



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical**

**Detecção parasitológica e molecular de  
tripanossomatídeos em triatomíneos sinantrópicos e  
primatas neotropicais no Brasil Central**

**Thaís Tâmara Castro e Souza Minuzzi**

Orientador: Rodrigo Gurgel Gonçalves

Co-orientadores: Nadjar Nitz e César Augusto Cuba Cuba

Brasília

2016

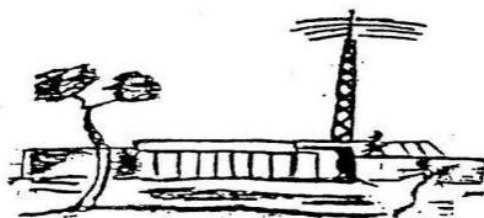
**Detecção parasitológica e molecular de tripanossomatídeos em  
triatomíneos sinantrópicos e primatas neotropicais no Brasil Central**

Thaís Tâmara Castro e Souza Minuzzi

Tese de Doutorado  
apresentada ao programa de Pós-  
Graduação em Medicina Tropical da  
Universidade de Brasília para a  
obtenção do título de doutora em  
Medicina Tropical, na área de  
concentração: Epidemiologia e  
Controle das Doenças Infecciosas e  
Parasitárias.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Gurgel  
Gonçalves.

Co-orientadores: Profa. Dra. Nadjar  
Nitz Silva Lociks de Araújo e Prof. Dr.  
César Augusto Cuba Cuba.



Brasília  
2016

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

MM668d Minuzzi-Souza, Thaís Tâmara Castro  
Detecção parasitológica e molecular de  
tripanossomatídeos em triatomíneos sinantrópicos e  
primatas neotropicais no Brasil Central / Thaís Tâmara  
Castro Minuzzi-Souza; orientador Rodrigo Gurgel  
Gonçalves; co-orientador Nadjar Nitz . -- Brasília,  
2016.  
154 p.

Tese (Doutorado - Doutorado em Medicina Tropical)  
-- Universidade de Brasília, 2016.

1. Trypanosoma cruzi. 2. Trypanosoma rangeli. 3.  
Blastocrithidia triatomae. 4. PCR em tempo real  
(qPCR). 5. Microscopia Óptica. I. Gonçalves, Rodrigo  
Gurgel, orient. II. Nitz , Nadjar , co-orient. III.  
Título.

**Detecção parasitológica e molecular de tripanossomatídeos em  
triatomíneos sinantrópicos e primatas neotropicais no Brasil Central**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**BANCA EXAMINADORA**

Dr. Rodrigo Gurgel Gonçalves - Presidente  
Universidade de Brasília

Dra. Glória Ester Cadavid Restrepo - Membro titular  
Universidad Nacional de Colombia, Medellin, Colombia

Dr. Gustavo Romero - Membro titular  
Universidade de Brasília

Dr. Jaime Martins Santana - Membro titular  
Universidade de Brasília

Dra. Carla Nunes de Araújo - Membro titular  
Universidade de Brasília

Dr. Marcos Obara - Membro suplente  
Universidade de Brasília

Universidade de Brasília, 21 de março de 2016.

## RESUMO

**Introdução:** O conhecimento atualizado da distribuição e infecção natural de triatomíneos sinantrópicos é fundamental para vigilância e controle da doença de Chagas. No Brasil, a detecção de *Trypanosoma cruzi* em triatomíneos é realizada por microscopia óptica (MO) do conteúdo intestinal, que pode apresentar diversas limitações quanto à sua sensibilidade e especificidade.

**Objetivos:** Analisar a ocorrência de triatomíneos e suas taxas de infecção natural por *T. cruzi* e outros tripanossomatídeos no estado de Goiás (GO) e Distrito Federal (DF), estimar a sensibilidade da MO para detecção de *T. cruzi* em triatomíneos e analisar a transmissão de *T. cruzi* em ambientes onde colônias de triatomíneos infectados forem detectadas. **Métodos:** Os espécimes (adultos e ninfas) capturados no intra e peridomicílio e resultados dos exames parasitológicos a fresco e lâminas coradas foram obtidos por meio do LACEN/SES/GO e DIVAL/DF. O DNA foi extraído de amostras do intestino para realização das PCRs (cPCR e qPCR) utilizando quatro marcadores moleculares (TCZ, kDNA, rDNA 18S e rDNA24sq).

Também, foi avaliada a infecção por *T. cruzi* em colônia de *P. megistus* (nested cPCR) e em amostras sanguíneas provenientes de primatas neotropicais não-humanos (nested qPCR) encontrados no Zoológico de Brasília (ZooB).

