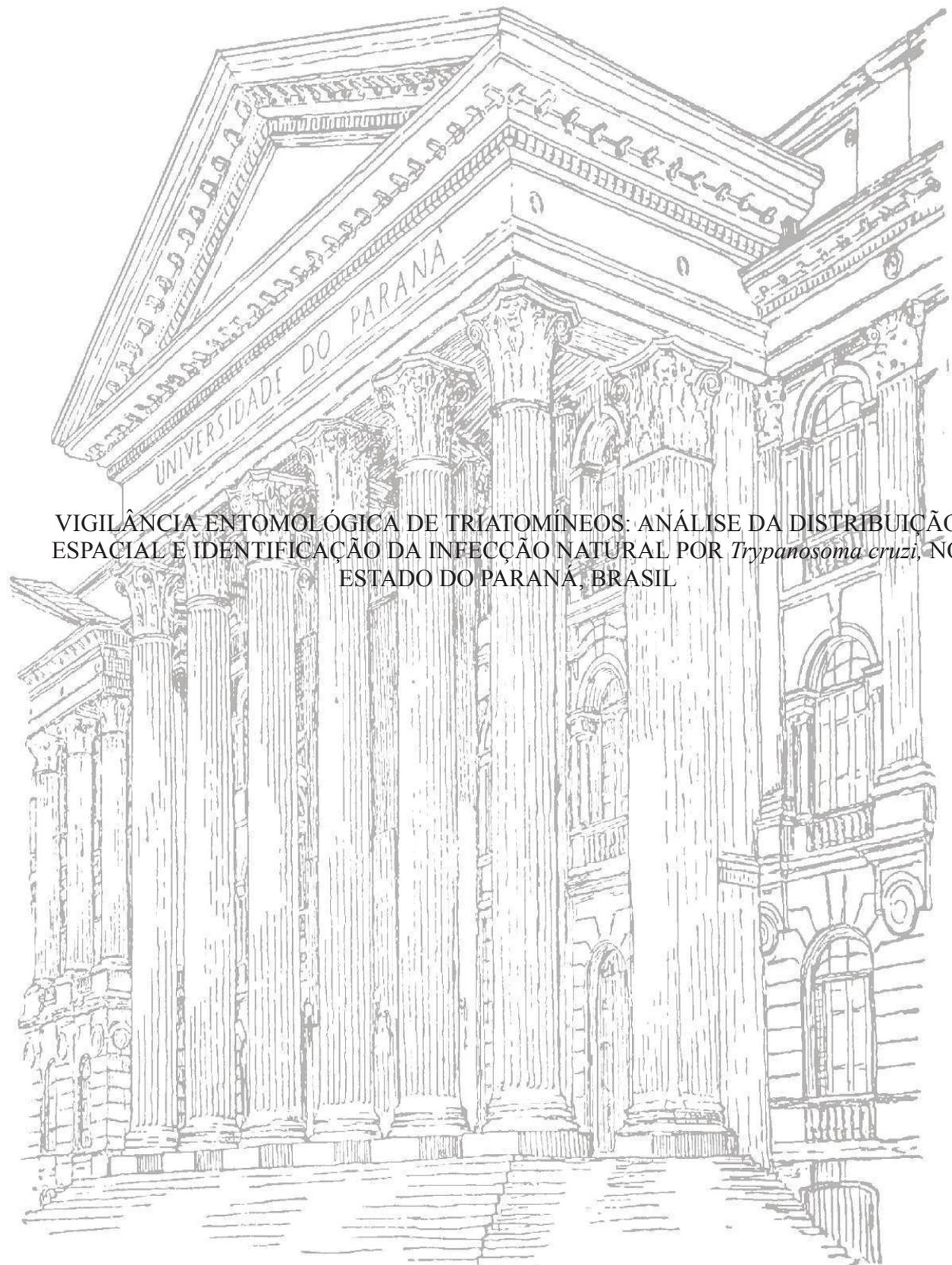


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
MICHELE MARTHA WEBER LIMA



VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO
ESPACIAL E IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma cruzi*, NO
ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

CURITIBA
2025

MICHELE MARTHA WEBER LIMA

VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO
ESPACIAL E IDENTIFICAÇÃO DA INFECÇÃO NATURAL POR *Trypanosoma cruzi*, NO
ESTADO DO PARANÁ, BRASIL

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Microbiologia, Patologia e Parasitologia, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, com requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Larissa Magalhães Alvarenga

Coorientadores: Prof. Dr. Andrey José de Andrade e Prof. Dr. Wanderson D. da Rocha

CURITIBA
2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Lima, Michele Martha Weber

Vigilância entomológica de triatomíneos : análise da distribuição espacial e identificação da infecção natural por *Trypanosoma cruzi*, no estado do Paraná, Brasil / Michele Martha Weber Lima. – Curitiba, 2025.

1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Larissa Magalhães Alvarenga.

Coorientadores: Prof. Dr. Andrey José de Andrade e Prof. Dr. Wanderson D. da Rocha

1. *Tripanossoma cruzi*. 2. Vigilância epidemiológica. 3. Saúde pública – Paraná. I. Alvarenga, Larissa Magalhães. II. Andrade, Andrey José de, 1978-. III. Rocha, Wanderson Duarte da. IV. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia. V. Título.

Bibliotecária: Giana Mara Seniski Silva. CRB-9/1406

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MICHELE MARTHA WEBER LIMA**, intitulada: **Vigilância Entomológica de triatomíneos: análise da distribuição espacial e identificação da infecção natural por *Trypanosoma cruzi*, no estado do Paraná, Brasil.**, sob orientação da Profa. Dra. LARISSA MAGALHÃES ALVARENGA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 06 de Maio de 2025.

Assinatura Eletrônica

04/07/2025 12:58:20.0

LARISSA MAGALHÃES ALVARENGA
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

02/07/2025 15:20:42.0

MATEUS NOBREGA AOKI
Avaliador Externo (FIOCRUZ - PARANÁ - INSTITUTO CARLOS
CHAGAS)

Assinatura Eletrônica

07/07/2025 13:50:19.0

MAGDA CLARA VIEIRA DA COSTA RIBEIRO
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

03/07/2025 08:46:07.0

DÉBORA DO ROCIO KLISOWICZ
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

A maior recompensa para o trabalho do
homem não é o que ele ganha com isso, mas o
que ele se torna com isso.

(John Ruskin)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, em especial:

A Deus por me dar sabedoria e condições financeiras e psicológicas para permanecer neste projeto.

A minha família, pais, irmãos e sobrinhos.

Aos professores Larissa Magalhães Alvarenga, Andrey José de Andrade e Wanderson D. da Rocha que me deram suporte e me direcionaram no desenvolvimento deste projeto.

A Pós-graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia da Universidade Federal do Paraná.

Aos colegas dos laboratórios, em especial o Laboratório de Imunoquímica (LIMQ), o Laboratório de Parasitologia Molecular e ao laboratório de GFP.

E por fim, aos meus colegas de trabalho da Secretaria Estadual da Saúde do Paraná.

RESUMO

A distribuição dos vetores da doença de Chagas e suas potenciais associações com humanos e taxas de infectividade pelo *Trypanosoma cruzi* permitem identificar regiões de maior risco da doença, além de favorecer tomadas de decisões assertivas em saúde pública. O trabalho teve dois objetivos, um deles vinculado a estimar a infectividade de triatomíneos por meio da amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) e, em um segundo momento, avaliar a distribuição dos triatomíneos encontrados no estado do Paraná entre os anos de 2012 a 2021. Realizando a padronização da técnica de LAMP, com *primers* idealizados, alvos do gene da proteína ribossomal L3, foi possível amplificar amostras de fezes de triatomíneos sem processo de extração de DNA. Os *primers* foram específicos, não apresentaram reatividade cruzada com outros parasitos. Ainda, foi possível expressar e purificar uma *Bst* DNA polimerase funcional, demonstrando que os custos em relação a técnica por LAMP podem ser reduzidos. A seleção dos *primers* e a região alvo de amplificação são inéditas considerando estudos de amplificação por LAMP com o DNA de *T. cruzi*. Porém, apesar de promissora, as amplificações apresentaram limitações no processo de reprodução, precisando ser ajustado o processo de padronização, da técnica de LAMP, as dificuldades de amplificação podem estar relacionadas, por exemplo, com a qualidade das amostras ambientais encaminhadas. Já aplicando a modelagem de nicho ecológico com os vetores encontrados no Paraná, os mesmos, apresentaram uma alta adequabilidade climática e paisagística, principalmente na região norte. A espécie *Panstrongylus megistus* mostrou-se domiciliada no estado do Paraná. Ainda, as amostras apresentaram uma alta taxa de infectividade, em torno de 22,7%, valor este, que aumentou nos últimos anos. Esses achados permitiram avançar um pouco mais sobre o conhecimento dos elementos relevantes no contexto da doença de Chagas, como também, reforçou a necessidade de realização de mais estudos para a proposição efetiva de métodos mais sensíveis com baixo custo, que possam ser empregados rapidamente para confirmação da infectividade dos barbeiros encontrados nos ambientes peri e intradomiciliar.

Palavras-chaves: vigilância entomoepidemiológica; avaliação molecular; saúde pública.

ABSTRACT

The distribution of Chagas disease vectors and their potential associations with humans and infectivity rates by *Trypanosoma cruzi* allow the identification of regions at higher risk of the disease, in addition to favoring assertive decision-making in public health. The study had two objectives, one of which was linked to estimating the infectivity of triatomines through loop-mediated amplification (LAMP) and, secondly, to evaluate the distribution of triatomines found in the state of Paraná between 2012 and 2021. By standardizing the LAMP technique, with idealized primers targeting the ribosomal protein L3 gene, it was possible to amplify triatomine fecal samples without a DNA extraction process. The primers were specific and did not show cross-reactivity with other parasites. Furthermore, it was possible to express and purify a functional *Bst* DNA polymerase, demonstrating that costs in relation to the LAMP technique can be reduced. The selection of primers and the target region for amplification are unprecedented considering LAMP amplification studies with *T. cruzi* DNA. However, despite being promising, the amplifications presented limitations in the reproduction process, requiring adjustments to the standardization process of the LAMP technique. The amplification difficulties may be related, for example, to the quality of the environmental samples sent. Applying ecological niche modeling to the vectors found in Paraná, they showed high climatic and landscape suitability, especially in the northern region. The species *Panstrongylus megistus* was shown to be domiciled in the state of Paraná. Furthermore, the samples presented a high infectivity rate, around 22.7%, a value that has increased in recent years. These findings allowed us to advance a little further in our knowledge of the relevant elements in the context of Chagas disease, as well as reinforcing the need to carry out further studies to effectively propose more sensitive, low-cost methods that can be quickly used to confirm the infectivity of barber bugs found in peri- and intra-household environments.

Keywords: entomoepidemiological surveillance; molecular evaluation; public health.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1 - INFECÇÃO CRÔNICA DA DOENÇA DE CHAGAS-----	15
FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO MECANISMO DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP)-----	17
FIGURA 3 - MODOS DE TRANSMISSÃO DA DOENÇA DE CHAGAS-----	19
FIGURA 4 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICAS DAS UNIDADES DE TIPAGEM DISCRETAS (UTDs) DO <i>Trypanosoma cruzi</i> E SUA ASSOCIAÇÃO COM A PATOGÊNESE HUMANA E OS CICLOS DOMÉSTICOS E SILVESTRES-----	23
CAPÍTULO 1	
FIGURA 1 - ANÁLISE DE INFECTIVIDADE-----	29
FIGURA 2 - ANÁLISE TAXONÔMICA E PARASITOLÓGICA 2021 A 2024 DE TRIATOMÍNEOS COLETADOS NO PARANÁ-----	34
FIGURA 3 - ANÁLISE DA INDUÇÃO E PURIFICAÇÃO DA <i>Bst</i> POLIMERASE <i>IN HOUSE</i> -----	35
FIGURA 4 - VERIFICAÇÃO DO DNA EXTRAÍDO DE <i>Trypanosoma cruzi</i> POR REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (PCR)-----	36
FIGURA 5 - TESTANDO A AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP)-----	37
FIGURA 6 - VERIFICAÇÃO DA AMPLIFICAÇÃO DE FEZES DE TRIATOMÍNEOS POR AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP)-----	37
FIGURA 7 - TESTE DE REATIVIDADE CRUZADA-----	38
FIGURA 8 - ANÁLISE DA LAMP E SUAS LIMITAÇÕES-----	39
FIGURA 9 - EXTRAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE DNA PARA AMPLIFICAÇÃO-----	40
FIGURA 10 - FLUXO DA VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DA DOENÇA DE CHAGAS NO ESTADO DO PARANÁ-----	41

LISTA DE QUADROS E TABELAS

CAPÍTULO 1

QUADRO 1 - <i>PRIMERS</i> PARA REALIZAÇÃO DOS MÉTODOS DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP) UTILIZADOS COMO REFERÊNCIA THEKISOE	<i>et</i>	<i>al.</i>
(2010)-----		31
QUADRO 2 - <i>PRIMERS</i> PARA REALIZAÇÃO DOS MÉTODOS DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP) E REAÇÃO EM DA POLIMERASE CADEIA (PCR)-----		36

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
B3 - *primer* externo *backward*
BIP - *primer* interno *backward*
BNZ - Benznidazol
CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais
CPPI - Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos
DC - Doença de Chagas
DCA - Doença de Chagas Aguda
DCC - Doença de Chagas Crônica
DNA - Ácido Desoxirribonucleico ou *Deoxyribonucleic Acid*
DVDTV - Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores
DTU - *Unidades Discretas de Tipagem*
ENM - *Ecological Niche Models*
F3 - *primer* externo *forward*
FIP - *primer* interno *forward*
Fiocruz - Fundação Oswaldo Cruz
For - *primer forward*
FTA - *Flinders Technology Associates*
HIV - vírus da imunodeficiência humana
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBMP - Instituto de Biologia Molecular
IgG - Imunoglobulina G
IOC - Instituto Oswaldo Cruz
LAMP - Amplificação isotérmica mediada por loop ou *loop-mediated amplification*
LIT - *Liver Infusion Triptose*
NVE - Núcleo de Vigilância Entomológica
NTF - Nifurtimox
MG - Minas Gerais
PCDCh - Programa de Controle da Doença de Chagas
PCR - Reação em Cadeia da Polimerase ou *Polymerase Chain Reaction*
PIT - Posto de Informações de Triatomíneos
PR - Paraná
qPCR - PCR em Tempo Real ou *Real-Time PCR*
Rev - *primer reverse*
RS - Regional de Saúde
SESA - Secretaria Estadual da Saúde
SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
SFB - Soro Fetal Bovino
SMS - Secretaria Municipal de Saúde
SUCAN - Superintendência de Campanhas de Saúde Pública
SUS - Sistema Único de Saúde
TR - Teste Rápido
WB - *Western Blotting*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL -----	12
2 REVISÃO DE LITERATURA -----	13
2.1 Epidemiologia - Cenário da doença de Chagas no Brasil e no mundo-----	13
2.2 Principais características da doença - desafio da detecção precoce-----	14
2.3 Diagnóstico indireto (sorológico) e direto (parasitológico) em humanos-----	16
2.4 Transmissão vetorial - importância do estudo dos triatomíneos e do parasito-----	18
2.5 Desafios das secretarias de saúde para vigilância entomológica da doença de Chagas----	23
3 JUSTIFICATIVA -----	24
4 OBJETIVOS -----	25
4.1 Objetivos Específicos-----	25
CAPÍTULO 1. IDENTIFICAÇÃO DE <i>Trypanosoma cruzi</i> EM AMOSTRAS DE TRIATOMÍNEOS PELO EMPREGO DA AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP): DESAFIOS E PERSPECTIVAS -----	27
1 INTRODUÇÃO -----	27
2 MATERIAL E MÉTODOS -----	28
2.1 Aspectos éticos da pesquisa-----	28
2.2 Identificação taxonômica e análise de infectividade pelo método parasitológico direto---	28
2.3 Extração de Ácido Desoxirribonucleico (DNA)-----	29
2.4 Desenho dos <i>primers</i> -----	31
2.5 Detecção dos parasitos por amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP)-----	31
2.6 Detecção dos parasitos por reação em cadeia da polimerase (PCR)-----	32
2.7 DNA polimerase <i>Bst in house</i> -----	33
3 RESULTADOS -----	33
3.1 Vigilância em saúde - Fluxos de vigilância entomológica e epidemiológica-----	33
3.2 Amplificação isotérmica mediada por loop-----	34
3.3 Desenho dos <i>primers</i> -----	35
3.4 Amplificação: sensibilidade e especificidade-----	36
3.5 Limitações-----	38
4 DISCUSSÃO -----	40
5 CONCLUSÕES -----	47
6 CONSIDERAÇÕES -----	47
REFERÊNCIAS -----	48

CAPÍTULO 2. THE RISK OF VECTOR TRANSMISSION OF <i>Trypanosoma cruzi</i> REMAINS HIGH IN THE STATE OF PARANÁ	60
1 ARTIGO	60
2 CONSIDERAÇÕES	74
APÊNDICE I - Alinhamento dos <i>primers</i> pelo <i>software</i> CLUSTAL	75
ANEXO I - Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais/Secretaria estadual da Saúde/Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos - CEUA/SESA/CPPI	76
ANEXO II - Autorização de coletas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO)	77
ANEXO III - Placa para o Programa de Controle da Doença de Chagas - Postos de Informação de Triatomíneos (PIT)	106
ANEXO IV - Livreto sobre Doença de Chagas para Educação infantil	107
ANEXO V - Nota orientativa nº 13/2024 - CVIA/DAV/SESA	117

1. INTRODUÇÃO GERAL

A doença de Chagas (DC) ou tripanossomíase americana é considerada um agravo de saúde pública negligenciado de elevada prevalência, com expressiva morbidade (DIAS *et al.*, 2016) e mortalidade (MARTINS-MELO *et al.*, 2016). Estima-se que 6 a 7 milhões de indivíduos no mundo apresentem a DC e que aproximadamente 70 milhões de pessoas vivam em áreas de exposição com risco de adquirir a doença (OMS, 2024).

A DC é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e ao subgênero Schizotrypanum. O parasito é transmitido por insetos pertencentes à ordem Hemiptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae (SCHOFIELD & GALVÃO, 2009). Após o repasto sanguíneo, os barbeiros infectados, ou não, defecam sobre o hospedeiro e o agente etiológico se presente nas fezes e urina, é transmitido, sendo capaz de penetrar em contato com a pele ou mucosas lesionadas, podendo levar às diferentes manifestações clínicas da doença (JURBERG *et al.*, 2014; SCHUSTER & SCHAUB, 2000). Existem três quadros clínicos da doença: uma aguda que de modo geral pode ser aparente ou não, passando para uma fase indeterminada e sem sintomas (70% dos casos), e por fim pode progredir para uma fase crônica, sendo que, a fase crônica pode ser classificada como cardíaca (20 a 30%) ou digestiva (10%) (BONNEY *et al.*, 2019).

Algumas espécies de triatomíneos são epidemiologicamente importantes devido às suas características comportamentais, com destaque para o *Triatoma infestans* que atualmente é uma espécie considerada controlada no Brasil (SILVEIRA & DIAS, 2011). Porém, outras espécies nativas também são consideradas importantes para vigilância e controle da doença, como: *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma maculata* e *Triatoma sordida* (BRASIL, 2024; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012).

Entre os métodos de controle da doença de Chagas estão o monitoramento e a redução populacional de triatomíneos domiciliados, tanto os comprovadamente envolvidos na transmissão do *T. cruzi* quanto aqueles suspeitos de desempenharem esse papel (BRASIL, 2024). Essa informação depende da identificação taxonômica correta e estudos sobre a biologia, distribuição geográfica e a capacidade e competência vetorial de cada espécie (GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012).

No Paraná, a vigilância entomológica de triatomíneos ocorre por meio do envolvimento e participação da população, essa chamada de vigilância passiva (SILVA *et al.*, 2014). As amostras são encaminhadas para identificação e diagnóstico por tripanossomatídeos utilizando microscopia óptica que, embora de baixo custo, são menos sensíveis que as

técnicas moleculares (THEKISOE *et al.*, 2010; HAIDAMAK *et al.*, 2016; RIVERO *et al.*, 2017; MINUZZI-SOUZA *et al.*, 2018, BESUSCHIO *et al.*, 2020). Ainda, o exame parasitológico direto, apresenta dificuldades para diferenciação de *T. cruzi* que é um protozoário morfológicamente semelhante ao *Trypanosoma rangeli* e, dessa forma, pode haver erros na identificação, ocultando informações importantes que direcionam a real situação epidemiológica daquelas espécies de triatomíneos em um determinado local (THEKISOE *et al.*, 2010; HAIDAMAK *et al.*, 2016).

Tendo em vista o descrito acima e dada sua importância, a temática da DC foi visitada sob dois aspectos na presente tese. No primeiro capítulo, foi realizada a avaliação molecular de amostras coletadas em campo, para confirmar a presença específica de *T. cruzi*, e para isso, a técnica de LAMP foi padronizada com *primers* inéditos, sendo testada em diferentes condições. No segundo capítulo é apresentado um artigo já publicado na Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, com dados de triatomíneos coletados do ano de 2012 a 2021. O trabalho considerou sexo, estágio de vida, positividade e local onde as espécies foram encontradas e de maneira complementar, avaliou a susceptibilidade de dispersão dos triatomíneos relacionados com camadas de clima e paisagem do estado.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Epidemiologia - cenário da doença de Chagas no Brasil e no mundo

A doença de Chagas (DC) é uma doença negligenciada, sendo estimado que aproximadamente 6 a 7 milhões de pessoas estejam infectadas e, como consequência, cerca de 12.000 pessoas venham a óbito a cada ano (OMS, 2024). A DC está presente em 21 países endêmicos da América Latina e, nos últimos anos, em países não-endêmicos tem se observado um aumento significativo de casos devido a falta de triagem epidemiológica de imigrantes, tornando-se um problema a nível global (SCHUNIS & YADON, 2010; CONNERS *et al.*, 2016). Os Estados Unidos da América (EUA), por exemplo, apresentam a quinta maior carga global da DC com aproximadamente 350.000 pessoas infectadas (LANE & RIBEIRO-RODRIGUES, 2024). Estima-se que, em 2006, 3,8% dos 80.522 imigrantes que foram para a Austrália e 3,5% dos 156.960 imigrantes que foram para o Canadá estavam infectados pelo *T. cruzi*. Na Europa, em 2005, com exceção da Espanha, estimou-se que, 2,9% dos 483.074 imigrantes estavam infectados pelo parasito; na Espanha dos 1.678.711 imigrantes 5,2% estavam potencialmente infectados, além disso estima-se que 24 a 92

recém-nascidos de mães imigrantes podem ter infectado seus filhos congenitamente (SCHUNIS & YADON, 2010).

Em 2020, por meio da Portaria nº 1.061 de 18 de maio de 2020 a notificação da doença de Chagas crônica (DCC) confirmatória foi incluída na Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória e Imediata, pois, até então, apenas os casos agudos da doença eram notificáveis (BRASIL, 2020). Apesar do grande avanço, ainda é necessário estabelecer um processo de implantação das informações que estão sendo gerados pelas unidades notificadoras, permitindo a criação de um banco de dados mais robusto para a DCC. Espera-se que, de forma mais palpável, essa nova etapa auxilie em novas tomadas de decisões gestoras e políticas, assim como um olhar mais atento a esses pacientes que, até então, pareciam ocultos dentro do Sistema Único de Saúde (SUS).

Stanaway & Roth (2015) relataram alguns desafios na obtenção de dados epidemiológicos confiáveis da DCC como, extrema heterogeneidade espacial da doença, demora entre a infecção e a doença sintomática, dados de prevalência tendenciosos, reconhecimento completo de mortes atribuíveis a DC, dados limitados sobre as sequelas e ausência de dados em países não-endêmicos. Os autores apontam que, os dados atribuíveis a DCC podem ser melhorados ao longo dos anos através da estruturação das notificações crônicas.

2.2 Principais características da doença - desafio da detecção precoce

A doença de Chagas (DC) apresenta primeiramente uma fase aguda que na maioria das vezes é assintomática. Porém, pacientes que apresentarem alguma sintomatologia associada nessa fase, podem passar despercebidos, pois apresentam manifestações clínicas gerais, comuns em outras doenças como: febre, dor de cabeça, fraqueza intensa e inchaço no rosto e nas pernas e inchaço no local da picada ou local que o parasito tenha feito a penetração, como mucosas e fissuras na pele.

Passada a fase aguda e sem o diagnóstico e tratamento oportuno, a grande maioria das pessoas permanecem em uma fase indeterminada, aproximadamente 70%. Entretanto, pode ocorrer uma evolução da doença para uma fase crônica, onde 20 a 30% podem apresentar complicações cardíacas e aproximadamente 10% apresentar complicações no sistema digestório (BONNEY *et al.*, 2019) (Fig. 1).

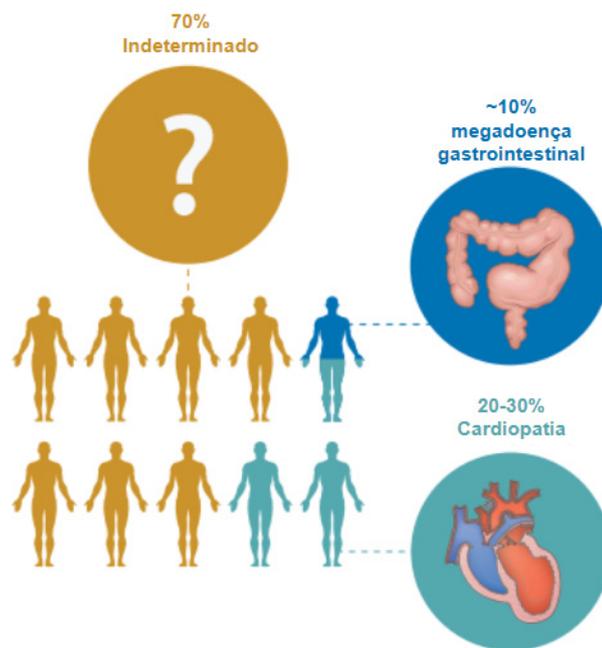


Figura 1. Infecção crônica da doença de Chagas. Fonte: Adaptado de BONNEY *et al.* (2019).

Indivíduos crônicos assintomáticos que porventura venham enfrentar uma condição de imunossupressão, como infecção por vírus da imunodeficiência humana (HIV), receptores de órgãos transplantados, doenças autoimunes, ou em realização de tratamento oncológico, podem apresentar reativação da doença de Chagas evoluindo para casos graves devido a sobrecarga carga parasitária (BENCHETRIT *et al.*, 2018).

Assim, é fundamental o diagnóstico oportuno da doença na fase aguda, para favorecer as chances de cura e na fase crônica assintomática para evitar a progressão de casos crônicos sintomáticos (ANDRADE *et al.*, 2014).

Esse diagnóstico impacta diretamente no tratamento, visto que há atualmente disponível no Brasil duas drogas, sendo que, como primeira linha de escolha é indicado o benznidazol (BNZ) e alternativamente o nifurtimox (NTF), em casos de rejeição ou intolerância ao BNZ. Como a medicação da doença de Chagas é um insumo unicamente fornecido via SUS, e sabendo-se que as chances de cura são mais garantidas para a fase aguda, torna-se essencial o diagnóstico precoce deste agravo (DIAS *et al.*, 2016; LASCANO *et al.*, 2020).

Existem diversos relatos de reações adversas aos medicamentos descritos, inclusive contra indicações a depender do nível do progresso da doença. Além disso, o fármaco não é indicado em casos de gravidez, uma vez que não existem estudos que evidenciam efeitos potencialmente teratogênicos (FERREIRA *et al.*, 2019).

Apesar dos diversos estudos em relação às vacinas, atualmente não existe uma alternativa para a doença de Chagas. Pinazo *et al.*, (2024) relatam a dificuldade no desenvolvimentos desses insumos visto a complexidade do ciclo de vida, estratégias de escape imunológico e diversidade genética do *T. cruzi*. Ainda, relata-se a dificuldade de novos candidatos terapêuticos e biomarcadores para determinar a cura da doença (PINAZO, *et al.* (2024).

Portanto os governos devem implementar políticas públicas que garantam uma detecção precoce da doença, modos de prevenção congênita e tratamento oportuno de casos agudos e crônicos (SCHUNIS & YADON, 2010; LASCANO *et al.*, 2020).

2.3 Diagnóstico indireto (sorológico) e direto (parasitológico) em humanos

A fase aguda da doença apresenta alta carga parasitária, devido a isso, a principal forma de diagnóstico é por meio do exame parasitológico, realizado com auxílio da microscopia óptica de esfregaços de sangue. Outra opção são os exames sorológicos para diagnóstico por IgM. Já para fase crônica o diagnóstico só é confirmatório caso o paciente apresente duas sorologias positivas com metodologias diferentes para anticorpos do tipo IgG (DIAS *et al.*, 2016).

Melhorias no processo de diagnóstico visando a facilidade de aplicação por diversos profissionais de saúde podem interferir no processo de triagem, oportunidade de diagnóstico e tratamento, demonstrando relevância da possibilidade de inclusão de testes rápidos projetados para serem fáceis de utilizar, não exigindo uma infraestrutura especializada e menos procedimentos técnicos (SANTOS *et al.*, 2024).

Pensando nisso, outras formas de diagnóstico estão sendo testadas, como, por exemplo, os testes rápidos (TRs) de fluxo lateral para detecção de antígenos, visto que essas ferramentas de triagem diminuem a necessidade de uma infraestrutura e profissionais especializados e aumentam o acesso ao tratamento oportuno. Porém, ainda existe muita demora em todo o processo de aprovação para aplicação no âmbito do SUS (SILVA *et al.*, 2020; MARCHIOL *et al.*, 2023; LÓPEZ *et al.*, 2024; SANTOS *et al.*, 2024).

Uma ferramenta molecular que vem sendo amplamente utilizada é a amplificação isotérmica mediada por loop, do inglês *loop mediated isothermal amplification* (LAMP), uma vez que é uma técnica mais rápida, sensível e mais barata, quando comparada a outras tecnologias. Na LAMP é utilizada uma *Bst* DNA polimerase que realiza a função de amplificação e deslocamento da fita de DNA, não necessitando de alterações na temperatura

para os processos de desnaturação, amplificação e anelamento. Sendo assim, a reação é realizada isotermicamente em torno de 60-65°C por aproximadamente 30-60 minutos. Um conjunto de 4 *primers* reconhecem um total de seis seqüências distintas no DNA alvo. Para isso, primeiramente um *primer* interno contendo seqüências das fitas sense e antisense do DNA alvo dão o início da amplificação. Ocorre então a síntese de DNA por meio do deslocamento de fita subsequente, iniciada por um *primer* externo, liberando o DNA de fita simples já formado e que servirá como molde para síntese de DNA por outros *primers* internos e externos, o que produz uma estrutura de DNA haste-alça. No ciclo subsequente, um *primer* interno hibridiza com a alça no produto e inicia a síntese de DNA por deslocamento, produzindo o DNA hibridizado com a alça no produto e inicia a síntese de DNA por deslocamento, produzindo o DNA haste-alça e um novo DNA haste-alça com uma haste duas vezes mais longa. Ocorrem sucessivos ciclos com a formação de 10^9 cópias do alvo por hora. Os produtos de amplificação podem ser vistos a olho nú, por colorimetria ou outras técnicas que vem simplificando o processo de diagnóstico molecular (Fig. 2) (NOTOMI *et al.*, 2000).

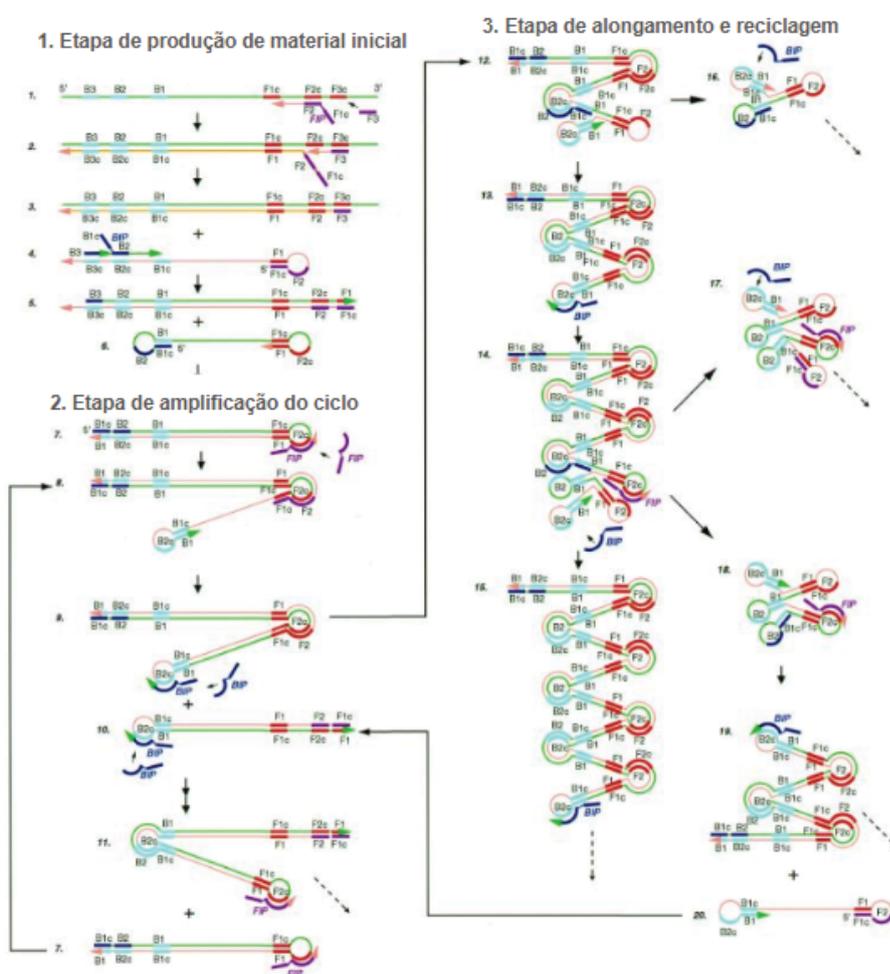


Figura 2. Representação esquemática do mecanismo de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP). Fonte: Adaptado de NOTOMI *et al.* (2000).

Em relação aos ganhos, segundo Flores-Chaves *et al.* (2021) *Tcruzi*-LAMP custa em torno de € 7,5, enquanto a qPCR comercial custa € 20,0 por reação. A LAMP é vantajosa, pois não precisa de variação de temperatura e não exige a presença de termociclador, o que a torna economicamente viável e permite a obtenção de resultados em até 60 minutos. Além disso, a quantidade de DNA produzido é superior, possibilitando a leitura de resultados visualmente sem a necessidade de um equipamento (NOTOMI *et al.*, 2000; BESUSCHIO *et al.*, 2020; ORDÓNEZ *et al.*, 2020).

Estratégias utilizando o sistema CRISPR/Cas9 também estão sendo estudadas como potenciais ferramentas para o desenvolvimento de novos biomarcadores, alvos terapêuticos e até potenciais vacinas para a doença de Chagas (TRAJANO-SILVA *et al.*, 2024; MEDEIROS *et al.*, 2017).

Atualmente a implementação de novos diagnósticos por meio de técnicas de biologia molecular estão sendo incentivadas pelo Ministério da Saúde. O Kit Nat Chagas foi o primeiro teste molecular aprovado pela ANVISA e que está prevista a implantação do uso no SUS (MELO & FERRARI, 2023; MOREIRA *et al.*, 2023). Além disso, recentemente, o TR Chagas Bio-Manguinhos está sendo implementado na Bahia, aplicado de forma amostral, piloto, em uma determinada população (SANTOS *et al.*, 2024). Tal fato, traz um novo conceito e dados sobre a efetividade e a importância da aplicação de testes rápidos e moleculares para doença de Chagas.

