



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE PÚBLICA**  
**MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA**

**LUIZ OSVALDO RODRIGUES DA SILVA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E PADRÕES DE SUSCETIBILIDADE À  
DELTAMETRINA EM POPULAÇÕES DE *Triatoma brasiliensis*, NEIVA, 1911  
(HEMIPTERA: REDUVIIDAE), NO MUNICÍPIO DE JAGUARUANA, CEARÁ**

**FORTALEZA, CEARÁ**

**2023**

LUIZ OSVALDO RODRIGUES DA SILVA

DIVERSIDADE GENÉTICA E PADRÕES DE SUSCETIBILIDADE À DELTAMETRINA  
EM POPULAÇÕES DE *Triatoma brasiliensis*, NEIVA, 1911 (HEMIPTERA: REDUVIIDAE),  
NO MUNICÍPIO DE JAGUARUANA, CEARÁ

Dissertação submetida ao Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde Pública.

Orientador: Prof. Dr. Jorg Heukelbach

Coorientador(a): Dra. Claudia Mendonça Bezerra

FORTALEZA, CEARÁ

2023

LUIZ OSVALDO RODRIGUES DA SILVA

DIVERSIDADE GENÉTICA E PADRÕES DE SUSCETIBILIDADE À DELTAMETRINA  
EM POPULAÇÕES DE *Triatoma brasiliensis*, NEIVA, 1911 (HEMIPTERA: REDUVIIDAE),  
NO MUNICÍPIO DE JAGUARUANA, CEARÁ

Dissertação submetida ao Departamento de Saúde Comunitária da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Saúde Pública.

Aprovado em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Jorg Heukelbach (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof. Dra. Claudia Medonça Bezerra (Coorientadora)  
Secretaria do Estado da Saúde do Ceará – SESA

---

Dra. Kellyn Kessiene de Sousa Cavalcante  
Secretaria do Estado da Saúde do Ceará – SESA

---

Prof. Dr. Marcos Takashi Obara  
Universidade de Brasília – UNB

---

Dr. Flávio Campos Ferreira (Suplente)  
Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ/MG

---

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

S581d Silva, Luiz Osvaldo Rodrigues.

Diversidade genética e padrões de suscetibilidade à deltametrina em populações de *Triatoma brasiliensis*,  
Neiva, 1911, (Hemiptera: Reduviidae), no município de Jaguaruana, Ceará / Luiz Osvaldo Rodrigues

Silva. – 2023.

131 f. : il. color

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-  
Graduação em Saúde Pública, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Jorg Heukelbach.

Coorientação: Profa. Dra. Claudia Mendonça Bezerra.

1. Doença de Chagas. 2. Resistência a inseticidas. 3. *Triatoma brasiliensis*. 4. Piretróides. 5. Diversidade  
genética. I. Título.

CDD 610

---

**Dedico,**

À minha família e amigos, que incentivaram e não deixaram de acreditar em mim ao longo desta caminhada.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela saúde e sustentar nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. Jorg Heukelbach pela orientação e principalmente pela paciência;

A Dra. Claudia Medonça pela dedicação na coorientação, apoio nos trabalhos de campos e incentivo diário;

Aos doutores (as) e professores (as) participantes da banca examinadora: Dr. Carlos Henrique Morais de Alencar, Dr. Marcos Takashi Obara, Dr. Flávio Campos Ferreira e Dra. Cláudia Medonça Bezerra, pelo tempo, além das valiosas colaborações e sugestões;

Ao Prof. Dr. Marcos Obara pelas excelentes dicas sobre os testes biológicos;

À Profa. Dra. Carlota Josefovicz pela realização da caracterização das amostras por microssatélites;

Ao Dr. Flávio Campos pela excelente aula e material disponibilizado sobre genética de populações;

Aos funcionários do Programa de Pós-graduação em Saúde Pública da Universidade Federal do Ceará, Dominik e Alexandre, pelo auxílio durante este percurso;

À Secretaria do Município de Jaguaruana que cedeu equipes de Agentes de Combate as Endemias (ACEs) para auxiliar nos trabalhos de campo;

Ao grupo de pesquisa em Triatomíneos/IOC – FIOCRUZ-MG;

À Secretaria do Estado da Saúde do Ceará, que possibilitou a logísticas para os trabalhos de campo;

A Roberta de Paula, Coordenadora da Vigilância Ambiental e Saúde do Trabalhador e Trabalhadora;

Aos amigos (as) e companheiros (as) de trabalho da Célula de Vigilância Entomológica e Controle de Vetores, pelo incentivo e apoio nos trabalhos de laboratório e campo.

Ao Departamento de Saúde Comunitária da UFC pelo apoio e oportunidade do projeto;

À minha família, meus maiores incentivadores, em especial minha mãe (Alzira Rodrigues), minha esposa (Sílvia Galúcio) e meu filho (Luiz Thomás), que, mesmo nos dias mais difíceis, não deixaram de acreditar em mim.

“Como sei pouco, e sou pouco, faço o pouco  
que me cabe de dando por inteiro...”

Thiago de Melo

## RESUMO

A estratégia de controle da doença de Chagas, empregada há mais de 40 anos no Brasil, visa interromper a transmissão vetorial por meio do combate aos triatomíneos domésticos com inseticidas residuais, no entanto, esta estratégia pode ter selecionado populações com resistência alterada. O objetivo deste trabalho foi monitorar o perfil de suscetibilidade de *Triatoma brasiliensis* ao inseticida deltametrina, caracterizar a estrutura genética destas populações e descrever as características sociais, culturais e comportamentais dos residentes que possivelmente estejam relacionadas com a persistência de vetor ao ambiente domiciliar. O trabalho foi realizado em 144 Unidades Domiciliares (UD), quatro localidades rurais do município de Jaguaruana, Ceará. A população utilizada nos ensaios biológicos foi oriunda de Umari-CE. A caracterização da estrutura genética das populações por microssatélites, pela técnica de transposição. As características sociais, culturais e comportamentais das comunidades foram coletadas por meio de entrevistas com questionário semi-estruturado. Os bioensaios descreveram uma Dose Letal de 50% da população ( $DL_{50}$ ) que variou de 0,29 a 0,45 e as razões de resistência ( $RR_{50}$ ) entre 1,01 a 1,55, apresentando-se todas suscetíveis. As populações de *T. brasiliensis* das localidades de Cipriano Lopes, Latadas e Quixabinha apresentaram diferenças significativas na  $DL_{50}$  em relação à população de referência (TbREF), quando os limites de confiança foram sobrepostos ao nível de 95%. Os estudos com microssatélites revelaram uma pequena diversidade genética. O número médio de alelos observados por loci variou de 1,89 (Tb860) a 5,13 (Tb7180), com média de 3,19. A amostra de João Duarte Silvestre (JDuaWild1) foi a que apresentou maior média número de alelos ( $NA=4,20$ ) e riqueza alélica ( $RA=3,28$ ), enquanto a UD de 10c1 de Latada (Lat18c1) foi a que apresentou menor média de número de alelos ( $NA=2,00$ ) e riqueza alélica ( $RA=1,78$ ). A análise de variância molecular (AMOVA) demonstrou que 67.2% da variabilidade genética está entre todos os indivíduos, 22,6% entre indivíduos de uma mesma amostra e 10,2% entre as amostras. Os índices de fixação apresentaram  $p$  valor  $\leq 0,05$  indicando a ocorrência de endocruzamento na amostra com presença de subpopulações. O estudo transversal populacional revelou predomínio da constituição das paredes das UD's de alvenaria com reboco (68,4%) e fendas (81,9%), com maiores percentuais encontrados em Latadas (90,7%) e Jenipapeiros (88,9%). Houve predominância de piso de cimento (79,5%) e o telhado por telha de barro (100%). Os residentes utilizam inseticidas para controle de insetos no intradomicílio (39,7%) e peridomicílio (48,2%). A criação de animais doméstico é comum nas comunidades. No peridomicílio existe alta diversidade de anexos que podem servir de abrigos e locais de



reprodução para *T. brasiliensis*, favorecendo o processo de reinfestação dos domicílios. Conclui-se que as populações *T. brasiliensis* testadas são suscetíveis ao inseticida deltametrina, apresentam baixo fluxo gênico, com existência de subpopulações estruturadas. As características das UDs aliado aos hábitos dos residentes podem contribuir para a manutenção de populações de triatomíneos próximos das moradias.

**Palavras-chave:** Doença de Chagas; Resistência a inseticidas; *Triatoma brasiliensis*; Piretróide; Diversidade genética; Microsatélites.

## ABSTRACT

The strategy for controlling Chagas disease basically consists of interrupting vector transmission by combating domestic triatomines through residual insecticide applications. This control strategy has been employed for over 40 years in Brazil, which may have selected various populations with altered resistance status. The aim of this study was to monitor the susceptibility profile of *T. brasiliensis* to the insecticide deltamethrin, characterize the genetic structure of these populations, and describe the social, cultural, and behavioral characteristics of residents that may be related to the persistence of vectors in the domestic environment. The study was conducted in four rural localities in the municipality of Jaguaruana, Ceará. A total of 144 Household Units (UDs) were sampled for the collection of triatomines (N=961) for bioassays and cross-sectional population study. The population used as a reference lineage for susceptibility in biological assays originated from Umari-CE. The characterization of the genetic structure of populations was developed through the study of microsatellites using the transposition technique. Social, cultural, and behavioral characteristics of the communities were collected through interviews using a semi-structured questionnaire. The bioassays described a LD50 ranging from 0.29 to 0.45 and resistance ratios (RR50) between 1.01 to 1.55, all being susceptible. The *T. brasiliensis* populations in the localities of Cipriano Lopes, Latadas, and Quixabinha showed significant differences in LD50 compared to the reference population (TbREF) when the confidence limits overlapped at the 95% level. Microsatellite studies revealed low genetic diversity. The average number of alleles observed per locus ranged from 1.89 (Tb860) to 5.13 (Tb7180), with an average of 3.19. The sample from João Duarte Silvestre (JDuaWild1) had the highest average number of alleles (NA=4.20) and allelic richness (RA=3.28), while the UD of 10c1 de Latada (Lat18c1) had the lowest average number of alleles (NA=2.00) and allelic richness (RA=1.78). Molecular variance analysis (AMOVA) demonstrated that 67.2% of the genetic variability is among all individuals, 22.6% among individuals from the same sample, and 10.2% among samples. Fixation indices showed p value  $\leq 0.05$ , indicating inbreeding in the sample with the presence of subpopulations. The population-based cross-sectional study revealed that the predominant construction of the walls of UDs is masonry with plaster at 68.4%, with cracks found in 81.9% of the surveyed UDs, with higher percentages found in Latadas (90.7%) and Jenipapeiro (88.9%). The floor predominantly consists of cement at 79.5%, and the roof is 100% made of clay tiles. Regarding the use of domestic insecticides, 39.7% of residents use insecticides for insect control inside the home, and 48.2% use them in the peridomicile. Domestic animal breeding is common in the

communities. In the peridomicile, there is a high diversity of annexes that can serve as shelters and breeding sites for *T. brasiliensis*, favoring the process of household reinfestation. In conclusion, the tested *T. brasiliensis* populations are susceptible to the insecticide deltamethrin, exhibit low gene flow, and have structured subpopulations. The characteristics of UDs, combined with the residents' habits, may contribute to the maintenance of triatomine populations close to dwellings.

**Keywords:** Chagas disease; Insecticide resistance; *Triatoma brasiliensis*; Pyrethroid; Genetic diversity; Microsatellites.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> - Mapa Mundial com países endêmicos da doença de Chagas e casos estimados detectados em países não endêmicos na América do Norte, Europa e região do Pacífico Ocidental.....	10
<b>Figura 2</b> - <i>Triatoma brasiliensis brasiliensis</i> NEIVA, 1911.....	14
<b>Figura 3</b> - A <i>Triatoma brasiliensis brasiliensis</i> , B. T. b. macromelasoma, C. T. lenti, D. T. bahiensis, E. T. juazeirensis, F. T. melanica, G. T. sherlocki, H. T. petrocchiaie. ....	16
<b>Figura 4</b> - Mapa do Brasil com a distribuição do complexo de <i>Triatoma brasiliensis</i> .....	17
<b>Figura 5</b> - Mapa do estado do Ceará com o período de inclusão dos municípios no Programa de Controle da Doença de Chagas. ....	20
<b>Figura 6</b> - Mapa do Ceará, com destaque o município de Jaguaruana e as localidades trabalhadas: Cipriano Lopes, Latadas, Jenipapeiro e Quixabinha. ....	28
<b>Figura 7</b> - Acondicionamento dos triatomíneos no insetários (A); acondicionamento de ovos de <i>T. brasiliensis</i> em estufa tipo (BOD) para acompanhamento diário de eclosão (B); ninfas de primeiro estágio de <i>T. brasiliensis</i> para posterior ensaio biológico (C). ....	32
<b>Figura 8</b> - Acetona P.A para diluição do inseticida deltametrina (A); pipetas automáticas para diluição das doses (B); seringa Hamilton acoplada a dispensador automático (D) e aplicação tópica do inseticida no dorso ou ventre dos triatomíneos (E). ....	35
<b>Figura 9</b> - Curva de mortalidade de populações de <i>Triatoma brasiliensis</i> , em escala logarítmica, para o inseticida deltametrina. A: comparação entre TbREF (3,95) e TbP25 (5,16), B: comparação entre TbREF (3,95) e TbP116 (4,77), C: comparação entre TBREF (3,95) e Tbp117 (4,85); D: Compara entre TbREF (3,95) e TbP30 (5,53).....	44
<b>Figura 10</b> - Curva de mortalidade de populações de <i>Triatoma brasiliensis</i> , em escala logarítmica, para o inseticida deltametrina. A: comparação entre TbREF (3,95) e TbP26 (9,35), B: comparação entre TbREF (3,95) e TbP27 (7,84). ....	45
<b>Figura 11</b> - Curva de mortalidade de populações de <i>Triatoma brasiliensis</i> , em escala logarítmica, para o inseticida deltametrina. A: comparação entre TbREF (3,95) e TbP69 (4,60), B: comparação entre TbREF (3,95) e TbP70 (4,39), C: comparação entre TBREF (3,95) e Tbp118 (3,38), D: comparação entre TbREF (3,95) e TbS119 (3,71). ....	46
<b>Figura 12</b> - Dendograma com Fst pareado de <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará. ....	56
<b>Figura 13</b> - Gráfico de barras representando a diversidade genética (K=6) para o <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará.....	58

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Dose letal 50% (DL50), Dose letal 99% (DL99) e Slope da população referência de suscetibilidade das espécies de triatomíneos <i>T. brasiliensis</i> , Umari, Ceará. ....	30
<b>Tabela 2</b> - Codificação das diferentes populações de <i>T. brasiliensis</i> procedentes do município de Jaguaruana, Ceará. ....	33
<b>Tabela 3</b> - Distribuição do número de exemplares por amostra, DL50, DL95, RR50, RR95 e SLOPE de populações de <i>T. brasiliensis</i> tratadas com aplicação tópica de 0,2µl de deltametrina, na superfície dorsal ou ventral de ninfas de primeiro estágio capturadas em Jaguaruana, Ceará, Brasil. ....	44
<b>Tabela 4</b> - Número de amostras de <i>T. brasiliensis</i> para caracterização genética utilizando microssatélites, município de Jaguaruana, Ceará. ....	50
<b>Tabela 5</b> - Estimativa dos valores de frequência de alelos nulos para cada locus em cada amostra de <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará. ....	51
<b>Tabela 6</b> - Número de alelos e riqueza alélica por locus de <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará. ....	52
<b>Tabela 7</b> - Valores de heterozigosidade observada (HO) e esperada (HE), e equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW) para cada locus em amostras de <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará. ....	53
<b>Tabela 8</b> - Análise de variância molecular (AMOVA) e índice de fixação para <i>Triatoma brasiliensis</i> do município de Jaguaruana, Ceará. ....	55
<b>Tabela 9</b> - Distância geográfica entre as localidades de amostragem em quilômetros (acima da diagonal), valores de par a par $F_{st}$ (abaixo da diagonal) e, valores de $F_{is}$ (na diagonal) de <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará. ....	56
<b>Tabela 10</b> - Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação a constituição das paredes, fendas, tipo de piso e telhado das localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023 (N=137). ....	60
<b>Tabela 11</b> - Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação a criação de animais domésticos nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023. ....	62
<b>Tabela 12</b> - Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação ao uso de inseticidas domésticos pela população nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023. ....	63
<b>Tabela 13</b> - Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação aos anexos presentes nos peridomicílios das localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023. ....	64

<b>Tabela 14</b> - Caracterização quanto a existência de plantações, tipo de cultura e uso de inseticidas nas plantações nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023. ....	65
<b>Tabela 15</b> - Caracterização dos residentes quanto a frequentar a mata, principal atividade na mata nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023. ....	66

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Número de <i>T. brasiliensis</i> coletados para formação das colônias para os ensaios biológicos, Jaguaruana, Ceará. ....	31
<b>Quadro 2</b> - Variáveis abordadas no questionário aplicado nas quatro localidades pesquisadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023. ....	41
<b>Quadro 3</b> - Locus de <i>Triatoma brasiliensis</i> amplificados das localidades rurais de Jaguaruana, Ceará. ....	51
<b>Quadro 4</b> - Teste de primeira geração de migrantes para <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará. ....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE	Agentes de Combate as Endemias
BHC	Hexaclorobenzeno
BOD	Demanda Bioquímica de Oxigênio
CEVET	Célula de Vigilância Entomológica e Controle de Vetores
DC	Doença de Chagas
DCA	Doença de Chagas Aguda
DD	Dose Diagnóstica
DDT	Dicloro-Difenil-Tricloreto
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EMATERCE	Empresa de Assistência Técnica e Extensão do Ceará
EST	Esterases
GABA	Ácido Gama-Aminobutírico
INCOSUL	Iniciativa dos Países do Cone Sul
IPECE	Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará
Kdr	Knockdown Resistance
LRS	Linhagem de Referência a Suscetibilidade
OFM	Oxidases de Função Mista
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PCDCh	Programa de Controle da Doença de Chagas
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
REMOT	Rede de Monitoramento de Resistência aos Inseticidas
RR	Razão de Resistência
SSR	Simple Sequence Repeats
STR	Short Tandem Repeats
SUCAM	Superintendência de Campanhas em Saúde Pública
TbREF	População de <i>T. brasiliensis</i> de referência para suscetibilidade
UD	Unidade Domiciliar



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	9
1.1 Epidemiologia da Doença de Chagas .....	9
1.2 Triatomíneos .....	12
1.3 A importância Epidemiológica do <i>Triatoma brasiliensis brasiliensis</i> .....	14
1.4 O controle da doença de Chagas no Brasil .....	17
1.5 O controle da doença de Chagas no estado do Ceará .....	20
1.6 Resistência aos inseticidas .....	21
1.7 Marcadores moleculares microssatélites .....	25
2 JUSTIFICATIVA.....	27
3 OBJETIVOS.....	28
3.1 Objetivo geral .....	28
3.2 Objetivos específicos.....	28
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	29
4.1 Tipo de estudo .....	29
4.2 Local do estudo.....	29
4.3 Triatomíneos .....	30
4.3.1 População de referência .....	30
4.3.2 Populações de campo para formação das colônias de <i>T. brasiliensis</i> .....	31
4.3.3 Criação e manutenção das colônias de <i>T. brasiliensis</i> no insetário.....	32
4.4 Determinação do perfil da suscetibilidade do <i>T. brasiliensis</i> à deltametrina.....	34
4.4.1 Inseticida e diluente.....	34
4.4.2 Procedimentos no bioensaio .....	34
4.4.3 Análise estatística .....	36
4.5 Caracterização da variabilidade genética de <i>T. brasiliensis</i> através de marcadores microssatélites .....	37
4.5.1 Triatomíneos .....	37
4.5.2 Genotipagem de microssatélites .....	38
4.5.3 Análise dos dados .....	39
4.6 Estudo transversal populacional .....	40
4.6.1 População de estudo .....	40
4.6.2 Critérios de inclusão da UD .....	40
4.6.3 Critérios de exclusão da UD .....	40

4.6.4 Variáveis.....	40
4.6.5 Coleta de dados .....	41
4.6.6 Análise dos dados.....	42
4.6.7 Comitê de ética .....	42
5 RESULTADOS e discussão.....	43
5.1 Monitorar a suscetibilidade de populações de <i>T. brasiliensis</i> das áreas de estudo ao inseticida do grupo dos piretróides deltametrina. ....	43
5.2 Caracterização genética das populações de <i>T. brasiliensis</i> do município de Jaguaruana, Ceará.....	49
5.3 Estudo transversal populacional .....	61
5.4. Estratégias e recomendações para controle do vetor.....	68
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	70
7 CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS .....	72
APÊNDICES.....	87
APÊNDICE A- Populações de triatomíneos concluídas REMOT-CE 2016 - 2022 (23/03/2023).....	87
APÊNDICE B – Jaguaruana/Latadas/Peri (REMOT-CE 2016).....	88
APÊNDICE C - Jaguaruana/Cipriano Lopes/Peri (REMOT-CE 2016).....	89
APÊNDICE D – Jaguaruana/Quixabinha/Peri (REMOT-CE 2016) .....	90
APÊNDICE E – Jaguaruana/Jenipapeiro/Peri (REMOT-CE 2016).....	91
APÊNDICE G – Jaguaruana / Latadas / Peri (REMOT-CE 2019).....	93
APÊNDICE H – Jaguaruana / Cipriano Lopes / Peri (REMOT-CE 2022).....	94
APÊNDICE I – Jaguaruana / Latada / Peri (REMOT-CE 2022).....	95
APÊNDICE J – Jaguaruana / João Duarte / Silvestre (REMOT-CE 2022).....	96
APÊNDICE k – Jaguaruana / Cipriano Lopes / Intra (REMOT-CE 2022) .....	97
APÊNDICE L - Coeficientes de associação de cada população de <i>T. brasiliensis</i> de Jaguaruana, Ceará.....	98
APÊNDICE M - Alelos observados por <i>locus</i> e por população de <i>T. brasiliensis</i> estudada, Jaguaruana, Ceará .....	99
ANEXOS .....	100
ANEXO 1 - Questionário aplicado aos moradores das localidades de interesse visando descrever as características das unidades domiciliares bem como o possível uso de inseticida com fins domésticos e agrícolas.....	100

ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) .....	104
ANEXO 3 – Certificado do resumo apresentado no 57 MEDTROP, Belém, Pará, Brasil	105
ANEXO 4 – Resumo apresentado no 57 MEDTROP, Belém, Pará, Brasil .....	106
ANEXO 5 – Certificado do resumo apresentado no 58 MEDTROP, Salvador, Bahia, Brasil .....	107
ANEXO 6 - Resumo apresentado no 58 MEDTROP, Salvador, Bahia, Brasil .....	108
ANEXO 7 - Artigo submetido .....	109

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Epidemiologia da Doença de Chagas

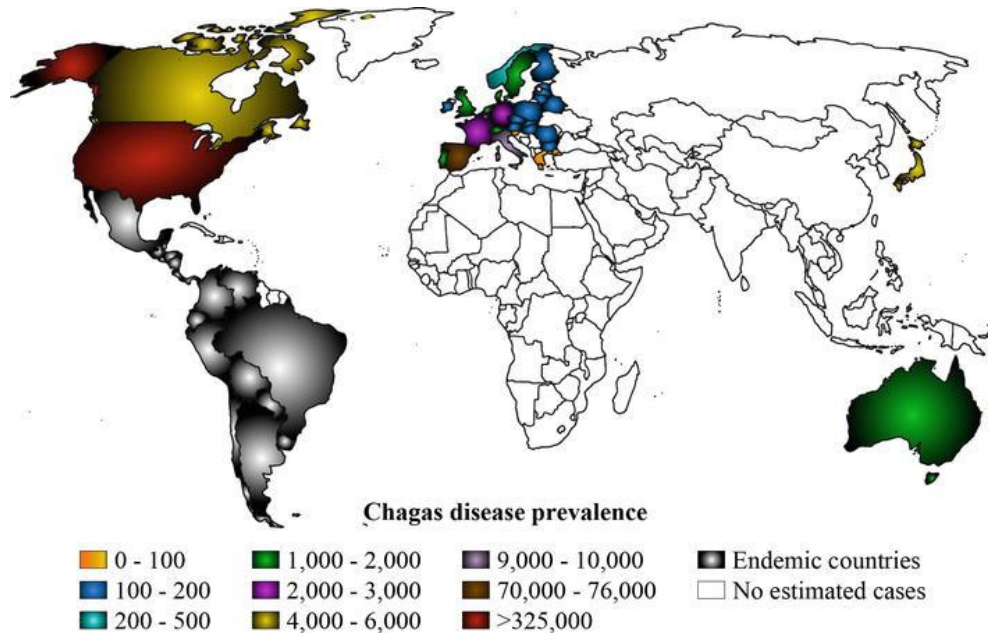
A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 que infecta seus hospedeiros, principalmente, através das fezes dos insetos vetores, chamados vulgarmente de “barbeiro” (LIMA; TEIXEIRA, 2019). Segundo a Organização Mundial de Saúde a doença é considerada uma enfermidade tropical negligenciada (WHO, 2018; WHO, 2022).

O intenso processo de migração internacional tem ampliado o espaço geográfico de ocorrência da DC, alcançando países não endêmicos, mediante o deslocamento de pessoal infectado e por meio de outros mecanismos de transmissão (REQUEMA-MÉNDEZ *et al.*, 2015). Esta pode ocorrer por via vetorial ou via oral, através da ingestão de alimentos contaminados pelos parasitas, a transmissão congênita, que ocorre de mãe para filho, por transfusão de sangue, acidentes de laboratórios e transplante de órgãos (LIMA; TEIXEIRA, 2019).

Endêmica em 21 países das Américas, estima-se que a infecção por *T. cruzi* atinja cerca de 6 milhões de pessoas em todo o mundo, e que outros 75 milhões vivam em áreas de risco de contrair a infecção (WHO, 2018; DNDi, 2022). No Brasil, a estimativa é que exista entre 1,9 a 4,6 milhões de indivíduos infectados por *T. cruzi*, sendo a maioria portadores da doença em sua forma crônica (DIAS, *et al.*, 2016; WHO, 2021).

Devido a este fenômeno, casos de DC agudos têm sido registrados nos diversos continentes: América (Canadá e Estados Unidos da América), Pacífico Ocidental (Austrália e Japão) e Europa (principalmente Bélgica, França, Itália, Espanha Suíça e Reino Unido; mas também na Áustria, Croácia, Dinamarca, Alemanha, Luxemburgo, Países Baixos, Noruega, Portugal, Romênia e Suécia) (WHO, 2010, 2021). O mapa das áreas endêmicas da DC no mundo é apresentado na **figura 1**.

**Figura 1-** Mapa Mundial com países endêmicos da doença de Chagas e casos estimados detectados em países não endêmicos na América do Norte, Europa e região do Pacífico Ocidental.



Fonte: Adaptado, Albany Reséndiz - Mora, 2023

Na década de 1970 foi realizado no Brasil o primeiro inquérito de soroprevalência da infecção humana da DC. Neste inquérito foram incluídas todas as faixas etárias da população contemplando, aproximadamente, 1.800.000 indivíduos em todo o território nacional. A prevalência da infecção na população rural foi de 4,4% (5,4% - 8,8%), com os coeficientes mais altos nos estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Goiás e Bahia, correspondendo a 6,5 milhões de indivíduos infectados ((SILVEIRA *et al.*, 2002; SILVEIRA *et al.*, 2011). O resultado deste primeiro inquérito evidencia a relação das altas taxas de prevalência da doença com a existência de bolsões com intensidades de transmissão variável, dependentes das condições socioeconômicas da população e da presença do vetor nos domicílios (SILVEIRA *et al.*, 2002; SILVEIRA *et al.*, 2011). O estado do Ceará apresentou, no referido inquérito, a prevalência total de 0,85%, com expressivas variações regionais. A região do Baixo Jaguaribe apresentou uma das taxas mais altas no estado (8%) (CAMARGO *et al.*, 1984). Segundo Alencar (1987), em trabalhos realizados entre a década de 1940 e 1970, em vários municípios cearenses, a prevalência humana variou entre 8,5% - 40%, com os municípios de Quixadá e Crato apresentando as maiores taxas.

Na década de 1990, foi realizado o segundo inquérito nacional cujo propósito era avaliar os avanços no controle da doença pela transmissão vetorial e transfusional nas gerações mais novas. Esta nova fase do inquérito teve como público-alvo os escolares na faixa

etária entre 07 a 14 anos, distribuídos em 17 estados e o Distrito Federal, com uma amostragem de aproximadamente 236 mil indivíduos e prevalência nacional de 0,14%. Neste segundo inquérito, o estado do Ceará apresentou uma prevalência de 0,02% (SILVEIRA *et al.*, 1994). No município de Independência (CE) o inquérito soroepidemiológico foi realizado em 1997, com prevalência geral de 5,7% de infecção. As taxas de infecção variaram conforme a faixa etária, com maiores taxas nos indivíduos acima de 50 anos (12,6%) (DIOTAIUTI *et al.*, 2000).

No período de 2001 a 2008, foi realizado no Brasil o último inquérito nacional da soroprevalência da infecção chagásica (INSIC). A amostra contemplou 26 estados da federação e tinha como público alvo crianças de 0 a 5 anos incompletos. Neste inquérito foram amostrados 104.954 indivíduos com uma prevalência de 0,03% e prevalência de 0,02% para a transmissão congênita (SILVEIRA *et al.*, 2002; OSTERMAYER *et al.*, 2011).

Dentre os meios conhecidos de transmissão da DC, a via vetorial é a mais importante do ponto de vista epidemiológico, visto que representa em torno de 80% dos casos (LARDEUX *et al.* 2014; RUEDA *et al.* 2014). Este tipo de transmissão ocorre quando no processo de hematofagia dos triatomíneos, o protozoário é eliminado pelas fezes do inseto vetor, que penetra através da pele não íntegra e membranas mucosas do indivíduo (GARCIA *et al.* 2015).

No Ceará, os últimos episódios de DC ocorreram em 2006, quando oito casos da infecção humana foram confirmados no município de Redenção, provavelmente por via oral (CAVALCANTI *et al.*, 2009), e em 2008 em um bairro periférico da cidade de Sobral, por via vetorial (CEARÁ, 2021). No último inquérito nacional da soroprevalência da infecção chagásica (INSIC), período de 2001 a 2008, duas crianças menores de cinco anos residentes nos municípios de Quixelô e Quixeré apresentaram soro positividade para doença de Chagas e a mãe negativa, sugerindo infecção via vetorial (OSTERMAYER *et al.*, 2011).

A DC é resultado de um contexto ecológico bem específico, que permeia pela colonização do vetor nas habitações humanas, predominantemente rurais, construídas de forma precária, além da presença de diversos reservatórios em seu entorno, incluindo o homem, que serve como fonte de alimentação sanguínea. Neste cenário, ocorre o ciclo epidemiológico da doença (COURA, 2007; COURA; BORGES-PEREIRA, 2010).

No Brasil, o quadro epidemiológico da DC tem mudado em decorrência das ações voltadas para o controle do inseto vetor, melhoria das habitações humanas e maior controle nos bancos de sangue a partir da década de 1970 (MOLINA *et al.*, 2016). Estas medidas promoveram mudanças significativas nas ações e estratégias de vigilância e controle da DC

(DIAS *et al.*, 2016). Contudo, o risco de transmissão vetorial da DC persiste em função da existência de espécies dos vetores autóctones que invadem o domicílio instalando colônias e da presença de vários animais que podem albergar o *T. cruzi* nas imediações dos domicílios. Outro fator é a aproximação das populações humanas a esses ambientes e a persistência de focos residuais de *Triatoma infestans* (KLUG, 1834) (DIAS *et al.*, 2016).

Os casos crônicos da DC prevalecem no Brasil, todavia, a doença de Chagas em sua forma aguda (DCA) tem ocorrido nos últimos anos, geralmente associados ao consumo de alimentos contaminadas pelo parasita como o calde de cana, açai, palmito de babaçu, jaci, bacaba e buriti (COURA *et al.*, 2015; BARBOSA *et al.*, 2015).

A região Amazônica é a mais importante área endêmica para DCA, registrando frequentes surtos em forma de microepidemias familiares, com ocorrências em áreas urbanas e rurais (BARBOSA *et al.*, 2015).

## 1.2 Triatomíneos

Os triatomíneos são insetos que pertencem à ordem Hemiptera, família Reduviidae, subfamília Triatominae. No Brasil são conhecidos popularmente como barbeiros, bicho de parede, furão, cascudo, percevejo, piolho de piaçava, chupão, fincão, bicudo, procotó. Possuem hábito alimentar sanguíneo, embora já tenha sido relatado na literatura o coprofagismo e a hemolinfagia (LENT; WIGODZINSKY, 1979). São insetos hemimetábolos, isso porque na fase jovem já apresentam semelhanças com o adulto. No seu ciclo de vida possuem cinco estádios de ninfas antes de chegar a fase adulta, sendo que em todas as fases se alimentam de sangue e são capazes de transmitir o *T. cruzi* ao hospedeiro vertebrado (mamíferos).

Segundo Costa e colaboradores (2021), atualmente são reconhecidas 160 espécies de triatomíneos (154 existentes e três fósseis), e uma subespécie, agrupados em 18 gêneros e cinco tribos (ALEVI, *et al.*, 2021). No território brasileiro, já foram relatadas 65 espécies de triatomíneos. Destas, 43% estão presentes no Nordeste, com 20 detectadas predominantemente dentro do domicílio, o que evidencia a capacidade desses vetores de invadir e formar colônias nas habitações humanas (SCHOFIELD; GALVÃO, 2009; GALVÃO, 2014).

No bioma Caatinga, existe uma alta diversidade triatomínica com 27% das espécies com ocorrência no Brasil (GURGEL-GONÇALVES, 2012; COSTA *et al.*, 2012;

GALVÃO, 2014). Segundo Breniere e colaboradores. (2016), todos os triatomíneos, independente da espécie possuem a capacidade de transmitir o patógeno.

Nos países que pertencem ao Cone Sul, o *T. infestans* é a espécie vetora de maior relevância epidemiológica na transmissão da DC. Esta espécie de triatomíneo tem uma grande afinidade por colonizar as habitações humanas. Sua introdução no Brasil ocorreu provavelmente por conta das migrações vindas da Bolívia, região apontada como centro de dispersão da espécie (SCHOFIELD *et al.*, 1999). No Brasil, o *T. infestans* era encontrado nos nichos ecológicos próximos do ambiente doméstico e peridoméstico (DIAS *et al.*, 2002; FORATINNI, 1980).

Segundo Silveira (2001), os inquéritos entomológicos realizados no Brasil têm evidenciado o encontro de uma alta variedade de espécies do inseto vetor nas habitações humanas, com diferentes níveis de colonização e infecção natural por *T. cruzi*.

No Nordeste brasileiro, quatro espécies de triatomíneos são as mais importantes: Nas áreas úmidas serranas, *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (DIOTAIUTI *et al.*, 2015); e focos residuais na Bahia, *T. infestans* (GURGEL-GONÇALVES, *et al.*, 2012); na região da caatinga, *T. brasiliensis* Neiva, 1911 e *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espínola, 1964, ambos com ampla distribuição, potencial de invadir as residências e com importância no ciclo doméstico e silvestre da doença de Chagas (FORATTINI *et al.*, 1981; DIAS *et al.*, 2000 *apud* BEZERRA, 2020).

Alencar e Sherlocki (1963) realizaram a descrição dos primeiros vetores presentes no estado do Ceará, registrando as seguintes espécies: *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus megistus*, *Panstrongylus lutzi* Neiva & Pinto, 1923 e *Rhodnius nasutus* Stål, 1859, concluindo que *T. brasiliensis* foi a espécie predominante e mais domiciliada.

A forma como as habitações humanas são construídas e organizadas tem um papel preponderante na formação de colônias no ambiente domiciliar pelos triatomíneos. O inseto possui duas necessidades básicas: abrigo e alimentação. Assim, a presença de buracos e frestas nas paredes; falta de reboco; presença de entulhos, animais dentro da casa ou em seu entorno, permite-se condições favoráveis para suprir as necessidades supracitadas do inseto vetor (ALENCAR, 1987; FIOCRUZ, 2008).

Triatomíneos são bem versáteis no que diz respeito a abrigos, podendo abrigar-se em qualquer local no entorno do domicílio como pilhas de telhas, pedras ou tijolos, paredes ou tetos de abrigos de animais, ocos de árvores, pilhas de madeiras e etc. Nestes ambientes, geralmente, eles encontram microclimas com pequenas variações de temperatura e umidade,



garantindo sua sobrevivência. A estratégia de ocupar e colonizar os mais variados locais no peridomicílio dificulta o controle do vetor, favorecendo a sua infestação (FIOCRUZ, 2008).

### 1.3 A importância Epidemiológica do *Triatoma brasiliensis brasiliensis*

O *Triatoma brasiliensis brasiliensis* Neiva, 1911 é uma espécie de porte médio, medindo os machos 22-25mm e as fêmeas 23-26mm, cor variando de marrom-escuro a negro, cabeça rugosa e ligeiramente granulosa, negra com manchas marrom-claras ou amareladas no pescoço. Tem pronoto negro com duas faixas longitudinais que se estendem desde a parte mediana do lobo anterior até a margem do lobo posterior. Possui escutelo triangular, de coloração marrom, sendo a ponta do processo, amarelo-palha. Suas patas são negras ou marrom-escuras com manchas claras nos trocânteres, meio dos fêmures e extremidades das tíbias. Seus hemiólitos tem cório amarelo-claro, com manchas escuras. Seu abdome é negro ou marrom-escuro com manchas claras subtriangulares ou retangulares no conexivo, não atingindo os limites dos segmentos (LENT; WYGODZINSKY, 1979; GALVÃO, 2014; DIOTAIUTI *et al.*, 2015). No decorrer do texto *Triatoma brasiliensis brasiliensis* será tratado como *Triatoma brasiliensis*.

