alfenas, Minas Gerais, referência regional para a região macro-sul do Sul de Minas Gerais. Entretanto, nem todos os insetos foram incluídos nas análises, uma vez que um dos critérios de inclusão estabelecidos foi a presença de conteúdo intestinal. Dessa forma, triatomíneos secos ou sem conteúdo abdominal suficiente foram excluídos, considerando que as análises parasitológicas e moleculares realizadas dependiam diretamente desse material biológico.

Após o recebimento, os insetos incluídos no estudo passaram por análise morfológica, sendo identificados e classificados de acordo com os hábitos alimentares e gênero, de maneira que apenas triatomíneos hematófagos fossem considerados. O presente trabalho incluiu, ao final, 32 amostras provenientes de triatomíneos coletados em domicílios investigados nos municípios da região.

5.3 MÉTODO DIRETO - ANÁLISE PARASITOLÓGICA

A análise direta, ou parasitológica convencional, por meio de exame microscópico do conteúdo intestinal dos triatomíneos, não foi realizada pela autora, sendo conduzida por profissionais do próprio laboratório, conforme a rotina institucional. A amostra necessária para a análise foi obtida por meio da compressão abdominal dos triatomíneos, de modo a possibilitar a recuperação do material fecal.

Para o exame, o conteúdo abdominal foi cuidadosamente depositado em uma lâmina contendo uma gota de solução salina, em quantidade suficiente para a observação microscópica. Em seguida, a preparação foi coberta com lamínula e analisada em microscopia óptica, com o objetivo de detectar a presença de formas tripomastigotas metacíclicas de *T. cruzi*.

5.4 MÉTODO INDIRETO - REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL (qPCR) COM PRIMERS DE *T. cruzi*

O DNA foi extraído a partir do material fecal dos triatomíneos utilizando o protocolo de fenol-clorofórmio, conforme previamente adaptado por Gomes et al.

(1998), envolvendo etapas de lise celular, extração orgânica, precipitação, lavagem e ressuspensão do DNA.

A presença de *T. cruzi* nos triatomíneos foi determinada por meio de reação de qPCR no sistema TaqMan, baseada na atividade da Taq DNA polimerase, que promove a clivagem da sonda durante a amplificação, permitindo a detecção do alvo em tempo real. A reação amplificou um fragmento de 166 pares de bases do DNA satélite nuclear repetitivo de *T. cruzi*, utilizando os iniciadores *Cruzi 1* e *Cruzi 2* e a sonda *Cruzi 3*, marcada com FAM (6-carboxifluoresceína) na extremidade 5' e MGB (*minor groove binder*) na extremidade 3', molécula responsável por aumentar a especificidade, sensibilidade e precisão da reação (PIRON et al., 2007).

As reações foram realizadas em volume final de 10 µL, contendo 1 µL de DNA, 5 µL de TaqMan Universal PCR Master Mix 2×, 0,5 µL da mistura de primers e sonda, além de água livre de DNase/RNase para completar o volume final. Cada poço da placa do equipamento recebeu esse volume. Controles positivos e negativos foram incluídos em todas as reações, a fim de monitorar a eficiência da amplificação e a ausência de contaminação. As reações foram submetidas a 40 ciclos de amplificação, sendo os resultados posteriormente lidos e interpretados conforme os parâmetros estabelecidos.

5.5 qPCR PARA DETECTAR SANGUE HUMANO

Para a detecção de alimentação dos triatomíneos com sangue humano, foram utilizados oligonucleotídeos específicos para amplificação do gene da Ribonuclease P humana (RNase P). As sequências dos iniciadores utilizados foram RNase P forward (5' - AGA TTT GGA CCT GCG AGC G - 3') e RNase P reverse (5' - GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT - 3'), além da sonda RNase P probe (5' - TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG CG - 3'), para amplificação de um fragmento de 120 pares de bases do gene alvo (EDER et al., 1997).

