

**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA**

**Relações vetor-hospedeiro de *Rhodnius brethesi* Matta,
1919 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), em piaçabais
do médio rio Negro, Amazonas, Brasil**

Gersonval Leandro da Silva Monte

**Manaus – Amazonas
Fevereiro, 2010**

Gersonval Leandro da Silva Monte

**Relações vetor-hospedeiro de *Rhodnius brethesi* Matta,
1919 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), em piaçabais
do médio rio Negro, Amazonas, Brasil**

Orientador: Toby Vincent Barrett, PhD INPA - CPEN

**Dissertação apresentada ao Instituto
Nacional de Pesquisas da Amazônia-
INPA, como parte dos requisitos para
obtenção do Título de Mestre em
Ciências Biológicas, área de
concentração em Entomologia.**

Manaus – Amazonas

Fevereiro, 2010

M775

Monte, Gersonval Leandro da Silva

Relações vetor-hospedeiro de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae), em piaçabais do médio rio Negro, Amazonas, Brasil / Gersonval Leandro da Silva Monte.--- Manaus : [s.n.], 2010.

48 f. : il. color.

Dissertação (mestrado)-- INPA, Manaus, 2010

Orientador : Toby Vincent Barrett

Área de concentração : Entomologia

1. Triatominae. 2. Barbeiro (triatomíneo). 3. *Rhodnius brethesi*.
 4. Negro, Médio Rio (Região). 5. Relação hospedeiro – parasita.
- I. Título.

CDD 19. ed. 595.75

Sinopse:

Foram pesquisados tripanossomatídeos e outros hemoparasitas veiculados por *R. brethesi* em palmeiras *Leopoldinia piassaba*. A infecção natural das ninfas dessa espécie e utilização da fauna de répteis da piaçabeira como fonte de repasto sanguíneo também foram investigados.

Palavras – chave: barbeiro, *T. rangeli*, hemogregarinas, répteis, associação, piaçabeira.

AGRADECIMENTOS

À minha irmã Lica e a minha tia a Sr. Creuza, pela hospitalidade nestes anos de Mestrado, pois sempre respeitaram a minha falta de horários.

Aos meus primos Jackson e Carlos, pelos muitos momentos de entretenimento.

Ao Dr Toby Barret, pela orientação e sugestões necessárias ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, pela oportunidade de realização desse mestrado.

Aos professores da pós-graduação, pelas experiências compartilhadas, em especial ao Dr Wanderli Tadei, Dra Neusa Hamada e Dra Vera Scarpassa, por me ajudarem em problemas de ordem estudantil.

Ao técnico Francisco Felipe Xavier Filho, pela grande ajuda de campo e companhia e ao Ronildo B. Alencar, por dividir o laboratório comigo.

Aos amigos Veracilda Ribeiro Alves e Walter Sousa Santos, pela ajuda no laboratório e pelos momentos de entretenimento nos finais de semana.

Aos amigos Márcio Luis Leitão Barbosa, Gilcélia Lourindo e Livia Fusari, pelo companheirismo e ajuda nas correções desta dissertação.

Ao pesquisador Roberto Naiff, pela ajuda na leitura das lâminas e sugestões.

Aos piaçabeiros Jocivan da Silva e Nilson, os quais foram de grande importância para a execução de campo deste projeto, sempre muito prestativos e atenciosos.

Aos companheiros de curso Taciane, Galileu, Eduardo, Paulo, André, Sheila, Bruno, Jamile, Jaison, pela amizade, diversão e colaboração durante estes dois anos.

Às bolsistas Daniele e Elziane, pela descontração dentro do laboratório.

Aos órgãos financiadores desta pesquisa: Projeto CNPq: Diversidade e Distribuição de Phlebotominae e Triatominae na Amazônia Brasileira. Nº 409058/2066-8. E CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao projeto de insetos aquáticos: “Biodiversidades, ferramentas ambientais e a popularização da ciência para melhoria da qualidade de vida humana no estado do Amazonas”, financiado no âmbito do programa de apoio a núcleos de excelência (PRONEX)- CNPQ/FAPEAM. Na pessoa da Dra Neusa Hamada, pela concessão do laboratório e ferramentas de mensuração de microorganismos.

Resumo

Rhodnius brethesi Matta, 1919 está entre as espécies de Triatominae da Amazônia com grande importância epidemiológica, especialmente nas regiões do médio e alto Rio Negro, por serem vetores de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 e *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. *R. brethesi* encontra-se associado à palmeira *Leopoldinia piassaba* Wallace, a qual representa uma importante fonte de renda para os habitantes daquelas regiões. Com o objetivo de identificar os hemoparasitas em *R. brethesi* e na fauna de répteis associada às piaçabeiras do médio Rio Negro, foram realizadas duas excursões para coleta de *R. brethesi* utilizando; armadilhas Noireau, CDC, Lençol iluminado com luz mista de mercúrio e tungstênio e busca ativa com dissecação das piaçabeiras; foram analisadas as glândulas salivares, hemolinfa e conteúdo intestinal de 103 exemplares de *R. brethesi*. A fauna de répteis associada foi registrada por meio de fotos digitais com captura manual para coleta de sangue e pesquisa de seus hemoparasitas. Nos répteis foram encontrados apenas representantes da ordem Squamata, cinco espécies: *Thecadactylus rapicauda* (Houttuyn, 1782); *Gonatodes humeralis* (Guichenot, 1855); *Anolis nitens* (Wagler, 1830); *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758); *Bothrops atrox* (Linnaeus, 1758). Quanto a seus hemoparasitas foram encontrados microfilárias e plasmódios, contudo, não foi possível estabelecer uma relação de vetor-hospedeiro com os exemplares de *R. brethesi* capturados no mesmo ambiente. Em ninfas e adultos, o índice de positividade para *T. rangeli* na hemolinfa foi de 1,9 %, glândulas salivares 0,9 %, não sendo encontradas formas tripomastigotas no conteúdo intestinal. Para hemogregarinas foram encontrados índices de 3,8 % na hemolinfa, 3,8 % no intestino e 2,9 % na glândula salivar. O repasto das ninfas em répteis representou valores próximos de 50%. Estes resultados mostram que a fauna de répteis consiste numa fonte sangüínea igualmente requisitada para o desenvolvimento de *R. brethesi*, o que justificaria os baixos índices de positividade parasitária encontrados para *T. rangeli* nestes Triatominae.

Abstract

Rhodnius brethesi Matta, 1919 is among the species of Triatominae Amazon with great epidemiological importance, especially in regions of middle and upper Rio Negro, due to been vectors of *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909 and *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920. *R. brethesi* are associated with palm *Leopoldinia piassaba* Wallace, which represents an important source of income for the inhabitants of those regions. With the aim of identify the hemoparasites in *R. brethesi* and associated herpetofauna with palm tree piassaba the middle Rio Negro, were made two expedition to collect *R. brethesi*; were used Noireau traps, CDC, sheet illuminated with light mixed mercury and tungsten and active search with dissection of palm trees, were analyzed the salivary glands, hemolymph and gut contents of 103 *R. brethesi*. The associated fauna was recorded by means of digital photos with manual capture for blood collection and research of its parasites. For the associated herpetofauna were found only representatives of the order Squamata, five species: *Thecadactylus rapicauda* (Houttuyn, 1782); *Gonatodes humeralis* (Guichenot, 1855); *Anolis nitens* (Wagler, 1830); *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758), *Bothrops atrox* (Linnaeus, 1758). And for the hemoparasites of herpetofauna, were found microfilariae and plasmodia, but it was not possible to establish the vector-host relation with *R. brethesi* caught in the same environment. Nymphs and adults, the positive rates of *T. rangeli* in the hemolymph was 1.9%, salivary glands 0.9%, were not found trypanosome in the gut contents; were found to hemogregarines rates of 3.8% in the hemolymph, 3.8% in the intestine and 2.9% in the salivary gland. The meal of nymphs in reptiles represented levels close to 50%. These results show that the reptiles fauna consists of a blood source also required for the development of *R. brethesi*, which would explain the low rates of parasite positivity found for *T. rangeli* in these triatomines.

SUMÁRIO

FOLHA DE ROSTO.....	i
FICHA CATALOGRÁFICA.....	ii
AGRADECIMENTOS.....	iii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	v
SUMÁRIO.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS	07
2. 1. Geral	07
2. 2. Específicos	07
3. MATERIAL E MÉTODOS	08
3. 1. Caracterização da área de estudo	08
3. 2. Período de amostragem, técnicas de coleta e acondicionamento do material	09
3. 2. 1. Armadilhas Noireau	10
3. 2. 2. Armadilhas CDC miniatura	11
3. 2. 3. Armação de lençol com luz mista de mercúrio e tungstênio	12
3. 2. 4. Busca ativa de Triatominae por dissecação de palmeiras <i>L. piassaba</i>	13
4. Análise dos dados	14
5. Análise populacional	14
5. 1. Identificação dos Triatominae coletados	14
6. Pesquisa de hemoparasitas em <i>R. brethesi</i>	14
7. Análise dos tripanossomatídeos encontrados	16
8. Pesquisa de parasitas na hemolinfa de <i>R. brethesi</i>	16

9. Análise dos parasitas encontrados na hemolinfa de <i>R. brethesi</i>	17
10. Pesquisa de hemoparasitas em répteis capturados nas piaçabeiras	18
11. Perfil da fonte alimentar de <i>R. brethesi</i>	18
12. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
12. 1. Fauna de répteis associada a <i>R. brethesi</i> em piaçabeiras	19
12. 2. Hemoparasitas encontrados em <i>R. brethesi</i>	21
12. 2. 1. Tripanossomatídeos encontrados em <i>R. brethesi</i>	22
12. 2. 2. Hemogregarinas encontradas em <i>R. brethesi</i>	24
12. 3. Perfil da fonte alimentar de <i>R. brethesi</i>	26
12. 4. Hemoparasitas da fauna de répteis associada a <i>R. brethesi</i> em <i>L. piassaba</i>	29
13. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Mapa modificado de Emperaire e Eloy, 2008. Mostrando a localização da cidade de Barcelos.....	8
Figura 02:	A e B, Preparação das armadilhas Noireau; C e D, disposição da armadilha na palmeira.....	11
Figura 03:	Armadilha tipo CDC miniatura.....	12
Figura 04:	A, Monitoramento do lençol iluminado para coleta de Triatominae; B, <i>Rhodnius brethesi</i> aparentemente tentando repasto em Lepidoptera em lençol iluminado.....	12
Figura 05:	A, escolha de duas palmeiras gigantes, notar a grande quantidade de palhas e fibras onde se refugiam os Triatominae; B e C, retirada e dissecção das fibras para pesquisa de <i>Rhodnius brethesi</i>	13
Figura 06:	A, secção da pata de <i>Rhodnius brethesi</i> , a seta em vermelho mostra o extravasamento da hemolinfa.....	15
Figura 07:	Morfologia geral e pontos de mensuração utilizados na morfometria dos tripanossomatídeos observados nas lâminas de <i>Rhodnius brethesi</i>	16
Figura 08:	Esquema de uma lâmina, indicando a disposição das estruturas dissecadas e coradas de um Triatominae	17
Figura 09:	Morfologia e pontos de mensuração utilizados na morfometria das hemogregarinas observadas nas lâminas de <i>Rhodnius brethesi</i> naturalmente infectados.....	17
Figura 10:	Tripanossomatídeos encontrados em <i>Rhodnius brethesi</i>. A, Epimastigotas longas de <i>Trypanosoma rangeli</i>	23
Figura 11:	Hemogregarinas encontradas em <i>Rhodnius brethesi</i>	25
Figura 12	Esfregaço do conteúdo intestinal de <i>Rhodnius brethesi</i>. A, B, hemácias de réptil; notar o grande núcleo corado ao centro.....	28
Figura 13	Esfregaço sangüíneo com hemoparasitas da herpetofauna associada	29

1. INTRODUÇÃO

Os Triatominae (Hemiptera: Reduviidae) são insetos ectoparasitas obrigatórios do tipo temporário intermitente, ou seja, deixam o hospedeiro logo após realizada a hematofagia, sendo os gêneros *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius* os mais comumente incriminados como vetores biológicos de *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, agente etiológico da tripanossomíase americana ou doença de Chagas (Lent e Wygodzinsky, 1979). São vulgarmente conhecidos como barbeiro, percevejo, chupão, “piolho da piaçaba”, entre outros. Esta última denominação é mais utilizada por moradores do Médio e Alto Rio Negro, no estado do Amazonas.