Como a doença apresenta uma alta morbidade e altos custos financeiros devido ao manejo clínico complexo, existe a importância de um diagnóstico precoce oportunizando as chances de cura na fase aguda. Sabe-se que em torno de \$600 milhões por ano são custeados pelo governo por meio da assistência médica (MARTINS-MELLO *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2013). Pérez-Molina & Molina (2018) relatam a importância de avanços nos diagnósticos laboratoriais que permitam a identificação oportuna de *T. cruzi*, para que o tratamento seja iniciado o quanto antes, reduzindo assim as taxas de morbidade e mortalidade associadas à doença.

2.4 Transmissão vetorial - importância do estudo dos triatomíneos e do parasito

A transmissão do protozoário *T. cruzi* pode ocorrer por diversos meios, sendo as mais comuns pela via oral, congênita, por transfusão de sangue, transplante de órgãos, vetorial (COURA, 2015; ARAÚJO *et al.*, 2017) e adicionalmente vem sendo discutida possível

transmissão via sexual (ARAÚJO *et al.*, 2017; RIOS *et al.*, 2018; GOMES *et al.*, 2019). Segundo Bonney *et al.*, (2019) a transmissão vetorial corresponde a aproximadamente 70% das infecções, seguida da transmissão congênita em torno de 26% e demais modos de transmissão relacionados em 3% (Fig. 3).

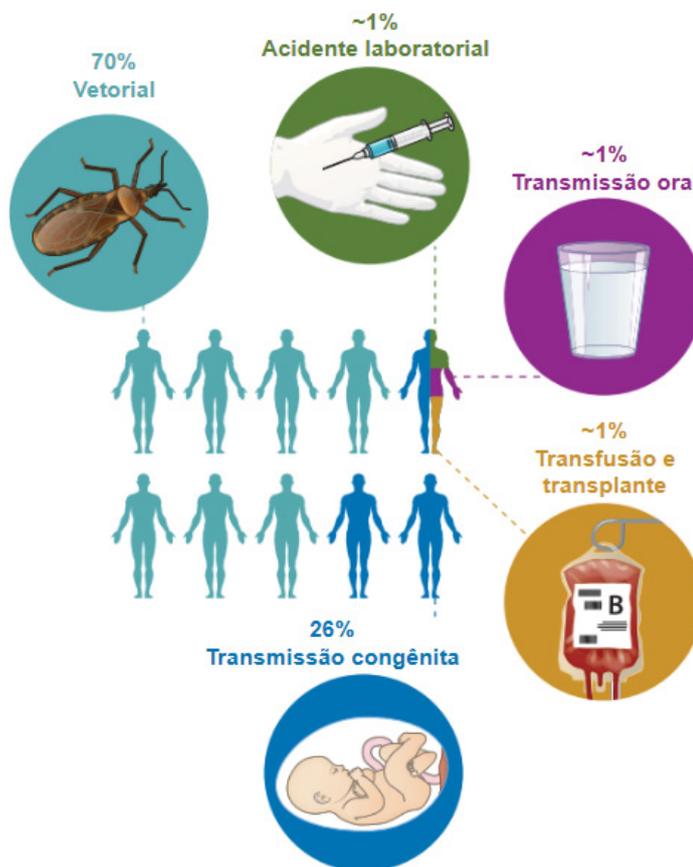


Figura 3. Modos de Transmissão da doença de Chagas. Fonte: Adaptado de BONNEY *et al.* (2019).

Os triatomíneos (Triatominae, Hemiptera, Reduviidae), conhecidos como barbeiros, chupão, chupança, dentre outros nomes populares, são vetores do protozoário *T. cruzi* (Protozoa, Sarcomastigophora, Kinetoplastida, Trypanosomatidae) que é o causador da doença de Chagas (CHAGAS, 1909). Os vetores da doença de Chagas estão distribuídos em cinco tribos e 19 gêneros, abrangendo cerca de 158 espécies (PAIVA *et al.*, 2025). No Brasil, são conhecidas até o momento cerca de 64 espécies de triatomíneos, destas, 52 apresentam importância epidemiológica (GALVÃO *et al.*, 2024; PAIVA *et al.*, 2025). Os principais gêneros de triatomíneos vinculados à transmissão de Chagas são *Panstrongylus*, *Rhodnius* e *Triatoma* (JURBERG *et al.*, 2014).

A principal espécie vinculada a transmissão vetorial da doença de Chagas nas Américas do Sul e em especial no Brasil ocorreu pelo *T. infestans*. Natural da Bolívia, esta

espécie foi introduzida na Argentina, Chile, Paraguai, Uruguai e no Brasil, tornando-se um problema de saúde pública. Somente em 2006, o Brasil conseguiu controlar essa espécie de característica extremamente domiciliar, por meio do intenso trabalho de vigilância e controle químico. Contudo, atualmente, existem ainda focos residuais nos estados da Bahia e Rio Grande do Sul (COURA & DIAS, 2009; DIAS *et al.*, 2002; SILVEIRA & DIAS, 2011; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012; COSTA *et al.*, 2021; PAIVA *et al.*, 2025). Ainda assim, algumas espécies de triatomíneos são epidemiologicamente importantes devido às suas características comportamentais, em especial, por serem consideradas espécies com potencial de domiciliação, como: *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *P. megistus*, *T. maculata* e *T. sordida*. É importante reforçar que, com o controle do *T. infestans*, os nichos ecológicos desocupados por ele estão sendo ocupados pelas espécies nativas (BRASIL, 2024; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012).

No estado do Paraná, há registros da ocorrência de 9 espécies: *P. megistus*, *T. sordida*, *Rhodnius neglectus*, *Panstrongylus geniculatus*, *Rhodnius domesticus*, *P. tibiamaculatus*, *Cavernicola pilosa*, *Microtriatoma borbai* e *Psammolestes tertius* (GALVÃO *et al.*, 2003, GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012; FERRO E SILVA *et al.*, 2018; VIVAS *et al.*, 2021; PAIVA *et al.*, 2025). Porém, as mais encontradas são *P. megistus*, seguida por *P. geniculatus*, *T. sordida*, *R. neglectus* e *P. tibiamaculatus*. Esses registros são, em sua maioria, realizados por uma vigilância passiva, ou seja, quando um morador encontra o triatomíneo em sua residência e o encaminha para a vigilância entomológica do município para notificação. A maioria dos insetos é encontrada no intradomicílio já na forma adulta (TROVO *et al.*, 2024). Após o encaminhamento dessas amostras as mesmas são analisadas quanto à infectividade e taxonomia dando início aos fluxos de vigilância entomológica estabelecidos no Paraná (PARANÁ, 2024).

A taxa de infecção de triatomíneos por *T. cruzi*, nos últimos anos (2012 a 2021), foi de 22,7%, os quais foram encontrados distribuídos por todas as regiões do estado do Paraná (TROVO *et al.*, 2024). Comparando com outros estados, o Paraná apresenta uma alta taxa de infectividade das amostras. O Rio Grande do Norte apresentou 0,8% de infectividade em dados analisados de 2009 a 2012 (BARRETO *et al.*, 2019). Já em Pernambuco a taxa de infectividade foi de 2% entre os anos de 2012 a 2017 (SILVA *et al.*, 2021). Quando comparado com o estado de São Paulo, em um estudo realizado em 2010 a 2012, a infectividade das amostras se apresentaram em torno de 3,4% (SILVA *et al.*, 2014), entretanto entre os anos de 2013 a 2017 a taxa de infectividade aumentou, ficando similar com a do Paraná com 26,5% (SILVA, 2019).

Um dos métodos de controle da doença ainda está baseado no monitoramento por meio da vigilância e da redução populacional de triatomíneos domiciliados, tanto os comprovadamente envolvidos na transmissão do *T. cruzi* quanto aqueles suspeitos de desempenharem esse papel. A análise das amostras é realizada pela identificação taxonômica e estudos sobre biologia, distribuição geográfica e a capacidade e competência vetorial de cada espécie. Além destes, o comprometimento da população e educação em saúde, são fatores fundamentais para o programa de vigilância da doença de Chagas (BRASIL, 2024; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012). Nesse caminho, de controle vetorial baseado no monitoramento e na redução populacional, a vigilância entomológica pode contribuir na identificação precoce de situações relacionadas à transmissão vetorial, impedindo a colonização de domicílios, além de monitoramento do comportamento dessas espécies ao longo dos anos (SILVEIRA & DIAS, 2011).

Visando esses pontos, no Paraná a vigilância da doença de Chagas é estabelecida, principalmente, por uma vigilância entomológica, a qual considera dois fluxos importantes: (i) primeiro, a identificação de cada espécie coletada, visto que, a depender da espécie, é preconizado o desenvolvimento das ações e atividades de controle, como busca ativa por colônias e borrifação de inseticida e (ii) em paralelo é realizada análise da infectividade dos insetos encaminhados (PARANÁ, 2024). Esses fluxos de vigilância entomológica da doença de Chagas no estado do Paraná estão descritos em Nota Orientativa nº13/2024 - CVIA/DAV/SESA.

Quando pensamos no primeiro fluxo citado, podemos relacionar a identificação das espécies notificadas combinadas com estudos de distribuição geográfica e de nichos ecológicos para determinar e correlacionar com o risco de transmissão da doença de Chagas em uma determinada área ou região em que o vetor esteja presente (TOWNSEND, 2006; GURGEL-GONÇALVES *et al.*, 2012). Com a modelagem de nicho ecológico (ENM) é possível inferir áreas potenciais de ocorrência, utilizando algoritmos matemáticos para relacionar esses dados com variáveis ambientais. Essa abordagem tem sido usada para várias doenças, como hantavírus e leishmaniose visceral (MUYLAERT *et al.*, 2019; KUHLS *et al.*, 2021) e também para doença de Chagas em diferentes regiões, pois é significativa para entender os requisitos ambientais e a distribuição geográfica dos vetores, levando a uma melhor compreensão dos aspectos epidemiológicos da doença (COSTA & PETERSON, 2012). Costa *et al.* (2002) utilizaram pela primeira vez a metodologia de ENM para analisar espécies brasileiras de triatomíneos. Outros autores já relataram o uso desta importante

ferramenta (COSTA *et al.*, 2002; GURGEL-GONÇALVES & CUBA, 2009; COSTA *et al.*, 2014; FERRO E SILVA *et al.*, 2018; TROVO *et al.*, 2024).

Já no segundo fluxo, que está relacionado com a análise parasitológica de insetos, o resultados das amostras direcionam ações de prevenção, visto que, quando positivas, é recomendado que sejam realizadas as sorologias dos moradores da residência onde foram encontrados os vetores positivos (PARANÁ, 2024). A avaliação do conteúdo intestinal é realizada atualmente por microscopia óptica que, embora de baixo custo, tem como uma desvantagem a necessidade de encaminhamento dos triatomíneos vivos até o local de identificação. Além disso, as técnicas por microscopia óptica são menos sensíveis que as técnicas de biologia molecular (THEKISOE *et al.*, 2010; HAIDAMAK *et al.*, 2016; RIVERO *et al.*, 2017; MINUZZI-SOUZA *et al.*, 2018, BESUSCHIO *et al.*, 2020). Ainda, o exame parasitológico direto, apresenta dificuldades para diferenciação de *T. cruzi* que é um protozoário morfológicamente semelhante ao *T. rangeli*, que não é patogênico (STOCO *et al.*, 2024), e, dessa forma, pode haver erros na identificação, levando a um falso-positivo para a DC e ocultando informações importantes que direcionam a real situação epidemiológica daquelas espécies de triatomíneos (THEKISOE *et al.*, 2010; HAIDAMAK *et al.*, 2016). Demonstrando a necessidade de melhoramento da avaliação da infectividade de insetos.

A utilização da técnica de LAMP para analisar amostras de fezes de triatomíneos já foi avaliada, pensando em melhorar o diagnóstico das amostras de campo. Thekiso *et al.* (2010) e Lorocca *et al.* (2024) demonstraram essa possibilidade de aplicação, porém um número maior de amostras em situações reais de campo e sob condições variáveis ainda precisam ser consideradas. Outros autores vêm utilizando a técnica de LAMP para diagnóstico de parasitos, como para detecção de cistos de *Giardia duodenalis* e *Schistosoma mansoni* a partir de amostras de fezes (PLUTZER & KARANIS, 2009; FERNÁNDEZ-SOTO *et al.*, 2014).

Não obstante, explorando as técnicas de biologia molecular, para análise parasitológica, existe a possibilidade de determinar o genótipo das espécies de *Trypanosoma*, permitindo investigar os aspectos ecoepidemiológicos das doenças e os genótipos de *T. cruzi* determinados por marcadores bioquímicos e moleculares das DTUs (unidades discretas de tipagem) (ZINGALES *et al.*, 2012; GUHL, 2017). As diferentes DTUs parecem estar associadas a diferentes ciclos biológicos de transmissão (doméstico ou silvestre) e apresentar certo tropismo tecidual, estando presente em diferentes regiões geográficas (Fig. 4) (GUHL, 2017).

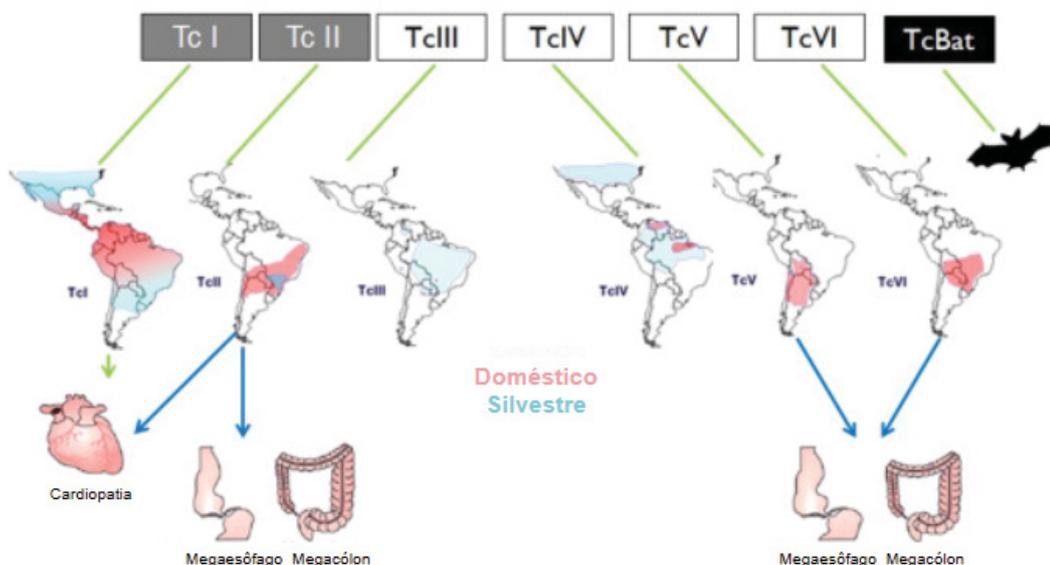


Figura 4. Distribuição geográfica das unidades de tipagem discretas (UTDs) do *Trypanosoma cruzi* (Tc) e sua associação com a patogênese humana e os ciclos domésticos e silvestres. Fonte: Guhl (2017).

2.5 Desafios das secretarias de saúde para vigilância entomológica da doença de Chagas

Em 1976, no Brasil, por meio da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM), deu-se início ao Programa de Controle da Doença de Chagas (PCDCh). No final da década de 1990, ocorreu a descentralização do SUS, de modo que, a responsabilidade da maioria das ações de vigilância em todo Brasil fossem realizadas pelos estados e municípios, e com isso, apesar da abrangência de responsabilidades, deu-se também o enfraquecimento de algumas atividades e programas (OLIVEIRA *et al.*, 2024).

Com o processo de enfraquecimento do PCDCh perdeu-se algumas ações que antes eram executadas com frequência, como por exemplo, a fase preparatória que incluía o reconhecimento geográfico das áreas rurais com interesse na vigilância da doença, mapeamento de localidades e unidades domiciliares, as quais determinavam áreas de risco (SILVEIRA & DIAS, 2011). Ainda, observa-se a descontinuidade de ações e a ausência de prioridade nas atividades desenvolvidas (VILLELA *et al.*, 2007, 2009).

Além disso, em 2006, foi anunciado o controle do principal vetor da doença de Chagas, a espécie *T. infestans*, estabelecendo a “falsa ideia” de erradicação da doença e levando a uma posterior falta de vigilância para ela (SILVEIRA & DIAS, 2011). Com isso, tem-se também o enfraquecimento do conhecimento da população sobre a doença, resultado em subnotificações de triatomíneos (SILVA *et al.*, 2014). Em 2023, em um estudo realizado em municípios endêmicos para doença de Chagas no norte de Minas Gerais (MG) e no Vale

do Jequitinhonha, a vigilância da doença e Chagas foi avaliada apresentando poucos municípios com uma equipe estruturada e poucos registros de atividades relacionados com a vigilância do programa (RAFAEL *et al.*, 2023). Cabe ressaltar ainda, que existe desigualdade de prestação de serviços em diferentes municípios, influenciando diretamente nos resultados da vigilância do agravo (OLIVEIRA *et al.*, 2024).

SILVA *et al.* (2014) relatam a importância de se estabelecer um processo de descentralização de serviços para que fique de responsabilidade do gestor municipal as ações de vigilância e controle e de responsabilidade estadual o acompanhamento dos municípios, por meio do gerenciamento dos sistemas de informações, acompanhamento de casos e análise de indicadores, definindo áreas de risco com intervenções por meio de capacitações e o fortalecimento da vigilância.

Ainda, pensando nas dificuldades abordadas no próprio estado do Paraná, nota-se a diversidade das amostras encaminhadas, sendo que muitas acabam chegando sem viabilidade para análise de infectividade por microscopia óptica e também a falta de um sistema de informação, afetando a análise de dados (TROVO *et al.*, 2024). No estado da Bahia foi possível verificar que a vigilância entomológica realizada pelo método convencional por microscopia óptica apresentou uma sensibilidade muito inferior, quando comparada com a biologia molecular realizada por PCR (HAIDAMAK *et al.*, 2016).

Pensando nessas e outras fragilidades sabemos que, analisar os dados entomológicos gerados para controle e vigilância de vetores podem servir como indicadores de risco, ajudando nas tomadas de decisões locais, reforçando, ainda, a questão de medidas de prevenção, sendo assim, melhorar esse processo é de extrema relevância (RIBEIRO-JR *et al.*, 2021).

3 JUSTIFICATIVA

Como mencionado anteriormente, a doença de Chagas apresenta uma ocorrência significativa, resultando em um elevado número de óbitos anualmente. Trata-se de uma condição que ainda enfrenta muitos desafios, seja no diagnóstico, no tratamento, na avaliação do vetor ou na implementação de políticas públicas eficazes que possam trazer benefícios a médio e curto prazo.

Nesse contexto, as informações sobre os vetores da doença de Chagas são essenciais para orientar decisões públicas. A qualidade e a discussão de todo o processo de vigilância, desde a coleta até o diagnóstico parasitológico, precisam ser consideradas. É crucial que (i) a

população conheça o vetor para facilitar a coleta; (ii) os triatomíneos sejam examinados rapidamente para que as amostras se mantenham preservadas; e (iii) o processo de descentralização atue como uma alternativa para melhorar os fluxos dos serviços públicos.

A realização de estudos que promovam a melhoria da vigilância da doença de Chagas é de grande importância. Alinhado a essa demanda, este trabalho teve como objetivo contribuir em dois momentos distintos. Primeiramente, buscou-se a implementação de uma técnica molecular, como a amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) que possa, no futuro, constituir um diagnóstico *point of care*, visando à descentralização dos serviços. A escolha da técnica de LAMP é baseada em fornecer algumas vantagens quando comparada com outras ferramentas diagnósticas como a especificidade, ser mais sensível, viável financeiramente, rápida e possibilidade de ser simplificada no momento das escolhas da visualização de resultados.

Em segundo lugar, foi realizada uma avaliação das regiões do estado do Paraná relevantes para a dispersão dos vetores da doença. Essas informações, combinadas com as notificações feitas pela população, podem auxiliar na compreensão das características dispersão do vetor, que são fundamentais no contexto da doença de Chagas.

4 OBJETIVO GERAL

Realizar a vigilância entomológica de triatomíneos do estado do Paraná por meio da análise da distribuição espacial de cada espécie e identificação da infecção natural de baboseiros por *Trypanosoma cruzi* por meio da técnica de LAMP.

4.1 Objetivos específicos

- Desenhar *primers* específicos para *Trypanosoma cruzi* para utilização por LAMP;
- Padronizar a técnica de LAMP para vigilância entomológica de tripanossomatídeos do Paraná;
- Avaliar a aplicabilidade da LAMP em amostras provenientes de campo;
- Georreferenciar as notificações de triatomíneos encontradas pela vigilância passiva no estado do Paraná entre os anos de 2012 a 2021;
- Determinar a frequência de infecção natural encontrada em triatomíneos do estado do Paraná de 2012 a 2021;

- Relacionar as notificações de triatomíneos com o bioma, de forma descrever a adequabilidade de cada espécie em cada região do Estado.
- Realizar ações de educação em saúde utilizando o material desenvolvido ao longo do projeto, com a finalidade de ampliar o conhecimento da população sobre a vigilância da doença de Chagas.

CAPÍTULO 1. IDENTIFICAÇÃO DE *Trypanosoma cruzi* EM AMOSTRAS DE TRIATOMÍNEOS PELO EMPREGO DA AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA MEDIADA POR LOOP (LAMP): DESAFIOS E PERSPECTIVAS

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC) ou Tripanossomíase Americana é considerada um agravo de saúde pública negligenciado, de elevada prevalência, com expressiva morbidade (DIAS *et al.*, 2016) e mortalidade (MARTINS-MELO *et al.*, 2016). Estima-se que 6 a 7 milhões de indivíduos no mundo apresentem a DC, com risco de 70 milhões de pessoas poderem contrair a doença (OMS, 2024).

A DC é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909), o qual pode ser transmitido por insetos pertencentes à ordem Hemiptera, família Reduviidae e subfamília Triatominae (SCHOFIELD; GALVÃO, 2009). Esses insetos são hematófagos, necessitando da ingestão de sangue para o seu desenvolvimento (JURBERG *et al.*, 2014). Os triatomíneos (barbeiros) infectados fazem o repasto sanguíneo enquanto, ao mesmo tempo, defecam e urinam sobre o hospedeiro. Nas fezes e urina pode ser encontrado o agente etiológico capaz de entrar em contato com a pele lesionada ou mucosas e como consequência levando ao desenvolvimento da doença (SCHUSTER; SCHAUB, 2000). A DC apresenta uma fase aguda que pode ter manifestações clínicas aparentes ou não e, se não tratada, estabelecer uma fase chamada indeterminada (70% dos casos), a doença pode também progredir para uma fase crônica cardíaca (20 a 30%) ou digestiva (10%) (BONNEY *et al.*, 2019).

A análise parasitológica dos triatomíneos fazem parte dos procedimentos recomendados pelo Ministério da Saúde, em fluxos de vigilância do agravo, essas taxas de infectividade servem de indicadores para monitorar a doença (BRASIL, 2012). No Paraná, a vigilância de triatomíneos ocorre por meio do envolvimento e participação da população, essa chamada de vigilância passiva (SILVA *et al.*, 2014; TROVO *et al.*, 2024). As amostras são analisadas quanto à infectividade por tripanossomatídeos, dando continuidade com fluxos de vigilância entomológica com a busca ativa de insetos e a aplicação de inseticidas e epidemiológica com a vigilância e acompanhamento do paciente, quando necessário (PARANÁ, 2024; TROVO *et al.*, 2024).

A avaliação do conteúdo intestinal do inseto realizada com o auxílio da microscopia óptica para busca de tripanossomatídeos, embora de baixo custo, tem como uma desvantagem a necessidade de encaminhamento dos triatomíneos vivos até o local de identificação. Além disso, a técnica por microscopia se torna menos sensível que as técnicas de biologia molecular

(THEKISOE *et al.*, 2010; HAIDAMAK *et al.*, 2016). Ainda, o exame parasitológico direto, apresenta dificuldades para diferenciação de *T. cruzi* que é um protozoário morfológicamente semelhante ao *Trypanosoma rangeli* e, dessa forma, pode apresentar erros na identificação e ocultar informações importantes que direcionam a real situação epidemiológica daqueles triatomíneos infectados (THEKISOE *et al.*, 2010; HAIDAMAK *et al.*, 2016, NAVES *et al.*, 2017). A técnica da amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) já foi avaliada por Thekisoie *et al.* (2010) e Lorocca *et al.* (2024) para diagnosticar *T. cruzi*. Porém, um número maior de amostras sob condições variáveis ainda precisam ser pesquisadas.

Diante das fragilidades na metodologia atualmente utilizada e ao custo de técnica como a reação em cadeia da polimerase (PCR), o objetivo do trabalho foi avaliar a aplicabilidade da amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) em amostras reais coletadas a campo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aspectos éticos da pesquisa

O trabalho passou pela aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA/SESA-CPPI, via solicitação pelo E-protocolo 18.222.537-1 (ANEXO 1) e as coletas foram devidamente autorizadas pelo SISBIO sob o número: 95034 (ANEXO 2).

2.2 Identificação taxonômica e análise de infectividade pelo método parasitológico direto

Os triatomíneos foram obtidos de coletas realizadas de forma rotineira dentro do serviço da Secretaria da Saúde do Estado do Paraná (SESA/PR) conforme descrito por Trovo *et al.* (2024). A identificação taxonômica de triatomíneos foi realizada de acordo com a chave dicotômica proposta por Lent & Wygodzinsky (1979) e Jurberg *et al.* (2014).

A análise de infectividade foi realizada pelo método convencional, exame direto a fresco do conteúdo intestinal. As amostras, ainda vivas, foram submersas em solução *White* (0,25 g HgCl₂, 6,50 g de NaCl, 1,25 mL de HCl, 250 mL de etanol 95% e 750 mL de água), por 1 hora. Após esterilização, foi realizada a dissecação do inseto, com cortes realizados lateralmente nos conexivos e abertura do abdômen, retirando todo o trato digestivo (intestino médio anterior, intestino médio posterior e reto) que foi cuidadosamente removido com pinça e colocado em meio de cultivo (Fig. 1B). Ainda, parte do conteúdo de dissecação do inseto

como as excretas (fezes e urina), foram depositadas sobre uma lâmina com solução fisiológica de NaCl a 0,9% e sobrepostas por uma lamínula (20 x 20 mm). Os campos foram observados por microscopia com aumento de 400X utilizando um microscópio *Olympus*. Além disso, foi realizada a análise da infectividade das amostras pela coloração com método adaptado de Walker (BRASIL, 2005). Para isso, as fezes foram depositadas sobre solução salina de NaCl 0,9% e foi realizado um esfregaço sobre lâminas. Após a secagem, as amostras foram fixadas com álcool metílico e coradas com Giemsa por cerca de 20 minutos. Posteriormente, o esfregaço foi lavado com água tamponada e foi seco em temperatura ambiente para análise por microscopia óptica com óleo de imersão em aumento de 1000X (Fig. 1).

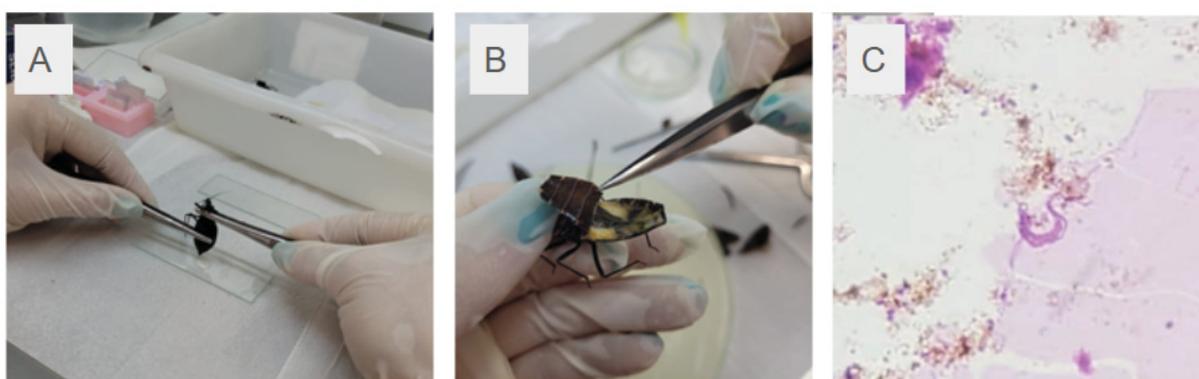


Figura 1. Análise de infectividade. (A) Procedimento de compressão abdominal do inseto para coleta de fezes e urina em solução salina. (B) Dissecção de inseto com corte pelos conexivos. (C) Observação microscópica (1000x) de fezes e urina de triatomíneo por microscopia óptica, após coloração por Giemsa. Observação de formas similares a de *Trypanosoma*. Foto: autora (2025).

Para as amostras de fezes positivas, as formas epi e tripomastigotas de tripanossomatídeos foram cultivadas a 28°C, em meio LIT (*Liver Infusion Tryptose*) suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB), 100 unidade/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina (JORGE & CASTRO, 2000; RODRIGUES *et al.*, 2016). Amostras isoladas foram utilizadas para os experimentos. Como controle positivo, foram utilizadas como referência a cepa DM28 e, como controle negativo, amostras de fezes e urina de triatomíneos, comprovadamente não infectados, foram cedidas gentilmente pelo Prof. Dr. João Aristeu da Rosa do Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista - Araraquara/São Paulo.

2.3 Extração de Ácido Desoxirribonucleico (DNA)

Os isolados cultivados em meio LIT e as fezes de triatomíneos, foram submetidos a extração de DNA por dois métodos:

1 - Clorofórmio-álcool isoamílico - utilizando uma câmara de Neubauer os trofozoítos (tripomastigotas e epimastigotas) foram normalizados para a quantidade 1×10^9 e centrifugados a 5.000 rpm por 5 minutos. O *pellet* foi ressuscitado em 750 μ L de tampão de lise (100 mM de NaCl; 10 mM de Tris-HCl; 25 mM de EDTA; 0,5% de SDS; 70 μ g/mL de RNase; 32 μ L/reacção de proteinase K) em banho maria a 50°C por 3 horas com leves homogeneizações a cada 30 minutos. A amostra foi resfriada por 5 minutos, após os quais foram adicionados 750 μ L de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), homogeneizados levemente por 10 minutos. Em seguida, a amostra foi centrifugada por 20 minutos a 10.000 g. e a fase aquosa, a qual apresenta a fração de DNA, foi recuperada. Esse processo foi repetido, contudo, a amostra foi centrifugada a 10.000 g por 30 minutos. A fase aquosa foi novamente recuperada, ressuscitada com o dobro do volume recuperado com etanol absoluto gelado e 10% de acetato de sódio (2M) e armazenada à -20°C *overnight*. No dia seguinte, a amostra foi centrifugada a 14.000 rpm por 20 minutos. O sobrenadante foi descartado e foi adicionado 1 mL de álcool 70%, centrifugando logo em seguida por 14.000 rpm por 5 minutos. Os resíduos de etanol restantes foram evaporados em temperatura ambiente e o *pellet* foi ressuscitado em 100 μ L de H₂O_{DPEC}. A dosagem de DNA foi verificada por *nanodrop* e a qualidade do material genético por revelação em gel de agarose 1%.

2 - Kit comercial - *Invitrogen™ by life technologies Genomic DNA Kits for purification of genomic Catalog number K 1820-0* - utilizando uma câmara de Neubauer os trofozoítos (tripomastigotas e epimastigotas) foram normalizados para a quantidade de 1×10^9 e centrifugados a 5.000 rpm por 5 minutos. O *pellet* foi ressuscitado em 180 μ L do *Genomic Digestion Buffer* e 20 μ L de proteinase K P/N46-7603. O tubo foi incubado a 55°C por 45 minutos. Após, 20 μ L de RNase A foram adicionados, a amostra foi incubada a temperatura ambiente por 2 minutos e centrifugada por 5 minutos por 10.000 rpm para remover as partículas. Foram adicionados 200 μ L de *Purilink™ - Genomic Lysis/Binding Buffer*, o qual foi homogeneizado com o uso do vortex. Em seguida, 200 μ L de álcool absoluto foram acrescentados e vortexados por 5 segundos. Após, adicionou-se 640 μ L do lisado em uma coluna do kit e centrifugou-se a 10.000 g por 1 minuto. Posteriormente, foram adicionados 500 μ L de *genomic Wash Buffer 1*, centrifugados a 10.000 g por 1 minuto e 500 μ L do *genomic Wash Buffer 2* centrifugados a 10.000 g por 3 minutos. Por fim, o DNA foi eluído da coluna, por meio da adição de 100 μ L de *genomic Elution Buffer Purilink™*, durante 1 minuto a temperatura ambiente e da centrifugação a 10.000 g por 1 minuto. A dosagem de

DNA foi verificada por nanodrop e a qualidade do material genético por revelação em gel de agarose 1%.

2.4 Desenho dos *primers*

Com o auxílio do uso dos *softwares* CLUSTAL, BLAST e a ferramenta NEB®LAMP *Primer Desing Tool* 1.0.2, foram desenhados 4 *primers* para uso na técnica de LAMP e 2 *primers* para PCR (Quadro 1 - Resultados; APÊNDICE I). Para idealização dos *primers* de LAMP foram aplicados filtros para regiões codificadoras maiores de 450 pb e com maior número de cópias por genoma da cepa Dm28c de *T. cruzi* (versão 2018) disponível do banco de dados TriTrypDB (www.tritrypdb.org) e que apresentassem divergência em relação a *T. rangeli* (Tripanossoma não patogênico que pode também estar presente em amostras no inseto vetor). Os *softwares* CLUSTAL, BLAST, TriTrypDB e a ferramenta NEB®LAMP *Primer Desing Tool* 1.0.2 foram utilizados para análises dos alinhamentos das sequências entre *T. cruzi* e *T. rangeli* e para ajudar na escolha dos *primers*.

Os iniciadores para PCR (Quadro 2 - Resultados) tiveram como alvo a mesma região genômica escolhida para os *primers* de LAMP. Porém, foram desenhados de forma que permitissem a amplificação tanto da espécie de *T. cruzi* como a de *T. rangeli*, com o objetivo de, em alguns momentos, serem utilizados para comparar com a técnica de LAMP e confirmar também que a ausência de amplificação em processos de LAMP não significavam a presença de *T. rangeli*.

Outro conjunto de *primers* referência descritos por Thekiso *et al.* (2010) foram utilizados para verificar a amplificação dos *primers* sugeridos (Quadro 1).

Quadro 1. *Primers* para realização dos métodos de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) utilizados como referência descritos por Thekiso *et al.* (2010).

18S	
<i>Primers</i> para LAMP	Sequência
Tc 2 FIP	CGTGAGTTGAGGGAAGGCATGAGTTGTTGGCAGACTTCGGT
Tc 2 BIP	GCATCCAGGAATGAAGGAGGGTTCGTCTTGGTGCGGTCTA
Tc 2 F3	CCGTGTGGCACTGTTTGT
Tc 2 B3	TGAAGAATGCCTTCGCTGT

Obs: F3 e B3 *primers* externos *forward* e *backward*, FIP e BIP *primers* internos *forward* e *backward*, F3 *primer forward* e B3 *primer reverse*.

