Universidade de São Paulo

Faculdade de Saúde Pública

Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Parque Estadual do Jaraguá na cidade de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil.

Filipe Jonas Mattos Soares de Souza

SÃO PAULO

2017

Universidade de São Paulo

Faculdade de Saúde Pública

Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Parque Estadual do Jaraguá na cidade de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil.

Filipe Jonas Mattos Soares de Souza

Dissertação apresentada à Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Saúde Pública

Orientadora: Profª. Drª. Eunice Aparecida Bianchi Galati

Versão Corrigida

SÃO PAULO

2017

SOUZA, Filipe Jonas Mattos Soares de. **Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Parque Estadual do Jaraguá na cidade de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil.** 2017. 63 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2017.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Agradecimentos

A Deus por toda iluminação e força que me dá todos os dia da minha vida.

À Prof.ª. Dr.ª Eunice Aparecida Bianchi Galati, pela convivência, atenção, orientação, carinho e lições ensinadas durante o mestrado, que contribuíram para meu crescimento acadêmico científico e intelectual.

Aos meus colegas do Laboratório de Entomologia em Saúde Pública: Andreia Brilhante, Cecília Lavitschka, Fredy Galvis, Victor Lima, Márcia Bicudo, Priscila Sábio e Rodrigo Godoy que de alguma forma contribuíram para o trabalho e minha formação.

Aos funcionários do Labfauna do Cento de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ-SP), pelo auxílio no transporte, coleta e identificação dos exemplares coletados no Parque Estadual do Parque do Jaraguá.

À Dr.ª Elisa San Martin Mouriz Savani, do CCZ-SP, pelo auxílio na realização da PCR das amostras de flebotomíneos e no exame de qualificação.

Ao Dr.º Delsio Natal pelo auxílio no exame de qualificação.

Aos membros da banca pela disponibilidade, compromisso e pelas correções.

Aos funcionários, monitores e guardas do Parque Estadual do Jaraguá pela ajuda na execução do projeto.

À Fundação Florestal do Estado de São Paulo pela autorização para execução do projeto no parque.

À Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo pela oportunidade da realização do curso de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado.

Aos funcionários do Instituto de Astronomia, Geofísica e Ciências Atmosférica da USP que prontamente atenderam ao meu pedido de informações sobre as condições meteorológicas do município de São Paulo.

A meu pai João Soares de Souza, minha mãe Maria José Mattos Soares, meus irmãos Rodrigo Mattos Soares de Souza e Gisele Mattos Soares de Souza e minha família pelo apoio durante o curso.

À minha esposa Mara Sofia de Freitas e minha filha Anna Laura Freitas Mattos de Souza pelo apoio, carinho e motivação durante todas as fases do mestrado.

Aos meus colegas de curso e professores que de alguma forma me ajudaram durante esta jornada.

RESUMO

SOUZA, Filipe Jonas Mattos Soares de. **Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) no Parque Estadual do Jaraguá na cidade de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil.** 2017. 63 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2017.

As leishmanioses americanas são zoonoses em que o homem é um hospedeiro acidental, nas quais várias espécies de *Leishmania*, de vetores e reservatórios (silvestres, sinantrópicos ou domésticos) estão envolvidas. Com a alteração da cobertura vegetal nativa, várias regiões do Brasil vêm registrando mudanças no seu quadro epidemiológico, frequentemente envolvendo transmissão peridomiciliar tanto na leishmaniose visceral americana (LVA), tendo como agente etiológico a *Leishmania (L.) infantum chagasi*, como a leishmaniose tegumentar americana (LTA), com várias espécies de *Leishmania* atuando como agentes. No município de São Paulo casos autóctones de LTA têm sido registrados nas proximidades da Serra da Cantareira, todavia, vetores estão presentes em outros parques públicos. A LVA tem como principal vetor a espécie *Lutzomyia longipalpis* e o cão doméstico, como o principal reservatório, e sua ocorrência vem se expandindo através do território brasileiro. O Parque Estadual do Jaraguá está localizado no município de São Paulo em área de confluência de rodovias que percorrem a área de expansão da LVA ou recebem fluxo de veículos destas rodovias. Tendo-se presente o panorama acima, investigou-se a fauna flebotomínea no Parque do Jaraguá, quanto à diversidade e abundância das espécies, considerando ambientes impactados em maior ou menor grau, assim como a presença de infecção natural pela *Leishmania* sp. em flebotomíneos, e para a espécie mais abundante, sua distribuição mensal e ritmo horário noturno. As capturas ocorreram quinzenalmente de setembro de 2015 a dezembro de 2016, utilizando armadilhas do tipo CDC instaladas em oito pontos, e Shannon nas cores branca e preta instaladas na mata e em peridomicílio. Fêmeas coletadas nas armadilhas de Shannon e de um dos pontos amostrados com CDC foram dissecadas e submetidas a à reação de Polymerase Chain Reaction (PCR) para investigação de infecção natural por *Leishmania* spp. Foram capturadas um total de 673 espécimes divididos em nove gêneros e 15 espécies. *Pi.*