**Resultados:** Foram analisados 2715 triatomíneos provenientes de 12/30 regiões administrativas do DF e 95/246 municípios de GO. Houve predomínio de *T. sordida* em GO e no DF *P. megistus* foi mais frequente, com taxas de infecção por flagelados similares a *T. cruzi* de 4,6% e 1,6%, respectivamente. A MO revelou 144/841 triatomíneos positivos para tripanossomatídeos, resultando em uma taxa de infecção de 17,1%. A qPCR, específica para *T. cruzi*, revelou 347 positivos (41,2%). A sensibilidade da MO para *T. cruzi*, tendo como referência a TCZ qPCR, foi estimada em 23,6% e a da rDNA24sq cPCR foi estimada em 58,5%. *Blastocrithidia triatomae* e *T. rangeli* foram detectadas nos triatomíneos assim como infecções mistas por *T. cruzi* e *B. triatomae*. As taxas de infecção por *T. cruzi* nas espécies de triatomíneos

variaram de 19 a 67% sendo maiores para *T. pseudomaculata* e em triatomíneos vivos e frescos. O sequenciamento revelou TcI em *P. megistus* e *T. sordida* e TcII em *P. megistus* e *T. pseudomaculata*. No ZooB *T. cruzi* foi encontrado em *P. megistus* (44/50) e em primatas (17/26) de seis gêneros e oito espécies, sendo que um *Mico chrysoleucus* e um *Saguinus niger* apresentaram alta parasitemia. **Discussão e Conclusão:** Os resultados mostram uma baixa sensibilidade da MO para a detecção de tripanosomatídeos em triatomíneos e infecções por pelo menos três espécies de tripanossomatídeos, o que reforça a necessidade de métodos de alta especificidade para o desenvolvimento de estratégias de vigilância adequadas dos vetores da doença de Chagas. O método de TCZ qPCR pode ser considerado um padrão referência para detecção de *T. cruzi* em triatomíneos.

**Palavras chaves:** Triatominae, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli*, *Blastocrithidia triatomae*, tripanossomatídeos, qPCR, PCR, Microscopia óptica.

## Abstract

**Introduction:** The current knowledge of the distribution and natural infection of synanthropic triatomines is essential for surveillance and control of Chagas disease. In Brazil, optical microscopy (OM) has been used to detect *Trypanosoma cruzi* in triatomines, but this technique can present several limitations in terms of sensitivity and specificity. **Objectives:** Analyze the occurrence of triatomines and their natural infection rates for *Trypanosoma cruzi* in state of Goiás (GO) and the Federal District (DF), estimate the sensitivity of OM to detect *T. cruzi* in triatomines, and analyze *T. cruzi* transmission foci in environments where infected triatomine colonies were detected. **Methods:** The specimens (adults and nymphs) captured in the intra and peridomicile and results of parasitological fresh and stained slides were obtained from LACEN/SES/GO and DIVAL/DF. DNA was extracted from the intestine samples for the PCRs (cPCR and qPCR) using four molecular markers (TCZ, kDNA, 18S and rDNA24sq). Also, *T. cruzi* infections were assessed in a *Panstrongylus megistus* colony and from blood samples of nonhuman primates found in the Brasilia Zoo (ZooB). **Results:** 2715 triatomines were analyzed from 12/30 administrative regions of the DF and 95/246 municipalities of GO. In GO, *T. sordida* predominate while in the DF *P. megistus* was more frequent, with infection rates by flagellates similar to *T. cruzi* of 4.6% and 1.6%, respectively. OM revealed 144/841 trypanosomatid-positive triatomines, resulting in a 17.1% infection rate. The *T. cruzi* TCZ qPCR, showed 347 positive (41.2%). The sensitivity of *T. cruzi*-OM with reference to TCZ qPCR was estimated at 23.6% and rDNA24sq cPCR was estimated at 58.5%. Triatomines were infected by *Blastocrithidia triatomae* and *T. rangeli*. However, mixed infections with *T. cruzi* and *B. triatomae* were found. Infection rates by *T. cruzi* in triatomine species ranged 19-67% and were higher for *T. pseudomaculata* and alive and fresh triatomines. The sequencing of some samples confirmed the identification of *B. triatomae* and revealed TcI in *P. megistus* and *T. sordida*, and TcII in *P. megistus* and *T.*

*pseudomaculata*. In ZooB, *T. cruzi* was found in 44/50 *P. megistus* and 17/26 primates (six genera and eight species); one *Mico chrysoleucus* and one *Saguinus niger* showed high parasitaemia. **Discussion and Conclusion:** The results show a low sensitivity of OM for trypanosomatids detection in triatomines and infections for at least three trypanosomatid species, which reinforces the need for highly specific methods for the development of appropriate surveillance strategies of the vectors of Chagas disease. It also suggests that the TCZ qPCR method could be considered as a reference standard for detection of *T. cruzi* in triatomines.

**Key words:** Triatomine, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma rangeli*, *Blastocrithidia triatomae*, trypanosomatids, qPCR, PCR, optical microscopy.