Os três gêneros anteriormente citados são caracterizados pela presença de um sulco estridulatório na região mediana do prosterno; asas anteriores em hemélitros; abdome com nove a dez segmentos estremados lateralmente por conexivos e um aparelho bucal do tipo perfuro-suctorial. O rostró é tri-segmentado, articulado entre o segundo e terceiro segmento, o que permite movimentos tanto para cima quanto para baixo durante a hematofagia, palpos são ausentes (Schofield, 1994; Galvão *et al.*, 2003; Fortes, 2004).

Esta subfamília, como os demais representantes da ordem Hemiptera, possui um típico ciclo evolutivo hemimetabólico exopterigota, isto é, passa por três estágios de desenvolvimento: ovo, cinco estádios ninfais (sendo os intervalos entre cada ecdise condicionados por variáveis fisiológicas e ambientais) e adulto (Fortes, 2004). Em todos os estádios ninfais tanto machos como fêmeas exercem o hematofagismo. Para completar seu ciclo biológico são necessários em média sete repastos sangüíneos. Após se alimentarem, ou até mesmo antes do término dessa atividade, os Triatominae podem defecar sobre o hospedeiro. Esta característica é considerada a mais importante epidemiologicamente. Neste momento, há uma íntima relação vetor-hospedeiro, quando a ingestão ou transmissão de agentes patogênicos pode ocorrer (Schofield, 1994; Rocha *et al.*, 2004; Santos-Mallet *et al.*, 2005).

Dentre os gêneros que ocorrem na região amazônica, *Rhodnius* tem sido apontado como o vetor biológico para *T. cruzi* mais freqüente nesta região, ainda que com baixíssimas taxas de domicialização (Mascarenhas, 1991; Coura *et al.*, 1999). Esse gênero possui 16 espécies, 11 das quais ocorrem no território brasileiro. Seis ocorrem no estado do Amazonas: *Rhodnius amazonicus* Almeida, Santos & Sposina, 1973, *R. brethesi* Matta, 1919, *R. pictipes* Stål, 1872, *R. prolixus* Stål,

1859, *R. paraensis* Sherlock, Guitton & Miles, 1977, *R. robustus* Larrousse, 1927 (Galvão *et al.*, 2003). *Rhodnius prolixus* diferencia-se das outras espécies por ocupar um ecótopo mais variado, sendo considerada uma espécie de habitat sinantrópico. Os ecótopos das demais espécies citadas parecem estar intimamente associados à família Arecaceae (palmeiras), como exemplo destaca-se *R. brethesi*, cujo alguns autores apontam uma alta especificidade com a palmeira *Leopoldinia piassaba* Wallace (Lent e Wygodzinsky, 1979; Mascarenhas, 1991; Coura *et al.*, 1999).

Nas regiões do Médio e Alto Rio Negro, *R. brethesi* esta entre as espécies da região amazônica já encontrada naturalmente infectada com o *T. cruzi*, nesta espécie, são relativamente comuns as infecções associadas com *Trypanosoma rangeli* Tejera 1920 (Coura *et al.*, 1999), o qual possui importância médico-epidemiológica no diagnóstico diferencial de *T. cruzi*, sendo este o segundo parasita do gênero *Trypanosoma* a infectar tanto humanos quanto mamíferos domésticos e silvestres nas Américas Central e do Sul (Grisard, 2002).

O ciclo biológico de *R. brethesi* parece estar intimamente associado à palmeira piaçabeira *L. piassaba*, cujas fibras são muito utilizadas na região do alto e médio Rio Negro. Segundo os relatos dos extratores de fibra da piaçaba ou “piaçabeiros”, como são mais conhecidos na região, *R. brethesi* possui um comportamento alimentar “voraz”, causando um grande incomodo em seus acampamentos (Barrett, dados não publicados; Coura *et al.*, 1999).

A piaçabeira é uma palmeira nativa do Brasil, possui uma altura média de cinco metros, podendo chegar a até dez metros. Sua distribuição no Brasil está restrita às áreas do médio e alto rio Negro. Tem como característica a emissão de muitas fibras de coloração marrom-avermelhada que podem chegar a pouco mais de um metro (Lescure *et al.*, 1992). Distribuem-se em grandes concentrações denominadas piaçabais localizados próximos a igapós e igarapés de águas pretas com solos arenosos, em áreas encharcadas denominadas “chavascais” (www.florestavivaextrativismo.org.br).

Uma piaçabeira pode produzir de oito a 10 Kg de fibra útil/ano e sua meia vida produtiva pode atingir 20 anos. Um piaçabeiro experiente pode chegar a colher até 45 kg de piaçava bruta/dia, que pode ser usada na fabricação de vassouras, cordoaria, cestas, colares, brincos, pulseiras, objetos de decoração e escovas. Não há dados precisos quanto à participação da piaçaba na renda familiar, contudo o

preço alcançado pelo quilo da fibra de qualidade é de até R\$ 0,30 (Menezes *et al.*, 2005; www.florestavivaextrativismo.org.br).

A relação entre o homem e a piaçabeira remonta ao período colonial, quando sua fibra era explorada por navegadores para a fabricação de cordas de amarras para navios (Menezes *et al.*, 2005). Trabalhos realizados nas regiões do médio e alto rio Negro relatam que os piaçabeiros destas regiões reconhecem a espécie *R. brethesi*, a qual denominam de piolho da piaçaba ou “piassabakiwa”, e que ela está associada às piaçabeiras (Coura *et al.*, 1999). A presença desse triatomíneo nesta região representa um forte risco à higidez dos piaçabeiros, uma vez que são potenciais vetores biológicos para diversos tripanossomatídeos e hemogregarinas de importância médica e veterinária (Rocha e Silva, 1975; Coura *et al.*, 2002).

Entre as tripanossomíases de importância médica e veterinária vetoriadas pelos Triatominae, destaca-se a Doença de Chagas – DC ou Tripanossomíase Americana. Esta patologia de carácter zoonótico é causada pelo protozoário hemoflagelado *T. cruzi*, que ao infectar o hospedeiro vertebrado, penetra inicialmente as células do Sistema Monocítico Fagocitário (SMF) da pele ou mucosas. Daí dissemina-se para o tecido muscular, causando grandes danos ao miocárdio e ao sistema digestório dos hospedeiros vertebrados, que podem ser o homem ou diversas espécies de mamíferos silvestres ou domésticos (Lana e Tafuri, 2003).

Muitas espécies de mamíferos silvestres também podem servir como fontes de alimento e conseqüentemente de infecção para os Triatominae. Das diversas ordens apontadas como reservatório natural para *T. cruzi*, as mais importantes epidemiologicamente são: Marsupialia, Carnivora, Rodentia e Primata. Destas, os marsupiais como as mcuras (*Didelphis marsupialis* Linnaeus, 1758) constituem o grupo de maior importância epidemiológica, pois podem apresentar altas taxas de infecção por *T. cruzi* além de uma alta sinantropia (Deane e Damasceno, 1961; Barreto e Ferriolle Filho, 1964; Urdaneta-Morales e Nironi, 1996).

Os mamíferos domésticos mais comumente apontados como reservatórios para *T. cruzi* são os gatos (*Felis catus* Linnaeus, 1758) e cães domésticos (*Canis lupus* Linnaeus, 1758). Em algumas áreas dos Estados Unidos e Argentina e em alguns países da América Latina, o cão doméstico tem sido considerado como o reservatório doméstico mais importante para *T. cruzi* (Gürtler *et al.*, 2006). Contudo,

os cães também são vítimas da doença, manifestando alterações clínico-patológicas semelhantes às diagnosticadas em humanos. Devido a essa semelhança pode-se atribuir aos cães certos valores clínico-epidemiológicos no estudo da DC, servindo inclusive como modelo experimental do seu avanço patológico (Gürtler *et al.*, 1993; Andrade *et al.*, 1997; Machado *et al.*, 2001; Guedes *et al.*, 2007).

No âmbito da epidemiologia veterinária há ainda a possibilidade de infecções mistas de tripanosomatídeos com outros grupos de parasitas patogênicos como as Hemogregarinas (Levine *et al.*, 1980). O termo hemogregarina tem sido utilizado para descrever um grande grupo de hemoparasitas, pertencentes às subordens Adeleina e Eimeriina vetoriados por insetos hematófagos, e capazes de infectar mamíferos, répteis, anfíbios e aves (Levine, 1988; Beneth *et al.*, 1998). A sua infecção é conhecida como Hemogregariníase, não apresentando sinais patognomônicos do parasitismo em hospedeiros naturais, mas em um hospedeiro errático pode desencadear graves desordens inflamatórias (Pessoa *et al.*, 1974; Wosniak e Telford Jr, 1991; Santos *et al.*, 2005).

Hoje estima-se que cerca de 360 milhões de pessoas vivem em áreas endêmicas da DC e destas, 100 milhões estão expostas ao risco da infecção, sendo que 16 a 18 milhões estão infectadas pelo seu agente etiológico (Guhl e Vallejo, 1999). Além disso, seu potencial cardiopatogênico a coloca entre as grandes parasitoses de relevância médica para a cardiologia na América do Sul (Dias *et al.*, 2002).

No Brasil nos últimos vinte anos ocorreram cerca de 16 mil mortes/ano para DC, e supõe-se uma população atual com aproximadamente quatro milhões de casos positivos (Reiche *et al.*, 1996). Já para a região da Amazônia Brasileira, que até pouco tempo era considerada como não endêmica, no último decênio foram diagnosticados mais de 300 casos positivos da doença em humanos (Coura *et al.*, 2002). Neste contexto regional *R. brethesi* acaba por assumir um possível papel de vetor silvestre da DC aos piaçabeiros da região do médio e alto Rio Negro, Amazonas (Coura *et al.*, 2002).

A DC humana ocorre difusamente na Região Norte e em grande parte devido aos desmatamentos que colocam reservatórios e fontes de alimento dos Triatominae próximos às populações humanas. Um exemplo deste fato é um foco em particular de transmissão da DC humana no alto rio Negro em áreas de exploração da piaçaba

e associado ao *R. brethesi*, contudo, sem que haja domicialização registrada (Dias *et al.*, 2001; Coura *et al.*, 2002)

Para os piaçabeiros os problemas causados pela doença de Chagas parecem não se mostrar tão incapacitantes como nas demais regiões do país, isso possivelmente devido à cepa de *T. cruzi* circulante ser de baixa virulência e patogenicidade, contudo a concepção da doença ainda é vista como algo grave e limitante (Coura *et al.*, 1995). Segundo uma pesquisa realizada por Coura *et al.*, (2002), 6,8% de um total de 886 pessoas de um conglomerado familiar da região de Barcelos, médio rio Negro, foram soropositivos para DC (casos confirmados por imunofluorescência indireta e ELISA com antígenos de *T. cruzi* purificado). Sendo assim, mesmo diante das possibilidades do piaçabeiro contrair esta e outras doenças, ele continua o seu trabalho (Suárez-Mutis e Coura, 2007).

O extrativismo da fibra da piaçaba se concentra nas cabeceiras dos afluentes da margem esquerda do rio Negro, sendo necessárias exaustivas viagens aos piaçabais para exercer essa atividade (www.florestavivaextrativismo.org.br/). As viagens ocorrem em sua maioria nos meses de dezembro a março quando finda da época seca, e são montados os acampamentos nos quais os piaçabeiros podem permanecer por três meses ou mais. Os acampamentos são sempre no entorno dos piaçabais, os quais são áreas de endemismos para *R. brethesi* (Menezes *et al.*, 2005).

Nestas Regiões não há registros ou dados importantes sobre a morbidade, forma crônica ou taxas de mortalidade humana causadas por DC (Dias *et al.*, 2001). Além disso, não existem informações sobre as taxas de infecção quantitativa de *R. brethesi* por *T. cruzi*, *T. rangeli* e hemogregarinas, nem sobre o perfil das fontes alimentares de *R. brethesi*, principalmente em seus estádios ninfais (Coura *et al.*, 2002). Outra lacuna no conhecimento sobre a DC na região Amazônica é que as ninfas de *R. brethesi* ainda não foram encontradas naturalmente infectadas com *T. cruzi*, o que poderia ser interpretado como a ausência de um hospedeiro adequado e infectado coabitando seu ecótopo. Assim, é necessário conhecer a importância relativa de potenciais grupos taxonômicos dos seus hospedeiros (herpetofauna, mastofauna, avifauna) como possíveis fontes de alimento para as ninfas de *R. brethesi*.