fischeri foi a espécie mais abundante nos diversos pontos de coletas e a única capturada nas armadilhas de Shannon. Destaca-se a coleta de uma fêmea semelhante à de *Lu. longipalpis*. Na armadilha branca, ocorreram picos de *Pi. fischeri* das 19 – 20h e 00 – 01h e na preta das 22 – 23h e das 01 – 02h. Na armadilha branca, a atividade se estendeu durante a noite toda e início da manhã, na preta, apenas até no horário das 02-03h. Nas armadilhas CDC, a média de espécimes de *Pi. fischeri* por armadilha foi mais elevada no inverno, mas as análises de Pearson e de Spearmannão mostraram correlação significante em relação à chuva mensal e temperaturas mínima e máxima no dia da coleta. Na investigação da infecção natural em flebotomíneos não foi detectada a presença de *Leishmania* spp. Apesar deste resultado, a dominância de *Pi. fischeri*, espécie antropofílica e suspeita de atuar na transmissão de agente de leishmaniose tegumentar e visceral, assim como a sua presença em mata e peridomicílio, com atividade noturna coincidente com a da população humana, identifica-se possibilidades e circunstâncias de risco de transmissão das leishmanioses na área. A presença de uma fêmea semelhante à de *Lu. longipalpis*, indica a necessidade de mais estudos para confirmação da espécie e avaliação de risco de instalação da LVA nessa área do município.

Palavras-chave: Leishmanioses; flebotomíneos; cidade de São Paulo; Parque do Jaraguá; vetores.

ABSTRACT

SOUZA, Filipe Jonas Mattos Soares de. Ecological aspects of sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Jaraguá State Park in the city of São Paulo, State of São Paulo, Brazil. 2017. 63 p. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2017.

American leishmaniases are zoonoses in which several species of *Leishmania*, vectors and reservoirs (wild, synanthropic or domestic) are involved, and the man is considered an accidental host. With the destruction of native vegetation, several Brazilian regions have been registering changes in the epidemiological profile of these zoonoses which often involve peridomestic transmission in both American visceral leishmaniasis (AVL) and American cutaneous leishmaniasis (ACL). In the city of São Paulo autochthonous cases of ACL have been recorded in areas close to the reserve of the Serra Cantareira, however, vectors have been registered in other state parks with residual forests. AVL, having *Lutzomyia longipalpis* as main vector and domestic dogs as main reservoirs, is spreading through the Brazilian territory. The Jaraguá State Park is located in the municipality of São Paulo in an area of confluence of highways that cross the route of expansion of this disease or receive vehicular flows from these highways. Considering this scenery, this study investigated the phlebotomine fauna in the Jaraguá state Park, regarding the diversity and abundance of the species, taking account the degree of impact in the vegetation coverture, as well as the presence of natural infection by *Leishmania* spp. in sand flies, and also the monthly distribution and nocturnal rhythm of the most abundant species. Captures were undertaken from September 2015 to December 2016, using CDC light traps installed at eight points, and Shannon traps in the white and black colors installed in the forest and peridomicile. Females collected in the Shannon traps and of one of the CDC trap were dissected and submitted to PCR for investigation of natural infection by *Leishmania* spp. A total of 673 specimens were collected, divided into 9 genera and 15 species. *Pintomyia fischeri* was the most abundant species at several collection points and the only one caught in Shannon traps. The collection of a female similar to that of *Lutzomyia longipalpis* is highlighted. *Pi. fischeri* in the white trap presented peaks from 19-20 hr. and 0-1 hr., while in black, the peaks occur from 22-23hours . and 1-2 hr. In the white trap, activity lasted all night and early morning, and in the black only until 02-03hr. In the CDC traps, the average of specimens of *Pi. fischeri* per trap was higher in the winter, but the Pearson and Spearman analyses showed no significant correlation with monthly rainfall and minimum and maximum temperatures on the day of collection. The investigation of the natural infection in phlebotomines resulted negative for *Leishmania* sp. Despite this