**Figura 2** - *Triatoma brasiliensis brasiliensis* NEIVA, 1911.



Fonte: GALVÃO, C., org. Vetores da doença de chagas no Brasil [online]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, 289 p. Zoologia: guias e manuais de identificação series. ISBN 978-85-98203-09-6.

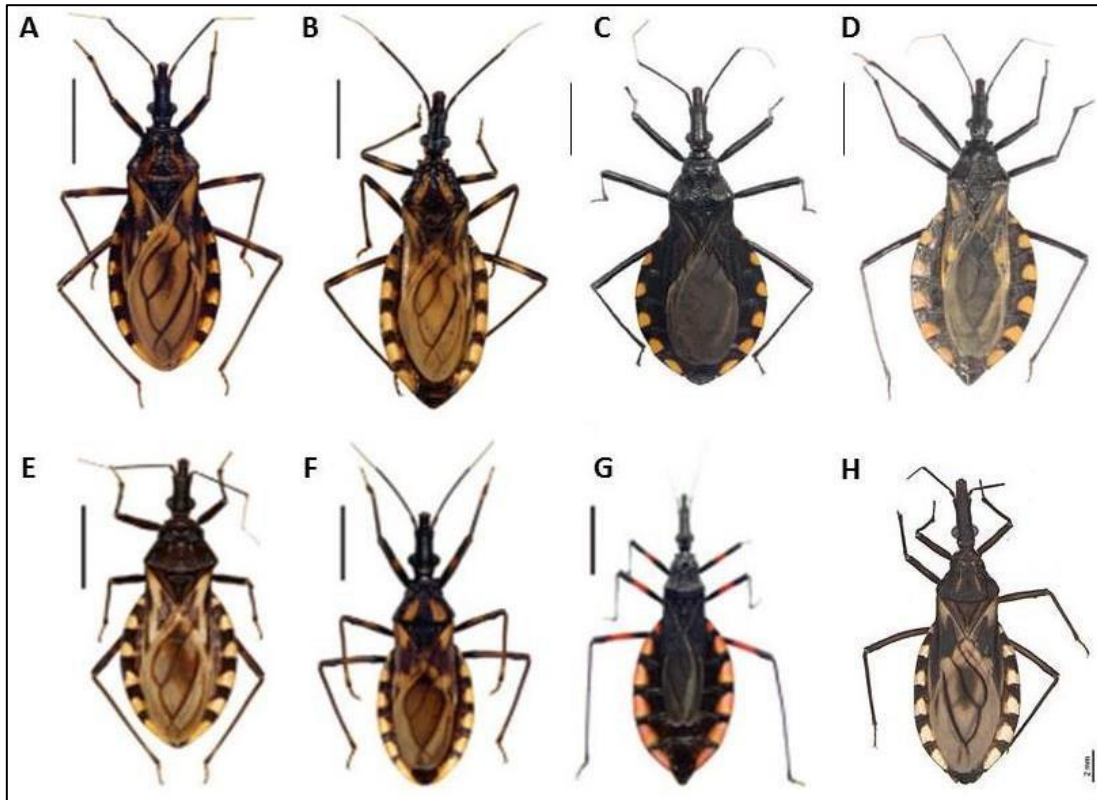
O *Triatoma brasiliensis* é a espécie de maior importância epidemiológica na região do semiárido do Nordeste do Brasil (DIAS *et al.*, 2000). É uma espécie rupestre, quase sempre encontrada em abrigos de roedores, entre pedras (FORATTINI *et al.*, 1981;

DIOTAIUTI, 2007). O *T. brasiliensis* é triatomíneo nativo no Nordeste do Brasil e apresenta comportamento eclético, dificultando assim seu controle.

Estudos realizados no Nordeste do Brasil relataram que o *T. brasiliensis* é mais prevalente nos ambientes domésticos (WALTER *et al.*, 2005; SARQUIS *et al.*, 2004). A espécie é capaz de formar grandes colônias e apresentar altos níveis de infecção natural de *T. cruzi* (SARQUIS *et al.*, 2006). Assim, *T. brasiliensis* tem uma grande importância epidemiológica para a transmissão da DC para humanos.

Lucena (1970) propôs inicialmente o complexo *T. brasiliensis*, como um ajuste sistemática por conta de espécimes encontradas na região Nordeste do Brasil: *T. b. brasiliensis* Neiva, 1911, *T. petrocchiae* Pinto & Barreto, 1925, *T. lenti* Sherlock & Serafim, 1967, *T. pessoai* Sherlock e Serafim, 1967 [atualmente sinônimo de *T. lenti* (LENT e WYGODZINSKY, 1979)], *T. bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967, *T. b. melanica* Neiva & Lent, 1941 [que teve o *status* específico elevado para *T. melanica* (COSTA *et al.*, 2006)] e *T. b. macromelasoma* Galvão, 1965. Novos achados, através de estudo filogenéticos demonstram que o complexo *T. brasiliensis* é um grupo monofilético formado pelas espécies *T. melanica*, *T. petrocchiae*, *T. lenti*, *T. bahiensis*, *T. sherlocki* Papa *et al.*, 2002, *T. juazeirensis* Costa & Félix, 2007, e pelas subespécies *T. b. brasiliensis* e *T. b. macromelasoma* (**figura 3**) (MONTEIRO *et al.*, 2004; MENDONÇA *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2017).

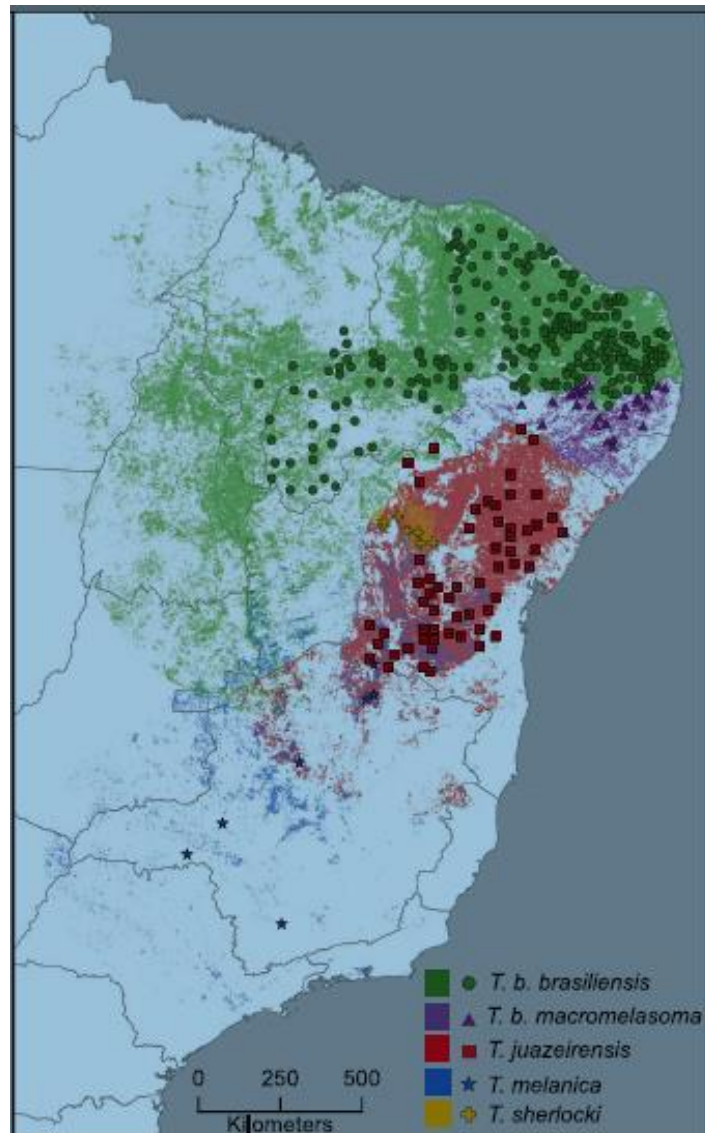
**Figura 3** - A *Triatoma brasiliensis brasiliensis*, B. *T. b. macromelasoma*, C. *T. lenti*, D. *T. bahiensis*, E. *T. juazeirensis*, F. *T. melanica*, G. *T. sherlocki*, H. *T. petrocchiai*.



**Fonte:** Adaptado de Costa *et al.* (2013), Mendonça *et al.* (2016) e Oliveira *et al.* (2022).

Costa e colaboradores (2014) utilizando modelos de nichos ecológicos estimou a distribuição potencial de todos os membros do complexo *T. brasiliensis* nos estados brasileiros (**figura 4**).

**Figura 4** - Mapa do Brasil com a distribuição do complexo de *Triatoma brasiliensis*.



Fonte: Adaptado, Costa *et al.*, 2014.

#### 1.4 O controle da doença de Chagas no Brasil

Uma das principais estratégias para controle da doença de Chagas consiste basicamente na interrupção da transmissão vetorial, pelo combate aos insetos vetores que vivem próximo dos domicílios (MASSAD, 2008). O controle destes insetos no ambiente doméstico (intradomicílio e peridomicílio) é realizado com a aplicação de inseticidas de ação residual. O Programa de Vigilância e Controle da Doença de Chagas preconiza atualmente inseticidas do grupo dos piretróides, mas anteriormente já foram utilizados inseticidas do grupo químico dos clorados (ex. BHC e dieldrin) e fosforados (ex. fenitroton) (ROCHA; SILVA, 1979).

As primeiras tentativas de controle do vetor da DC no Brasil iniciaram na década de 1920 utilizando produtos pouco convencionais como: querosene, soda cáustica, pó de piretro, cianogás, entre outros. Todavia, estes métodos mostraram possuir um baixo poder residual e não factíveis em escala mais ampla (DIAS, 2002).

Em 1940 surgem como alternativa de controle de triatomíneos os inseticidas sintéticos do grupo dos organoclorados como o Dicloro-Difenil-Tricloetano (DDT), Hexaclorociclohexano (lindano), hexaclorobenzeno (BHC) e dieldrin (PINCHIN *et al.*, 1980).

O DDT foi o primeiro inseticida sintético com efeito residual prolongado. O praguicida foi descoberto por Paul Muller, na Suíça, em 1939. Seu lançamento gerou grande expectativa no controle de pragas e apontado como responsável pelo crescimento significativo da agricultura (OBARA, 2011).

No Brasil, a partir de 1954 o inseticida DDT passou a ser utilizado no controle dos vetores da DC gerando grandes expectativas. Todavia, o praguicida mostrou-se pouco eficiente quando aplicado para formas imaturas do vetor (LENT; OLIVEIRA, 1944).

O controle da DC através do combate ao inseto vetor teve início no Brasil na década de 1950 pelo Serviço Nacional de Malária. No entanto, a atividade veio a se estabelecer como Programa de Controle Nacional (PCDCh) a partir de 1975 através da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) (VINHAES; DIAS, 2000).

Inicialmente o PCDCh foi implantado de forma verticalizado e sua execução ficava na competência do governo federal através Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu), posteriormente à Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) e por último à Fundação Nacional de Saúde (FUNASA). No estado de São Paulo as ações de combate ao vetor eram executadas pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), autarquia do governo Estadual (SILVEIRA *et al.*, 2002).

As ações de controle vetorial da DC foram sistematizadas e norteadas com base nos resultados dos inquéritos de soroprevalência da infecção na população humana e inquérito entomológicos realizados no período de 1975 a 1980 (SILVEIRA *et al.*, 2002).

No inquérito entomológico nacional foram catalogadas 42 espécies de triatomíneos, das quais trinta estavam presentes no ambiente humano e cinco apontadas como responsáveis pela transmissão domiciliar da DC: O *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, *Triatoma pseudomaculata* Correa e Espinola, 1964, *Triatoma sordida* Stål, 1859 e *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835 (CAMARGO *et al.*, 1984; SILVEIRA; REZENDE, 1994; CARCAVALLO *et al.*, 1997; VINHAES; DIAS, 2000).

No ano de 1986, o Brasil passou a registrar surtos de Dengue no seu território e, como consequência nas atividades de controle de triatomíneos, houve reduções em suas atividades de rotina, contudo, foram mantidas as atividades de controle do inseto vetor com as aplicações de inseticidas residuais nas residências infestadas em amplas áreas do país (VINHAES; DIAS, 2000).

Na década de 1980 surgiram os inseticidas do grupo piretróides que proporcionaram uma mudança importante no cenário de controle do vetor. Os piretróides mostraram-se eficazes no controle dos triatomíneos e passou a ser utilizado como produto de primeira escolha tendo em vista algumas características específicas como: baixa toxicidade para mamíferos, ser biodegradáveis, efeito residual longo e baixas doses na aplicação (DIOTAIUTI *et al.*, 1995). O produto inseticida atualmente utilizado para o controle dos triatomíneos é o piretróide sintético Alfacipermetrina SC 20%, numa concentração de 0,04 gramas de ingrediente ativo por m<sup>2</sup> de superfície tratada (CEARÁ, 2021).

Em 1991, um movimento de países da América Latina, endêmicos para DC, entre os quais Argentina, Brasil, Bolívia, Chile Paraguai e Uruguai acordaram estratégias voltadas para o controle da doença no continente. Essa cooperação internacional ficou conhecida como Iniciativa dos Países do Cone Sul (INCOSUL) (WHO, 2002). Assim, o PCDCH teve sua vigilância ampliada e passou a priorizar áreas como o registro de *T. infestans* (DIAS *et al.*, 2002; WHO, 2002). Esses esforços somados produziram resultados satisfatórios no controle da DC e isso permitiu ao Brasil receber a “Certificação Internacional de Eliminação da Transmissão do *T. cruzi* por *T. infestans*” (DIAS, 2006).

Na década de 2000, ocorre o processo de descentralizações das ações de prevenção e controle de doenças no Brasil. A portaria N° 1.399 do Ministério da Saúde, editada em dezembro de 2002, regulamentou as responsabilidades entre os entes federados. Com a portaria em vigor, a partir de então, cabem aos municípios as atividades de vigilância e combate aos vetores dentro de seus respectivos territórios; aos estados a assessoria técnica, supervisão e avaliação das ações desenvolvidas; e ao Ministério da Saúde a normatização das ações, financiamento, avaliação e cooperação técnica aos demais entes da federação (SILVEIRA; PIMENTA JR., 2011).

### 1.5 O controle da doença de Chagas no estado do Ceará

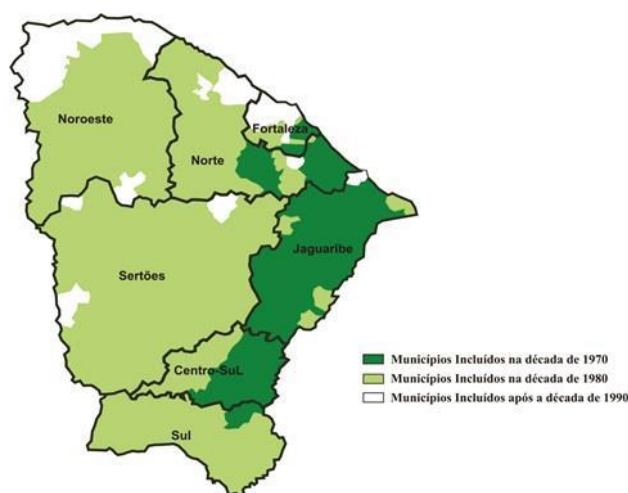
Os primeiros registros de triatomíneos infectados no Ceará datam de 1921, na região do Cariri e no município de Quixadá. Todavia, os primeiros casos da doença só foram diagnosticados em 1921 na região do Cariri (ALENCAR, 1965).

Na década de 1950, o Serviço Nacional de Malária promoveu um levantamento da fauna de triatomíneos domiciliados em várias regiões cearenses. Os dados da época já demonstravam a predominância de *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* e *P. megistus* (SILVA, 2004). Na década seguinte, um novo levantamento da fauna triatomínica realizada no estado, registrou as espécies *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *P. megistus*, *P. lutzi* e *R. nasutus* (ALENCAR; SHERLOCK, 1962).

O Programa de Controle da Doença de Chagas (PCDCh) no estado foi implantada no ano de 1975 pela Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM). Na época foi selecionada a região do Vale do Jaguaribe por apresentar municípios com cenários epidemiológicos importantes da doença (ALENCAR, 1987; DIAS, 2000).

No período de entre 1975 a 1981 ocorreu o primeiro inquérito de soroprevalência da DC no estado do Ceará que apresentou uma baixa prevalência da infecção humana (CAMARGO *et al.*, 1984). No mesmo período foi realizado um levantamento entomológico que relatou a ocorrência das espécies: *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *R. nasustus*, *P. megistus* e *P. lutzi* (ALENCAR, 1987; SILVEIRA, 2000). A **figura 5** apresenta o mapa com histórico da implantação da DC no estado do Ceará.

**Figura 5** - Mapa do estado do Ceará com o período de inclusão dos municípios no Programa de Controle da Doença de Chagas.



Fonte: Adaptado de SILVA, 2004 *apud* MEDONÇA, 2013.

Atualmente o estado do Ceará apresenta-se como área de risco para transmissão vetorial, conforme os dados entomológicos e epidemiológicos. Segundo os dados apresentados pela Secretaria Estadual de Saúde o estado apresenta 64 (34,8%) municípios de algo risco de transmissão vetorial, 69 (37,5%) com médio risco de transmissão e 51 (27,7%) com baixo risco de transmissão (SESA, 2021).

As principais estratégias recomendadas pela Vigilância e Controle da Doença de Chagas são: 1) Pesquisa vetorial ativa nas áreas de risco; 2) Vigilância entomológica com a participação popular (postos de identificação de triatomíneos – PIT); 3) Controle do vetor através de aplicação residual de inseticida (piretróide alfacipermetrina 25CE); 4) Identificação dos triatomíneos e pesquisa do parasita; 5) Busca ativa de casos suspeitos para doença de Chagas; 6) Controle de qualidade das bombas de aplicação de inseticidas; 7) Controle de qualidade de lâminas de fezes de triatomíneos; 8) Monitoramento de resistência a inseticidas de espécies vetoras (SESA, 2021).

## **1.6 Resistência aos inseticidas**

A resistência a um produto inseticida ocorre quando populações de insetos que possuem tal fenótipo são submetidas a tratamentos constantes, ocasionando a diminuição da mortalidade observada inicialmente. É uma das características que se manifesta quando indivíduos passam a tolerar doses letais mais elevadas em comparação a indivíduos suscetíveis ao produto, causando pressão de seleção nas populações alvos. A resistência é uma característica herdada, então, a variabilidade genética de populações naturais é responsável em parte por este fenômeno, a partir da qual, por pressão do inseticida, determinados fenótipos podem ser selecionados e, conseqüentemente, aumentarem em frequência (TABASHNIK; ROUSH, 1990).

Germano e colaboradores (2010) estudando *T. infestans*, demonstrou que a resistência a inseticidas se trata de um caráter herdado de maneira autossômica e semidominante. Quanto ao número de genes envolvidos no fenômeno da resistência, existem evidências que indicam ser este poligênico.

Segundo Brogdon e Mcallister (1998), a resistência a inseticidas é o resultado de alguma modificação que pode afetar características fisiológicas ou comportamentais dos insetos. Assim, os mecanismos responsáveis por ela podem ter origem comportamental, fisiológica e/ou bioquímica, além da modificação do sítio alvo.



### 1.6.1 Resistência comportamental

Este tipo de resistência se refere à capacidade do inseto de evitar áreas impregnadas com inseticidas. Tal percepção deve-se às modificações genéticas nos receptores periféricos, que possibilitam o reconhecimento destes estímulos em seus respectivos sistemas centrais de reconhecimento (LINES *et al.*, 1987; MBOGO *et al.*, 1996; MATHENGE *et al.*, 2001).

Estudos com *Anopheles (Nyssorhynchus) darlingi* Root, 1926, vetor da malária, evidenciaram alteração no comportamento do inseto em resposta ao inseticida de aplicação residual ao Dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) na Amazônia brasileira. Após o tratamento das paredes com o praguicida, foi observado que no período de até dois meses, fêmeas do inseto, que habitualmente faziam o repasto sanguíneo dentro das habitações, saíam rapidamente evitando pousar nas paredes (LOKWOOD *et al.*, 1984; ROBERTS e ALECRIM, 1991). Carrasco e colaboradores (2019) estudando *Anopheles* nas ilhas de Salomão, Papua Nova Guiné, Tanzânia e no Quênia evidenciou alterações comportamentais semelhantes da espécie após a introdução de programa de controle continuado.

### 1.6.2 Resistência fisiológica

A resistência fisiológica remete-se à dificuldade do praguicida penetrar no inseto. Isso ocorre por conta de alterações na cutícula do inseto ou aumento da excreção do inseticida (APPERSON; GEORGHIOU, 1979). Essa primeira barreira pode ser devido a alterações de suas características físico-químicas, como por exemplo, o aumento do espessamento da cutícula, ocasionando a diminuição de permeabilidade e, conseqüentemente, a redução da taxa de penetração (GEORGHIOU, 1994).

Pedrini e colaboradores (2009) estudando populações argentinas de *T. infestans* demonstrou por meio de microscopia eletrônica de varredura, que populações resistentes de *T. infestans* à deltametrina apresentavam maior espessura do exoesqueleto ( $32,1 \pm 5,9 \mu\text{m}$ ) quando comparadas com populações susceptíveis ( $17,8 \pm 5,4 \mu\text{m}$ ).

Ninfas de 1ª instar recém eclodidas de *R. prolixus* e *T. infestas* foram mais sensíveis que as mais velhas, quando submetidas a atividade inseticida de 1- dodecanol, sugerindo que a cutícula é uma primeira barreira a ser transportada pelo inseticida para que se chegue ao sítio alvo (MOUGABURE CUETEO *et al.*, 2005).

### 1.6.3 Resistência bioquímica

Os recursos da resistência bioquímica ocorrem por meio do aumento expressivo das atividades de enzimas detoxificantes, como oxidases de função mista (OFM) e esterases (EST) (RANSON *et al.*, 2002; ZERBA, 2002; HEMINGWAY *et al.*, 2004). Segundo Ranson e colaboradores (2002), a resistência bioquímica é bastante maleável, tendo em vista que estas enzimas têm funções parcialmente redundantes, somado ao fato de serem codificadas por superfamílias gênicas.

Estudos com *T. infestans* apontaram para uma correlação entre a resistência a inseticida e os níveis de expressão de GST (WOOD *et al.*, 1982; SILVORI *et al.*, 1997). Populações de *T. infestans* apresentou resistência a organofosforado por conta do aumento da atividade de esterases (CASABÉ; ZERBA, 1981).

Segundo Audino (2004) as esterases podem estar implicadas na resistência de *T. infestans* a deltametrina. Santo-Orihuela e colaboradores (2011) estudando populações argentinas de *T. infestans* correlacionou aumento da atividade de esterases como mecanismo causal da resistência a deltametrina.

#### 1.6.4 Modificação do sítio alvo

Este processo de resistência ocorre quando há mutação do sítio alvo, no qual o inseticida age impedindo a junção com a molécula ativa do inseticida. Na literatura, há relatos que este tipo de alteração, como por exemplo: no canal de sódio, acetilcolinesterase e receptores GABA podem funcionar como mecanismo de resistência aos inseticidas (DEVONSHIRE; MOURES, 1984; BROGDON; MCALLISTER, 1998). Tratando-se dos inseticidas piretróides, já foram identificadas várias mutações nos genes codificadores do canal de sódio que conferem insensibilidade no sistema nervoso em diferentes insetos, tais como *Musca domestica* (Linnaeus, 1758), *Anopheles gambiae* Giles, 1902 (Diptera: Culicidae) e *Blatella germanica* (Linnaeus, 1767) (Dictyoptera: Blatellidae) (DABIRE *et al.*, 2009). Este processo de mutações conhecidas como Kdr (do inglês *knockdown resistance*), estabelecem diferentes níveis de resistência conforme a alteração no sítio alvo. Estudos realizados em populações de *T. infestans* oriundas da Argentina e Bolívia com elevados graus de resistência, apresentaram a existência de dois pontos de mutação (L1014F and L925I) no canal de sódio (FABRO *et al.*, 2012; CAPRIOTTI *et al.*, 2014; SIERRA *et al.*, 2016).

### 1.6.5 Resistência de inseticidas em Triatomíneos

Os triatomíneos possuem um longo ciclo de vida, característica que em tese, diminui a oportunidade de selecionar indivíduos resistentes. Assim, a resistência a inseticidas parecia ser um fenômeno pontual e com poucas chances de ocorrer (BROWN; PAUL, 1971; CHAMP; DYTE, 1976; GORLA; SCHOFIELD 1989; PACHECO *et al.*, 1990).

O primeiro relato bem documentado de triatomíneos resistentes a inseticidas ocorreu na década de 1970 na Venezuela, em áreas de ocorrência de *Rhodnius prolixus* Stål, 1959, constantemente tratadas com o inseticida organoclorados dieldrin (ROCHA; SILVA, 1979). Na Colômbia, foi encontrado populações de *R. prolixus* resistentes ao dieldrin e ao malathion, e no Peru, populações de *T. infestans* com alto indicativo de resistência ao dieldrin (FOX, *et al.*, 1966).

Vanessa e colaboradores (2000) na década de 1990 estudando populações de triatomíneos em Buenos Aires, Argentina, relatou resistência a inseticidas do grupo piretróides. No Brasil, populações de *T. infestans* apresentou resistência a deltametrina (RR 7,0), ciflutrina (RR 3,6),  $\beta$ -ipermetrina (RR 3,3) e *R. prolixus* oriundo da Venezuela a cipemetrina (RR 12,4) (VANESSA *et al.*, 2000). Pessoa (2008), estudando populações de *Triatoma sordida* (Stal, 1859) oriundas dos municípios de Presidente Juscelino (RR 5,5), Bocaiúva (RR 6,2) e Coração de Jesus (RR 6,8), no estado de Minas Gerais, relatou status de resistência a deltametrina. Sonoda e colaboradores (2009) estudando populações de *T. infestans* de quatro locais no Rio Grande do Sul, encontrou valores (RR 0,72 a 1,86) que classificou as amostras como suscetíveis à deltametrina. Germano e colaboradores (2010) estudando populações de *T. infestans* coletadas na Bolívia (RR 0,9 a 133,1), Argentina (247,7 a 541,6) e Paraguai (3,7) relatou valores importantes de resistência a deltametrina. Acevedo e colaboradores (2011) estudando populações de *T. infestans* oriundas dos vales andinos bolivianos apontou resistência a deltametrina (RR 1,9 a 17,4) e ao fipronil (0,5 a 139,2). Pessoa e colaboradores (2015) caracterizando o perfil toxicológico de deltametrina em populações de *T. brasiliensis* em áreas com reinfestação persistentes no estado do Ceará, não encontrou populações com status de resistência. Echeverria e colaboradores (2018) estudando populações domésticas e selvagens de *T. infestans* em Toro Toro, Bolívia, encontrou elevada resistência a deltametrina em quatro comunidades. Fronza e colaboradores (2019) estudando a relação entre fatores ambientais e resistência a deltametrina relatou focos de populações de *T. infestans* resistentes na região de Gran Chaco, Argentina.

Silva e colaboradores (2022) monitorando a suscetibilidade de populações de *Rhodnius neglectus* no estado de São Paulo encontrou baixos níveis de resistência a deltametrina (RR 50: 1,76 a 3,63).

### 1.7 Marcadores moleculares microssatélites

Marcadores moleculares são sequências de DNA que identificam polimorfismos e podem ser usados como indicadores de variação genética entre indivíduos de uma população (PEREIRA e LEE, 1995; FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), os microssatélites (Short Tandem Repeats – STR ou Simple Sequence Repeats - SSR) são pequenas sequências de DNA (2 a 6 pares de base) repetidas em tandem, que são amplamente encontradas em todo o genoma. Os marcadores microssatélites apresentam padrão de herança codominante, são altamente polimórficos, com taxa de mutação variando de  $10^{-6}$  a  $10^{-2}$ , por locus, por gameta, por geração. Entretanto, são flanqueados por sequências únicas, possibilitando reprodutibilidade por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A variabilidade de alelos polimórficos tem várias utilidades, entre as quais, estudos de desenvolvimento de estruturas, caracterização genética populacional, sistemática e mapeamento genômico. Essas possibilidades permitem fornecer informações relevantes sobre o fluxo gênico entre populações, dispersão de espécies, estudo da taxonomia de vetores e avaliação de populações (MARTINS *et al.*, 2006; NASS, 2007).

Para triatomíneos já foram descritos e caracterizados primers para *Rhodnius pallescens* (10 loci) (HARRY *et al.*, 1998), *Triatoma dimidiata* (8 loci) (ANDERSON *et al.*, 2002), *T. infestans* (19 loci) (GARCIA *et al.*, 2004; MARCET *et al.*, 2006), *T. pseudomaculata* (6 loci) (HARRY *et al.*, 2008), *R. prolixus* (20 loci) (FITZPATRICK *et al.*, 2008; HARRY *et al.*, 2008), *R. robustus* (10 loci) (HARRY *et al.*, 2008), *T. brasiliensis* (9 loci) (HARRY *et al.*, 2009; ALMEIDA *et al.*, 2016) e *T. sordida* (10 loci) (BELISÁRIO *et al.*, 2015), *P. megistus*: Ferreira *et al.*, 2022.

A utilização dos marcadores microssatélites tem se mostrado uma excelente ferramenta para monitorar a procedência das reinfestações em áreas anteriormente pulverizadas com inseticidas de uso residual (RICHER *et al.*, 2007; PICCIALI; GURLER, 2015; ALMEIDA *et al.*, 2016; PICCINALI *et al.*, 2018; BEZERRA *et al.*, 2018). Além disso, os microssatélites têm se mostrado uma excelente ferramenta para compreender a estrutura

populacional, fluxo gênico entre populações e a importância das populações silvestres na dinâmica das infestações das residências e seus peridomicílios (GOURBIERE *et al.*, 2012).

Richer *et al.* (2007) estudando o *T. infestans* nos Andes bolivianos, demonstraram através de microssatélites, que a espécie possui um papel limitado na reinfestação de residências tratadas com inseticidas. Em outro estudo realizado com *T. infestans* da Argentina, demonstrou que populações de áreas tratadas com inseticidas tem uma diversidade genética semelhante ou superior as áreas que não receberam tratamento (PEREZ DE ROSAS *et al.*, 2007). BRENIÈRE *et al.* (2013) estudando populações de *T. infestans* bolivianos provenientes de ambientes artificiais e naturais de uma mesma localidade, não encontrou diferenças genéticas entre as populações, sugerindo que os insetos responsáveis pela infestação, são oriundas do ambiente silvestre. No Brasil, estudos com microssatélites sugeriram que a persistência de populações residuais de *T. infestans*, ocorre provavelmente por falhas nas ações do controle do vetor (BELISÁRIO *et al.*, 2017).

## 2 JUSTIFICATIVA

O *Triatoma brasiliensis* é a principal espécie vetora da doença de Chagas no Nordeste brasileiro com ampla distribuição, potencial invasivo e ocupando lugar na cadeia doméstica, peridomiciliar e silvestre da doença de Chagas.

Trabalhos realizados em localidades rurais no estado do Ceará, demonstrou que *T. brasiliensis* foi espécie capturada com maior densidade populacional, predominantemente no peridomicílio. Além disso, a partir do quarto mês após tratamento das residências infestadas com inseticida de ação residual, esta espécie de triatomíneo já pode ser encontrada, principalmente, no ambiente peridomiciliar, possivelmente por conta de sucessivas reinvasões a partir das populações silvestres e espécimes remanescentes do tratamento com inseticida residual.

Tais infestações podem estar relacionadas a falhas operacionais junto às atividades de controle químico, revelando a necessidade urgente de reavaliação e readequação da intervenção de controle do vetor. Não se pode descartar ainda a possibilidade de resistência dessas populações triatomínicas aos inseticidas utilizados no controle vetorial.

Os inseticidas do grupo dos piretróides passaram, a partir da década de 1980, a ser usado como produto de primeira escolha no controle químico dos triatomíneos. O uso prolongado deste grupo químico, há mais de 30 anos, pode ter selecionado populações triatomínicas resistentes a este defensivo químico.

Em 2010, o Ministério da Saúde com o objetivo de monitorar a suscetibilidade/resistência das populações de triatomíneos no Brasil, cria a “Rede de Monitoramento da Resistência de Triatomíneos aos Inseticidas-REMOT”. No estado do Ceará a REMOT foi estruturada no ano de 2016 e a espécie selecionado para ser monitorada foi o *T. brasiliensis* por ser a principal espécie de importância epidemiológica no Estado.

Este projeto tem uma relevância para o Programa de Vigilância e Controle da Doença de Chagas no Estado por dar ênfase as atividades nos municípios de alto risco para transmissão vetorial da DC, além de contribuir com novos conhecimentos sobre a suscetibilidade do *T. brasiliensis* a deltametrina e processos de reinfestação no ambiente domiciliar.

Dessa forma, justifica-se monitorar a suscetibilidade/resistência desta espécie devido ao uso prolongado de inseticidas do grupo dos piretróides no controle do vetor da DC no município de Jaguaruana, área endêmica para DC. Além disso, caracterizar geneticamente

a espécie a fim de entender os processos envolvidos na suscetibilidade/resistência e reinfestação no ambiente domiciliar.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Caracterizar as populações de *Triatoma brasiliensis* quanto à diversidade genética e suscetibilidade a deltametrina em localidades rurais do município de Jaguaruana, Ceará.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- 1 Monitorar a suscetibilidade de populações de *T. brasiliensis* a deltametrina coletadas em localidades rurais do município de Jaguaruana.
- 2 Descrever a estrutura genética de populações de *T. brasiliensis*.
- 3 Descrever as características sociais, culturais e comportamentais nas comunidades de estudo possivelmente relacionadas com a persistência de *T. brasiliensis* ao ambiente domiciliar.
- 4 Sugerir estratégias e recomendações quanto ao controle do vetor.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Tipo de estudo

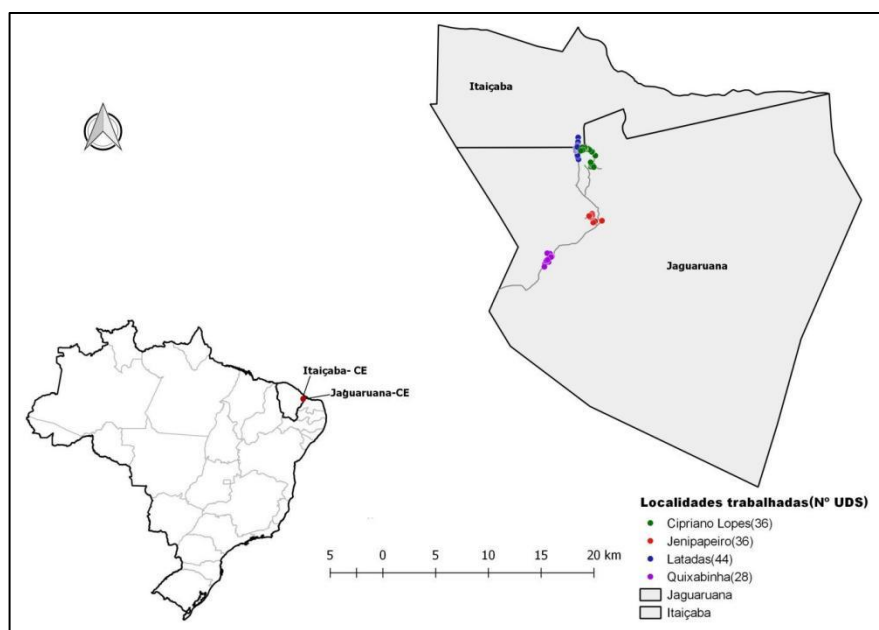
Este estudo será dividido em duas partes distintas:

- Bioensaios para identificar os padrões de suscetibilidade de *T. brasiliensis* a deltametrina e descrever a caracterização genética.
- Estudo transversal populacional para caracterizar o ambiente domiciliar, hábitos dos residentes em relação a criação de animais domésticos e uso de inseticidas de uso doméstico.

### 4.2 Local do estudo

O município de Jaguaruana está localizado na mesorregião do Jaguaribe, a latitude: 4° 50'02'' e longitude: 37°46'52'', e uma altitude de 20,0 metros, distante 150 Km de Fortaleza em linha reta (figura 6). Possui uma área absoluta de 867,25 Km<sup>2</sup> e população de 32.236 habitantes, sendo 59,4% urbana e 40,6% rural. Seus limítrofes ao Norte: Aracati e Itaiçaba; Sul: Russas, Quixeré, estado do Rio Grande do Norte; Leste: estado do Rio Grande do Norte e Aracati e Oeste: Itaiçaba, Palhano e Russas. O clima é Tropical Quente Semiárido brando, temperatura média oscila entre 26 °C a 28 °C e pluviometria média de 752,6 mm<sup>3</sup>, com período chuvoso de janeiro a abril (IPECE, 2017).

**Figura 6** - Mapa do Ceará, com destaque o município de Jaguaruana e as localidades trabalhadas: Cipriano Lopes, Latadas, Jenipapeiro e Quixabinha.



Fonte: Do autor, 2023.



O estudo foi realizado em cinco localidades rurais do município de Jaguaruana, Ceará: Latadas com 44 Unidades Domiciliares (UDs), Cipriano Lopes com 36 UDs, Jenipapeiro com 36 UDs, Quixabinha com 28 UDs e João Duarte que foi coletado insetos só no ambiente silvestre. A UD refere-se ao complexo constituído pela casa e seus anexos (BRASIL, 1980).