Este trabalho teve como um dos seus objetivos a identificação das fontes alimentares das ninfas de *R. brethesi*. O conhecimento sobre as fontes de sangue para *R. brethesi* representará uma significativa contribuição para a epidemiologia da DC na região do Médio e Alto Rio Negro e poderá gerar subsídios para ações subseqüentes de vigilância e controle entomológico.

2. OBJETIVOS

2. 1. Geral

Identificar os hemoparasitas em *Rhodnius brethesi* e na herpetofauna associada, descrevendo as relações vetor-hospedeiro nos piaçabais do médio rio Negro, Amazonas, Brasil.

2. 2. Específicos

- Identificar a fauna de répteis associada às piaçabeiras;
- Identificar os hemoparasitos em *R. brethesi* e na herpetofauna associada;
- Avaliar a taxa de infecção por hemoparasitos em ninfas e adultos de *R. brethesi* e na fauna de répteis associada;
- Identificar as fontes do sangue ingerido por *R. brethesi*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3. 1. Caracterização da área de estudo

A presente pesquisa foi desenvolvida em piaçabais do rio Ereré o qual desemboca na margem esquerda do rio Negro, nos limites do município de Barcelos, Amazonas (Figura 1). A sede de Barcelos encontra-se situado à margem esquerda do rio Negro, região do médio rio Negro, localizado a $0^{\circ}58'$ de latitude norte e $62^{\circ}56'$ de longitude a oeste. Possui um território de 89.572 km². E localiza-se a 396 km em linha reta e 496 km por via fluvial de Manaus, sendo este o principal meio de acesso à cidade (IBGE 2001).

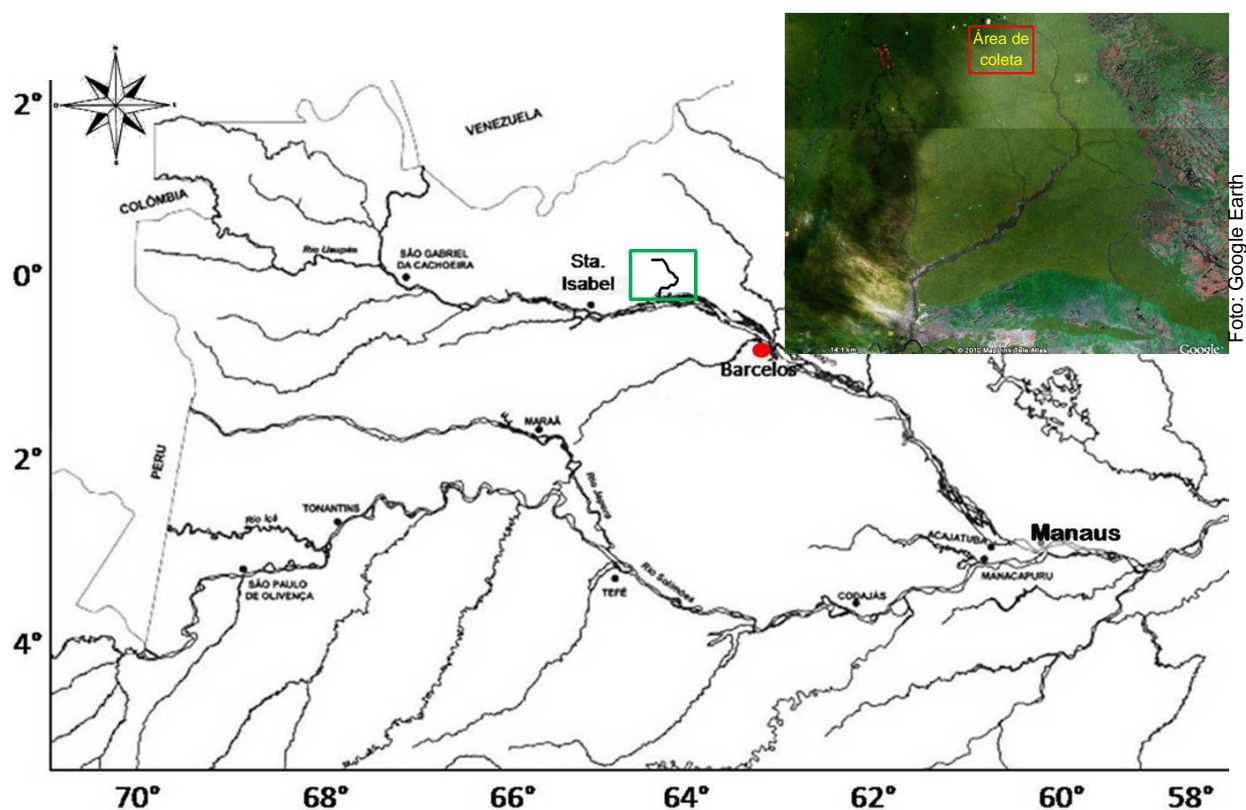


Figura 1: Mapa modificado de Empeaire e Eloy, 2008. Mostrando a localização da cidade de Barcelos. O quadrado verde no mapa mostra as áreas de piaçabais do rio Ereré. Foto do rio Ereré com destaque da área de coleta.

3. 2. Período de amostragem, técnicas de coleta e acondicionamento do material

Pelo fato do acesso à área de estudo ser limitado pelas condições de navegação dos rios e igarapés da região, foram realizadas duas excursões aos piaçabais do rio Ereré. A primeira ocorreu no período de 11 a 29 de junho de 2008 e a segunda, de 9 a 19 de agosto de 2009.

Para coleta dos Triatominae foram utilizadas: armadilhas Noireau; armadilhas CDC miniatura; armação de lençol iluminado com luz mista de mercúrio e busca ativa por dissecação das piaçabeiras. Em todos os procedimentos utilizaram-se luvas cirúrgicas e pinças anatômicas para manuseio dos Triatominae coletados.

Todos os Triatominae coletados foram armazenados em potes de polietileno branco de 50 ml, forrados com papel filtro. Estes foram etiquetados na sua superfície externa com pincel de tinta permanente com dados de procedência, data e método de coleta. Posteriormente, estes foram acondicionados em uma caixa térmica. Alguns exemplares foram destinados à formação de colônia no laboratório de Triatominae, Phlebotominae e fauna nidícola do INPA/CPEN.

A captura da fauna associada foi realizada, por meio de coleta ativa com uso de pinça anatômica ou de forma manual. Em campo foram realizados registros fotográficos com máquina Panasonic (Lumix) DMC-FZ18, preparação de laminário com esfregaço sanguíneo, etiquetagem com identificação do material coletado e acondicionamento para envio ao laboratório de Triatominae, Phlebotominae e fauna nidícola do INPA.

A fauna associada foi coletada durante as dissecações das piaçabeiras sendo primeiramente registrada com câmera digital para então ser capturada. Os exemplares capturados foram acondicionados em recipientes plásticos e cuidadosamente transportados até o acampamento para os procedimentos de identificação, e no caso da fauna de vertebrados que aqui constituiu-se exclusivamente de répteis, para retirada de amostra de sangue em quantidade suficiente para confecção de esfregaço ou técnica da gota estendida (Rey, 2008).

Para a identificação da fauna de répteis associada os exemplares capturados foram observados e comparados com as chaves morfológicas de Peters e Orejas-Miranda (1970); Cunha e Nascimento (1978) e/ou guias de identificação de campo de Martins e Oliveira (1998); Lima *et al.*, (2006); Freitas e Silva (2007); Vitt *et al.*,

(2008). Concluídos estes procedimentos todos os espécimes foram devolvidos ao seu local de captura.

3. 2. 1. Armadilhas Noireau

Foram utilizadas 30 armadilhas Noireau. Esta armadilha tem como princípio a atração exercida pelo CO₂ e calor do corpo da isca. As armadilhas utilizadas consistiam em potes plásticos com volume de 680 ml e tampa telada. O pote é circundado por fita adesiva dupla face contendo uma isca viva no seu interior (Figura 2). As iscas mais comumente utilizadas são pintos e camundongos. Neste caso deu-se preferência aos camundongos *Mus musculus* Linnaeus, 1758 da variedade albina devido sua maior facilidade de manejo e resistência em campo. Estes foram oriundos do biotério do INPA. Para aumentar a probabilidade de coleta dos barbeiros, as armadilhas foram preferencialmente colocadas em piaçabeiras mais altas (8-10 m) e que apresentassem uma boa cobertura de palha e fibra (Figura 2 C). As armadilhas foram preferencialmente fixadas horizontalmente ao tronco da palmeira a uma altura de aproximadamente 5 m da sua base. Para a fixação foram utilizadas hastes improvisadas com folhas de palmeiras do entorno e fibra de piaçaba. As armadilhas foram postas durante o dia, logo após as 14h, permanecendo no piaçabal sob monitoramento técnico até por volta das 8h da manhã seguinte. O interior das armadilhas era então forrado com papel toalha e em seguida adicionava-se um pouco de ração e os camundongos, os quais foram substituídos a cada recolhimento das armadilhas (\pm 24 h).

Os Triatominae assim capturados foram cuidadosamente descolados do papel dupla face com auxílio de uma pinça anatômica e acondicionados em potes de polietileno de 50 ml forrados com uma lâmina de papel filtro. Em seguida, estes potes foram identificados com etiqueta e mantidos em caixa térmica até o transporte ao laboratório de Triatominae, Phlebotominae e fauna nidícola do INPA.

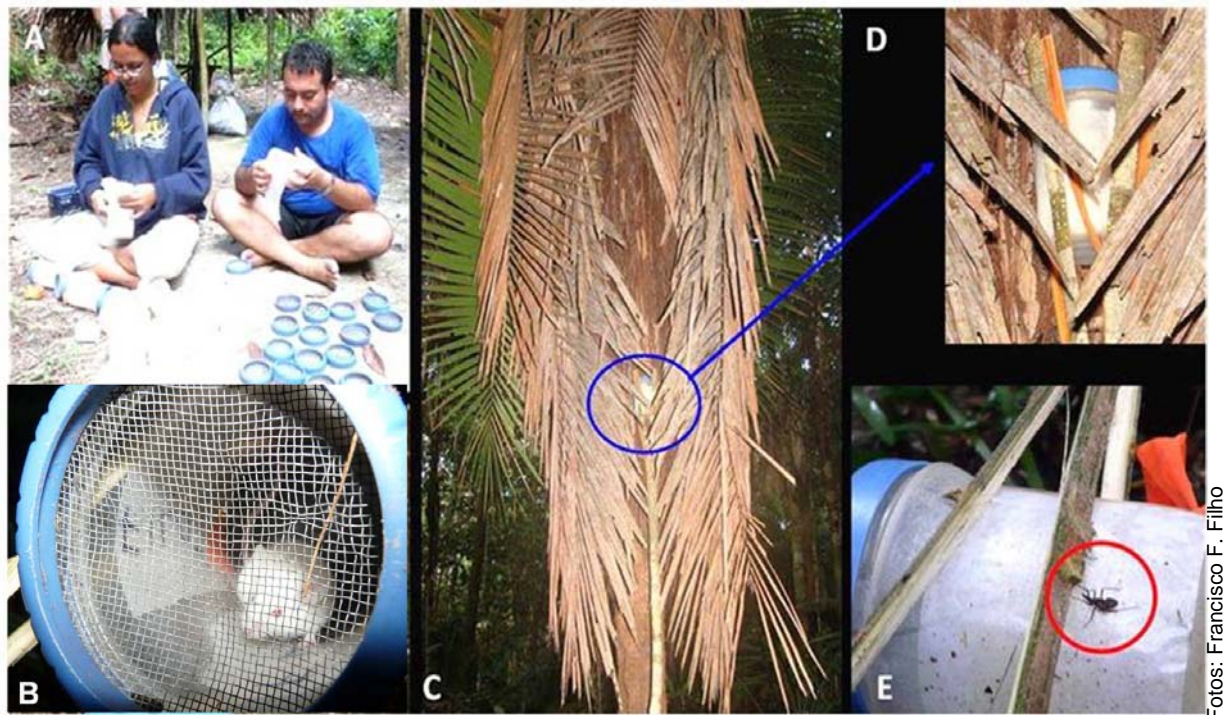


Figura 2: A e B, Preparação das armadilhas Noireau; C e D, disposição da armadilha na palmeira; E, armadilha positiva com ninfa de *R. brethesi* aderida a fita dupla face.