result, the dominance of *Pi. fischeri*, an anthropophilic species and suspected of acting on the transmission of ACL agent, as well as its presence in forest and peridomicile, with nocturnal activity coinciding with that of the human population, identifies possibilities and circumstances of risk of leishmaniasis transmission in the area . The presence of a female similar to that of *Lu. longipalpis* indicates the need for further studies to identify correctly the species and assess the risk of LVA installation in this area of the municipality of São Paulo and other neighbors.

Keywords: Leishmaniasis; Phlebotominae; Sao Paulo City; Jaraguá Park; Vectors

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Leishmaniose Tegumentar.....14

Figura 2 – Leishmaniose Visceral.....14

Figura 3 – Flebotomíneo.....17

Figura 4 – Mapa do Parque Estadual do Jaraguá mostrando o entorno e as trilhas.....21

Figura 5 – Armadilha CDC.....23

Figura 6 – Trilha da Bica.....23

Figura 7 – Aldeia.....23

Figura 8 – Armadilha de Shannon.....23

Figura 9 - Índices de Shannon e de Pielou das espécies de flebotomíneos capturadas nas armadilhas CDC no Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.....36

Figura 10 - Índice de Abundância Padronizado das espécies capturadas em armadilhas CDC no Parque Estadual do Jaraguá, setembro de 2015 a dezembro de 2016.....36

Figura 11 - Média Geométrica de Williams de *Pi. fischeri* por armadilha, nas coletas com CDC nas trilhas da Bica e Silêncio do Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.....37

Figura 12 - Média de espécimes de *Pi. fischeri* coletados nas CDC instaladas em cinco pontos distribuídos nas trilhas do Silêncio e da Bica, segundo estação do ano. Parque do Jaraguá, Set 2015 a dezembro de 2016.....39

Figura 13 - Correlação entre médias mensais de *Pi. fischeri* por armadilha distribuídas em cinco pontos nas trilhas da Bica e do Silêncio e precipitação mensal (em mm) no município de São Paulo. Set/2015 a Dez/2016. Linha = média de insetos; barras = precipitação mensal.....39

Figura 14 - Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon branca do peridomicílio e da mata no Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.....40

Figura 15 - Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon Preta do peridomicílio e da Mata no Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.....41

Figura 16 - Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon Branca e Preta no ecótopo Mata do Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.....42

Figura 17 - Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon Branca e Preta no ecótopo Peridomicílio do Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.....42

Figura 18 - Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* no ecótopo banheiro do peridomicílio no Parque Estadual do Jaraguá nos dias 09/12/2015 e 21/07/2016.....43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características e tipos de área amostradas.....25

Tabela 2 - Número e percentual de espécimes coletados, segundo espécies capturadas nas coletas realizadas no Parque Estadual do Jaraguá. Setembro 2015 a Dezembro de 2016.....34

Tabela 3 - Número de espécimes capturados em armadilhas CDC, por espécies e ponto de coleta. Parque Estadual do Jaraguá de set/2015 a dez/2016.....35

Tabela 4 - Posição das espécies capturadas nas armadilhas de CDC com os índices de abundância no Parque Estadual do Jaraguá, setembro de 2015 a dezembro de 2016.....37