As reações foram realizadas seguindo o mesmo protocolo das reações de qPCR descritas anteriormente, com a realização de 50 ciclos de amplificação. Como controle positivo, foi utilizado DNA extraído de uma amostra de sangue humano, enquanto água livre de DNase/RNase foi empregada como controle negativo.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de realização do presente trabalho, foram recebidos 58 exemplares para análise, destes 32 insetos, encaminhados por dez cidades da área de estudo (Quadro 1), foram classificados como hematófagos e foi possível a extração do conteúdo intestinal. O restante, 26 exemplares, estavam secos e impossibilitados de realizar o ensaio. Após a avaliação morfológica externa, todos os triatomíneos foram classificados como *Panstrongylus megistus*. Esse resultado evidencia a predominância da espécie na região, sendo consistente com as elevadas taxas de infecções naturais associadas a *P. megistus* e à sua reconhecida capacidade de adaptação e colonização domiciliar em comparação a outras espécies (FARIA et al., 2021).

Quadro 1: Número de triatomíneos por cidade, Sul de Minas Gerais

| Cidade | Nº de Triatomíneos |
|------------------------|---------------------------|
| Alfenas | 4 |
| Arceburgo | 4 |
| Areado | 3 |
| Campestre | 6 |
| Conceição da Aparecida | 1 |
| Divisa Nova | 1 |
| Guaranésia | 1 |
| Juruaia | 4 |
| Monte Belo | 5 |
| Poço Fundo | 3 |
| Total | 32 |

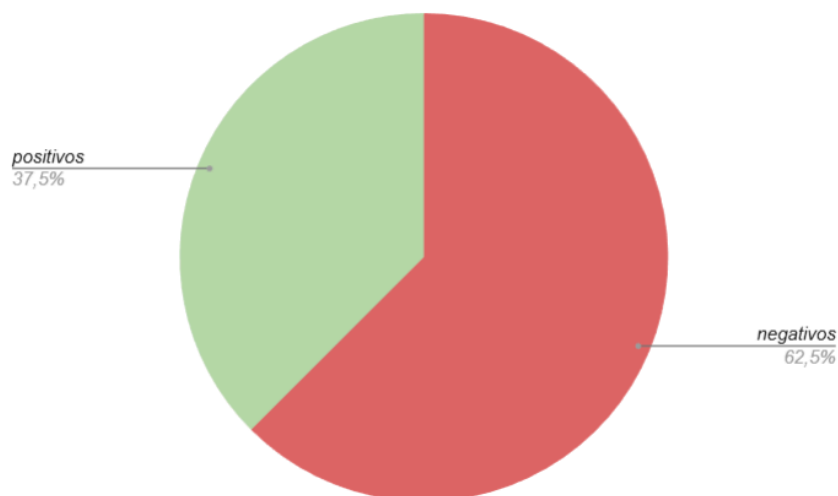
Fonte: Autora

A análise microscópica do conteúdo intestinal dos triatomíneos resultou em 12 amostras positivas para a pesquisa de *T. cruzi* (Quadro 2). Por meio da análise molecular, foram identificados 28 resultados positivos para o DNA do parasito,

evidenciando que, em 16 insetos, a infecção não foi detectada pelo método parasitológico convencional, mas pôde ser confirmada pela PCR. Esse contraste entre os métodos era esperado, uma vez que as técnicas moleculares apresentam maior sensibilidade, permitindo a detecção e amplificação de quantidades mínimas de DNA, inclusive em situações de baixa carga parasitária. Em conjunto, esses resultados reforçam a maior eficiência e aplicabilidade da PCR como ferramenta complementar à vigilância entomológica e ao controle vetorial.