3. 2. 2. Armadilhas CDC miniatura

Em meio ao piaçabal foram dispostas 10 armadilhas modificadas do tipo CDC miniatura. Estas foram colocadas entre dois a cinco metros de altura (Figura 3). Cada CDC teve sua tela de proteção previamente removida a fim de permitir o adentramento dos Triatominae na gaiola. As armadilhas foram então suspensas nos pecíolos das palmeiras do entorno, e preferencialmente dispostas em áreas de clareiras naturais em meio a piaçabeiras com mais de cinco metros e com grande quantidade de palha e fibras. As CDCs foram ligadas às 18:00 h e recolhidas somente por volta das 08:00 h da manhã seguinte.

As armadilhas positivas foram cuidadosamente manuseadas para retirada dos Triatominae conforme já descrito anteriormente.



Figura 3: Armadilha tipo CDC miniatura.

3. 2. 3. Armação de lençol com luz mista de mercúrio e tungstênio

O local escolhido para a implantação do lençol iluminado foi determinado pela presença de áreas mais abertas ou clareiras naturais que permitissem uma boa propagação da luz no piaçabal. Só então o lençol foi estendido e iluminado com luz mista de mercúrio e tungstênio de 250 W. A lâmpada foi alimentada por um gerador, que permaneceu ligado no período de 17:00 às 00:00 h, sob monitoramento técnico (Figura 4). No primeiro período de amostragem, o lençol foi utilizado seis vezes em três pontos diferentes do piaçabal e, no segundo período quatro vezes em dois pontos. Cada ponto estava distante entre si por aproximadamente 300 m. Esta distribuição visou uma melhor cobertura da área do piaçabal em estudo.

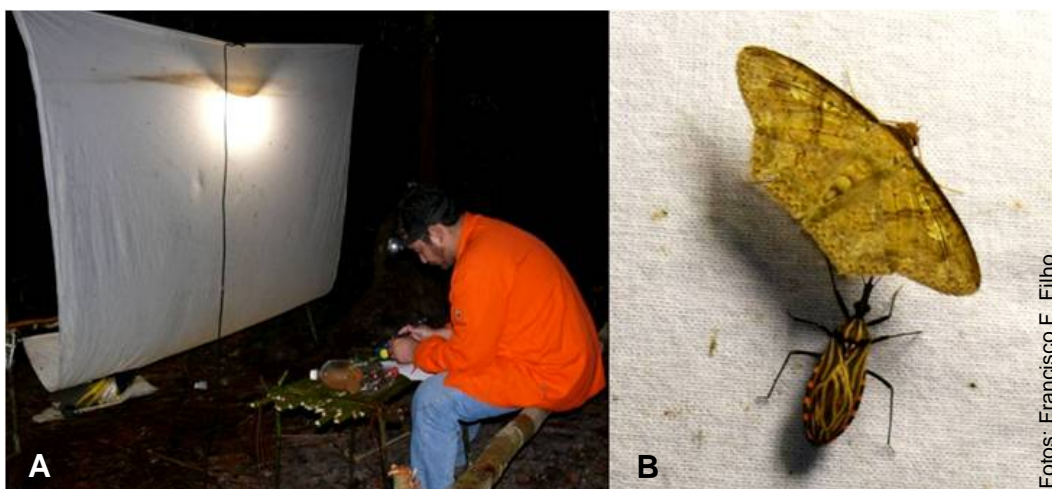


Figura 4: A, Monitoramento do lençol iluminado para coleta de Triatominae; B, *Rhodnius brethesi* aparentemente tentando repasto em Lepidoptera em lençol iluminado.

3. 2. 4. Busca ativa de Triatominae por dissecação de palmeiras *Leopoldinia piassaba*

Para dissecação foram escolhidas as piaçabeiras comumente chamadas de “gigantes” pelos piaçabeiros, estas possuíam uma altura aproximada de oito a dez metros e boa cobertura de palha e fibras. Essa escolha foi devido às observações de campo anteriores que indicaram haver uma maior possibilidade de achado dos Triatominae em piaçabeiras com estas características. No entanto, devido às dificuldades de encontrar estas piaçabeiras nem todas seguiram estas características. Ao todo foram dissecadas 18 piaçabeiras com intervalo de 5 – 10 metros de altura. Durante a dissecação as palhas e fibras foram retiradas com auxílio de um facão. As fibras foram divididas em “montes” os quais tinham suas camadas manualmente dissecadas e examinadas (Figura 05). Todos os Triatominae capturados foram acondicionados em potes plásticos e levados ao acampamento conforme já mencionado.



Figura 5: A, escolha de duas palmeiras gigantes, notar a grande quantidade de palhas e fibras onde se refugiam os Triatominae; B e C, retirada e dissecação das fibras para pesquisa de *Rhodnius brethesi*.

4. Análise dos dados

As análises estatísticas foram realizadas de forma descritiva. As taxas de infecção natural de ninfas e adultos de *R. brethesi*, foram fornecidas na forma de percentuais de positivos e negativos do total de indivíduos analisados.

5. Análise populacional

5. 1. Identificação dos Triatominae coletados

A identificação dos Triatominae foi realizada a partir da comparação dos seus caracteres morfológicos externos com as descrições taxonômicas das chaves dicotômicas de Lent e Wygodzinsky (1979).

6. Pesquisa de hemoparasitas em *R. brethesi*

Devido ao alto número de óbitos dos Triatominae coletados no primeiro período de amostragem, somente 23 indivíduos foram dissecados para pesquisas de parasitas. No segundo período, 80 indivíduos foram dissecados. Em nossas observações de campo percebemos que a maioria dos espécimes de *R. brethesi* coletados encontrava-se em péssimo estado alimentar, o que associado ao estresse da captura pode ter contribuído para a morte dos mesmos. Os hemoparasitas achados durante as dissecções foram identificados a partir da confecção de esfregaços em lâminas desengorduradas, coradas com May-Grünwald-Giemsa (Rocha e Silva, 1975). As lâminas foram então examinadas em microscópio óptico (Nikon Eclipse E 200) sob objetiva de imersão (100X), para análise dos aspectos morfológicos e biométricos das estruturas.

As pesquisas para detectar a presença de hemoparasitas nos Triatominae foram realizadas a partir da coleta e análise da hemolinfa, conteúdo intestinal e das glândulas salivares – **GS**. Primeiramente foi observado se os indivíduos capturados estavam ingurgitados; caso estivessem era feita uma leve pressão no abdome com pinça anatômica para estimular a defecação; as fezes foram então diluídas em solução fisiológica de NaCl a 0,9 % e dispostas entre lâmina e lamínula para observação em microscópio (Rocha e Silva, 1975). Caso o Triatominae não estivesse ingurgitado, primeiramente era seccionada com tesoura de microcirurgia uma pata do par anterior no terço proximal da tíbia para coleta da hemolinfa. Após este procedimento era retirado o reto que se localiza no segmento final do abdome, o qual era preparado em uma lâmina junto com as demais porções do intestino.

Todas as observações foram realizadas sob microscópio óptico, com objetiva em aumento de 40X (Figura 6).

As Glândulas salivares foram retiradas mediante uso de duas pinças anatômicas de tamanho pequeno para pressão e extirpagem da cabeça das ninfas e adultos. Depois de retiradas, as GS foram dispostas sobre lâminas desengorduradas de microscopia e maceradas com estilete. Para observação a fresco utilizou-se objetiva de aumento de 40X.

Todas as lâminas positivas e algumas negativas para parasitas, foram fixadas em álcool metílico, secas e coradas com Giemsa por aproximadamente 15 min (Rocha e Silva, 1975). No total foram coradas 60 lâminas. Só então as lâminas foram reexaminadas em microscópio sob objetiva de imersão. Posteriormente, todas as lâminas positivas foram fotografadas com câmera digital. Paralelamente às análises do intestino e das GS foi realizada a pesquisa de hemogregarinas que, quando visualizadas foram devidamente registradas, como citado acima.



Figura 6: A, secção da pata de *Rhodnius brethesi*, a seta em vermelho mostra o extravasamento da hemolinfa; B, Extirpagem da glândula salivar; C, glândula salivar de *Rhodnius brethesi*; D, retirada dos Intestinos; E, lâmina preparada com glândula salivar e conteúdos intestinais.

7. Análise dos tripanossomatídeos encontrados

Os tripanossomatídeos encontrados foram analisados quanto a sua morfologia geral, comprimento total (CT) incluindo o flagelo livre, tamanho do flagelo livre (FL), comprimento do centro do núcleo até a extremidade posterior (NP) e, do centro do núcleo até a extremidade anterior (NA), distância do cinetoplasto para o núcleo (NK) e do cinetoplasto à extremidade posterior (KP) (Figura 07), segundo técnica de D'alessandro (1976) e Carvalho *et al.*, (2008) . Os registros fotográficos foram realizados com uma câmera fotográfica digital e para as mensurações utilizou-se o programa CELL D[®] 2008, Olympus Soft imaging System, onde as imagens foram capturadas através de um sistema de vídeo acoplado a um computador e mensuradas em μm .

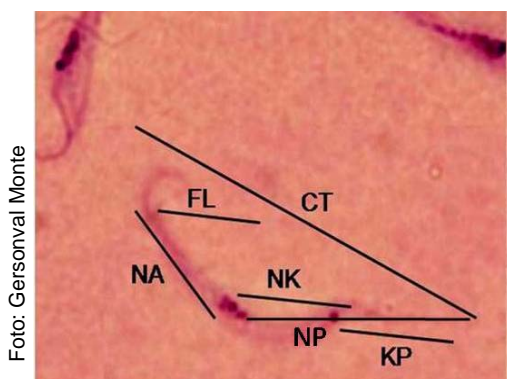


Figura 07: Morfologia geral e pontos de mensuração utilizados na morfometria dos tripanossomatídeos observados nas lâminas de *Rhodnius brethesi* naturalmente infectados.

8. Pesquisa de parasitas na hemolinfa de *R. brethesi*

Em todos os Triatominae dissecados foram realizadas pesquisas de parasitas na hemolinfa. Para isso foi coletada uma amostra da hemolinfa em lâmina de microscopia para observação em microscópio sob objetiva de 40X. Quando positivas, as lâminas foram deixadas em repouso por mais ou menos 20 minutos ou até secarem; então, as lâminas foram fixadas com o metanol e coradas com Giemsa por aproximadamente 15 minutos (Rocha e Silva, 1975). As observações foram feitas sob objetiva de imersão, bem como os registros fotográficos.

Em ambas as pesquisas; tripanossomatídeos e não tripanossomatídeos utilizaram-se os mesmos exemplares de Triatominae. Suas estruturas foram cuidadosamente dispostas numa mesma lâmina e codificadas, onde o algarismo **(1)** marcava o local da hemolinfa, **(2)** conteúdo intestinal **(3)** glândula salivar (Figura 08).



Figura 08: Esquema de uma lâmina, indicando a disposição das estruturas dissecadas e coradas de um Triatominae.

9. Análise dos parasitas encontrados na hemolinfa de *R. brethesi*

Em cada lâmina positiva foi analisado o maior número possível de imagens para cada forma parasitária. Formas multiplicativas, como esporocistos e esporozoítas, encontrados foram fotografados e analisados quanto a sua morfologia, e morfometria. Os procedimentos foram realizados segundo Rocha e Silva 1975. Para as mensurações das formas parasitárias utilizou-se o programa CELL D[®] 2008.

a) Esporocistos

Os esporocistos foram analisados quanto a sua morfologia, comprimento total (CT) e largura absoluta (LA), formato do corpo, presença ou ausência de cápsula e quantidade de esporozoítas contidos (Figura 09-A).

b) Esporozoítas

Para os esporozoítas foram analisados o comprimento total (CT), comprimento nuclear (CN), largura nuclear (LN), formato e posição do núcleo, presença ou ausência de cápsula e de pigmentos citoplasmáticos (Figura 09-B).