Tabela 5 - Médias mensais de espécimes de *Pi. fischeri* por armadilha distribuídas em cinco pontos nas trilhas da Bica e do Silêncio e precipitação mensal (em mm) no município de São Paulo. Setembro/2015 a dezembro/2016.....38

Tabela 6 - Número de espécimes capturados de *Pi. fischeri*, segundo sexo e cor da armadilha de Shannon. Parque Jaraguá, set 2015 a dez/2016.....40

SUMÁRIO

Introdução: 13
1. As Leishmanioses: 13
1.2. As leishmanioses no Estado de São Paulo: 14
1.3. As leishmanioses na cidade de São Paulo: 18
1.4. Os vetores: 18
1.5. Justificativa 19
2 Objetivo Geral 21
2.1. Objetivos específicos 21
3. Material e Métodos 21
3.1. Área de estudo 21
3.2. Coleta de flebotomíneos 23
3.2.1.Pontos de coleta 25
3.3. Investigação da infecção natural por flagelados em flebotomíneos 27
3.5. Análise estatística 29
4. Resultados 33
5. Discussão 44
6. Conclusões 50
7. Referências Bibiográficas 51
ANEXO A – Sugestões para os Serviços de Saúde responsáveis pela Vigilância entomológica. 57
ANEXO B – Resultado da PCR para as amostras do Parque do Jaraguá 58
ANEXO C – Testes estatísticos 63

Introdução:

1. **As Leishmanioses**:

As leishmanioses têm sido classicamente definidas como zoonoses em que o homem é um hospedeiro acidental. Participam de seus quadros epidemiológicos, várias espécies de leishmânias, de flebotomíneos, e reservatórios, mamíferos silvestres, sinantrópicos ou domésticos. Em várias regiões do Brasil, devido a fatores como a alteração da cobertura vegetal, migração e crescimento populacional urbano desordenado, vêm registrando mudanças nos seus quadros epidemiológicos. Este novo perfil epidemiológico vem sendo observado no Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do país, devendo-se considerar, nesses casos, a existência de transmissão peridomiciliar (Rangel 1995). Algumas espécies de flebotomíneos com capacidade de adaptação ao ambiente domiciliar com intensa ação antrópica estão associadas ao ciclo de transmissão da leishmaniose tegumentar americana (LTA) (figura 1) e leishmaniose visceral americana (LVA) (fig. 2) (Gomes 1994, Lainson et. al.1994).

No Brasil, a LTA pode ser causada por sete espécies de *Leishmania* que causam a infecção humana e pertencem aos subgêneros *Leishmania* e *Viannia.* As espécies *L. (L.) amazonensis* e *L. (V.) braziliensis* ocorrem em todas as regiões, enquanto *L. (V.) guyanensis, L. (V.) lainsoni, L.(V.) lindenbergi, L.* (*V.*) *naiffi* e *L. (V.) shawi* são restritas à região Amazônica. Entre os seus reservatórios encontra-se mamíferos de várias ordens, tais como Rodentia, Carnivora, Marsupialia, Perissodactyla, Primata, entre outras, e várias espécies de flebotomíneos atuam como vetores, distribuídos principalmente entre os gêneros *Bichromomyia, Lutzomyia, Migonemyia, Nyssomyia, Pintomyia, Psychodopygus* e *Trichophoromyia,* segundo a classificação de Galati (2015).

Figura 1 – Aspecto de uma lesão de leishmaniose tegumentar.

Fonte: WHO, 2017.

Fig. 2 – Aspecto de um paciente acometido por leishmaniose visceral.

Fonte: WHO, 2017

1.2. As leishmanioses no Estado de São Paulo:

No Estado de São Paulo, LTA é conhecida desde 1884, com transmissão em áreas florestais. Incidia, sobretudo, em áreas sujeitas à ação antrópica, com sucessivos desmatamentos em virtude da expansão das plantações de café no século XIX, tendo continuidade nas primeiras décadas do século XX, com a construção de rodovias e ferrovias para transporte dos grãos de café até a costa do Estado. Seguiu-se um declínio da transmissão no final da década de 50 (Tolezano, 1994). A região sul do Estado, considerada indene para a LTA, tornou-se endêmica nos anos 70. Na década de 80 foi