2.5 Detecção dos parasitos por amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP)

A amplificação foi realizada a 65°C por 60 minutos com volume final de 10 µL contendo 10x *ThermoPol Buffer* (BioLab® Inc.), 1,4 mM de dNTPs, 1,5 a 8 mM de MgSO₄ (BioLab® Inc.), 350 U/mL da *Bst DNA polymerase* (BioLab® Inc.) ou 0,4 µL da *Bst in house* e 1µL da amostra alvo. Diferentes concentrações de DNA, extraídos conforme descrito no item 2.3, foram testadas (1; 0,5; 0,1; 0,05; 0,01 ng/µL), assim como diferentes quantidades de parasitos (10.000; 1.000; 100 e 10 parasitos/reação), visando estabelecer condições otimizadas, como ganho de sensibilidade. Espécies de *Leishmania amazonensis*, *Leishmania guyanensis*, *Leishmania infantum* e *T. rangeli* foram testadas para avaliar a especificidade do método. Fezes de triatomíneos, positivas e negativas, com extração de DNA e sem o processo de extração (puras aquecidas a 80°C por 10 minutos) foram testadas, diluídas (1:10; 1:25; 1:50; 1:100) em 1M de EDTA pH 8,0.

Outro conjunto de *primers* descritos por Thekiso *et al.* (2010) também foram utilizados como controle positivo para verificar a amplificação dos *primers* sugeridos (Quadro 2).

Após a amplificação, o produto foi submetido à eletroforese em gel de agarose (2%) e sob uma corrente de 100V, por 1 hora. A visualização dos *amplicons* foi realizada utilizando a adição de brometo de etídio que pode ser observada em transiluminador.

2.6 Detecção dos parasitos por reação em cadeia da polimerase (PCR)

Para PCR foi realizada a extração e purificação do DNA pelo método fenol-clorofórmio e por kit comercial, conforme mencionado no item 2.3, quantificação por espectrofotômetro e armazenamento a -20°C. Os *primers* para PCR foram desenhados utilizando o mesmo alvo que os idealizados por LAMP, região genômica da proteína ribossômica L3, porém idealizados para realizar tanto a amplificação das espécies de *T. cruzi* como as de *T. rangeli*. Sendo assim, o conjunto de *primers* foi utilizado com o objetivo de, em alguns momentos, comparar com a técnica de LAMP e também para confirmar que a não amplificação de *T. cruzi* por LAMP não era realizada pela presença da espécie de *T. rangeli*. A reação de amplificação ocorreu em 35 ciclos, tendo ciclos de desnaturação a 95°C, anelamento dos *primers* a 58°C e ciclos de extensão a 72°C, a reação ocorreu com 1x PCR *Buffer* (Invitrogen), 0,2 mM de dNTPs, 1,6 mM de Mg Cl₂ (Invitrogen), 1 unidade de *taq polimerase* (Invitrogen) e 1µL da amostra alvo, obtendo o volume final de 25 µL por reação.

Após amplificação, o produto foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 1% para visualização das bandas (1.140 pb).

2.7 DNA polimerase *Bst* in house

Como alternativa ao emprego da *Bst* comercial, foi realizada a produção e purificação da enzima segundo o protocolo descrito por Yi Ma *et al.* (2016) para utilização na técnica de LAMP. Para isso, a bactéria *E. coli* BL21 foi transformada com o plasmídeo pET21a-*Bst*-LF-H6, contendo o gene codificante da enzima *Bst*. A indução da expressão ocorreu pela adição de 1 mM de IPTG à cultura (OD_{600}), a qual foi incubada por 6 horas à 37°C. Em seguida, 400 mL da cultura foram centrifugados a 5000 g por 30 minutos e o *pellet* ressuspenso em solução de lise para sonicação de 15 pulsos (400 W, 1 segundo com intervalo de 3 segundos, sob gelo). O lisado foi centrifugado (11000 g, à 4°C por 30 minutos) e o sobrenadante foi purificado usando uma coluna de afinidade Ni Sepharose (His Trap™ excel de 1 mL), a qual foi eluída com 80% de imidazol (400 mM). A amostra purificada foi dialisada em solução *buffer* (10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 0,1 mM EDTA, pH 7,0) e resolvida em gel de poliacrilamida (12%) com dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE). Para visualização das bandas e avaliação da pureza, as frações foram coradas por *Coomassie Blue* e analisadas quanto a presença do inserto de histina por *Western Blotting* (WB). Para isso, as amostras foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose, por cerca de 6 horas (24V) e 1 hora (45V). Em seguida, a membrana foi incubada com solução de bloqueio (1 hora, 37°C), com IgG murina anti-histidina tag (1:1000) e anti-mouse HRP (1:4000). A revelação se deu pela adição de orto-fenilenodiamina (OPD). A atividade polimerásica dessa proteína foi avaliada em comparação com a enzima comercial *Bst* DNA Polymerase, Large Frafment - M0275S New England BioLabs®Inc.

3 RESULTADOS

3.1 Educação em Saúde - Desenvolvimento de Tecnologias Educativas

Durante o período do doutorado de 2021 a 2025 foram produzidos, junto a SESA, materiais para auxiliar na promoção de educação em saúde como a atualização da Nota Orientativa nº 13/2024 - CVIA/DAV/SESA (PARANÁ, 2024) que trata sobre o encaminhamento de amostras para vigilância entomológica, a atualização das plaquinhas de

PITs e produção do livreto em quadrinhos para educação infantil, os materiais de educação em saúde estão em processo de licitação via processo administrativo da SESA (ANEXOS III a V).

3.2 Análise taxonômica e parasitológica direta por microscopia óptica

No período de análise de 2021 a 2024 foram encaminhadas 201 amostras, destas foram identificados 16% (n= 32) exemplares que eram fitófagos, 13% (n= 26) predadores e 71% (n= 143) triatomíneos (Fig. 2A). Em relação às espécies de triatomíneos identificados 90% (n= 128) eram *Panstrongylus megistus*, 4% (n= 6) *Panstrongylus tibiamaculata*, 3% (n= 5) *Triatoma sordida* e 3% (n= 4) eram *Panstrongylus geniculatus* (Fig. 2B).

Quando analisada a qualidade dessas amostras para análise parasitológica por microscopia, apenas 26% (n= 42) dos triatomíneos estavam vivos, já os outros 71% (n= 101) chegaram mortos (Fig. 2C). Das amostras vivas, 24 estavam positivas e 18 estavam negativas.

As amostras que estavam mortas foram classificadas em boas ou ruins (boas quando o intestino ainda estava presente, estando “fresco/mole”). As amostras boas, porém já mortas, foi possível observar o parasito *T. cruzi* em 27% (n= 6) exemplares de 22 amostras. Por fim 78% (n= 79) amostras estavam mortas e inviáveis para serem analisadas por microscopia óptica.

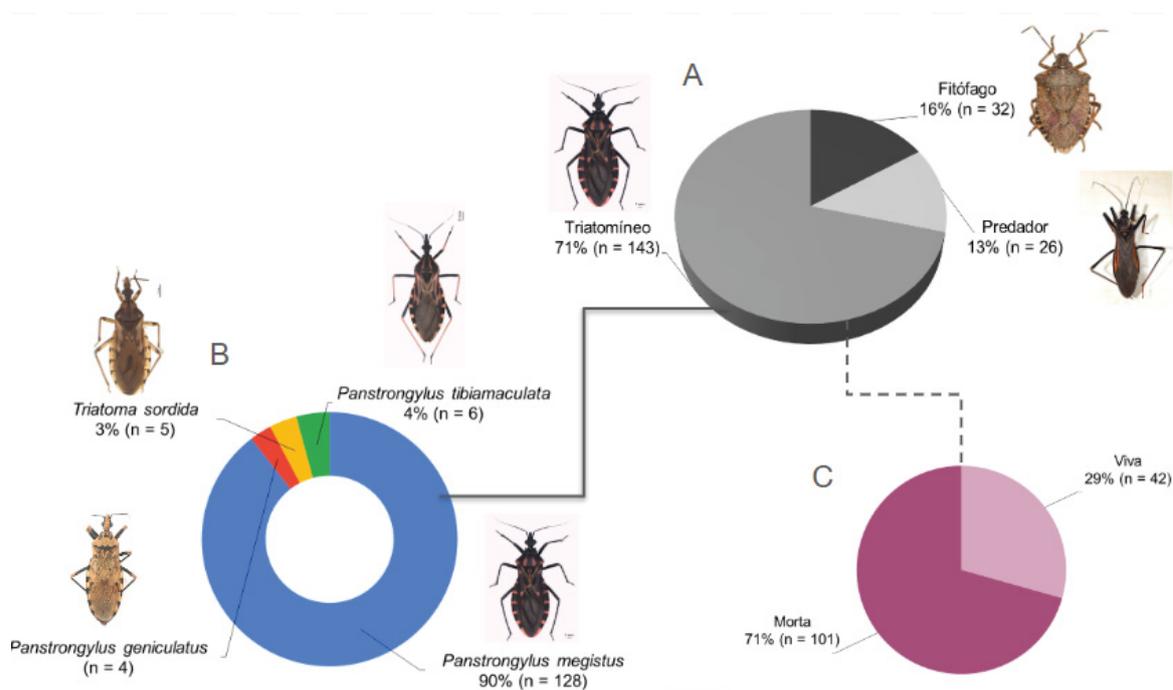


Figura 2. Análise taxonômica e parasitológica 2021 a 2024 de triatomíneos coletados no Paraná. (A) insetos coletados: triatomíneos, fitófagos e predadores. (B) triatomíneos identificados a nível de espécie (C) qualidade das amostras encaminhadas para microscopia óptica.

3.3 Indução e purificação da *Bst* polimerase *in house*

Uma *Bst* polimerase *in house* foi induzida e expressa, em sistema heterólogo, sendo possível observar a purificação da enzima com tamanho esperado de 66 KDa em um gel corado por *Coomassie blue*, após a transferência por *Western blotting* (WB) em membrana de nitrocelulose corada por ponceau e com após revelação utilizando um anticorpo anti-histidina (Fig. 3). Testes para verificar a funcionalidade da enzima foram realizados em ensaios por LAMP.

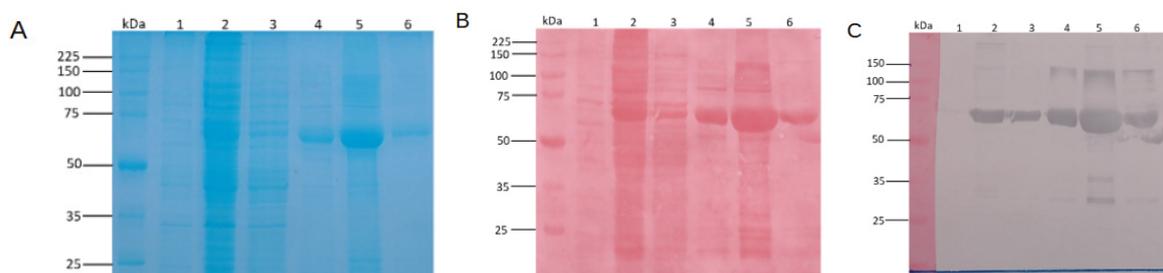


Figura 3. Análise da indução e purificação da *Bst* polimerase *in house*. (A) Gel 12% SDS-PAGE corado por *Coomassie Blue*; (B) ponceau e (C) transferidas e verificadas por *Western Blotting* (WB) com anti-histidina. (1) Extrato de *Escherichia coli*; (2) Extrato de *Escherichia coli* após a indução; (3) *flow through*; (4, 5 e 6) *Bst in house* ~ 66 KDa.

3.4 Desenho dos *primers*

Com o auxílio do uso dos *softwares* CLUSTAL, BLAST e a ferramenta NEB®LAMP *Primer Desing Tool* 1.0.2, foram desenhados 4 *primers* para uso na técnica de LAMP e 2 *primers* para PCR.

O gene selecionado para criar a sequência de *primers* tanto para técnica de LAMP quanto para PCR foi o gene codificante para a proteína ribossômica L3 (ID: C4B63_7241) de 1.287 pb. O gene C4B63_7241 apresentou 16 segmentos de alinhamento com 85% (1121/1255) de identidade com *T. rangeli* e *e-value* = 0.0. Porém, a sequência de *primers* para LAMP foi pensada para apresentar divergência em relação ao *T. rangeli*, já a sequência de *primers* para PCR foi idealizada de forma que permitisse a amplificação tanto da espécie de *T. cruzi* como a de *T. rangeli*, com o objetivo de, em alguns momentos, ser comparado com a técnica de LAMP e confirmar que a ausência de amplificação em processos de LAMP não significavam a presença de *T. rangeli*. O Quadro 2 apresenta a sequência dos *primers* utilizados.

Quadro 2. *Primers* para realização dos métodos de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) e reação em cadeia da polimerase (PCR).

Proteína ribossomal L3				
<i>Primers para LAMP</i>	Tamanho	Tm	GC (%)	Sequência
Tc 2 FIP	41	75	61	TCG***C***C*****GTA**CG***CACA***A**T**
Tc 2 BIP	37	73	59	A**A***TG**G**C*C*GTTC**TGGG*C*A*****
Tc 2 F3	16	52	63	***C***C***G**CA
Tc 2 B3	16	54	69	G***G*T**C**G*G*
Proteína ribossomal L3				
<i>Primers para PCR</i>	Tamanho	Tm	GC (%)	Sequência
Tc For	21	66	71	*C***C*C****A*C*****
Tc Rv	25	64	56	***T***CTT***TTG***CG***G

Obs: F3 e B3 *primers* externos *forward* e *backward*, FIP e BIP *primers* internos *forward* e *backward*, For *primer forward* e Rv *primer reverse*. *Algumas bases nitrogenadas foram ocultadas para aquisição de patente.

3.5 Amplificação: sensibilidade e especificidade locais

Primeiramente, a técnica de PCR foi empregada para avaliar a qualidade de amplificação do DNA por PCR. Para isso, isolados de *T. cruzi* de material genético extraído e purificado, foram testados com os *primers* desenhados para PCR que tinham como alvo o gene da proteína ribossômica L3 e também foram utilizados *primers* controle (*primers* validados por outro estudo) (Fig. 4). Dessa forma, foi possível observar que houve amplificação de DNA o que sugere que o material genético extraído possui uma boa qualidade e pode ser utilizado também na técnica de LAMP.

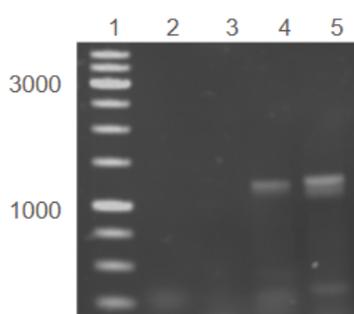


Figura 4. Verificação do DNA extraído de *Trypanosoma cruzi* por PCR. 1. padrão de pares de base (pb) - 1 kb DNA (SM0313) 250 a 10.000 bp; 2 - 3. branco utilizando *primer* para o alvo da proteína ribossômica L3 e outro *primer* padrão (controle); 4 - 5. amplificação por PCR para o gene ribossomal L3 e outro *primer* (controle positivo).

Após avaliação por PCR, foi realizada a amplificação do DNA pela metodologia de LAMP utilizando os *primers* desenhados que tiveram como alvo o gene da proteína ribossômica L3 e os *primers* desenhados por Thekiso *et al.*, (2010) que possuem como alvo a

proteína 18S, como controle positivo (Fig. 5A). Assim, foram observados *amplicons* em ambas as condições, indicando que o *primer* desenhado é funcional. Ademais, para verificar a sensibilidade do teste, a LAMP foi realizada utilizando a polimerase produzida e diferentes concentrações de DNA (1 a 0,01 ng/ μ L) e número de parasitos (10.000 a 10 parasitos/reação) observando a formação de *amplicons* com até 0,5 ng/ μ L de DNA e até 10 parasitos/reação (Fig. 5B e C).

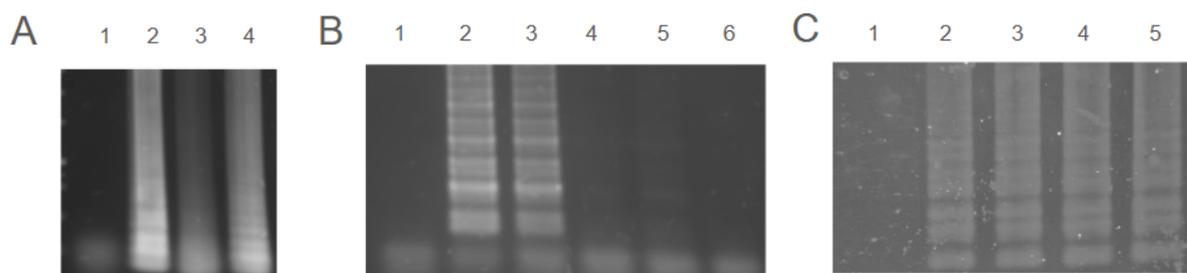


Figura 5. Amplificação por amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP). (A) 1. branco utilizando *primer* Thekisoe *et al.* (2010); 2. amplificação por LAMP utilizando *primers* Thekisoe *et al.* (2010); 3. branco utilizando *primers* para proteína ribossômica L3; 4. amplificação com *primer* para proteína ribossômica L3. (B) 1. branco utilizando polimerase *Bst in house* e *primers* para proteína ribossômica L3; 2 - 6. amplificação de 1; 0,5; 0,1; 0,05; 0,01 ng/ μ L de DNA de *T. cruzi*. (C) 1. branco com polimerase *Bst in house* e *primer* para proteína ribossômica L3; 1- 5. amplificação do DNA de *Trypanosoma cruzi* com 10.000; 1.000; 100 e 10 parasitos/reação.

Com a confirmação e a verificação da amplificação por LAMP com *Bst in house* e DNA de *T. cruzi* extraído, utilizando os *primers* que tiveram como alvo a proteína ribossomal L3, amostras de fezes de triatomíneos foram avaliadas. Assim, foi possível observar bandas apenas em fezes as quais foram diluídas, mesmo na presença (contaminação artificial) de 1 ng de DNA (Fig. 6A), tal fato sugere que componentes das fezes podem interferir na amplificação do material genético, precisando ser diluídos. Testes posteriores foram realizados com fezes de triatomíneos diluídos 25 vezes em tampão Tris e foi possível a detecção de amplificação (Fig. 6B). Controles negativos, de fezes sabidamente negativas, das espécies *P. megistus* e *R. neglectus*, foram incluídos no estudo para confirmação da especificidade da amplificação (Fig. 6C).

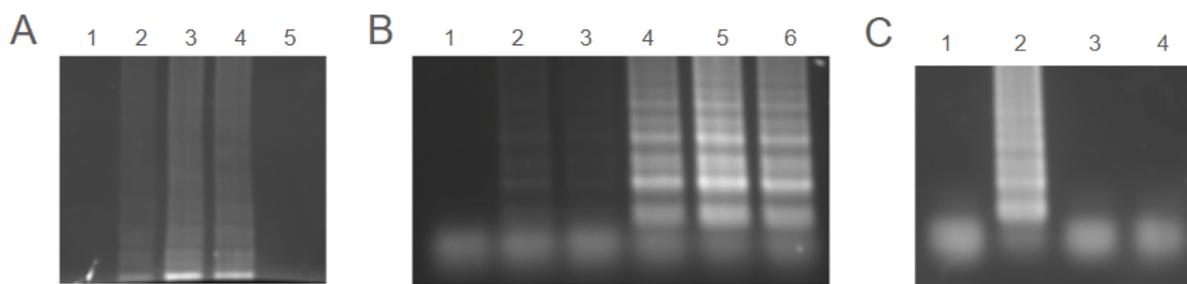


Figura 6. Amplificação de fezes de triatomíneos por amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP). (A) 1. branco com polimerase *Bst in house* e *primer* para proteína ribossômica L3; 2. amplificação com 1 ng de DNA

extraído de *Trypanosoma cruzi*; 3. amplificação com 1 ng de DNA extraído de *Trypanosoma cruzi* e fezes de triatomíneo naturalmente infectado diluído (1:100); 4. amplificação com 1 ng de DNA extraído de *Trypanosoma cruzi* e fezes de triatomíneo naturalmente infectado diluído (1:10); 5. amplificação com 1 ng de DNA extraído de *Trypanosoma cruzi* e fezes de triatomíneo naturalmente infectado diluído (1 μ L). (B) 1. branco com polimerase *Bst in house* e *primer* para proteína ribossômica L3; 2. amplificação com 1 ng de DNA extraído de *Trypanosoma cruzi*; 3. amplificação com 1 ng de DNA extraído de *Trypanosoma cruzi* e fezes de triatomíneo naturalmente infectado diluído (1:10; 1:25; 1:50; 1:100). (C) 1. branco com polimerase *Bst in house* e *primers* para proteína ribossômica L3; 2. fezes de *Panstrongylus megistus* naturalmente infectado; 3. fezes de *Panstrongylus megistus* não infectado; 4. fezes de *Rhodnius neglectus* não infectado.

Por fim, a fim de detectar se os *primers* desenhados, que tinham como alvo o DNA da região ribossômica L3, anelavam com o DNA de outros parasitos, foi realizada uma LAMP utilizando DNA de *L. amazonenses*, *L. infantum*, *L. guyanensis* e *T. rangeli*. Os quais foram negativos por essa técnica (Fig. 7A), contudo por PCR a amplificação ocorreu com DNA de *T. cruzi* e *T. rangeli* (Fig. 7B).

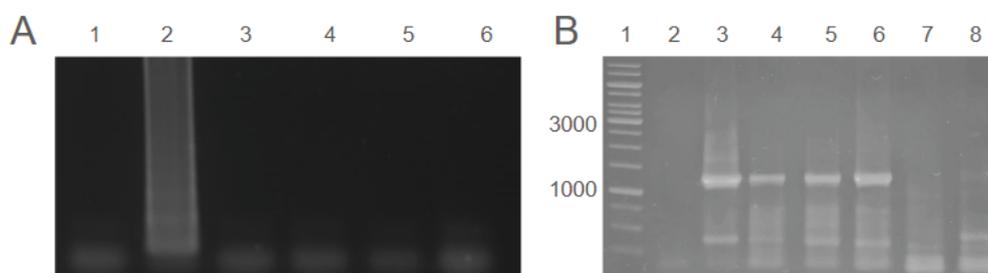


Figura 7. Reatividade cruzada. (A) 1. branco com polimerase *Bst in house* e *primers* para proteína ribossômica L3; 2. *Trypanosoma cruzi* (10 ng/ μ L); 3. *Leishmania amazonensis* (10 ng/ μ L); 4. *Leishmania guyanensis* (10 ng/ μ L); 5. *Leishmania infantum* (10 ng/ μ L); 6. *Trypanosoma rangeli* (10 ng/ μ L). (B) 1. padrão de pares de base (pb) - 1 kb DNA (SM0313) 250 a 10.000 bp; 2. branco; 3. *Trypanosoma cruzi* (50 ng/ μ L); 4 - 6. *Trypanosoma rangeli* (5 a 500 ng/ μ L); 7. *Leishmania guyanensis* (50 ng/ μ L); 8. *Leishmania infantum* (50 ng/ μ L).

3.6 Limitações

Após verificar a amplificação do DNA por LAMP em diferentes condições, foram realizados novos processos de amplificação em diferentes amostras de fezes de triatomíneos naturalmente infectados e sem a extração de DNA para confirmar a efetividade do método. Entretanto, a ferramenta se demonstrou instável tanto para os *primers* que tinham como alvo o gene da proteína ribossomal L3 (Fig. 8A) quanto para os *primers* utilizados como controle, gene alvo 18S, uma vez que não houve amplificação em condições que anteriormente foram positivas. Por PCR, a amplificação de fezes de barbeiro também não ocorreu (Fig. 8B).

Foram testadas duas amostras de fezes de barbeiros previamente positivadas por microscopia óptica. No entanto, diante da ocorrência de resultados divergentes, a amplificação com outras amostras fecais, sob diferentes condições, foi suspensa

temporariamente, a fim de revisar e validar os procedimentos anteriores de padronização da técnica.

Para verificar a positividade na amplificação com o DNA isolado de fezes naturalmente infectada por *T. cruzi*, foi realizada a extração do material genético. Dessa forma, pode-se observar que ocorreu amplificação de DNA nas amostras que estavam diluídas 10, 25 e 50 vezes e com o processo de extração de DNA realizado por Kit. Isso sugere que alguns componentes presentes nas fezes podem ter interferido na amplificação, mesmo com a presença do DNA alvo (Fig. 8C).

A fim de investigar se os *primers* desenhados influenciavam nas instabilidades observadas nas amplificações, duplas de *primers* de LAMP foram combinadas em amplificações por PCR. Assim, pode-se observar que as combinações F3 e B3, FIP e BIP, *reverse* e FIP, *reverse* e F3, F3 e BIP e *forward* e *reverse* foram funcionais (Fig. 8D), demonstrando que os *primers* são bons candidatos para processos de amplificações e que a não amplificação apresentada anteriormente na LAMP provavelmente não possui relação com os *primers* utilizados.

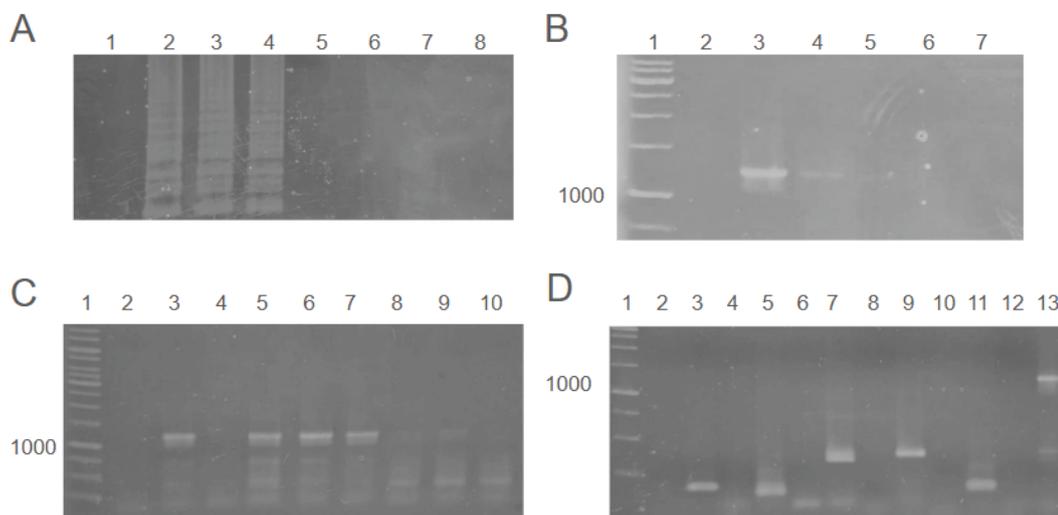


Figura 8. Análise da LAMP e suas limitações. (A) 1. branco; 2. 10.000 parasitos de *Trypanosoma cruzi*; 3. 1.000 parasitos de *Trypanosoma cruzi*; 4. 100 parasitos de *Trypanosoma cruzi*; 5 - 7 fezes de barbeiro naturalmente infectado (1:25); 8. fezes de barbeiro negativo (1:25), utilizando os *primers* para o gene ribossomal L3. (B) padrão de pares de base (pb) - 1 kb DNA (SM0313) 250 a 10.000 bp; 2. branco; 3. 10.000 parasitos de *Trypanosoma cruzi*; 4. 1.000 parasitos de *Trypanosoma cruzi*; 5 . 100 parasitos de *Trypanosoma cruzi*; 6. fezes de barbeiro naturalmente infectado (1:25); 7. fezes de barbeiro negativo (1:25), utilizando os *primers* para o gene ribossomal L3. (C) 1. padrão de pares de base (pb) - 1 kb DNA (SM0313) 250 a 10.000 bp; 2. branco; 3. controle positivo com DNA extraído de DM28; 4 - 7 fezes de de triatomíneo, após utilização de kit de extração de DNA (1:0; 1:10; 1:25 e 1:50); 8 - 10 fezes de triatomíneo naturalmente infectado (1:10; 1:25 e 1:50). (D) 1. padrão de pares de base (pb) - 1 kb DNA (SM0313) 250 a 10.000 bp; 2, 4, 6, 8, 10 -12. brancos; 3. amplificação com o par de *primers* F3 e B3; 5. FIP e BIP; 7. *reverso* e FIP; 9. *reverso* e F3; 11. F3 e BIP; 13. *forward* e *reverso*.

Novos processos de extração de DNA de fezes de triatomíneos, utilizando kit comercial, foram realizados e observamos que a amplificação ocorreu apenas por PCR após extração de DNA (Fig. 9C). Não ocorreu amplificação por LAMP mesmo realizando a extração de DNA (Fig. 9B), sendo que é observado DNA de forma íntegra após extração (Fig. 9A).

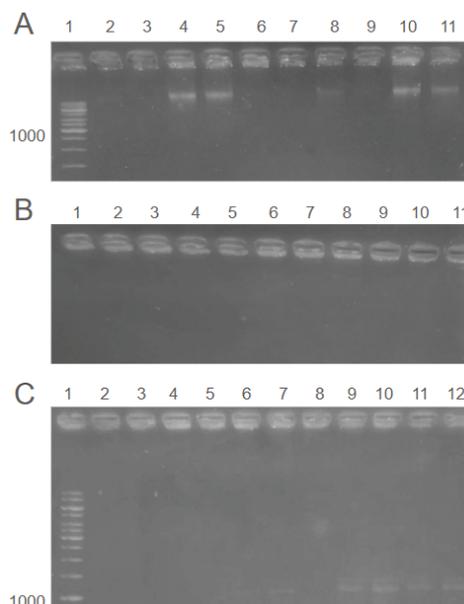


Figura 9. Extração e purificação de DNA para amplificação. (A) Produto de extração de DNA por Kit. 1. padrão de pares de base (pb) - 1 kb DNA (SM0313) 250 a 10.000 bp; 2 e 3. amostra positiva de fezes de barbeiro com *Trypanosoma cruzi* n° 28/2025; 4 e 5. amostra positiva de fezes de barbeiro com *Trypanosoma cruzi* n°35/2025; 6 e 7. amostra positiva de fezes de barbeiro com *Trypanosoma cruzi* n°40/2025; 8 e 9. amostra positiva de fezes de barbeiro com *Trypanosoma cruzi* n°42/2025; 10 e 11. amostra positiva de fezes de barbeiro com *Trypanosoma cruzi* n°51/2025; (B) amplificação por LAMP 1. branco; 2, 3, 4, 5, e 6. amostras de fezes de barbeiros positivos para *Trypanosoma cruzi* n° 28, 35, 40, 42 e 51/2025; 7, 8, 9, 10 e 11. amostras de fezes de barbeiros positivos para *Trypanosoma cruzi* após extração de DNA n° 28, 35, 40, 42 e 51/2025; (C) 1. padrão de pares de base (pb) - 1 kb DNA (SM0313) 250 a 10.000 bp; 2. branco; 2, 3, 4, 5, e 6. amostras de fezes de barbeiros positivos para *Trypanosoma cruzi* n° 28, 35, 40, 42 e 51/2025; 7, 8, 9, 10 e 11. amostras de fezes de barbeiros positivos para *Trypanosoma cruzi* após extração de DNA n° 28, 35, 40, 42 e 51/2025.

4 DISCUSSÃO

No estado do Paraná, as amostras de triatomíneos são conduzidas por uma vigilância passiva, onde os insetos encontrados pela população são encaminhadas para vigilância do município e estes para vigilância do estado do Paraná, para identificação e exame parasitológico. Devido à essa extensa locomoção, muitas amostras já chegam mortas e, conseqüentemente, inviáveis para diagnóstico oportuno por microscopia (PARANÁ, 2024; TROVO *et al.*, 2024). Ademais, com a diversificação das condições de tempo e acondicionamento das amostras ocorre uma dificuldade nos processos de padronização de metodologias para diagnóstico. Tal fato é um problema, pois os resultados de infectividade

das amostras são de extrema importância, visto que o resultado do diagnóstico influencia nos fluxos de vigilância estabelecidos no programa da DC.

Nesta rede (Fig. 10) estabelecida dentro do sistema de saúde, existem algumas fragilidades, como a demora no encaminhamento das amostras, a inviabilidade de algumas análises (relacionadas a qualidade amostral) e a diversidade estrutural e técnica entre os municípios. Mais da metade das amostras de triatomíneos encaminhadas no estado do Paraná (71%) chegam inviáveis para análise por microscopia, dificultando a confirmação de insetos infectados. Dessa forma, é necessário estabelecer melhorias na rede para descentralizar o atendimento e assegurar qualidade na resposta à população.

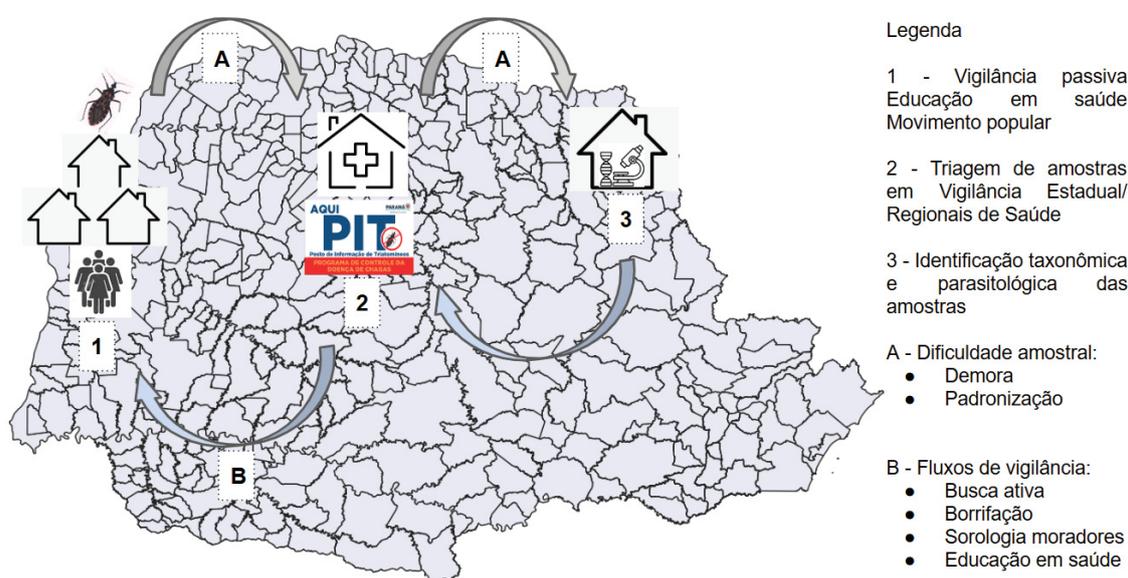


Figura 10. Fluxo da vigilância entomológica da doença de Chagas no estado do Paraná. 1. Vigilância passiva por demanda da população; 2. Vigilância ambiental municipal e estadual regional; 3. Vigilância estadual central. A. Principais dificuldades encontradas: demora e padronização. B. Fluxos de vigilância que são iniciados por meio dos resultados: busca ativa, borrifação, sorologia de moradores e educação em saúde.

A fim de melhorar o fluxo de trabalho na vigilância, principalmente no enfoque parasitológico, foi realizada uma busca por novos métodos de diagnóstico que poderiam ser implementados no sistema. Assim, foram desenhados *primers* e a técnica de LAMP foi escolhida, uma vez que existe uma importância significativa em garantir a realização da taxa de infecção em triatomíneos por *T. cruzi* pois é um forte indicador para avaliar a biologia das espécies, determinar a real situação da taxa de infecção, conhecer o potencial de transmissão vetorial por espécies e o risco de transmissão da DC em determinadas regiões (PARANÁ, 2024; TROVO *et al.*, 2024).