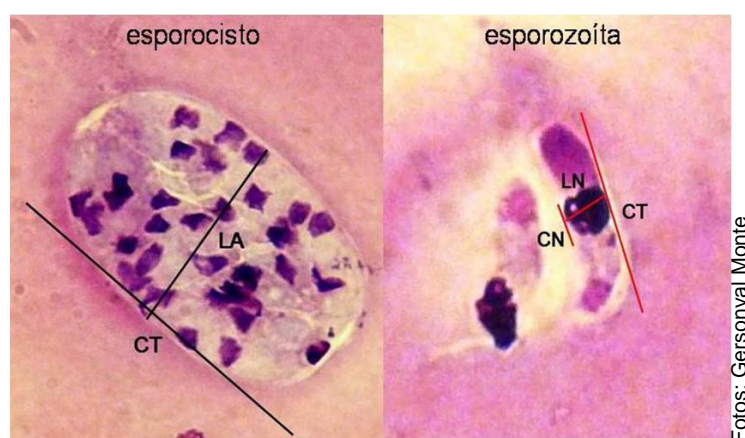


Figura 09: Morfologia e pontos de mensuração utilizados na morfometria das hemogregarinas observadas nas lâminas de *Rhodnius brethesi* naturalmente infectados. A, esporocisto em glândula salivar corado com Giemsa; B, esporozoítas livres na glândula salivar corados com Giemsa. Figuras A e B em objetiva de 100X.

10. Pesquisa de hemoparasitas em répteis capturados nas piaçabeiras

Para esta pesquisa utilizou-se todos os indivíduos capturados durante as excursões. Foram coletados aproximadamente 0,3 ml de sangue por venopunção da veia caudal ventral ou lateral com seringa de insulina (1 ml). Este procedimento não foi possível quando os espécimes capturados apresentavam tamanho muito reduzido, daí optou-se pela punção intracardíaca ventricular ou cardiocentese (Goulart, 2004). Imediatamente após a coleta, o sangue era gotejado em lâmina de microscopia desengordurada para confecção dos esfregaços, sendo que foram feitos três esfregaços por indivíduo. Depois de confeccionados, os esfregaços foram deixados em temperatura ambiente por 1h ou até estarem completamente secos. Então foram fixados com o metanol, envolvidos em papel higiênico, acondicionados em recipiente plástico e enviados ao Laboratório de Triatominae, Phlebotominae e Fauna Nidícola do INPA. No laboratório as lâminas foram coradas com Giemsa por 17 min e posteriormente observados com objetiva de imersão.

11. Perfil da fonte alimentar de *R. brethesi*

As ninfas e adultos capturados ingurgitados foram submetidos à excisão do seu sistema digestório para coleta do sangue ingerido. A amostra retirada foi colocada sobre lâmina de microscopia, homogeneizada com um pouco de solução fisiológica a 0,9 % e deixada para secar (Rocha e Silva, 1975). Após secagem a lâmina foi corada com Giemsa e examinada em microscópio com objetiva de imersão para análise morfológica das hemácias presentes. Para determinar a que grupo pertencia o sangue sob análise era verificado a presença ou ausência de núcleo central na hemácia, assim como seu tamanho, forma e proporção núcleo-citoplasma (Thrall, 2006).

12. RESULTADOS E DISCUSSÃO

12. 1. Fauna de répteis associada a *R. brethesi* em piaçabeiras

O Gênero *Rhodnius* é conhecido pela sua pouca especificidade alimentar, e boa eficiência de repasto (Rocha *et al.*, 2004), portanto a presença de grupos de vertebrados ou mesmo Arthropodos nas piaçabeiras podem ser o suficiente para o desenvolvimento destes insetos. Durante esta pesquisa o único grupo de vertebrados encontrado habitando as piaçabeiras da área de estudo foram os répteis. Os espécimes registrados pertencem à ordem Squamata, subordens: Sauria e Ophidia (Tabela 1). Dentre os exemplares da subordem Sauria a família Gekkonidae foi a mais freqüente nas fibras das piaçabeiras. Tendo sido registrado tanto ovos quanto adultos. Os adultos de geconídeo da espécie *Thecadactylus rapicauda* (Houttuyn, 1782), foram os mais observados. Outra espécie dessa família na área de estudo, *Gonatodes humeralis* (Guichenot, 1855) foi observada forrageando sobre as palhas da piaçabeira, e não no interior das fibras como *T. rapicauda*. Segundo Bergmann e Russell (2007), *T. rapicauda* é tipicamente noturna, o que pode ter facilitado seu achado durante as disseções das piaçabeiras, pois os espécimes se encontravam em repouso. Já a espécie *G. humeralis*, possui grande atividade diurna, justificando o seu comportamento de forrageio entre as palhas, no período da amostragem (Ávila-Pires, 1995; Oda, 2008).

Um exemplar da família Iguanidae, *Anolis nitens* (Wagler, 1830), também foi visualizado durante o período da amostragem. Este lagarto teve sua presença registrada durante o dia em folhíço de base de palmeira em meio ao piaçabal, contudo, o mesmo não foi observado nas palhas ou fibras das piaçabeiras. Segundo Vitt *et al.* (2001) seu registro em solo é o esperado, pois os referidos lagartos são encontrado principalmente em microhabitats no folhíço, em áreas de floresta úmida e relativamente não perturbada.

Foram encontradas duas famílias e duas espécies de serpentes: Colubridae, *Leptodeira annulata* (Linnaeus, 1758) e Viperidae, *Bothrops atrox* (Linnaeus, 1758). A *L. annulata* foi encontrada a noite enrodilhada em meio às fibras da piaçabeira durante busca ativa. Segundo Hangmann (1910), esta possui um comportamento tipicamente noturno alimentando-se tanto de vertebrados quanto de artrópodos como grilos e vespas. Mascarenhas (1991) mostra que várias outras ordens podem

ser encontradas nas piaçabeiras, dentre elas hemipteros hematófagos como *R. brethesi*.

O exemplar de *B. atrox* foi registrado à noite e encontrava-se no folhíço do entorno da piaçabeira. Contudo, os piaçabeiros relatam que também são comuns os achados de *Bothrops* em meio as suas fibras, causando eventuais acidentes botrópicos durante as extrações de piaçaba. Durante os estudos pôde-se comprovar não só uma grande riqueza de artrópodos, como uma boa quantidade de lagartos e anuros, os quais parecem constituir boa parte da dieta dessas serpentes nas piaçabeiras (Mascarenhas, 1991; Martins e Gordo, 1993). Sendo assim, a passagem destes répteis nas palmeiras em busca de alimento pode gerar tempo suficiente também para a realização do hematofagismo dos Triatominae.

Tabela 1: Lista de espécies da herpetofauna associada a *Rhodnius brethesi* registradas nos piaçabais do Médio Rio Negro, Amazonas.

		Squamata	N
		<i>Thecadactylus rapicauda</i>	04
Sauria	Gekkonidae	<i>Gonatodes humeralis</i>	01
	Iguanidae	<i>Anolis nitens</i>	01
Ophidia	Colubridae	<i>Leptodeira annulata</i>	01
	Viperidae	<i>Bothrops atrox</i>	01
Total			08

N = Número de indivíduos registrados

12. 2. Hemoparasitas encontrados em *R. brethesi*

Ao todo foram coletados 174 exemplares entre ninfas e adultos de *R. brethesi*. Destes, 103 foram utilizados para a confecção de lâminas, sobre as quais foram realizadas as identificações dos hemoparasitas e obtidos os percentuais de positivos e negativos. A não utilização dos 174 exemplares capturados foi devido a alguns exemplares estarem mortos e sem condições de análise do seu conteúdo intestinal. Os valores dos percentuais de positivos e negativos juntamente com as regiões nas quais foram visualizados os hemoparasitas, e as respectivas fontes de repasto de cada triatomíneo dissecado encontram-se inseridos na Tabela 2.

Tabela 2: Região de visualização dos hemoparasitas encontrados em *Rhodnius brethesi* e suas respectivas fontes alimentares.

Lâmina lida N°	Estádio	Estruturas estudadas. N=103						Repasto em	
		Hemolinfa		Intestinos		Glândula Salivar			
		He	Trip	He	Trip	He	Trip		
02	3°	+	-	+	-	+	-	R	
29	4°	+	-	-	-	-	-	R	
31	5°	-	-	+	-	-	-	M	
42	Adulto	-	+	-	-	-	-	IN	
50	4°	+	+	+	-	+	+	IN	
60	4°	+	-	+	-	+	-	M	
Total (%)		—	3,8	1,9	3,8	00	2,9	0,9	—

+ = Positivos; - = Negativos; He = Hemogregarina; Trip = tripanossomatídeo; R = Réptil; IN = Indeterminado; M = Mamífero.

12. 2. 1. Tripanossomatídeos encontrados em *R. brethesi*

As análises das lâminas de *R. brethesi* resultaram em baixos índices de positividade parasitária. Dos 103 Triatominae examinados dois (1,9 %) foram positivos para *Trypanosoma* sp., em ambos os casos, as formas parasitárias de tripanossomas foram encontradas na hemolinfa e/ou GS, nenhum *Trypanosoma* foi observado nos segmentos intestinais. Estes baixos índices de positividade para *Trypanosoma* sp. são similares aos observados por Junqueira (2005), que relata índices de 1,7 %. Contudo, há diferenças quanto à região em que os parasitas foram encontrados. Junqueira (2005) não visualizou nenhum *Trypanosoma* na hemolinfa ou na GS de *R. brethesi* e considerou que as formas observadas eram semelhantes para *T. cruzi*.

As análises morfológicas e as regiões anatômicas nas quais foram visualizados os tripanossomatídeos (Figura 10 A-D) são similares aos observados para *T. rangeli* por Dias e Torrealba (1943); D'Alessandro (1976) e Miles *et al.* (1983). Na Colômbia a espécie *R. brethesi* foi apontada como o vetor natural de *T. rangeli* por D'Alessandro *et al.* (1971). Em todo o Brasil, principalmente na região amazônica alguns trabalhos documentam a infecção do *T. rangeli* em triatomíneos e diversas ordens de vertebrados (Deane, 1964; Barrett e Oliveira, 1977; Miles *et al.*, 1983; Coura, 1996).

Do ponto de vista clínico-epidemiológico os tripanossomatídeos vetoriados por *R. brethesi* são de grande importância médica e veterinária, isso porque incluem espécies infectantes ao homem e aos animais, como o *T. cruzi* e *T. rangeli* (Deane, 1964; Miles *et al.*, 1983; Coura *et al.*, 1994; Coura *et al.*, 1999; Dias *et al.*, 2002). Embora essas duas espécies pertençam ao mesmo gênero, compartilhem os mesmos vetores e, segundo alguns autores possam também co-ocorrer em uma infecção (Anthony *et al.*, 1979; Grögl and Kuhn 1984; Sousa *et al.*, 2008), as suas características comportamentais diferem no vetor e no hospedeiro vertebrado. Por esse fato, elas podem ser classificadas em grupos diferentes: Stercoraria e Salivaria (D'Alessandro, 1976).

O *T. cruzi* está inserido em Stercoraria, que compreende os tripanossomas com desenvolvimento no sistema digestivo do hospedeiro invertebrado. Este desenvolvimento acompanha o sentido oral-anal, finalizando com a liberação de formas infectantes nos dejetos via contaminativa (Vickerman, 1976; Grisard e

Steindel, 2000; Engman, 2001). O *T. rangeli* pertence ao grupo Salivaria, que compreende os tripanossomas com desenvolvimento no sentido oral-entérico-oral. Ou seja, após serem ingeridos pelo hospedeiro invertebrado desenvolvem-se no estômago e mesêntero, posteriormente atravessam o epitélio intestinal até a hemocele e, migra para as GS do hospedeiro, quando tornam-se infectantes podendo ser expelidas num próximo repasto, via inoculativa (D'Alessandro, 1976; Grisard e Steindel, 2000).

A importância na distinção entre *T. rangeli* e *T. cruzi* está relacionada, principalmente, com o diagnóstico diferencial da infecção, uma vez que o *T. rangeli* tem sido associada somente a patologias com discretas alterações teciduais em mamíferos hospedeiros (Urdaneta-Morales e Tejero, 1986).