considerada doença re-emergente no Estado e sua transmissão não mais diretamente relacionada a ambientes florestais, como, historicamente, havia sido. Instalou-se assim, um novo perfil de transmissão, com surtos esporádicos isolados e espalhados em todo o Estado, ocorrendo em áreas rurais ou peri-urbanas. Nestas circunstâncias, a transmissão da LTA depende da adaptação dos potenciais vetores ao ambiente antrópico e envolve animais domésticos (Camargo-Neves, 2002). Segundo a Superintendência de Controle de Endemias – Sucen, o principal agente etiológico da LTA no Estado é a *Leishmania (Viannia) braziliensis* e as espécies implicadas de atuarem como vetores na sua transmissão são *Nyssomyia intermedia*, *Nyssomyia neivai*, *Nyssomyia whitmani*, *Migonemyia migonei* e *Pintomyia pessoai*, incluindo-se *Pintomyia fischeri* como vetor suspeito (Sucen, 2016). *Leishmania (L.) amazonensis* também tem sido encontrada em reservatórios silvestres; todavia, isolados de um pequeno número de casos de LTA em humanos têm sido atribuídos a este parasita no litoral norte do Estado (Tolezano et. al., 1998). No entanto, o vetor conhecido deste parasita, *Bichromomyia flaviscutellata*, foi registrada em uma área restrita no sul da costa e no oeste do Estado (Gomes et. al., 2012).

A complexidade do quadro epidemiológico da LTA no Estado de São Paulo é devida às diferentes manifestações clínica (forma cutânea, mucosa ou difusa) aliada à diversidade de vetores que podem transmitir a mesma leishmânia ou vice versa, a mesma espécie de vetor podendo transmitir diferentes espécies de *Leishmania* (Shimabukuro et. al., 2010). O encontro recentemente de *Pi. fischeri* e *Mg. migonei* com alto índice de abundância e antropofilia aponta para a possibilidade das duas espécies estarem transmitindo a LTA na Serra da Cantareira (Moschin et. al., 2013). Além disto, estas espécies infectaram-se experimentalmente por *Leishmania braziliensis* e sobreviveram ao período de incubação extrínseco (Diniz et. al., 2014).

A LVA tem como agente etiológico a *L. (L.) infantum chagasi*, tendo *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* como principal vetor no Brasil e o cão doméstico, como principal reservatório. A doença apresenta ampla distribuição geográfica, porém sua ocorrência que há poucos anos era registrada somente nas regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste foi notificada na região Sul, nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná (PORTAL G1, 2015). Nos anos 90, aproximadamente 90% dos casos notificados de LVA ocorreram na Região Nordeste. Na medida em que o padrão de transmissão apresentou mudanças, a doença se expandiu para as outras regiões e atingiu

áreas urbanas e periurbanas de cidades de médio e grande porte do país. Instalou-se em capitais federativas como: Fortaleza, Natal, São Luiz, Teresina, Belo Horizonte, Campo Grande, Palmas e Rio de Janeiro, e na periferia de cidades de médio e grande porte como: Santarém (Pará), Montes Claros (Minas Gerais), Corumbá (Mato Grosso do Sul), Araçatuba (São Paulo) e São Borja (Rio Grande do Sul). Com isso, no período de 2000 a 2002, a Região Nordeste apresentou uma redução para 77% dos casos do país (BRASIL MS/SVS, 2006).

No Estado de São Paulo, a infecção humana de LVA na região sul da Grande São Paulo e com suspeita de autoctonia foi relatada no final da década de 70 e início da de 80; no entanto, a investigação não revelou a presença do vetor, *Lutzomyia longipalpis* e de outros elementos do quadro epidemiológico (Iversson et. al., 1979; 1982). Portanto, até o final da década de 90, apenas a LTA era considerada autóctone.