A presença de material genético humano foi detectada em 12 amostras, todas também positivas para *T. cruzi*, indicando que 37,5% dos triatomíneos analisados (Gráfico 1) tiveram contato direto com sangue humano. Esse achado sugere uma interação efetiva entre os vetores e o ambiente domiciliar, configurando uma situação de risco potencial para a transmissão vetorial da Doença de Chagas à população local. Por outro lado, os triatomíneos negativos para DNA humano possivelmente recorreram a outras fontes alimentares, especialmente cães, animais que favorecem a domiciliação dos vetores e desempenham papel relevante no ciclo de transmissão da doença ao atuarem como reservatórios do parasito. Dessa forma, triatomíneos inicialmente não infectados podem adquirir *T. cruzi* durante o repasto sanguíneo, contribuindo para a manutenção da infecção no ambiente domiciliar e peridomiciliar (FARIA et al., 2021).

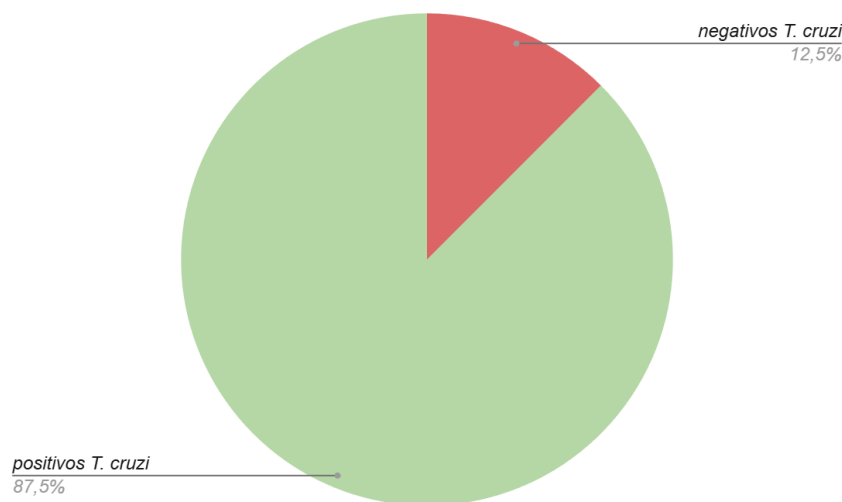
Gráfico 1 - Percentual de resultados positivos e negativos para a pesquisa de DNA humano em conteúdo fecal de triatomíneos.



Fonte: Autora

Considerando que 87,5% dos triatomíneos analisados apresentaram DNA de *T. cruzi* (Gráfico 2), os resultados indicam a existência de um ambiente favorável à manutenção do ciclo de transmissão, no qual a interação entre vetores e hospedeiros domésticos, especialmente cães, pode representar um ponto-chave na amplificação da infecção entre os insetos. A associação entre altas taxas de infecção vetorial e evidências de alimentação em humanos reforça que o ciclo de transmissão vetorial permanece ativo na área de estudo, mesmo em um contexto de controle da transmissão clássica. Assim, os achados evidenciam a necessidade de continuidade e fortalecimento das medidas de vigilância entomológica e de intervenção, visando à redução do risco de transmissão da Doença de Chagas na região.

Gráfico 2 - Percentual de triatomíneos positivos para *T. cruzi* detectados por qPCR.