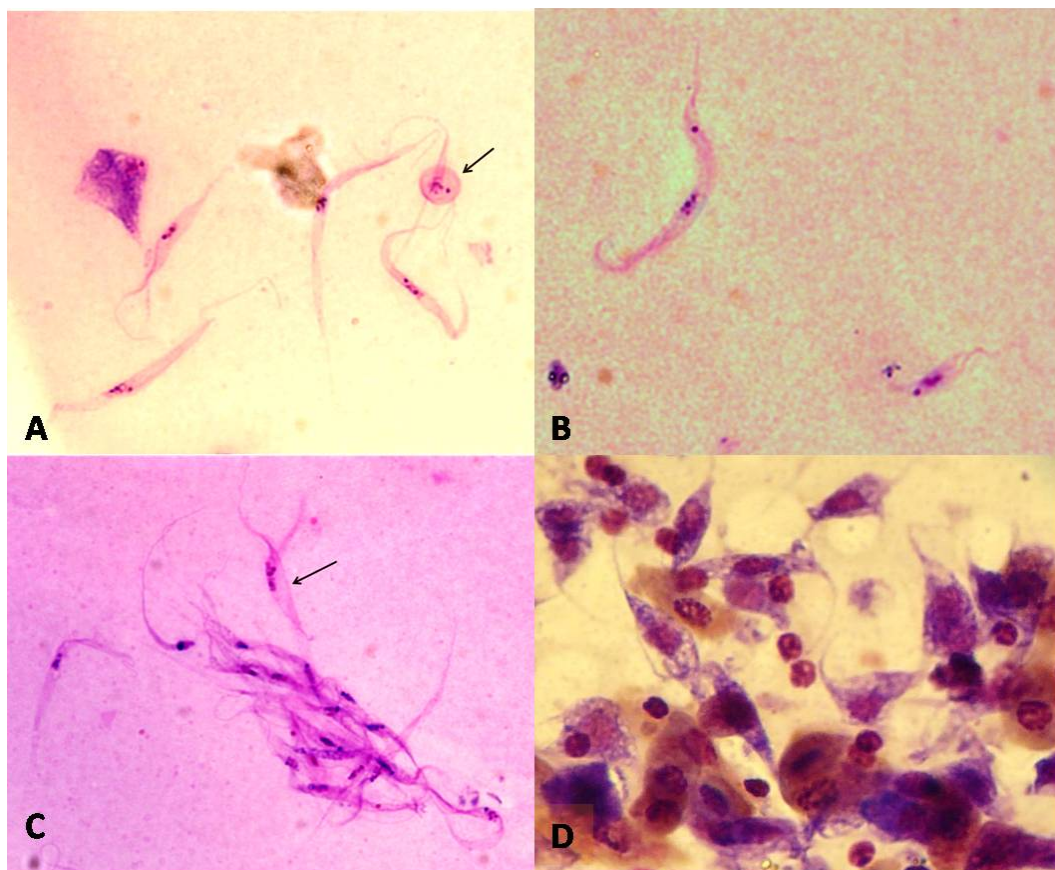


Figura 10: Tripanossomatídeos encontrados em *Rhodnius brethesi*. A, Epimastigotas longas de *Trypanosoma rangeli*. Seta, esferomastigota em divisão na hemolinfa. **B,** Tripomastigotas de *T. rangeli* em glândula salivar. **C,** massa de Epimastigotas na hemolinfa. Seta, epimastigota em divisão. **D,** Epimastigotas curtas, formas multiplicativas largas e hemócitos em GS. Fotos em objetiva de imersão.

12. 2. 2. Hemogregarinas encontradas em *R. brethesi*

Nas estruturas examinadas de *R. brethesi* foram encontradas várias formas parasitárias de esporocistos e esporozoítas. Estes parasitas foram visualizados principalmente na hemolinfa, contudo foram encontrados também no intestino e em menor quantidade nas GS. Dos 103 *R. brethesi* examinados cinco (4,8 %) foram positivos para hemogregarinas. Os Triatominae infectados continham esporocistos com esporozoítas em diferentes tamanhos e fases de desenvolvimento (Figura 11 A-D). A quantidade de esporozoítas contido em cada esporocisto foi bastante oscilante, com números que variaram de 20 a 55 esporozoítas por esporocisto. Os tamanhos dos esporocistos variaram desde 47/24 µm a 51/32 µm (medidas equivalentes ao comprimento / largura dos esporocistos). Os esporozoítas também foram encontrados em comprimentos e larguras diversos, os quais variaram de 18/2 µm a 21/3 µm.

Outras formas parasitárias de hemogregarinas em *R. brethesi* também foram visualizadas, mas com freqüência bem menor. Formas alongadas livres foram raramente observadas (Figura 11E) e constituíam-se em estruturas de difícil visualização e identificação. Formas de núcleo bem nítido com aspecto globoso, material interno esbranquiçado e inteiramente septado foram identificadas como possíveis ovos (figura 11F), segundo descrição de Rocha e Silva (1975).

O índice de infecção de 4,8 % está bem abaixo do valor de 20 % encontrado por Rocha e Silva (1975) em exemplares de *T. arthurneivai* Lent & Martins, 1940. Contudo, as características morfológicas do parasita e suas formas de desenvolvimento são bastante semelhantes ao *Hepatozoon triatomae* encontrado numa colônia de *T. arthurneivai* por Rocha e Silva (1975), que se alimentavam em lacertílios da espécie *Tropidurus torquatus* Wied, 1820. Semelhante aos exemplares de *T. arthurneivai* examinados por Rocha e Silva (1975) alguns dos *R. brethesi* diagnosticados infectados também haviam se alimentado em répteis, o que sugere uma possível associação entre *R. brethesi* e a fauna de répteis da piaçabeira.

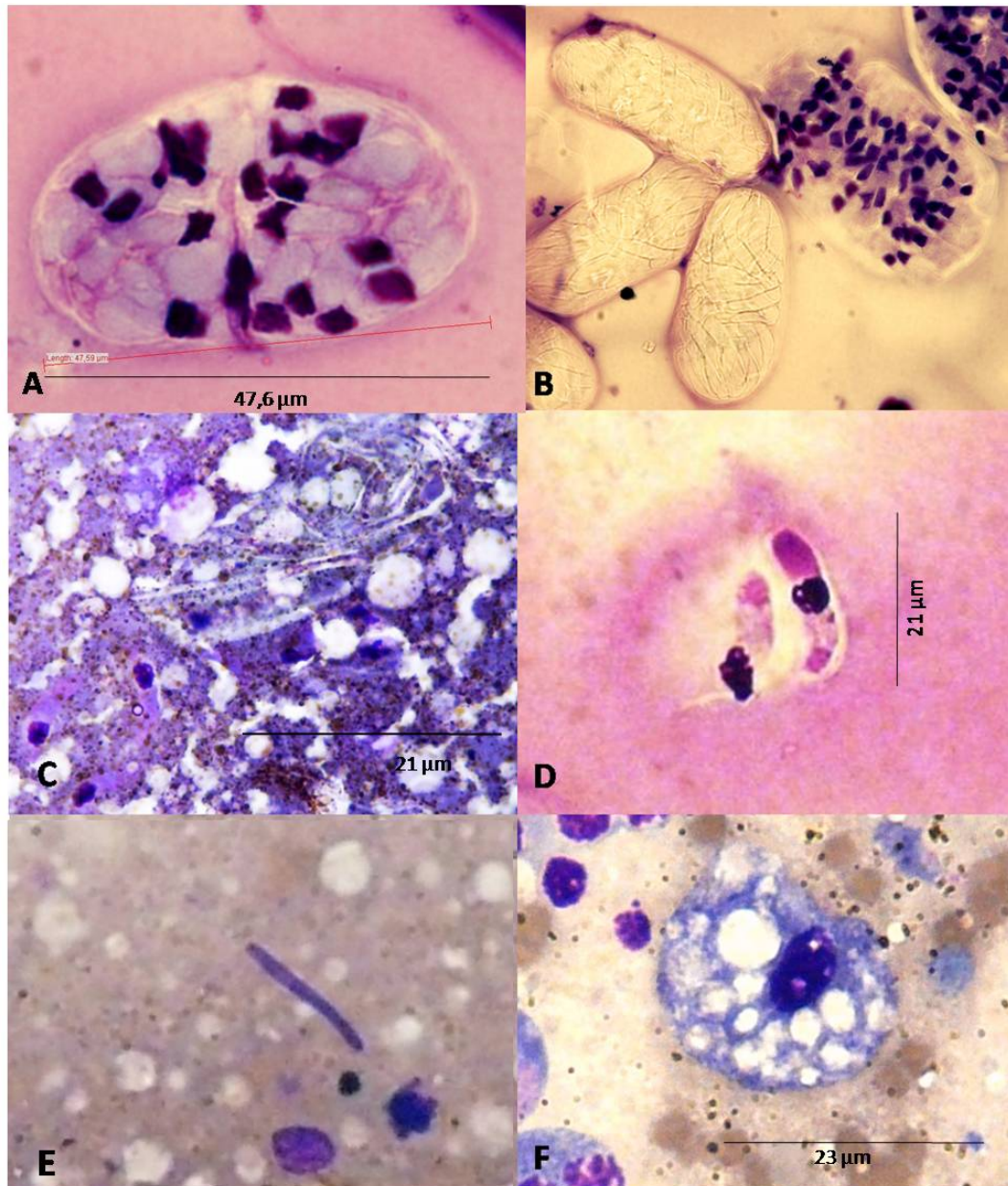


Figura 11: Hemogregarinas encontradas em *Rhodnius brethesi*. **A**, Vários esporozoítas num esporocisto. **B**, Hemolinfa com esporocistos imaturos (não corados) e maduros com núcleo dos esporozoítas corados. **C**, Esporocisto maduro com membrana rompida liberando vários esporozoítas no mesêntero (notar a cápsula translúcida do esporocisto). **D**, Dois esporozoítas livres na glândula salivar. **E**, gameto, forma de difícil achado. Em mesêntero. **F**, ovo? Núcleo corado e vários vacúolos esbranquiçados separados por septos (lâmina do mesêntero). Fotos em objetiva de imersão.

12. 3. Perfil da fonte alimentar de *R. brethesi*

Dos 103 exemplares entre ninfas e adultos de *R. brethesi* examinados, 23 tiveram o conteúdo intestinal identificados, destes, 11 (47,8 %) foram identificados como sendo sangue de réptil, e 12 (52,2 %) como sangue de mamíferos (tabela 03). Nas 80 amostras tidas como indeterminadas o conteúdo intestinal se encontrava completamente digerido, o que impossibilitou sua análise morfológica. A análise das lâminas deixa evidente que além do sangue de mamíferos normalmente citados como fonte alimentar, alternativas de repasto como sangue de répteis também são bem utilizadas por estes Triatominae (Figura 12 A – D).

O ambiente das piaçabeiras parece ser bastante pobre quanto à presença de vertebrados mamíferos (Mascarenhas, 1991). No entanto, podem ser visualizadas algumas espécies de répteis, anuros e artrópodos. Portanto, é factível que sendo as fontes alimentares disponíveis na piaçabeira restritas a estes grupos, estas tendam a servir como recurso alimentar para os Triatominae (Lent e Wygodzinsky, 1979; Gaunt e Miles, 2000), onde apontam uma relação adaptativa entre as espécies de Triatominae e os demais habitantes de seu ecótopo.

Embora, de acordo com a literatura, *R. brethesi* esteja intimamente associada a palmeira *L. piassaba* (Mascarenhas, 1991, Junqueira, 2005), durante esta pesquisa o número de indivíduos encontrado por palmeira foi sempre muito baixo. Esse número variou de três a cinco indivíduos por palmeira e, em ocasião única verificou-se uma densidade de 14 indivíduos numa piaçabeira. Estes valores são bem pequenos quando extrapolados para outras espécies do Gênero *Rhodnius* como *R. neglectus* lent, 1954, onde foram encontrados valores de 58 indivíduos por palmeira (Barreto *et al.*,1969).

Estas baixas densidades também já foram comentadas por Mascarenhas (1991) e Junqueira (2005). Em suas pesquisas Junqueira (2005) propõe uma relação entre a pouca disponibilidade de alimentos e a baixa densidade de *R. brethesi* nas piaçabeiras. Esta possibilidade fica reforçada por esta pesquisa, uma vez que durante as dissecções das ninfas de *R. brethesi* observou-se que a grande maioria estava completamente “seca”, sem qualquer vestígio alimentar, o que pode demonstrar uma certa dificuldade em conseguir se alimentar na fauna existente.

Tabela 3: Análise do conteúdo intestinal de ninfas e adultos de *Rhodnius brethesi* para pesquisa das fontes de sangue utilizadas na alimentação.