A presença de *Lu. longipalpis*, em áreas rurais do Estado de São Paulo, desde a década de 70, inclusive na Grande São Paulo, no município de Pirapora do Bom Jesus, foi relatada por Forattini et. al. (1976), porém, foi apenas em 1997 que se constatou a sua presença na área urbana. Isto ocorreu no município de Araçatuba na região noroeste do Estado (Costa et. al., 1997). No ano seguinte, foram diagnosticados os primeiros casos caninos nessa cidade e, em 1999, os primeiros casos humanos, cuja etiologia se atribuiu a *L. (L.) infantum chagasi*. Após isto, tem sido detectada a rápida expansão do vetor e da doença canina e humana em sentido oeste-leste do Estado (Casanova, 2015).

Nesta expansão, destaca-se a ocorrência da leishmaniose visceral em cães e em felinos na região oeste da Grande São Paulo, nos municípios de Embu das Artes e Cotia (Savani et. al., 2005). Todavia, diferentemente do que ocorre na região noroeste do estado, onde a transmissão se dá em ambiente tipicamente urbano, nesta região da Grande São Paulo, a doença animal tem sido associada a áreas com a presença de matas residuais, podendo-se considerá-las como de transição entre urbano e rural. As pesquisas sobre flebotomíneos em focos de transmissão do município de Cotia e Embu das Artes (Silva, 2005, Galvis, 2011) não revelaram a presença de *Lu. longipalpis* e as espécies capturadas ainda apresentam estreita dependência de matas, com predomínio de *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926), *Migonemyia migonei* (França, 1920), *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932) e *Psychodopygus lloydi* (Antunes, 1937).

O Estado de São Paulo, segundo Casanova et. al. (2015), era considerado livre de casos autóctones de LVA até o final da década de 90, e o vetor *Lutzomyia longipalpis*, embora identificado no Estado na década de 70, inclusive no município de Pirapora do Bom Jesus, localizado na região noroeste da Grande São Paulo, tinha sua ocorrência restrita a áreas rurais (Forattini et al. 1976). *Lu. longipalpis* foi encontrada em 1997 em área urbana do município de Araçatuba no oeste do Estado (Costa et al., 1997), onde, em 1998, foi diagnosticado caso canino da doença autóctone e, em 1999, o primeiro caso humano (Casanova et. al., 2015) . A partir de então, a LVA canina e humana vem se expandindo no Estado e a presença do vetor tem sido evidenciada em áreas urbanas de muitos municípios.

De acordo com o Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (2006), os municípios são classificados em dois grandes grupos em relação à transmissão da doença: com transmissão (presença de casos autóctones) e silenciosos (sem transmissão). Os municípios silenciosos, quanto à presença do vetor se subdividem em receptivos (com a presença do vetor) e não receptivos (ausência do vetor), ambos podendo ser vulneráveis ou não. A vulnerabilidade se caracteriza pela possibilidade de circulação de fontes de infecção, e o seu grau dependerá da proximidade com área com transmissão, fluxo migratório e de transporte. No Programa de Controle da LVA do Estado de São Paulo, a expansão da doença é estimada por dois valores: a) contiguidade (resultante da proximidade com municípios com transmissão da LVA humana ou canina) e b) em saltos (relacionada com o fluxo migratório e/ou transporte a partir de municípios com transmissão). Os dois valores de distância para a seleção dos municípios vulneráveis são definidos pela Secretaria de Estado de Saúde. Portanto, os municípios podem ser assim classificados: <u>Silenciosos não receptivos não vulneráveis</u>; <u>Silenciosos não receptivos vulneráveis</u>; <u>Silenciosos receptivos não vulneráveis</u>; e <u>Silenciosos receptivos vulneráveis</u>. São classificados <u>Em investigação</u> os municípios silenciosos, independente da receptividade ou vulnerabilidade, com notificação de caso humano ou canino clinicamente suspeito, aguardando conclusão de outros itens da investigação epidemiológica ou com cão positivo para *Leishmania sp* no exame parasitológico direto ou reagente na sorologia para anticorpos anti-*Leishmania* e aguardando conclusão de outros itens da investigação epidemiológica (SES, 2006) .