A seleção das localidades obedeceu aos seguintes critérios de inclusão: a) realização contínua de um programa de controle de vetores; b) histórico de infestação do *T. brasiliensis*; c) localidade com histórico de controle químico do vetor e uso de inseticidas pela população local (informação fornecida pela equipe de endemias do município); d) localidade com histórico de uso contínuo de controle químico do vetor e sem a prática de uso de inseticida pela população local (informação fornecida pela equipe de endemias do município). A localidade de João Duarte foi incluída no ano de 2021 por necessidade de insetos provenientes de ambiente silvestre para realização dos bioensaios: suscetibilidade e caracterização genética.

### 4.3 Triatomíneos

#### 4.3.1 População de referência

Neste trabalho, a população de referência para suscetibilidade foi a mesma população utilizada dentro da Rede de Monitoramento de Resistência aos Inseticidas (REMOT). No caso da espécie de *Triatoma brasiliensis*, a população de referência é de origem do município de Umari, Ceará, definida por Obara, 2010 (**Tabela 1**).

**Tabela 1** - Dose letal 50% (DL50), Dose letal 99% (DL99) e Slope da população referência de suscetibilidade das espécies de triatomíneos *T. brasiliensis*, Umari, Ceará.

Espécie	Local de origem	DL <sub>50</sub> (IC 95%)	DL <sub>95</sub> (IC 95%)	Slope
<i>T. brasiliensis</i>	Umari	0,293 (0.263 - 0.325)	0,764 (0,618 – 0,837)	3,959 ±0,537

Fonte: PESSOA *et al.*, (2016)

#### 4.3.2 Populações de campo para formação das colônias de *T. brasiliensis*

As populações de triatomíneos foram obtidas a partir de amostras de *T. brasiliensis* coletadas no ambiente domiciliar (intradomicílio e peridomicílio) das localidades rurais do município de Jaguaruana: Cipriano Lopes, Latadas, Jenipapeiro, Quixabinha e ambiente silvestre da localidade de João Duarte. A coleta dos insetos foi realizada de forma manual, com auxílio de pinças e lanternas em pesquisas exaustivas pelos Agentes de Controle de Endemias (ACEs) do município de Jaguaruana, conforme as Normas Técnicas do Programa de Vigilância e Controle da Doença e Chagas e programação de trabalho do município. Em setembro e outubro de 2016 foram recebidas quatro populações, em outubro de 2018 duas populações e em outubro de 2021 quatro populações, conforme **quadro 1**.

**Quadro 1** - Número de *T. brasiliensis* coletados para formação das colônias para os ensaios biológicos, Jaguaruana, Ceará.

Descrição da população	Insetos fundadores das colônias para os bioensaios										Data
	Ecótopo	N1	N2	N3	N4	N5	♂	♀	Total	Ovos	Entrada no Laboratório da CEVET
Latadas (JaLatP25)	Per	10	7	117	36	85	18	19	292	124	27/09/2016
Cipriano Lopes(JaCilP26)	Per	0	14	13	12	23	4	3	69	91	27/09/2016
Quixabinha (JaQuiP27)	Peri	0	10	12	13	33	37	39	144	116	27/09/2016
Jenipapeiro (JaJenP30)	Per	32	23	38	17	17	5	6	138	137	04/10/2016
Cipriano Lopes (JaCilP69)	Per	0	5	10	2	5	2	5	29	19	02/10/2018
Latadas (JaLatP70)	Per	0	0	17	0	9	5	4	35	40	02/10/2018
Cipriano Lopes (JaCil118)	Per	3	2	5	1	62	52	59	184	354	22/10/2021
Latada (JaLatP116)	Per	0	0	0	0	11	7	18	36	0	22/10/2021
João Duarte (JaJoDS119)	Sil	0	0	1	0	4	2	4	11	20	22/10/2021
Cipriano Lopes (JaCil117)	Int	3	1	5	1	2	9	2	23	10	22/10/2021

**Per:** peri; **Int:** intra, **Sil:** silvestre; **N1:** ninfa 1º instar; **N2:** ninfa 2º instar; **N3:** ninfa 3º instar; **N4:** ninfa 4º instar; **N5:** ninfa 5º instar; ♂: macho; ♀: fêmea

Fonte: Do autor, 2022.

Os espécimes de *T. brasiliensis* capturados foram acondicionados em frascos plásticos (8 cm de altura x 7 de diâmetro) com papel de filtro no fundo, juntamente com um

papel dobrado em forma de sanfona para aumentar a superfície de contato cujo o objetivo era oferecer um ambiente menos estressante para os insetos. Os recipientes foram devidamente identificados e acondicionados no interior de caixas térmicas de isopor e enviados vivos ao Laboratório de Entomologia Médica da Célula de Vigilância Entomológica e Controle de Vetores (CEVET), situado na capital do estado, cidade de Fortaleza.

#### 4.3.3 Criação e manutenção das colônias de *T. brasiliensis* no insetário

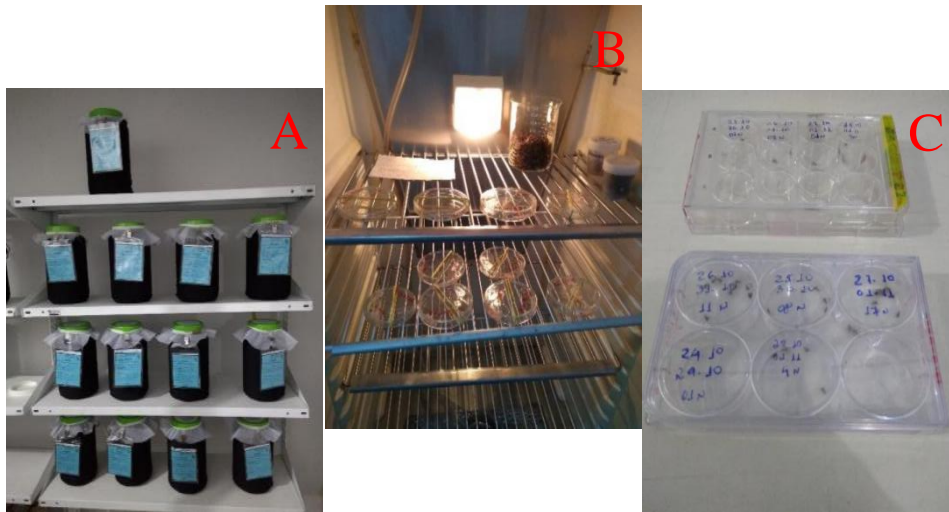
Após recebimentos das populações de triatomíneos provenientes do campo, cada população foi identificada através da chave dicotômica de Lent e Wygodzinsk (1979). Posteriormente, os insetos foram acondicionados em frascos transparentes de vidro (15 cm diâmetro e 20 cm de altura) e devidamente identificados. Papelão recortado em forma de sanfona foi utilizado para aumentar a superfície de contato interna de modo a permitir maior movimentação dos triatomíneos e facilitar a alimentação durante o repasto sanguíneo.

Todas as populações triatomínicas selecionadas para os bioensaios foram mantidas no insetário do Laboratório de Entomologia Médica da CEVET, em condições de temperatura e umidade relativa controlada ( $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;  $60\% \pm 10\%$  UR). Os insetos foram separados conforme sua fase de vida, ou seja, formas imaturas (ninfas) e adultos.

A alimentação sanguínea dos insetos foi realizada dentro da rotina e protocolo do laboratório de Vetores, Reservatórios e Animais Peçonhentos da CEVET/SESA/CE.

Diariamente, um técnico do laboratório da CEVET em horário pré-estabelecido acompanhava a eclosão dos ovos e realizava o recolhimento das ninfas de 1ª instar com uma pinça, livre de qualquer contaminante, para manipular os insetos das diferentes populações e transferia para placas de 24 poços devidamente identificadas: população de origem, data de eclosão e data de aplicação do inseticida. Este procedimento é apresentado de forma resumida na **figura 7**.

**Figura 7** - Acondicionamento dos triatomíneos no insetários (A); acondicionamento de ovos de *T. brasiliensis* em estufa tipo (BOD) para acompanhamento diário de eclosão (B); ninfas de primeiro estágio de *T. brasiliensis* para posterior ensaio biológico (C).



Fonte: Do autor, 2022.

As diferentes populações de *T. brasiliensis* foram codificadas com orientação das iniciais do município de origem seguidas da localidade amostrada e ambiente de coleta conforme **tabela 2**.

**Tabela 2** - Codificação das diferentes populações de *T. brasiliensis* procedentes do município de Jaguaruana, Ceará.

Nº de ordem	Localidade	Latitude	Longitude	Ambiente	Sigla
1	Latadas	-4,7637007	-37,831751	Peri	JaLatP25
2	Cipriano Lopes	-4,7657745	-37,8271903	Peri	JaCiLP26
3	Quixabinha	-4.8536332	-37.8554654	Peri	JaQuiP27
4	Jenipapeiro	-4,8259575	-37,8100437	Peri	JaJenP30
5	Cipriano Lopes	-4.7764018	-37.8202555	Peri	JaCilP69
6	Latadas	-4.7658002	-37.832582	Peri	JaLatP70
7	Cipriano Lopes	-4.7651053	-37.8252401	Peri	JaCilP118
8	Latadas	-4,7646038	-37,8331039	Peri	JaLatP116
9	João Duarte	-4,7828295	-37,8393717	Sil	JaJoDS119
10	Cipriano Lopes	-4,7651269	-37,8223627	Intra	JaCilI117

**Peri:** peridomicílio; **Intra:** intradomicílio; **Sil:** silvestre

Fonte: do Autor, 2022.

#### 4.4 Determinação do perfil da suscetibilidade do *T. brasiliensis* à deltametrina

##### 4.4.1 Inseticida e diluente

O inseticida utilizado nos bioensaios foi a deltametrina [(S) – ciano – 3 – fenoxibenzil (1R) – cis – 3 – (2,2 – dibromovinil) – 2,2 dimetil ciclopropano carboxilato] com grau de pureza de 99,1% (grau técnico), fornecido pela Bayer®, Brasil e acetona P.A (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, da VETEC®MERCK.

##### 4.4.2 Procedimentos no bioensaio

Os bioensaios quantitativos tem por objetivo quantificar o *status* da suscetibilidade das populações de campo a inseticidas por meio de bioensaios dose resposta, possibilitando o cálculo da razão de resistência (RR) das populações avaliadas. Estes ensaios foram realizados segundo protocolo definido por Pessoa (2008).

Inseticida grau técnico (Deltametrina 99,6% de pureza – Bayer®): 0,002g foi diluído em 100 mL de acetona P.A em um béquer e com um agitador elétrico vortex genie modelo K 550G, durante 1 minuto para formar a solução mãe cuja concentração final de 20ng/μL. A solução mãe era transferida para um frasco de vidro, tampa tipo rosca, vedado com parafilme e envolvido com papel alumínio, identificado e colocado na geladeira a -4°C. A solução mãe foi utilizada por um período de até 21 dias.

A partir da solução mãe, uma solução intermediária foi preparada: Diluía-se 2mL da solução mãe em 18mL de acetona P.A para obter um volume final de 20 mL na concentração final de 2ng/μL.

Diluições em série de deltametrina foram preparadas a partir da solução intermediária e aplicadas no dorso ou ventre de ninfas 1º estágio da geração F1 de *T. brasiliensis* (cinco dias de vida, em jejum) com auxílio de uma microseringa Hamilton 25μL acoplada a dispensador automático de mesma marca (volume de 0,2 μL de solução por aplicação). O inseticida foi diluído em acetona na proporção de 1:10, totalizando oito doses iniciais que variaram de (0,1 a 1,7 ng i.a/ninfa). A preparação do protocolo do bioensio é apresentado de forma resumida na **figura 8**.

Os testes de aplicação do inseticida ocorreram em triplicatas, ou seja, para cada dose foram aplicadas três vezes em dias distintos. Assim, para cada dose da população de campo foram utilizadas 10 ninfas por vez, dessa forma, um número total mínimo de 240

ninfas de cada população para finalizar a avaliação de cada população. Nos insetos do grupo controle foi aplicada somente acetona P.A. em 15 ninfas por dose, perfazendo um total mínimo de 60 ninfas para cada população testada.

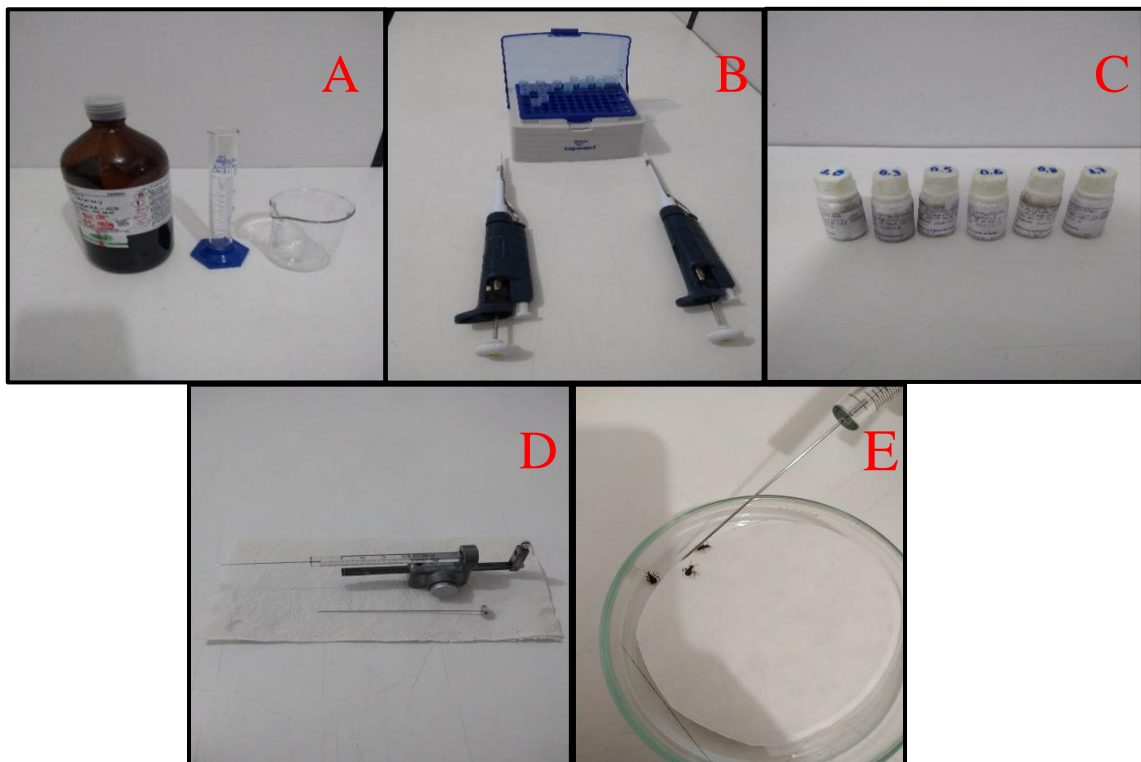
Após aplicação tópica do inseticida nas ninfas F1 de *T. brasiliensis*, as mesmas foram transferidas para placas de petri (80x15mm) limpas e posteriormente para caixas térmicas de isopor com temperatura e umidade controladas ( $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;  $60\% \pm 10\%$  UR). As aplicações tópicas foram realizadas por dois técnicos do Laboratório do CEVET/SESA devidamente treinados conforme os protocolos estabelecidos pela Rede de Monitoramento dos Triatomíneos aos Inseticidas (REMOT).

A partir das curvas de mortalidade foram determinados a Dose Letal 50 ( $DL_{50}$ ) que mata 50% da população testada e Dose Letal 95 ( $DL_{95}$ ) que mata 95% da população.

As mortalidades das ninfas foram avaliadas 72 horas após a aplicação do inseticida pelos dois técnicos treinados. Neste momento, as ninfas foram caracterizadas como normais (quando não apresentavam nenhuma alteração de locomoção), intoxicadas (quando apresentavam leves sintomas de desequilíbrio ao se locomover), ou muito intoxicadas (quando apresentavam fortes sintomas de desequilíbrio ao se locomover ou não conseguir se locomover) (OBARA *et al.*, 2002 *apud.* PESSOA, 2012).

No cálculo da dose letal 50% ( $DL_{50}$ ) as ninfas normais e intoxicadas foram consideradas (vivas) e muito intoxicadas e mortas consideradas (mortas). Este procedimento é necessário para a utilização dos programas que calcula os valores de doses letais (DL).

**Figura 8** - Acetona P.A para diluição do inseticida deltametrina (A); pipetas automáticas para diluição das doses (B); seringa Hamilton acoplada a dispensador automático (D) e aplicação tópica do inseticida no dorso ou ventre dos triatomíneos (E).



Fonte: Do autor, 2022.

#### 4.4.3 Análise estatística

$DL_{50}$  e  $DL_{95}$  - Os dados de mortalidade de *T. brasiliensis*, obtidos nos ensaios biológicos, foram utilizados para estimar as doses letais que matam 50% ( $DL_{50}$ ) e 95% ( $DL_{95}$ ) para cada linhagem testada. Nesta etapa do trabalho, os cálculos para  $DL_{50}$  e  $DL_{95}$  de cada população foi estimado através do programa Basic Probit Analisis (RAYMOND, 1985) e Polo Plus (Berkeley, CA: LeOra Software; 2002).

As razões de resistência (RR) - foram calculadas por meio do quociente da  $DL_{50}$  específica de cada população de campo, pela  $DL_{50}$  da população de referência (TbREF). A Razão de Resistência indica a quantidade de vezes que a população de campo é mais resistente que a população de referência. Para os cálculos da  $RR_{95}$  seguiu os mesmos procedimentos mencionados anteriormente.

A caracterização das razões de resistência foi realizada utilizando critérios propostos pela OPAS (2005):

Para  $RR < 5$  se considerou que a alteração de suscetibilidade encontrada foi produzida por variações individuais e que não justificam falhas no controle. Recomenda-se, então, continuar o controle com o mesmo inseticida utilizado e manter o monitoramento da resistência.

Para  $5 \leq RR < 20$  se considerou que existe resistência incipiente, sendo necessário avaliar as falhas de controle no campo. Caso confirmado, faz-se necessário trocar o inseticida para outro com modo de ação distinto. Caso não se confirme, as falhas no campo devem-se permanecer com o mesmo inseticida e intensificar o monitoramento da resistência realizando avaliações entomológicas com um mês e doze meses após a borrifação.

Para  $RR \geq 20$  se considerou que a resistência foi estabelecida sendo recomendada a troca do inseticida por outro de modo de ação distinto.

Coeficiente Angular (SLOPE) – o coeficiente angular da dose resposta (Slope) representa a homogeneidade da população. Menores valores de Slope indicam populações menos homogêneas, logo, sugere maior variabilidade genotípica. Populações com esta característica, em tese, pode elevar a probabilidade de selecionar indivíduos que possuem alelos que conferem resistências, quando submetidas a pressão contínua de inseticidas. Em contrapartida, populações que apresentam maiores valores de Slope, podem sugerir menor variação genotípica na resposta aos inseticidas.

O cálculo de inclinação da reta no gráfico foi realizado com o auxílio do GHAPH PAD Prism<sup>®</sup> versão 4.0 (Ghaph software INC, San Diego, CA).

## **4.5 Caracterização da variabilidade genética de *T. brasiliensis* através de marcadores microssatélites**

### **4.5.1 Triatomíneos**

A captura dos triatomíneos foi realizada no mês de outubro de 2021 nas residências e seu entorno (intradomicílio e peridomicílio) e ambientes silvestres das cinco localidades: Latadas, Cipriano Lopes, Quixabinha, Jenipapeiro e João Duarte (somente ambiente silvestre). Os *T. brasiliensis* capturados foram identificados de acordo com Lent e Wygodzinsky (1979).

As coletas dos insetos foram realizadas de forma manual, com auxílio de pinças e lanternas em pesquisas exaustivas pelos Agentes de Controle de Endemias (ACEs) do município de Jaguaruana conforme as Normas Técnicas do Programa de Vigilância e Controle da Doença e Chagas. Além destas amostras de *T. brasiliensis* coletadas em campo, foi



encaminhado amostras de *T. brasilienses* que estavam congeladas no Laboratório de Vetores, Reservatório e Animais Peçonhentos provenientes da Rede de Monitoramento de Resistência aos Inseticidas – REMOT, oriundas das localidades: Latadas, Cipriano Lopes e Quixabinha que foram coletadas nos anos de 2016 e 2018.

Foi considerada amostra um número mínimo de cinco indivíduos de cada população (sem distinção de sexo), requisito para a Análise de Variância Molecular (AMOVA) (EXCOFFIER *et al.*, 1992; EXCOFFIER *et al.*, 2005).

Esta etapa do estudo foi realizada em colaboração com o grupo de pesquisa em Triatomíneos/IOC – FIOCRUZ.

#### 4.5.2 Genotipagem de microssatélites

Duas patas de cada inseto foram utilizadas para a extração de DNA genômico com o Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) utilizando o protocolo de Borges *et al.* (2000). O DNA foi quantificado em NanoDrop 1000 Espectrofotômetro (Thermo Scientific) e armazenado a -20°C. Foram testados iniciadores para nove loci de microssatélites descritos para *T. brasiliensis*: Tb728, Tb830, Tb860, Tb7180, Tb8112, Tb8124, Tb2146, Tb8102 e Tb8150 (Harry *et al.*, 2009).

A amplificação em cadeia da polimerase (PCR: Polymerase Chain Reactions) foi realizada em um volume final de 10 µL contendo 1 unidade de Platinum® Taq DNA polimerase (Invitrogen), 1x tampão, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM dNTP, 5 pmol para cada primer, 2 ng de ADN e água ultrapura. Os iniciadores dianteiros foram rotulados com uma sonda bioluminescente. As reações foram executadas no termociclador Veriti® 96-Well (Thermo Fisher Scientific) com o seguinte ciclo: desnaturação inicial a 95°C durante cinco minutos, 28 ciclos a 94°C durante 30s, anelamento com a temperatura dependente do iniciador durante 30s, extensão a 72°C durante 45s, seguido de uma extensão final a 72°C durante cinco minutos. As temperaturas de anelamento foram de 48°C para Tb860; 54°C para Tb8112; 52°C para Tb 2146; 56°C para Tb8102; touchdown (incremento na redução da temperatura de anelamento): 60→50°C e 58°C para Tb728, Tb830, Tb7180, Tb8124. Para determinar o tamanho dos loci, os produtos PCR foram diluídos 1:10 em água ultrapura com um padrão de tamanho GeneScan™ 500 LIZ® (Thermo Fisher Scientific) e genotipado num analisador de ADN ABI 3730 (Applied Biosystem®) e genotipados em sequenciador ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystem®) pela Plataforma de Sequenciamento de DNA do Instituto

René Rachou. A análise dos cromatogramas foi realizada no programa Geneious 10.1.2<sup>©</sup> (*Biomatters Limited*).

#### 4.5.3 Análise dos dados

Foram obtidos o número e o tamanho dos alelos para cada locus, a heterozigiosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), verificação de equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW), a AMOVA e o cálculo dos índices de fixação ( $F_{st}$ ,  $F_{is}$  e  $F_{it}$ ) (Arlequin versão 3.5) (EXCOFFIER e LISCHER, 2010) e teste de Mantel. Os testes estatísticos foram realizados com nível de significância de 5% e uma perda máxima de 5% de alelos amplificados. Para facilitar a visualização das relações obtidas pelos valores de  $F_{st}$  par a par, foi gerado um dendograma de Neighbor-Joining (10.000 bootstraps) (POPTREEW) (TAKEZAKI *et al.*, 2014).

Para avaliar a significância dos desvios de Hardy-Weinberg utilizou-se o programa como parâmetro 10.000 Cadeias de Markov, com 20 réplicas e 5.000 interações por réplicas (Genepop versão 4.3) (RAYMOND; ROUSSET, 1995; ROUSSET, 2008).

A riqueza alélica foi calculada utilizando o método estatístico de rarefação baseado no tamanho mínimo de 8 genes por amostras (HP-Rare versão 1.1) (KALINOWSKI, 2004; KALINOWSKI, 2005).

Foi verificada a presença de alelos nulos (Micro-Checker 2.2.3) (VAN OOSTERHOUT *et al.*, 2004) e a sua influência avaliada com a metodologia de Exclusão de Alelos Nulos (ENA) com um intervalo de confiança de 95% em 10.000 bootstraps (FreeNa) (CHAPUIS; ESTOUP, 2007).

O teste de migrantes de primeira geração (PAETKAU *et al.*, 2004) foi realizado para identificar possíveis imigrantes dentro de cada amostra e a origem mais provável desses indivíduos (PIRY *et al.*, 2004). O teste foi realizado seguindo o critério computacional do método baseado em frequências proposto por Paetkau (PAETKAU *et al.*, 1995) juntamente com o algoritmo descrito por Paetkau (PAETKAU *et al.*, 2004). Esta análise foi realizada em um total de 10.000 cadeias de Monte Carlo em simulações individuais com um valor estatístico de  $p \leq 0,05$  para cada resultado gerado (GENECLASS2).

Para verificar a estrutura genética das amostras de *T. brasiliensis* foram avaliados os agrupamentos genéticos (K) de um a 15 com um total de 20 repetições e 1.000.000 de interações por Cadeias de Markov e Monte Carlo (burn-in 100.000) para cada K avaliado sobre o modelo ancestral de mistura e frequências de alelos correlacionadas entre as populações (Structure versão 2.3.4) (PRITCHARD *et al.*, 2000; FALUSH, *et al.*, 2003). O

melhor valor de K foi identificado pelo método descrito por Puechmaille (PUECHMAILLE, 2016) e (Structure Selector) (LI; LIU, 2018).

## **4.6 Estudo transversal populacional**

### **4.6.1 População de estudo**

O estudo foi realizado com os residentes de quatro localidades rurais do município de Jaguaruana, Ceará, assim distribuídas: Latadas com 44 Unidades Domiciliares (UDs), Cipriano Lopes com 36 UDs, Jenipapeiro com 36 UDs, Quixabinha com 28 UDs, perfazendo um total de 144 UDs.

### **4.6.2 Critérios de inclusão da UD**

Proprietário ou responsável da residência maior de 18 anos nas localidades rurais de Latadas, Cipriano Lopes, Jenipapeiro e Quixabinha que concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE assinado pelo responsável da pesquisa.

### **4.6.3 Critérios de exclusão da UD**

- Chefes de famílias menores de 18 anos;
- Indivíduos residentes que apresentarem qualquer alteração cognitiva ou intelectual que limite a capacidade de participar da entrevista;
- Residentes que não concordaram em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE fornecido pelo responsável da pesquisa.

### **4.6.4 Variáveis**

Na aplicação do questionário foram abordados os seguintes aspectos: 1) aspectos físicos das residências como tipo de parede, tipo de teto, tipo de piso, idade média da residência; 2) criação de animais domésticos, espécies de animais, onde eles dormem, se faz uso de inseticidas para combater parasitas nos animais; 3) áreas de cultivo e uso de inseticida para controle de pragas agrícolas, quais plantações existentes na propriedade, se faz uso de inseticidas para controle de pragas; 4) Caracterização do peridomicílio como existência de

anexos: galinheiros, pocilga, aprisco, curral, poleiro, monte de lenha, monte de tijolos, cerca, depósito de máquinas e outros conforme **quadro 2**.

**Quadro 2** - Variáveis abordadas no questionário aplicado nas quatro localidades pesquisadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023.

Variáveis					
Constituição das paredes	Alvenaria com reboco	Alvenaria sem reboco	Barro com reboco	Barro sem reboco	Madeira
Possui fendas	Sim	Não	-	-	-
Tipo de piso	Cimento	Barro batido	Cerâmica	Outros	-
Tipo de telhado	Telha de barro	Metálico	Palha	Madeira	Outros
Possui animais doméstico	Sim	Não	Não informado	-	-
Espécies de animais	Cão	Gato	Galinha	Suíno	Outros
Uso de inseticidas no intradomicílio	Sim	Não	Não informado	-	-
Uso de inseticida no peridomicílio	Sim	Não	Não informado	-	-
Anexos no peridomicílio	Galinheiro	Pocilga	Aprisco	Poleiro	Curral
Anexos no peridomicílio	Monte de tijolo/telha	Monte de lenha	Depósito de máquinas	Outros	-
Possui plantação	Sim	Não	Não informado	-	-
Culturas cultivadas	Milho	Feijão	Arroz	Abóbora	Outros
Inseticidas nas plantações	Sim	Não	Não informado	-	-
Extensão da plantação	Hectares	-	-	-	-
Acompanhamento da EMATERCE	Sim	Não	-	-	-
Moradores frequentam as matas	Sim	Não	Não informado	-	-
Principal atividade na mata	Coleta de lenha	Coleta de palha	Coleta de frutos	Caça/pesca	Outros

Fonte: Do autor

#### 4.6.5 Coleta de dados

As unidades domiciliares (UDs) foram caracterizadas por meio de um questionário próprio (**anexo 1**), com auxílio de tablets modelo Samsung Galaxi Tab S8. A população-alvo incluiu todos os residentes das quatro localidades selecionadas do município de Jaguaruana, Ceará.

A aplicação do questionário foi realizada pelos Agentes de Combate as Endemias (ACEs) do município de Jaguaruana e Técnicos da Célula de Vigilância Entomológica e Controle Vetorial – CEVET/SESA/CE. As equipes foram treinadas sobre a correta aplicação do questionário de pesquisa, garantindo assim uma padronização na coleta dos dados.

#### 4.6.6 Análise dos dados

A consolidação dos dados e avaliação foram realizadas através do programa Epi InfoTM versão 7.2.4 e Excel. As informações serão apresentadas de forma descritiva por meio de tabelas com números absolutos, relativos e gráficos.

#### 4.6.7 Comitê de ética

O projeto foi submetido e **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal do Ceará (UFC), **parecer nº. 6.024.559**.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Monitorar a suscetibilidade de populações de *T. brasiliensis* das áreas de estudo ao inseticida do grupo dos piretróides deltametrina.

Populações de *T. brasiliensis* de áreas rurais do município de Jaguaruana, Ceará, foram avaliadas quanto a suscetibilidade para deltametrina e comparada com a população de referência (TbREF).

Os bioensaios descreveram uma  $DL_{50}$  que variou de 0,29 ng/inseto (0,27– 0,32) a 0,45 ng/inseto (0,41– 0,48) e as razões de resistência ( $RR_{50}$ ) entre 1,01 ng/inseto a 1,55 ng/inseto. A localidade de Jenipapeiro (JaJenP30) apresentou a menor  $DL_{50}$  e Quixabinha (JaQuiP27) a maior.

As populações de *T. brasiliensis* das localidades de Cipriano Lopes (JaCiLP26), Latadas (JaLaP116) e Quixabinha (JaQuiP27) apresentou diferenças significativas na  $DL_{50}$  com a população de referência (TbREF), quando os limites de confiança foram sobrepostos ao nível de 95%. Os dados estão apresentados na **tabela 3**.

**Tabela 3** - Distribuição do número de exemplares por amostra, DL<sub>50</sub>, DL<sub>95</sub>, RR<sub>50</sub>, RR<sub>95</sub> e SLOPE de populações de *T. brasiliensis* tratadas com aplicação tópica de 0,2µl de deltametrina, na superfície dorsal ou ventral de ninfas de primeiro estágio capturadas em Jaguaruana, Ceará, Brasil.

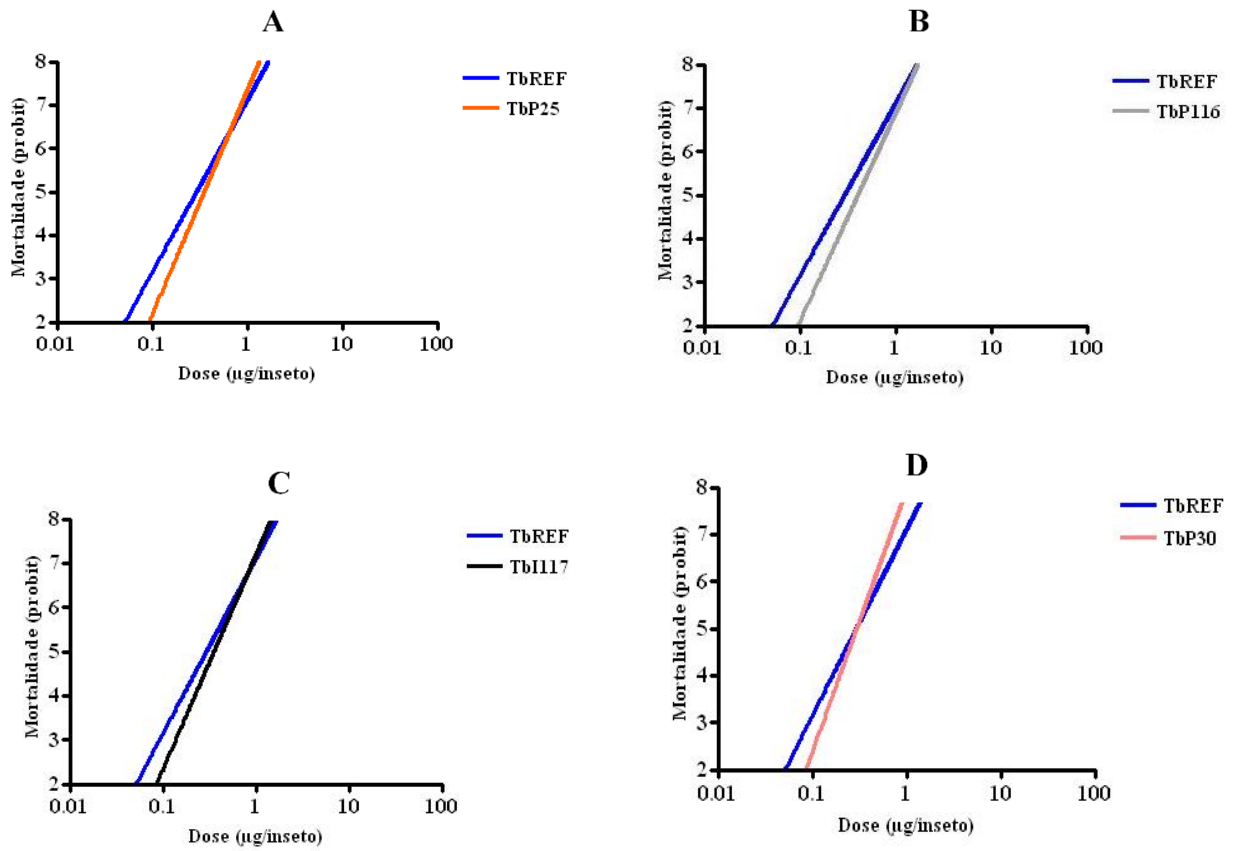
População	N	DL <sub>50</sub> (95% IC)	RR <sub>50</sub> (95% IC)	DL <sub>95</sub> (95% IC)	RR <sub>95</sub> (95% IC)	SLOPE
TbREF	-	0,293 (0,263- 0,325)	1,000	0,764 (0,618- 1,083)	1,000	3,959 ± 0,537
JaJenP30	285	0,296 (0,274- 0,319)	1,017 (0,900-1,150)	0,585 (0,510-0,721)	0,827 (0,634-1,080)	5,573 ± 0,658
JaLaP70	255	0,306 (0,276- 0,338)	1,050 (0,913-1,207)	0,700 (0,597-0,911)	1,025 (0,760-1,382)	4,391 ± 0,514
JaCiLP69	255	0,313 (0,281- 0,343)	1,075 (0,936-1,234)	0,713 (0,605-0,924)	1,009 (0,755-1,348)	4,602 ± 0,590
JaCiLP118	285	0,322 (0,260 - 0,371)	1,105 (0,934 - 1,308)	0,987 (0,768- 1,600)	1,396 (0,990- 1,968)	3,382 ± 0,492
JaJoDS119	285	0,345 (0,298 - 0,389)	1,185 (1,007- 1,394)	0,956 (0,775- 1,353)	1,353 (0,967- 1,892)	3,719 ± 0,521
JaLaP25	375	0,352 (0,325 - 0,377)	1,207 (1,068- 1,364)	0,732 (0,651- 0,862)	1,035 (0,808- 1,327)	5,169 ± 0,507
JaCiLI117	285	0,354 (0,324 - 0,384)	1,216 (1,070- 1,382)	0,773 (0,664- 0,972)	1,093 (0,829- 1,442)	4,856 ± 0,564
JaCiLP26	240	0,399 (0,376 - 0,421)	1,368 (1,224- 1,529)	0,597 (0,543- 0,701)	0,845 (0,665- 1,073)	9,358±1,309
JaLaP116	285	0,399 (0,365 - 0,432)	1,370 (1,206- 1,555)	0,882 (0,749- 1,151)	1,248 (0,933- 1,671)	4,773 ± 0,621
JaQuiP27	315	0,452 (0,415- 0,485)	1,552 (1,390- 1,733)	0,733 (0,654- 0,895)	1,037 (0,824- 1,306)	7,842 ± 0,865

DL: dose letal em nanogramas por inseto, 95% IC: intervalo de confiança 95%, RR: razão de resistência, TbREF: população de referência.

Fonte: Do autor, 2023.

Com relação a inclinação da reta do coeficiente angular (Slope), as populações que apresentaram as menores variação na homogeneidade foram JaLaP25, JaLaP116, JaCiLI117 e JaJenP30, conforme mostram as figuras 9A, 9B, 9C e 9D. Em contrapartida, as populações de triatomíneos de JaCiLP26 e JaQuiP27 mostradas nas figuras 10A e 10B demonstrou ser mais homogêneas em relação a população de referência (TbREF).