Fonte: Autora

Quadro 2: Resultados totais consolidados obtidos após análise

| Inseto | Resultado parasitológico | Resultado pcr <i>T.cruzi</i> | Resultado pcr DNA humano | Cidade |
|----------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|------------------------|
| 48 | negativo | negativo | negativo | Juruaia |
| 49 | negativo | positivo | negativo | Poço Fundo |
| 51 | negativo | positivo | positivo | Monte Belo |
| 51* | positivo | positivo | positivo | Monte Belo |
| 53 | negativo | positivo | positivo | Poço Fundo |
| 54 | negativo | positivo | negativo | Monte Belo |
| 55 | positivo | positivo | positivo | Areado |
| 56 | negativo | positivo | negativo | Arceburgo |
| 57 | negativo | negativo | negativo | Divisa Nova |
| 59 | positivo | positivo | positivo | Areado |
| 59* | positivo | positivo | positivo | Areado |
| 60 | negativo | positivo | negativo | Alfenas |
| 61 | negativo | positivo | negativo | Guaranésia |
| 62 | negativo | positivo | positivo | Campestre |
| 62* | negativo | positivo | negativo | Campestre |
| 63 | negativo | positivo | negativo | Campestre |
| 64 | positivo | positivo | negativo | Campestre |
| 65 | negativo | negativo | negativo | Campestre |
| 66 | negativo | positivo | negativo | Juruaia |
| 67 | positivo | positivo | positivo | Alfenas |
| 68 | positivo | positivo | positivo | Alfenas |
| 68* | positivo | positivo | positivo | Alfenas |
| 69 | negativo | positivo | negativo | Arceburgo |
| 70 | positivo | positivo | positivo | Arceburgo |
| 73 | positivo | positivo | negativo | Conceição da Aparecida |
| 74 | negativo | negativo | negativo | Arceburgo |
| 75 | positivo | positivo | negativo | Monte Belo |
| 75* | positivo | positivo | positivo | Monte Belo |
| 78 | negativo | positivo | negativo | Poço Fundo |
| 79 | negativo | positivo | negativo | Juruaia |
| 80 | negativo | positivo | negativo | Juruaia |
| 81 | negativo | positivo | negativo | Campestre |
| % Positividade | 37,5% | 87,5% | 37,5% | - |

Fonte: Autora. *Amostras duplicadas correspondem a diferentes triatomíneos encaminhados pelo mesmo município e na mesma data de coleta.

7 CONCLUSÃO

Com a metodologia aplicada, foi possível processar e realizar a análise molecular de todas as amostras, permitindo o cálculo dos índices de positividade. Os dados obtidos no presente trabalho demonstram a existência de risco de transmissão vetorial da doença de Chagas no Sul de Minas Gerais, uma vez que triatomíneos infectados podem se alimentar de humanos com relativa frequência, favorecidos pela adaptação e pela proximidade desses insetos ao ambiente domiciliar e peridomiciliar. Sendo assim, a correta identificação do vetor e do agente etiológico é fundamental para compreender os padrões de transmissão e para subsidiar ações de vigilância epidemiológica. Os dados apresentados reforçam a necessidade de estratégias de intervenção contínuas, a fim de impedir a manutenção de casos agudos e evitar a reintrodução da transmissão vetorial em áreas previamente controladas.

Como limitações do estudo, destaca-se o período relativamente curto de coleta, o que pode ter restringido o número de triatomíneos analisados e, conseqüentemente, a abrangência dos resultados. Além disso, a investigação das fontes de alimentação dos vetores foi restrita à detecção de DNA humano, não sendo avaliadas outras possíveis fontes sanguíneas, como cães e outros animais presentes no ambiente domiciliar e peridomiciliar, os quais desempenham papel relevante na manutenção do ciclo de transmissão do *T. cruzi*. Dessa forma, estudos futuros com maior tempo de acompanhamento e inclusão de múltiplas fontes de alimentação poderão contribuir para uma compreensão ainda mais abrangente da dinâmica de transmissão na região.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAS, Alba et al. Identification of Trypanosoma cruzi Discrete Typing Units (DTUs) in Latin-American migrants in Barcelona (Spain). **Parasitology International**, [S.L.], v. 66, n. 2, p. 83-88, abr. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.parint.2016.12.003>.

A PÉREZ-MOLINA, José; MOLINA, Israel. Chagas disease. **The Lancet**, [S.L.], v. 391, n. 10115, p. 82-94, jan. 2018. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)31612-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(17)31612-4)

ARGOLO, Ana Maria et al. **DOENÇA DE CHAGAS e seus Principais Vetores no Brasil**. Rio de Janeiro: Imperial Novo Milênio, 2008. Disponível em: <https://goias.gov.br/saude/wp-content/uploads/sites/34/2012/05/cartilha-chagas-c01.pdf>