O gene da proteína ribossomal L3 escolhido como alvo e a seleção de *primers* é o primeiro a ser sugerido para amplificação por LAMP com o DNA de *T. cruzi*, quadro 2, sendo

possível observar o seu funcionamento, figura 5A. Outros trabalhos utilizaram como alvos o gene de sequência repetitiva de DNA satélite, RNA ribossomal 18S, DNA 18S e o gene HSP 70, bem como, o uso de diferentes *primers* (THEKISOE *et al.*, 2010; BESUSCHIO *et al.*, 2020; ORDÓÑEZ *et al.*, 2020; LORROCCA *et al.*, 2024; GUARNIZO *et al.*, 2025).

Quando avaliado o limite de detecção do método (Fig. 5B e C) este foi de 0,5 ng/μL e 10 parasitos/reação, uma sensibilidade menor que a apresentada em outros trabalhos. Rivero *et al.* (2017) mostraram um limite de detecção de 50 parasitos/mL em amostras de sangue de recém nascidos; Besuschio *et al.* (2017) e Besuschio *et al.* (2020) detectaram 1×10^{-2} fg/μL em amostras de sangue humano; Thekisoie *et al.* (2007) detectou 1 fg de DNA de *Trypanosoma*; Ordóñez *et al.* (2020) obtiveram uma sensibilidade de 5 fg das cepas CL Brener e 50 fg de cepas DM28, demonstrando variações de detecção entre diferentes genótipos; Muñoz-Calderón *et al.* (2022) apresentaram amplificação com 0,5 parasitos equivalentes/mL em amostras de sangue de pacientes tratados com Benznidazol, em ambos os métodos de LAMP e qPCR; e Guarnizo *et al.* (2025) constataram 0,07 parasitos por reação, utilizando o gene alvo HSP70.

No presente estudo, com a utilização dos *primers* desenhados, observou-se que é possível a amplificação em amostras de fezes sem necessidade de prévia extração (Fig. 6A e B) e a utilização de controles negativos (fezes de triatomíneo sem *T. cruzi*) que não apresentaram inespecificidade (Fig. 6C), assim como demonstrado por Lorocca *et al.* (2024). Existem dois trabalhos que relatam a utilização da técnica de LAMP para avaliar amostras ambientais de fezes de triatomíneos, Thekisoie *et al.* (2010) com detecção de 100 fg de parasitos e Lorocca *et al.* (2024) com apenas 1 epimastigota de dedicação e 1 fg de DNA. É importante pontuar que Thekisoie *et al.* (2010) utilizaram extração de DNA para amplificação e que a LAMP apresentou melhor desempenho do que a PCR. Por outro lado, Lorocca *et al.* (2024) trabalharam apenas com uma espécie de triatomíneo e não forneceram informações precisas sobre as condições das amostras analisadas, como estágio das amostras, tempo de vida, se estavam ou não ingurgitadas, sexo, etc. Estas situações podem interferir nos processos de diagnósticos reais encontrados em processo de coleta de campo.

Apesar de ser possível observar no presente estudo a amplificação de nucleotídeos de *T. cruzi* presentes em fezes de barbeiros sem a extração de DNA, os ensaios não se mostraram reprodutivos. Algumas impurezas podem estar interferindo nesses resultados, sendo assim, devem ser realizados alguns procedimentos que melhorem a conservação e preservação das amostras. Tal fato possibilitaria o processo de amplificação sem necessidade de uma extração convencional, mas para isso, um número maior de amostras ainda precisaria ser avaliada para

determinação de quais são as reais limitações dos *primers* aqui apresentados. Outros grupos já registraram o uso da técnica de LAMP para detecção de outros parasitos como *Giardia duodenalis* e *Schistosoma mansoni* apresentando uma técnica reprodutível, rápida e específica. Porém, os dois trabalhos também utilizaram a extração e purificação de DNA (PLUTZER & KARANIS, 2009; FERNÁNDEZ-SOTO *et al.*, 2014).

Analisar amostras sem o processo de extração de DNA são interessantes para diagnósticos mais rápidos e para implementação de uma rede descentralizada, diminuindo, assim, os custos, a complexidade dos métodos diagnósticos e também a necessidade de profissionais capacitados. Desde 1993, Britto *et al.* (1993) já demonstravam a possibilidade de amplificação de DNA apenas com o processo de fervura para romper a rede de KDNA. Wehrendt *et al.* (2020), tentaram otimizar a técnica de LAMP através da utilização de um processo de extração de DNA mais barato, por PrintrLab, assim como testado com sucesso por Panozo *et al.* (2024). Já Longhi *et al.* (2023), avaliaram a detecção de DNA em sangue seco utilizando cartões FTA, e obtiveram por esse método uma detecção de 5 a 20 parasitos mL. Thekiso *et al.* (2008) ao avaliarem a estabilidade da técnica de LAMP e diferentes preparações de DNA alvo, utilizando sangue fresco, observaram que o desempenho da técnica foi prejudicado sem a extração de DNA, relatando uma diminuição do rompimento das ligações da fita dupla de DNA. Os autores ainda discutem a necessidade de melhorias em procedimentos que aumentem a praticidade de extração e purificação, pensando em técnicas que se aplicam em campo.

A forma de coleta, armazenamento e qualidade de DNA para ser processado são muitos relevantes para determinar se a ferramenta a ser utilizada é viável para aplicação real em atividades com amostras coletadas no campo. Abras *et al.* (2018) relataram a importância da extração de DNA como um exemplo de determinação na qualidade de análise de amostras para diagnóstico por biologia molecular.

Ainda para tornar o diagnóstico menos oneroso e rápido, Hayashida *et al.* (2015) desenvolveram adaptações para técnica de LAMP pensando em aplicá-las em laboratórios que apresentam poucos recursos, como reagentes de LAMP secos e estabilizados em um único tubo com trealose como crioprotetor e lise do DNA com detergente.

Thekiso *et al.* (2008) ao avaliarem a estabilidade da técnica de LAMP e diferentes preparações de DNA alvo, utilizando sangue fresco, observaram que o desempenho da técnica foi prejudicado sem a extração de DNA, relatando uma diminuição do rompimento das ligações da fita dupla de DNA. Os autores ainda discutem a necessidade de melhorias em

procedimentos que aumentem a praticidade de extração e purificação, pensando em técnicas que se aplicam em campo.

No presente trabalho, também foi possível observar interferência de componentes das fezes na amplificação do DNA por LAMP, uma vez que houve *amplicons* somente em amostras diluídas pelo menos 25 vezes. Isso pode ocorrer devido a diversos fatores como discutido por Nwe *et al.* (2024) que descreveram que apesar da LAMP ser mais resistente à contaminantes em relação a PCR, componentes presentes nas excretas, como ureia, IgG, sais biliares (Jevtusevskaja *et al.*, 2017) e cloreto de cálcio podem inibir a amplificação. Isso é importante, pois as condições intestinais dos barbeiros são muito variadas. Logo após a alimentação, o pH pode estar em torno de 8,3 e, após 96 h, em torno de 6,2. Diferenças de osmolaridade também já foram observadas, variando de 300 até 750 mosmol/kg H₂O. Além disso, componentes como sulfato e fosfato estão em grande quantidade em insetos não alimentados, e, até 10 dias após alimentação, componentes como carbonato, cloreto, cálcio e sódio estão presentes (KOLLIEN *et al.*, 2001). Isso pode explicar a grande variação na amplificação do DNA observada em amostras naturalmente infectadas.

Quanto à especificidade dos *primers* escolhidos não ocorreu a amplificação frente a outros parasitos de interesse *L. amazonensis*, *L. infantum*, *L. guyanensis* e *T. rangeli* (Fig. 7A) na técnica de LAMP. Contudo, quando os *primers* foram utilizados para PCR nas mesmas amostras de interesse, houve amplificação de DNA (Fig. 7B). O *T. rangeli*, apesar de não patogênico ao ser humano, pode estar presente em barbeiros, apresentando uma distribuição geográfica semelhante a do *T. cruzi*, o que dificulta a identificação precisa, devido à similaridade morfológica no momento da análise (THEKISOE *et al.*, 2010; HAIDAMAK *et al.*, 2016; GUHL & VALLEJO 2003, NAVES *et al.*, 2017). Os demais parasitos, apesar de não estarem presentes em barbeiros, apresentam homologia com o DNA de *T. cruzi*. Logo, é importante verificar a possibilidade de reação cruzada, a fim de avaliar a aplicabilidade destes *primers* em amostras de sangue de humanos (RIVERO *et al.*, 2017). Entretanto outros parasitos e microrganismos de interesse devem ser incluídos em estudos futuros, visto que, a microbiota intestinal dos triatomíneos já foi descrita como sendo variável mesmo em indivíduos da mesma espécie e um aumento de bactérias intestinais pode interferir na quantidade de *T. cruzi* (SCHAUB, 2024).

Ainda no contexto de reações cruzadas, Rivero *et al.* (2017) apresentaram resultados consistentes em 100% das amostras testadas com sangue de recém nascidos, em ambas as técnicas de LAMP e PCR. No entanto, detectou também a presença de *L. brasiliensis*. Besuschio *et al.* (2017) apresentaram resultados coerentes quando comparadas às ferramentas

de LAMP e qPCR e não detectaram DNA de *Leishmania* sp., *Trypanosoma brucei* sp., *T. rangeli* e *Plasmodium falciparum*. Thekiso *et al.* (2010) desenharam *primers* para detecção de *T. rangeli* em fezes de barbeiros. Já Flores-Chavez *et al.* (2021) utilizaram um kit de LAMP e avaliaram a reação cruzada do teste com amostras de pacientes com malária e leishmaniose, e não observaram positividade nestes casos. Ordóñez *et al.* (2020) avaliaram para diversos trematódeos (*Schistosoma* sp., *Fasciola hepatica*, dentre outros), cestóides (*Taenia* sp.), nematóides (*Ascaris suum*, dentre outros), e protozoários (*Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica*, *Plasmodium* sp. e *Leishmania* sp.) não apresentando reação cruzada entre estes parasitos.

Com o objetivo de compreender a não reprodutibilidade de amplificação das amostras testadas, foram realizadas diversas variações de condição, entre elas (dados não mostrados): (i) variação da enzima polimerase *Bst*, foram utilizadas a enzima *in house* e duas comerciais, (ii) diferentes lotes de *primers*, assim como a utilização de *primers* controle, (iii) variações de lotes de $MgSO_4$, *buffer* e DNTPs, (iv) diferentes amostras de DNA, sendo elas isoladas em cultivo de fezes de barbeiros e cepa padrão, (v) diferentes amostras de fezes de barbeiro com datas diferentes, sob condições diferentes de coletas sendo positivas e negativas por microscopia, testados por diferentes métodos de extração de DNA (kit comercial e/ou fenol clorofórmio). Porém, mesmo realizando essas variações, houve instabilidade da metodologia de LAMP (Fig. 8). Para verificar a integridade do DNA utilizado, foi realizada uma PCR com DNA extraído de fezes. Dessa forma, foi possível observar a amplificação do material genético, demonstrando que o DNA está presente nas amostras testadas e que ajustes precisam ser realizados para viabilização da amplificação pelo método de LAMP (Fig. 9). Além disso, quando realizado a combinação dos *primers* desenhados para LAMP em uma PCR, observou-se que ocorre amplificação (Fig. 8D). Bem como, quando utilizados *primers* controle (região alvo 18S de Thekiso *et al.*, 2010) a amplificação também pareceu instável sob essas mesmas condições. Sendo assim, os *primers* desenhados neste trabalho são funcionais e eficientes, mas ainda é necessário o ajuste das condições.

Por fim, a análise molecular se destaca como uma ferramenta que pode aprimorar o diagnóstico de parasitos em amostras de fezes de triatomíneos, além de ser descrita como um método mais sensível e específico. Ademais, tem potencial para diagnóstico em casos precoces de infecções congênitas, transfusionais e orais e também é útil para o monitoramento de tratamento e reativação em casos crônicos da DC. Apesar disso, o uso simultâneo de testes sorológicos e moleculares é recomendado para melhorar o prognóstico da doença (HAIDAMAK *et al.*, 2016; SCHIJMAN, 2018, PASCUAL-VÁZQUEZ *et al.*, 2023).

Em 2022 a ANVISA aprovou o primeiro kit molecular para detecção laboratorial qualitativa de DNA total extraído de amostras de sangue para *T. cruzi*. O Kit NAT Chagas - IBMP [Instituto de Biologia Molecular do Paraná e IOC/Fiocruz (Instituto Oswaldo Cruz)], que é capaz de detectar um décimo do DNA do parasito em amostra, demonstrando que o teste possui alta sensibilidade, entretanto, o processo demanda aproximadamente de 4 a 5 horas (MELO & FERRARI, 2023; MOREIRA *et al.*, 2023). Essa ferramenta vem despertando o interesse por parte dos órgãos públicos os quais visam aplicar o diagnóstico molecular para a DC em todo o Brasil.

A técnica de LAMP apresenta algumas vantagens, como obtenção de resultados em até 60 minutos, maior sensibilidade e menor custo, pois para reação não é necessário a variação de temperatura, o que elimina a necessidade de um termociclador e a quantidade de DNA produzido é superior, possibilitando a leitura de resultados visualmente sem a necessidade de um equipamento (NOTOMI *et al.*, 2000; NOTOMI *et al.*, 2015; HAYASHUDA *et al.*, 2015; BESUSCHIO *et al.*, 2017; BESUSCHIO *et al.*, 2020; ORDÓNEZ *et al.*, 2020). Flores-Chavez *et al.* (2021), compararam as técnicas de LAMP e PCR e observaram que *T. cruzi* LAMP apresentou um custo de € 7,5 em comparação a qPCR, que tem um custo médio de € 20 por reação. Guarnizo *et al.* (2025) relataram que a técnica de LAMP é doze vezes mais barata que qPCR. A fim de reduzir mais os custos da LAMP, neste trabalho foi demonstrado a expressão de uma polimerase *Bst in house*, que se apresentou funcional em reações de amplificação de DNA com dois conjuntos de *primers* diferentes, um deles tendo como alvo o gene da proteína ribossomal L3 e o gene 18S, sugerido por Thekiso *et al.*, (2010).

Atualmente existe um protótipo da técnica de LAMP em formato de Kit *T. cruzi* -LAMP disponível pela Eiken, Tóquio, Japão, que apresenta uma alta sensibilidade e especificidade, para detectar *T. cruzi* em amostras de sangue humano, onde os resultados podem ser visualizados, sem a necessidade de equipamentos (BESUSCHIO *et al.*, 2017; BESUSCHIO *et al.*, 2020). Porém, o teste ainda utiliza o método de extração de DNA. Na Espanha, são utilizados testes sorológicos e biologia molecular por PCR para diagnosticar transmissão congênita e, em 2021, foi realizado a validação de um kit de LAMP com a mesma finalidade de aplicação, o qual demonstrou um bom desempenho e é atualmente comercializado (FLORES-CHAVEZ *et al.*, 2021).

5 CONCLUSÕES

Uma polimerase *Bst in house* foi expressa, purificada e apresentou funcionalidade nas reações de amplificação. Os *primers* desenhados para amplificação do gene de interesse da proteína ribossômica L3, em ensaios de LAMP, são funcionais quando utilizados em amostras de DNA extraído com até 0,5 ng de DNA e 10 parasitos por reação e amostras de fezes naturalmente infectadas de triatomíneos na diluição de 1:25. Não ocorreu reação cruzada entre os diferentes parasitos testados (*L. amazonensis*, *L. infantum*, *L. guyanensis* e *T. rangeli*). Porém, é de extrema importância a inclusão de novos parasitos de interesse e o aumento do número de amostras, sob diversas condições de campo, coleta e armazenamento, pois existem variáveis que podem intervir nos resultados de análise DNA de *T. cruzi*, incluindo o processo de extração e purificação de DNA.

6 CONSIDERAÇÕES

Deve ser realizada a ampliação das variáveis e condições de análises para favorecer um método mais sensível e fidedigno de diagnóstico da infecção por tripanossomatídeos em amostras reais de campo, o que possibilitaria melhorar a informação de indicadores entomoepidemiológicos que poderão ser utilizados para tomada de decisões em fluxos de vigilância ambiental e epidemiológico.

REFERÊNCIAS

ABRAS, A.; BALLART, C.; LLOVET, T.; ROIG, C.; GUTÉRREZ, C.; TEBAR, S.; BERENQUER, P.; PINAZO, M. J.; POSADA, E.; GASCÓN, J.; SCHIJMAN, A. G.; GALLEGO, M.; MUÑOZ, C. Introducing automation to the molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection: A comparative study of sample treatments, DNA extraction methods and real-time PCR assays. *PLoS ONE*, v. 13(4): e0195738, 2018. doi.org/10.1371/journal.pone.0195738.

ANDRADE, D. V.; GOLLOB, K. J.; DUTRA, W. O. Acute Chagas Disease: New Global Challenges for and old neglected disease. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. v.8, n. 7, p. 1-10, 2014. doi.org/10.1371/journal.pntd.0003010.

ARAÚJO, P. F.; ALMEIDA, A. B.; PIMENTEL, C. F.; SILVA, A. R.; SOUSA, A.; VALENTE, A. S.; VALENTE, V. C.; BRITTO, A. M.; ROSA, A. C.; ALVES, R. M.; HAGSTRÖM, L.; TEIXEIRA, A. R. L. Sexual transmission of American trypanosomiasis in humans: a new potential pandemic route for Chagas parasites. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 112(6): 437-446, 2017. doi: 10.1590/0074-02760160538.

BARRETO, M. A. F.; CAVALCANTI, M. A. F.; ANDRADE, C. M.; NASCIMENTO, E. G. C.; PEREIRA, W. O. Entomological triatomine indicators in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. *Ciência Saúde Coletiva*, 24 (4), 2019. doi.org/10.1590/1413-81232018244.06062017.

BENCHETRIT, A. G.; FERNÁNDEZA, M.; BAVA, A. J.; CORTI, M.; PORTEIRO, N.; PERALTA, L. M. Clinical and epidemiological features of chronic *Trypanosoma cruzi* infection in patients with HIV/AIDS in Buenos Aires, Argentina. *International Journal of Infectious Diseases*, v.67, p. 118–121, 2018. doi.org/10.1016/j.ijid.2017.11.027.

BESUSCHIO, S. A.; MURCIA, M, L.; BENATAR, A. F.; MONNERAT, S.; CRUZ, I.; PICADO, A.; CURTO, M. DE LOS A.; KUBOTA, Y.; WEHRENDT, P.; PAIVA, P.; MORI, Y.; PUERTA, C.; NDUNG’U, J.; SCHIJMAN, A. Analytical sensitivity and specificity of a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) kit prototype for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in human blood samples. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(7):e0005779, 2017. doi.org/10.1371/journal.pntd.0005779.

BESUSCHIO, S. A.; PICADO, A.; MUÑOZ-CALDERÓN, A.; WEHRENDT, D.; FERNÁNDEZ, M.; BENATAR, A.; DIAZ-BELLO, Z.; IRURTIA, C.; CRUZ, I.; NDUNG’U, CAFFERATA, M. L.; MONTENEGRO, G.; ESTANI, S. S.; LUCERO, R. H.; NOYA, B. A.; LONGHI, S. A.; SCHIJMAN, A. G. *Trypanosoma cruzi* loop-mediated isothermal amplification (*Trypanosoma cruzi* Loopamp) kit for detection of congenital, acute and Chagas disease reactivation. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v.14, n.8, p. 1-17, 2020. doi.org/10.1371/journal.pntd.0008402.

BONNEY, K. M.; LUTHRINGER, D. J.; KIM, S. A.; GARG, N. J.; ENGMAN, D. M. Pathology and Pathogenesis of Chagas Heart Disease. *Annual Review Pathology: Mechanisms of Disease*, v. 24, n. 14, p. 421-447, 2019. doi: 10.1146/annurev-pathol-020117-043711.

BRASIL. Doença de Chagas: 14 de abril - Dia Mundial. MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde – Brasília. Boletim Epidemiológico, 2020; n. 51, p. 1-43. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.

BRASIL. Guia de vigilância em saúde: volume 2 [recurso eletrônico]/Ministério da Saúde, Departamento de Ações Estratégicas de Epidemiologia e Vigilância em Saúde e Ambiente. – 6. ed. rev. – Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Acesso em: 10 de junho de 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigilancia/guia-de-vigilancia-em-saude-volume-2-6a-edicao/view>.

BRASIL. Manual de diagnóstico laboratorial da malária/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde – Brasília: Ministério da Saúde, p. 112, 2005. ISBN 85-334-0974-5.

BRASIL. Nota Técnica nº 36.2012: orientações sobre vigilância entomológica e a utilização de inseticida de ação residual no controle de triatomíneos – vetores da doença de Chagas. Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis/Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis – MS/SVS/DEVEP/CGDT – Brasília. 2012. Acesso em: 13 de março de 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doenca-de-chagas/arquivos/nota-tecnica-362012-orientacoes-sobre-vigilancia-entomologica-e-a-utilizacao-de-inseticida-de-acao-residual-no-controle-de-triatomineos-vetores-da-doenca-de-chagas.pdf/view>.

BRASIL. Portaria nº 1.061 de 18 de maio de 2020. Revoga a Portaria nº 264, de 17 de fevereiro de 2020, e altera a Portaria de Consolidação nº 4/GM/MS, de 28 de setembro de 2017, para incluir a doença de Chagas crônica, na Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional. Acesso em: 14 de março de 2015. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2020/prt1061_29_05_2020.html

BRASIL. Territorialização e vulnerabilidade para doença de Chagas crônica. 14 de abril. Dia mundial de combate à doença de chagas. Boletim epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde, 2022. Acesso em: 07 de julho de 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2022/boletim-especial-de-doenca-de-chagas-numero-especial-abril-de-2022>.

BRITTO, C.; CARDOSO, M. A.; WINCKER, P.; MOREL, C. M. A simple protocol for the physical cleavage of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA present in blood sample and its use in polymerase chain reaction (PCR)-based diagnosis of chronic Chagas' disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.88, p.171- 172, 1993. doi: 10.1590/s0074-02761993000100030

CHAGAS, C. Nova tripanozomíase humana: estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., Agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, 1(2): 159–218, 1909. 10.1590/S0074-02761909000200008.

CONNERS, E. E.; VINETZ, J. M.; WEEKS, J. R.; BROUWER, K. C. A global systematic review of Chagas disease prevalence among migrants. *Acta Tropica*, 156, 68-78, 2016. doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.002.

COSTA, J.; DALE, C.; GALVÃO, C.; ALMEIDA, C. E.; DUJARDIN, J. P. Do the new triatomine species pose new challenges or strategies for monitoring Chagas disease? An overview from 1979-2021. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 116: e210015, 2021. doi.org/10.1590/0074-02760210015.

COSTA, J.; DORNAK, L. L.; ALMEIDA, C. E.; PETERSON, A. T. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. *Parasites & Vectors*, 7: 1-10, 2014. doi: 10.1186/1756-3305-7-238.

COSTA, J.; PETERSON, A. T. Ecological niche modeling as a tool for understanding distributions and interactions of vectors, hosts, and etiologic agents of Chagas disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 710: 59-70, 2012. doi: 10.1007/978-1-4419-5638-5_7.

COSTA, J.; PETERSON, A. T.; BEARD, C. B. Ecologic niche modeling and differentiation of populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, the most important Chagas' disease vector in northeastern Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 67: 516-20, 2002. doi.org/10.4269/ajtmh.2002.67.516.

COURA, J. R.; DIAS, J. C. P. Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease - 100 years after its discovery. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 104, (Suppl. I): 31-40, 2009. doi.org/10.1590/S0074-02762009000900006.

COURA, J. R. The main sceneries of Chagas disease transmission. The vectors, blood and oral transmissions A comprehensive review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 110(3):277-282, 2015. doi: 10.1590/0074-0276140362.

DIAS, J. C.; RAMOS, A. N. JR.; GONTIJO, E. D.; LUQUETTI, A.; SHIKANAI-YASUDA, M. A.; COURA, J. R.; TORRES, R. M.; MELO, JR.; ALMEIDA, E. A.; OLIVEIRA, W. JR.; SILVEIRA, A. C.; REZENDE, J. M.; PINTO, F. S.; FERREIRA, A. W.; RASSI, A.; FRAGATA, A. A. FILHO.; SOUSA, A. S.; CORREIA, D. FILHO.; JANSEN, A. M.; ANDRADE, G. M.; BRITTO, C. F.; PINTO, A. Y.; RASSI, A. JR.; CAMPOS, D. E.; ABAD-FRANCH, F.; SANTOS, S. E.; CHIARI, E.; HASSLOCHER-MORENO, A. M.; MOREIRA, E. F.; MARQUES, D. S.; SILVA, E. L.; MARIN-NETO, J. A.; GALVÃO, L. M.; XAVIER, S. S.; VALENTE, S. A.; CARVALHO, N. B.; CARDOSO, A. V.; SILVA, R. A.; COSTA, V. M.; VIVALDINI, S. M.; OLIVEIRA, S. M.; VALENTE, V. D.; LIMA, M. M.; ALVES, R. V. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49Supl 1(Supl 1):3-60, 2016. doi: 10.1590/0037-8682-0505-2016.

DIAS, J. C. P.; SILVEIRA, A. C.; SCHOFIELD, C. J. The impact of Chagas disease control in Latin America — A review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(5): 603-12, 2002. doi.org/10.1590/S0074-02762002000500002.

FERNÁNDEZ-SOTO, P.; ARAHUETES, J. G.; HERNÁNDEZ, A. S.; ABÁN, J. L.; SANTIAGO, B. V.; MURO, A. A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for early detection of *Schistosoma mansoni* in stool samples: a diagnostic approach in a murine model. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8 (9), 2014. doi: 10.1371/journal.pntd.0003126.

FERREIRA, A. M.; DAMASCENO, R. F.; MONTEIRO-JUNIOR, R. S.; OLIVEIRA, I. A. C.; PRATES, T. E. C.; NUNES, M. C. P.; HAIKAL, D. S. Reações adversas ao benzonidazol

no tratamento da Doença de Chagas: revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados e controlados. *Caderno de Saúde Coletiva*, 27 (3): 354-362, 2019. doi: 10.1590/1414-462X201900030456.

FERRO E SILVA, A. M.; SOBRAL-SOUZA, T.; MUYLAERT, R. L.; ABREU, A. P.; PELLOSO, A. M.; CARVALHO, M. D. B.; ANDRADE, L.; RIBEIRO, M. C.; TOLEDO, M. J. O. Spatial prediction of risk areas for vector transmission of *Trypanosoma cruzi* in the State of Paraná, southern Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(10): 1-17, 2018. doi.org/10.1371/journal.pntd.0006907.

FLORES-CHAVEZ, M. D.; ABRAS, A.; BALLART, C.; PERZ, I. I.; PERZ-GORDILLO, P. P.; GÁLLEGO, M.; MUÑOZ, C. Evaluation of the Performance of the Loopamp *Trypanosoma cruzi* Detection Kit for the Diagnosis of Chagas Disease in an Area Where It Is Not Endemic, Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 59:e01860-20, 2021. doi.org/10.1128/jcm.01860-20.

GALVÃO, C.; CARCAVALLO, R.; ROCHA, D. S.; JURBERG, J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. *Zootaxa*, 202: 1-36, 2003. doi: 10.11646/zootaxa.202.1.1.

GALVÃO, C.; GIL-SANTANA, H. R.; OLIVEIRA, J. The taxonomic catalog of the Brazilian fauna: biodiversity and geographical distribution of Thiatominae (Hemiptera: Reduviidae) in Brazil. *Zoologia*, 41: e24006, 2024. doi.org/10.1590/S1984-4689.v41.e24006.

GOMES, C.; ALMEIDAB, A. C.; ROSAB, A. C.; ARAUJOB, P. F. American trypanosomiasis and Chagas disease: Sexual transmission. *International Journal of Infectious Diseases*, 81:81-84, 2019. doi: 10.1016/j.ijid.2019.01.021.

GUARNIZO, S. A. G.; BASMA, L.; EQUILIA, S.; CONDORI, B. J.; MALAGA, E.; DEFAZIO, S.; ARTEAGA, E.; VELARDE, J. K.; OBREGÓN, A.; TAKYAR, A.; DUQUE, C.; HAKIM, J.; TINAJEROS, F.; GILMAN, R. H.; BOWMAN, N.; MUGNIER, M. R. A specific, stable, and accessible LAMP assay targeting the HSP70 gene of *Trypanosoma cruzi*. *MedRxiv*, 2025. doi.org/10.1101/2025.01.12.25320185.

GUHL F. Chagas disease in pre-Colombian civilizations **In memoriam to Arthur Aufderheide who opened a new research field in ancient medicine and parasitology. In: Telleria J, Tibayrenc M, editor. American trypanosomiasis Chagas disease. *Elsevier*; 2017. p. 23-46. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128010297000010>.

GUHL, F.; VALLEJO, G. A. *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920 - An Updated Review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 98(4), p. 435-442, 2003. doi: 10.1590/S0074-02762003000400001.

GURGEL-GONÇALVES, R.; CUBA, C. A. C. Predicting the potential geographical distribution of *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Reduviidae) based on ecological niche modeling. *Journal of Medical Entomology*, 46(4): 952-60, 2009. doi: 10.1603/033.046.0430.

GURGEL-GONÇALVES, R.; GALVÃO, C.; COSTA, J.; PETERSON, A. T. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. *Journal of Tropical Medicine*, 705326: 1-15. 2012. doi:10.1155/2012/705326.

H Aidamak, J.; Shimada, M. K.; Klisiowicz, D. R.; Reifur, L. *Trypanosoma cruzi* vector infection rate is underestimated in some localities in the state of Bahia. *Journal of Tropical Pathology*, v. 45, n. 1, p. 55-65, 2016. doi: 10.5216/rpt.v45i1.39979.

HAYASHIDA, K.; KAJINO, K.; HACHAAMBWA, L.; NAMANGALA, B.; SUGIMOTO, C. Direct Blood Dry LAMP: A Rapid, Stable, and Easy Diagnostic Tool for Human African Trypanosomiasis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 9(3): e0003578, 2015. doi:10.1371/journal.pntd.0003578.

Jevtusevskaia, J.; Krölov, Catarina.; Tulp, I.; Langel, U. The effect of main urine inhibitors on the activity of different DNA polymerases in loop-mediated isothermal amplification. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, v. 17(4):403-410, 2017. doi: 10.1080/14737159.2017.1283218.

Jorge, T. C. A.; Castro, S. L. FIOCRUZ, n. 10, p. 174-195, 2000. *Antropologia e Saúde collection*. ISBN 8585676-75-2. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

Jurberg, J.; Rodrigues, J. M. S.; Moreira, F. F. F.; Dale, C.; Cordeiro, I. R. S.; Lamas, V. D. Jr; Galvão, C.; Rocha, D. S. Atlas iconográfico dos triatomíneos do Brasil (vetores da doença de Chagas). Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, *Instituto Oswaldo Cruz*: Rio de Janeiro; 58 pp., 2014.

Kollien, A. H.; Grospietsch, T.; Kleffmann, T.; Zerbst-Boroffka, I., Schaub, G. A. Ionic composition of the rectal contents and excreta of the reduviid bug *Triatoma infestans*. *Journal of Insect Physiology*, 47 (2001), 739–747, 2001. doi: 10.1016/S0022-1910(00)00170-0.

Kuhls, K.; Moskalenko, O.; Sukiasyan, A.; Manukyan, D.; Melik-Adreasyan, G.; Atshemyan, L.; Apresyan, H.; Strelkova, M.; Jaeschke, A.; Wieland, R.; Fronhme, M.; Cortes, S.; Keshishyan, A. Microsatellite based molecular epidemiology of *Leishmania infantum* from re-emerging foci of visceral leishmaniasis in Armenia and pilot risk assessment by ecological niche modeling. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 15(4): e0009288, 2021. doi.org/10.1371/journal.pntd.0009288.

Lane, J. E.; Ribeiro-Rodrigues, R. Education and awareness of Chagas disease in the United States. *The Lancet Regional Health - Americas*, 40: 100944, 2024. doi: 10.1016/j.lana.2024.100944.

Lascano, F.; Bournissen, F. G.; Altcheh, J. Review of pharmacological options for the treatment of Chagas disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 88:383–402, 2022. doi.org/10.1111/bcp.14700.

Lee, B. Y.; Bacon, K. M.; Bottazzi, M. E.; Hotez, P. J. Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(4):342–348, 2013. doi: 10.1016/S1473-3099(13)70002-1.

LENT, H.; WYGODZINSKY, P. W. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. *Bulletin of the AMNH*, 163, 1979. <http://hdl.handle.net/2246/1282>.

LONGHI, S. A.; GARCÍA-CASARES, S. J.; MUÑOZ-CALDERÓN, A. A.; ALONSO-PADILLA, J.; SCHIJMAN, A. G. Combination of ultra-rapid DNA purification (PURE) and loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in dried blood spots. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 17(4): e0011290, 2023. doi.org/10.1371/journal.pntd.0011290.

LÓPEZ, R.; GARCÍA, A.; ARUNI, J. J. C.; BALBOA, V.; RODRÍGUEZ, A.; ERKOSAR, B. Comparative evaluation of lateral flow assays to diagnose chronic *Trypanosoma cruzi* infection in Bolivia. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 18(3):e0012016, 2014. doi.org/10.1371/journal.pntd.0012016.

LOROCCA, L.; STOLOWICZ, F. G.; VOJNOV, A. A.; SUAREZ, F. C.; SALVÁ, L.; MELI, S.; CARBAJAL-DE-LA-FUENTE, A. L.; CARRILLO, C. A simplified molecular tool for detecting the Chagas etiological agent using a vector feces sample in field conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 206, 108161, 2024. doi.org/10.1016/j.jip.2024.108161.

MARCHIOL, A.; SANCHEZ, A. C. F.; CAICEDO, A.; SEGURA, M.; BAUTISTA, J.; SOTELO, M. S. A; HERAZO, R.; FORSYTH, C.; BOHORQUEZ, L. C. Laboratory evaluation of eleven rapid diagnostic tests for serological diagnosis of Chagas disease in Colombia. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2023;17(8):e0011547. doi.org/10.1371/journal.pntd.0011547.

MARTINS-MELO, F. R; CARNEIRO, M.; RAMOS, A. N.; HEUKELBACH, J.; RIBEIRO, A. L. P.; WERNECK, G, L. The burden of Neglected Tropical Diseases in Brazil, 1990-2016: A subnational analysis from the Global Burden of Disease Study 2016. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12(6): e0006559, 2018. doi.org/10.1371/ journal.pntd.0006559.

MARTINS-MELO, F. R.; RAMOS, A. N. JR.; ALENCAR, C. H.; HEUKELBACH, J. Mortality from neglected tropical diseases in Brazil. *Bull World Health Organ*, v. 94, n. 2, p. 103-110, 2016. doi:10.2471/BLT.15.152363.

MEDEIROS, L. C. S.; SOUTH, L.; PENG, D.; BUSTAMANTE, J. M.; WANG, W.; BUNKOFSKE, M.; PERUMAL, N.; SANCHEZ-VALDEZ, F.; TARLETON. Rapid, selection-free, high-efficiency genome editing in protozoan parasites using CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *American Society for Microbiology*, mBio, 8(6):e01788-17, 2017. doi: 10.1128/mBio.01788-17.

MELO, A.S.; FERRARI, F. Molecular biology as a tool for the diagnosis of Chagas Disease. *Brazilian Journal of Health*, Review, v. 6, n. 6, p. 29442-29470, 2023. doi:10.34119/bjhrv6n6-223.