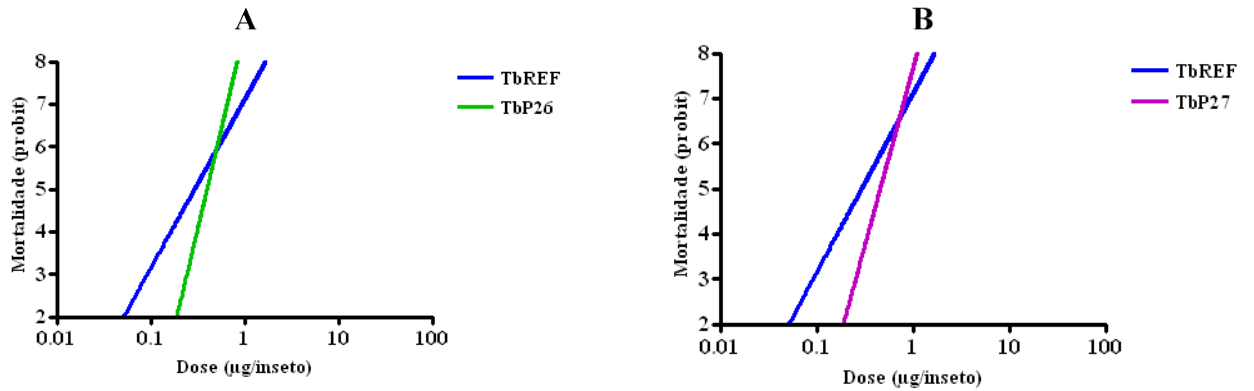
**Figura 9** - Curva de mortalidade de populações de *Triatoma brasiliensis*, em escala logarítmica, para o inseticida deltametrina. A: comparação entre TbREF (3,95) e TbP25 (5,16), B: comparação entre TbREF (3,95) e TbP116 (4,77), C: comparação entre TbREF (3,95) e TbP117 (4,85); D: Comparação entre TbREF (3,95) e TbP30 (5,53).



**TbREF**: população de referência, **TbP25**: JaLaP25; **TbP116**: JaLaP116; **TbP117**: JaCiLI117 e **TbP30**: JaJenP30.



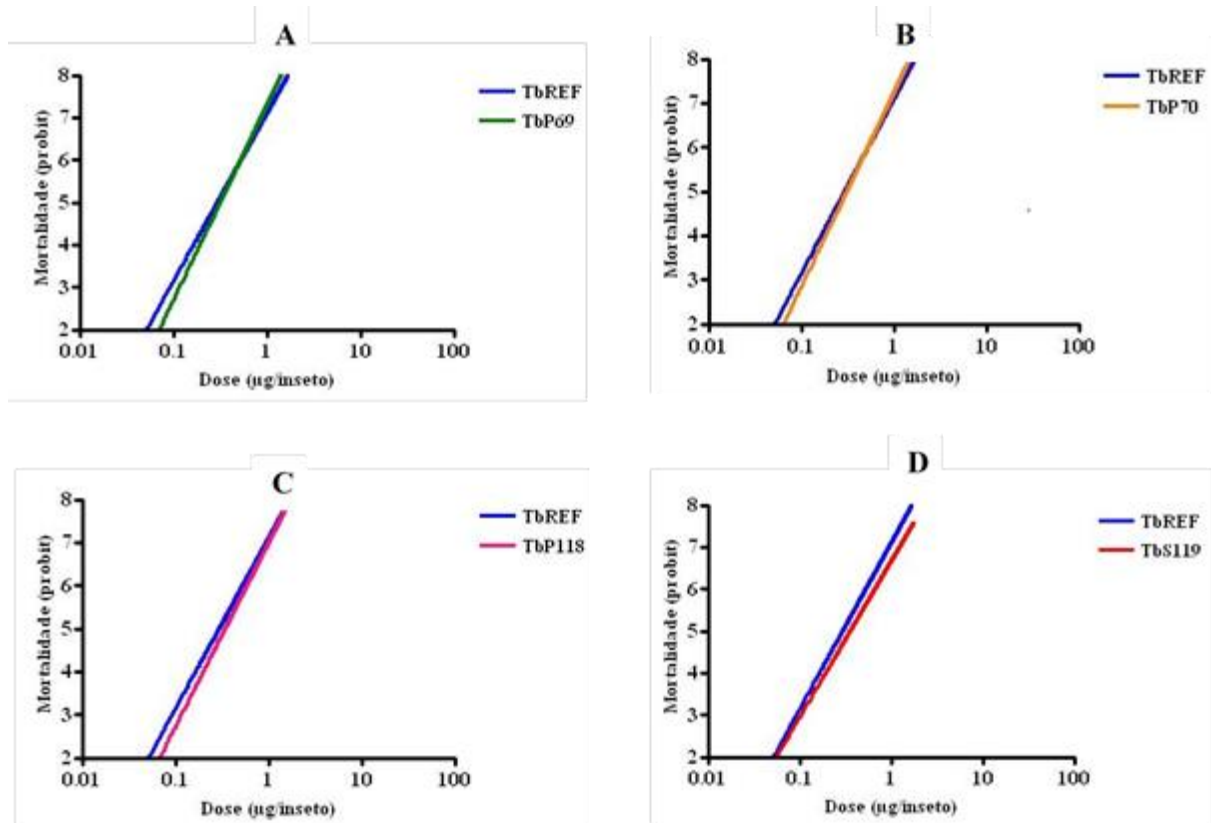
**Figura 10** - Curva de mortalidade de populações de *Triatoma brasiliensis*, em escala logarítmica, para o inseticida deltametrina. A: comparação entre TbREF (3,95) e TbP26 (9,35), B: comparação entre TbREF (3,95) e TbP27 (7,84).



**TbREF**: população de referência, **TbP26**: JaCiLP26; **TbP27**: JaQuiP27;

As populações JaCiLP69, JaLaP70, JaCiLP118 e JaJoDS119 apresentaram uma inclinação da reta muito próxima da população de referência (TbREF), demonstrando possuir uma homogeneidade similar a mesma conforme figuras **11A**, **11B**, **11C** e **11D**.

**Figura 11** - Curva de mortalidade de populações de *Triatoma brasiliensis*, em escala logarítmica, para o inseticida deltametrina. A: comparação entre TbREF (3,95) e TbP69 (4,60), B: comparação entre TbREF (3,95) e TbP70 (4,39), C: comparação entre TbREF (3,95) e TbP118 (3,38), D: comparação entre TbREF (3,95) e TbS119 (3,71).



**TbREF:** população de referência, **TbP69:** JaCiLP69; **TbP70:** JaLaP70; **TbP118:** JaCiLP118; **TbS119:** JaJoDS119

O Brasil recebeu a “Certificação Internacional de Eliminação da Transmissão do *T. cruzi* por *T. infestans*” em 2006, fruto de esforços continuados no controle da doença (DIAS, 2006). Isto fortaleceu a ideia que a DC havia sido eliminado do território brasileiro. No entanto, outras espécies de triatomíneos autóctones mantêm uma importância epidemiológica, entre elas, *T. brasiliensis*, espécie predominante no Nordeste brasileiro (DIAS, 2006).

O fenômeno da resistência dos insetos aos inseticidas pode ser interpretado como um decréscimo da mortalidade numa população exposta a pressão constante de inseticidas químicos utilizados para seu controle (PESSOA *et al.*, 2015). Em populações de triatomíneos, que possuem ciclo de vida longos e complexos, o processo de resistência é pouco provável de ocorrer (PESSOA *et al.*, 2015). Todavia, alguns estudos já apontam casos

de triatomíneos resistentes a diversos princípios ativos em várias regiões da América (YON *et al.*, 2004; PESSOA *et al.*, 2015; ECHEVERRIA *et al.*, 2018).

Resistência aos piretróides foram relatados em populações de *R. prolixus* na Venezuela e em populações de *T. infestans* no Brasil e Bolívia (DEPICKÈRE *et al.*, 2012).

Echeverria (2018) estudando populações de *T. infestans* em Toro, Bolívia, relatou populações silvestres resistentes a deltametrina. No Brasil, outros autores relataram resistência ao inseticida piretróide deltametrina em populações de *T. infestans*, *T. sordida* e *T. brasiliensis* (OBARA *et al.*, 2011; PESSOA *et al.*, 2015).

Neste trabalho a caracterização das razões de resistência foi realizada utilizando critérios propostos pela OPAS (2005), que preconiza que  $RR \leq 5$  para monitorar a suscetibilidade de triatomíneos a inseticidas, considerando que as diferenças de suscetibilidade são devidas às variações individuais, ou seja, não há um processo de resistência estabelecido, assim, as ações de controle do vetor devem continuar com o mesmo praguicida (OPAS, 2005).

Neste estudo, foram avaliadas 10 populações de *Triatoma brasiliensis* oriundas de áreas rurais do município de Jaguaruana, Ceará e foi identificado baixos valores para  $RR_{50}$  (1,017 ng/ $\mu$ L a 1,552 ng/ $\mu$ L).

Nossos resultados corroboram com os achados de Sonoda e colaboradores (2010) que avaliando populações de *T. brasiliensis* dos ambientes domésticos (intradomicílio e peridomicílio) e silvestres do município de Tauá, Ceará, encontrou baixos níveis de resistência, que variou de  $RR_{50}$  1,00 a 1,74: (Cachoeira dos Pedrosas  $RR_{50}=1,16$ , Cachoeira do Júlio  $RR_{50}=1,74$ , Dormideira  $RR_{50}=1,79$ , Mutuca  $RR_{50}=1,58$ , Cachoeira dos Pedrosas  $RR_{50}=1,26$ , Morada Nova do Thomas  $RR_{50}=1,74$  e Mutuca  $RR_{50}=1,58$ , e Cachoeira dos Pedrosas  $RR_{50}=1,0$ ).

Do mesmo modo, Obara (2011) trabalhando com populações de *T. brasiliensis* do Nordeste: Paraíba, Pernambuco, Piauí e Rio Grande do Norte, caracterizou o perfil de suscetibilidade em relação ao inseticida deltametrina, encontrou valores incipientes para  $RR_{50}$  (1,00 a 2,17).

Pessoa e colaboradores (2015) caracterizaram o perfil toxicológico de populações de *T. brasiliensis* à deltametrina oriundas de seis municípios do Ceará: Jaguaruana, Quixeré, Jaguaribe, Independência, Ipaporanga e Tauá, os resultados revelaram baixos valores para  $RR_{50}$  (0,32 a 1,21).

Em nossos resultados, nenhuma das populações de *T. brasiliensis* testadas apresentou uma  $RR_{50}$  menor que a população de *T. brasiliensis* de TbREF ( $RR_{50} < 1$ ), o que

difere dos achados de outros autores que, avaliando populações *T. brasiliensis* no Nordeste e *T. sordida* no Centro Oeste, encontraram populações de campo com  $RR_{50}$  menor que as populações utilizadas como referência (REF), o que sugere que as mesmas quando selecionadas em campo já continha alelos de resistência, e assim, evidenciou os frágeis critérios da OPAS para escolha de populações de referência (OBARA *et al.* 2011; PESSOA *et al.* 2015).

Das 10 populações testadas neste trabalho, três apresentaram diferenças significativas da  $DL_{50}$  com a população (TbREF). No entanto, os resultados encontrados apontaram para baixos níveis de resistência em todas as amostras testadas, não comprometendo as ações de controle do vetor através das aplicações residuais do inseticida do grupo do piretróides. Apesar da pressão de inseticidas do grupo dos piretróides nestas populações, os resultados possivelmente reflitam a dificuldade do controle químico do vetor, principalmente no ambiente peridomiciliar. Além disso, a elevada migração de indivíduos no ambiente silvestre pode "diluir" os genes de resistência, portanto, as populações peridomiciliares estariam a todo momento realizando cruzamentos com populações silvestres que acarretaria numa redução dos genes de resistência.

Em relação a heterogeneidade das populações testadas através do coeficiente angular (SLOPE), oito populações apresentaram valores maiores que a população de (TbREF). Valores mais elevados do slope sugerem que as populações em estudo são mais homogêneas e possuem maior semelhança entre cada população e a população de referência.

## **5.2 Caracterização genética das populações de *T. brasiliensis* do município de Jaguaruana, Ceará.**

Para caracterizar geneticamente das populações de *T. brasiliensis* foi coletado e encaminhado para o Laboratório do grupo de pesquisa em Triatomíneos/IOC – FIOCRUZ um total 252 insetos oriundos da pesquisa de campo ocorrida no mês de outubro de 2021 e amostras congeladas da Rede de Monitoramento de Resistência aos Inseticidas – REMOT (anos de 2016 e 2018). Destes, foi possível processar 29 amostras. Os dados estão apresentados na **tabela 4**.

**Tabela 4** - Número de amostras de *T. brasiliensis* para caracterização genética utilizando microssatélites, município de Jaguaruana, Ceará.

Localidade de captura	Identificação da UD	Ambiente	Ecótopo	Período de captura	Latitude	Longitude	Código da Amostra	Nº de insetos amostrados
Latada	NI	Peri	NI	2016	-4.7738593	-37.8306312	LatR25	9
	NI	Peri	NI	2018	-4.7738593	-37.8306312	LatR70	10
	18c1	Peri	galinheiro	2021	-4,7637007	-37,831751	Lat18c1	10
	23	Peri	galinheiro	2021	-4,7599111	-37,8308041	Lat23	10
	3c1	Peri	telha	2021	-4.7065176	-37.832823	Lat3c1	10
	13	Peri	madeira	2021	-4,7652177	-37,8314035	Lat13	10
	14c1	Peri	galinheiro	2021	-4,7646038	-37,8331039	Lat14c1	9
	11	Intra	alpendre	2021	-4.7658002	-37.832582	Lat11	10
Cipriano Lopes	NI	Peri	NI	2016	-4.78018	-37.81823	CLopR26	10
	NI	Peri	NI	2018	-4.78018	-37.81823	CLopR69	10
	33c1	Peri	lenha 1	2021	-4,7657745	-37,8271903	CLop33c1p1	10
		Peri	lenha 2	2021	-4,7657607	-37,827158	CLop33c1p2	10
	15c2	Peri	chiqueiro	2021	-4.7764018	-37.8202555	CLop15c2	10
	27	Peri	chiqueiro	2021	-4.7651053	-37.8252401	CLop27	10
	23	Peri	madeira	2021	-4,7650495	-37,8222092	CLop23p1	9
		Peri	galinheiro	2021	-4,7651269	-37,8223627	CLop23p2	10
	17	Intra	alpendre	2021	-4.7707044	-37.8161672	CLop17	7
-	Silvestre	carnaúba-xique-chão	2021	-4,7709308	-37,8157584	CLopWild	7	
Quixabinha	NI	Peri	NI	2016	-4.8555173	-37.8540889	QuixR27	10
	5	Peri	galinheiro	2021	-4.8536332	-37.8554654	Quix5	5
Jenipapeiro	6	Peri	galinheiro	2021	-4.82338	-37.8188	Jen6	7
	1	Peri	carnaúba	2021	-4,8259575	-37,8100437	Jen1	6
	6c1	Peri	galinheiro	2021	-4,8233762	-37,81883	Jen6c1	5
	15	Peri	chiqueiro	2021	-4,8227348	-37,8209339	Jen15	9
João Duarte	-	Silvestre	pedra 3	2021	-4,7827741	-37,8389039	JWild1	11
	-	Silvestre	pedra 4	2021	-4,7828295	-37,8393717	JWild2	8
	-	Silvestre	pedra 5	2021	-4,7825214	-37,8392454	JWild3	5
	-	Silvestre	pedra 6	2021	-4,7821158	-37,839741	JWild4	6
	-	Silvestre	pedra Luiz	2021	-4,7811206	-37,8386576	JWild5	9

Fonte: Do autor

Dos nove pares de primers testados, cinco amplificaram loci de microssatélite e foram polimórficos, conforme **quadro 3**.

**Quadro 3** - Locus de *Triatoma brasiliensis* amplificados das localidades rurais de Jaguaruana, Ceará.

Nome		Sequência (5'- 3')	Motif	T°C Anelamento	Tamanho esperado*	Tamanho observado
Tb728	F:	CTACAGCGATTTGTCTCG-NED	(GT)2AT(GT)12	58 °C	306 - 316	308 - 316
	R:	TATTGCATCATGTTTATTGG				
Tb830	F:	TGTCAGATGCATGGTGATAC-6FAM	(AC)15	58 °C	274 - 298	276 - 290
	R:	CATGGAAGATACCTAAACGG				
Tb860	F:	CGTTTTAGTAAGGAATGG-PET	(CT)5 (CA)10(CTCA)3	48 °C	392 - 396	394
	R:	ATTGTGCCAAAATCAGGT				
Tb7180	F:	TGACCTACCGCCACATTAC-VIC	(CATA)3(CA)8 TA(CA)18(GA)3	58 °C	220 - 246	214 - 246
	R:	CAAATTTTCGATACCGCGATAG				
Tb8124	F:	GCCACTGTGTTCTCATTCC-NED	(CA)18	58 °C	218 - 246	224 - 242
	R:	TGGTGTGATGCTCAGAAGG				

\*Por Harry et al 2008

Foi observada nas amostras a presença de alelos nulos para os cinco loci (**tabela 5**), entretanto, eles não influenciaram a análise já que o Fst excluindo os alelos nulos (0,105) e incluindo-os (0,102) estão dentro do intervalo de confiança do método ENA (0.088 a 0.124 sem alelos nulos; 0.091 a 0.118 com alelos nulos. O Fst par a par com e sem a correção de ENA e seus respectivos intervalos de confiança estão no Suplemento 2.

**Tabela 5** - Estimativa dos valores de frequência de alelos nulos para cada locus em cada amostra de *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará

Populações	Tb728	Tb830	Tb860	Tb7180	Tb8124
Lat18c1	0,00	0,00	0,02	0,18	0,31
Lat23	0,00	0,16	0,00	0,00	0,20
Lat3c1	0,05	0,00	0,00	0,08	0,23
Lat11	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
Lat13	0,00	0,12	0,00	0,28	0,30
Lat14c1	0,02	0,09	0,11	0,16	0,21
CLop17	0,00	0,00	0,00	0,32	0,11
CLop33c1p1	0,00	0,27	0,00	0,14	0,20
CLop33c1p2	0,00	0,28	0,00	0,08	0,22
CLop15c2	0,00	0,00	0,00	0,19	0,11
CLop27	0,09	0,07	0,00	0,00	0,24
CLop23p1	0,00	0,16	0,00	0,04	0,34
CLop23p2	0,00	0,01	0,00	0,16	0,23
Quix5	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00
Jen6	0,00	0,33	0,00	0,00	0,33
Jen1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,32
Jen6c1	0,00	0,33	0,00	0,00	0,00
Jen15	0,00	0,00	0,05	0,06	0,24
JDuaWild1	0,00	0,00	0,00	0,11	0,27
JDuaWild2	0,00	0,08	0,00	0,00	0,30

JDuaWild3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,29
JDuaWild4	0,00	0,06	0,00	0,19	0,33
CLopWild	0,00	0,00	0,00	0,00	0,38
JDuaWild5	0,20	0,00	0,00	0,22	0,22
LatR25	0,07	0,07	0,22	0,05	0,39
LatR70	0,00	0,07	0,00	0,10	0,33
CLopR26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,26
QuixR27	0,13	0,07	0,00	0,14	0,32
CLopR69	0,05	0,20	0,00	0,19	0,26
<b>Média</b>	<b>0,02</b>	<b>0,08</b>	<b>0,01</b>	<b>0,09</b>	<b>0,24</b>

\*:  $p \leq 0.05$ .

O número médio de alelos observados por loci variou de 1,89 (Tb860) a 5,13 (Tb7180), com média de 3,19. A amostra 1 de João Duarte Silvestre (JDuaWild1) foi a que apresentou maior média número de alelos (NA=4,20) e riqueza alélica (RA=3,28), enquanto a UD 10c1 de Latada (Lat18c1) foi a que apresentou menor média de número de alelos (NA=2,00) e riqueza alélica (RA=1,78). O número de alelos (NA) e riqueza alélica (RA) estão demonstrados na **Tabela 6**.

**Tabela 6** - Número de alelos e riqueza alélica por locus de *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará.

	Tb728		Tb830		Tb860		Tb7180		Tb8124		Média	
	NA	RA	NA	RA	NA	RA	NA	RA	NA	RA	NA	RA
<b>Lat18c1</b>	2	1,81	1	1,00	2	1,98	3	2,15	2	1,98	<b>2,00</b>	<b>1,78</b>
Lat23	2	1,90	3	2,76	1	1,00	5	3,35	2	1,65	2,60	2,13
Lat3c1	2	1,97	3	2,39	2	1,65	5	3,98	5	3,76	3,40	2,75
Lat11	4	3,50	3	2,40	2	1,40	4	3,16	5	4,06	3,60	2,90
Lat13	3	2,05	4	3,05	2	1,90	5	3,58	4	3,00	3,60	2,72
Lat14c1	4	3,38	3	2,64	2	1,93	5	4,04	5	3,93	3,80	3,19
CLop17	3	2,41	3	2,82	2	1,99	4	3,50	4	3,24	3,20	2,79
CLop33c1p1	2	1,95	2	1,90	2	1,99	5	3,92	2	1,65	2,60	2,28
CLop33c1p2	4	2,71	3	2,60	2	1,81	6	4,16	4	2,96	3,80	2,85
CLop15c2	3	2,85	2	1,90	2	1,40	6	4,00	2	1,90	3,00	2,41
CLop27	3	2,80	4	2,95	2	1,95	6	4,45	4	3,03	3,80	3,04
CLop23p1	2	1,77	4	3,36	2	1,77	6	4,43	3	2,64	3,40	2,79
CLop23p2	2	1,40	4	3,52	1	1,00	6	3,80	4	3,20	3,40	2,59
Quix5	2	2,00	3	3,00	1	1,00	3	3,00	5	4,56	2,80	2,71
Jen6	2	1,99	2	2,00	2	2,00	3	2,14	3	2,67	2,40	2,16
Jen1	2	1,98	3	2,65	2	2,00	5	4,24	2	2,00	2,80	2,57
Jen6c1	2	2,00	2	2,00	2	2,00	4	3,78	1	1,00	2,20	2,16
Jen15	3	2,44	3	2,68	2	1,97	6	4,02	3	2,42	3,40	2,71
<b>JDuaWild1</b>	4	3,70	3	2,91	3	2,23	6	4,14	5	3,44	<b>4,20</b>	<b>3,28</b>
JDuaWild2	4	3,40	2	2,00	1	1,00	7	5,16	3	2,86	3,40	2,89
JDuaWild3	4	3,58	2	2,00	2	2,00	5	4,56	2	2,00	3,00	2,83

JDuaWild4	3	2,91	2	2,00	3	2,33	5	4,56	4	3,87	3,40	3,13	
CLopWild	3	2,41	2	1,95	2	2,00	5	3,81	3	2,83	3,00	2,60	
JDuaWild5	4	3,49	3	2,44	2	1,57	7	5,17	3	2,70	3,80	3,08	
LatR25	3	2,38	3	2,85	2	1,77	6	4,41	3	2,92	3,40	2,86	
LatR70	3	2,21	3	2,40	2	1,99	5	3,90	2	2,00	3,00	2,50	
CLopR26	2	1,90	2	1,85	2	1,91	4	3,05	4	2,86	2,80	2,31	
QuixR27	3	2,21	2	2,00	2	1,95	6	4,37	4	3,04	3,40	2,71	
CLopR69	3	2,55	3	2,55	1	1,00	6	4,86	4	3,20	3,40	2,83	
Média		2,86	2,47	2,72	2,43	<b>1,89</b>	1,74	<b>5,13</b>	3,92	3,34	2,81	<b>3,19</b>	2,67

Amostras (nome da localidade, identificação da unidade domiciliar; **R**; REMOT; **Wild**: de ecótopo silvestre): **Lat**- Latadas; **CLop**- Cipriano Lopes; **Quix**- Quixabinha; **Jen** - Jenipapeiro; **JDua**- João Duarte

O loci que apresentou a menor média de homozigosidade observada foi o Tb8124 (0,16), e a maior foi Tb7180 (0,56). Quanto a média heterozigosidade esperada, Tb860 teve a menor média (0,31) e Tb8124 a maior (0,65) respectivamente. Os loci Tb728 e Tb860 estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW). Quanto às populações, a maioria apresenta desequilíbrio de HW devidos ao excesso de homozigotos (valores de  $p \leq 0,05$  para o teste de déficit de heterozigotos). Estes resultados, HO e HE para cada loci e o HW para as amostras estão descritos na **Tabela 7**.

**Tabela 7** - Valores de heterozigosidade observada (HO) e esperada (HE), e equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW) para cada locus em amostras de *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará.

		<b>Tb728</b>	<b>Tb830</b>	<b>Tb860</b>	<b>Tb7180</b>	<b>Tb8124</b>	<b>HW</b>
Lat18c1	HO	0,30	0,40	0,00	0,11	0,00*	não
	HE	0,27	0,44	0,00	0,31	0,44*	
Lat23	HO	0,40	0,30*	0,00	0,70	0,00*	não
	HE	0,34	0,58*	0,00	0,62	0,19*	
Lat3c1	HO	0,33	0,80	0,20	0,60	0,30*	não
	HE	0,42	0,54	0,19	0,78	0,71*	
Lat11	HO	0,70	0,70	0,10	0,60	0,70*	sim
	HE	0,72	0,57	0,10	0,64	0,79*	
Lat13	HO	0,30	0,40*	0,40	0,20*	0,10*	não
	HE	0,28	0,66*	0,34	0,72*	0,59*	
Lat14c1	HO	0,67	0,44	0,22	0,44*	0,33*	não
	HE	0,73	0,52	0,37	0,79*	0,75*	
CLop17	HO	0,43	0,71	0,57	0,14*	0,43	não
	HE	0,38	0,62	0,44	0,74*	0,58	
CLop33c1p1	HO	0,50	0,00*	0,70	0,50*	0,00*	não
	HE	0,39	0,34*	0,48	0,77*	0,19*	
CLop33c1p2	HO	0,40	0,10*	0,30	0,70	0,20*	não
	HE	0,44	0,53*	0,27	0,76	0,51*	
CLop15c2	HO	0,80	0,40	0,10	0,40	0,20	não
	HE	0,63	0,34	0,10	0,72	0,34	



CLop27	HO	0,50	0,40	0,50	1,00	0,20*	sim
	HE	0,64	0,55	0,39	0,81	0,63*	
CLop23p1	HO	0,25	0,38*	0,25	0,63	0,00*	não
	HE	0,23	0,69*	0,23	0,78	0,52*	
CLop23p2	HO	0,10	0,70	0,00	0,40*	0,20*	não
	HE	0,10	0,74	0,00	0,71*	0,61*	
Quix5	HO	0,25	0,50	0,00	1,00	0,80	sim
	HE	0,25	0,68	0,00	0,71	0,82	
Jen6	HO	0,57	0,00*	0,57	0,14	0,00*	não
	HE	0,44	0,53*	0,53	0,27	0,48*	
Jen1	HO	0,50	0,67	1,00	0,83	0,00*	sim
	HE	0,41	0,53	0,55	0,80	0,48*	
Jen6c1	HO	0,60	0,00*	0,60	0,80	0,00	sim
	HE	0,56	0,53*	0,47	0,78	0,00	
Jen15	HO	0,67	0,56	0,33	0,56	0,11*	não
	HE	0,58	0,57	0,42	0,76	0,50*	
JDuaWild1	HO	0,73	0,64*	0,45	0,55	0,18*	não
	HE	0,77	0,68*	0,39	0,77	0,63*	
JDuaWild2	HO	1,00	0,38	0,00	0,88*	0,13*	sim
	HE	0,71	0,53	0,00	0,88*	0,63*	
JDuaWild3	HO	0,60	0,75	0,25	0,60	0,00	sim
	HE	0,64	0,54	0,25	0,82	0,43	
JDuaWild4	HO	0,67	0,40	0,33	0,40*	0,17*	não
	HE	0,67	0,53	0,32	0,82*	0,80*	
CLopWild	HO	0,43	0,43	0,71	0,71	0,00*	sim
	HE	0,38	0,36	0,49	0,67	0,66*	
JDuaWild5	HO	0,33*	0,56	0,14	0,44*	0,22*	não
	HE	0,70*	0,57	0,14	0,87*	0,63*	
LatR25	HO	0,33	0,56	0,00	0,67	0,00*	não
	HE	0,45	0,66	0,23	0,81	0,68*	
LatR70	HO	0,40	0,40	0,50	0,60	0,00*	não
	HE	0,35	0,56	0,48	0,76	0,53*	
CLopR26	HO	0,40	0,33	0,33	1,00*	0,10*	sim
	HE	0,34	0,29	0,30	0,66*	0,50*	
QuixR27	HO	0,20	0,40	0,50	0,50*	0,10*	não
	HE	0,35	0,53	0,39	0,81*	0,65*	
CLopR69	HO	0,40	0,20*	0,00	0,50*	0,20*	não
	HE	0,48	0,48*	0,00	0,86*	0,61*	
Média	HO	0,47	0,41*	0,32	<b>0,56*</b>	<b>0,16*</b>	
	HE	0,51	0,61*	<b>0,31</b>	0,81*	<b>0,65*</b>	

\*:  $p \leq 0.05$ .

Amostras (nome da localidade, identificação da unidade domiciliar, **R**; de Remot; **Wild**: de ecótopo silvestre): **Lat**- Latadas; **CLop**- Cipriano Lopes; **Quix**- Quixabinha; **Jen** - Jenipapeiro; **JDua**- João Duarte

A análise de variância molecular (AMOVA) demonstrou que 67,2% da variabilidade genética está entre todos os indivíduos analisados, 22,6% entre indivíduos de uma mesma amostra e 10,2% entre as amostras. Os índices de fixação  $F_{st}$ ,  $F_{is}$  e  $F_{it}$  apresentaram  $P$  valor  $\leq 0,05$  significativo (**tabela 8**).

**Tabela 8** - Análise de variância molecular (AMOVA) e índice de fixação para *Triatoma brasiliensis* do município de Jaguaruana, Ceará.

Fonte de variação	Componentes de variação	Porcentagem de variação	Índice de fixação
Entre as populações	0,14 (Va)	10,24	0,10* ( $F_{st}$ )
Entre indivíduos dentro das populações	0,31 (Vb)	22,57	0,25* ( $F_{is}$ )
Entre indivíduos	0,94 (Vc)	67,19	0,33* ( $F_{it}$ )

\*:  $p \leq 0,05$ .

O coeficiente de endocruzamento ( $F_{is}$ ) variou de -0,09 (Jenipapeiro UD 1 e Cipriano Lopes UD 26 proveniente do Remot a 0,48 (Cipriano Lopes R69). Valores de  $F_{is}$  positivos foram observados nas seguintes amostras: Latadas UDs 23, 2c1, 11; Cipriano Lopes UDs 17, 33c1, 15c2, e ecótopo silvestre (ClopWild); Jenipapeiro UD 6c1; João Duarte ecótopos silvestres (JDuaWild2 e JDuaWild3). As amostras Quixabinha UD 5, Cipriano Lopes 26 proveniente do REMOT e Jenipapeiro UDs 1, apresentaram valores de  $F_{is}$  negativos. O índice de diferenciação populacional ( $F_{st}$  par a par) variou de 0 a 0,44. As comparações que apresentaram o menor valor foram: Cipriano Lopes silvestre (ClopWild) com Latadas UD 14c1; os ambientes silvestres 2 e 5 de João Duarte; Quixabinha UD27 proveniente do Remot com João Duarte ecótopo silvestre (JDuaWild4); Latadas UD25 e UD70 proveniente do Remot. As amostras mais diferenciadas foram Jenipapeiro UD 6c1 e Latadas UD 18c1. Os índices  $F_{st}$  negativos foram considerados como indicativo de ausência de diferenciação genética, mas seria necessário um número maior de indivíduos para confirmar. O teste de Mantel não indicou correlação entre a diferenciação genética e distância geográfica, que estão apresentadas também na **tabela 9**.

**Tabela 9** - Distância geográfica entre as localidades de amostragem em quilômetros (acima da diagonal), valores de par a par Fst (abaixo da diagonal) e, valores de Fis (na diagonal) de *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará.