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico da Doença de Chagas**. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_chagas_14abr21_b.pdf . Acesso em: 16 out. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doença de Chagas aguda no Brasil: série histórica de 2000 a 2013**. Boletim Epidemiológico, v. 46, n. 21, 2015. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas/arquivos/boletim-epidemiologico-volume-46-no-21-2015-doenca-de-chagas-aguda-no-brasil-serie-historica-de-2000-a-2013.pdf/@@download/file> . Acesso em: 16 out. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Análise descritiva: um ano de implementação da notificação de doença de Chagas crônica no Brasil**. Boletim Epidemiológico, v. 55, n. 8, 16 abr. 2024. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiolo>

[gicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-08.pdf](#) . Acesso em: 16 out. 2025.

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. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, 1(2), 159–218, 1909. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761909000200008>

COURA, José Rodrigues. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions – A comprehensive review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S.L.], v. 110, n. 3, p. 277-282, 2 dez. 2014. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0074-0276140362>

CUCUNUBÁ, Zulma M. et al. The epidemiology of Chagas disease in the Americas. **The Lancet Regional Health - Americas**, [S.L.], v. 37, p. 100881-100890, set. 2024. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lana.2024.100881>

EDER, Paul S. et al. Characterization of two scleroderma autoimmune antigens that copurify with human ribonuclease P. **Proceedings Of The National Academy Of Sciences**, [S.L.], v. 94, n. 4, p. 1101-1106, 18 fev. 1997. Proceedings of the National Academy of Sciences. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.94.4.1101>.

FARIA, Angélica Rosa et al. Risk of *Trypanosoma cruzi* transmission in southern Minas Gerais, Brazil – Data from 2014 to 2020. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, [S.L.], v. 23, p. 100530, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100530>.

GOMES, Mônica L. et al. *Trypanosoma cruzi*: optimization of polymerase chain reaction for detection in human blood. **Experimental Parasitology**, [S.L.], v. 88, n. 1, p. 28-33, jan. 1998. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1006/expr.1998.4191>

GUARNER, Jeannette. Chagas disease as example of a reemerging parasite. **Seminars In Diagnostic Pathology**, [S.L.], v. 36, n. 3, p. 164-169, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1053/j.semmp.2019.04.008>

HOCHBERG, Natasha S.; MONTGOMERY, Susan P.. Chagas Disease. **Annals Of Internal Medicine**, [S.L.], v. 176, n. 2, p. 17-32, fev. 2023. American College of Physicians. <http://dx.doi.org/10.7326/aitc202302210>

JANSEN, Ana Maria; XAVIER, Samanta Cristina das Chagas; ROQUE, André Luiz R.. Landmarks of the Knowledge and Trypanosoma cruzi Biology in the Wild Environment. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.L.], v. 10, p. 0-0, 6 fev. 2020. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2020.00010>

LIDANI, Kárita Cláudia Freitas et al. Chagas Disease: from discovery to a worldwide health problem. **Frontiers In Public Health**, [S.L.], v. 7, p. 166, 2 jul. 2019. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2019.00166>

NEVES, David Pereira. **Parasitologia humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016. 588 p.

NIELEBOCK M.A.P. **Diversidade genética de Trypanosoma cruzi conforme a classificação por DTU (discrete typing units – TcI-TcVI) e correlação com a apresentação clínica da doença de Chagas**. Rio de Janeiro, 2019. 98 f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

NUNES, Maria Carmo Pereira et al. Chagas Disease. **Journal Of The American College Of Cardiology**, [S.L.], v. 62, n. 9, p. 767-776, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2013.05.046>

PIRON, Maria et al. Development of a real-time PCR assay for Trypanosoma cruzi detection in blood samples. **Acta Tropica**, [S.L.], v. 103, n. 3, p. 195-200, set. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.05.019>

RASSI JUNIOR, Anis; RASSI, Anis; MARIN-NETO, José Antonio. Chagas disease. **The Lancet**, [S.L.], v. 375, n. 9723, p. 1388-1402, abr. 2010. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60061-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60061-x)

REY, Luís. **Parasitologia**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.