MINUZZI-SOUZA, T. T. C.; NITZ, N.; CUBA, C. A. C.; HAGTRÖM, L.; HECHT, M.; SANTANA, C.; RIBEIRO, M.; VITAL, T. E.; SANTALUCIA, M.; KNOX, M.; OBARA, M. T.; ABAD-FRANCH, F.; GURGEL-GONÇALVES, R. Surveillance of vector-borne pathogens under imperfect detection: lessons from Chagas disease risk (mis)measurement.

Scientific Reports. Nature research, v. 8(151), p. 1-10, 2018. doi: 10.1038/s41598-017-18532-2.

MORAES, A. M. L.; JUNQUEIRA, A. C. V.; CELANO, V.; COSTA, L. COURA, J. R. FUNGAL FLORA OF THE DIGESTIVE TRACT OF RHODNIUS PROLIXUS, RHODNIUS NEGLECTUS, DIPTELANOGASTER MAXIMUS AND PANSTRONGYLUS. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35:288-291, 2004. doi.org/10.1590/S1517-83822004000300003.

MOREIRA, O. C.; FERNANDES, A. G.; GOMES, N. L. S.; SANTOS, C. M.; JACOMASSO, T.; COSTA, A. D. T.; NASCIMENTO, L. O. R.; HASSLOCHER-MORENO, A. M.; BRASIL, P. E. A. A.; MORELLO, L. G.; MARCHINI, F. G.; KRIEGER, M. A.; BRITTO, C. Validation of the NAT Chagas IVD Kit for the Detection and Qualification of *Trypanosoma cruzi* in Blood Samples of Patients with Chagas Disease. *Life*, v. 13, 1236, 2023. doi.org/10.3390/life13061236.

MUÑOZ-CALDERÓN, A. A.; BESUSCHIO, S. A.; WONG, S.; FERNÁNDEZ, M.; CÁCERES, L. J. G.; GIORGIO, P.; BARCAN, L. A.; MARKHAM, C.; LIU, Y. E.; NOYA, B. A.; LONGHI, S. A.; SCHIJMAN, A. G. Loop-Mediated Isothermal Amplification of *Trypanosoma cruzi* DNA for Point-of-Care Follow-up of Anti-Parasitic Treatment of Chagas Disease. *Microorganisms*, 10, 909, 2022. doi.org/10.3390/microorganisms10050909.

MUYLAERT, R. L.; SABINO-SANTOS, J. R. G.; PRIST, P. R.; OSHIMA, J. E. F.; NIEBUHR, B. B.; SOBRAL-SOUZA, T.; OLIVEIRA, S. V.; BOVENDORP, R. S.; MARSHALL, J. C.; HAYMAN, D. T. S.; RIBEIRO, M. C. Spatiotemporal dynamics of hantavirus cardiopulmonary syndrome transmission risk in Brazil. *Viruses*, 11(11): 1008, 2019. doi:10.3390/v11111008.

NAVES, L. L.; SILVA, M. V.; FAJARDO, E. F.; SILVA, R. B.; DE VITO, F. B.; RODRIGUES, V.; LAGES-SILVA, E.; RAMÍREZ, L. E.; PEDROSA, A. L. DNA content analysis allows discrimination between *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *PLoS One*, 19; 12(12):e0189907. doi: 10.1371/journal.pone.0189907

NWE, M. K.; JANGPROMMA, N.; TAEMAITREE, L. Evaluation of molecular inhibitors of loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Scientific Reports*, v. 14:5916, 2024. doi: 10.1038/s41598-024-55241-z.

NOTOMI, T.; MORI, Y.; TOMITA, N.; KANDA, H. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, v. 28, n. 12, p. e63, 2000. doi: 10.1093/nar/28.12.e63.

NOTOMI, T.; MORI, Y.; TOMITA, N.; KANDA, H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features and future prospects. *Journal of Microbiology*, v. 53, n. 1, p. 1-5, 2015. doi 10.1007/s12275-015-4656-9.

OLIVEIRA, J. A. N.; ANASTÁCIO, D. B.; SILVA, T. R. M.; SILVA, S. S.; CARVALHO, G. A.; RAMOS, R. A. N. Triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi* in an endemic area for Chagas disease in Northeast Brazil. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*, vol. 57, e00700-2023, 2024. doi.org/10.1590/0037-8682-0413-2024.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Doença de Chagas. Atualizado em 4 de abril de 2024. Acesso em: 03 de março de 2025. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))

ORDÓÑEZ, D.; FERNÁNDEZ-SOTO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, A. AM.; CREGO-VICENTE, B.; FEBRER-SENDRA, B.; DIEGO, J. G. B.; VIVENTE, B.; LÓPEZ-ABÁN, J.; BELHASSEN-GARCÍA, M.; MURO, A.; PATARROYO, M. A. A *Trypanosoma cruzi* genome tandem repetitive satellite DNA sequence as a molecular marker for a LAMP assay for diagnosing Chagas disease. *Hindawi Disease Markers*, v. 2020, n. 8074314, p. 1-8, 2020. doi.org/10.1155/2020/8074314.

PAIVA, V. F.; OLIVEIRA, J.; BELINTANI, T.; GALVÃO, C.; GIL-SANTANA, H. R.; ROSA, J. A. *Hospesneotomae* n. gen. of the Triatomini tribe presents a turnaround in the taxonomy of the *Triatoma protracta* species complex. *Scientific reports*, 15:8143, 2025. doi.org/10.1038/s41598-025-91399-w.

PANOZO, L. R.; NINA, S. R.; WEHRENDT, D. P.; CASELLAS, A.; PINTO, L.; MENDEZ, S.; KUO, C. W./ LOZANO, D. F.; ORTIZ, L.; PINAZO, M. J.; PICADO, A.; SANZ, S.; ABRIL, M.; GASCON, J.; WONG, S.; SCHIJMAN, A. G.; TORRICO, F.; ALONSO-PADILHA, J. Evaluation and validation of a Printr-Lab-based assay to identify *Trypanosoma cruzi* in newborns in Bolivia: a proof-of-concept study. *Lancet Microbe*, v. 5:100887, 2024. doi.org/10.1016/S2666-5247(24)00110-1.

PARANÁ. NOTA ORIENTATIVA Nº 13/2024 - CVIA/DAV/SESA. Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Coordenação de Vigilância em e Atenção/Divisão de Atenção e Vigilância/Secretaria Estadual da Saúde do Paraná, Curitiba, 2024.

PASCUAL-VÁZQUEZ, G.; ALONSO-SARDÓN, M. A.; RODRÍGUEZ-ALONSO, B.; PARDO-LLEDÍAS, J.; ALEGRÍA, A. R.; FERNÁNDEZ-SOTO, P.; BELLIDO, J. L. M.; MURO, A.; BELLHASSEN-GARCÍA, M. Molecular diagnosis of Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. *Infectious Diseases of Poverty*, v. 16; 12:95, 2023. doi: 10.1186/s40249-023-01143-7.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. *Lancet*, 391(10115):82-94, 2018. doi:10.1016/S0140-6736(17)31612-4.

PINAZO, M. J.; MALCHIODI, E.; LOSET, J. R.; BIVONA, A.; GOLLOB, K. J.; DUTRA, W. Challenges and advancements in the development of vaccines and therapies against Chagas disease. *Lancet Microbe*, 5:1009272, 2024. doi.org/10.1016/j.lanmic.2024.100972.

PLUTZER, J.; KARANIS, P. Rapid identification of *Giardia duodenalis* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) from faecal and environmental samples and comparative findings by PCR and real-time PCR methods. *Parasitology Research*; volume 104(6): página 1527-1533, 2009. doi: 10.1007/s00436-009-1391-3.

RAFAEL, A. F.; FERREIRA, R. A.; MOTA, A. F.; DAMASCENO, R. F.; MENEZES, A. S. S.; LOPES, B. T.; PAULO, G. L.; SABINO, E. C.; RIBEIRO, A. L. P.; QUINTINO, N. D.; VIEIRA, T. M. Overview of Chagas disease surveillance in an endemic region in

Southeastern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 65: e51, 2023. doi.org/10.1590/S1678-9946202365051.

RIBEIRO-JR, G.; ABAD-FRANCH, F.; SOUSA, O. M. F.; SANTOS, C. G. S.; FONSECA, E. O. L.; SANTOS, R. F.; CUNHA, G. M.; CARVALHO, C. M.M.; REIS, R. B.; GURGEL-GONÇALVES, R.; REIS, M. G. TriatoScore: an entomological-risk score for Chagas disease vector control-surveillance. *Parasites & Vectors*, 14(492): 2-15, 2021. doi.org/10.1186/s13071-021-04954-5.

RIOS, A.; RIBEIRO, M.; SOUZA, A.; PIMENTEL, F.; HAGSTRÖM, L.; ANDRADE, R.; ALVES, R. M.; ROSA, A. C.; TEIXEIRA, A. R. I.; NITZ, N.; HECHT, M. M. Can sexual transmission support the enzootic cycle of *Trypanosoma cruzi*? *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 113(1): 3-8, 2018. doi: 10.1590/0074-02760170025.

RIVERO, R.; BISIO, M.; VELÁZQUEZ, E. B.; ESTEVA, M. I.; SCOLLO, K.; GONZÁLEZ, N. L.; ALTCHER, J.; RUIZ, A. M. Rapid detection of *Trypanosoma cruzi* by colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP): A potential novel tool for the detection of congenital Chagas infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 89, Issue 1, p. 26-28, 2017. doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.06.012.

RODRIGUES, J. O.; LORENZO, M. G.; MARTINS-FILHO, O. A.; ELLIOT, S. L.; GUARNWRI, A. A. Temperature and parasite life-history are important modulators of the outcome of *Trypanosoma rangeli* - *Rhodnius prolixus* interactions. *Parasitology*, v. 143, n. 11, p. 1459-1468, 2016. doi.org/10.1017/S0031182016001062.

RODRIGUEZ, C. V.; RIVAS, F.; CORONEL-SERVIAN, A. M.; FUKUMOTO, S.; SUGIMOTO, C.; KAWAZU, S. I.; INOUE, N. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 82, n.5, p. 855-860, 2010. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0533.

SANTOS, F. L. N.; PAVAN, T. B. S.; VALLE, C. S.; SAMPAIO, D. D.; VASCONCELOS, L. C. M.; CRISTÓBAL, M. H.; SILVA, A. A. O.; OLIVEIRA, C. M.; SOUZA, R. S.; CASAS, C. N. P. R.; DAHER, A.; SIQUEIRA, I. C. The Oxente Chagas Bahia Project: evaluating the efficacy of a rapid diagnostic test and treatments for Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, vol. 119: e240140, 2024. doi.org/10.1590/0074-02760240140.

SCHAUB, G. A. Interaction of *Trypanosoma cruzi*, triatomines and the microbiota of the vectors - A review. *Microorganisms*, 12, 855, 2024. doi.org/10.3390/microorganisms12050855.

SCHIJMAN, A. G. Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica*, n. 184, p. 58-66, 2018. doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.02.019.

SCHMUNIS, G. A.; YADON, Z. E. Chagas disease: A Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta Tropica*, 115, 14-21, 2010. doi:10.1016/j.actatropica.2009.11.003.

SCHOFIELD, C. J.; GALVÃO, C. Classification, evolution, and species groups within the Triatominae. *Acta Tropica*, v. 110, n. 2-3, p. 88-100, 2009. doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.01.010.

SCHUSTER, J. P.; SCHAUB, G. A. *Trypanosoma cruzi*: skin-penetration kinetics of vector-derived metacyclic trypomastigotes. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 14, p. 1475-9, 2000. doi: 10.1016/s0020-7519(00)00119-3.

SILVA, E. D.; SILVA, A. A. O.; SANTOS, E. F.; LEONY, L. M.; FREITAS, N. E. M.; DALTRO, R. T. Development of a New Lateral Flow Assay Based on IBMP-8 1 and IBMP-8.4 Chimeric Antigens to Diagnose Chagas Disease. *BioMed Research International*, 2020:1803515–1803515, 2020. doi.org/10.1155/2020/1803515.

SILVA, L. R. S.; SILVA, B. A.; OLIVEIRA, M, A.; MEDEIROS, C. A.; OLIVEIRA, J. B. Vigilância entomológica dos vetores da doença de Chagas nos municípios da VII Gerência Regional de Saúde do estado de Pernambuco, Brasil, de 2012 a 2017. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, vol. 12, 2021. doi.org/10.5123/s2176-6223202100858.

SILVA, M. B. A.; BARRETO, A. V. M. S.; SILVA, H. A.; GALVÃO, C.; ROCHA, D. JUBERG, J.; GURGEL-GONÇALVES, R. Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the State of Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma* infection rates between 2006 and 2007. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 45(1): 60-5, 2012. doi.org/10.1590/S0037-86822012000100012.

SILVA, R. A.; BARBOSA, G. L.; RODRIGUES, V. L. C. C. Vigilância epidemiológica da doença de Chagas no estado de São Paulo no período de 2010 a 2012. *Epidemiologia e Serviços da Saúde*, 23(2): 259-67, 2014. doi.org/10.5123/S1679-49742014000200007.

SILVA, R. A. Current state of the entomological surveillance of Chagas' disease in the state of São Paulo. *Brazilian Journal of health Review*, v. 2, n. 2, p. 742-755, 2019. ISSN 2595-6825.

SILVEIRA, A. C.; DIAS, J. C. P. O controle da transmissão vetorial. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 44(2): 52-63, 2011. doi.org/10.1590/S0037-86822011000800009.

STANAWAY, J. D.; ROTH, G. The burden of Chagas disease estimates and challenges. *Global Heart*, 10(3): 139-44, 2015. doi: 10.1016/j.ghart.2015.06.001.

STOCO, P. H.; WAGNER, G.; TALAVERA-LÓPEZ, C.; GERBER, A.; ZAHA, A.; THOMPSON, C. E.; BARTOLOMEU, D. C.; LÜCKEMEYER, D. D.; BAHIA, D.; LORETO, E.; PRESTES, E. B.; LIMA, F. M.; RODRIGUES-LUIZ, G.; VALLEJO, G. A.; FILHO, J. F. S.; SCHENKMAN, S.; MONTEIRO, K. M.; TYLER, K. M.; ALMEIDA, L. G. P.; ORTIZ, M. F.; CHIURILLO, M. A.; MORAES, M. H.; CUNHA, O. L.; MENDONÇA-NETO, R.; SILVA, R.; TEIXEIRA, S. M. R.; MURTA, S. M. F.; SINCERO, T. C. M.; MENDES, T. A. O.; URMENYI, T. P.; SILVA, V. G.; DAROCHA, W. D.; ANDERSSON, B.; ROMANHA, A J.; STEINDEL, M.; VASCONCELOS, A. T. R.; GRISARD, E. C. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(9):e3176, 2014. doi: 10.1371/journal.pntd.0003176.

SULLEIRO, E.; MUÑOZ-CALDERON, A.; SCHIJMAN, A. G. Role of nucleic acid amplification assays in monitoring treatment response in chagas disease: Usefulness in clinical trials. *Acta Tropica* 199 (2019) 105120. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105120>.

THEKISOE, O. M. M.; BAZIE, R. S. B.; CORONEL-SERVIAN, A. M.; SUGIMOTO, C.; KAWAZU, S. I.; INOUE, N. Stability of Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)

Reagents and its Amplification Efficiency on Crude Trypanosome DNA Templates. *Journal of Veterinary Medical Science - Parasitology*, v. 71, (4), p. 471-475, (2009). <https://doi.org/10.1292/jvms.71.471>.

THEKISOE, O. M. M.; KUBOKI, N.; NAMBOTA, A.; FUJISAKI, K.; SUGIMOTO, C.; IGARASHI, I.; YASUDA, J.; INOUE, N. Species-specific loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for diagnosis of trypanosomosis. *Acta Tropica*, v, 102 (3): 182-189, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.05.004>.

THEKISOE, O. M. M.; RODRIGUEZ, C. V.; RIVAS, F.; CORONEL-SERVIAN, A. M.; FUKUMOTO, S.; SUGIMOTO, C.; KAWAZU, S. I.; INOUE, N. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 82, n.5, p. 855-860, 2010. doi:10.4269/ajtmh.2010.09-0533.

TOWNSEND, P. A. Ecologic niche modeling and spatial patterns of disease transmission. *Emerging Infectious Diseases*, v. 12, n. 12, p. 1822-1826, 2006. doi: 10.3201/eid1212.060373.

TRAJANO- SILVA, L. A. .; MULE, S. N.; PALMISANO, G. Molecular tools to regulate gene expression in *Trypanosoma cruzi*. *Advances in Clinical Chemistry*,120:169-190, 2024. doi: 10.1016/bs.acc.2024.04.008.

TROVO, J. V. S. & WEBER-LIMA, M. M; PRADO-COSTA, B.; IUNKLAUS, G. F.; ANDRADE, A. J.; SOBRAL-SOUZA, T.; MUYLAERT, R. L.; ALVARENGA, L. M; TOLEDO, M. J. O. The risk of vector transmission of *Trypanosoma cruzi* remains high in the State of Paraná. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, vol. 119: e230226, 2024. doi: 10.1590/0074-02760230226.

VILLELA, M. M.; SOUZA, J. M. B.; MELO, V. P.; DIAS, J. C. P. Avaliação do programa de controle da doença de chagas em relação à presença de *Panstrongylus megistus* na Região Centro-Oeste do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, 25(4):907-17. 22, 2009.

VILLELA, M. M.; SOUZA, J. M. B.; MELO, V. P.; DIAS, J. C. P. Vigilância epidemiológica da doença de Chagas em programa descentralizado: avaliação de conhecimentos e práticas de agentes municipalizados em região endêmica de Minas Gerais, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, 23(1):2428-38, 2007.

VIVAS, R. J.; GARCÍA, J. E.; GUHL, F.; HERNÁNDEZ, C.; VELÁSQUEZ, N.; RAMÍREZ, J. D.; CARRANZA, J. C.; VALLEJO, G. A. Systematic review on the biology, ecology, genetic diversity and parasite transmission potential of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille 1811) in Latin America. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 116(1): 1-18, 2021. doi.org/10.1590/0074-02760200528.

WEHRENDT, D. P.; ALONSO-PADILLA, J.; LUI, B.; PANOZO, L. R.; NINA, S. S.; PINTO, L.; LOZANO, D.; PICADO, A.; ABRIL, M.; PINAZO, M. J.; GASCON, J.; TORRICO, F.; WONG, T.; SCHIJMAN, A. G. Development and Evaluation of a Three-Dimensional Printer-Based DNA Extraction for Point-of-Care Diagnosis of Congenital Chagas Disease in Endemic Regions. *The Journal of Molecular Diagnostics*, v. 23, n 4, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.12.007>.

YI, M.; ZHANG, B.; WANG, M.; OU, Y.; WANG, J.; LI, S. Enhancement of polymerase activity of the large fragment in DNA polymerase I from *Geobacillus stearothermophilus* by site-directed mutagenesis at the active site. *BioMed Research International*, v. 2016, p. 1-8, 2016. doi.org/10.1155/2016/2906484.

ZINGALES, B.; MILES, M. A.; CAMPBELL, D. A.; TIBAYRENC, M.; MACEDO, A. M.; TEIXEIRA, M. M. G.; SCHIJMAN, A. G.; LIEWELLYN, M. S.; LAGES-SILVA, E.; MACHADO, C. R.; ANDRADE, S. G.; STURM. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecific nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 12, n. 2012, p. 240-253, 2012. doi:10.1016/j.meegid.2011.12.009.

CAPÍTULO 2. THE RISK OF VECTOR TRANSMISSION OF *Trypanosoma cruzi* REMAINS HIGH IN THE STATE OF PARANÁ

RESEARCH ARTICLE

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 119: e230226, 2024 1 | 14

The risk of vector transmission of *Trypanosoma cruzi* remains high in the State of Paraná

João Vítor S Trovo¹, Michele Martha Weber-Lima^{2,5}, Bianca Prado-Costa²,
Giullia F Iunklaus¹, Andrey J Andrade², Thadeu Sobral-Souza³, Renata L Muiyler⁴,
Larissa M Alvarenga², Max Jean O Toledo^{1/*}

¹Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Maringá, PR, Brasil

²Universidade Federal do Paraná, Departamento de Patologia Básica, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia, Curitiba, PR, Brasil

³Universidade Federal do Mato Grosso, Instituto de Biociências, Departamento de Botânica e Ecologia, Laboratório de Macroecologia, Cuiabá, MT, Brasil

⁴Massey University, Hopkirk Research Institute, Molecular Epidemiology and Public Health Laboratory, Palmerston North, New Zealand.

⁵Secretaria Estadual da Saúde, Curitiba, PR, Brasil

BACKGROUND Monitoring and analysing the infection rates of the vector of *Trypanosoma cruzi*, that causes Chagas disease, helps assess the risk of transmission.

OBJECTIVES A study was carried out on triatomine in the State of Paraná, Brazil, between 2012 and 2021 and a comparison was made with a previous study. This was done to assess the risk of disease transmission.

METHODS Ecological niche models based on climate and landscape variables were developed to predict habitat suitability for the vectors as a proxy for risk of occurrence.

FINDINGS A total of 1,750 specimens of triatomines were recorded, of which six species were identified. The overall infection rate was 22.7%. The areas with the highest risk transmission of *T. cruzi* are consistent with previous predictions in municipalities. New data shows that climate models are more accurate than landscape models. This is likely because climate suitability was higher in the previous period.

MAIN CONCLUSION Regardless of uneven sampling and potential biases, risk remains high due to the wide presence of infected vectors and high environmental suitability for vector species throughout the state and, therefore, improvements in public policies aimed at wide dissemination of knowledge about the disease are recommended to ensure the State remains free of Chagas disease.

Key words: Triatominae - ecological niche models - climate - landscape - Chagas disease

Chagas disease (CD) or American trypanosomiasis has the haemoflagellate protozoan *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909) as its etiological agent and affects about 6-7 million people worldwide, mainly in the Americas, it is most commonly transmitted by Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) insect vector, when humans come into contact with the vector's contaminated faeces, carried out after a blood meal. There are also other routes of transmission, such as blood transfusion, organ transplantation, and congenital transmission.^(1,2,3) According to the National System of Notifiable Diseases (Sistema de Informação de Agravos de Notificação - SINAN), in Brazil alone, from 2012 to 2020, there were 2,458 cases, 533 between 2020 and 2021. The cases cluster mainly in the North Region of

Brazil, and a total of 1,746 deaths due to the disease were reported.⁽⁴⁾ Currently, oral transmission is the main route of human infection by *T. cruzi*, through the consumption of food contaminated by the pathogen, followed by vector transmission that occurs through human contact with the feces of the infected vector.⁽⁵⁾

Chagas disease vectors are distributed in five tribes and 18 genera, covering about 157 species (154 living species and three fossils),⁽⁶⁾ just 12 present epidemiologic importance.^(7,8) In Brazil there are about 68 known species of triatomines to date.⁽⁷⁾ Some are epidemiologically important due to their behavioural characteristics, especially *Triatoma infestans* Klug, 1834. As *T. infestans* is an introduced species in Brazil and has adapted to intradomicile, its control was mostly made possible through intense entomological surveillance and chemical control actions.^(8,9,10) However, the ecological niches vacated by *T. infestans* are being occupied by other native species with the potential for domiciliation, such as: *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, *Triatoma pseudomaculata* Corrêa & Espinola, 1964, *Panstrongylus megistus* Burmeister, 1835, *Triatoma maculata* Erichson, 1848, *Triatoma rubrovaria* Blanchard, 1843, and *Triatoma sordida* Stål, 1859.^(7,11-18) *Panstrongylus megistus* has become a particularly relevant vector because it has a great ability to adapt to

doi: 10.1590/0074-02760230226

Financial support: This study was financed in part by the CAPES (Finance Code 001 - JVST, BPC and GFI), CNPq [Research productivity grant, process numbers: 314927/2020-4 and 315180/2023-4 (MJOT)].

RLM is supported by Bryce Carmine and Anne Carmine (née Percival) through the Massey University Foundation.

JVST and MMW-L contributed equally to this work.

+ Corresponding author: mjotoledo@uem.br

● <https://orcid.org/0000-0001-6314-8668>

Received 02 December 2023

Accepted 16 April 2024



online | memorias.ioc.fiocruz.br

artificial ecotopes and to intradomicile in rural areas and it can even be found in urban areas.^(19,20) *T. sordida* and *Rhodnius neglectus* Lent, 1954, are also of great epidemiological importance as they are found in and around rural homes, with high rates of *T. cruzi* infection, up to 43%.^(21,22) In the State of Paraná, southern Brazil, in addition to the four species (*T. infestans*, *P. megistus*, *T. sordida*, and *R. neglectus*) mentioned above, there are records of the occurrence of six additional species: *Panstrongylus geniculatus* Latreille, 1811, *Rhodnius prolixus* Stål, 1859, *Rhodnius domesticus* Neiva & Pinto, 1923, *P. tibiamaculatus* Pinto, 1926, *Cavernicola pilosa* Barber, 1937, *Microtriatoma borbai* Lent & Wygodzinsky, 1979.^(11,23,24)

Captures of these triatomine insects may occur both by passive and active surveillance. Passive surveillance occurs when the resident finds the triatomine in their home and sends it to the entomological surveillance of the municipality for notification. On the other hand, active surveillance occurs when the health agents themselves carry out an active search in the residence, notifying the occurrence of triatomines and capturing specimens. The captured insects are sent to the State Department of Health ("Secretaria Estadual da Saúde" - SESA) for identification at the species level, life stage (adult and nymph) and analysis of the presence of *T. cruzi* infection.^(12,25)

Ecological niche modelling (ENM) is a methodology that uses mathematical algorithms to relate occurrence data with environmental variables to infer potential areas of species occurrence. This approach has been used for several diseases such as hantavirus and visceral leishmaniasis,^(26,27) and also for CD in different regions, as it is meaningful for understanding the environmental requirements and geographic distribution of vectors leading to a better understanding of the epidemiological aspects of the disease.⁽²⁸⁾ Costa et al. used the ENM methodology for the first time to analyse Brazilian species of triatomines.⁽²⁹⁾ ENM predictions for Brazil indicate that the distribution of *R. neglectus* expanded towards the west and northwest of the Brazilian Cerrado.⁽³⁰⁾ In the State of Paraná, in a study carried out by Ferro e Silva et al.,⁽²³⁾ models for the years 2007-2013 predicted that the municipalities in the northwest, north and northeast regions of the state have higher values for climatic and landscape potential habitat suitability for the occurrence of triatomines (hereafter risk of *T. cruzi* vector occurrence). ENM studies can also be necessary for analysing models that estimate the effects of climate change on species distribution.⁽³¹⁾

The present study aimed to investigate the risk areas for CD in the State of Paraná and evaluate the risk of vector transmission of *T. cruzi* based on a decade of triatomine occurrence data (2012 to 2021) and discuss the main patterns in temporal variation in vector distribution and infection rates within the state. Based on previous research and surveillance, it was expected that potential habitat suitability for vectors would be consistently higher in the northwest for the current period, peaking at north and northeast regions of the state, varying according to landscape and climate predictors. Another objective was to estimate and discuss potential sampling

biases in the occurrence data that matched geospatial coordinates of municipalities. The implications of model predictions and potential biases for estimating the risk of vector transmission of the CD agent to humans based on surveillance data at the municipality level are discussed.

MATERIALS AND METHODS

Study area - The State of Paraná has a population of about 11.6 million inhabitants spread over approximately 200,000 km², thus having a population density of 57.4 inhabitants per square kilometre.⁽³²⁾ It is located within the Atlantic Forest (covering 97.8% of the State) and non-forest formations. Within the Atlantic Forest biome, five major phytogeographic units stand out: Dense Ombrophilous Forest, Mixed Ombrophilous Forest, Semideciduous, Steppes (or Fields) and Cerrado (or Savannah) (Fig. 1).⁽³³⁾

The Dense Ombrophilous Forest has a large and complex collection of biological forms and rainfall distributed throughout the year, influenced by the warm and humid air masses of the Atlantic Ocean. The Araucaria Mixed Rain Forest, which has a certain complexity of species, but with a predominance of araucaria (*Araucaria angustifolia*), well-distributed rainfall throughout the year and vegetation influenced by regular frosts in winter. The Semideciduous Forest (or seasonal) has low precipitation and occasional frosts, forcing its vegetation to lose its leaves. The Steppes (Campos) have, for the most part, grassy vegetation and gallery forests (close to riverbanks). And finally, Savannah or Cerrado, characteristic of the semi-arid climate of Brazil.⁽³⁴⁾ Paraná's climate can be subdivided into three subtypes: temperate humid with hot summers, sub-humid with little water deficiency, megathermal and humid subtropical with dry winter.⁽³⁵⁾

Specimens collection and construction of georeferenced maps - The triatomines were obtained from collections carried out in the routine of the SESA, being collected and forwarded by the population to the "Secretaria Municipal de Saúde" (SMS) and from these to the "Regional de Saúde" (RS), where there is a screening of the specimens, which are forwarded to the "Núcleo de Vigilância Entomológica" (NVE) and/or to the "Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores" (DVT), to be identified and analysed for presence of *T. cruzi*.

The taxonomic identification of triatomines was carried out according to the dichotomous key proposed by Lent & Wygodzinsky⁽⁷⁾ 1979 and Jurberg et al.⁽³⁶⁾

The analysis of the infection rate by *T. cruzi* was carried out using the conventional method, direct fresh examination of the intestinal contents, through abdominal compression after the insect was anaesthetised in the presence of cotton wool soaked in chloroform or ether. Excreta (faeces and urine) are deposited on a slide with 0.9% NaCl physiological solution and an overlapping cover slip (20 x 20 mm). The microscopic fields were observed at 400X magnification using an Olympus microscope.

Specimens were notified according to year of notification, municipality, place of capture (intradomicile and peridomicile), developmental stage (nymph or adult), sex and positivity for trypanosomatids. This information was tabulated in Excel and georeferenced using the data analy-

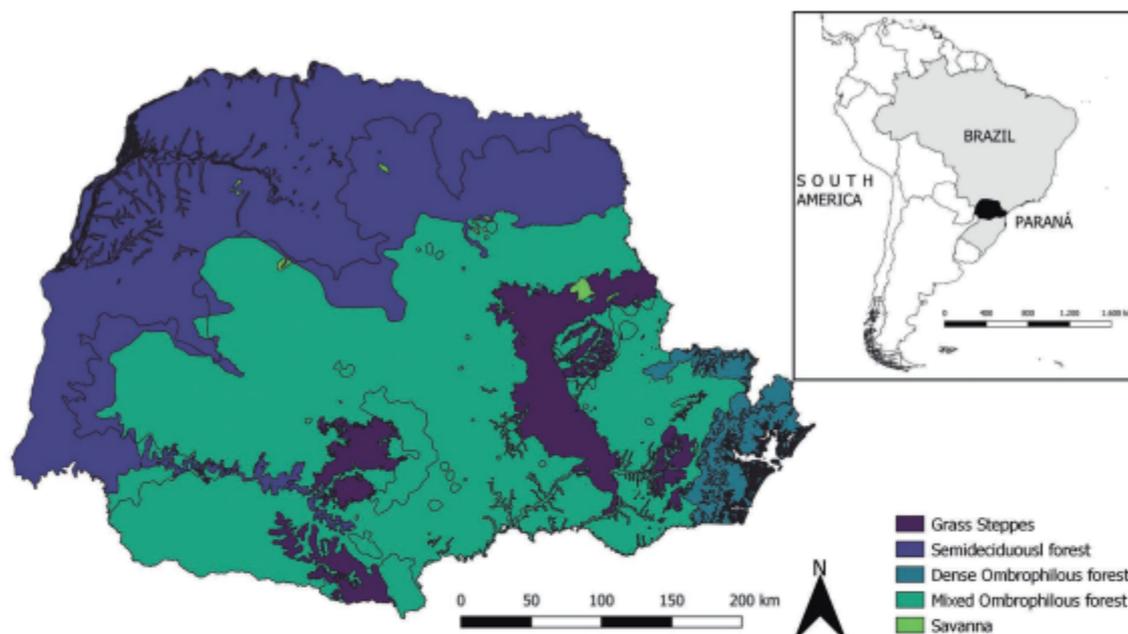


Fig. 1: geographical location, main vegetation types and forest remnants of the Atlantic Forest biome of the State of Paraná, southern Brazil. Software: QGIS. Source: IBGE⁽⁷²⁾.

sis program using QGIS version 3.22.1. In order to create occurrence maps, the municipality's centroid was used to assign a geospatial location (WGS 84) for the triatomine capture data using the Realcentroid plugin (1.0.3).

Once in possession of this information, the point of capture of the specimens was plotted on the map of the State of Paraná with the municipal grid, made available by the "Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística" (IBGE)⁽⁷²⁾ thus obtaining maps of the capture sites for each species in the state.

Ecological niche models - For predicting environmental suitability, the modelling workflow from Ferro e Silva et al.⁽²³⁾ was applied. The covariate data used in model building was composed by a selection from 19 climate variables and five landscape variables. A factorial analysis similar to the methodology of Sobral-Souza et al.⁽⁷⁷⁾ was carried out to obtain the variables that were less correlated, but that explained a greater environmental variation in the study area. After this step, the following climate variables were selected: isothermality, annual temperature variation, temperature in the hottest quarter, precipitation in the wettest quarter and precipitation in the coldest quarter. All climatic variables were extracted from the WorldClim dataset v 1.4 (<https://www.worldclim.org>).

From the five landscape variables extracted from Earthenv (<http://www.earthenv.org/texture>), those that were most related to the effects of landscape fragmentation on the dispersal of triatomines, due to their association with human occupations, were selected. Other variables, such as the type of vegetation cover, species and state of vegetation preservation are also likely to influence the areas where triatomines occur. Therefore, veg-

etation cover and functional connectivity were selected for landscape model building.

For a better observation and comparison of data and predicted suitability values considering municipality centroids, 1000 random points were generated throughout the state. The Rstudio (2021.09.0) and R (R Core Team)⁽³⁸⁾ were used in analyses. Distributions of observations in municipalities were compared with random points using violin plots, which combine the boxplot graph with density data. In addition to demonstrating in which indices each captured species was most found and also the capacity of the previously generated models to divide the species in relation to the indices where they were more frequent, expectedly higher suitability values.

Statistical analysis - Because of limitations of data collection and attribution of geospatial locations of triatomines to municipality centroids, the data was evaluated for potential sampling biases. The SAMPBIAS package⁽³⁹⁾ was used, which uses a Bayesian approximation to calculate the accessibility bias of a species occurrence database. SAMPBIAS runs in the R language. As input data, information on species (occurrence), year and municipality centroid location (latitude and longitude) were entered for each of the 1,750 occurrences of triatomines. SAMPBIAS estimates four sampling bias drivers based on Bayesian inference, namely highways, cities, rivers, and airports.

RESULTS

In the period from 2012 to 2021, totalling 10 years, 1,750 specimens of triatomines were recorded in the State of Paraná. In 2019, the highest number of notifica-

tions (n = 366) was recorded, an increase mostly related to the high number of samples from a colony in Nova Aurora municipality (n = 123) (Fig. 2A).

In Paraná, six species from entomological surveillance were recorded, namely: 80% of *P. megistus* (n = 1,399), 14% of *P. geniculatus* (n = 238), 3% of *T. sordida* (n = 58), and 2% of *R. neglectus* (n = 39). Less than 1% (n = 14) of the samples lacked species-level classification, all belonging to the genus *Rhodnius* (classified within the *cis-prolixus* group). These specimens were disregarded in species-level analyses. Two specimens of *P. tibiamaculatus*, formerly *T. tibiamaculata*,⁽⁴⁰⁾ were also recorded in the period but not included in this analysis. Other insect species that are confused with triatomines were also recorded during surveillance (Fig. 2A).