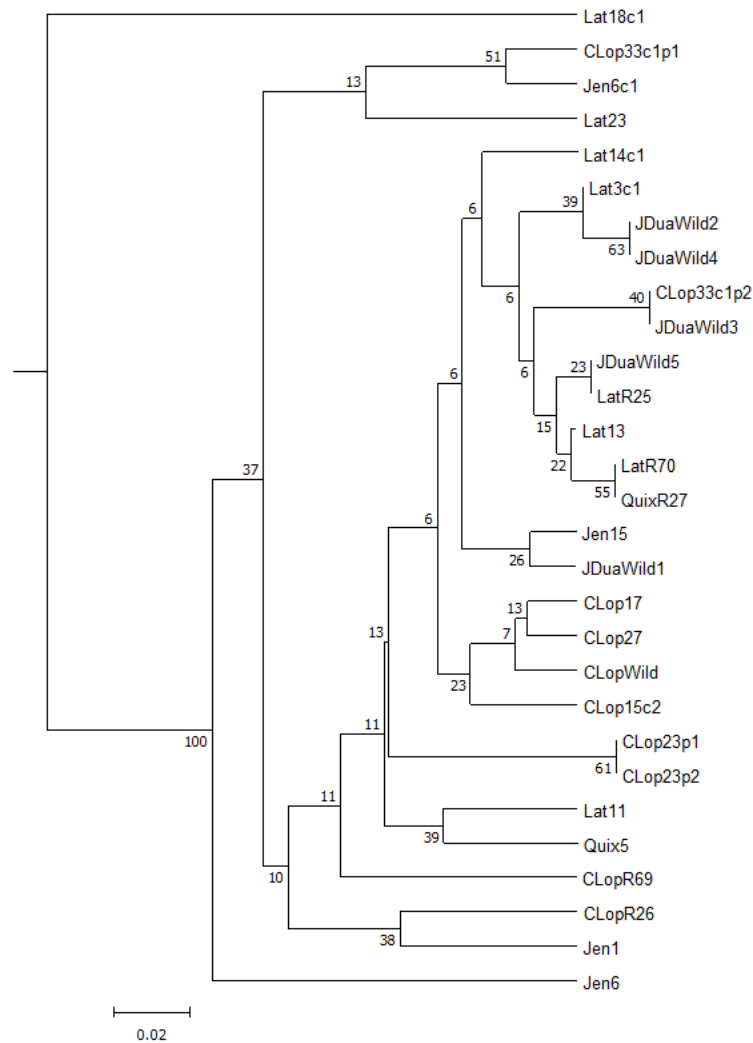
Amostras	Lat18c1	Lat23	Lat3c1	Lat11	Lat13	Lat14c1	CLop17	CLop33c1p1	CLop33c1p2	CLop15c2	CLop27	CLop23p1	CLop23p2	Quix5	Jen6	Jen1	Jen6c1	Jen15	JDuaWild1	JDuaWild2	JDuaWild3	JDuaWild4	CLopWild	JDuaWild5	LatR25	LatR70	CLopR26	QuixR27	CLopR69
Lat18c1	0,44*	0,43	6,37	0,25	0,17	0,18	1,90	0,56	0,56	1,90	0,74	1,07	1,05	10,35	6,80	7,34	6,80	6,68	2,27	2,29	2,25	2,23	1,95	2,09	1,14	2,37	10,52	2,37	1,14
Lat23	0,45*	0,20	5,95	0,68	0,59	0,58	2,02	0,77	0,77	2,18	0,85	1,11	1,10	10,79	7,19	7,70	7,19	7,08	2,70	2,72	2,69	2,66	2,07	2,52	1,55	2,65	10,95	2,65	1,55
Lat3c1	0,31*	0,14*	0,15	6,60	6,54	6,47	7,38	6,63	6,62	7,90	6,58	6,62	6,63	16,57	13,10	13,53	13,10	13,00	8,52	8,53	8,49	8,45	7,42	8,33	7,50	8,36	16,75	8,36	7,50
Lat11	0,26*	0,19*	0,08*	0,01	0,15	0,15	1,90	0,60	0,60	1,81	0,82	1,15	1,14	10,10	6,59	7,15	6,59	6,47	2,02	2,04	2,00	1,98	1,95	1,83	0,92	2,26	10,27	2,26	0,92
Lat13	0,21*	0,15*	0,03	0,07*	0,47*	0,20	1,80	0,47	0,47	1,75	0,68	1,02	1,00	10,20	6,62	7,16	6,62	6,51	2,12	2,15	2,11	2,10	1,85	1,94	0,97	2,22	10,36	2,22	0,97
Lat14c1	0,24*	0,19*	0,06	0,06*	0,09	0,35*	2,00	0,67	0,67	1,94	0,87	1,21	1,19	10,22	6,73	7,29	6,73	6,61	2,12	2,14	2,11	2,08	2,05	1,94	1,07	2,39	10,38	2,39	1,07
CLop17	0,25*	0,17*	0,09*	0,06	0,02	0,08*	0,18	1,34	1,34	0,78	1,18	0,92	0,93	10,21	5,87	6,19	5,87	5,82	2,86	2,91	2,88	2,91	0,05	2,75	1,64	1,08	10,34	1,08	1,64
CLop33c1p1	0,30*	0,10*	0,17*	0,17*	0,09*	0,14*	0,05	0,23	0,00	1,41	0,23	0,56	0,54	10,27	6,48	6,96	6,48	6,38	2,30	2,33	2,29	2,29	1,39	2,13	0,98	1,89	10,43	1,89	0,98
CLop33c1p2	0,31*	0,02	0,04	0,10*	0,05	0,06	0,06	0,05	0,33*	1,41	0,22	0,55	0,54	10,27	6,48	6,96	6,48	6,38	2,30	2,33	2,30	2,29	1,39	2,13	0,98	1,89	10,43	1,89	0,98
CLop15c2	0,29*	0,16*	0,13*	0,08*	0,07	0,09*	0,04	0,09*	0,09*	0,11	1,37	1,28	1,28	9,44	5,23	5,63	5,23	5,16	2,19	2,24	2,21	2,25	0,79	2,11	1,19	0,48	9,57	0,48	1,19
CLop27	0,19*	0,14*	0,08*	0,08*	0,05	0,03	0,03	0,08*	0,06	0,04	0,15*	0,34	0,32	10,41	6,53	6,98	6,53	6,43	2,48	2,52	2,48	2,48	1,24	2,32	1,14	1,85	10,56	1,85	1,14
CLop23p1	0,33*	0,16*	0,09*	0,12*	0,03	0,14*	0,04	0,12*	0,10*	0,14*	0,08*	0,36	0,02	10,53	6,50	6,91	6,50	6,42	2,71	2,75	2,71	2,72	0,97	2,56	1,35	1,74	10,67	1,74	1,35
CLop23p2	0,32*	0,18*	0,08*	0,10*	0,02	0,17*	0,05	0,17*	0,12*	0,13*	0,11*	-0,02	0,36*	10,51	6,50	6,91	6,50	6,41	2,69	2,73	2,69	2,70	0,98	2,54	1,34	1,74	10,66	1,74	1,34
Quix5	0,28*	0,27*	0,07	0,04	0,07	0,12*	0,09	0,24*	0,13*	0,19*	0,09*	0,13*	0,08	-0,22	5,28	5,91	5,28	5,15	8,10	8,08	8,12	8,15	10,21	8,28	9,30	9,16	0,26	9,16	9,30
Jen6	0,27*	0,31*	0,23*	0,19*	0,12*	0,15*	0,08	0,10	0,21*	0,18*	0,12*	0,12	0,18*	0,25*	0,45*	1,01	0,00	0,25	5,04	5,06	5,08	5,15	5,85	5,19	5,67	4,81	5,30	4,81	5,67
Jen1	0,30*	0,33*	0,11*	0,19*	0,08	0,16*	0,15*	0,24*	0,18*	0,26*	0,14*	0,16*	0,17*	0,14*	0,24*	-0,09	1,02	1,26	5,78	5,80	5,82	5,89	6,16	5,91	6,23	5,18	5,89	5,18	6,23
Jen6c1	0,44*	0,13*	0,19*	0,17*	0,13*	0,15*	0,12*	0,04	0,11	0,14*	0,12*	0,09	0,17*	0,28*	0,12	0,24*	0,16	0,24	5,04	5,06	5,08	5,15	5,85	5,19	5,67	4,81	5,30	4,81	5,67
Jen15	0,33*	0,19*	0,03	0,09*	0,02	0,09*	0,08*	0,14*	0,09*	0,12*	0,08*	0,09*	0,10*	0,12*	0,18*	0,04	0,09	0,23*	4,87	4,89	4,92	4,98	5,80	5,03	5,55	4,75	5,18	4,75	5,55
JDuaWild1	0,31*	0,18*	0,08*	0,06*	0,09*	0,04	0,10*	0,15*	0,11*	0,11*	0,09*	0,06	0,11*	0,11*	0,15*	0,13*	0,06	0,02	0,22*	0,05	0,05	0,12	2,89	0,19	1,35	2,31	8,27	2,31	1,35
JDuaWild2	0,34*	0,18*	0,00	0,08*	0,08	0,03	0,09*	0,20*	0,08*	0,10*	0,05	0,12*	0,12*	0,12*	0,27*	0,15*	0,21*	0,06	0,05	0,13	0,04	0,09	2,94	0,21	1,39	2,36	8,25	2,36	1,39
JDuaWild3	0,29*	0,10*	-0,05	0,05	-0,02	-0,03	0,02	0,07	-0,05	0,05	-0,02	0,07	0,08	0,10	0,17*	0,08	0,11	-0,01	0,03	-0,03	0,11	0,07	2,91	0,17	1,36	2,35	8,29	2,35	1,36
JDuaWild4	0,28*	0,24*	-0,02	0,06	0,04	0,00	0,10*	0,23*	0,10*	0,15*	0,06	0,12*	0,11*	0,08	0,24*	0,08	0,24*	0,06	0,05	-0,03	-0,02	0,35*	2,94	0,16	1,37	2,40	8,32	2,40	1,37
CLopWild	0,06	0,20*	0,10*	0,10*	0,01	0,08*	0,04	0,07	0,09*	0,09*	0,03	0,11*	0,12*	0,09*	0,07	0,11*	0,18*	0,10*	0,13*	0,14*	0,04	0,09	0,12	2,78	1,68	1,07	10,33	1,07	1,68
JDuaWild5	0,20*	0,16*	0,01	0,05	0,01	0,01	0,07	0,12*	0,04	0,07	0,02	0,09	0,10*	0,06	0,18*	0,05	0,14*	0,01	0,04	0,00	-0,05	-0,02	0,03	0,43*	1,20	2,27	8,46	2,27	1,20
LatR25	0,20*	0,10*	0,01	0,04	-0,0*	0,07	0,04	0,08	0,03	0,09*	0,04	0,02	0,04	0,03	0,15*	0,07	0,10	0,02	0,04	0,04	-0,02	0,02	0,02	-0,01	0,46*	1,55	9,46	1,55	0,00
LatR70	0,20*	0,17*	0,03	0,13*	0,01	0,09*	0,07	0,09*	0,04	0,14*	0,05	0,10*	0,11*	0,10	0,16*	0,02	0,15*	0,02	0,12*	0,09*	-0,04	0,05	0,02	0,00	0,00	0,30*	9,28	0,00	1,55
CLopR26	0,31*	0,35*	0,12*	0,16*	0,14*	0,24*	0,22*	0,32*	0,22*	0,32*	0,19*	0,21*	0,18*	0,12*	0,33*	0,06*	0,35*	0,13*	0,18*	*0,20*	0,20*	0,13*	0,15*	0,12*	0,07	0,09*	-0,09	9,28	9,46
QuixR27	0,17*	0,22*	0,02	0,09*	0,00	0,08	0,04	0,15*	0,08*	0,13*	0,05	0,08	0,06	0,04	0,17*	0,02	0,21*	0,04	0,11*	0,06	-0,02	0,00	0,02	0,00	0,00	-0,02	0,07	0,39*	1,55
CLopR69	0,22*	0,17*	0,11*	0,10*	0,12*	0,11*	0,14*	0,17*	0,11*	0,13*	0,11*	0,16*	0,17*	0,13*	0,27*	0,25*	0,22*	0,18*	0,15*	0,12*	0,09	0,10	0,12*	0,08	0,05	0,15*	0,25*	0,13*	0,48*

\*:  $p \leq 0,05$ .

Significativo sem fluxo gênico

As relações entre as populações podem ser mais bem observadas no dendograma (**figura 12**). As populações de João Duarte silvestre (JDuaWild2 e JDuaWild4) forma um agrupamento, as demais populações da mesma localidade não se agrupou com as duas primeiras. Também ocorre semelhança gênica entre as populações de Cipriano Lopes (CLop33cp2) e João Duarte silvestre (JDuaWild3); João Duarte (JDuaWild5) e Latadas (LaR25); Latadas (LatR70) e Quixabinha (QuixR27); Jenipapeiro (Jen15) e João Duarte (JDuaWild1). As populações de Jenipapeiro (Jen6) e Latadas (Lat18c1) apresentaram-se como as mais diferenciadas.

**Figura 12** - Dendograma com  $F_{st}$  pareado de *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará.



O teste da primeira geração de migrantes detectou 19 indivíduos que estão demonstrados no **quadro 4**. Quixabinha UD 5 foi a única amostra de origem que teve dois indivíduos reclassificados. Amostras provenientes de Latadas UD 18c1, Jenipapeiro UD 15 e João Duarte ecótopo silvestre 3 (JDuaWild3) receberam dois indivíduos; Latadas UD 70 proveniente de REMOT receberam três indivíduos (quadro 4).

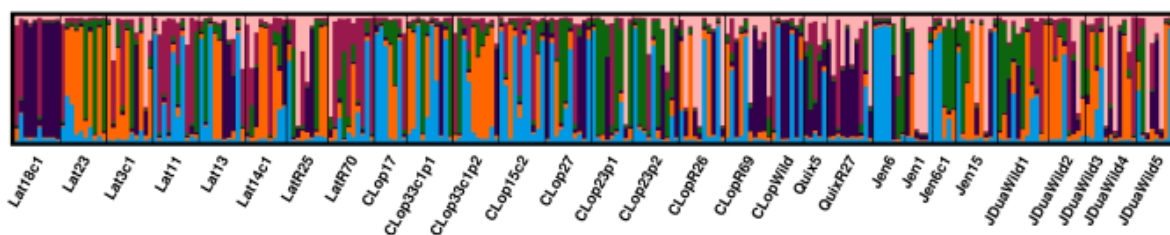
**Quadro 4** - Teste de primeira geração de migrantes para *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará.

Amostra	Lat 18c1	Lat 3c1	Lat 14c1	Clop 17	Clop 33c1p2	Clop 15c2	Clop 23p1	Clop 23p2	Jen 6c1	Jen 15	JDua Wild3	JDua Wild4	Lat R70	CLop R69	P value
Lat18c1												X			0,00
Lat23	X														0,00
Lat3c1							X								0,01
CLop33 c1p1	X														0,00
CLop33 c1p2									X						0,00
CLop15 e2											X				0,00
CLop23 p1														X	0,00
Quix5					X								X		0,01
Jen6								X							0,00
Jen15													X		0,01
DuaWild1											X				0,00
CLopWild		X													0,01
JDuaWild5			X												0,00
LatR25													X		0,01
LatR70						X									0,00
CLopR26										X					0,01
QuixR27				X											0,01
CLopR69										X					0,00

\*Primeira coluna representa a identificação da amostra de origem, a primeira linha representa a amostra de destino.

A análise de estrutura genética indicou seis clusters com bastante diversidade em 18 das 20 possibilidades geradas, as amostras que se apresentaram mais homogêneas foram as provenientes de Latadas UD 18c1 e UD 23, entretanto, uma não se assemelha a outra (**figura 13**).

**Figura 13** - Gráfico de barras representando a diversidade genética ( $K=6$ ) para o *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará.



Cada barra representa um indivíduo e cada uma das cores um dos seis clusters.

O entendimento sobre os processos genéticos e fluxo gênico entre os ambientes pode apontar novos caminhos sobre o processo de infestação nas unidades domiciliares por triatomíneos autóctones, como por exemplo *T. brasiliensis*, espécie adaptada a ambientes naturais e antrópicos (BEZERRA *et al.*, 2020).

Os marcadores microssatélites têm se apresentado como uma boa ferramenta que possibilita investigar a dinâmica de populações de triatomíneos com o intuito de implementar novas estratégias de controle vetorial (Almeida, *et al.* (2016); Foley *et al.* (2013); Piccinali *et al.* (2018); Diotaiuti *et al.* (2000).

Em nosso estudo, o número de alelos por locus variou de dois a 14. Valores menores aos observados por outros autores estudando a mesma espécie na região do Nordeste (ALMEIDA *et al.* (2016); BEZERRA *et al.* (2020). Esta diferença ocorre provavelmente em consequência do menor número de triatomíneos nas amostras do presente estudo em relação aos estudos citados.

A população de *T. brasiliensis* de João Duarte, origem silvestre (JDuaWild1), apresentou o maior número médio de alelos (4,2). Este resultado corrobora com os achados de Bezerra e colaboradores (2020) que trabalhando populações de *T. brasiliensis* oriundos da localidade Cachoeira do Júlio, município de Tauá, os espécimes silvestres apresentaram um maior número médio de alelos (6,4). Almeida e colaboradores (2016) estudando populações de *T. brasiliensis* do município de Caicó, nordeste do Brasil, identificaram que as amostras de origem silvestres apresentaram os menores e maiores números médios de alelos quando comparadas com populações domiciliares e peridomiciliares, respectivamente.

A população de *T. brasiliensis* oriunda da localidade de Latadas (Lat18c1) apresentou o menor número médio de alelos e riqueza alélica e o maior valor de Fis (0,44), sugerindo déficit de heterozigidade. Isso deve-se provavelmente a ocorrência de

acasalamento entre indivíduos restritos a determinados ecótopos, causando a consanguinidade.

Na visita “in loco” em maio de 2023, observa-se que a UD (Lat18C1) possui vários anexos como galinheiros, pocilgas e aprisco (curral de ovinos/caprinos), ou seja, ambientes favoráveis com presença abundante de abrigos e fontes alimentares que podem favorecer o desenvolvimento de espécies de triatomíneos.

A maioria das amostras apresentaram desequilíbrio de Hardy-Weinberg como resultado de déficit de heterozigosidade. E pode ter sido causado por causa das infestações persistentes oriundas de espécimes que sobreviveram a borrifação e aumento da endogamia (HARTL; CLARK, 2010).

Na análise de variância molecular (AMOVA), aponta que as diferenças ocorrem principalmente entre os indivíduos e a variação entre os grupos é baixa, indicando semelhança genética. No entanto, o P valor para Fst foi significativo, indicando presença de subpopulações estruturadas. Resultado relevante para *T. brasiliensis*, pois estudos populacionais, incluindo fontes alimentares, variáveis microclimáticas e caracterização de *Trypanosoma cruzi*, sugerem um intenso trânsito dessa espécie entre os ambientes artificiais e silvestres, apontando para uma unidade panmítica com ocorrência de fluxo gênico (BOERGES et al. (2005); BEZERRA et al. (2018); BEZERRA et al. (2020); ALMEIDA et al. (2016); LIMA et al. (2012); LORENZO et al. (2000); OLIVEIRA-LIMA et al. (2000).

O dendograma representando Fst pareado mostra similaridade genética em populações encontradas em distintas localidades e ambientes, sugerindo infestações com origens diversas, diversidade também demonstrada no gráfico de barras, enfatizando a sensibilidade e utilidade dos marcadores microssatélites no estudo da dinâmica populacional de triatomíneos.

O teste de primeira geração de migrantes mostra que existe trânsito dos insetos entre os ambientes antrópicos e silvestres, demonstrando a capacidade de dispersão e invasão do *T. brasiliensis*.

A complexidade do controle vetorial de espécies como o *T. brasiliensis* no contexto do nordeste brasileiro é diretamente relacionado a ocupação e uso dos recursos naturais do semiárido por parte dos habitantes locais e irregularidade das ações de controle vetorial. Dessa forma, compreender o processo de domiciliação de espécies autóctones, bem como sua adaptação a ambientes antrópicos, considerando possíveis falhas operacionais relacionadas a identificação de colônias domiciliares e borrifação residual, poderemos contribuir com estratégias de prevenção e controle mais eficazes.

### 5.3 Estudo transversal populacional

Todas as unidades domiciliares (UDs) foram amostradas nas quatro localidades perfazendo um total de 144 UD's. Destas, 137 foram pesquisadas e sete estavam desabitadas no momento da entrevista.

Com relação a constituição das paredes das UD's, predominou alvenaria com reboco 68,4%, com uma variação de 50,0% na localidade de Jenipapeiro e 76,7% na localidade de Latadas. A constituição de alvenaria sem reboco vem em seguida 17,6% e uma variação de 9,3% a 33,3% nas localidades de Latadas e Jenipapeiro respectivamente. Fendas foram encontradas em 81,9% das UD's pesquisadas com maiores percentuais encontrados em Latadas (90,7%) e Jenipapeiros (88,9%). O piso predominou a constituição de cimento 79,5% com uma variação de 65,5% a 90,5% e o telhado 100% constituído por telha de barro. Os dados estão apresentados na **tabela 10**.

**Tabela 10** - Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação a constituição das paredes, fendas, tipo de piso e telhado das localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023 (N=137).

	Localidades									
	Latadas		Cip Lopes		Jenipapeiro		Quixabinha		Total	
Constituição das paredes	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Alvenaria com reboco	33	76,74	25	69,44	15	50,00	20	74,07	93	68,38
Alvenaria sem reboco	4	9,30	5	13,89	10	33,33	5	18,52	24	17,65
Barro com reboco	2	4,65	4	11,11	1	3,33	1	3,70	8	5,88
Barro sem reboco	2	4,65	0	0,00	2	6,67	1	3,70	5	3,68
Madeira	2	4,65	2	5,56	2	6,67	0	0,00	6	4,41
<b>Possui fendas</b>									<b>n</b>	<b>%</b>
Sim	39	90,70	28	77,78	24	88,89	18	66,67	109	81,95
Não	4	9,30	8	22,22	3	11,11	9	33,33	24	18,05
<b>Tipo de piso</b>									<b>n</b>	<b>%</b>
Cimento	38	90,48	31	86,11	19	65,52	17	68,00	105	79,55
Barro batido	2	4,76	2	5,56	4	13,79	4	16,00	12	9,09
Cerâmica	1	2,38	2	5,55	3	10,34	4	16,00	10	7,58
Outros	1	2,38	1	2,78	3	10,34	0	0,00	5	3,79
<b>Tipo de telhado</b>									<b>n</b>	<b>%</b>
Telha de barro	43	100,00	36	100,00	29	100,00	26	100,00	134	100,00
Metálico	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Palha	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Madeira	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Outros	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00

Fonte: Do autor, 2023.



A criação de animais domésticos é um hábito presente entre 50,7% (69/136) dos residentes das quatro localidades pesquisadas, esta atividade variou de 38,9% na localidade de Cipriano Lopes a 63,3% em Jenipapeiro. Em 18% das UD's não foi possível coletar este dado. Entre os animais de criação presentes nas UD's prevalece a criação do cão 26,4%, galinha 23,6% e gato 20,3% respectivamente. Os dados estão apresentados na **tabela 11**.

**Tabela 11** - Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação a criação de animais domésticos nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023.

	Localidades									
	Latadas		Cipriano Lopes		Jenipapeiro		Quixabinha		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Possui animais domésticos</b>										
Sim	22	50,00	14	38,89	19	63,33	14	53,85	69	50,74
Não	14	31,82	16	44,44	10	33,33	12	46,15	52	38,24
Não informado	8	18,18	6	16,67	1	3,33	0	0,00	15	11,03
<b>Espécies de animais presentes nas UD's</b>									<b>n</b>	<b>%</b>
Cão	11	18,97	10	20,83	14	32,56	13	39,39	48	26,36
Galinha	15	25,86	10	20,83	10	23,26	8	24,24	43	23,63
Gato	11	18,97	8	16,67	11	25,58	7	21,21	37	20,33
Suíno	10	17,24	7	14,58	2	4,65	0	0,00	19	10,44
Ovino/caprino	7	12,07	6	12,50	3	6,98	3	9,09	19	10,44
Bovino	3	5,17	3	6,25	2	4,65	2	6,06	10	5,49
Outros	1	1,72	4	8,33	1	2,33	0	0,00	6	3,30

Fonte: Do autor, 2023.

Em 39,7% das UD's pesquisadas nas localidades relatou uso de inseticidas de uso domésticos no intradomicílio. A localidade de Quixabinha (55,6%) e Latadas (37,2%) apresentaram os maiores percentuais respectivamente.

Com relação a aplicação de inseticidas no peridomicílio foi relatado em 48,2% das UD's. As localidades de Latadas (63,6%) e Jenipapeiro (50,0%) apresentaram os maiores percentuais conforme os dados da **tabela 12**.

Os produtos inseticidas relatados pela população local foram: Barrage<sup>®</sup>, Colosso<sup>®</sup>, Baygon<sup>®</sup>, Insenso Mosketen<sup>®</sup>, Lannate<sup>®</sup>, Rayd<sup>®</sup>.

**Tabela 12** - Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação ao uso de inseticidas domésticos pela população nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023.

	Localidades									
	Latadas		Cipriano Lopes		Jenipapeiro		Quixabinha		n	%
	n	%	n	%	n	%	n	%		
<b>Uso de inseticidas no intradomicílio</b>										
Sim	16	37,21	13	36,11	10	33,33	15	55,56	54	39,71
Não	22	51,16	17	47,22	19	66,33	9	33,33	67	49,26
Não informado	5	11,63	6	16,67	1	3,33	3	11,11	16	11,76
<b>Uso de inseticidas no peridomicílio</b>									n	%
Sim	28	63,64	12	33,33	15	50,00	11	40,74	66	48,18
Não	9	20,45	17	47,22	12	43,33	12	44,44	51	37,23
Não informado	7	15,91	7	19,44	2	6,67	4	14,81	20	14,60

Fonte: Do autor, 2023.

Nas UD's das quatro localidades estudadas apresentou nove anexos no peridomicílio, entre eles: galinheiros, monte de telha/tijolo, monte de lenha, pocilga, aprisco, depósitos de máquinas/ferragens/grãos presentes nas quatro localidades; poleiro presente em Latadas e Cipriano Lopes; curral presente em Latadas, Jenipapeiro e Quixabinha; anexo cerca presente em Latadas. Os anexos mais prevalentes foram galinheiro 21,9%, seguido de monte de telha/tijolo 18,2%, monte de lenha 15,2%, pocilga 11,9% e aprisco 10%. A idade média dos principais anexos foi semelhante entre as localidades (50% a 100% existem há mais de um ano). A distância média destes em relação aos domicílios variou de 1,8 metros a 32 metros. Os dados estão apresentados na **tabela 13**.

**Tabela 13** – Caracterização das unidades domiciliares (UDs) em relação aos anexos presentes nos peridomicílios das localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023.

	Localidades				n	Relativo (%)
	Latadas	Cipriano Lopes	Jenipapeiro	Quixabinha		
<b>Galinheiro</b>					59	21,93
Presença no peridomicílio (%)	20,21	25,42	24,59	18,18		
Média de distância da casa (m)	12,53	4,73	7,87	1,75		
Existe há mais de 1 ano (%)	89,47	100,00	83,33	90,00		
<b>Pocilga</b>					32	11,90
Presença no peridomicílio (%)	16,60	12,00	7,50	1,30		
Média de distância da casa (m)	32,50	40,11	17,50	20,00		
Existe há mais de 1 ano (%)	100,00	100,00	100,00	100,00		
<b>Aprisco</b>					27	10,04
Presença no peridomicílio (%)	11,3	12,9	2,5	5,3		
Média de distância da casa (m)	17,7	12,7	2,0	15,7		
Existe há mais de 1 ano (%)	100,0	100,0	50,0	100,0		
<b>Poleiro</b>					11	4,09
Presença no peridomicílio (%)	7,45	3,39	3,28	0,0		
Média de distância da casa (m)	21,70	7,50	4,00	0,0		
Existe há mais de 1 ano (%)	85,71	100,00	100,00	0,0		
<b>Curral</b>					3	1,12
Presença no peridomicílio (%)	1,06	0,0	1,64	1,82		
Média de distância da casa (m)	40,00	0,0	1,00	18,00		
Existe há mais de 1 ano (%)	100,0	0,0	100,0	100,0		
<b>Monte telha/tijolo</b>					49	18,22
Presença no peridomicílio (%)	13,70	7,20	18,40	32,70		
Média de distância da casa (m)	6,11	5,89	9,25	32,00		
Existe há mais de 1 ano (%)	69,23	50,00	78,57	61,11		
<b>Monte de lenha</b>					41	15,24
Presença no peridomicílio (%)	15,60	11,20	15,80	8,10		
Média de distância da casa (m)	11,31	10,57	9,25	32,00		
Existe há mais de 1 ano (%)	42,86	50,00	91,67	80,00		
<b>Depósitos de máquinas/grãos/ferragens</b>					18	6,69
Presença no peridomicílio (%)	6,20	7,40	3,70	3,90		
Média de distância da casa (m)	17,10	8,00	2,70	13,00		
Existe há mais de 1 ano (%)	87,50	100,00	100,00	100,00		
<b>Cerca</b>					1	0,37
Presença no peridomicílio (%)	1,06	0,0	0,0	0,0		
Média de distância da casa (m)	3,00	0,0	0,0	0,0		
Existe há mais de 1 ano (%)	100,0	0,0	0,0	0,0		
<b>Outros</b>					28	10,41
Presença no peridomicílio (%)	5,11	4,85	8,40	15,27		
Média de distância da casa (m)	5,00	6,00	5,40	12,00		
Existe há mais de 1 ano (%)	80,00	50,00	100,00	91,70		

Fonte: Do autor, 2023.

Em todas as localidades foram observados cultivos de grãos para subsistência, com um percentual 26,3% dos residentes praticarem a agricultura. As culturas mais frequentes nas quatro localidades foi milho (45,3%) e feijão (41,5%) respectivamente. Os residentes agricultores fazem uso de inseticidas nas suas plantações (94,5%). A frequência de uso de praguicida nas plantações depende do aparecimento de alguma praga, não havendo um período pré-determinado. As áreas de plantios apresentam pequenas extensões, com uma variação média de 0,92 (0,1-1 ha) em Latadas a 6,6 (0,1 – 40 ha) em Quixabinha. Não há acompanhamento técnico da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Ceará (EMATERCE). Os dados estão apresentados na **tabela 14**.

**Tabela 14** - Caracterização quanto a existência de plantações, tipo de cultura e uso de inseticidas nas plantações nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023.

	Localidades									
	Latadas		Cipriano Lopes		Jenipapeiro		Quixabinha		n	%
<b>Possui plantação</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Sim	11	25,00	11	30,56	7	23,33	7	25,93	36	26,28
Não	27	61,36	19	52,78	19	63,33	18	66,67	83	60,58
Não informado	6	13,64	6	16,67	4	13,33	2	7,14	18	13,14
<b>Culturas cultivadas</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Milho	8	57,14	10	45,45	5	50,00	1	14,29	24	45,28
Feijão	5	35,71	10	45,45	4	40,00	3	42,86	22	41,51
Arroz	0	0,00	0	0,00	0	0,00	1	14,29	1	1,89
Abóbora	1	7,14	1	4,55	0	0,00	0	0,00	2	3,77
Capim	0	0,00	1	4,55	0	0,00	1	14,29	2	3,77
Outros	0	0,00	0	0,00	1	10,00	1	14,29	2	3,77
<b>Usa inseticida nas plantações</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Sim	10	100,00	11	100,00	6	85,71	7	87,50	34	94,44
<b>Extensão da plantação</b>										
Média hectares (m)	0,92 (0,1 -1)		1,23 (0,5 – 1)		1,23 (,1 – 1)		6,6 (0,1 – 40)			
<b>Acompanhamento EMATERCE</b>	<b>%</b>		<b>%</b>		<b>%</b>		<b>%</b>			
Sim	0,00		0,00		0,00		0,00			
Não	100,00		100,00		100,00		100,00			

Fonte: Do autor, 2023.

Frequentar as matas próximas das residências é um hábito comum para 35,9% da população estudada nas quatro localidades, esta atividade é mais frequente entre os residentes das localidades de Cipriano Lopes (45,0%) e Jenipapeiro (42,8%) respectivamente. A coleta

de lenha nas matas foi a principal atividade relatada pelos moradores. Os dados estão apresentados na **tabela 15**.

**Tabela 15** - Caracterização dos residentes quanto a frequentar a mata, principal atividade na mata nas localidades estudadas no município de Jaguaruana, Ceará, 2023.

	Localidades									
	Latadas		Cipriano Lopes		Jenipapeiro		Quixabinha			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Frequentam as matas</b>										
Sim	12	37,50	9	45,00	9	42,86	2	12,50	32	35,96
Não	20	62,50	11	55,00	10	47,62	12	75,00	53	59,55
Não informado	0	0,00	0	0,00	2	9,52	2	12,50	4	4,49
<b>Principal atividade na mata</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Coleta de lenha	9	75,00	3	37,50	6	75,00	0	0,00	18	56,25
Coleta de palha	0	0,00	1	12,50	0	0,00	0	0,00	1	3,13
Coleta de frutos	0	0,00	1	12,50	0	0,00	1	25,00	2	6,25
Caça	0	0,00	0	0,00	1	12,50	1	25,00	2	6,25
Pesca	0	30,77	1	12,50	0	0,00	2	50,00	3	9,38
Outros	3	25,00	2	25,00	1	12,50	0	0,00	6	18,75

Fonte: Do autor, 2023.

Neste trabalho, procurou-se caracterizar o ambiente domiciliar no que diz respeito aos aspectos do intradomicílio como tipo de parede, piso, telhas, existências de frestas nas paredes, bem como a complexidade do peridomicílio e seus anexos. Informações relativas ao comportamento dos residentes também foram levantados como criação de animais domésticos e uso de inseticidas para controle de pragas domésticas e na agricultura. O objetivo desta caracterização das Unidades Domiciliares (UDs) das localidades estudadas e comportamentais dos residentes é uma tentativa de identificar possíveis aspectos que possam contribuir para a permanência do *T. brasiliensis* nos ambientes domiciliares.

Nas localidades estudadas os resultados apresentaram-se semelhantes, a maioria das residências as paredes são constituídas com paredes com reboco, piso de cimento, residências com presença de frestas nas paredes e telhado de barro.

Em todas as localidades verificou-se a criação de animais domésticos, principalmente, cães, gatos e galinhas. Os anexos presentes nas UD's são bem diversificados, os mais abundantes foram: galinheiros, pocilgas, apriscos, monte de telhas e lenha.

Segundo Sonoda (2009), a espécie *T. brasiliensis* apresenta comportamento eclético, podendo se adaptar a diferentes ecótopos, características que torna o seu controle um desafio.

Inicialmente, foi repassado pela equipe de Endemias do município de Jaguaruana, que somente as localidades de Latadas e Cipriano Lopes faziam uso de inseticidas para uso doméstico. No entanto, o resultado da pesquisa demonstrou uso de inseticidas nas UD's das quatro localidades, com um percentual geral de 39,7% no intradomicílio e 48,2% no peridomicílio. As localidades de Quixabinha (55,5%) e Latadas (60,6%) apresentaram os maiores percentuais respectivamente. Quanto à frequência, a população local não se utiliza de critérios técnicos para aplicação dos produtos. Assim, os praguicidas são utilizados sempre quando do aparecimento de formigas, cupins, aracnídeos e etc.

Os praguicidas relatados na pesquisa foram: os piretróides Rayd<sup>®</sup>; a combinação de piretróide e carbamatos – Barrage<sup>®</sup>, Colosso<sup>®</sup>, Baygon<sup>®</sup>; Metilcarbamato de oxima – Lannat<sup>®</sup> e o insenso Mosketen<sup>®</sup>. Apesar do uso de inseticidas do grupo dos piretróides pela população local no intradomicílio e peridomicílio, além do utilizado na rotina do Programa de Vigilância e Controle da Doença de Chagas, não influenciou na suscetibilidade das populações de *T. brasiliensis* nas áreas estudadas, haja vista que todas as populações testadas mostraram uma alta suscetibilidade ao piretróide deltametrina.

A prática da agricultura é comum entre 26% dos residentes que, normalmente, utilizam-se de pequenas extensões de terras disponíveis no peridomicílio. Uso de defensivos agrícolas foi relatado por 94,5% dos residentes que praticam agricultura familiar das localidades em estudo. Os agricultores locais não têm um acompanhamento técnico pela Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Ceará (EMATERCE). Dessa forma, as aplicações de defensivos químicos nas culturas locais, não seguem critérios técnicos.

Em todas as localidades uma parcela dos moradores frequenta as matas próximas (37,5%), cuja atividade principal é a coleta de lenha (56,2%). Esta prática pode contribuir para o fluxo de triatomíneos entre estes ecótopos.

Pessoa (2012) estudando populações de *T. sordida* na região do Triângulo Mineiro e Norte de Minas Gerais, realizou uma caracterização das residências e encontrou alguns aspectos semelhantes aos nossos achados: predominância de telhas de barro, piso de cimento, criação de animais domésticos, uso de inseticidas no peridomicílio e intradomicílio em algumas localidades, cultivos de grãos e hortaliças, áreas de plantio reduzidas (um a dois hectares), presença de diversos anexos no peridomicílio como chiqueiros, galinheiros, currais, monte de lenhas e tijolos e etc.

Bezerra e colaboradores (2020) relataram que os ecótopos mais importantes para *T. brasiliensis* foram telhas, tijolos e rochas, em um trabalho de intervenção no município de Tauá, Ceará. Outros autores apontaram que a proximidade dos ecótopos naturais e artificiais e

interações de animais sinantrópicos e humanos, favorecem a invasão e colonização por triatomíneos (COSTA *et al.*, 1998; DIOTAIUTI *et al.*, 1998; OLIVEIRA-LIMA, *et al.*, 2000; SARQUIS *et al.*, 2010).

Na pesquisa entomológica para triatomíneos realizado nas localidades estudadas pela equipe de Controle de Endemias do município de Jaguaruana, realizado em outubro de 2021, apontou que os ecótopos positivos mais prevalentes foram: chiqueiros, galinheiros e monte de telhas (dados não publicados).

De forma geral, o ambiente peridoméstico das localidades estudadas se apresentam de forma muito complexa, com abundância de ecótopos e oferta de alimentação sanguínea. Estes aspectos quando presentes podem favorecer a permanência ou estabelecimento de colônias de triatomíneos próximas as UDs.

#### **5.4. Estratégicas e recomendações para controle do vetor**

Diante de nossos resultados, sugerimos algumas ações que devem ser implementadas no Programa de Vigilância e Controle do Vetor da Doença no estado do Ceará:

- a) A Coordenação Estadual do Programa de Vigilância e Controle da Doença de Chagas:
- Que permaneça com o monitoramento de *T. brasiliensis* quanto a suscetibilidade aos inseticidas utilizados no controle químico do vetor. E que se possível, o monitoramento seja estendido para outras áreas, com a inclusão de outras espécies de triatomíneos de importância epidemiológica em nossa Região.
  - Sugerimos ações de Educação Continuada para os Agentes de Combate as Endemias que atuam no controle do vetor nos municípios, bem como treinamento em serviço para corrigir/ou aprimorar as técnicas preconizadas pelo Programa de Vigilância e Controle da Doença de Chagas, no que diz respeito as ações de controle do vetor.
  - Articular parcerias com instituições de ensino e pesquisa para possibilitar novos trabalhos voltados para descoberta de novas tecnologias de controle do vetor da DC. Haja vista que as ações de rotina da Vigilância de Controle da Doença de Chagas são imediatistas, pautadas nas estratégias já conhecidas.
- b) Aos Gestores Públicos de Saúde
- Promover ações de Educação em Saúde voltado para as populações das áreas de risco para transmissão da DC. Medidas simples como manter afastado do domicílio animais domésticos

e anexos como: galinheiros, chiqueiros, poleiros, monte de telhas, tijolos podem evitar/ou dificultar que o inseto vetor se aproxime das moradias e passem a formar colônias no ambiente domiciliar. E assim, evitar/ou dificultar o contato homem-vetor.

- Promover políticas públicas que garanta moradias adequadas para as populações das áreas de risco para DC. O *T. brasiliensis* é uma espécie que invade com facilidade ambientes naturais ou antrópicos próximos das moradias. Dessa forma, é possível planejar as moradias a fim de evitar ambientes que sejam favoráveis ao inseto vetor.

- Propiciar assistência técnica aos residentes das localizadas das áreas de risco da DC no que diz respeito a criação de animais domésticos, uso de inseticidas para fins domésticos e na agricultura familiar.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dos bioensaios para *T. brasiliensis* nos municípios cearenses realizados até a presente data, apontam para uma alta suscetibilidade ao inseticida do grupo dos piretróides (deltametrina), sem a necessidade de recomendar a substituição para outro produto com princípio ativo diferente. Todavia, a detecção da alteração de suscetibilidade em populações locais, mesmo que de forma incipiente, evidencia a necessidade de monitorar permanentemente as populações de *T. brasiliensis* quanto a este aspecto.

Importante o fortalecimento da “Rede de Monitoramento da Resistência de Triatomíneos aos Inseticidas- REMOT”, que no estado do Ceará que monitora a espécie de *T. brasiliensis*. Estas avaliações dentro de uma rotina de trabalho, é capaz de detectar de forma oportuna mudanças no perfil de suscetibilidade das populações autóctones, e assim, propor alternativas para evitar/ou minimizar o aparecimento de populações resistentes aos princípios ativos recomendados pelo Programa de Vigilância e Controle da Doença de Chagas.

A caracterização genética das espécies de importância epidemiológicas deve ser estimulada. Este processo através dos microssatélites tem ajudado a compreender a dinâmica populacional no que se refere aos processos de reinfestações, dispersão, isolamento das espécies e falhas operacionais. No estado do Ceará, trabalhos realizados com *T. brasiliensis*, tem demonstrado que a espécie não segue um padrão, pois, dependendo da região, podemos ter um grande ou pequeno fluxo gênico entre as espécies.

Com relação às características das Unidades Domiciliares (UDs), econômicas e comportamentais das populações rurais persistentes quanto a presença de triatomíneos de importância epidemiológica, ressalte-se a necessidade de novos indicadores de risco para DC que leve em consideração a complexidade do peridomicílio como presença dos vários anexos, criação de animais domésticos e hábitos da população. A criação de animais domésticos é um hábito praticado pela maioria das populações de áreas rurais, haja vista que esta atividade é uma fonte complementar de renda e proteínas para os residentes.

Ressalta-se também a necessidade de avaliação das ações de rotina de controle do vetor realizadas pelos Agentes de Controle do Endemias do município, no que tange aos aspectos técnicos e operacionais. Além disso, importante que os gestores locais promovam políticas públicas visando a Educação em Saúde sobre a problemática da DC e melhorias habitacionais nestas áreas.

## 7 CONCLUSÕES

A avaliação de suscetibilidade de *T. brasiliensis* a deltametrina detectou uma alta suscetibilidade a deltametrina nas populações estudadas.