Estádio	Fonte sanguínea ingerida				Número de amostras
	Mamífero	Réptil	Ave	IN	
I	–	–	–	–	–
II	02	04	00	16	22
III	01	04	00	27	32
IV	06	01	00	12	19
V	01	02	00	10	13
Adulto	02	00	00	15	17
Total	12	11	00	80	103

IN= Indeterminado.

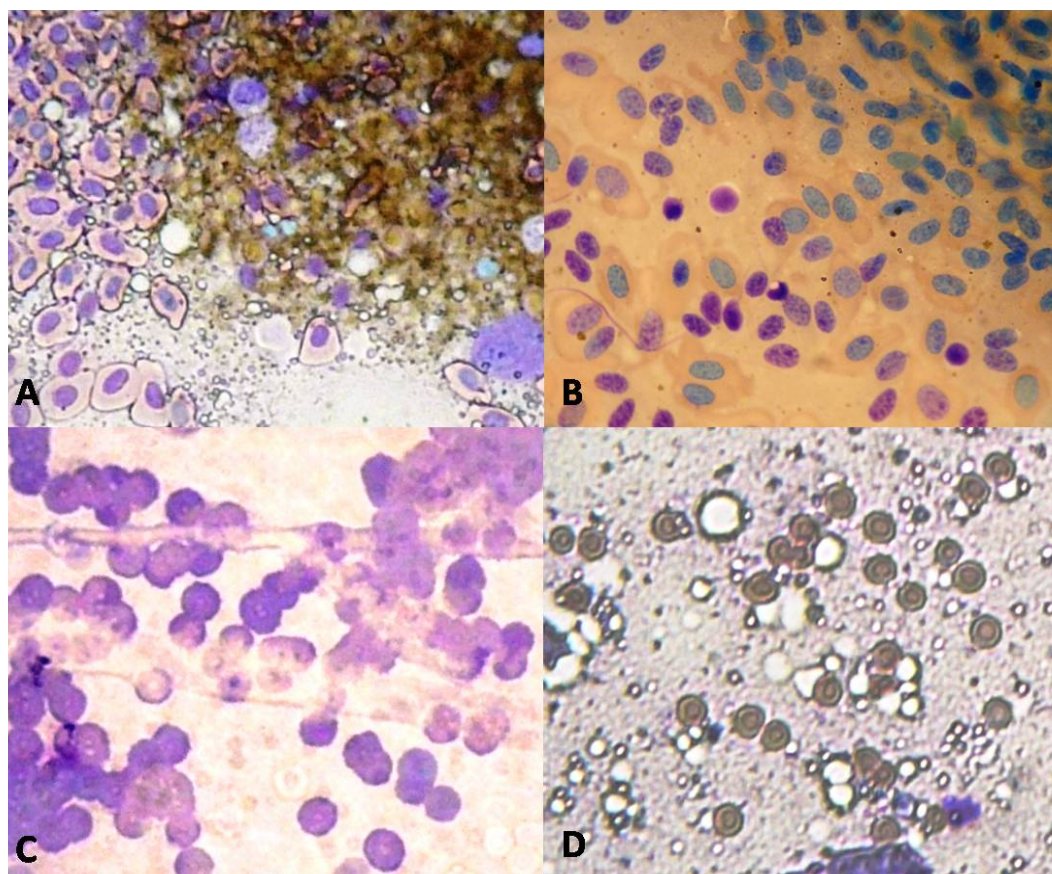


Figura 12: Esfregaço do conteúdo intestinal de *Rhodnius brethesi*. A, B, hemácias de réptil; notar o grande núcleo corado ao centro. Em A percebe-se uma mistura das hemácias em processo de hemólise com conteúdo já digerido de um repasto anterior. Em B nota-se as hemácias com uma morfologia celular ainda bem preservada. C, D, hemácias de mamífero, notar a ausência de núcleo, em ambas as imagens as hemácias estão bem preservadas (± 24h de ingurgitadas). Fotos em objetiva de 40 X.

12. 4. Hemoparasitas da fauna de répteis associados a *L. piassaba*

Embora outros hemoparasitas como, microfilárias e plasmódios (Figura 11) tenham sido registrados nos répteis das piaçabeiras, não foi possível estabelecer uma relação de vetor-hospedeiro com os exemplares de *R. brethesi* capturados no mesmo ambiente. Isso porque nenhum barbeiro foi encontrado parasitado pelos mesmos grupos de hemoparasitas encontradas nestes répteis.

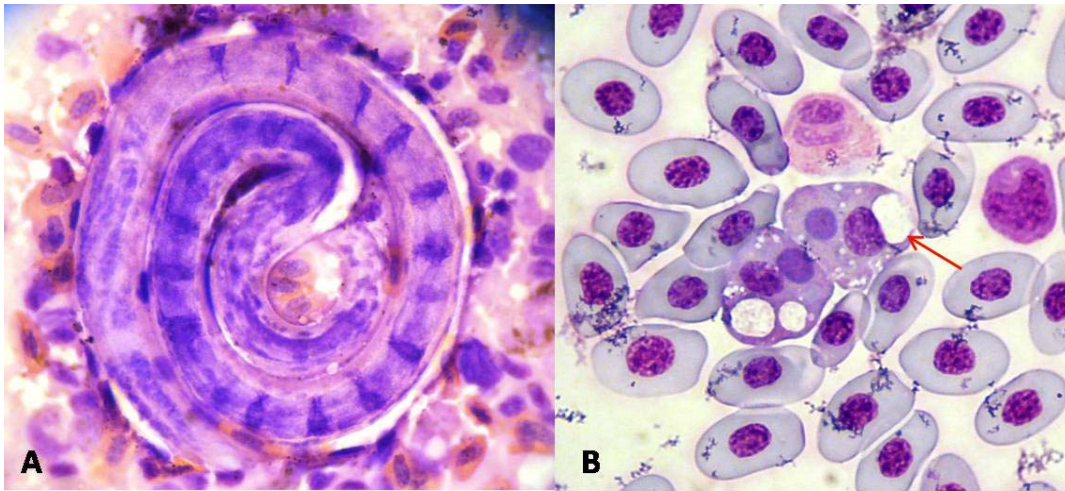


Figura 13: **Esfregaço sangüíneo com hemoparasitas da herpetofauna associada.** Em **A**, microfilária visualizada em esfregaço sangüíneo de *Gonatodes humeralis*. Em **B**, hemácias de *Anolis nitens* infectadas com plasmódios, notar a mudança de coloração das células. Seta indicando intensa vacuolização celular.

13. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dos *R. brethesi* examinados somente os adultos apresentaram traços de sangue de mamífero no intestino. Podemos deduzir com isso que a incapacidade de vôo das ninfas restringe seu repasto na fauna associada à piaçabeira, a qual é composta principalmente de artrópodos e répteis.

A utilização de sangue de réptil como uma fonte de alimento alternativa mostrou-se igualmente requisitada para o desenvolvimento das ninfas em adultos de *R. brethesi*, o que pode justificar os baixos índices de positividade parasitária para *T. cruzi* e *T. rangeli* nestes triatomíneos.

Embora *R. brethesi* seja bastante estudado pela sua capacidade vetorial para *T. cruzi* e *T. rangeli* ele se mostrou igualmente capaz de albergar outros parasitas não tripanossomatídeos, tais como hemogregarinas de interesse veterinário.

As infecções por hemogregarinas em Triatominae são pouco relatadas e geralmente estão associadas a vertebrados da ordem Squamata. Neste trabalho as associações triatomíneo-Squamata e triatomíneo-hemogregarina ficaram bem evidentes, contudo, não foi possível estabelecer uma relação triatomíneo-hemogregarinas-Squamata.

Esta baixa concentração de vertebrados e conseqüente pouca disponibilidade de alimentos em seu ecótopo é certamente um dos fatores responsáveis pelos baixos índices de infestação por *R. brethesi* nas piaçabeiras.

14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abad-Franch, F.; Palomeque, F. S.; Aguilar, H. M.; Miles, M. A. 2005. Field ecology of sylvatic *Rhodnius* populations (Heteroptera, Triatominae): risk factors for palm tree infestation in western Ecuador. *Tropical Medicine and International Health*, 10 (12): 1258-1266.

Andrade, Z. A.; Andrade, S. G.; Sadigursky, M.; Wenthold, R. J.; Hilbert Jr., S. L.; Ferrans, V. J. 1997. The indeterminate phase of Chagas disease: ultrastructural characterization of cardiac changes in the canine model. *Am. J. Trop. Méd. Hyg*, 57: 28-336.

Anthony, R.L.; Johnson, C. M.; Sousa, O. E. 1979. Use of micro-elisa for a quantitating antibody to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Am. J. Trop. Med. Hyg*, 28: 969-973.

Avila-Pires, T. C. S., 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). *Zoologische Verhandlungen*, 299: 1-706.

Barrett, T. V.; Oliveira, T. S. 1977. A trypanosome, indistinguishable from *Trypanosoma rangeli*, in the haemolymph of *Rhodnius domesticus* from Brazil. *Trans. Rev. Soc. Trop. Med. Hy*, 71: 445-446.

Barreto, M. P.; Albuquerque, R. D. R.; Funayama, G. K. 1969. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do "*Trypanosoma cruzi*". XXXVI: Investigações sobre triatomíneos de palmeiras no município de Uberaba, MG, Brasil. *Ver. Brasil. Biol*, 29 (4): 577- 588.

Barreto, M. P. e Ferriolli Filho, F. 1964. Estudos sobre reservatórios e vetores silvestres do *Trypanosoma cruzi* – IV. Infecção natural do *Triatoma infestans*, encontrado em ecótopos silvestres, por tripanossomo semelhante ao *T. cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop, São Paulo*, 6 (5):219-224.

Beebe, W. 1946. Field notes on the snakes of Kartabo, British Guiana and Caripito, Venezuela. *Zoologica*, Chicago, 31:1- 4: 11- 52.

Baneth, G.; Aroch, I.; Tal, N.; Harrus, S. 1998. Hepatozoon species infection in domestic cats: a retrospective study. *Vet. Parasitol*, 79: 123-133.

Bergmann, P. J. e Russell, A. P. 2007. Systematics and biogeography of the Widespread Neotropical gekkonid genus *Thecadactylus* (Squamata), with the description of a new cryptic species. *Zoo. J. of the Linnean Society*, 149: 339-370.

Coura, J. R.; Barret, T. V.; Naranjo, M. A. 1994. Ataque de populações humanas por Triatominae silvestres no Amazonas: uma nova forma de transmissão chagásica? *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*, 27(4): 25-253.

Coura J. R.; Fernandes, O.; Arboleda, M. N.; Barret, T. V.; Carrara, N.; Degrave, W.; Campbell, D. A. 1996. Human infection by *Trypanosoma rangeli* in the Brazilian Amazon. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 90: 278-279.

Coura, J. R.; Junqueira, A. C. V.; Bóia, M. N.; Fernandes, O. 1999. Chagas disease: from bush to huts and house. Is it the case of the Brazilian Amazon? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 94(1): 379-384.

Coura, J. R.; Junqueira, A. C. V.; Bóia, M. N.; Fernandes, O.; Bonfante, C.; Campos, J. E.; Santos, L. e Devera R. 2002. Chagas disease in the Brazilian Amazon. IV. A new cross - sectional study. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 44(3): 159-165.

Coura, J. R.; Junqueira, A. C. V.; Fernandes, O.; Valente S.A.S.; Miles M. A. 2002. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. *Trends in Parasitol*, 18(4): 171-176.

Coura, J. R.; Willcox, H. P. F.; Naranjo, M. A.; Fernandes, O.; Paiva, D. D. 1995. Chagas' disease in the Brazilian Amazon. III. A cross-sectional study. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 37(5): 415-420.

Cunha, O. R.; Nascimento, F. P. 1978. Ofídios da Amazônia, X – As cobras da região leste do Pará. Publicações avulsas Nº 31. 216 pp.

D'Alessandro, A. 1976. Biology of *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920. In WHR Lumsden e DA Evans (eds), *Biology of the Kinetoplastida*, Academic Press, London, 1: 327-403.

D'Alessandro, A.; Barreto, P.; Duarte, C. A. 1971. Distribution of triatominae transmitted trypanosomiasis in Colombia and new records of the bugs infections. *J. Med. Entomol.*, 8:159-172.