Panstrongylus megistus was the only species found in all ten years of the study period, and also the most frequently captured, except in 2012 when *P. geniculatus* comprised most captures. The year 2012 was also the only one in which all four most prevalent species were found. The species referred to as *R. cis-prolixus* group was recorded in 2012. In 2013, 2014 and 2018, only the species *P. megistus* was recorded (Fig. 2B). The two specimens of *P. tibiamaculatus* were recorded in 2016 and 2017.

Of the total number of notified samples, 57.7% (n = 1,010) were found in the intradomicile and 42.3% (n = 740) in the peridomicile, also 72.7% (n = 1,272) were adults while 27.4% (n = 478) were nymphs (Fig. 3A).

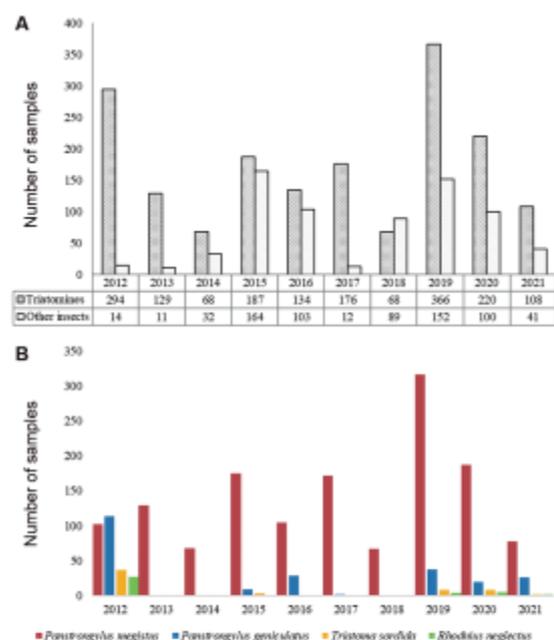


Fig. 2: occurrence of triatomines sampled during entomological surveillance from 2012 to 2021 in the State of Paraná, southern Brazil. (A) Insect notifications per year by passive and active surveillance. (B) Notifications by species of triatomines *Panstrongylus megistus*, *Panstrongylus geniculatus*, *Triatoma sordida* and *Rhodnius neglectus* from 2012 to 2021. Source: Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Secretaria Estadual da Saúde/Paraná.

Regardless of the place of capture, whether intradomicile, peridomicile, or both, the insects were distributed throughout the State of Paraná (Fig. 3B). The highest number of occurrences was of adult insects, followed by nymphs, both in the intradomicile during most of the study period. In 2019, however, nymphs in the peridomicile comprised most of the occurrences (Fig. 3C).

The overall infection rate for *T. cruzi* was 22.7% (n = 398/1,750). In the peridomicile, 23.3% (n = 173/740) of the insects were positive for *T. cruzi* and in the intradomicile, 22.3% (n = 225/1,010). Moreover, the infection rate for *T. cruzi* was higher in nymphs than in adults. The nymphs showed a similar percentage of positivity in the intra 30.9% (n = 29/94) and in the peridomicile 29.9% (n = 115/384). Adults were more often positive in the intradomicile 21.4% (n = 196/916) when compared with the peridomicile 16.3% (n = 58/356) (Fig. 4A). Infected triatomines were distributed throughout most of the State of Paraná (Fig. 4B).

Observing the species occurrence maps, *P. megistus* presented a wide dispersion throughout the State of Paraná, whereas the species *P. geniculatus* presented a distribution more restricted to the northern region of the state. Although rarer, *T. sordida* and *R. neglectus* were found in the northwest and central-east regions (Fig. 5).

Considering the four most prevalent species and the climate layer, the areas of highest climatic suitability for *P. megistus* differed from the areas of climatic suitability for *P. geniculatus*, with the first species showing broad suitability for several regions of Paraná (Fig. 6A) and the second with suitability more concentrated in the northern region of the state (Fig. 6B). Differing, in turn, from the potential distribution of habitat predicted for *T. sordida* and *R. neglectus*. These last two species presented similar climatic suitability, with higher values for the northwest region and several areas in the central-east of the state with intermediate suitability (Fig. 6C-D).

Thinking about potential distribution taking into account the landscape ENMs, *P. megistus*, *P. geniculatus* and *R. neglectus* showed wide distribution throughout the state (Fig. 7A, B and D). On the other hand, *T. sordida* seems to be less adapted to the southeastern region of Paraná (Fig. 7C).

Regardless of the species, the regions with the highest occurrences correlate with the areas of greatest environmental suitability for these insects, which are represented on the maps by warmer colours, both for the climate ENMs (Fig. 8B) and for the landscape ENMs (Fig. 8D). In comparison with the previous study by Ferro e Silva et al.⁽²³⁾ when overlapping the climatic and landscape layers for the different species found, the current results show very similar patterns for both climate and landscape, with a slight reduction in the maximum values for potential habitat suitability for climate and an increase in maximum values for landscape suitability (Fig. 8).

Among the 10 municipalities with the highest number of captured triatomines, three showed high suitability for both climate and landscape covariates, five showed high and medium suitability, and one medium and high suitability, respectively, for climate and landscape. Only one municipality showed average suitability

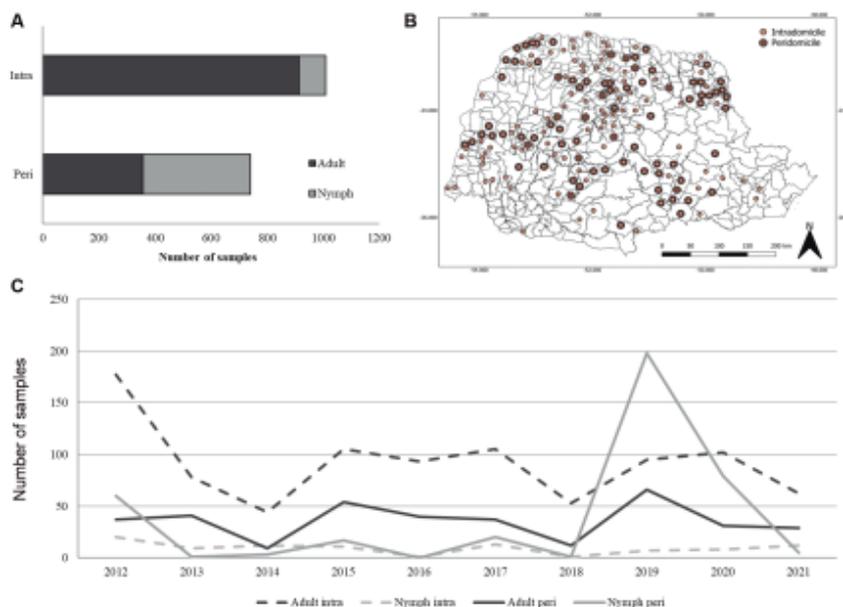


Fig. 3: relation of adult or nymph insects reported in the intra and peridomicile from 2012 to 2021 in the State of Paraná, southern Brazil. (A) Comparison rate of adults and nymphs collected in the intra and peridomicile. (B) Dispersion of the triatomines collected in the intra and peridomicile by municipality. (C) Analysis of relation adults and nymphs in the intra and peridomicile. Source: Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Secretaria Estadual da Saúde/Paraná.

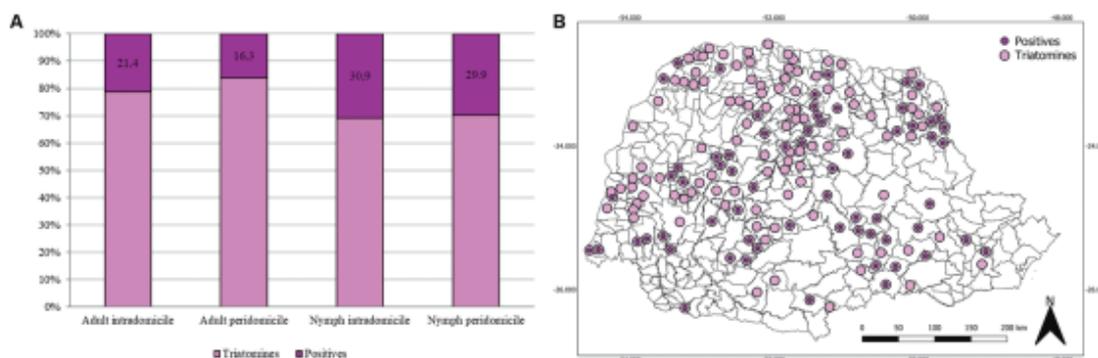


Fig. 4: positivity of triatomines for *Trypanosoma cruzi* in the State of Paraná, south Brazil from 2012 to 2021. (A) Infection rates of synanthropic triatomines captured in the intra and peridomicile according to the developmental stage (adult or nymph). (B) Points of occurrence of negative and positive insects for *T. cruzi*. Source: Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Secretaria Estadual da Saúde/Paraná.

for both climate and landscape. None of the ten municipalities with the highest occurrences showed low environmental suitability (Table).

The north, northeast, and northwest of the State of Paraná are more suitable for the occurrence of the invertebrate hosts (kissing bugs) of *T. cruzi*. This is demonstrated by the high suitability, both for climatic and landscape factors, of municipalities marked in dark blue. Other municipalities in the northwest region have high climate suitability, but low landscape suitability, thus demonstrating that they are municipalities with a lower

risk of transmission. The municipalities in the south and southeast of the state present a low risk for the presence of triatomines, therefore being the lowest risk of transmission [Fig. 9, and Supplementary data (Table)].

Average potential habitat suitability (ADE) values remain higher than the average expected for random locations for all vector species for both landscape and climate models (Fig. 10). The mean ADE values for climate ranged from 0.70 to 0.84, with the species that had the highest climate mean being *T. sordida* (0.84), followed by *P. megistus* (0.76), *P. geniculatus* (0.72) and

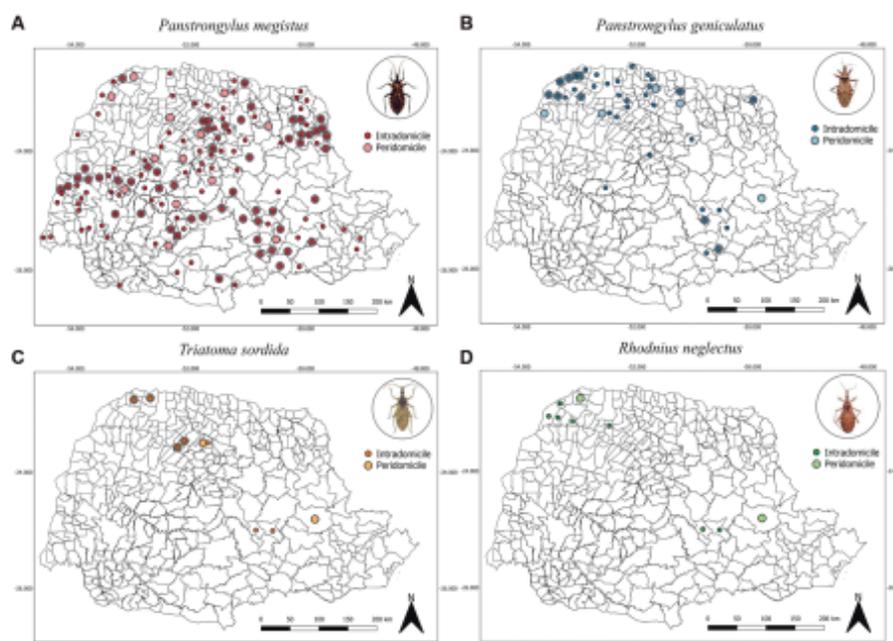


Fig. 5: occurrence points in intra and peridomicile of triatomines notified by species in the State of Paraná, southern Brazil, from 2012 to 2021. (A) *Panstrongylus megistus*. (B) *Panstrongylus geniculatus*. (C) *Triatoma sordida*. (D) *Rhodnius neglectus*. Source: Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Secretaria Estadual da Saúde/Paraná.

finally *R. neglectus* (0.70). As for the landscape ADE values, the averages ranged from 0.54 to 0.83, with *P. geniculatus* presenting the highest average (0.83), followed by *R. neglectus* (0.74), *P. megistus* (0.71) and lastly, *T. sordida* (0.68).

The sampling bias analysis estimated a positive effect of highways on the sampling of triatomines, with a weight bias of 0.04. However, for the other analysed biases (rivers, cities, and airports) weights lower than 0.002 were obtained (Fig. 11A). A more similar distribution for the biases was observed with a random distribution, with weights of 0.0007 for highways and 0.00009 for airports (Fig. 11B). The triatomine occurrence data in the State of Paraná are biased towards the most accessible locations (close to highways) (Fig. 11A) since the posterior weight of this variable is considerably higher than what would be expected for a random spatial sampling [Fig. 11B, and Supplementary data (Table)].

DISCUSSION

In the 10-year period of the current study, a total of 1,750 triatomines were found, equivalent to 61.7% of the number of specimens found in the previous period analysed by Ferro e Silva et al.⁽²³⁾ which recorded 2,662 occurrences, even though in a shorter study period of 7 years (2007-2012) [Supplementary data (Table)] demonstrating a reduction in notifications made in more recent years. However, the exact most prevalent species were recorded, with *P. megistus* being the most commonly found, followed by *P. geniculatus*, *T. sordida* and *R. neglectus*. Falavigna-Guilherme et al.⁽⁴¹⁾ in a

study carried out between 1996 and 2000, observed that the species most often found in Paraná, in decreasing order of prevalence, were *T. sordida*, *P. megistus* and *R. neglectus*. It should be noted that this study was based on the active surveillance of triatomines.

This study reports the appearance of *R. prolixus*, also previously reported by Ferro e Silva et al.⁽²³⁾ Although *R. prolixus* is native to the Andes and is one of the main vectors of CD in Venezuela and Colombia, there are records of this species in the Amazon Forest; however, it can also be target of erroneous identification, due to the significant morphological similarity among the species of the genus *Rhodnius*.⁽⁴²⁾ Hernández et al.⁽⁴³⁾ report misidentifications related to *R. prolixus* with *R. neglectus*, *R. robustus* and other species of the genus *Rhodnius*, classifying them in a group called *cis-prolixus* of great epidemiological and distributional importance. There are limitations in identifying the morphological variability among the different species of the genus *Rhodnius*, resulting in inconsistent identification. Because of that, molecular markers are being more commonly used to differentiate such species considered challenging to identify solely through morphological and isoenzymatic characteristics.⁽⁴³⁾

Unlike previous studies carried out in Paraná,^(21,23,41) recently *P. tibiamaculatus* was recorded on the coast and in the interior of the state. This species presents a geographic distribution more restricted to the Atlantic Forest and is frequently attracted by light but rarely colonises houses.⁽¹³⁾ However, it was found in peridomestic areas where contamination of the sugar cane juice was detected, causing several cases of oral transmission recorded in

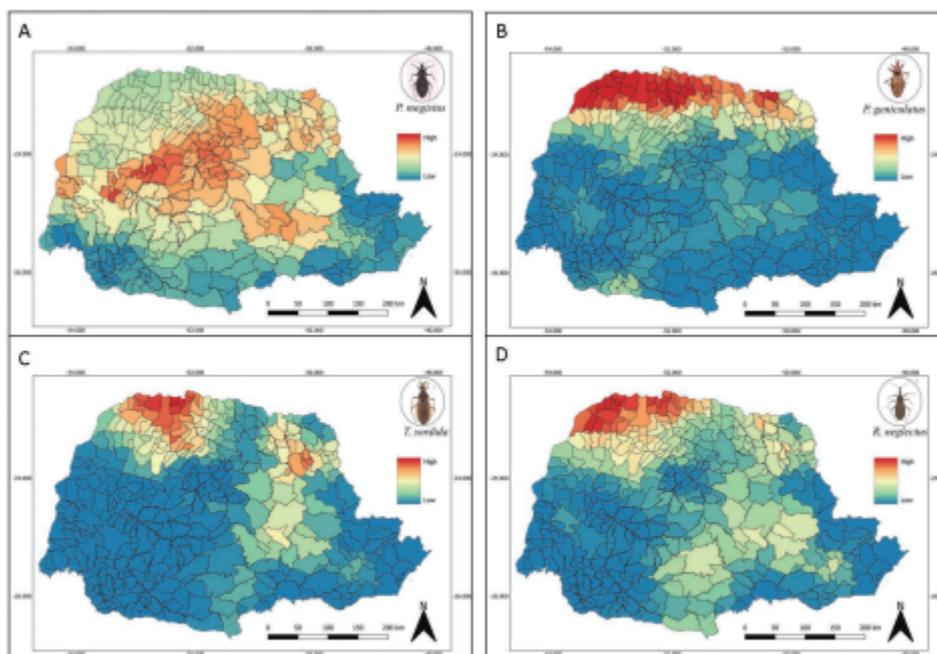


Fig. 6: suitability for the occurrence of triatomines within municipalities of the State of Paraná predicted using climate. (A) *Panstrongylus megistus*. (B) *Panstrongylus geniculatus*. (C) *Triatoma sordida*. (D) *Rhodnius neglectus*. Source: Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Secretaria Estadual da Saúde/Paraná.

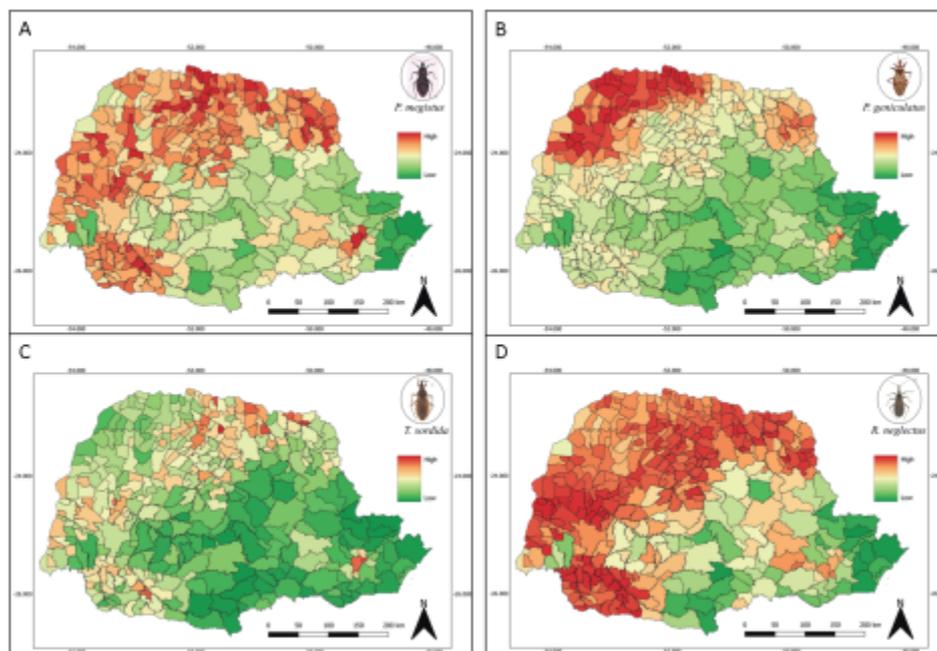


Fig. 7: suitability for the occurrence of triatomines within municipalities of the State of Paraná predicted using landscape covariates. (A) *Panstrongylus megistus*. (B) *Panstrongylus geniculatus*. (C) *Triatoma sordida*. (D) *Rhodnius neglectus*. Source: Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Secretaria Estadual da Saúde/Paraná.

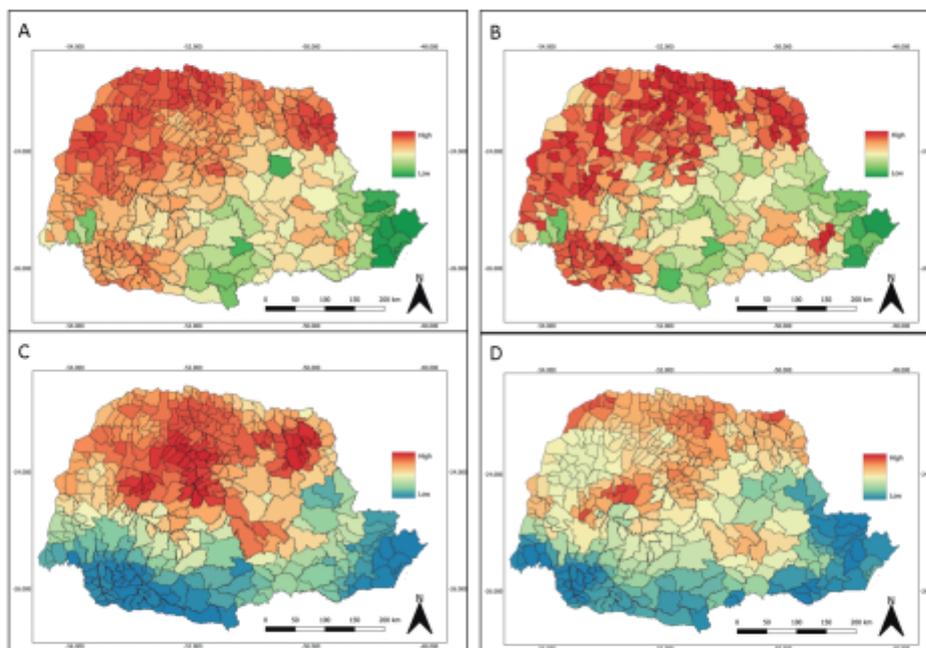


Fig. 8: average suitability values for the occurrence of triatomines within municipalities of the State of Paraná predicted using climatic and landscape environmental layers. (A) Landscape-only models (date: 2007 to 2013); (B) Landscape-only models (date: 2012 to 2021); (C) Climate-only models (date: 2007 to 2013); and (D) Climate-only models (date: 2012 to 2021). Source: Ferro e Silva et al.⁽²³⁾ for Figs A and C, and Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Secretaria Estadual da Saúde/Paraná for Figs B and D.

Santa Catarina,⁽⁴⁴⁾ a state that share borders with Paraná. This species has epidemiological importance as it has already been found infesting domiciliar areas, and the frequent invasion of homes by infected triatomines of this species, from forests close to houses, as observed in the municipality of Salvador (Bahia), indicates a potential risk of transmission of *T. cruzi* to the inhabitants of the area.⁽⁴⁵⁾ In addition to Bahia and Santa Catarina, this species is present in eight other Brazilian states, including Paraná.⁽¹¹⁾ The return of its appearance in Paraná reinforces that continuous epidemiological surveillance must be carried out in areas where domestic transmission is controlled, but enzootic transmission persists.

Regarding the place where these insects were found, the species remained the most frequently found in the intradomicile 57.7% ($n = 1,010/1,750$) which can be explained by the passive surveillance carried out in the state, where the population collects samples. This has also been observed by other authors.^(23,46) The presence of different triatomines in the peri and intradomicile can be an indication of the potential for domiciliation of vectors related to the species, with some being more adapted to wild settings and others more adapted to domiciles.^(47,48)

The vast majority of specimens, 72.7% ($n = 1,272/1,750$), were adults, probably due to the greater dispersal capacity of this developmental stage, as they are winged and have larger dimensions compared to nymphs, which are wingless and smaller, in addition, to dispersing in search of food.⁽⁴²⁾ Adults may come from

forest areas, attracted by the light, making it easier for residents to find them^(48,49) and then they can be found in isolation, without having yet formed colonies, which is why an active search is recommended to verify a possible domiciliation.⁽²⁵⁾ The developmental stage of specimens related to triatomine surveillance is very important because when nymphs are found, the colony is close. Because they do not fly, nymphs have a much lower displacement potential than the adult form.⁽⁴⁸⁾

In the present study, the overall rate of *T. cruzi* infection was 22.7% ($n = 397/1,750$), slightly higher than the rate in the previous study of 19.7% ($n = 486/2,662$), which signals an important increase in the positivity rate, especially considering that a smaller number of samples was examined.⁽²⁵⁾ The triatomine positivity ratio is an important criterion for triggering the surveillance of human cases and it is recommended that parasitological examinations be carried out in all residents where positive triatomines are found.⁽²⁵⁾ It should be noted that not all triatomines presented as negative on the map (Fig. 4) are insects without the presence of the parasite, as some samples are degraded and not suitable for parasitological analysis, often arriving dry to the lab. Thus, it can be estimated that positivity is likely higher than what was detected. It would be desirable to assess the correlation between *T. cruzi* infection and triatomine species, but this was beyond the scope of the present study and would require an analysis design that corrects for the uneven sampling of specimens and the overwhelming majority of *P. megistus*.

TABLE
Environmental suitability in the ten municipalities with the highest number of occurrences of triatomines
in the State of Paraná, southern Brazil, from 2012 to 2021

Municipality	Captured triatomines	Climate SI	Climate suitability	Landscape SI	Landscape suitability
Guamiranga	135	0.79	high	0.57	medium
Nova Aurora	131	0.72	high	0.79	high
Boa Esperança	106	0.99	high	0.83	high
Prudentópolis	97	0.82	high	0.35	medium
Ivaí	57	0.87	high	0.54	medium
Nova Londrina	56	0.80	high	0.83	high
Roncador	52	0.75	high	0.62	medium
São Pedro do Paraná	51	0.72	medium	0.88	high
Rebouças	49	0.29	medium	0.53	medium
Apucarana	45	0.86	high	0.71	medium

SI: suitability index values ≥ 0.74 (high); from 0.26 to 0.73 (medium); ≤ 0.25 (low).

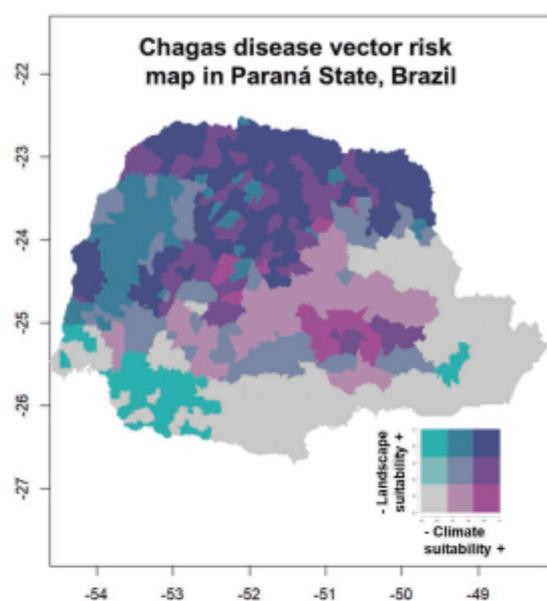


Fig. 9: risk map for the occurrence of triatomines within municipalities of the State of Paraná predicted based on climate and landscape ecologic niche models (ENM) and zonal statistics for municipalities, from 2012 to 2021.

Panstrongylus megistus showed a wide dispersion throughout the State of Paraná. According to the Ministry of Health, this species has potential for domiciliation.⁽¹²⁾ Over the 10 years of the current study, this species prevailed over the others, corresponding to 80.0% ($n = 1,399/1,750$) of all specimens captured, except in 2012 when it was surpassed by *P. geniculatus*, and presented an increasing number of specimens and oscillating in the period. Unlike the seven-year period of the previous study, in which the species showed a decreasing number

of captures. The increase in the capture of this species in recent years, and the return of species diversity in the last three years of the current study requires attention from health agencies, mainly due to the epidemiological importance of *P. megistus* in the transmission of *T. cruzi*.⁽⁴²⁾

For *P. megistus*, more adult specimens were also found when compared to nymphs. However, 29.1% ($n = 407/1,399$) of the total specimens of this species were nymphs and 80% (326/407) were colonising the peridomicile. This species had the highest infection rate for *T. cruzi* 27.0% ($n = 378/1,399$) among the species captured, similar to the previous study whose rate was 24.7%.⁽²³⁾ The data demonstrate that *P. megistus*, despite being considered wild in southern Brazil, has been showing domestic characteristics for some time.^(50,51,52,53) In Paraná, according to the data presented, several colonies were found with a high number of nymphs demonstrating this domiciliation in the Southern region of Brazil. Since this species has greater vectorial capacity and greater ability to form intradomiciliary colonies, a higher proportion of specimens of this species infected with *T. cruzi* increases the risk of transmission of the protozoan.^(42,54)

The species *P. geniculatus* presented a distribution more restricted to the northern region of the state. Although it is a species with wild behaviour, adults can be attracted to light and are often found inside houses.⁽⁴⁸⁾ *P. geniculatus*, was the second species with the highest occurrence, corresponding to 14% ($n = 238/1,750$) of the captured specimens and more adults ($n = 186/238$) than nymphs ($n = 52/238$) were found. For this species, adults were found both in the intra and in the peridomicile, and nymphs only in the last. However, only adults were infected in both areas. The data related to this species indicate the non-formation of colonies in the intradomicile and, although existing, the risk of vector transmission can be considered low, since its infection rate by *T. cruzi* was 7.6% ($n = 18/238$). However, this rate almost doubled in relation to the previously investigated period, in which *P. geniculatus* had an infection rate of 4.7%.⁽²³⁾

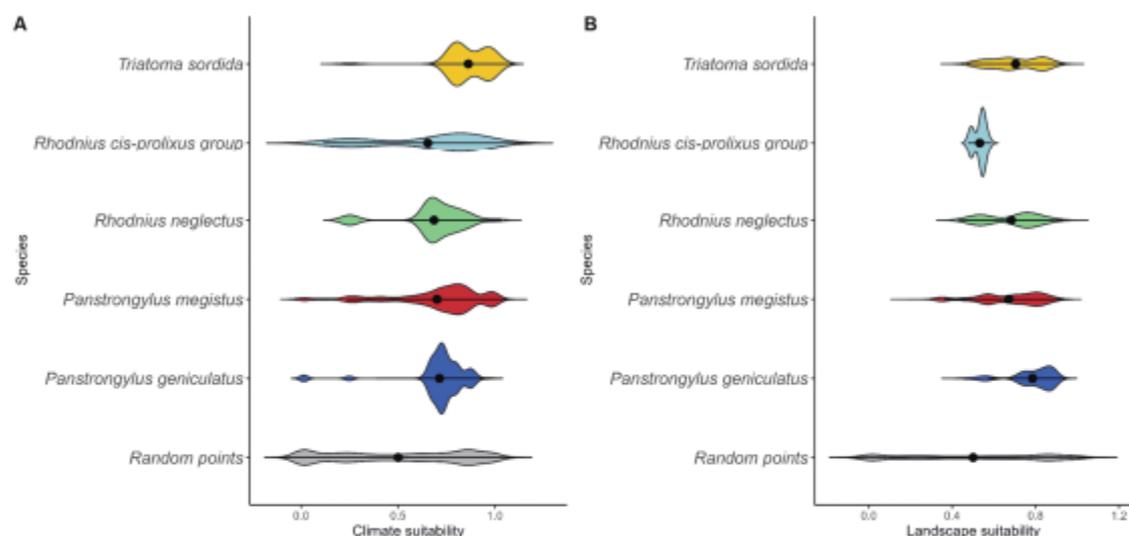


Fig. 10: distribution of triatomine species according to climate (A) and landscape (B) suitability indices. The black dots in the graphs represent the average suitability values, and violin distribution represents the density of suitability values, varying between zero and one. State of Paraná from 2012 to 2021.

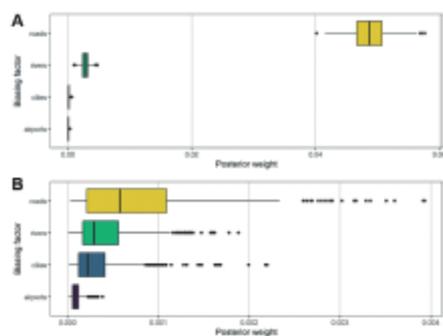


Fig. 11: influence of sampling bias in the triatomine occurrence database. Accessibility bias estimates regarding the sampling of triatomines in the State of Paraná from 2012 to 2021. Sample analysis (A). Random analysis (B). Software: RStudio (2021.09.0)/ SAMPBIAS.

These data suggest that this species deserves vigilance so that it does not adapt to artificial ecotopes, developing the capacity to form colonies in the intradomicile, as occurs with *P. megistus* in Paraná, leading to an increase in its presence in the intradomicile and in the rate of infection by *T. cruzi*, since it has great potential to adapt to different ecological conditions.⁽⁴⁸⁾

Triatoma sordida was the third most common species found in the current study, corresponding to 3.3% ($n = 58/1,750$) of the captured specimens. The majority, 60.3% ($n = 35/58$), were found in the intradomicile with a *T. cruzi* infection rate of 1.7% ($n = 1/58$), only one positive adult intradomicile. Over the period of this study, the largest number of captured specimens of this species was in 2012, ceasing to be found in subsequent years and reappearing in recent years. In the period of

the previous study, it ranked 4th in Paraná, with most specimens also captured in the intradomicile and with the same infection rate.⁽²³⁾ However, this species of triatomine was already the most often found in the state in the 90's, usually with high rates of infection by *T. cruzi* in the peridomicile.^(21,22) Despite being associated with bird nests, which are refractory to infection by trypanosomatids, and small mammals,⁽⁵⁵⁾ the *T. sordida* species is considered epidemiologically important in the transmission of CD to humans for invading houses and being positive for *T. cruzi*.⁽⁵⁶⁾

Among the four most prevalent triatomine species, *R. neglectus* was the lowest occurrence in Paraná during the period studied, for which only adult specimens without *T. cruzi* infection were captured. These data suggest the absence of colonisation both in the intra and in the peridomicile and, so far, a low risk of *T. cruzi* transmission by them in the state. *Rhodnius* species are primarily associated with palm trees and the ENM approach has been used previously to generate suitability maps for *R. neglectus* and *T. sordida*, associating these species with the Cerrado biome, which in the State of Paraná occurs in only 1% of its area, which may be contributing to the low number of occurrences.^(13,23)

In the environmental suitability maps for the occurrence of triatomine vectors generated by Ferro e Silva et al.⁽²³⁾ using previously selected climate and landscape variables, a spatial prediction of areas at risk for vector transmission of *T. cruzi* was obtained using entomological data from SESA for the seven-year period, from 2007 to 2013. While in the present study, the same climate and landscape maps from Ferro e Silva et al.⁽²³⁾ were used, but now with new triatomine capture data for the 10-year period, from 2012 to 2021. It was observed that the demarcated areas with the greatest climate and landscape

suitability for the occurrence of triatomines in Paraná coincided with the areas with the highest occurrence of these insects, and the new data validate the general patterns estimated for the previous period, indicating high values for northern municipalities. The opposite was observed for areas with less environmental suitability that had a lower number of occurrences or zero occurrences. This demonstrates an adequate prediction for the risk areas of the maps generated by the previous study and current predictions.

The states of Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul are located in the Southern region of Brazil. During the 15-year period in which the two studies were carried out, between 2007 and 2021, although new acute cases of CD occurred in Rio Grande do Sul (three cases), no new cases were reported in Santa Catarina and Paraná.⁽⁴⁾ However, chronic cases of CD are frequently underreported, which further emphasises the disease's neglected status. Moreover, numerous municipalities of the state remain at high zoonotic risk of vector transmission (see Table), despite slight variations in maximum values for suitability using new data for both climate and landscape models.

Municipalities in the northwest, north and northeast of the State of Paraná present higher risk of vector transmission of *T. cruzi*, which is consistent with regions that have high values of climatic and landscape suitability for the occurrence of vectors. On the other hand, the areas of the state that presented low values of environmental suitability values, South and East, also presented a lower concentration of municipalities with the occurrence of triatomines. Guairanga was the municipality with the highest number of insects captured in both studies ($n = 196$ and 133 specimens, respectively, in the previous and current studies). Interestingly, the municipalities that had the highest amounts of captured insects, in addition to Guairanga, Nova Aurora ($n = 131$), Boa Esperança ($n = 106$) and Prudentópolis ($n = 91$), were located in areas with high climate and high/medium landscape suitability (Table).