Houve diferenças significativas na  $DL_{50}$  de *T. brasiliensis* das localidades de Cipriano Lopes (JaCiLP26), Latadas (JaLaP116) e Quixabinha (JaQuiP27) com a população de referência (TbREF).

Os resultados encontrados não indicam a substituição do inseticida atualmente utilizado no programa de controle da DC.

Foi possível detectar populações de *T. brasiliensis* com baixo fluxo gênico.

Foi possível detectar presença de populações subestruturadas.

A população de Latadas (18C1) apresentou-se como a mais diferenciada: menor número de alelos, riqueza alélica, Fis alto, subpopulação estruturada.

A análise de estrutura genética indicou seis clusters com bastante diversidade em 18 das 20 possibilidades geradas, as amostras que se apresentaram mais homogêneas foram as provenientes de Latadas UD 18c1 e UD 23.

A maioria das residências as paredes são constituídas com paredes com reboco, piso de cimento, residências com presença de frestas nas paredes e telhado de barro.

As Unidades Domiciliares (UDs) apresentam nos seus peridomicílios abundância de anexos como galinheiros, chiqueiros, apriscos, poleiros, monte de telhas, tijolos entre outros.

Criação de animais domésticos é uma prática comum na maioria dos moradores.

A população local faz uso de praguicidas nos ambientes domésticos e nas pequenas plantações ao entorno do peridomicílio.

A complexidade apresentada nos ambientes domiciliares (intradomicílio e peridomicílio) favorecem a permanência de triatomíneos nas proximidades das UD.

## REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, G.R *et al.* Susceptibility of sylvatic *Triatoma infestans* from Andean Valleys of Bolivia to deltamethrin and fipronil. **Journal of Medical Entomology** 48: 830-835, 2011.
- ALENCAR, J.E. Estudos sobre a Epidemiologia de Chagas no Ceará. III- Região do Baixo Jaguaribe. **Rev Bras Malariol Doenças Trop** 17 (2-3): 149-158, 1965.
- ALENCAR, J. E.; SHERLOCK, V. A. Triatomíneos capturados em domicílios no Estado do Ceará Brasil. **Boletim da Sociedade Cearense de Agronomia**, v. 3, n. 1, p. 49-54, 1962
- ALENCAR, J. E.; SHERLOCK, V.A. Triatomíneos Capturados em Domicílios no Estado do Ceará – **Brasil. Bol. Soc. Agron.**, Fortaleza, Ceará, 3:49-54, Junho, 1963.
- ALENCAR, J. E. História Natural da Doença de Chagas no Estado do Ceará. Fortaleza, **Imprensa Universitária da UFC**, 1987.
- ALEVI, K. C.C. *et al.* Trends in Taxonomy of Chagas Disease Vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): From linnaean to Integrative Taxonomy. **Pathogens**, v. 10, p. 1-120, 2021.
- ALMEIDA, C. E. *et al.* Molecular Individual-Based Approach on *Triatoma brasiliensis*: Inferences on Triatomine Foci, *Trypanosoma cruzi* Natural Infection Prevalence, Parasite Diversity and Feeding Sources. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 10, n. 2, p. e0004447, Feb 2016. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26891047>>.
- ANDERSON, J. M. *et al.* Identification and characterization of microsatellite markers in the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. **Infect Genet Evol.** 1: 243-8 p. 2002
- APPENSON, C.S; GEORGHIOU, G. P. Mechanisms of resistance to organophosphorus insecticides in *Culex tarsalis*. **J Econ Biochem** 68: 63-781, 1979.
- AUDINO, P.G *et al.* Role of enhanced detoxification in a deltamethrin-resistant population of *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 99: 335-339, 2004.
- BARBOSA, M.G *et al.* Chagas disease in the State of Amazonas: history, epidemiological evolution, risks of endemicity and future perspectives. **Rev Soc Bras Med Trop** 2015; 48(1): 27-33. DOI: 10.1590/0037-8682-0258-2013
- BARRETTO, M.P. Epidemiologia. In: Brener, Z, Andrade, Z. (Eds.), *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas, **Guanabara Koogan, Brasil**, 90-151 pp, 1979.
- BELISÁRIO, C.J *et al.* Profile of the *Trypanosoma cruzi* vector infestation in Jaboticatubas, State of Minas Gerais, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop** 46: 779-782, 2013.
- BELISÁRIO, C. J. *et al.* Markers for the population genetics studies of *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae). **Parasit Vectors**, v. 8, p. 269, 2015.

BELISÁRIO, C.J. *et al.* Genetic characterization of residual *Triatoma infestans* populations from Brazil by microsatellite. **Genetica** 145, 105–114, 2017.

BEZERRA, C.M. Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonized by *Triatoma brasiliensis*. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 109: 887-898, 2014.

BEZERRA, C. M. **Ecoepidemiologia de Triatomídeos após controle químico residual em Tauá (CE), semiárido do Ceará, nordeste do Brasil**. 2018. 230 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

BEZERRA *et al.* *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911: food sources and diversity of *Trypanosoma cruzi* in wild and artificial environments of the semiarid region of Ceará, northeastern Brazil. **Parasit Vectors**. 2018;11:642.

BEZERRA, C.M. Fast recovery of house infestation with *Triatoma brasiliensis* after residual insecticide spraying in a semiarid region of Northeastern Brazil. **PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES**, 2020.

BORGES, É. C *et al.* Dynamics between sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) in Ceará State, northeastern Brazil. **Acta Trop**. 2005;93:119–26.

BORGES-PEREIRA, J., *et al.* Epidemiologia da doença de Chagas em quatro localidades rurais de Jaguaruana, Estado do Ceará. Soroprevalência da infecção, parasitemia e aspectos clínicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 41(4):345-351, jul-ago, 2008.

BRASIL. Ministério a Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Grupo Técnico de Doença de Chagas. **Atualização das informações epidemiológicas da doença de Chagas**, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. – 5. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2021. 1.126 p. : il.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Boletim Epidemiológico** – Doença de Chagas. Número especial, 2021. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2021/boletim\\_especial\\_chagas\\_14abr21\\_b.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_chagas_14abr21_b.pdf) Acesso em 14fev. 2023.

BRASIL. **Manual de Normas Técnicas da Campanha de Controle da Doença de Chagas**, 1980.

BRASIL. Ministério da Saúde, FNS (Fundação Nacional da Saúde). **Relatório de atividades desenvolvidas pela FNS/CE no ano de 1995**. Fortaleza, 200p.1996.

BRASIL: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Grupo Técnico de Doença de Chagas. **Atualização das informações epidemiológicas da doença de Chagas, 2011a**. Consultado a partir de <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=31454](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31454)>. Acesso em 21/07/2011.

BRENIÈRE *et al.* Wild populations of *Triatoma infestans* are highly connected to intra-peridomestic conspecific populations in the Bolivian Andes. **PLoS One** 8, e80786, 2013.

BRENIERE, S. F.; WALECKX, E.; BARNABE, C. Over Six Thousand *Trypanosoma cruzi* Strains Classified into Discrete Typing Units (DTUs): Attempt at an Inventory. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 10, n. 8, p. e0004792, Aug 2016. ISSN 1935-2735 (Electronic) 1935-2727 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27571035>>.

BROGDON, W.G; MCALLISTER, J.C. Inseticide resistente and vector control. **Emerg Infect Diseases** 4: 605-613, 1998.

BROW, A. Q; PAUL, R. Insecticide resistance in arthropods. **World Health Organization, WHO**. Monogr Geneva Ser 38, 1971.

CAMARGO, M. E; SILVA, G. R; CASTILHO, E. A; SILVEIRA, A. C. Inquérito sorológico da prevalência da infecção chagásica no Brasil, 1975/1980. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. Vol. 26, 192-204, 1984.

CAPTRIOTTI, N; MOUGABURE-CUETO, G; RIVERA-POMAR, R; ONS, S. L925I mutation in the Para-type sodium channel is associated with pyrethroid resistance in *Triatoma infestans* from the Gran Chaco region. **PLoS Negl Trop Dis**, 8(1):e2659, 2014.

CARRASCO D., *et al.* Behavioural adaptations of mosquito vectors to insecticide control. **Curr Opin Insect Sci**. 2019; 34:48–54.

CARCAVALLO, R.U. Sinopsis epidemiológica de la enfermedad de Chagas. In: Carcavallo, RU, Rabinovich JE, Tonn, RJ. **Factores biológicos y ecológicos en la enfermedad de Chagas**: Tomo I – Epidemiología – Vectores. Chagas 2: 19-20, 1985.

CASABE, N; ZERBA, E. Esterases of *Triatoma infestans* and its relationship with the metabolism of organophosphorous insecticides. **Comp Biochem Physiol** 68: 255-258, 1981.

CAVALCANTI, L. P. DE G.; ROLIM, D. R.; NETO, R. DA J. P.; VILAR, D. C. L. F.; NOGUEIRA, J. O. L.; POMPEU, M. M. DE L.; TEIXEIRA, M. J.; DE SOUSA, A. Q. **Microepidemia de Doença de Chagas Aguda por transmissão oral no Ceará**. Caderno de Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, 17 (4):911-921, 2009.

CEARÁ. Secretaria de Saúde. Grupo Técnico da Doença de Chagas. Célula de Vigilância Epidemiológica. Coordenadoria de Vigilância Epidemiológica e Prevenção em Doenças. Doenças de Chagas. **Boletim epidemiológico**, jan-2021.

CHAMP, B.R; DYT, K. **FAO global survey of pesticide susceptibility of Stored Grain Pests**. FAO/UN, Rom, 1976.

CHAPUIS, M.P; ESTOUP, A. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. **Mol. Biol. Evol.** 2007;24:621–631.

COSTA, J *et al.* Ecotopes, natural infection and trophic resources of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 93: 7–13, 1998.

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. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 98(4): 443-449; Jun 2003.

COSTA, J. *et al.* Revalidation and redescription of *Triatoma brasiliensis* macromelasoma Galvao, 1956 and an identification key for the *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 6, p. 785-9, Sep 2013.

COSTA, J. *et al.* Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. **Parasites & Vectors**, 2014, 7:238

COSTA, J.; ARGOLO, A.M.; FELIX, M. Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, New Status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). **Zootaxa** 2006, 385, 47–52

COSTA, J. *et al.* Do the new triatomine specie pose new challenges or strategies for monitoring Chagas disease? Na overview from 1979-2021. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 116, 2021.

COURA, J.R; BARRET, T.V; ARBOLEDA-NARANJO, M. Ataque de populações humanas por triatomíneos silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão da infecção chagásica? **Rev Soc Bras Med Trop** 27: 251 – 253, 1994.

COURA, J. R. Chagas disease: what is known and what's needed – A background article. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. (102):113-122, 2007. Supplement.1

COURA, J.R, DIAS, J.C.P. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease – 100 years after its discovery. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 104: 31-40, 2009.

COURA, J.R, BORGES-PEREIRA, J. Chagas disease: 100 years after its discovery. A systemic review. **Acta Tropica**, 115: 5–13, 2010.

COURA, J.R *et al.* The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions: a comprehensive review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**; 110(3): 277-82, 2015.

DABIRÉ, K.R *et al.* Distribution of pyrethroid and DDT resistance and the L1014F kdr mutation in *Anopheles gambiae* s.l. from Burkina Faso (West Africa). **Trans R Soc Trop Med Hyg** 103:1113-1120; 2009.

Depickère, S *et al.* Susceptibility and resistance to deltamethrin of wild and domestic populations of *Triatoma infestans* (Reduviidae: Triatominae) in Bolivia: new discoveries. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 107(8): 1042-1047, December 2012.

DEVONSHIRE, A.L; MOORES, G.D. Characterization of the insecticide insensitive

acetilcholinesterase: microcomputer-based analysis of enzyme inhibition in homogenates of individual house-fly (*Musca domestica*) heads. **Pestic Biochem Physiol** 21:341-348, 1984.

DIAS, J.C. *et al.* Esboço geral e perspectivas da doença de Chagas no nordeste do Brasil. **Cad Saude Publica** 16 (Suppl 2): 13-34, 2000.

DIAS, J.C.P. O controle da doença de Chagas no Brasil. In: Silveira AC. O controle da Doença de Chagas nos países do Cone Sul da América: uma iniciativa internacional. **Organização Pan-Americana da Saúde/Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro**, 316pp, 2002.

DIAS, J.C.P. Doença de Chagas: sucessos e desafios. **Cad Saude Pública** 22: 2020-2021, 2006.

DIAS, J.C. *et al.* 2nd Brazilian Consensus on Chagas Disease, 2015. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 49 (Suppl 1), 3-60, 2016.

DIOTAIUTI, L.G. *et al.* Aspectos operacionais do controle do *Triatoma brasiliensis*. **Cad Saude Pública** 16 (sup. 2): 61-67, 2000.

DIOTAIUTI *et al.* Inter-relation of sylvatic and domestic transmission of *Trypanosoma cruzi* in areas with and without domestic vectorial transmission in Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 90: 443-448, 1995.

DIOTAIUTI, L.G. *et al.* Triatomíneos. In: Teixeira A. **Doença de Chagas e evolução**. Editora Universidade de Brasília, Brasília. 309 pp, 2007.

DIOTAIUTI, L. *et al.* **Triatomíneos**. Belo Horizonte: Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ, 2015. 296 ISBN 978-85-99016-29-9.

DONG, K; SCOTT, J.G. Linkage of KDr-type resistance and para-homologous sodium channel genes in German cockroaches (*Blattella germanica*). **Insect Biochem Mol Biol** 24: 647-654, 1994.

DNDi. Disease Chagas disease. Facts. 2022. **Notícias de interesse**. 2014. Disponível em: <https://dndi.org/diseases/chagas/>. Acesso em fevereiro de 2023.

ECHEVERRIA *et al.* Resistance to deltamethrin by domestic and wild *Triatoma infestans* populations in the municipality of Toro Toro, Potosi, Bolivia. **Parasites & Vectors**, 11:92, 2018.

DOI 10.1186/s13071-018-2663-5

EXCOFFIER, L; LAVAL, G; SCHNEIDER, S *et al.* Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary bioinformatics online** 1, 47-50, 2005.

EXCOFFIER, L; SMOUSE, P.E; QUATTRO J.M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics** 131, 479-491, 1992.

EXCOFFIER, L; LISCHER, H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Mol Ecol Resour.** 2010;10:564–7.

FABRO, J *et al.* Identification of a point of mutation associated with pyrethroid resistance in the para-type sodium channel of *Triatoma infestans*, a vector of Chagas disease. **Infection, Genetics and Evolution** 12:487-491, 2012.

FALUSH, D *et al.* Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. **Genetics.** 2003;164: 1567–87.

FERREIRA, M; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares **em análise genética**. 3ª. Brasília, DF: **EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 220, 1998.

FERREIRA, F. C; DIOTAIUTI, L. G; BELISÁRIO, C. J. Dynamics of *Panstrongylus megistus* infestation, the primary vector of *Trypanosoma cruzi* in Minas Gerais, Brazil. **Acta Tropica** 235 (2022) 106658

FITZPATRICK, S. *et al.* Molecular genetics reveal that silvatic *Rhodnius prolixus* do colonise rural houses. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 2, n. 4, p. e210, 2008.

FIOCRUZ: Fundação Oswaldo Cruz. **Triatomíneos**. Belo Horizonte, 2008b. 1CD-ROM.

FOLEY, E. A *et al.* Population structure of the Chagas disease vector, *Triatoma infestans*, at the urban-rural interface **Mol. Ecol.** 2013;22(20):5162–71.

FORATINNI, O. P. Biogeografia, origem e distribuição da domiciliação de triatomíneos no Brasil. **Rev Saúde Pública** 14: 265–299, 1980.

FORATINNI, O.P *et al.* Feeding habits, natural infection and distribution of domiciliary Triatomidae in the northeast region of Brazil. **Rev Saude Publica** 15 (2): 13-164, 1981.

FRONZA *et al.* Modelling the association between deltamethrin resistance in *Triatoma infestans* populations of the Argentinian Gran Chaco region with environmental factors. **Acta Tropica** 194, 53–61, 2019.

FOX, I; BAYONA, I. G; OROZCO, H.I. The toxicity of DDT, Dieldrin, Malathion, and Fenthion to *Rhodnius prolixus* in the laboratory. **Bull Wld Hlt Org** 35: 974-976, 1966.

GALVÃO, A. B. *Triatoma brasiliensis* macromelasoma n. subsp. (Hemiptera-Reduviidae, Triatominae). **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais.**, v. 7, p. 455-457, 1956.

GALVÃO, C. Vetores da doença de chagas no Brasil. **SciELO-Sociedade Brasileira de Zoologia**, 2014.

ISBN 8598203092.

GARCIA *et al.* Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the Chagas' disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Mol. Ecol. notes** 4, 568-571, 2004.



GARCIA *et al.* Historical Perspectives on the Epidemiology of Human Chagas Disease in Texas and Recommendations for Enhanced Understanding of Clinical Chagas Disease in the Southern United States. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9: e0003981, 2015.

GERMANO, M.D, *et al.* New findings of insecticide resistance in *Triatoma infestans* (Heteroptera: Reduviidae) from the Gran Chaco. *Journal of Medical Entomology* 47: 1077-1081, 2010.

GEORGHIOU, G.P. **Principles of insecticide resistance management.** *Phytoprotection* 75: 51- 59, 1994.

GORLA, D. Recovery of *Triatoma infestans* populations after insecticide application: an experimental field study. *Med Vet Entomol* 53: 311-324, 1991.

GOURBIERE, S; DORN, P; TRIPET, F; DUMONTEIL, E. Genetics and evolution of triatomines: from phylogeny to vector control. *Heredity* 108, 190–202, 2012.

GRANT, I.H, GOLD, J.W, WINTER, M. Transfusion associated acute Chagas disease acquired in the United States. *Ann Inter Med* 111: 849-851, 1987.

GURGEL-GONÇALVES, R. *et al.* Geographic distribution of chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. *J Trop Med*, v. 2012, 2012.

HARRY *et al.* Isolation and characterization of microsatellite markers in the bloodsucking bug *Rhodnius pallescens* (Heteroptera, Reduviidae). *Mol. Ecol.* 7, 1784-1786, 1998.

HARRY, M. *et al.* Microsatellite markers in *Triatoma pseudomaculata* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), Chagas' disease vector in Brazil. *Infect Genet Evol*, v. 8, n. 5, p. 672-5, Sep 2008.

ISSN 1567-1348 (Print) 1567-1348 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18571993> >.

HARRY, M. *et al.* Microsatellite markers from the Chagas disease vector, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera, Reduviidae), and their applicability to *Rhodnius* species. *Infect Genet Evol*, v. 8, n. 3, p. 381-5, May 2008.

ISSN 1567-1348 (Print) 1567-1348 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18304894> >.

HARRY, M. *et al.* New perspectives for population genetics of Chagas'disease vectors in the Northeastern Brazil: isolation of polymorphic microsatellite markers in *Triatoma brasiliensis*. *Infect Genet Evol*, v. 9, n. 4, p. 633-7, Jul 2009.

ISSN 1567-7257 (Electronic) 1567-1348 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19460330> >.

HARTL, D. L; CLARK, A, G. Princípios de Genética de Populações v.4. **Artmed Editora;** 2010.

HEMINGWAY, J; HAWKES L.M; RANSON, H. The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34: 653-665, 2004.

IPECE. **Perfil Básico Municipal de Jaguaruana 2017**. p. 1-18, 2017.

Disponível em: <

[http://www.ipece.ce.gov.br/perfil\\_basico\\_municipal/2017/Jaguaruana.pdf](http://www.ipece.ce.gov.br/perfil_basico_municipal/2017/Jaguaruana.pdf)>. Acesso em: 02/11/2021.

JUSTI, S.V; GALVÃO, C. The Evolutionary Origin of Diversity in Chagas Disease Vectors. **Trends Parasitol.**33, 42-52, 2017.

KALINOWSKI, S.T. Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. **Conserv. Genet.** 2004;5:539–43.

KALINOWSKI, S.T. HP Rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. **Mol. Ecol.** 2005;5:187–9.

LARDEUX *et al.* Experimental control of *Triatoma infestans* in poor rural villages of Bolivia through community participation. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 109: 150–158, 2014.

LENT, H; WYGODZINSKY, P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. **Bull Am Museum Nat History** 163: 123-520, 1979.

LENT, H; OLIVEIRA, S.H. Nota preliminar sobre a ação do DDT (dicloro-difenil-tricoetano) em insetos transmissores da doença de Chagas. **Res Bras Biol**, 4:329-331, 1944.

LIMA, R. D. S.; TEIXEIRA, A. B. Doença de Chagas: uma atualização bibliográfica.

**Rev bras anal clin**, v. 51, n. 2, p. 103-106, 2019. Disponível em:

<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1024821> Acesso em 14fev. 2023.

LIMA, M. M *et al.* Investigation of Chagas disease in four periurban áreas in northeastern Brazil: epidemiologic survey in man, vectors, non-human hosts and reservoirs. **Transaction of the Royal of Tropical Medicine and Hygiene**, 106:143-149, 2012.

LINES, J.D; MYAMBA, J; CURTIS, C.F. Experimental hut trials of Permethrin-impregnated mosquito nets and curtains against Malaria vectors in Tanzania. **Med Vet Entomol** 1: 37-51, 1987.

LI, Y.L; LIU, J.X. Structure Selector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. **Mol. Ecol. Resour.** 2018;18:176–7.

LOCHWOOD, J.A; SPARKS, T,C; SOTY, R.N. Evolution of insect resistance to **insecticides**: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. **Bull Entomol Soc Ame** 30: 41-51, 1984.

LORENZO, M.G *et al.* Microclimatic properties of the *Triatoma brasiliensis* habitat. **Cad Saude Publica.** 2000;16(Suppl. 2):69–74.

LUCENA, D. Estudos sobre a doença de Chagas no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 1970, 22, 3–173.

- MARCET, P. L. *et al.* Identification and characterization of microsatellite markers in the Chagas disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Infect Genet Evol**, v. 6, n. 1, p. 32-7, Jan 2006. ISSN 1567-1348 (Print) 1567-1348 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16376838> >.
- MARTINS *et al.* New softwares for automated microsatellite marker development. **Nucleic Acids Res.** 34, e31, 2006.
- MATHENGE, E.M *et al.* Effect of permethrin-impregnated nets on exiting behaviour, blood feeding success, and time of feeding of malaria mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Western Kenya. **J Med Entomol** 38: 531-536, 2001.
- MBOGO, C.N.M *et al.* The impact of permethrin-impregnated bednets on Malaria vectors of the Kenyan coast. **Med Vet Entomol** 10: 251-259, 1996.
- MASSAD, E. The elimination of Chagas' disease from Brazil. **Epidemiol Infect** 136: 1153–1164, 2008.
- MENDONÇA, V.J *et al.* Phylogeny of *Triatoma sherlocki* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) inferred from two mitochondrial genes suggests its location within the *Triatoma brasiliensis* complex. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 2009, 81, 856–864.
- MENDONÇA, V. J *et al.* Revalidation of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera: Reduviidae) and phylogeny of the *T. brasiliensis* species complex. **Zootaxa**, v. 4107, n. 2, p. 239-54, May 2 2016.
- MONCAYO, A. Progress towards interruption of transmission of Chagas disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 94 Suppl 1: 401-404, 1999.
- MOLINA, I.; SALVADOR, F.; SÁNCHEZ-MONTALVÁ, A. Actualización en enfermedad de Chagas. **Enferm Infecc Microbiol Clin**, v. 34, n. 2, p. 132-138, 2016. ISSN 0213-005X. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X16000045> >.
- MOUGANBURE CUETO, G; ZERBA, E; PICOLLO, M.I. Biological effect of 1-dodecanol in teneral and post-teneral *Rhodnius prolixus* and *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 100: 59-61, 2005.
- MONTEIRO, F.A.; DONNELLY, M.J.; BEARD, C.B.; COSTA, J. Nested clade and phylogeographic analyses of the Chagas disease vector *Triatoma brasiliensis* in Northeast Brazil. **Mol. Phylogenet. Evol.** 2004, 32, 46–56.
- NASS, L. L. Recursos Genéticos vegetais. Brasília, DF: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 858, 2007.
- NÓBREGA, A.A, *et al.* Oral transmission of Chagas Disease by consumption of açai Palm Fruit, Brasil. **Emerging Inf Diseases** 15: 653 – 655, 2009.

OLIVEIRA, J. *et al.* Combined phylogenetic and morphometric information to delimit and unify the *Triatoma brasiliensis* species complex and the Brasiliensis subcomplex. **Acta Trop.** 2017, 170, 140–148.

OBARA, T.M. Caracterização de resistência a inseticidas em populações da subfamília riatominae (Hemiptera: Reduviidae), vetores de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909. **Tese de doutorado**, Universidade de São Paulo, São Paulo: 2010; 246p.

OBARA, T.M *et al.* Monitoramento da suscetibilidade de populações de *Triatoma sordida* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae) ao inseticida deltametrina, na região Centro-Oeste do Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 44(2):206-212, mar-abr, 2011.

OLIVEIRA, E. J *et al.* Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genet Mol Biol**, v. 29(2), p. 294–307, 2006.

OLIVEIRA-LIMA, J.W *et al.* Peridomestic changes and implications for *Triatoma brasiliensis* control. **Cad Saude Publica** 16 Suppl 2: 75–81, 2000.

OPAS. **Organização Pan Americana de Saúde**. II Reunião técnica latino-americana de monitoramento de resistência a inseticidas a triatomíneos vetores de Chagas. Panamá, 11 a 13 de abril de 2005.

OPAS. Enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). **Organización Panamericana de Saúde**, 2006.

OSTERMAYER, A. L. *et al.* The national survey of seroprevalence for evaluation of the control of Chagas disease in Brazil (2001-2008). **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44 Suppl 2, p. 108-21, 2011. ISSN 1678-9849 (Electronic) 0037-8682 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21584364> >. Acessado em: 20/07/2022.

PACHECO *et al.* Resistance to Malathion, Pirimiphos-methyl and Fenitrothion in coleoptera from stored grains. **Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored Product Protection (Ed. By Working Conference on Stored Product)**. p.1029-1037, 1990.

PAETKAU, D *et al.* Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. **Mol. Ecol.** 2004;3:55–65.

PAETKAU, D *et al.* Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. **Mol. Ecol.** 1995;4:347–54.

PEDRINI *et al.* **Control of Pyrethroid-Resistant Chagas disease vectors with entomopathogenic fungi**. PLOS Negl Trop Disease 3: 1 – 11, 2009.

PEREIRA, M. G.; LEE, M. **Identification of genomic regions affecting plant height in sorghum and maize**. Theor Appl Genet, v. 90, n. 3-4, p. 380-8, Mar 1995.

ISSN 0040-5752

(Print) 0040-5752 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24173928> >.

PEREIRA, K.S *et al.* **Chagas disease as a foodborne illness**. J Food Prot 72: 441-446, 2009.

PESSOA, G.C.A. Monitoramento da suscetibilidade ao piretróide deltametrina em populações de *Triatoma sordida* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae), **Dissertação de Mestrado**, Centro de Pesquisas René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte. 95pp, 2008.

PESSOA, G.C.A. Perfil da suscetibilidade a deltametrina de populações de *Triatoma sordida* (Hemiptera: Reduviidae) do Estado de Minas Gerais em áreas com infestação persistente. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Belo Horizonte. 179 pp, 2012.

PESSOA *et al.* Toxicological profile of deltamethrin in *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) in State of Ceará, Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 48(1):39-43, Jan-Feb, 2015  
<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0010-2015>

PESSOA, G.C.D. *et al.* Fortalecimento da vigilância em saúde no Brasil: Rede de Monitoramento da Resistência dos Triatomíneos aos Inseticidas. **Rev Patol Trop Vol.** 45 (4): 417-424. out.-dez. 2016

PEREZ DE ROSAS, A.R; SEGURA, E.L, GARCIA, B.A. Microsatellite analysis of genetic structure in natural *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) populations from Argentina: its implication in assessing the effectiveness of Chagas' disease vector control programmes. **Mol. Ecol.** 16, 1401–1412, 2007.

PICCINALI, R. V.; GURTLER, R. E. **Fine-scale genetic structure of *Triatoma infestans* in the Argentine Chaco.** *Infect Genet Evol*, v. 34, p. 143-52, Aug 2015.  
 ISSN 1567-7257 (Electronic) 1567-1348 (Linking). Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26027923> >.

PICCINALI, R. V.; GAUNT, M. W.; GURTLER, R. E. A Microsatellite-Based Analysis of House Infestation With *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) After Insecticide Spraying in the Argentine Chaco. **J Med Entomol**, v. 55, n. 3, p. 609-619, May 4 2018.  
 ISSN 1938-2928 (Electronic) 0022-2585 (Linking). Disponível em: <  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29385501> >.

PINCHIN *et al.* The flushing-out activity of pyrethrum and synthetic pyrethroids on *Panstrongylus megistus*. **Trans Roy Soc Trop Med Hyg** 74:801-803, 1980.

PIRY, S. *et al.* GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. **J. Hered.** 2004;95:536–539

PRITCHARD, J.K *et al.* Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genet.** 2000;155:945–59.

PUECHMAILLE, S. J. The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. **Mol. Ecol. Resour.** 2016;16:608–627.

RAYMON, R. Log-Probit analysis basic programme of microcomputer. **Cahiers ORSTOM Serie Entomologie et Parasitologie** 23: 117–121, 1985.

RAYMOND, M.; ROUSSET, F. GENEPOP (Version 1.2): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. **Journal of Heredity**, v. 86, n. 3, p. 248-249, 1995. ISSN 0022-1503. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573> >.

RANSOM, H *et al.* Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. **Science** 298:179-181, 2002.

REQUENA-MÉNDEZ A, *et al.* Prevalence of Chagas disease in Latin-American migrants living in Europe: a systematic review and meta-analysis. **PLoS Negl Trop Dis**. 2015 Feb;9(2):e0003540.

REY, L. **Parasitologia**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RICHER, W. *et al.* Active dispersal by wild *Triatoma infestans* in the Bolivian Andes. **Trop Med Int Health**, v. 12, n. 6, p. 759-64, Jun 2007. ISSN 1360-2276 (Print) 1360-2276 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17550473> >.

ROCHA E SILVA, E.O. Profilaxia. In Brener Z, Andrade Z, *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas, **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, p. 425-449, 1979.

ROBERTS, D.R; ALECRIM, W.D. Response of *Anopheles darlingi* to spraying with DDT in Amazonas, Brazil. **Bull of PAHO** 25: 210-217, 1991.

ROUSSET, F. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. **Mol Ecol Resour**, v. 8, n. 1, p. 103-6, Jan 2008. ISSN 1755-098X (Print) 1755-098X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21585727> >.

RUEDA *et al.* Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: un nuevo escenario epidemiológico de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. **Biomédica** 34: 631-641, 2014.

SANTO ORIHUELA, P.L; PICOLLO, M.I. Contribution of general esterases to pyrethroid resistant *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. **Acta Toxicol. Argent.** 19 (1): 32-40, 2011.

SARQUIS *et al.* Epidemiology of Chagas disease in Jaguaruana, Ceará, Brazil. I. Presence of triatomines and index of *Trypanosoma cruzi* infection in four localities of rural area. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 99:263-270, 2004.

SARQUIS *et al.* Aspects of peridomestic ecotopes in rural areas of northeastern Brazil associated to triatomine (Hemiptera, Reduviidae) infestation, vectors of Chagas disease. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2006; 101:143-147.

SARQUIS, O *et al.* Ecology of *Triatoma brasiliensis* in northeastern Brazil: seasonal distribution, feeding resources, and *Trypanosoma cruzi* infection in a sylvatic population. **J Vector Ecol** 35: 385-394, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2010.00097.x> PMID: 21175946

- SIERRA, I *et al.* Kdr mutations in *Triatoma infestans* from the Gran Chaco are distributed in two differentiated foci: Implications for pyrethroid resistance management. **Acta Tropica**, 158:208-13, 2016.
- SCHOFIELD, C.J, JANNIN, J; SALVATELLA, R. The future of Chagas disease control. **Trends Parasitol** 22(12): 583-588, 2006.
- SCHOFIELD, C.J. Triatominae: Biología y Control. **Eurocommunica Publications: United Kingdom**, 80pp, 1994.
- SCHOFIELD *et al.* The process of domestication in Triatominae. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 94: 375-378, 1999.
- SCHOFIELD, C. J.; GALVÃO, C. Classification, evolution and species groups within the Triatominae. **Acta Tropica**, 110(2-3):88-100, 2009
- SILVA, A.D.G. Programa de Controle Vetorial de Chagas no Estado do Ceará. **Dissertação (Mestrado em Saúde Pública)** - Departamento de Saúde Comunitária, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.
- SILVA, A. S. *et al.* Monitoring *Rhodnius neglectus* (Lent, 1954) populations' susceptibility to insecticide used in controlling actions in urban areas northwest of São Paulo state. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**. Vol.:55 | (e0553-2021), 2022
- SILVEIRA, A.C; REZENDE, D. F. Epidemiologia e controle da transmissão vetorial da doença de Chagas no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 27(3): 5-16, 1994.
- SILVEIRA, A.C,. Situação do controle da transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, 16(Sup. 2):35-42, 2000.
- SILVEIRA, A.C, *et al.* El control de la enfermedad de Chagas en los países del Cono Sur de América: História de una iniciativa internacional. 1991/2001. **Organización Pan-Americana da Saúde**, 316p, 2002.
- SILVEIRA, A.C; SILVA, G. R.; PRATA, A. O Inquérito de soroprevalência da infecção chagásica humana (1975-1980). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 44 (Supl 2): 33-39, 2011.
- SILVORI, J.L; CASABÉ, N.B; WOODE, E.J. Glutathione S-transferases in non-vertebrates and mammals. Its role in detoxifying insecticides. **Acta Bioqu Clin Latinoamericana, in press**, 1997.
- SILVEIRA, A. C.; PIMENTA JR, F. Institutional insertion of Chagas' disease control. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 44 Suppl 2, p. 19-24, 2011. ISSN 1678-9849 (Electronic) 0037-8682 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21584353> >.
- SONODA, I.V *et al.* Susceptibility of *Triatoma infestans* to deltamethrin in Rio Grande do Sul, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2009; 104:668-670.

- SONODA, I.V *et al.* Susceptibility of *Triatoma brasiliensis* from state of Ceará, Northeastern Brazil, to the pyrethroid deltamethrin. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 105(3): 348-352, May 2010.
- SOUZA R.C.M. *et al.* Population dynamics of *Triatoma vitticeps* (Stål, 1859) in Itanhomi, Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 103: 14-20, 2008.
- TABASHINK, B.E; ROUSH, R. T. Introduction. In: TABASHINK, B.E; ROUSH, R. T, editors. Pesticide resistance in arthropods. **New York: Chapman and Hall**, p.1-3, 1990.
- TAKEZAKI, N; NEI, M; TAMURA, K. POPTREEW: web version of POPTREE for constructing population trees from allele frequency data and computing some other quantities. **Mol Biol Evol.** 2014;31:1622-4.
- TEIXEIRA, A. Apresentações clínicas da doença de Chagas. In: Teixeira A. Doença de Chagas e evolução. **Editora Universidade de Brasília**, Brasília. 309 pp, 2007.
- VANESSA, C.V; PICOLLO, M.I; ZERBA, E.N. Insecticide resistance in brazilian *Triatoma infestans* and venezuelan *Rhodnius prolixus*. **Med Vet Entomol** 2000; 14(1): 51-55.
- VAN OOSTERHOUT, C *et al.* MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Mol. Ecol.** 2004;4:535-8.
- VINHAES, M.C., DIAS, J.C.P. Doença de Chagas no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, vol 16 (supl. 2), 7-12, 2000;
- WALTER *et al.* Risk factors for reinvasion of human dwellings by sylvatic triatomines in northern Bahia State, Brazil. **Cad Saude Publ** 2005; 21:974-978.
- WHO. Report of a WHO Expert Committee. **Technical Report Series** n. 905. Geneva, 2002.
- WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases: First WHO report on neglected tropical diseases. **World Health Organization**, Geneva, 2010.
- WHO. **Handbook for integrated vector management.**  
[http://www.who.int/neglected\\_diseases/vector\\_ecology/resources/9789241502801/en/](http://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/resources/9789241502801/en/).  
 Geneva: 67 p. 2012a.
- WHO. **La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana).** Geneva 2018.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease - American trypanosomiasis (2021). Geneva: **World Health Organization**. [https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_1),
- WHO. Chagas disease (American trypanosomiasis) [Internet]. Geneva: **World Health Organization**; 2022. Disponível em: Disponível em: [https://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/chagasdisease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/chagasdisease-(american-trypanosomiasis)). Acesso em 27/03/2023.
- WOOD, E.J *et al.* Mode of action of organophosphorus insecticides in *Triatoma infestans*. **An Assoc Quim Argent** 70: 801, 1982.



YON *et al.* 2004. Susceptibilidad y resistencia de *Triatoma infestans* y *Panstrongylus herreri* a los insecticidas piretroides, Perú 2001. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**. 2004; 21(3):179-182.