Deane, L. M. e Damasceno, R. G. 1961. Tripanosomídeos de mamíferos da região amazônica- II. Tripanosomas de macacos da Zona do Salgado, Estado do Pará. *Rev. Inst. Med. Trop*, São Paulo, 3 (2): 61-70.

Deane, L. M. 1964. Tripanosomatídeos de Mamíferos da Região Amazônica- III. Hemoscopia e xenodiagnóstico de animais silvestres dos arredores de Belém, Pará. *Rev. Inst. Med. Trop*. São Paulo, 6: 225-232.

Dias, E.; Torrealba, J. F. 1943. Verificação de flagelados semelhantes ao *Trypanosoma rangeli* Tejera, em *Rhodnius prolixus* alimentados em caso de doença de Chagas na Venezuela. Considerações sobre a natureza deste protozoário. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, 39 (3): 265-281.

Dias, J. C. P.; Silveira, A. C.; Schofield, C. J. 2002. The impact of Chagas control in Latin America: a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, 97: 603 – 12.

Dias, J. C. P.; Vinhaes, M. C.; Silveira, A. C.; Schofield, C. J.; Cardoso, B. e Coura, J. R. 2001. Pesquisas prioritárias sobre *doença de Chagas* na Amazônia: agenda de curto-médio prazo. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*, 34 (5): 497 – 498.

Engman, D. M.; Tyler, K. M. 2001. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *International Journal for Parasitology*. Published by Elsevier Science Ltd. on behalf of *Australian Society for Parasitology*, 31: 472 – 481.

Fortes, E. 2004. *Parasitologia Veterinária*. 4^o ed. Rev. e Ampl. São Paulo: Ícone. 436 – 440pp.

Freitas, M. A.; Silva, T. F. S.; 2007. Guia ilustrado: A herpetofauna das Caatingas e áreas de altitudes do nordeste brasileiro. Pelotas: USEB, 384pp.

Gaunt, M.; Miles, M. 2000. The ecotopes and evolution of triatominae bugs (triatominae) and their associated trypanosomes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, 95(4): 557-565.

Galvão, C.; Carcavallo, R.; Rocha, D. S.; Jurberg, J. 2003. 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.

Goulart, C. E. S. 2004. *Herpetologia, Herpetocultura e Medicina de Répteis*. 1ª ed. L. F. Livros de Veterinária. Rio de Janeiro, 211 – 216pp.

Grisard, E. C.; Steindel, M. 2000. *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli*. In Neves, D. P. Parasitologia humana. 10ª ed. Ateneu. São Paulo, 97-100pp.

Grögl, M.; Kuhn, R. E. 1984. Identification of antigens of culture forms of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* recognized by sera from patients with chronic Chagas' disease. *J. Parasitol.*, 70:822 – 824.

Guedes, P. M. M.; Veloso, V. M.; Caliari, M. V.; Carneiro, C. M.; Sousa, S. M.; Lana, M.; Chiari, E.; Bahia, M. T.; Lúcia, M. C.; Galvão, L. M. C. 2007. *Trypanosoma cruzi* high infectivity in vitro is related to cardiac lesions during long-term infection in Beagle dogs. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro. 102(2): 149 – 147.

Guhl, F.; Vallejo G. A. 1999. Interruption of Chagas Disease Transmission in the Andean Countries: Colombia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, 94 (1): 413 – 415.

Gürtler, R. E.; Cecere, M. C.; Lauricella, M. A.; Cardinal, M. V.; Kitron, U.; Cohen, J. E. 2006. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitol.*, 134: 69 – 82.

Gürtler, R. E.; Cécere, M. C.; Petersen, M. R.; Rubel, N. D.; Schwigmann, N. J. 1993. Chagas' disease in north-west Argentina: association between *Trypanosoma cruzi* parasitemia in dogs and cats and infections rates in domestic *Triatoma infestans*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 87: 12 – 15.

Hangmann, G. 1910. Die Reptilien der Insel Mexicana, Amazonasstrom. *Zool. Jb. Jena*, 473-504pp.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Dados preliminares do censo 2000; Brasil e Norte. Rio de Janeiro: *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística* 2001.

Junqueira, A. C. V. 2005. *Trypanosoma cruzi*, Chagas, 1909 em áreas do médio e alto Rio Negro, Amazonas, Brasil. Tese de doutorado. Instituto de Ciências Biomédicas/Departamento de Parasitologia, USP, 144pp.

Lana, M. e Tafuri, W. L. 2003: *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: Neves, D. P. *Parasitologia Humana*, 10 ed. São Paulo: Atheneu. p. 73-96.

Lent, H. e Wygodzinsky, P. 1979. Revision of the triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist., New York*, 163: 123 – 520.

Lescure, Jean-Paul.; Empeaire, L.; Franciscon, C. 1992. *Leopoldinia piassaba* Wallace (Aracaceae) : a few biological and economic data from the Rio Negro region (Brazil). *Forest ecology and Management*, 55: 83-86.

Levine, N. D.; Corliss, J. O.; Cox, F. E. G.; Deroux, G.; Grain, J.; Honigberg, B.M.; Leedale, G. F.; Loeblich, A. R.; Lom, J.; Lynn, D.; Merinfeld, E. G.; Page, F. C.; Poljandky, G.; Sprague, V.; Vavra, J.; Wallace, F. G. 1980. A newly-revised classification of the Protozoa. *J. Protozool.*, 27: 37-58.

Levine, N. D. 1988. The protozoan phylum Apicomplexa. Boca Raton, Florida: CRC Press, 115 -134pp.

Lima, A. P.; Magnusson, W. E.; Menin, M.; Erdtmann, L. K.; Rodrigues, D. J.; Keller, C.; Hödl, W. 2006. Guia de sapos da Reserva Adolpho Ducke - Amazônia Central. Manaus. Áttema design Editorial, 168pp.

Machado, E. M. M.; Camilo Jr, D. J.; Pinheiro, S. W.; Lopes, E. R.; Fernandes, A. J.; Dias, C. P.; Addad, S. J. 2001. Morphometry of submucous and menteric esophageic

plexus of dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, 96: 545-548.

Malmqvist, B.; Strasevicius, D.; Hellgren, O.; Adler, P.H.; Bensch, S. 2004. Vertebrate host specificity of wild-caught blackflies revealed by mitochondrial DNA in blood. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 271: 152-155.

Martins, M. e Oliveira, M. E. 1998. Natural History of Snakes in forests of the Manaus Region, Central Amazonia, Brasil. *Herpetological natural History*, 6 (2): 78 – 150.

Martins, M. e M. Gordo. 1993. *Bothrops atrox* diet. *Herp. Rev.*, 24 (4):151 – 152.

Mascarenhas, B. M. 1991. Triatominae da Amazônia: sobre o habitat e algumas considerações comportamentais de *Rhodnius brethesi* matta, 1919 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) na região do Médio Rio Negro, Amazonas. *Bol. Mus. Emílio Goeldi*, 7(2):107-116.

Menezes, M.; Pinheiro, M. R.; Guazzell, A. C.; Martins, F. 2005. *Cadeia produtiva das fibras vegetais extrativas do Estado do Amazonas*, Secretaria Estadual do Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável do Amazonas, Série Técnica Meio Ambiente e Desenvolvimento Sustentável, SDS/SEAE, Manaus, 4: 32pp.

Miles, M. A.; Arias, J. R.; Valente, S. A. S.; Naiff, R. D.; Souza, A. A. de; Povia, M. M.; Lima, J. A. N.; Cedillos, R. A. 1983. Vertebrate Hosts and Vectors of *Trypanosoma rangeli* in the Amazon Basin of Brazil, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32(6): 1251-1259.

Oda, W. Y. 2008. Microhabitat utilization and population density of the lizard *Gonatodes humeralis* (Guichenot, 1855) (Reptilia: Squamata: Gekkonidae) in forest areas in Manaus, Amazon, Brazil. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi*, Belém, 3(2): 165-177.

Peters, J. A. e B. Orejas- Miranda. 1970. Catalogue of the Neotropical Squamata Part I, Snakes, *Bulletin of the United States National Museum* 297: 1 – 347.

Portal do extrativismo (www.florestavivaextrativismo.org.br/), acesso em: 31/07/2009.

Reiche, E. M. V.; Inouye, M. M. Z.; Pontello, R.; Morimoto, H. K.; Itow Jankevicius, S.; Matsuo, T. 1996. Seropositivity for anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies among blood donors of the “Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná”, Londrina, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 38(1): 233-40.

Rey, L. 2008. Parasitologia: parasitas e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4º Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 812-813p.

Rocha, D. S.; Santos, C. M.; Cunha, V.; Jurberg, J.; Galvão, C. 2004. Ciclo biológico em laboratório de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), Potencial vetor silvestre da Doença de Chagas na Amazônia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 99(6): 591 – 595.

Rocha e Silva, E. O. da. 1975. – Ciclo evolutivo do *Hepatozoon triatomae* (Sporozoa, Haemogregarinidae) parasita de Triatominae. *Rev. Saúde Pública*, S. Paulo, 9: 383 – 91.

Romaña, C. A.; Pizarro, J. C. N.; Rodas, E.; Guilbert, E. 1999. Palm trees as ecological indicators of risk áreas for Chagas disease. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 93: 594–595.

Santos-Mallet, J. R.; Junqueira, A. C. V.; Moreira, C. J. C.; Andrade, Z.; Coura, J. R.; Gonçalves, T. C. M. 2005. Morphobiological aspects of *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera: Reduviidae) from the Upper and Middle Negro River, Amazon region of Brazil. I – Scanning electron microscopy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 100(8): 915 – 923.

Santos, M. M. V.; O’Dwyer, I. h.; Silva, R. J. 2005. Seasonal variation of *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) parasitemia from *Boa constrictor amarali* (Serpentes, Boidae) and *Hydrodynastes gigas* (Serpentes, Colubridae). *Parasitol. Res.*, 97: 94 – 97.

Schofield, C. J. 1994. Triatominae: *Biologia e controle*. Published by: *Eurocommunica Publications*. 1º edição. 80pp.

Sousa, M. A.; Fonseca, T. S.; Santos, B. N.; Pereira, S. M. dos S.; Carvalhal, C.; Moreno, A. M. H. 2008. *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920, in chronic Chagas disease patients under ambulatory care at the Evandro Chagas Clinical Research Institute (IPEC—Fiocruz, Brazil). *Parasitol. Res.*, 103: 697–703.

Suárez-Mutis, M. C. e Coura J. R. 2007. Mudanças no padrão epidemiológico da malária em área rural do médio Rio Negro, Amazônia brasileira: análise retrospectiva. *Cad. Saúde Pública*, 23 (4): 795 – 804.

Thrall, M. A.; Baker, D. C.; Campbell, T. W.; Denicola, D.; Fettman, M. J.; Lassen, E. D.; Rebar, A.; Weiser, G. 2006. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. São Paulo: Roca. 582 p.

Urdaneta-Morales, S.; Nironi, I. 1996. *Trypanosoma cruzi* in the Anal Glands of Urban Opossums. I - Isolation and Experimental infections. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 91(4): 399-403.

Urdaneta-Morales, S.; Tejero, F. 1986. *Trypanosoma (Herpetosoma) rangeli* Tejera, 1920: intracellular amastigote stages of reproduction in white mice. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 28:166-169.

Vickerman, K. 1976. The Diversity of the Kinetoplastid Flagellates. *In*: WHR Lumsden e DA Evans (eds), *Biology of the Kinetoplastida*, vol 1, Academic Press, London. p. 1- 34.

Vitt, L.; Magnusson, W. E.; Pires, T. C. A.; Lima, A. P.; 2008. Guia de Lagartos da Reserva Adolpho Ducke - Amazônia Central. Manaus. Áttema design Editorial, 176pp.

Vitt, L. J.; Sartorius, S. S.; Ávila-Pires, T. C. S.; Espósito, M. C. 2001. Life on the Leaf Litter: The Ecology of *Anolis nitens tandai* in the Brazilian Amazon. *Copeia* 2: 401-412.

Wosniak, E. J.; Telford JR, S. R. 1991. The fate of possible two *Hepatozoon* species naturally infecting Florida black racers and watersnakes in potencial mosquito and soft tick vectors: histological evidence of pathogenicity in unnatural host species. *J. Parasitol.*, 21: 511 – 516.