The literature points to the importance of temperature for the distribution of triatomines, indicating greater dispersion of vectors at higher temperatures.^(13,57) In the previous study, the proposed prediction models pointed out that the northwest, north and northeast areas were more suitable for the occurrence of triatomines, as they have such climatic characteristics.⁽²³⁾ When analysing the mean suitability values for the climate ENMs, in the current study, it was found a low variation (0.70 to 0.84), indicating a good prediction and that the occurrences remained in more environmentally suitable areas.

The range of variation of average suitability values for landscape was greater (0.54 to 0.83) and several landscape factors can influence the occurrence of species, such as the type of vegetation, influencing the ecotope that the species may occupy, being it natural or artificial and the areas of connection between them, limiting its distribution. Areas of seasonal forest and mixed rainforest, predominant in Paraná, are highly suitable for the occurrence of triatomines.^(23,30)

The natural habitat of some species of triatomines are nests of birds and mammals, in addition to occupying trees, such as palm trees.⁽⁵⁸⁾ However, with several extractive actions due to deforestation, these insects were forced to migrate and occupy places close to human habitation, however, away from large urban centres. These insects were led to feed on domestic animals and humans, thus allocating themselves in areas inside and outside the home.⁽⁵⁵⁾ The SAMPBIAS software pointed out locations close to highways as the most frequent areas for sampling triatomines. However, this bias may also be related to the methodology used to obtain latitude and longitude data (centroids) since these are not recorded by the health department and having this type of data would be of great importance in inferring the locations of species occurrence through spatially-explicit observations.

Entomological surveillance of triatomines can promptly identify characteristic situations of vector transmission, such as the detection of species capable of colonising the intra and peridomicile, in addition to monitoring the behaviour of these species over time.⁽¹⁰⁾ In Paraná, this surveillance occurs passively through the involvement and participation of the population,^(25,59) and this is why it is important to survey these records and disseminate them.

The results presented here suggest that the zoonotic risk for CD in Paraná remains high despite the absence of new reported cases in humans. Importantly, as presented by Rafael et al.⁽⁶⁰⁾ the panorama of CD surveillance in an endemic region in southeast Brazil, it was possible to observe caveats regarding the program and surveillance and disease control activities. Since the decentralisation of the CD Control Program in 1990, passing responsibility for the program's actions to the states and municipalities, there has likely been a loss of power in the program as actions are taken in a more isolated way, potentially including lack of prioritisation for the programs. Furthermore, in 2006, the control of the main vector of CD, the species *T. infestans*, was announced, establishing the likely false idea of eradication of the disease, and leading to a posterior lack of surveillance to it.

Therefore, the careful analysis of the relationship between the occurrence of triatomines and the presence of these insects found by the population is extremely important, which may have influenced our inferences of the areas with the highest occurrence. To get around this problem, information bulletins could be made available to the population of the State of Paraná encouraging them to forward the insects found to the nearest health department, intermediated by the Triatomine Information Points (PITs).

With zoonotic risk remaining high, it is paramount that surveillance and prevention strategies are kept in place in most of the state, especially in the municipalities where the models here described predict high climate and landscape suitability for the vectors. Moreover, educational strategies on how to avoid contact with the insects must be communicated year-long, including information and provision of better livelihood by, for instance, supporting adequate walls and making housing less precarious to the population at risk in the areas of higher zoonotic risk. The current results dem-

onstrated that the ENMs were useful to predict the potential habitat and thus occurrence of triatomines in the State of Paraná, for both landscape and climate models. In this context, modelling may help to better understand the epidemiology of the disease and the geographic distribution of these vectors, as well as the *T. cruzi* parasite,^(29,31,61) demonstrating possible correlations to determine actions taken and guide the disease surveillance and control strategies. Furthermore, Ribeiro-Jr et al.⁽⁶²⁾ cite the importance of analysing entomological data for vector control and surveillance. However, it is important to emphasise that bias analyses must be taken into account, considering that sample records presented in this study are in places with greater access (highways), and this likely is due, in part, to the use of municipality centroids, which ends up biasing the analysis and limiting the study to a restricted scale view of dispersal potential, especially for larger municipalities. Still, based on data aggregated to municipality through zonal statistics, the creation of maps, such as the ones modelled here, can be useful for investigating the large-scale dynamics of *T. cruzi* vector distribution and zoonotic risk in Paraná. Still, the existence of this bias reinforces the importance of recording the geographic coordinates of collection sites and supports the creation of an information system for this purpose, which would enrich and provide a more refined analysis of the niche dimensions and dispersal potential of each species found and its interplay with the population at risk.

ACKNOWLEDGEMENTS

To the “Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores” (DVDTV) and the professionals from the “Núcleos de Vigilância Entomológica” (NVE) of the Paraná State Health Secretariat, who carry out the identification and parasitological analysis of these insects, and the “Regionais de Saúde” (RS) of the State Health Secretariat and municipal professionals from the Health Secretariat who carry out the work of collection and surveillance of the aggravation of Chagas disease. We would also like to thank Health Professional Demilson Rodrigues do Santos for reinforcing the importance of identifying *Panstrongylus tibiamaculatus* for the period of this study.

AUTHORS' CONTRIBUTION

AJA, LMA, MJOT, RLM and TSS - Conceptualisation; GFI, JVST and MMW-L - data curation; BPC, JVST, MMW-L, RLM, TSS and BPC - formal analysis; BPC, GFI, JVST and MMW-L - investigation; RLM and TSS - methodology; AJA, LMA and MJOT - project administration; JVST, MMW-L, RLM and TSS - resources; JVST, MMW-L, RLM and TSS - software; AJA, LMA and MJOT - supervision; TSS - validation; JVST, RLM, MJOT and MMW-L - visualisation; AJA, BPC, JVST, MJOT, MMW-L and RLM - writing-original draft preparation; AJA, RLM, TSS, LMA and MJOT - writing - review & editing preparation.

REFERENCES

1. Chagas C. Nova tripanozomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo de *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de nova entidade morbida do homem. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1909; 1(2): 159-218. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02761909000200008&lng=pt&tlng=pt.
2. WHO - World Health Organization. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). 2024. Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)).
3. Stanaway JD, Roth G. The burden of Chagas disease estimates and challenges. Glob Heart. 2015; 10(3): 139-44.
4. MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde. Doença de Chagas: 14 de abril - Dia Mundial. Bol Epidemiol. 2020; 51(n. esp.): 1-43. Available from: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.
5. MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde. Doença de Chagas: 14 de abril - Dia Mundial. Ano 2. Bol Epidemiol. 2021; Número Especial: 1-38. Available from: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/especiais/2021/boletim_especial_chagas_14abr21_b.pdf.
6. Alevi KCC, Oliveira J, Silva RD, Galvão C. Trends in taxonomy of Chagas disease vectors (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae): from Linnaean to integrative taxonomy. Pathogens. 2021; 10: 1627.
7. Lent H, Wygodzinsky PW. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae), and their significance as vectors of Chagas' disease. Bulletin of the AMNH. 1979; 163.
8. Costa J, Dale C, Galvão C, Almeida CE, Dujardin JP. Do the new triatomine species pose new challenges or strategies for monitoring Chagas disease? An overview from 1979-2021. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2021; 116: e210015.
9. Dias JCP, Silveira AC, Schofield CJ. The impact of Chagas disease control in Latin America — A review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002; 97(5): 603-12.
10. Silveira AC, Dias JCP. O controle da transmissão vetorial. Rev Soc Bras Med Trop. 2011; 44(2): 52-63.
11. Galvão C, Carcavallo R, Rocha DS, Jurberg J. A checklist of the current valid species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. Zootaxa. 2003; 202: 1-36.
12. MS/SVS/DEVEP/CGDT - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis/Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Nota Técnica nº 36.2012: orientações sobre vigilância entomológica e a utilização de inseticida de ação residual no controle de triatomíneos – vetores da doença de Chagas. Brasília. 2012.
13. Gurgel-Gonçalves R, Galvão C, Costa J, Peterson AT. Geographic distribution of Chagas disease vectors in Brazil based on ecological niche modeling. J Trop Med. 2012; 705326: 1-15.
14. MS/SVS - Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde. Doença de Chagas aguda e distribuição espacial dos triatomíneos de importância epidemiológica, Brasil 2012 a 2016. Bol Epidemiol. 2019; 50(2): 1-10.
15. Costa J, Lorenzo M. Biology, diversity and strategies for the monitoring and control of triatomines - Chagas disease vectors. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009; 104(Suppl. 1): 46-51.
16. Almeida CE, Vinhaes MC, Almeida JR, Silveira AC, Costa J. Monitoring the domiciliary and peridomiciliary invasion process of *Triatoma rubrovaria* in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95(6): 761-8.
17. Costa J, Almeida CE, Dotson EM, Lins A, Vinhaes M, Silveira AC, 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. 2003; 98(4): 443-9.

18. Diotaiuti L, Paula OR, Falcão PL, Dias JCP. Avaliação do programa do controle vetorial da doença de Chagas em Minas Gerais, Brasil, com referência especial ao *Triatoma sordida*. Bol Oficina Sanit Panam. 1995; 118(3): 211-9.
19. Forattini OP, Ferreira OA, Rocha e Silva, EO, Rabello EX. Ecological aspects of Trypanosomiasis americana. VIII. The domicile of *Panstrongylus megistus* and its extradomiciliary presence. Rev Saude Publica. 1977; 11(1): 73-86.
20. Ribeiro AR, Oliveira RC, Ceretti Jr W, Lima L, Almeida LA, Nascimento JD, et al. *Trypanosoma cruzi* isolated from a triatomine found in one of the biggest metropolitan areas of Latin America. Rev Soc Bras Med Trop. 2016; 49(2): 183-9.
21. Toledo MJO, Kuhl JB, Silva SV, Gasperi AV, Araújo SM. Estudo sobre triatomíneos e reservatórios silvestres de *Trypanosoma cruzi* no Estado do Paraná, Sul do Brasil. Resultados preliminares. Rev Soc Bras Med Trop. 1997; 3: 197-203.
22. Falavigna-Guilherme AL, Santana R, Pavanelli GC, Loroza ES, Araújo SM. Triatomine infestation and vector-borne transmission of Chagas disease in northwest and central Paraná, Brazil/ Infestação triatomínica e transmissão vetorial da doença de Chagas no noroeste e centro do Paraná, Brasil. Cad Saude Publica. 2004; 20(5): 1191-200.
23. Ferro e Silva AM, Sobral-Souza T, Muylaert RL, Abreu AP, Pelloso AM, Carvalho MDB, et al. Spatial prediction of risk areas for vector transmission of *Trypanosoma cruzi* in the State of Paraná, southern Brazil. PLoS Negl Trop Dis. 2018; 12(10): 1-17.
24. Vivas RJ, García JE, Guhl F, Hernández C, Velásquez N, Ramírez JD, et al. Systematic review on the biology, ecology, genetic diversity and parasite transmission potential of *Panstrongylus geniculatus* (Latreille 1811) in Latin America. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2021; 116(1): 1-18.
25. DVDTV/CVIA/DAV/SESA - Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores/Coordenação de Vigilância e Atenção/Divisão de Atenção e Vigilância/Secretaria Estadual da Saúde do Paraná. Nota Técnica nº 08/2021. Curitiba. 2021.
26. Muylaert RL, Sabino-Santos Jr G, Prist PR, Oshima JEF, Niebuhr BB, Sobral-Souza T, et al. Spatiotemporal dynamics of hantavirus cardiopulmonary syndrome transmission risk in Brazil. Viruses. 2019; 11(11): 1008.
27. Kuhls K, Moskalenko O, Sukiasyan A, Manukyan D, Melik-Adeasyan G, Atshemyan L, et al. Microsatellite based molecular epidemiology of *Leishmania infantum* from re-emerging foci of visceral leishmaniasis in Armenia and pilot risk assessment by ecological niche modeling. PLoS Negl Trop Dis. 2021; 15(4): e0009288.
28. Costa J, Peterson AT. Ecological niche modeling as a tool for understanding distributions and interactions of vectors, hosts, and etiologic agents of Chagas disease. Adv Exp Med Biol. 2012; 710: 59-70.
29. Costa J, Peterson AT, Beard CB. Ecologic niche modeling and differentiation of populations of *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911, the most important Chagas' disease vector in northeastern Brazil (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). Am J Trop Med Hyg. 2002; 67: 516-20.
30. Gurgel-Gonçalves R, Cuba CAC. Predicting the potential geographical distribution of *Rhodnius neglectus* (Hemiptera, Reduviidae) based on ecological niche modeling. J Med Entomol. 2009; 46(4): 952-60.
31. Costa J, Dornak LL, Almeida CE, Peterson AT. Distributional potential of the *Triatoma brasiliensis* species complex at present and under scenarios of future climate conditions. Parasit Vectors. 2014; 7: 1-10.
32. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Continuous cartographic bases (1:250.000). [cited 2023 Jun 24]. Available from: http://geoftp.ibge.gov.br/cartas_e_mapas/basescartograficas_continuas/bc250/versao2021.
33. Muylaert RL, Vancine MH, Bernardo R, Oshima JEF, Sobral-Souza T, Tonetti VR, et al. A note on the territorial limits of the Atlantic Forest. Oecologia Australis. 2018; 22(3): 302-11.
34. Roderjan CV, Galvão F, Kuniyoshi YS, Hatschbach GG. As unidades fitogeográficas do Estado do Paraná, Brasil. Ciência & Ambiente. 2002; 24: 75-92.
35. Aparecido LEO, Rolim GS, Richetti J, Souza PS, Johann JA. Koppen, Thornthwaite and Camargo climate classifications for climatic zoning in the State of Paraná, Brazil. Ciência e Agrotecnologia. 2016; 40(4): 405-17.
36. Jurberg J, Rodrigues JMS, Moreira FFF, Dale C, Cordeiro IRS, Lamas Jr VD, et al. Atlas iconográfico dos triatomíneos do Brasil (vetores da doença de Chagas). Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Instituto Oswaldo Cruz: Rio de Janeiro; 2014. 58 pp.
37. Sobral-Souza T, Francini RB, Lima-Ribeiro MS. Species extinction risk might increase out of reserves: allowances for conservation of threatened butterfly *Actinote quadra* (Lepidoptera: Nymphalidae) under global warming. Natureza & Conservação. 2015; 13(2): 159-65.
38. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2023. Available from: <https://www.R-project.org/>.
39. Zizka A, Antonelli A, Silvestro D. Sampbias, a method for quantifying geographic sampling biases in species distribution data. Ecology. 2021; 44(1): 25-32.
40. Bittinelli IF, Oliveira J, Dos Reis YV, Ravazi A, Madeira FF, Oliveira ABB, et al. Do not judge a book by its cover: would *Triatoma tibiamaculata* (Pinto, 1926) belong to *Triatoma* Laporte, 1832, or to *Panstrongylus* Berg, 1879, with misleading homoplasies? Parasit Vectors. 2022; 15: 184.
41. Falavigna-Guilherme AL, Pavanelli GC, Silva SV, Costa AL, Araújo SM. Secondary triatomine species in dwellings and other nearby structures in municipalities under epidemiological surveillance in the state of Paraná, Brazil. Rev Panam Salud Publica. 2001; 9(6): 385-92.
42. Guhl F. Chagas disease in pre-Colombian civilizations **In memoriam to Arthur Aufderheide who opened a new research field in ancient medicine and parasitology. In: Telleria J, Tibayrenc M, editor. American trypanosomiasis Chagas disease. Elsevier; 2017. p. 23-46. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128010297000010>.
43. Hernández C, Rosa JA, Vallejo GA, Guhl F, Ramírez JD. Taxonomy, evolution, and biogeography of the *Rhodnius* tribe (Hemiptera: Reduviidae). Diversity. 2020; 12: 97.
44. Steindel M, Pacheco LK, Scholl D, Soares M, Moraes MH, Eger I, et al. Characterization of *Trypanosoma cruzi* isolated from humans, vectors, and animal reservoirs following an outbreak of acute human Chagas disease in Santa Catarina state, Brazil. Diagn Microbiol Infect Dis. 2008; 60(1): 25-32.
45. Gaunt M, Miles M. The ecotopes and evolution of Triatomine bugs (Triatominae) and their associated Trypanosomes. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95(4): 557-65.
46. Cantillo-Barraza O, Medina M, Zuluaga S, Valverde C, Motta C, Ladino A, et al. Eco-epidemiological study reveals the importance of *Triatoma dimidiata* in the *Trypanosoma cruzi* transmission, in a municipality certified without transmission by *Rhodnius prolixus* in Colombia. Acta Trop. 2020; 209(105550): 1-7.
47. Silva MBA, Barreto AVMS, Silva HA, Galvão C, Rocha D, Juberg J, et al. Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the State of Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma* infection rates between 2006 and 2007. Rev Soc Bras Med Trop. 2012; 45(1): 60-5.

48. Galvão C. Vetores da doença de Chagas no Brasil. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia; 2014. 289 pp. Book in EPUB Available from: <http://books.scielo.org/id/mw58j>.
49. Dias JCP, Ramos Jr AN, Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR, et al. II Consenso Brasileiro em Doença de Chagas, 2015. *Epidemiol Serv Saude*. 2016; 25: 7-86.
50. Gomes AC, Shimada I. Sobre o encontro de *Panstrongylus megistus* no município de Cambé, estado do Paraná, Brasil. *Rev Saude Publica*. 1976; 10: 117-9.
51. Forattini OP, Barata JMS, Dellatorre CC, Buralli GM. Nota sobre domiciliação de *Panstrongylus megistus* no litoral sul do estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saude Publica*. 1982; 16: 127-31.
52. Ramos CJR, Tavares KCS, Komati LKO, Miletto LC. Colonização intradomiciliar de *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae) em São José do Cerrito, SC: first report. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008; 41(4): 421-3.
53. Mello F, Souza GD, Bedin C, Duarte MB, Leon IF, Villela MM. Occurrence and distribution of *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) (Hemiptera, Reduviidae) in a metropolitan area of Southern Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2023; 65: e35.
54. Dias JVL, Souza RCM, Souza JMB, Diotaiuti LG, Ferreira RA. Occurrence of *Panstrongylus megistus* (Burmeister, 1835) in an area under entomological surveillance in the Southeast Region of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2021; 54: 1-5.
55. Catalá SS, Noireau F, Dujardin JP. Biology of Triatominae. In: Telleria J, Tibayrenc M, editors. *American trypanosomiasis Chagas disease*. Elsevier; 2017. p. 145-67.
56. Gorla D, Noireau F. Geographic distribution of Triatominae vectors in America. In: Telleria J, Tibayrenc M, editors. *American trypanosomiasis Chagas disease*. Elsevier; 2017. p. 197-221.
57. Batista TA, Gurgel-Gonçalves R. Ecological niche modelling and differentiation between *Rhodnius neglectus* Lent, 1954 and *Rhodnius nasutus* Stål, 1859 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009; 104(8): 1165-70.
58. Abad-Franch F, Diotaiuti L, Gurgel-Gonçalves R, Gürtler RE. Certifying the interruption of Chagas disease transmission by native vectors: *cui bono?* *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013; 108(2): 251-4.
59. Silva RA, Barbosa GL, Rodrigues VLCC. Vigilância epidemiológica da doença de Chagas no estado de São Paulo no período de 2010 a 2012. *Epidemiol Serv Saude*. 2014; 23(2): 259-67.
60. Rafael AF, Ferreira RA, Mota AF, Damasceno RF, Menezes ASS, Lopes BT, et al. Overview of Chagas disease surveillance in an endemic region in Southeastern Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2023; 65: e51.
61. Peterson AT, Sánchez-Cordero V, Beard CB, Ramsey JM. Ecologic niche modeling and potential reservoirs for Chagas disease, Mexico. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8(7): 662-7.
62. Ribeiro-Jr G, Abad-Franch F, Sousa OMF, Santos CGS, Fonseca EOL, Santos RF, et al. TriatoScore: an entomological-risk score for Chagas disease vector control-surveillance. *Parasit Vectors*. 2021; 14(492): 2-15.

7 CONSIDERAÇÕES

- O trabalho permitirá aprimoramentos nas políticas públicas;
- Um olhar mais atento e direcionado para as áreas que apresentam alta adequabilidade devem ser explorados;
- É fundamental melhorar e incentivar o esclarecimento da população para que um número maior de amostras cheguem de forma viável para análise parasitológica;
- Um olhar mais atento em diferentes etapas do processo de vigilância que vão desde a coleta, identificação e análise da infectividade devem ser incluídos;
- A utilização de cálculos para determinar a taxa do aparecimento de amostras, determinando a domiciliação ou reinfestação de triatomíneos por residência ainda é inviável no estado Paraná, visto que, o controle das fichas de notificação ainda são manuais/físicos, permitindo muitos erros de processo, impedindo um controle mais preciso das buscas ativas por residência. O processo de notificação deve ser melhorado para melhorar a qualidade dos dados.

APÊNDICE I

Alinhamento dos *primers* pelo *software* CLUSTAL

T_cruzi	ATGTCTCACTGCAAGTTTGAACACCCACGCCACGGCCATCTTGGCTTCCTGCCACGCAAG	60
T_rangeli	ATGTCTCACTGCAAGTTTGAACACCCACGCCACGGCCATCTTGGCTTTTGGCCACGGAAG	60

...		
T_cruzi	ACGCACCTCAACAAGAAGATCTACCAGCTGGGCCGCGGTTTCGATGGAGCCGAACCAG	900
T_rangeli	ACACACCTTAACAAGAAGATCTACCAGATGGGTCGCGGGTTCGATGGAGCCAAAGCAG	900
	** *****	
T_cruzi	GCCACGACCA CGTACGACCTCACAGCCAAGTCCATCACTCCGATGGGTGGCTTTGTTGGC	960
T_rangeli	GCCACGACCA CGTACGACCTCACAGCCAAGACCATCACCCCGATGGGTGGCTTTGTTGGT	960

T_cruzi	TACGGTACAGTGC GCAACGACTACATCATGCTGAAGGGCTCCGTTGCGGGTCCCTCGCCGT	1020
T_rangeli	TACGGTACAGTGC GCAACGACTACGTGATGCTGAAGGGTTCGTCGCGGGTCCCTCGCCGT	1020
	***** * *****	
T_cruzi	CGCGTCATCACACTGCGTCGTCCCATGGCCCCACAGACCTCGCGCAAGCTCACGGAACAG	1080
T_rangeli	CGCGTCATCACACTGCGTCGTCAATGGCCCCACAGACCTCGCGCAAGCTTACGGAGAAG	1080
	***** ***** * *****	
...		
T_cruzi	CTCCGCAAGGAGCGCGTGGCTCGCGCTGCGGAGCGCAAGGCGAAGGGTGTGCTGTTACC	1260
T_rangeli	GTCCGCAAGGAGCGTGC GCGCCCGCGCGGAGCGCAAGGCTAAGGGCGGTGCTGCCGCC	1260
	***** * ** ***** ***** * ***** **	
T_cruzi	GCCGCCCCAAGAAAGCAA-----AGAA GTGA	1287
T_rangeli	GCTGCCGTCGCTCCA AAGAAGACCAAGAAGTAG	1293
	** *** * * *****	

Figura 1. Alinhamento dos *primers*, pelo *software* CLUSTAL, utilizados em reação em cadeia da polimerase (PCR) e amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP), tendo como alvo a proteína ribossomal L3, para avaliar a similaridade entre *Trypanosoma cruzi* e *Trypanosoma rangeli*.

ANEXO I

Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais/Secretaria estadual da Saúde/Centro de Produção e Pesquisa de Imunobiológicos - CEUA/SESA/CPPI



Piraquara, 09 de novembro de 2021.

Ilmos (as) Srs (as)

Michele Martha Weber Lima
Larissa Magalhães Alvarenga
Andrey José de Andrade
Wanderson D. da Rocha

A CEUA/SESA-CPPI, criada pela Resolução nº501 da Secretaria de Estado da Saúde do Paraná, de 04/09/2019, recebeu o Projeto de Pesquisa "**Vigilância entomológica de triatomíneos: implementação de métodos moleculares para identificação de infecção natural por espécies de *Trypanosoma***", registrado como protocolo nº02/2021 foi submetido à avaliação da CEUA, em reunião do dia dezessete de agosto de dois mil e vinte um. A CEUA/SESA-CPPI **certifica** que os procedimentos utilizando animais no projeto estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins científicos e didáticos (DBCA), estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para experimentação animal.

Atenciosamente

João Carlos Minozzo

Coordenador CEUA/SESA-CPPI

Regiane Szargiki

Vice coordenadora CEUA/SESA-CPPI

ANEXO II

Autorização de coletas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
(SISBIO)



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	implementação e validação das técnicas de biologia molecular na Secretaria de Saúde	01/2026	12/2027
2	coleta de dados históricos	07/2024	12/2030
3	continuidade do fluxo implementado via pesquisa	01/2028	12/2029
4	análises moleculares	01/2025	12/2025

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Max Jean de Ornelas Toledo	Pesquisador colaborador	426.211.276-49	Brasileira
2	RAQUEL MONTEIRO DE MORAES	Pesquisador colaborador	056.368.746-00	Brasileira
3	Andrey José de Andrade	Pesquisador colaborador	042.450.886-99	Brasileira
4	WANDERSON DUARTE DA ROCHA	Pesquisador colaborador	030.342.886-46	Brasileira
5	LARISSA MAGALHAES ALVARENGA	Pesquisador colaborador	778.390.135-20	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 1/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		
Dados do titular		
Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06	
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma		
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49	

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, possuidor ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonossitária no Brasil devido a gripe aviária. Informe-se na página do CEMAVE na internet: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/servicos/centros-de-pesquisa/cemave/estaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1 .
3	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
5	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
6	As atividades de campo realizadas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas à autorização do Ministério da Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/01/93).
7	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possuidor ou morador da área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria N°748/2022, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
9	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação do disposto nesta portaria ou em legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, pode, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou cassada pelo Instituto Chico Mendes, por meio da Coordenação Gestora do Sisbio, e está sujeito às sanções previstas na legislação vigente.
11	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
12	Caso seja identificada a ocorrência de espécie exótica dentro ou no entorno de UNIDADE DE CONSERVAÇÃO FEDERAL, além de descrever no relatório de atividades, o pesquisador deve informar à equipe gestora com maior brevidade possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 2/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Outras ressalvas

1	CBC Brasília-DF
---	-----------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cândido de Abreu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Abatiá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Adrianópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Agudos do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Almirante Tamandaré-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Altamira do Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Altônia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Alto Paraíso-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Alto Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
10	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Alto Piquiri-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Alvorada do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Amaporã-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ampére-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Anahy-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Andaraí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 3/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
16	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ângulo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
17	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Antonina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
18	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Antônio Olinto-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Apucarana-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Arapongas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
21	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Arapoti-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
22	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Arapuá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Aranua-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Araucária-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ariranha do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Assaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Assis Chateaubriand-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Astorga-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Atalaia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Balsa Nova-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bandeirantes-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 4/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		
Dados do titular		
Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06	
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma		
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49	

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
32	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Barbosa Ferraz-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
33	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Barracão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Barra do Jacaré-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bela Vista da Caroba-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bela Vista do Paraíso-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
37	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bituruna-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
38	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Boa Esperança-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
39	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Boa Esperança do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
40	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Boa Ventura de São Roque-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
41	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Boa Vista da Aparecida-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
42	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bocaiúva do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
43	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bom Jesus do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
44	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bom Sucesso-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
45	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Bom Sucesso do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
46	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Borrazópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
47	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Braganey-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 5/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
48	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Brasilândia do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
49	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cafeara-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
50	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cafelândia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
51	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cafezal do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
52	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Califônia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
53	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cambará-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
54	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cambé-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
55	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cambira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
56	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campina da Lagoa-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
57	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campina do Simão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
58	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campina Grande do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
59	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campo Bonito-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
60	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campo do Tenente-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
61	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campo Largo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
62	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campo Magro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
63	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Campo Mourão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 6/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE METODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
64	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Candi-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
65	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cantagalo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
66	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Capanema-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
67	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Capitão Leônidas Marques-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
68	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Carambel-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
69	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Carlópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
70	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cascavel-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
71	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Castro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
72	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Catanduvas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
73	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Centenário do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
74	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cerro Azul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
75	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Céu Azul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
76	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Chopininho-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
77	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cianorte-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
78	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cidade Gaúcha-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
79	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Clelândia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 7/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE METODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
80	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Colombo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
81	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Colorado-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
82	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Congonhinhas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
83	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Conselheiro Mairinck-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
84	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Contenda-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
85	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Corbélia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
86	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Comélio Procópio-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
87	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Coronel Domingos Soares-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
88	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Coronel Vivida-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
89	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Corumbataí do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
90	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cruzeiro do Iguaçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
91	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cruzeiro do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
92	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cruzeiro do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
93	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cruz Machado-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
94	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Cruzmaltina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
95	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Curitiba-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 8/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
96	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Curiúva-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
97	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Diamante D'Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
98	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Diamante do Norte-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
99	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Diamante do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
100	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Dois Vizinhos-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
101	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Douradina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
102	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Doutor Camargo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
103	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Doutor Ulysses-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
104	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Enéas Marques-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
105	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Engenheiro Beltrão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
106	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Entre Rios do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
107	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Esperança Nova-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
108	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Espigão Alto do Iguaçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
109	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Farol-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
110	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Faxinal-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
111	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Fazenda Rio Grande-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 9/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE METODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
11 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Fênix-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Fernandes Pinheiro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Figueira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Floral-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Flor da Serra do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Floresta-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Florestópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Flórida-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Formosa do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Foz do Iguaçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Foz do Jordão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Francisco Alves-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Francisco Beltrão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	General Carneiro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Godoy Moreira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Goioerê-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 10/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
12 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Goioxim-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Grandes Rios-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guaira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guairaçá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guamiranga-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guapirama-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guaporema-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guaraci-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guaraniaçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guarapuava-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guaraqueçaba-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Guaratuba-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Honório Serpa-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ibaiti-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ibema-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ibiporã-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 11/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
14 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Icaraíma-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Iguaraçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Igatu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Imbaú-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Imbituva-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Inácio Martins-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Inajá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Indianópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ipiranga-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Iporã-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Iracema do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Iratí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Iretama-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Itaguajé-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Itaipulândia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Itambaracá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 12/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
160	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Itambé-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
161	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Itapejara d'Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
162	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Itaperuçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
163	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Itaúna do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
164	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
165	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ivaiporã-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
166	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ivaté-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
167	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ivatuba-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
168	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jaboti-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
169	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jacarezinho-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
170	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jaguapitã-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
171	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jaguariaíva-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
172	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jandaia do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
173	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Janiópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
174	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Japira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
175	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Japurá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 13/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE METODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
176	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jardim Alegre-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
177	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jardim Olinda-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
178	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jataizinho-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
179	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jesuitas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
180	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Joaquim Távora-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
181	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jundiá do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
182	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Juranda-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
183	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Jussara-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
184	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Kaloré-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
185	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Lapa-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
186	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Laranjal-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
187	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Laranjeiras do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
188	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Leópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
189	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Lidianópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
190	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Lindoele-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
191	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Loanda-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 14/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
19 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Lobato-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Londrina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Luiziana-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Lunardelli-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Lupionópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mallet-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mamboré-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
19 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mandaguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mandaguari-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mandirituba-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Manfrinópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mangueirinha-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Manoel Ribas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Marechal Cândido Rondon-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Maria Helena-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
20 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Marialva-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 15/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		
Dados do titular		
Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA		CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma		
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ		CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
208	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Marilândia do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
209	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Marilena-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
210	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mariluz-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
211	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Maringá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
212	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mariópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
213	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Maripá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
214	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Marmeleiro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
215	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Marquinho-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
216	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Marumbi-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
217	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Matelândia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
218	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Matinhos-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
219	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mato Rico-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
220	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mauá da Serra-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
221	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Medianeira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
222	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mercedes-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
223	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Mirador-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 16/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
22 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Miraselva-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
22 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Missal-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
22 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Moreira Sales-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
22 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Morretes-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
22 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Munhoz de Melo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
22 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nossa Senhora das Graças-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Aliança do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova América da Colina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Aurora-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Cantu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Esperança-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Esperança do Sudoeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Fátima-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Laranjeiras-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Londrina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
23 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Olímpia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 17/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
24 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Prata do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Santa Bárbara-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Santa Rosa-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Nova Tebas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Novo Itacolomi-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ortigueira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ourizona-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ouro Verde do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paiçandu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
24 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Palmas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Palmeira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Palmital-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Palotina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paraíso do Norte-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paranacity-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paranaguá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 18/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
-----------------	--------------------------------------	-----------------------

De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE METODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
25 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paranapoema-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paranavaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pato Bragado-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
25 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pato Branco-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paula Freitas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Paulo Frontin-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Peabiru-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Perobal-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pérola-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pérola d'Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Piên-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pinhais-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pinhalão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
26 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pinhal de São Bento-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pinhão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Piraí do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 19/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
27 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Piraquara-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pitanga-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pitangueiras-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Planaltina do Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Planalto-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ponta Grossa-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pontal do Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
27 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Porecatu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Porto Amazonas-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Porto Barreiro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Porto Rico-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Porto Vitória-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Prado Ferreira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Pranchita-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Presidente Castelo Branco-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Primeiro de Maio-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 20/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
28 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Prudentópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
28 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Quarto Centenário-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Quatiguá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Quatro Barras-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Quatro Pontes-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Quedas do Iguaçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Querência do Norte-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Quinta do Sol-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Quitandinha-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ramilândia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rancho Alegre-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
29 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rancho Alegre D'Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Realeza-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rebouças-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Renascença-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Reserva-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 21/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
30 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Reserva do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ribeirão Claro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ribeirão do Pinhal-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rio Azul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rio Bom-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
30 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rio Bonito do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rio Branco do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rio Branco do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rio Negro-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rolândia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Roncador-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rondon-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Rosário do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Sabáudia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Salgado Filho-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
31 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Salto do Itararé-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 22/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
320	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Salto do Lontra-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
321	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Amélia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
322	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Cecília do Pavão-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
323	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Cruz de Monte Castelo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
324	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Fé-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
325	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Helena-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
326	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Inês-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
327	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Isabel do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
328	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Izabel do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
329	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Lúcia-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
330	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Maria do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
331	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Mariana-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
332	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Mônica-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
333	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santana do Itararé-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
334	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Tereza do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
335	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santa Terezinha de Itaipu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 23/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
33	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santo Antônio da Platina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
33	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santo Antônio do Caiuá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
33	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santo Antônio do Paraíso-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
33	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santo Antônio do Sudoeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Santo Inácio-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Carlos do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Jerônimo da Serra-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São João-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São João do Caiuá-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São João do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São João do Triunfo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Jorge d'Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Jorge do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
34	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Jorge do Patrocínio-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São José da Boa Vista-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São José das Palmeiras-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 24/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE METODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
35 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São José dos Pinhais-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Manoel do Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Mateus do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Miguel do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Pedro do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Pedro do Ivaí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35 8	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Pedro do Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
35 9	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Sebastião da Amoreira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 0	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	São Tomé-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 1	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Sapopema-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 2	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Sarandi-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 3	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Saudade do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 4	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Sengés-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 5	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Serranópolis do Iguçu-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 6	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Sertaneja-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
36 7	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Sertanópolis-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio/).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 25/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
368	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Siqueira Campos-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
369	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Sulina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
370	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tamarana-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
371	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tamboara-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
372	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tapejara-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
373	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tapira-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
374	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Teixeira Soares-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
375	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Telêmaco Borba-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
376	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Terra Boa-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
377	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Terra Rica-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
378	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Terra Roxa-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
379	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tibagi-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
380	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tijucas do Sul-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
381	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Toledo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
382	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tomazina-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
383	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Três Barras do Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 26/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
384	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tunas do Paraná-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
385	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tuneiras do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
386	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Tupãssi-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
387	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Turvo-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
388	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ubiratã-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
389	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Umuarama-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
390	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	União da Vitória-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
391	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Uniflor-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
392	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Uraí-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
393	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Ventania-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
394	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Vera Cruz do Oeste-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
395	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Verê-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
396	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Virmond-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
397	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Vitorino-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
398	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Wenceslau Braz-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
399	399 município dentro das 22 Regionais de Saúde do estado do Paraná	Xambrê-PR	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 27/29