ZERBA, E.N; PICOLLO, M.I. Resistencia a insecticidas piretroides en *Triatoma infestans*. **Centro de Investigaciones de Plagas e Insecticidas (CIPEIN) CITEFA-CONICET**. Buenos Aires, Argentina, 2002.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A- Populações de triatomíneos concluídas REMOT-CE 2016 - 2022 (23/03/2023)

Nº de ordem	Descrição da população	Código	Código numérico	Uso de Inseticida além do PCDCh	Insetos fundadores							Datas			Status da população	Razão de resistência 50%	IC 95%	Razão de resistência 99%	IC 95%	DL 50	IC 95%		
					N1	N2	N3	N4	N5	Machos	Fêmeas	Total	Ovos	Entrada no NUTVET								Início dos Testes	Fim dos Testes
25	Bagaruama/Latadas/Peri	JaLaP25	25	sim	10	7	117	36	85	18	19	292	124	27/09/2016	03/10/2016	14/02/2017	Concluída	1.207	1.068-1.364	0.907	0.690-1.368	0.352	0.325-0.377
26	Bagaruama/Cipriano Lopes/Peri	JaCLP26	26	sim	0	14	13	12	23	4	3	69	91	27/09/2016	03/10/2016	24/01/2017	Concluída	1.368	1.224-1.529	0.692	0.499-0.961	0.399	0.376-0.421
27	Bagaruama/Quicabinha/Peri	JaQuP27	27	não	0	10	12	13	33	37	39	144	116	27/09/2016	19/10/2016	02/12/2016	Concluída	1.552	1.390-1.733	0.877	0.639-1.205	0.425	0.415-0.485
30	Bagaruama/Jempapeiro/Peri	JaJenP30	30	não	32	23	38	17	17	5	6	138	137	04/10/2016	13/10/2016	16/02/2017	Concluída	1.017	0.900-1.150	0.760	0.527-1.094	0.296	0.274-0.319
69	Bagaruama / Cipriano Lopes / Peri	JaCLP69	69	sim	0	5	10	2	5	2	5	29	19	02/10/2018	31/10/2018	11/04/2019	Concluída	1.075	0.936-1.234	0.983	0.658-1.468	0.313	0.281-0.343
70	Bagaruama / Latadas / Peri	JaLaP70	70	sim	0	0	17	0	9	5	4	35	40	02/10/2018	24/10/2018	17/03/2019	Concluída	1.050	0.913-1.207	1.015	0.675-1.327	0.306	0.276-0.338
115	Bagaruama / Cipriano Lopes / Peri	JaCLP115	115	sim	3	2	5	1	62	52	59	184	354	22/10/2021	18/11/2021	08/01/2022	Concluída	1.105	0.934-1.308	1.538	0.941-2.514	0.322	0.260-0.371
118	Bagaruama / Latada / Peri	JaLaP118	118	sim	0	0	0	0	11	7	18	36	0	22/10/2021	18/11/2021	28/01/2022	Concluída	1.370	1.206-1.555	1.201	0.803-1.798	0.399	0.365-0.432
121	Bagaruama / João Duarte / Silvestre	JaJoDS121	121	não	0	0	1	0	4	2	4	11	20	22/10/2021	17/11/2021	06/08/2022	Concluída	1.185	1.007-1.394	1.429	0.894-2.285	0.345	0.298-0.389
130	Bagaruama / Cipriano Lopes / Intra	JaCLP130	130	sim	3	1	5	1	2	9	2	23	10	22/10/2021	18/11/2021	27/12/2022	Concluída	1.216	1.070-1.382	1.046	0.715-1.531	0.354	0.324-0.384

**APÊNDICE B – Jaguaruana/Latadas/Peri (REMOT-CE 2016)**

**JaLatP25**

DOSAGEM (ng/ml)	N° AMOSTRAL	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADOS	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
Acetona	15	15	0	0	0	0,00
0,3	30	29	0	0	1	0,03
0,45	30	12	13	2	3	0,17
0,55	30	8	14	6	2	0,27
0,65	30	3	11	11	5	0,53
0,75	30	2	12	12	4	0,53
0,85	30	1	10	17	2	0,63
0,95	30	3	7	13	7	0,67
1	30	0	7	18	5	0,77
1,1	30	0	5	17	8	0,83
1,2	30	1	3	15	11	0,87
1,3	30	0	1	21	8	0,97
1,7	30	0	0	7	23	1,00
Total	375	74	83	139	79	

Para análise

TbP25	Dose aplicada/2	n° muito int+mor
0 30 0	0	0
0.15 30 1	0,15	1
0.225 30 5	0,225	5
0.275 30 8	0,275	8
0.325 30 16	0,325	16
0.375 30 16	0,375	16
0.425 30 19	0,425	19
0.475 30 20	0,475	20
0.5 30 23	0,5	23
0.55 30 25	0,55	25
0.6 30 26	0,6	26
0.65 30 29	0,65	29
0.85 30 30	0,85	30

**APÊNDICE C - Jaguaruana/Cipriano Lopes/Peri (REMOT-CE 2016)**

**JaCil P26**

DOSAGEM (ng/ml)	N° AMOSTRAL	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADOS	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
Acetona	15	15	0	0	0	0,00
0,45	30	25	4	0	1	0,03
0,65	30	10	15	5	0	0,17
0,75	30	6	13	7	4	0,37
0,85	30	2	10	16	2	0,60
0,95	30	0	7	11	12	0,77
1,1	30	0	2	21	7	0,93
1,7	30	0	0	19	11	1,00
Total	225	58	51	79	37	

Para analise

TbP26	Dose aplicada/2	n° muito int+mor
0 30 0	0	0
0.225 30 1	0,225	1
0.325 30 5	0,325	5
0.375 30 11	0,375	11
0.425 30 18	0,425	18
0.475 30 23	0,475	23
0.55 30 28	0,55	28
0.85 30 30	0,85	30

**APÊNDICE D – Jaguaruana/Quixabinha/Peri (REMOT-CE 2016)**

**JaQui P27**

DOSAGEM (ng/ml)	N° AMOSTRAL	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADOS	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
Acetona	15	15	0	0	0	0,00
0,65	30	12	12	5	1	0,20
0,75	30	13	9	6	2	0,27
0,85	30	9	12	9	0	0,30
0,95	30	0	11	14	5	0,63
1	30	1	9	12	8	0,67
1,1	30	0	10	14	6	0,67
1,2	30	3	6	8	13	0,70
1,3	30	0	2	15	13	0,93
1,4	30	0	0	13	17	1,00
1,7	30	0	0	8	22	1,00
Total	315	53	71	104	87	

Para analise

TbP27	Dose aplicada/2	n° muito int+mor
0 30 0	0	0
0.325 30 6	0,325	6
0.375 30 8	0,375	8
0.425 30 9	0,425	9
0.475 30 19	0,475	19
0.5 30 20	0,5	20
0.55 30 20	0,55	20
0.6 30 21	0,6	21
0.65 30 28	0,65	28
0.7 30 30	0,7	30
0.85 30 30	0,85	30

**APÊNDICE E – Jaguaruana/Jenipapeiro/Peri (REMOT-CE 2016)**

**JaJen P30**

DOSAGEM (ng/ml)	N° AMOSTRAL	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADOS	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
Acetona	15	15	0	0	0	0,00
0,3	30	21	8	0	1	0,03
0,45	30	10	13	3	4	0,23
0,5	30	8	11	6	5	0,37
0,55	30	7	10	8	5	0,43
0,65	30	4	9	13	4	0,57
0,75	30	1	8	19	2	0,70
0,85	30	0	5	15	10	0,83
0,95	30	0	2	11	17	0,93
1,7	30	0	1	14	15	0,97
Total	285	66	67	89	63	

Para análise

TbP30	Dose aplicada/2	n° muito int+mor
0 30 0	0	0
0.15 30 1	0,15	1
0.225 30 7	0,225	7
0.25 30 11	0,25	11
0.275 30 13	0,275	13
0.325 30 17	0,325	17
0.375 30 21	0,375	21
0.425 30 25	0,425	25
0.475 30 28	0,475	28
0.85 30 29	0,85	29

APÊNDICE F – Jaguaruana / Cipriano Lopes / Peri (REMOT-CE 2019)

**JaCiLP69**

DOSAGEM (ng/ml)	N° AMOSTRA L	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADO S	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
Acetona	15	15	0	0	0	0,00
0,4	30	13	13	2	2	0,13
0,5	30	2	15	9	4	0,43
0,6	30	3	12	6	9	0,50
0,7	30	0	14	10	6	0,53
0,9	30	0	8	13	9	0,73
1,0	30	0	6	10	14	0,80
1,2	30	0	3	8	19	0,90
1,7	30	0	0	7	23	1,00
Total	255	33	71	65	86	

Para análise

TbP69	Dose aplicada/2	n° muito int+mor
0 30 0	0	0
0.2 30 4	0,2	4
0.25 30 13	0,25	13
0.3 30 15	0,3	15
0.35 30 16	0,35	16
0.45 30 22	0,45	22
0.5 30 24	0,5	24
0.6 30 27	0,6	27
0.85 30 30	0,85	30

**APÊNDICE G – Jaguaruana / Latadas / Peri (REMOT-CE 2019)**

**JaLatP70**

DOSAGEM (ng/ml)	Nº AMOSTRA L	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADO S	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
Acetona	15	15	0	0	0	0,00
0,3	30	15	13	1	1	0,07
0,4	30	8	16	2	4	0,20
0,5	30	1	15	11	3	0,47
0,6	30	0	15	9	6	0,50
0,8	30	1	12	6	11	0,57
0,9	30	0	7	7	16	0,77
1,2	30	0	3	19	8	0,90
1,7	30	0	0	7	23	1,00
Total	255	40	81	62	72	

Para análise

TbP70	Dose aplicada/2	nº muito int+mor
0 30 0	0	0
0.15 30 2	0,15	2
0.2 30 6	0,2	6
0.25 30 14	0,25	14
0.3 30 15	0,3	15
0.4 30 17	0,4	17
0.45 30 23	0,45	23
0.6 30 27	0,6	27
0.85 30 30	0,85	30



**APÊNDICE H – Jaguaruana / Cipriano Lopes / Peri (REMOT-CE 2022)**

**JaCiLP118**

DOSAGEM (ng/ml)	Nº AMOSTRA L	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADO S	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
<b>Acetona</b>	15	15	0	0	0	0,00
<b>0,4</b>	30	2	17	10	1	0,37
<b>0,6</b>	30	0	18	10	2	0,40
<b>0,7</b>	30	0	16	7	7	0,47
<b>0,8</b>	30	0	13	12	5	0,57
<b>1</b>	30	0	9	8	13	0,70
<b>1,1</b>	30	0	7	8	15	0,77
<b>1,2</b>	30	0	6	12	12	0,80
<b>1,3</b>	30	1	1	12	16	0,93
<b>1,7</b>	30	0	1	4	25	0,97
Total	285	18	88	83	96	

Para análise

TbP118	Dose aplicada/2	nº muito int+mor
0 30 0	Acetona	0
0.2 30 11	0,2	11
0.3 30 12	0,3	12
0.35 30 14	0,35	14
0.4 30 17	0,4	17
0.5 30 21	0,5	21
0.55 30 23	0,55	23
0.6 30 24	0,6	24
0.65 30 28	0,65	28
0.85 30 29	0,85	29

**APÊNDICE I – Jaguaruana / Latada / Peri (REMOT-CE 2022)**

**JaLatP116**

DOSAGEM (ng/ml)	Nº AMOSTRA L	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADO S	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
<b>Acetona</b>	15	15	0	0	0	0,00
<b>0,5</b>	30	7	17	4	2	0,20
<b>0,6</b>	30	10	13	6	1	0,23
<b>0,7</b>	30	2	14	0	14	0,47
<b>0,8</b>	30	1	13	12	4	0,53
<b>0,9</b>	30	1	12	9	8	0,57
<b>1</b>	30	0	12	12	6	0,60
<b>1,1</b>	30	0	9	10	11	0,70
<b>1,3</b>	30	0	5	7	18	0,83
<b>1,7</b>	30	0	0	17	13	1,00
Total	285	36	95	77	77	

Para análise

TbP116	Dose aplicada/2	nº muito int+mor
0 30 0	Acetona	0
0.25 30 6	0,25	6
0.3 30 7	0,3	7
0.35 30 14	0,35	14
0.4 30 16	0,4	16
0.45 30 17	0,45	17
0.5 30 18	0,5	18
0.55 30 21	0,55	21
0.65 30 25	0,65	25
0.85 30 30	0,85	30

**APÊNDICE J – Jaguaruana / João Duarte / Silvestre (REMOT-CE 2022)**

**JaJoDS119**

DOSAGEM (ng/ml)	Nº AMOSTRA L	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADO S	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
<b>Acetona</b>	15	15	0	0	0	0,00
<b>0,4</b>	30	11	11	4	4	0,27
<b>0,6</b>	30	3	17	7	3	0,33
<b>0,7</b>	30	3	12	9	6	0,50
<b>1</b>	30	0	9	10	11	0,70
<b>1,2</b>	30	0	5	6	17	0,77
<b>1,3</b>	30	0	5	10	15	0,83
<b>1,7</b>	30	0	0	9	21	1,00
Total	225	32	59	55	77	

Para analise

<b>TbS119</b>	Dose aplicada/2	nº muito int+mor
0 30 0	Acetona	0
0.2 30 8	0,2	8
0.3 30 10	0,3	10
0.35 30 15	0,35	15
0.5 30 21	0,5	21
0.6 30 23	0,6	23
0.65 30 25	0,65	25
0.85 30 30	0,85	30

APÊNDICE k – Jaguaruana / Cipriano Lopes / Intra (REMOT-CE 2022)

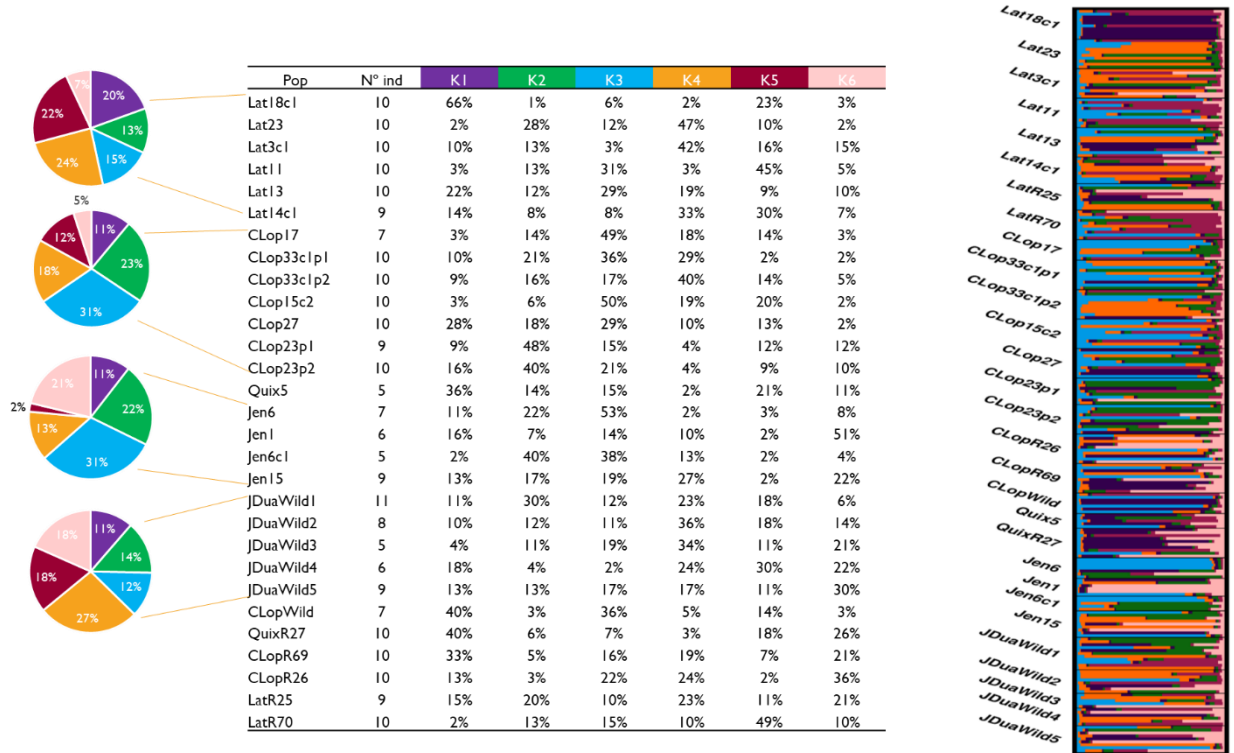
**JaCiLI17**

DOSAGEM (ng/ml)	Nº AMOSTRA L	LEITURA 72 HORAS				% MORTAL
		NORMAIS	INTOXICADO S	MUITO INTOXICADOS	MORTOS	
Acetona	15	15	0	0	0	0,00
0,4	30	21	6	0	3	0,10
0,5	30	14	11	0	5	0,17
0,6	30	5	13	6	6	0,40
0,7	30	1	14	10	5	0,50
0,8	30	0	9	14	7	0,70
0,9	30	0	8	14	8	0,73
1,1	30	0	7	15	8	0,77
1,2	30	0	15	11	14	0,83
1,7	30	0	1	4	25	0,97
Total	285	56	84	74	81	

Para análise

TbI17	Dose aplicada/2	nº muito int+mor
0 30 0	Acetona	0
0.2 30 3	0,2	3
0.25 30 5	0,25	5
0.3 30 12	0,3	12
0.35 30 15	0,35	15
0.4 30 21	0,4	21
0.45 30 22	0,45	22
0.55 30 23	0,55	23
0.6 30 25	0,6	25
0.85 30 29	0,85	29

**APÊNDICE L - Coeficientes de associação de cada população de *T. brasiliensis* de Jaguaruana, Ceará**



**APÊNDICE M - Alelos observados por *locus* e por população de *T. brasiliensis* estudada, Jaguaruana, Ceará**

População	Tb728	Tb830	Tb860	Tb7180	Tb8124	Total
Pop_1	308; 310	284	394; 396	236; 238; 246	234; 236	10
Pop_2	310; 312	276; 282; 284	394	228 ;230; 236; 240; 244	232; 236	13
Pop_3	308; 310	276; 282; 284	394; 396	234; 236; 238; 240; 244	232; 234; 236; 240; 242	17
Pop_4	308; 310; 312; 316	276; 282; 284	394; 396	216; 236; 238; 244	228; 230; 232; 236; 238	18
Pop_5	308; 310; 312	276; 282; 284; 290	394; 396	228 ;230; 236; 238; 244	230; 232; 234; 236	18
Pop_6	308; 310; 312; 316	276; 282; 284	394; 396	224; 236; 238; 240; 244	224; 230; 232; 234; 236	19
Pop_7	308; 310; 312	276; 284; 290	394; 396	216; 224; 234; 236	224; 230; 232; 238	16
Pop_8	310; 312	282; 284	394; 396	234; 236; 238; 242; 244	232; 234	13
Pop_9	308; 310; 312; 316	276; 282; 284	394; 396	216; 236; 238; 242; 244	224; 230; 232; 234	19
Pop_10	308; 310; 312	276; 284	394; 396	216; 230; 232; 236; 238; 240	232; 236	15
Pop_11	308; 310; 312	276; 282; 284; 290	394; 396	216; 228; 236; 238; 244; 246	230; 232; 234; 236	19
Pop_12	308; 310	276; 282; 284; 290	394; 396	216; 224; 228; 234; 236; 244	232; 234; 236	17
Pop_13	308; 310	276; 282; 284; 290	394	216; 228; 234; 236; 238; 244	230; 232; 234; 236	17
Pop_14	308; 310	276; 282; 284	394	216; 236; 244	224; 228; 234; 242	14
Pop_15	308; 310	282; 284	394; 396	234; 236; 238	230; 232; 234	12
Pop_16	310; 312	276; 282; 284	394; 396	216; 230; 232; 236; 238	232; 234	14
Pop_17	310; 312	282; 284	394; 396	234; 236; 238; 244	232	11
Pop_18	308; 310; 312	276; 282; 284	394; 396	216; 234; 236; 238; 240; 244	226; 232; 234	17
Pop_19	308; 310; 312; 316	276; 282; 284	394; 396	228; 234; 236; 238; 240; 244	230; 232; 234; 236; 238	21
Pop_20	308; 310; 312; 316	276; 284	394	216; 228; 234; 236; 238; 240; 244	232; 234; 236	17
Pop_21	308; 310; 312; 316	276; 284	394; 396	216; 236; 238; 240; 244	232; 234	15
Pop_22	308; 310; 316	276; 284	394; 396	228; 234; 236; 238; 240	230; 232; 234; 236	17
Pop_23	308; 310; 312	276; 284	394; 396	226; 228; 236; 238; 244	232; 234; 236	15
Pop_24	308; 310; 312; 316	276; 282; 284	394	216; 230; 236; 238; 240; 242; 244	232; 234; 236	19
Pop_25	310; 312; 316	276; 282; 284	394; 396	228; 234; 236; 238; 240; 244	232; 234; 236	17
Pop_26	308; 310; 312	276; 282; 284	394; 396	216; 234; 236; 238; 244	232; 234	15
Pop_27	310; 312	276; 284	394; 396	214; 216; 236; 244	230; 232; 234; 236	14
Pop_28	308; 310; 312	276; 284	394; 396	216; 228; 234; 236; 238; 244	230; 232; 234; 236	17
Pop_29	308; 310; 312	276; 282; 284	394	234; 236; 238; 240; 242; 244	232; 234; 236; 238	17
Alelos por Locus	4	4	2	14	10	-

**ANEXOS****ANEXO 1 - Questionário aplicado aos moradores das localidades de interesse visando descrever as características das unidades domiciliares bem como o possível uso de inseticida com fins domésticos e agrícolas.****I –Dados gerais da casa:**

1. Localidade: \_\_\_\_\_

3. Número da casa: \_\_\_\_\_

5. Casa habitada? ( ) 1-sim ( ) 2-não

6. Nome do morador(a) da casa: \_\_\_\_\_

7. Número de residentes: \_\_\_\_\_

8. Há quanto tempo mora no domicílio?

Há \_\_\_\_\_ ( ) anos ( ) meses ( ) semanas ( ) dias

10. Tem animais domésticos na casa ou quintal?

( ) 1-sim ( ) 2-não ( ) 9-Não respondeu ( ) 0-Não sabe

11. Se sim, qual(is) animais domésticos vocês tem?

( ) Cão ( ) Gato ( ) Galinha ( ) Suínos ( ) Caprinos/ovinos ( ) Bovinos

( ) outros : \_\_\_\_\_

12. Se você tem animais domésticos em casa, você os trata com venenos para combater pragas como carrapatos, pulgas, piolhos, sarnas,etc?

( ) 1-sim ( ) 2-não ( ) 9-NR ( ) 0-NS

13. Se sim, qual (is) produto (s) você costuma usar? \_\_\_\_\_

14. Algum animal dorme dentro de casa?

( ) 1-sim ( ) 2-não ( ) 9-NR ( ) 0-NS

15. Se sim, quais e quantos?

( ) Cão ( ) Gato ( ) Galinha ( ) Suínos ( ) Caprinos/ovinos ( ) Bovinos

( ) outros : \_\_\_\_\_

16. Aonde estes animais dormem dentro da casa?

sala  quarto  cozinha  banheiro  alpendre

Outro: \_\_\_\_\_

17. Vocês usam veneno (remédio) contra insetos (baratas, formigas, cupins, etc) ?

1-sim  2-não  9-NR  0-NS

18. Você usa veneno dentro de casa?

1-sim  2-não  9-NR  0-NS

Se sim, marcar o local:

sala  quarto  cozinha  banheiro  varanda (soleira)

Outro: \_\_\_\_\_  NR  NS

19. Fora da casa (quintal)?

1-sim  2-não  9-NR  0-NS

Se sim, marcar o local:

telhas/tijolos soltos  cerca  chiqueiro  galinheiro  puleiro  curral

Outro: \_\_\_\_\_  NR  NS

20. Posso ver? Qual veneno (remédio) você usa?

Escrever nome do produto: \_\_\_\_\_

21. Qual a última vez que você passou veneno na sua casa (fora ou dentro)?

Na última semana  No último mês  Há 3 meses atrás

Há 6 meses atrás  Há 1 ano  outro período: \_\_\_\_\_

NR  NS

22. De quanto em quanto tempo você passa veneno em sua casa?

uma vez a cada mês  uma vez a cada dois meses

uma vez a cada seis meses  uma vez ao ano

não tenho frequência, passo quantas vezes forem necessárias

23. Você tem alguma plantação em sua propriedade?

1-sim  2-não  9-NR  0-NS

Se sim, responda: De que? .....

Qual a área plantada (ha)? .....

Tem acompanhamento da EMATERCE?  1-sim  2-não  9-NR  0-NS



24. Você usa veneno para controlar alguma praga agrícola?

1-sim  2-não  9-NR  0-NS

Se sim, responda: De quanto em quanto tempo você aplica veneno em suas plantações?

uma vez a cada mês  uma vez a cada dois meses

uma vez a cada seis meses  uma vez ao ano

não tenho frequência, passo quantas vezes forem necessárias

25. Tem algum veneno guardado hoje em sua propriedade? (Pergunta respondida com base nas respostas anteriores).

1-sim  2-não  9-NR  0-NS

Se sim, responda:

Qual (is)? .....

26. Vocês frequentam as matas (ambiente silvestre) aqui perto ou mais longe?

1-sim  2-não  9-NR  0-NS

27. Como que vocês utilizam essas matas?

Coletar lenha  Coletando frutos/sementes  Pescar

Pescar/Coletar palhas (alguma atividade artesanal)  Caçar

Outro coisa: \_\_\_\_\_  NR  NS

28. Idade da casa: \_\_\_\_\_

29. Tipo de parede:

Alvenaria sem reboco  Alvenaria com reboco  Barro com reboco

Barro sem reboco  Madeira  Outros

NR  Se mista, completar: \_\_\_\_\_

Com: Fendas, gretas, rachaduras e buracos

30. Tipo de teto

Telha de barro  Palha  Madeira

Metálico  Outros: \_\_\_\_\_

31. Tipo de piso

Cimento  Barro batido  Cerâmica

Outros: \_\_\_\_\_

32. Anexos do peridomicílio, distância e tempo da estrutura:

<b>Estrutura</b>	<b>Presente</b>	<b>Distância da casa (metros)</b>	<b>Tempo que a estrutura existe</b>	<b>Material de construção</b>
Galinheiro				
Chiqueiro				
Poleiro				
Pocilga				
Curral				
Depósito de máquinas/ utensílios/garagem				
Cerca				
Estacas				
Monte de lenha				
Monte de telha				
Monte de tijolos				
Outros:				



## ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

O(a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa: “Diversidade genética e padrões de susceptibilidade/resistência à deltametrina em populações de *Triatoma brasiliensis*, no município de Jaguaruana, Ceará.

O objetivo deste trabalho é caracterizar o ambiente domiciliar e as práticas em relação ao uso de inseticida de forma geral na zona rural do município de Jaguaruana, Ceará. Espera-se que este estudo possa contribuir com as políticas públicas de saúde para o fortalecimento das ações de prevenção e controle da doença de Chagas. Esta pesquisa será realizada pela Universidade Federal do Ceará em parceria com a Secretaria do Estado da Saúde do Ceará e Secretaria Municipal de Saúde de Jaguaruana.

A pesquisa será em forma de um questionário semi estruturado composto por 35 perguntas abertas e fechadas sobre as características da moradia, criação de animais domésticos, uso de inseticidas para uso na lavoura ou pragas domésticas. O tempo médio para responder ao questionário é estimado em 20 minutos.

O (a) Senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa, e asseguramos que seu nome será mantido em sigilo, com omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo (a). Além disso, o (a) senhor (a) tem o direito de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes desta pesquisa.

Informamos que o Senhor (a) pode se recusar a responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhum prejuízo para o Senhor(a).

Este estudo não irá submeter a qualquer tipo de coleta de amostras clínicas ou procedimentos invasivos; sendo os riscos considerados mínimos, ou seja, semelhantes aos existentes na vida cotidiana.

Os benefícios que os resultados desse estudo proporcionarão uma melhor clareza sobre as práticas relacionadas a prevenção da doença de Chagas no que diz respeito a caracterização do domicílio e uso de inseticidas de modo geral pela população residente nas áreas rurais no município de Jaguaruana, possibilitando aos gestores de saúde um melhor planejamento e direcionamento das ações de vigilância, prevenção e controle dessa doença.

Os resultados da pesquisa serão divulgados em encontros científicos, em local a ser definido, e para os técnicos da Vigilância em Saúde da Secretaria de Estado da Saúde e municípios, podendo ser publicado posteriormente.

Os dados coletados na pesquisa ficarão sob a guarda do Pesquisador Responsável e da coordenação do Curso de Mestrado em Saúde Pública da UFC em arquivo digital pelo período de 5 anos após o término da pesquisa.

Se o Senhor (a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor, entrar em contato com o pesquisador principal, **Luiz Osvaldo Rodrigues da Silva**, pelo telefone: **(85) 3301-5437 e celular (85) 98527-1396**, no horário de 8h00 às 17h00, situada na rua Oto de Alencar, 193, Jacarecanga, Fortaleza, Ceará.

Esta pesquisa foi submetida ao Comitê de Ética e Pesquisa - CEP/UFC/PROPESQ que é uma instância colegiada, de caráter interprofissional, responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, conforme da Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Este documento é elaborado em duas vias, uma ficará com o Senhor (a) e a outra com o pesquisador responsável.

---

Participante da pesquisa - Nome/Assinatura

---

Pesquisador responsável – **Luiz Osvaldo Rodrigues da Silva**

Fortaleza- CE, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2023

**ANEXO 3 – Certificado do resumo apresentado no 57 MEDTROP, Belém, Pará, Brasil**

57 Congresso da SBMT – MEDTROP, Belém, Pará, Brasil  
13 a 16 novembro de 2022

**CERTIFICADO**

Certificamos que o trabalho

**Avaliação dos padrões de resistência à deltametrina em populações de *Triatoma brasiliensis*, Neivai, 1911 (Hemiptera: Reduviidae), no município de Jaguaruana, Ceará**

cujos autores: **Luiz Osvaldo Rodrigues Silva, Cláudia Mendonça Bezerra, Roberta Paula Oliveira, Sarah Mendes D'Angelo, Jorg Heukelbach**, foi submetido na modalidade **E-pôster**, na **57ª Edição do Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical – MEDTROP 2022**, realizado no período de 13 a 16 de novembro de 2022, no Hangar Centro de Convenções e Feiras da Amazônia na cidade de Belém, PARÁ.

Belém/PA, 16 de novembro de 2022.



**Dr. Pedro Vasconcelos**  
Presidente da Comissão Científica do Medtrop 2022



**Dr. Julio Croda**  
Presidente da SBMT | Presidente do Medtrop 2022



#### ANEXO 4 – Resumo apresentado no 57 MEDTROP, Belém, Pará, Brasil

##### **Padrões de resistência à deltametrina em populações de *Triatoma brasiliensis*, Neivai, 1911 (Hemiptera: Reduviidae), no município de Jaguaruana, Ceará**

Luiz Osvaldo Rodrigues da Silva; Universidade Federal do Ceará  
Roberta de Paula Oliveira; Secretaria do Estado da Saúde do Ceará  
Sarah Mendes D'Angelo; Secretaria do Estado da Saúde do Ceará  
Claudia Mendonça Bezerra; Secretaria do Estado da Saúde do Ceará  
Jorg Heukelbach; Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará

**INTRODUÇÃO:** A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). Uma estratégia para controle da doença de Chagas consiste no combate aos vetores triatomíneos domésticos através de aplicações de inseticidas residuais. Entretanto, como esta estratégia vem sendo empregada há mais de 40 anos no Brasil, pode ter selecionado várias populações de vetores com resistência ou suscetibilidade alterada a inseticidas do grupo piretróides. **OBJETIVO:** Descrever o perfil de resistência/suscetibilidade de populações de *Triatoma brasiliensis* do município de Jaguaruana, Ceará, ao inseticida piretróide deltametrina. **MATERIAL E MÉTODOS:** Análises através de bioensaios por aplicação tópica de uma série de doses de deltametrina, grau técnico diluído em acetona (PA) em populações de *T. brasiliensis* oriundos de quatro localidades rurais do município de Jaguaruana, Ceará. A cepa susceptível utilizada como referência para *T. brasiliensis* foi oriunda do município de Umari (CE) sendo definida por Obara (2010). Para os cálculos da dose letal 50% (DL50) e Razão de resistência (RR50) foi utilizado o programa *Probit Analysis*. Foram coletadas em 2016 populações de duas localidades onde a população local não tinha o hábito de utilizar inseticidas, e de duas localidades onde a população utiliza inseticidas regularmente. Em todas as localidades houve um intervalo mínimo de 12 meses sem ação de controle de triatomíneos através da aplicação residual de inseticidas nas unidades domiciliares. **RESULTADOS:** Os bioensaios descreveram a menor DL50 na população de Jenipapeiro 0.296 (0.274 – 0.319) e a maior em Quixabinha 0.452 (0.415 – 0.485). As razões de resistências (RR50) variaram entre 0.644 e 0.983. Em 2018, apenas as duas localidades onde a população usava inseticidas tiveram casas recolonizadas por *T. brasiliensis*, cujas DL50 foram de 0.313 (0.281 – 0.343) e 0.306 (0.276 – 0.338), respectivamente. As RR50 foram nessas duas comunidades de 0.930 e 0.953. **CONCLUSÃO:** As populações de *T. brasiliensis* testadas mostraram-se susceptíveis a deltametrina. Assim, não há necessidade de manejo de inseticida na estratégia de controle vetorial nas localidades estudadas.

**Palavras Chave:** Resistência a inseticidas, *Triatoma brasiliensis*, Piretróide.

## ANEXO 5 – Certificado do resumo apresentado no 58 MEDTROP, Salvador, Bahia, Brasil

58 Congresso da SBMT – MEDTROP, Salvador, Bahia, Brasil  
10 a 14 setembro de 2023



Certificamos que o trabalho com o título:

**Monitoramento da suscetibilidade de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae), a deltemetrina no município de Jaguaruana, Ceará**

cujos autores SÃO: LUIZ OSVALDO RODRIGUES SILVA, ROBERTA PAULA OLIVEIRA, ANTÔNIO SILVA LIMA NETO, CLÁUDIA MENDONÇA BEZERRA, JORG LUIZ HEUKELBACH, foi APRESENTADO na modalidade E-pôster, no 58º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (MEDTROP 2023), realizado no período de 10 a 13 de setembro de 2023, no Centro de Convenções de Salvador na cidade de Salvador, Bahia.

Salvador/BA, 13 de setembro de 2023.

Para verificar a autenticidade deste certificado, basta acessar o link [validacertificados.lseventos.com.br](http://validacertificados.lseventos.com.br) e usar o código: 875tabad3f

**CERTIFICADO**

Dr. Mitermayer Galvão dos Reis  
Presidente do MEDTROP 2023

Dr. Julio Croda  
Presidente da SBMT

Realização: SBMT SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL

Reunidas Satélites CHAGAS LEISH 2023

FILIPINA DEBOL, ENFERMEIRA DE COMUNITARIAS E EDUCADORAS EM SAÚDE

WORKSHOP NACIONAL DA REDE TROPICAL

**ANEXO 6 - Resumo apresentado no 58 MEDTROP, Salvador, Bahia, Brasil****Monitoramento da suscetibilidade de *Triatoma brasiliensis* Neivai, 1911 (Hemiptera: Reduviidae), a deltametrina no município de Jaguaruana, Ceará**

Luiz Osvaldo Rodrigues da Silva; Universidade Federal do Ceará  
Roberta de Paula Oliveira; Secretaria do Estado da Saúde do Ceará  
Antônio Silva Lima Neto; Secretaria do Estado da Saúde do Ceará  
Claudia Mendonça Bezerra; Secretaria do Estado da Saúde do Ceará  
Jorg Heukelbach; Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará

**OBJETIVO:** Monitorar a suscetibilidade de populações de *Triatoma brasiliensis* procedentes de áreas endêmicas para doença de Chagas no município de Jaguaruana, Ceará, ao inseticida deltametrina. **MATERIAL E MÉTODOS:** Análise por meio de Bioensaios por aplicação tópica em 10 populações de *Triatoma brasiliensis* oriundos de cinco áreas rurais do município de Jaguaruana, Ceará: Latadas, Cipriano Lopes, Jenipapeiro, Quixabinha e João Duarte. Diluições em série de deltametrina foram preparadas a partir da solução mãe grau técnico diluído em acetona (PA) e aplicadas no dorso ou ventre de ninfas I estágio da geração F1 de *T. brasiliensis* com auxílio de uma microseringa Hamilton acoplada a dispensador automático de mesma marca (volume de 0,2 µL de solução por aplicação). Para cada dose da população de campo foram utilizadas 30 ninfas, assim, um número total de 240 ninfas para cada população. Nos insetos do grupo controle foi aplicada somente acetona em 15 ninfas por dose. A cepa susceptível utilizada como referência para *T. brasiliensis* foi procedente do município de Umari (CE) sendo definida por Obara (2010). A partir das curvas de mortalidade foram determinados a Dose Letal 50 (DL50) que mata 50% da população testada e a Razão de Resistência (RR). Os dados de mortalidade obtidos nos ensaios biológicos, foram utilizados em análise probit para o cálculo da dose letal 50% (DL50) para cada linhagem (localidade). Nas análises foi utilizado o programa Probit Analisis (Raymond, 1985). **RESULTADOS:** Os bioensaios descreveram uma DL50 que variou de 0,296 (0,274–0,319) a 0,452 (0,415–0,485) e as razões de resistência (RR50) entre 1,01 a 1,55. A localidade de Jenipapeiro (JaJenP30) apresentou a menor DL 50 e Quixabinha (JaQuiP27) a maior. As populações de triatomíneos das localidades de Cipriano Lopes (JaCiLP26), Latadas (JaLaP116) e Quixabinha (JaQuiP27) apresentaram diferenças significativas na DL50 com a população de referência (TsREF), quando os limites de confiança foram sobrepostos ao nível de 95%. **CONCLUSÃO:** Neste trabalho detecta-se pequenas alterações de suscetibilidade e baixos níveis de resistência nas populações de *T. brasiliensis* testadas, no entanto, as alterações temporais de suscetibilidade deverão ser continuamente monitoradas, a fim de nortear adequadamente as ações de controle dos vetores da DC.