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 95034-1	Data da Emissão: 23/08/2024 16:01:41	Validade*: 23/08/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MICHELE MARTHA WEBER LIMA	CPF: 077.916.279-06
Título do Projeto: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE TRIATOMÍNEOS: IMPLEMENTAÇÃO DE MÉTODOS MOLECULARES PARA IDENTIFICAÇÃO DE INFECÇÃO NATURAL POR ESPÉCIES DE Trypanosoma	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	CNPJ: 75.095.679/0001-49

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
2	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Hemiptera	-
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Hemiptera	100
3	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Hemiptera	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Insetos)	Secreção
2	Método de captura/coleta (Insetos)	Captura manual

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ	Coleção

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0950340120240823

Página 28/29

ANEXO I

Placa para o Programa de Controle da Doença de Chagas - Postos de Informação de Triatomíneos (PIT)

AQUI



PIT

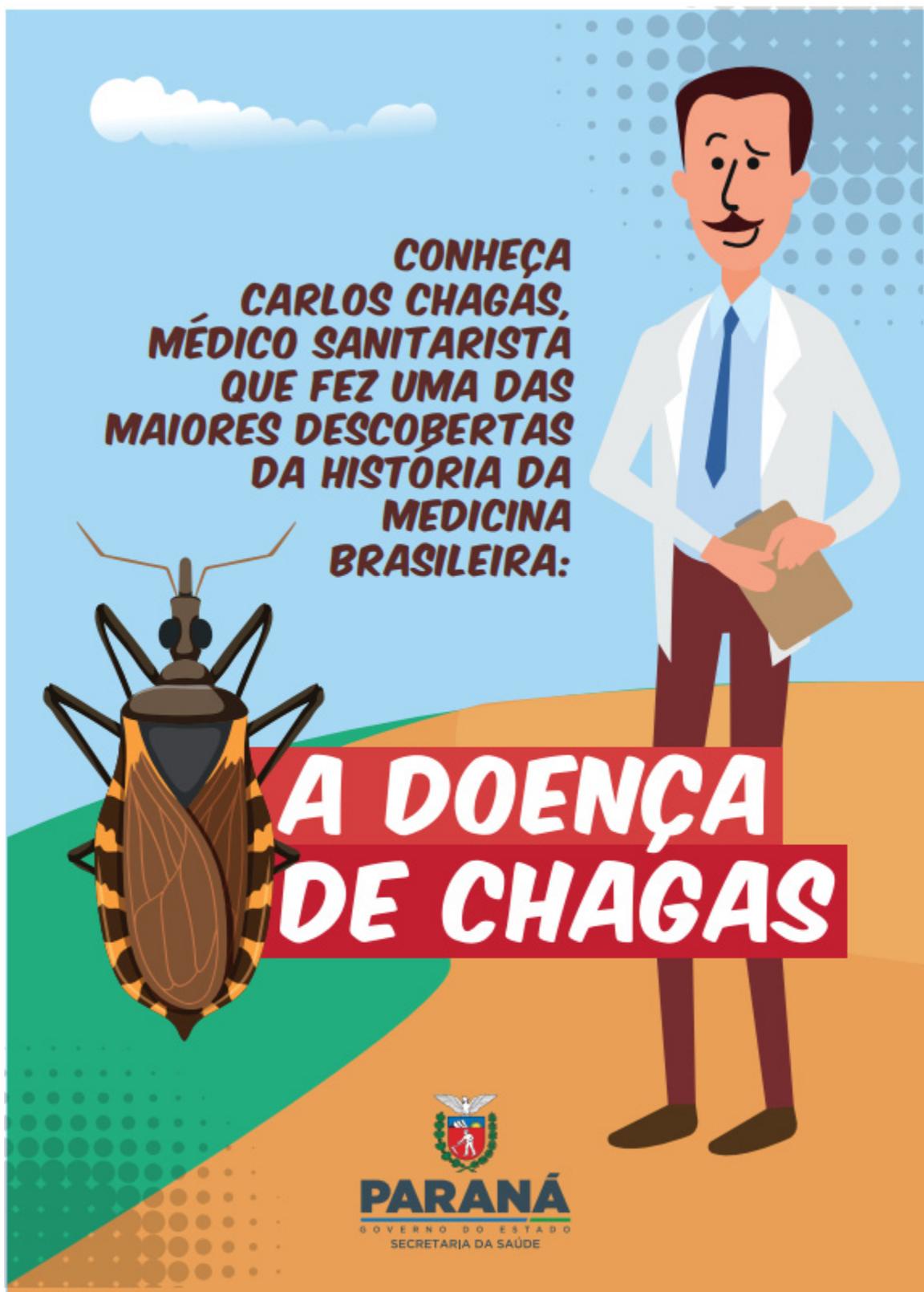


Posto de Informação de Triatomíneos

**PROGRAMA DE CONTROLE DA
DOENÇA DE CHAGAS**

ANEXO IV

Livreto sobre Doença de Chagas para Educação infantil



JOGO DOS 7 ERROS

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ



4

ENCONTRE ALGUMAS PALAVRAS RELACIONADAS COM A DOENÇA DE CHAGAS

BARBEIRO, DOENÇA DE CHAGAS, INSETO, ALIMENTO CONTAMINADO, PARÁSITO, CARLOS CHAGAS E OSWALDO CRUZ.

I	D	O	E	N	Ç	A	D	E	C	H	A	G	A	S	O	E	N	P
P	N	E	O	Z	E	D	E	C	O	O	T	I	N	A	S	M	H	A
A	T	S	A	A	N	A	O	A	S	C	A	R	L	O	I	A	E	R
R	A	O	E	M	E	N	E	U	W	I	N	A	I	S	S	A	P	A
A	L	C	T	T	A	L	I	Z	A	A	L	S	A	W	R	O	A	S
E	Z	R	A	A	O	E	N	I	L	G	E	I	L	T	A	S	R	I
H	A	G	A	S	A	N	L	A	D	B	N	T	D	N	Ç	O	S	T
A	L	I	M	E	N	T	O	C	O	N	T	A	M	I	N	A	D	O
D	A	C	C	A	R	L	O	S	C	H	A	G	A	S	A	O	S	M
N	T	O	C	M	E	N	U	N	R	E	N	Ç	O	S	G	E	I	A
E	Ç	A	B	E	I	R	O	L	U	N	A	D	O	A	B	A	T	S
C	D	E	O	I	N	D	I	E	Z	E	B	A	R	B	E	I	R	O





ANEXO V

NOTA ORIENTATIVA Nº 13/2024 - CVIA/DAV/SESA



NOTA ORIENTATIVA Nº 13/2024 - CVIA/DAV/SESA

Assunto: Orientações para realização da Vigilância Entomológica e controle químico de triatomíneos no Paraná.

1. INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (DC), ou Tripanosomíase Americana, é uma infecção que tem como agente etiológico o protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*. É uma doença negligenciada e de elevado impacto social e econômico.

A infecção pode ocorrer pela transmissão vetorial, oral, transfusional, transplantar, vertical (ou congênita) e acidental.

A transmissão vetorial está envolvida com o contágio da pele e mucosas por meio das fezes e urina contaminadas dos insetos hematófagos da subfamília Triatominae.

As principais formas de controle vetorial envolvem: a correta identificação taxonômica e estudos sobre biologia, distribuição geográfica e competência vetorial de cada espécie, além do comprometimento da população e educação social, sendo este um dos fatores fundamentais para esse processo.

Algumas espécies são epidemiologicamente importantes devido às características comportamentais, em destaque para o *Triatoma infestans*, uma espécie alóctone, ou seja, importada, que apresenta relevância na transmissão da doença, por sua facilidade de domiciliação, altas taxas de infecção natural e ser extremamente antropofílica. Pelo fato de ser uma espécie importada foi possível controlá-la, sendo atualmente encontrada populações residuais somente em dois estados brasileiros. Além deste, as seguintes espécies também apresentam importância epidemiológica: *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata*, *Panstrongylus megistus*, *T. maculata*, *T. rubrovaria* e *T. sordida*, devido ao seu potencial para domiciliação.

O principal vetor, *T. infestans*, foi controlado por intensas ações de vigilância entomológica e controle químico, porém os nichos ecológicos desocupados por ele estão sendo ocupados pelas demais espécies nativas com o potencial de domiciliação.

O funcionamento da vigilância entomológica é de fundamental importância para identificar oportunamente situações características da transmissão vetorial, impedindo assim a colonização intradomiciliar, além de monitorar o comportamento dessas espécies ao longo dos anos.

Ainda, segundo o Ministério da Saúde, o controle de triatomíneos por meio da utilização de inseticida residual, aplicado no intra e peridomicílio, é preconizado apenas em situações específicas, devendo ser considerado as espécies de triatomíneos encontradas pelas equipes municipais e estaduais nas pesquisas de vigilância entomológica no intra ou peridomicílio da unidade domiciliar (UD), bem como seu comportamento, nível de domiciliação e infecção por *T. cruzi*.

2. VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA

A realização da vigilância entomológica está relacionada com a coleta de triatomíneos que pode ser feita por meio da vigilância passiva ou ativa:

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da.sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

- **Vigilância passiva:** ocorre pela notificação de insetos encontrados por moradores. Esta deve estar bem estruturada a nível municipal, provida pelos Postos de Identificação de Triatomíneos (PIT), geralmente sediado em postos de saúde e escolas – local este onde o morador pode receber informações e encaminhar insetos suspeitos.
 - As Secretarias Municipais de Saúde (SMS) devem manter uma rotina de verificação dos PIT, com periodicidade no recolhimento destas amostras e envio às Regionais de Saúde (RS) do estado, para prévia triagem e encaminhamento das espécies de importância para os Núcleos de Vigilância Entomológica (NVE) ou para a Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores (DVDTV).
 - As RS devem ainda manter uma periodicidade de orientação, verificando se os PIT municipais estão funcionando e aonde estão localizados.
 - Nos NVE e na DVDTV é realizada a identificação taxonômica do inseto, bem como verificada a infecção por *Trypanosoma cruzi*.
 Uma vez identificada a presença de um triatomíneo, deve ser desencadeada a **busca ativa**, realizada de forma minuciosa, no intra e peridomicílio das unidades domiciliares. Essa ação é baseada na notificação passiva (pelo morador). A vigilância municipal deve realizar a busca ativa na localidade correspondente em um período máximo de 60 dias contados a partir da entrega do exemplar. Sendo que, a depender da fase e espécie encontrada, será necessário fazer também a borrifação com inseticida de ação residual nas habitações, além da coleta sorológica de moradores, em caso de positividade para *T. cruzi*.
- **Vigilância ativa:** consiste na **busca ativa** de triatomíneos de forma programada das UD de uma determinada localidade pelas equipes municipais e ou estaduais, visando a pesquisa de localidades muitas vezes silenciosas ou que demonstrem indícios de domiciliação. Também, pode estar associada à **busca de casos** que estejam relacionados a notificações de casos agudos.

2.1 Classificação das amostras.

- **Peridomicílio:** consideram-se amostras encontradas em peridomicílio, aquelas em que forem encontradas em anexos e outros abrigos que estejam ao redor da residência, área externa, que não ultrapassem um raio de 100 metros.
- **Intradomicílio:** considera-se amostra intradomiciliar aquela que for encontrada em local que esteja contemplado em uma mesma cobertura do telhado da unidade domiciliar (ex: quartos, varandas, banheiros, parede externa da residência, etc).

3. ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRA E NOTIFICAÇÃO

Os insetos capturados devem, preferencialmente, serem encaminhados vivos para viabilidade da realização de exame entomo-parasitológico.

Encaminhar os insetos em potes de coleta, com tiras de papel-filtro dobrados em forma de sanfona para reter umidade e fezes dos triatomíneos. As tampas devem permanecer intactas, sem qualquer orifício (Figura 1).

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 89.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

Os potes com as amostras devem sempre estar etiquetados para identificação da amostra. A etiqueta deve ser colada na parte de fora do pote e conter as seguintes informações: RS, município, data e nome do coletor. Junto com o pote deve ser encaminhada também a ficha de notificação de triatomíneo (Anexo I).



Figura 1. Acondicionamento de amostras de triatomíneos. **Fonte:** OBARA *et al.* 2014.

O transporte deve ser realizado em uma caixa bem lacrada sendo encaminhada para as RS, que devem realizar pré-triagem da amostra definindo insetos de real interesse de Saúde Pública, para então encaminhar ao NVE ou à DVDTV, no qual será realizada a taxonomia de espécies e exame entomo-parasitológico.

Os resultados serão enviados às RS, com laudo e recomendações para acompanhamento da realização do trabalho a ser desenvolvido nos municípios como: educação em saúde, *feedback* do resultado ao morador colaborador e, quando necessário, atividade de busca ativa e aplicação de inseticidas. Também, se houver necessidade, será realizada a sorologia de todos os moradores, quando o triatomíneo der positividade para *T. cruzi* (Figura 2).

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da.sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento **794.335** por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22**.

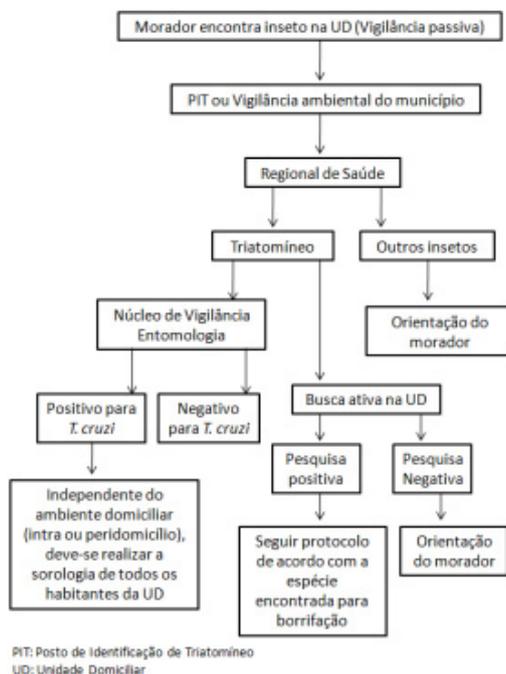


Figura 2. Fluxo para encaminhamento de amostra.

4. PROTOCOLOS PARA APLICAÇÃO DE INSETICIDAS

De acordo com a espécie encontrada deve-se seguir um dos seguintes protocolos:

4.1 Protocolo 1 – *T. infestans* – espécie domiciliada.

Ao encontrar exemplares vivos de *T. infestans* durante a busca ativa, deve-se estender a procura por toda a localidade. Realizar busca ativa anualmente, em 100% das UD por três anos. Se encontrar outro exemplar vivo nas pesquisas dos anos subsequentes, estender a pesquisa por mais três anos. A área será considerada livre de *T. infestans* apenas quando não forem mais encontrados *T. infestans* por três anos consecutivos.

Quando forem encontrados exemplares mortos ou não forem encontrados *T. infestans* durante a busca ativa, reavaliar a UD após 6 meses, podendo ser considerada área livre de foco de *T. infestans* caso não sejam mais encontrados exemplares vivos ou mortos.

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento 794.335 por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: 1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22.

Com relação ao controle químico da UD, caso seja encontrado durante a busca ativa exemplar de *T. infestans* vivo ou morto recomenda-se pulverizar toda residência intra e peridomicílio, independente da positividade para *T. cruzi* (Figura 3).

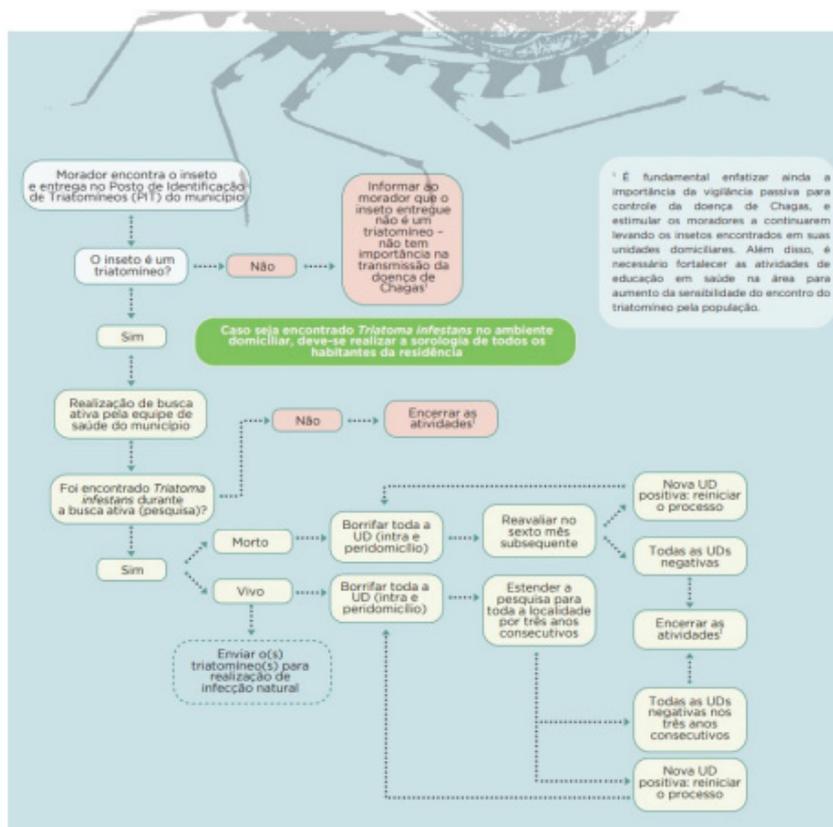


Figura 3. Fluxo para Vigilância Entomológica de *T. infestans*.

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX) em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento 794.335 por: Emanuelle Gemin em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: 1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22.

4.2 Protocolo 2 – *Panstrongylus megistus*; *T. brasiliensis*; *T. maculata*; *T. pseudomaculata*; *T. rubrovaria* e *T. sordida* – espécies com potencial para domiciliação.

Ao encontrar exemplares vivos, deve-se estender a busca por um raio de 100 metros a partir na UD notificadora e reavaliar após 6 meses. Após 2 avaliações subsequentes caso não seja encontrado exemplar vivo, considera a localidade livre de foco e finaliza as ações.

Com relação ao controle químico, após a busca ativa se for encontrado adulto vivo recomenda-se pulverizar toda residência intra e peridomiciliar (Figura 4).

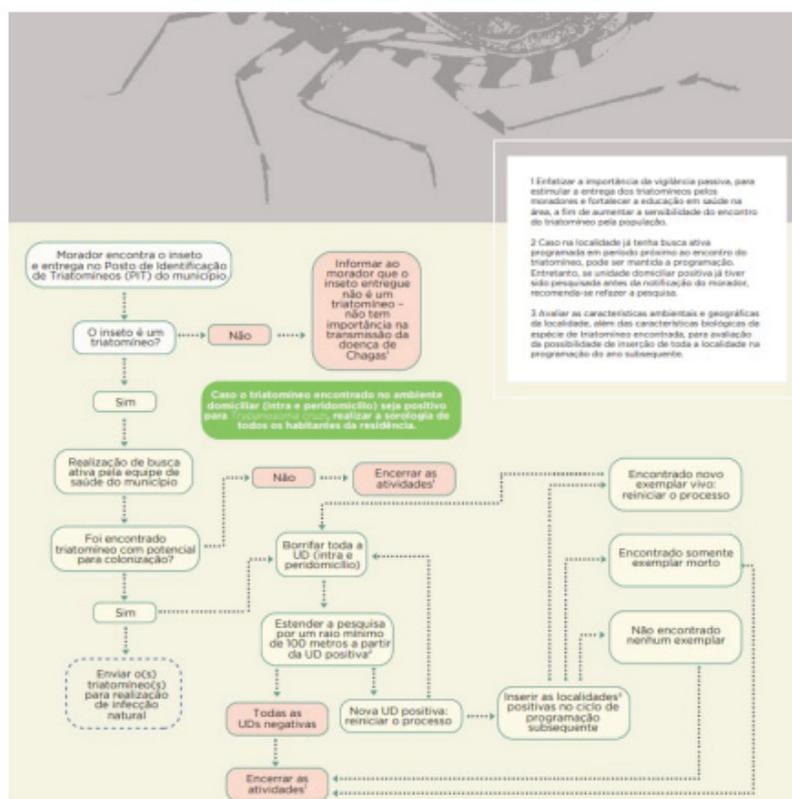


Figura 4. Fluxo para Vigilância Entomológica para espécies com potencial de domiciliação.

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

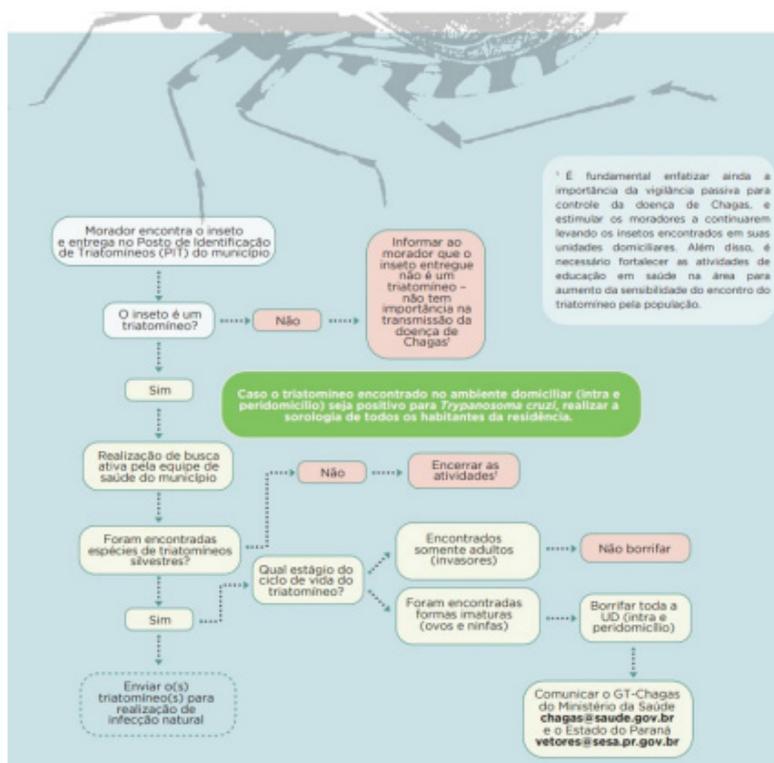
Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX) em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento 794.335 por: Emanuelle Gemin em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.protocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: 1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22.

4.3 Protocolo 3 – *T. tibiamaculata*; *T. vitticeps*; *Panstrongylus geniculatus*; *Panstrongylus lutzii*; *Rhodnius domesticus*; *Rhodnius nasutus*; *Rhodnius neglectus*; *Rhodnius pictipes*; *Rhodnius robustus* – espécies predominantemente silvestres, mas podem ser encontradas em domicílios.

Durante a busca ativa do triatomíneo na UD, caso seja encontrado indícios de domiciliação (ovos e ninfas) deve-se estender a busca para toda a localidade. Por ser um fato novo, deve-se exaustivamente ser investigado pelas esferas municipais e estaduais, devendo-se comunicar imediatamente o fato a RS.

Recomenda-se o controle químico somente se durante a pesquisa da UD forem encontrados ovos e ou ninfas (Figura 5).



DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento **794.335** por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22**.

Figura 5. Fluxo para Vigilância Entomológica de espécies silvestres.

5. RECOMENDAÇÕES DE CASOS ESPECÍFICOS

Em casos de recorrência da presença de triatomíneos com infecção natural positiva para *T. cruzi* e não forem encontrados pela busca ativa municipal e estadual triatomíneos domiciliados, poderá ser avaliada a possibilidade de borrifação na UD, visando impedir a colonização do domicílio.

6. INTEGRAÇÃO ENTRE VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA E EPIDEMIOLÓGICA

Deve ser realizada a integração e comunicação da Vigilância Entomológica e Epidemiológica para realização de sorologia em pessoas que residem nas UD com encontro dos triatomíneos positivos para *T. cruzi* em ambiente domiciliar (intra e peridomicílio). Sendo que, o encontro e contato de triatomíneos em residência definem caso suspeito para doença de Chagas Aguda e Crônica, conforme Nota Técnica nº 11/2024- DAV/SESA.

7. CONTROLE QUÍMICO

O controle químico de vetores é realizado por meio da estratégia de aplicação de inseticida residual intra e peridomiciliar nas paredes internas e externas dos imóveis. A aplicação deve ser realizada utilizando o inseticida residual recomendado, por meio de equipamento costal manual de compressão prévia (Figura 6 A) ou de equipamento costal manual de alavanca (Figura 6 B).

Antes da aplicação o equipamento deve ser verificado, regulado e calibrado, para evitar falhas no controle ou aplicação excessiva do inseticida.



Figura 6. Representação do equipamento costal manual de compressão prévia (a), equipamento costal manual de alavanca (b) e válvula para controle de vazão e pressão (c) utilizados para aplicação residual de inseticida (adulticida) no controle químico de triatomíneos.

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX) em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento 794.335 por: Emanuelle Gemin em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: 1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22.



Atualmente o inseticida recomendado pelo Ministério da Saúde é a Alfa-cipermetrina 20,0% (Alfatec® 200 SC) com efeito residual de quatro meses. A formulação comercial do produto é de suspensão concentrada, sendo utilizado dosador de 50 ml para preparo de uma calda de 10 litros, usando água como solvente, com área de aplicação de 200 m². Durante a aplicação os equipamentos recomendados são os pulverizadores costais manuais portáteis, com pontas de Jato Plano 8002-E (80° de abertura do leque e vazão de 760 ou 800 ml/min - com ou sem válvula de fluxo constante, respectivamente - com deposição uniforme), recomendação de manter a pressão média em 40 psi, podendo variar na faixa de 25 a 55 psi. A dose recomendada é 0,4 g de produto/m², com vazão de 30 ou 40 ml de solução/m² (com ou sem válvula de fluxo constante, respectivamente).

O técnico que for realizar a atividade de controle químico de efeito residual deve estar devidamente paramentado com Equipamento de Proteção Individual (EPI), roupa protetora adequada, luvas, proteção ocular e respiratória, antes de iniciar o processo de aplicação do inseticida.

7.1 Aplicação do inseticida

7.1.1 Aferir a vazão do equipamento:

- Encher o tanque químico do equipamento com água (1000 ml – 1L);
- Fechar a tampa do tanque químico do equipamento;
- Para o equipamento costal manual de compressão prévia, pressurizar a 55 psi;
- Verificar se não contem vazamentos;
- Com a pressurização em 55 psi (3,8 bar) acionar a válvula por 1 min;
- Coletar o volume borrifado, por três vezes e calcular uma média das três medidas, mantendo a mesma pressão do tanque químico pressurizado pela primeira vez;
- A média deve ser de 760 ml/min ou 800 ml/min, com ou sem válvula de fluxo constante, respectivamente;
- Se o volume estiver fora da média, verificar o bico, onde a tela de filtro deve estar limpa e a ponta de pulverização não deve estar entupida;
- Semanalmente deve ser monitorada a vazão/min do equipamento, sendo trocada a ponta de pulverização quando a vazão for cerca de 20% maior que a descarga nominal.

7.1.2 Procedimento de aplicação:

- Após a verificação do equipamento e da vazão (760 ou 800 ml/min - com ou sem válvula de fluxo constante, respectivamente);
- Encher metade do pulverizador com água;
- Adicionar o inseticida (50 ml do produto comercial para o preparo de 10 L);
- Completar a calda com água para perfazer os 10 L;
- Fechar a tampa do tanque químico do equipamento;
- Agitar o equipamento para garantir uma boa dissolução do produto no tanque químico;

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da.sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br



- Acionar o gatilho da válvula para checar à saída do inseticida;
- Para o equipamento costal manual de compressão prévia, pressurizar a 55 psi;
- Checar o padrão constante da aplicação em uma superfície seca da parede, observando se não ocorre gotejamento quando a válvula é acionada;
- Com o equipamento costal de compressão prévia manter a pressão em 40 psi, podendo variar na faixa de 55 a 25 psi.
- Aplicar faixas verticais de 75 cm de largura, sobrepostas em 5 cm, aplicando do teto ao assoalho e em seguida, ao lado da faixa aplicada, do assoalho para o teto, percorrendo todo o local;
- Manter a 45 cm da parede, para assegurar a largura da faixa;
- Estabelecer um ritmo de trabalho de modo que a cada metro de aplicação corresponda a 2,5 segundos por metro linear da superfície (com válvula de fluxo constante - Figura 6 C) ou 3,3 segundos (sem válvula de fluxo constante);
- Pressurizar novamente o tanque químico quando manômetro mostrar menos de 25 psi.

7.2 Lavagem do equipamento e armazenamento

- Após uso de toda a calda, enxaguar o equipamento e seus componentes por fora e por dentro com bastante água limpa (tríplice lavagem);
- Apertar o gatilho da válvula para que a água passe por dentro das mangueiras e do bico;
- Desmontar o bico deixando os componentes de molho em água e escová-los com cerdas macias. Nunca tentar desentupir a ponta com algum material pontiagudo;
- Deixar o equipamento secar de boca para baixo;
- Após inteiramente seco, guardar o equipamento em local limpo, protegido e seguro, de boca para baixo;
- Sempre que preciso, utilizar óleo fino para engraxar o equipamento de pulverização.

Deve ser informado ao proprietário o calendário e os propósitos da aplicação, dando-lhe tempo suficiente para preparar e desocupar a casa.

Devem ser retirados alimentos, utensílios de cozinha e brinquedos ou cobri-los para não serem atingidos pela borrifação. Animais domésticos e seus abrigos devem ser afastados da casa.

Recomenda-se que os moradores fiquem para o lado de fora da residência até que o inseticida seque. Antes de adentrar nas residências deve ser lavado o chão da casa, deixando as paredes com o inseticida fixado.

O recipiente deve ser descartado corretamente, visando a logística reversa do produto.

Período de reentrada: após a aplicação manter o local ventilado. A reentrada deve ser realizada assim que as superfícies tratadas estiverem secas. Idosos, grávidas e pessoas alérgicas só devem retornar ao local 24 horas após aplicação.

7.3 Vazamento acidental

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da.sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento **794.335** por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22**.



Isolar e sinalizar a área. Usar EPI (óculos de proteção, luvas de cano longo, avental de PVC, botas de borracha e máscara apropriada); eliminar o vazamento, se possível; cobrir a porção vazada com terra ou areia; evitar que o produto atinja bueiros, esgotos, cursos d'água, etc; eliminar qualquer fonte de ignição ou calor (cigarros, circuito elétrico do veículo, etc); recolher o produto, juntamente com a terra de cobertura, em recipientes fechados; transportar para local seguro para receber tratamento adequado para incineração; limpar bem a área.

7.4 Primeiros socorros

INGESTÃO: no caso de ingestão não provoque vômito, procure o médico levando embalagem ou rótulo do produto;

OLHOS: no caso de contato com os olhos, lave-os com água em abundância e procure o médico levando a embalagem ou rótulo do produto;

PELE: no caso de contato com a pele, lave-a com água e sabão em abundância e procure o médico levando a embalagem ou rótulo do produto;

INALAÇÃO: no caso de inalação do produto procure local arejado e vá ao médico levando a embalagem ou rótulo do produto. Se inalado em excesso remover a pessoa para o local ventilado. Em caso de intoxicação, procurar o Centro de Intoxicações ou Serviço de Saúde, levando a embalagem ou rótulo do produto.

Curitiba, 05 de abril de 2024

Assinado eletronicamente

Maria Goretti David Lopes

Diretora de Atenção e Vigilância em Saúde

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da.sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento **794.335** por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22**.

ANEXO I

FICHA DE NOTIFICAÇÃO E ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRA DE TRIATOMÍNEOS

CENTRO DE SAÚDE AMBIENTAL
DIVISÃO DE CONTROLE DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES
COORDENAÇÃO DE CONTROLE DA DOENÇA DE CHAGAS

FICHA DE NOTIFICAÇÃO E ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRA DE TRIATOMÍNEOS

1. Procedência da amostra

Notificação nº/ano	Tipo de Atividade					RS
	Nº etiqueta da Vigilância passiva		Nº etiqueta Vigilância ativa		Nº etiqueta da Busca ativa *demanda de uma Vigilância passiva	
Cód. do município	Município					
Cód. Localidade	Nome da Localidade/Bairro					
Endereço			Casa nº		Coordenada Geográfica	
					Lat.	Log.
Nome do Morador/Colaborador						

2. Dados da captura

Intradomicílio		Peridomicílio		Extradomicílio	
Captura	Local de captura (especificar)	Captura	Local de captura (especificar)	Captura	Local de captura (especificar)
1 - Triatomíneo		1 - Triatomíneo		1 - Triatomíneo	
2 - Outro		2 - Outro		2 - Outro	

Data da coleta	Data da Remessa	Situação da amostra		Remetente ou portador
__/__/__	__/__/__	Viva	Morta	

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento **794.335** por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22**.

8. REFERÊNCIAS

ALFATEK® 200 SC. Rogama Indústria e Comércio LTDA (2016). São Paulo. *Ficha Técnica*.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenacao-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de Vigilância em Saúde: volume único [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenacao-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 3a. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2019.

BRASIL. Nota Técnica nº 36.2012 – CGDT/DEVEP/SVS/MS. Orientações sobre vigilância e a utilização de inseticida de ação residual no controle de triatomíneos – vetores da doença de Chagas. Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis/Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis. Brasília/DF, 2012.

BRASIL. Manual para borrifação de inseticida de efeito residual para controle de vetores. Organização Mundial da Saúde. Controle, Prevenção e Erradicação de Doenças Transmissíveis. Sistema de Avaliação de Pesticidas OMS, 2002.

OBARA, M., WANDERLEY, D. M. V., SILVA, R. A. Procedimentos de captura, montagem, conservação e envio. In: GALVÃO, C., org. *Vetores da doença de chagas no Brasil* [online]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, pp. 209-219. Zoologia: guias e manuais de identificação seriés. ISBN 978-85-98203-09-6. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

ROGAMA. *Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos – FISPQ*. ALFATEK 200 SC. Rogama Indústria e Comércio LTDA. São Paulo, Rev, 4, p. 1- 11, 2016.

DIRETORIA DE ATENÇÃO E VIGILÂNCIA EM SAÚDE – DAV

Rua Piquiri, 170 – Rebouças – 80.230-140 – Curitiba – Paraná – Brasil – Fone: (41) 3330-4300 – E-mail: da_sesa@sesa.pr.gov.br
www.saude.pr.gov.br

NOTA TÉCNICA 002/2024. Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR. Inserido ao documento **794.335** por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22**.



ePROTOCOLO

NOTA TECNICA 002/2024.Documento: **NOTATECNICA13_2024CVIADAVSESA_entomologia.pdf.**Assinatura Avançada realizada por: **Maria Goretti David Lopes (XXX.781.669-XX)** em 08/04/2024 12:30 Local: SESA/DAV/DIR.Inserido ao documento **794.335** por: **Emanuelle Gemin** em: 05/04/2024 16:43.

Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021.

A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço:
<https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código:
1688742e3b5d96ec0726dfb4a5b0cc22.