**Palavras Chave:** Resistência a inseticidas, *Triatoma brasiliensis*, Piretróide.

**ANEXO 7 - Artigo submetido****Research****Short Title:** Microsatellites in *Triatoma brasiliensis***Title:** Infestation Dynamics of *Triatoma brasiliensis* (Triatominae: Reduviidae) Characterized by Microsatellites in the Rural Zone of Northeast Brazil**Authors:**Luiz Osvaldo Rodrigues Silva<sup>1,3§</sup> ([luizuva@gmail.com](mailto:luizuva@gmail.com))Carlota Josefovicz Belisário<sup>2§+</sup> ([carlotabelisario@yahoo.com.br](mailto:carlotabelisario@yahoo.com.br))Flávio Campos Ferreira<sup>2</sup> ([flavio.ferreira1991@yahoo.com.br](mailto:flavio.ferreira1991@yahoo.com.br))Jorg Heukelbach<sup>1</sup> ([heukelbach@ufc.br](mailto:heukelbach@ufc.br))Liléia Diotaiuti<sup>2</sup> ([diotaiuti@minas.fiocruz.br](mailto:diotaiuti@minas.fiocruz.br))Claudia Mendonça Bezerra<sup>3</sup> ([cmendoncab@gmail.com](mailto:cmendoncab@gmail.com))<sup>1</sup> - School of Medicine, Federal University of Ceará, Fortaleza-CE, Brazil<sup>2</sup> - Triatominae Research Group, René Rachou Institute / FIOCRUZ – MG, Belo Horizonte-MG, Brazil<sup>3</sup> - State Health Department of Ceará, Fortaleza-CE, Brazil

§ Same level of contribution

+ - Corresponding author's address: <sup>1</sup> - Carlota Josefovicz Belisário. René Rachou Institute / Fiocruz Minas, Triatominae Research Group. 1715 Augusto de Lima Avenue, Barro Preto,



Belo Horizonte – Minas Gerais, Brazil. ZIP Code 30.190-002. Email: carlotabelisario@yahoo.com.br"

### **Abstract**

**Background:** *Triatoma brasiliensis* is the species of greatest epidemiological importance in the semi-arid region of Northeast Brazil, yet there are still few studies aimed at understanding its population dynamics. This study presents a genetic analysis using microsatellite markers in samples of *T. brasiliensis* collected in the municipality of Jaguaruana, Ceará.

**Methods:** A cross-sectional study based on the search for triatomines in wild and domestic environments. Population analysis was conducted on 29 samples of *T. brasiliensis*, totaling 227 insects. Primers for nine microsatellite loci described for *T. brasiliensis* were tested. The following parameters were obtained: the number and size of alleles for each locus, observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ), Hardy-Weinberg equilibrium test (HW), AMOVA, fixation indices ( $F_{st}$ ,  $F_{is}$ , and  $F_{it}$ ), Mantel test, first-generation migrant test, and genetic structure.

**Results:** Most of the samples showed Hardy-Weinberg disequilibrium as a result of heterozygosity deficit. This may have been caused by persistent infestations from specimens that survived the spraying and increased inbreeding. AMOVA indicates that differences mainly occur among individuals, and the variation between groups is low, suggesting low genetic diversity among the observed subpopulations.

**Conclusions:** The complexity of the population dynamics of *T. brasiliensis* in the municipality of Jaguaruana demonstrates that the anthropic environment is colonized from various sources, directly impacting the control of the species in the region. Therefore, an

effective plan for vector surveillance and control needs to understand the local infestation processes.

**Keywords:** Chagas Disease; *Triatoma brasiliensis*; Microsatellites; Genetic variability; Ceará State.

## Background

Chagas disease (CD) or American trypanosomiasis is caused by *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909), a flagellated protozoan that infects its hosts, primarily through contact with the feces of triatomines. According to the World Health Organization, it is considered a neglected tropical disease [1]. Endemic in 21 countries in the Americas, it is estimated that *T. cruzi* infection affects approximately 6 million people worldwide, with another 75 million living in areas at risk of contracting the infection [1]. In Brazil, it is estimated that there are between 1.9 and 4.6 million individuals infected with *T. cruzi*, with the majority suffering from the disease in its chronic form [2, 3].

According to Alevi et al., 2021 [4], triatomines are subdivided into five tribes, eighteen genera, and 157 species. In Brazilian territory, 67 species of triatomines have been reported [5]. Of these, 43% are present in the Northeast, with 20 predominantly detected inside human dwellings, highlighting the ability of these vectors to invade and establish colonies in human habitations [5-7].

*Triatoma brasiliensis* is part of a species complex that currently includes two subspecies: *T. brasiliensis brasiliensis* and *T. brasiliensis macromelasoma* Galvão, 1956 [8], and six species: *Triatoma lenti* Sherlock & Serafim, 1967, *Triatoma juazeirensis* Costa & Felix, 2007, *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 [9], *Triatoma sherlocki* Papa, Jurberg, Carcavallo, Cerqueira & Barata, 2002 [10], *Triatoma petrocchiae* Pinto & Barreto, 1925 [11], and *Triatoma melanica* Costa, et al., 2006 [12].

*Triatoma b. brasiliensis* Neiva, 1911, has its center of dispersion in the Caatinga [13]. As a rock-dwelling species, it primarily associates with rodents, marsupials, and bats in its natural habitat [14-16]. It is a species capable of invading and colonizing various domestic and peridomestic habitats. It exhibits a high dietary eclecticism, is aggressive, opportunistic, and has significant infection rates. These characteristics make it the primary vector of *T. cruzi* in the Caatinga region of Northeast Brazil [17-19].

Despite *T. brasiliensis* being considered one of the species of greatest epidemiological importance in Brazil, studies on its genetic variability are still scarce [20-26]. Microsatellites (Short Tandem Repeats - STR) are short DNA sequences (2 to 6 base pairs) repeated in tandem, widely found in the genome. They have a codominant inheritance pattern, are polymorphic, and easily amplifiable [24]. The variability of polymorphic alleles is useful for the development of studies on structure, population genetic characterization, taxonomy, and genomic mapping. These studies can provide important information about gene flow between populations, vector dispersion, taxonomic assessment of vectors, and population studies [28-30].

Jaguaruana belongs to an endemic area for Chagas disease in Ceará, where vector control was implemented in the 1970s. Even today, we still find significant domiciliary infestations of triatomines. These infestations may be related to various factors, among which we can highlight operational failures in chemical control activities and/or resistance of these triatomine populations to the insecticides used in vector control. These possibilities underscore the urgent need to understand how the infestation process by *T. brasiliensis* occurs in the region.

In this study, we characterized the genetic variability of *T. brasiliensis* populations using microsatellite markers, which have been successfully employed in assessing gene flow

in triatomines. This is a valuable tool for understanding the process of infestation and reinfestation of domestic habitats [20, 22, 31-39].

## **Material and methods**

### **Research design and study site**

#### **Study location**

This is a cross-sectional study conducted in the municipality of Jaguaruana, in the arid region of Northeast Brazil, in the state of Ceará (CE) (Figure 1). Jaguaruana is located in the mesoregion of Jaguaribe (4°50'02"S; 37°46'52"W), at an altitude of 20 meters, and is 150 km away from Fortaleza. The climate is a Mild Semiarid Warm Tropical, with an average temperature ranging from 26°C to 28°C and an average annual rainfall of 752.6 mm<sup>3</sup>, with a rainy season from January to April [40]. The area features a mix of vast palm forests, with Carnaúba palms (*Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore) as the main representative, and desert areas with xerophytic vegetation, shrubby and spiny, where the "xique-xique" cactus (*Pilosocereus gounellei* (F.A.C. Weber)) is abundant and often serves as a shelter for small rodents and reptiles. The *T. brasiliensis* species is found throughout the municipality, both in wild and anthropic environments.

Rural locations with a history of *T. brasiliensis* infestation, regular vector control coverage, and the practice of insecticide use by the local population were inclusion criteria for the study. These locations include Latadas (44 households), Cipriano Lopes (36 households), Jenipapeiro (36 households), and Quixabinha (28 households). Wild captures were performed in five rocky outcroppings in the João Duarte locality and a cluster of "xique-xiques" in Cipriano Lopes (Figure 1).

A Household Unit (UD) consists of the intradomicile (human habitation) and the peridomicile (the area around human habitation), including fences, animal shelters, piles of objects (tiles, bricks, stones, wood, etc.), permanent and temporary structures.

The collection of triatomines was carried out manually and exhaustively in the Household Units (UDs) of the four study locations by endemic agents from the municipality of Jaguaruana, following the standard procedure [41] with the supervision of the State Health Department in October 2021. Following the recommended guidelines [42], the UD's with the presence of triatomines (in the intradomicile and/or peridomicile) were sprayed with 20% alphacypermethrin SC (Fersol Industria e Comércio). The collected triatomines were identified according to their ecotope and the UD of origin.

For the population analysis, a total of 252 insects organized into 29 samples were used. These insects were collected from domestic environments (intradomicile and peridomicile) and the wild environment in 2021. Additionally, frozen insects collected in the same locations in 2016 and 2018, referred to as REMOT (Monitoring Network for the Susceptibility of Brazilian Triatomine Populations to Insecticides), were included in the analysis. The samples were defined based on the Household Unit of capture. In some UD's, insects were collected in more than one ecotope. These were kept in separate samples, as were wild captures from different points within the same location (Table 1). Each sample was composed of a minimum of five individuals from the same capture ecotope, in accordance with the requirements of the Analysis of Molecular Variance (AMOVA) [43,44].

### **Microsatellite Genotyping**

Two legs from each insect were used for genomic DNA extraction with the Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega) using the protocol by Borges et al. (2000). DNA was quantified using a NanoDrop 1000 Spectrophotometer (Thermo Scientific) and stored at -

20°C. Primers for nine microsatellite loci described for *T. brasiliensis* were tested: Tb728, Tb830, Tb860, Tb7180, Tb8112, Tb8124, Tb2146, Tb8102, and Tb8150 [45].

Polymerase Chain Reaction (PCR) was conducted in a final volume of 10  $\mu$ L containing 1 unit of Platinum® Taq DNA polymerase (Invitrogen), 1x buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM dNTP, 5 pmol of each primer, 2 ng of DNA, and ultrapure water. The forward primers were labeled with a bioluminescent probe. Reactions were carried out in a Veriti® 96-Well thermal cycler (Thermo Fisher Scientific) following this cycle: initial denaturation at 95°C for five minutes, 28 cycles at 94°C for 30s, annealing at a temperature dependent on the primer for 30s, extension at 72°C for 45s, followed by a final extension at 72°C for five minutes. Annealing temperatures were 48°C for Tb860; 54°C for Tb8112; 52°C for Tb2146; 56°C for Tb8102; touchdown (temperature reduction increment): 60→50°C and 58°C for Tb728, Tb830, Tb7180, Tb8124. To determine the locus sizes, PCR products were diluted 1:10 in ultrapure water with a GeneScan™ 500 LIZ® size standard (Thermo Fisher Scientific) and genotyped on an ABI 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystem®) by the DNA Sequencing Platform of the René Rachou Institute. Chromatogram analysis was performed in the Geneious 10.1.2© software (Biomatters Limited).

### **Data analysis**

Several analyses were conducted, including obtaining the number and size of alleles for each locus, observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_e$ ) heterozygosity, Hardy-Weinberg equilibrium (HW) verification, AMOVA, and calculation of fixation indices ( $F_{st}$ ,  $F_{is}$ , and  $F_{it}$ ) (Arlequin version 3.5) [44], as well as a Mantel test. The statistical tests were performed at a 5% significance level with a maximum loss of 5% of amplified alleles. To visualize the relationships obtained by the pairwise  $F_{st}$  values, a Neighbor-Joining dendrogram (10,000 bootstraps) (POPTREEW) was generated [46].

To assess the significance of deviations from Hardy-Weinberg equilibrium, the program was used with parameters of 10,000 Markov chains, 20 replicates, and 5,000 iterations per replicate (Genepop version 4.3) [47, 48].

Allelic richness was calculated using the rarefaction statistical method based on a minimum of 8 genes per sample (HP-Rare version 1.1) [49, 50].

The presence of null alleles was checked (Micro-Checker 2.2.3) [51], and their influence was assessed using the Exclusion of Null Alleles (ENA) methodology with a 95% confidence interval in 10,000 bootstraps (FreeNa) [52].

The first-generation migrant test [53] was conducted to identify potential immigrants within each sample and their most likely origin [54]. The test was performed using the computational criterion of the frequency-based method proposed by Paetkau [55] along with the algorithm described by Paetkau [53]. This analysis was conducted with a total of 10,000 Monte Carlo chains in individual simulations with a statistical value of  $p \leq 0.05$  for each generated result (GENECLASS2).

To verify the genetic structure of *T. brasiliensis* samples, genetic clusters (K) were evaluated from one to 15, with a total of 20 repetitions and 1,000,000 interactions per Markov chain and Monte Carlo (burn-in 100,000) for each K evaluated under the model of ancestral mixture and allele frequencies correlated between populations (Structure version 2.3.4) [56, 57]. The best K value was identified using the method described by Puechmaille [58] and Structure Selector [59].

## Results

Of the nine primer pairs tested, five amplified microsatellite loci and were polymorphic (Table 2). The average number of alleles observed per locus ranged from 1.9 (Tb860) to 5.1 (Tb7180), with an average of 3.2. Sample 1 from João Duarte Silvestre (JDuaWild1) had the highest average number of alleles (NA = 4.2) and allelic richness (AR =

3.3), while UD 18c1 from Latada (Lat18c1) had the lowest average number of alleles (NA = 2.0) and allelic richness (AR = 1.8). The number of alleles (NA) and allelic richness (AR) of the samples are shown in Table 3 and Supplementary 1.

The locus with the lowest average observed homozygosity was Tb8124 (0.16), and the highest was Tb7180 (0.56). As for the average expected heterozygosity, Tb860 had the lowest average (0.31), and Tb8124 had the highest (0.65), respectively. Loci Tb728 and Tb830 are in Hardy-Weinberg equilibrium (HW). Regarding populations, most showed HW disequilibrium due to an excess of homozygotes (p-values  $\leq 0.05$  for the heterozygote deficit test), with the exception of CLOpR69. These results, HO and HE for each locus, and the HW for the samples are described in Table 4.

The presence of null alleles was observed for all five loci (Supplementary 2); however, they do not influence the analysis since the  $F_{st}$  values, excluding null alleles (0.105) and including them (0.102), fall within the confidence interval of the ENA method (0.088 to 0.124 without null alleles; 0.091 to 0.118 with null alleles).

The Analysis of Molecular Variance (AMOVA) demonstrated that 67.2% of genetic variability is among all individuals analyzed, 22.6% among individuals from the same sample, and 10.2% among samples. The fixation indices presented a significant p-value  $\leq 0.05$ , indicating the occurrence of inbreeding in the sample characteristic of subpopulation presence (Table 5).

The inbreeding coefficient ( $F_{is}$ ) ranged from -0.09 (Jenipapeiro UD 1 and Cipriano Lopes UD 26 from REMOT) to 0.48 CLOpR69. Positive  $F_{is}$  values were observed in the following samples: Latadas UDs 23, 3c1, 11; Cipriano Lopes UDs 17, 33c1p1, 15c2, and the wild habitat (CLOpWild); Jenipapeiro UD 6c1; João Duarte wild habitats 2 and 3 (JDuaWild2 and JDuaWild3). The Quixabinha UD 27 from REMOT and Jenipapeiro UDs 1 showed negative  $F_{st}$  values. The pairwise population differentiation index ( $F_{st}$  pairwise) ranged from



0 to 0.44. The comparisons with the lowest values were: Cipriano Lopes wild habitat (CLopWild) with Latadas UD 14c1; the wild habitats 2 and 5 of João Duarte (JDuaWild2 and JDuaWild5); Quixabinha UD 27 from REMOT with João Duarte wild habitat 4 (JDuaWild4); Latadas UDs 25 and 70 from REMOT; and Latadas UD 70 from REMOT with João Duarte wild habitat 5 (JDuaWild5). The most differentiated samples were Jenipapeiro UD 6c1 and Latadas UD 18c1. Negative  $F_{st}$  indices were considered indicative of no genetic differentiation, but a larger number of individuals would be necessary to confirm (Table 6). The Mantel test did not indicate a correlation between genetic differentiation and geographical distance, which is also presented in Table 6. The relationships between the samples using pairwise  $F_{st}$  values can be better observed in the dendrogram in Figure 2.

The wild populations of João Duarte (JDuaWild2 and JDuaWild4) form a cluster, while the other populations from the same locality did not cluster with the first two. Genetic similarity is also observed between the populations of Cipriano Lopes (CLop33c1p2) and João Duarte wild habitat 3 (JDuaWild3); João Duarte (JDuaWild5) and Latadas REMOT (LaR25), Latadas REMOT (LatR70) and Quixabinha REMOT (QuixR27). The Latadas population (Lat18c1) appears to be the most differentiated.

The test for first-generation migrants detected 19 individuals, as shown in Table 8. Quixabinha UD 5 was the only source sample with two individuals reclassified. Samples from Latadas UD 18c1, Jenipapeiro UD 15, and João Duarte wild habitat 3 (JDuaWild3) received two individuals each. Latadas UD 70 from REMOT received three individuals (Table 7).

The analysis of genetic structure indicated six clusters with significant diversity out of the 20 possibilities generated. The samples that appeared more homogeneous were those from Latadas UD 18c1 and UD 23; however, they do not resemble each other (Figure 3).

## Discussion

*Triatoma brasiliensis* is the species of greatest epidemiological importance in the semiarid region of Northeast Brazil [60]. It's a rock-dwelling species, typically found in rodent burrows among rocks [13, 61].

Studies conducted in Northeast Brazil have reported that *T. brasiliensis* is more prevalent in domestic environments [62-65]. This species can form large colonies and shows high levels of natural infection with *T. cruzi* [66].

Understanding the genetic processes and gene flow between environments can shed light on the infestation processes by native triatomines such as *T. brasiliensis*, which are adapted to both natural and anthropic environments [20, 22].

Microsatellite markers have proven to be a valuable tool for investigating the population dynamics of triatomines, with the goal of implementing new vector control strategies [22, 31, 34, 67].

In our study, the number of alleles per locus ranged from three to 14, which is lower than what has been observed by other authors studying the same species in the Northeast region [20, 22]. This difference is likely due to the smaller number of triatomines in our samples compared to the studies cited. The population that showed the highest average number of alleles per locus (4.2) was of wild origin (from the João Duarte locality, JDuaWild1), in agreement with previous studies in Ceará [20]. Almeida [22] observed that the wild populations studied had the highest average numbers of alleles when compared to peridomestic populations. The population of *T. brasiliensis* from the Latadas locality (UD18c1) had the lowest average number of alleles, allelic richness, and the highest value of Fis (0.44), suggesting heterozygosity deficit. This is likely due to mating among individuals restricted to specific habitats, resulting in inbreeding. Figure 4 illustrates the ecological

complexity and stability of the peridomestic ecotope responsible for maintaining this population of triatomines, where the availability of shelter, food sources, and regular abiotic conditions favored their extensive development.

The majority of the samples exhibited Hardy-Weinberg disequilibrium due to heterozygosity deficit, likely as a result of persistent infestations from specimens that survived insecticide spraying and increased inbreeding [68].

The analysis of molecular variance (AMOVA) indicates that diversity mainly occurs among individuals, with low variation between groups but the presence of subpopulations, as indicated by significant  $F_{st}$  values. This is a relevant finding for *T. brasiliensis* because population studies, including food sources, microclimatic variables, and *Trypanosoma cruzi* characterization, suggest intense traffic of this species between artificial and wild environments, indicating a panmictic unit with gene flow [16, 17, 20, 22, 69-71].

Although clear sample clusters from the same locality were observed in the pairwise  $F_{st}$  dendrogram (Figure 2), samples captured in different localities and environments also exhibit similarities, suggesting infestations with diverse origins, either from different source populations or surviving insects after insecticide spraying. Pyrethroid insecticide susceptibility tests (unpublished results) demonstrate that the populations analyzed here are susceptible to these insecticides. These results emphasize the complexity of vector control and highlight operational difficulties and potential failures, particularly in peridomestic environments. This complexity arises from numerous inaccessible hiding places for insecticide spraying in both intradomestic and peridomestic settings, even with the residuality of the insecticide indoors [67, 69, 71].

Several findings highlight the complexity of the population dynamics of *T. brasiliensis* in Jaguaruana. The dendrogram makes it clear that the two peridomestic annexes of UD 23 in Cristiano Lopes (Clop23p1 and Clop23p2) had the same infestation source or

one colonization gave rise to another. A different situation occurred in the peridomestic annexes of UD 33 in the same locality (Clop33p1 and Clop33p2), where the infestation sources were distinct. The dendrogram further suggests that the sylvatic focus found in Cristiano Lopes was responsible for the invasion of *T. brasiliensis* in UDs 17, 27, and 15c2 in the same locality (Clop17, Clop27, and Clop15c2). The sylvatic populations of João Duarte (JDuaWild 2 and 4) are close to each other, and despite the insects being captured in different ecotopes, the dendrogram suggests that they are a single dispersing population. The movement of insects between anthropic and sylvatic environments is also evident from the first-generation migrant test.

The epidemiological importance of *T. brasiliensis* in the Northeastern Caatinga is related to its adaptation to both anthropic and natural environments [70]. Therefore, the way humans transform the environment, degrading it, reduces the distance between humans and various organisms, including hosts and vectors of *T. cruzi* [13, 14, 17]. In other words, the risk of domestic *T. cruzi* transmission is directly related to the local residents' use and occupation of natural resources and the irregularity of vector control actions.

## **Conclusions**

The complexity of the population dynamics and the various infestation scenarios presented by *T. brasiliensis* in the Brazilian Northeast, along with its adaptation to anthropic environments, underlines the importance of understanding possible operational shortcomings. These include identifying domestic colonies, irregular and limited coverage of control measures, and residual spraying issues, all of which are crucial for comprehending the current challenges in the sustainability of vector control and surveillance actions. By addressing these challenges, we can contribute to more effective prevention and control strategies, including the elimination of residual foci and early detection of invading insects in human dwellings.

**Abbreviations:**

DU: Domiciliar unit;

FIS: Inbreeding coefficient of an individual (I) relative to the subpopulation (S);

FIT: Inbreeding coefficient of an individual (I) relative to the total (T) population;

FST: Inbreeding coefficient of subpopulations (S) compared to the total population (T); HE: Heterozygosity Expected;

HO: Heterozygosity Observed;

HW: Hardy-Weinberg equilibrium;

PCR: Polymerase Chain Reactions;

STR: Short Tandem Repeats;

CS: Concentrated suspension;

REMOT: Rede de Monitoramento da Suscetibilidade das Populações Triatomínicas Brasileiras aos Inseticidas (Network for Monitoring the Susceptibility of Brazilian Triatomine Populations to Insecticides.);

AMOVA: Análise de Variância Molecular (Analysis of Molecular Variance.)

**Acknowledgments:** The endemic disease control agentes of the Jaguaruana, Decentralized Health Area - Russas (CE), particularly Márcia Lúcia de Oliveira Gomes (Coordinator) and Francisca Samya Silva de Freitas. The Vector Control Center of the Health Department of the State of Ceará. We are thankful to the technicians of the DNA Sequencing Platform at IRR/Fiocruz Minas.

**Funding:** Financial support provided by Instituto René Rachou/Fiocruz Minas, Coordination of Health Surveillance and Fiocruz Reference Laboratories and Department of Health of Ceará State (SESA-CE)

### **Author contribution**

All authors contributed extensively to the work presented in this paper.

Experimental design: CJB, LD, CMB, LORS

Insect collection: LORS, CMB

Experiment development: CJB, FCF

Data analysis: CJB, LORS, CMB, LD, FCF, JH

Drafting and revising the article: LORS, CJB, CMB with significant contribution from the other authors.

All authors read and approved the final manuscript

**Availability of data and materials:** The data generated or analyzed in this study are included in this article and its additional files.

### **Declarations**

**Ethics approval and consent to participate:** This research project was submitted to Plataforma Brasil and approved by the Research Ethics Committee with Human Subjects of the Federal University of Ceará (UFC), under number 6,024,559 on April 26, 2023.

**Consent for publication:** All the authors consent the publication of the manuscript.

**Conflict of interest:** The authors declare no conflict of interest.

## Referências

1. WHO. La enfermedad de Chagas (trypanosomiasis americana). 2018. Geneva: World Health Organization; 2018.
2. WHO. Chagas disease (American trypanosomiasis) Geneva: World Health Organization; 2022.
3. Dias JCP, Ramos Jr NA, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, et al. 2nd Brazilian Consensus on Chagas Disease, 2015. Rev.Soc.Bras.Med.Trop. 2016;49 (Supl 1):3-60.
4. Alevi C, Cesar K, de Oliveira J, da Silva DR, Galvão C. Trends in taxonomy of Chagas disease vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): From Linnae an to integrative taxonomy. Pathogens. 2021;10:1627.
5. Galvão C, Jurberg J. Vetores da Doença Chagas no Bras. Curitiba (Brazil): Sociedade Brasileira de Zoologia; 2014.
6. Schofield CJ, Galvão C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. Acta Trop. 2009;110:88–100.
7. Sousa OMF, dos Santos CGS, dos Santos RF, Fonseca EOL, Lima AGD. Triatomíneos da Bahia: manual de identificação e orientações para o serviço. Salvador/BA: Oxente; 2020.
8. Costa J, Cordeiro Correia N, Neiva VL, Gonçalves TCM, Felix M. Revalidation and redescription of *Triatoma brasiliensis* macromelasoma Galvão, 1956 and an identification key for the *Triatoma brasiliensis* complex (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2013;108:785–9.

9. Mendonca VJ, Alevi KCC, Pinotti H, Gurgel-Goncalves R, Pita S, Guerra AL, et al. Revalidation of *Triatoma bahiensis* Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera: Reduviidae) and phylogeny of the *T. brasiliensis* species complex. *Zootaxa*. 2016;4107:239–54.
10. Mendonça VJ, Da Silva MTA, De Araújo RF, Martins J, Bacci M, Almeida CE, et al. Phylogeny of *Triatoma sherlocki* (Hemiptera: Reduviidae:Triatominae) inferred from two mitochondrial genes suggests its location within the *Triatoma brasiliensis* complex. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;81:858–64.
11. Oliveira J, Marcet PL, Takiya DM, Mendonça VJ, Belintani T, Bargues MD, et al. Combined phylogenetic and morphometric information to delimit and unify the *Triatoma brasiliensis* species complex and the Brasiliensis subcomplex. *Acta Trop*. 2017;170:140–8.
12. Costa J, Argolo AM, Felix M. Redescription of *Triatoma melanica* Neiva & Lent, 1941, new status (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Zootaxa*. 2006;1385:47–52.
13. Forattini OP, Barata JM, Santos JL, Silveira AC. Feeding habits, natural infection and distribution of domiciliary Triatominae in the northeast region of Brazil. *Rev Saúde Públ*. 1981;15:113–64.
14. Alencar JE. História Natural da Doença de Chagas no Estado do Ceará. Fortaleza: UFC; 1987.
15. Carcavallo RU, Giron IG, Jurberg J, Lent H. Atlas dos Vetores da Doença de Chagas nas Américas. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1997.
16. Borges ÉC, Dujardin JP, Schofield CJ, Romanha AJ, Diotaiuti L. Dynamics between sylvatic, peridomestic and domestic populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) in Ceará State, northeastern Brazil. *Acta Trop*. 2005;93:119–26.
17. Bezerra CM, Barbosa SE, De Souza RDCM, Barezani CP, Gürtler RE, Ramos AN, et al. *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911: food sources and diversity of *Trypanosoma cruzi* in wild



and artificial environments of the semiarid region of Ceará, northeastern Brazil. *Parasit Vectors*. 2018;11:642.

18. Catalá S, Bezerra CM, Diotaiuti L. Thermal preferences and limits of *Triatoma brasiliensis* in its natural environment--field observations while host searching. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110:793–6.

19. Schofield CJ, Diotaiuti L, Dujardin JP. The process of domestication in Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999;94(Suppl 1):375–8.

20. Bezerra CM, Belisário CJ, D'Ávila Pessoa GC, Rosa ACL, Barezani CP. et al. Microsatellite variation revealed panmictic pattern for *Triatoma brasiliensis* (Triatominae: Reduviidae) in rural northeastern Brazil: the control measures implications. *BMC Genet*. 2020;21:92.

21. Almeida CE, Pacheco RS, Haag K, Dupas S, Dotson EM, Costa J. Inferring from the Cyt B gene the *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) genetic structure and domiciliary infestation in the State of Paraíba, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;78:791–802.

22. Almeida CE, Faucher L, Lavina M, Costa J, Harry M. Molecular individual based approach on *Triatoma brasiliensis*: inferences on triatomine foci, *Trypanosoma cruzi* natural infection prevalence, parasite diversity and feeding sources. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10:e0004447.

23. Oliveira MT, Branquinho RT, Alessio GD, Mello CG, Nogueira-de-Paiva NC, Carneiro CM, et al. TcI, TcII and TcVI *Trypanosoma cruzi* samples from Chagas disease patients with distinct clinical forms and critical analysis of in vitro and in vivo behavior, response to treatment and infection evolution in murine model. *Acta Trop*. 2017;167:108–20.

24. Borges EC, Romanha AJ, Diotaiuti L. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in the populational study of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911. *Cad Saude Publica*. 2000;16(Suppl 2):97–100.
25. Borges EC, Dujardin JP, Schofield CJ, Romanha AJ, Diotaiuti L. Genetic variability of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae) populations. *J. Med. Entomol*. 2000;37:872–7.
26. Costa J, Freitas-Sibajev MGR, Marchon-Silva V, Pires MQ, Pacheco RS. Isoenzymes detect variation in populations of *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997;92:459–64.
27. Ferreira M, Grattapaglia D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3rd ed. Brasília, DF: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia; 1998.
28. Balloux F, Lugon-Moulin N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Mol. Ecol*. 2002;11:155–65.
29. Martins W, de Sousa D, Proite K, Guimaraes P, Moretzsohn M, Bertoli D. New softwares for automated microsatellite marker development. *Nucleic Acids Res*. 2006;34:e31.
30. Nass LL. Recursos Genéticos vegetais. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia; 2007.
31. Piccinali R, Gaunt MW, Gurtler RE. A microsatellite-based analysis of house infestation with *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) after insecticide spraying in the Argentine Chaco. *J Med Entomol*. 2018;55:609–19.
32. Belisário CJ, Pessoa GC, Silva EM, Rosa AC, Ferreir, RE, Bedin C, Wilhelms T, de Mello F, Coutinho HS, Fonseca EL, dos Santos RF. Genetic characterization of residual *Triatoma infestans* populations from Brazil by microsatellite. *Genet*. 2017;145:105–14.
33. Piccinali RV, Gurtler RE. Fine-scale genetic structure of *Triatoma infestans* in the Argentine Chaco. *Infect Genet Evol*. 2015;34:143–52.

34. Foley EA, Khatchikian CE, Hwang J, Ancca-Juárez J, Borrini-Mayori K, Quispe-Machaca VR, et al. Population structure of the Chagas disease vector, *Triatoma infestans*, at the urban-rural interface Mol. Ecol. 2013;22(20):5162–71.
35. Pérez de Rosas AR, Segura EL, Fusco O, Guiñazú AL, García BA. Fine-scale genetic structure in populations of the Chagas' disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera, Reduviidae). Genet. 2013;14:107–17.
36. Gourbière S, Dorn P, Tripet F, Dumonteil E. Genetics and evolution of triatomines: from phylogeny to vector control. Heredity. 2012;108:190–202.
37. Dias FB, de Paula AS, Belisário CJ, Lorenzo MG, Bezerra CM, Harry M, Diotaiuti L. Influence of the palm tree species on the variability of *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Infec. Genet. Evol. 2011;11:869–877.
38. Marcet PL, Mora MS, Cutrera AP, Jones L, Gürtler RE, Kitron U, et al. Genetic structure of *Triatoma infestans* populations in rural communities of Santiago del Estero, northern Argentina. Infect Genet Evol. 2008;8:835–46.
39. Garcia BA, Zheng L, Rosas ARPD, Segura EL. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the Chagas' disease vector *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). Mol Ecol Notes. 2004;4:568–71.
40. Ceará. Perfil Básico Municipal de Jaguaruana 2017: IPECE; 2017.
41. BRASIL. Manual de Normas Técnicas da Campanha de Controle da Doença de Chagas. 1980.
42. BRASIL. Orientações sobre vigilância entomológica e a utilização de inseticida de ação residual no controle de triatomíneos - vetores da doença de Chagas. 2012.
43. Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics. 1992;131:479–91.

44. Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour.* 2010;10:564–7.
45. Harry M, Dupont L, Quartier M, Diotaiuti L, Walter A. et al. New perspectives for population genetics of Chagas'disease vectors in the Northeastern Brazil: isolation of polymorphic microsatellite markers in *Triatoma brasiliensis*. *Infect Genet Evol.* 2009;9:633-7.
46. Takezaki N, Nei M, Tamura K. POPTREEW: web version of POPTREE for constructing population trees from allele frequency data and computing some other quantities. *Mol Biol Evol.* 2014;31:1622-4.
47. Rousset F, Raymond M. Testing heterozygote excess and deficiency. *Genet.* 1995;140:1413–19.
48. Rousset F. genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 2008;8:103-6.
49. Kalinowski ST. Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. *Conserv. Genet.* 2004;5:539–43.
50. Kalinowski ST. HP Rare 1.0: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. *Mol. Ecol.* 2005;5:187–9.
51. Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DP, Shipley P., 2004. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol. Ecol.* 2004;4:535–8.
52. Chapuis MP, Estoup A. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol. Biol. Evol.* 2007;24:621–631.
53. Paetkau D, Slade R, Burden M, Estoup A. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol. Ecol.* 2004;3:55–65.

54. Piry S, Alapetite A, Cornuet JM, Paetkau D, Baudouin L, Estoup A. GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *J. Hered.* 2004;95:536–539.
55. Paetkau D, Calvert W, Stirling I, Strobeck C. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Mol. Ecol.* 1995;4:347–54.
56. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genet.* 2000;155:945–59.
57. Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics.* 2003;164: 1567–87.
58. Puechmaille SJ. The program structure does not reliably recover the correct population structure when sampling is uneven: subsampling and new estimators alleviate the problem. *Mol. Ecol. Resour.* 2016;16:608–627.
59. Li YL, Liu JX. Structure Selector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Mol. Ecol. Resour.* 2018;18:176–7.
60. Dias JCP, Machado EMM, Fernandes AL, Vinhaes MC. Esboço geral e perspectivas da doença de Chagas no Nordeste do Brasil. *Cad Saude Publica.* 2000;16(Sup. 2):13–24.
61. Diotaiuti, LG. Triatomíneos. In: Teixeira A. Doença de Chagas e evolução. Editora Universidade de Brasília, Brasília; 2007. <http://icts.unb.br/jspui/handle/10482/46015>. Accessed 05 oct 2023.
62. Bezerra CM, Cavalcanti LP, Souza R de C, Barbosa SE, Xavier SC, Jansen AM, et al. Domestic, peridomestic and wild hosts in the transmission of *Trypanosoma cruzi* in the Caatinga area colonised by *Triatoma brasiliensis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014;109(7):887–98.
63. Sarquis O, Borges-Pereira J, Mac Cord JR, Gomes TF, Cabello PH, Lima MM. Epidemiology of chagas disease in Jaguaruana, Ceará, Brazil I Presence of triatomines and

index of *Trypanosoma cruzi* infection in four localities of a rural area. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99:263–70.

64. Sarquis O, Carvalho-Costa FA, Oliveira LS, Duarte R, DAndrea PS, et al. Ecology of *Triatoma brasiliensis* in northeastern Brazil: seasonal distribution, feeding resources, and *Trypanosoma cruzi* infection in a sylvatic population. J Vector Ecol, 2010;35:385-94.

65. Walter A, Rego IP do, Ferreira AJ, Rogier C. Risk factors for reinvasion of human dwellings by sylvatic triatomines in northern Bahia State, Brazil. Cad Saude Publ. 2005;21:974-978.

66. Sarquis O, Sposina R, de Oliveira TG, Mac Cord JR, Cabello PH. et al. Aspects of peridomiciliary ecotopes in rural areas of northeastern Brazil associated to triatomine (Hemiptera, Reduviidae) infestation, vectors of Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006;101:143-147.

67. Diotaiuti L, Faria Filho OF, Carneiro FCF, Dias JCP, Pires HH, Schofield CJ. Operational aspects of *Triatoma brasiliensis* control. Cad Saude Publica. 2000;16(Suppl 2):61–7.

68. Hartl DL, Clark AG. Princípios de Genética de Populações v.4. Artmed Editora; 2010.

69. Lima MM, Sarquis O, de Oliveira TG, Gomes TF, Coutinho C, Daflon-Teixeira NF, et al. Investigation of Chagas disease in four periurban areas in northeastern Brazil: epidemiologic survey in man, vectors, non-human hosts and reservoirs. Trans R Soc Trop Med. 2012;106(3):143–9.

70. Lorenzo MG, Guarneri AA, Pires HH, Diotaiuti L, Lazzari CR. Microclimatic properties of the *Triatoma brasiliensis* habitat. Cad Saude Publica. 2000;16(Suppl. 2):69–74.

71. Oliveira-Lima JW, Faria Filho OF, Vieira JB, Gadelha FV, Oliveira Filho AM. Peridomiciliary changes and implications for *Triatoma brasiliensis* control. Cad Saude Publica. 2000;16(Suppl. 2):75 –81.