1.3.As leishmanioses na cidade de São Paulo:

Recentemente, Silva (2015) detectou a presença de cães com infecção por *L. infantum chagasi* em área próxima ao Parque Estadual do Jaraguá, no interior deste parque e no parque Anhanguera, adjacente ao primeiro. Também coletou uma fêmea muito semelhante à de *Lutzomyia longipalpis* no Parque Jaraguá. Estes dois parques estão localizados no município de São Paulo em área de confluência de rodovias que percorrem a área de expansão da LVA ou recebem fluxo de veículos destas rodovias (Presidente Castelo Branco e Anhanguera) que se conectam com o Rodoanel Mario Covas, adjacente ao parque (fig. 4). Embora existam registros de casos humanos no município de São Paulo, os mesmos não são considerados autóctones; desta forma, o município é classificado como silencioso vulnerável não receptivo (SES, 2006).

A LTA na Grande São Paulo tem sido associada a fragmentos de Mata Atlântica, onde os habitantes são infectados esporadicamente. O registro de casos autóctones nas proximidades da Serra da Cantareira e a identificação de vetores conhecidos nos parques ecológicos da cidade de São Paulo indicam a existência de risco em contrair LTA aos frequentadores dessas áreas remanescentes de mata (Moschin, 2013; Castelo, 2015).

Segundo os últimos dados do SINAN, de 2014 a 2016 a cidade de São Paulo registrou 01 caso confirmado a cada ano.

1.4.Os vetores:

São dípteros da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae. Possuem corpo revestido por cerdas, segmentos antenais longos, asas em formato lanceolado e aparelho bucal apresentando probóscide adaptada para picar e sugar (fig. 3). Possuem hábitos crepusculares e noturnos, se estendendo até o início da manhã, e em ambientes onde a incidência de luz é baixa podem apresentar atividade diurna. A expansão das atividades humanas, e consequente destruição das matas, além da construção de hidrelétricas, migrações e atividades que levem a alteração do ambiente podem possibilitar que os

flebotomíneos alterem seus hábitos e se adaptem a novas condições, estabelecendo um maior contato com humanos (Galati, 2003).

Os flebótomos além de atuarem na transmissão de várias espécies de *Leishmani*a podem veicular diversos arbovírus e a bactéria *Bartonella bacilliformis* (Battisti, 2015). A transmissão destes agentes se dá pelo hábito hematofágico das fêmeas, que necessitam do sangue de vertebrados para a maturação dos seus ovários. No caso da leishmaniose, ao se alimentarem de um animal vertebrado reservatório do protozoário, podem se infectar. A leishmânia sofrerá diferenciação e multiplicação no tubo digestório da fêmea até atingir a forma infectante para os vertebrados (período de incubação extrínseco). Simultaneamente a isto, ocorre o processo de digestão do sangue e maturação de seus ovários para posterior oviposição. As fêmeas infectadas, nas quais o parasita sobreviveu ao período de incubação extrínseca e à oviposição são aquelas que estarão aptas a transmitir o parasita (Forattini, 1973).

Fig. 3 – Exemplo de espécime de flebotomíneo

Fonte: WHO, 2017.

1.5.Justificativa

A compreensão da dinâmica de transmissão do parasito é regida pelo conhecimento dos diferentes aspectos da biologia desses insetos vetores e sua interação com os hospedeiros e meio. Assim, são necessárias investigações que procurem esclarecer se de fato a fêmea coletada no Parque Jaraguá é de fato a de *Lutzomyia longipalpis*. Também é de relevância o estudo da abundância desta espécie e das outras

da fauna flebotomínea, considerando ambientes impactados em maior ou menor grau , assim como a presença de infecção pela *Leishmania* em flebotomíneos, a sazonalidade e ritmo horário noturno das espécies. Com isto pode-se melhor compreender fatores de risco associados aos vetores nessa região que é uma área vulnerável à transmissão da LVA e com potencial de transmissão de LTA.

2 Objetivo Geral

- Investigar a fauna flebotomínica no Parque Estadual do Jaraguá, em relação à infecção natural de suas espécies por *Leishmania spp*. e seus aspectos comportamentais.

2.1. Objetivos específicos

- Estimar a diversidade, riqueza, abundância e equitabilidade das espécies capturadas em pontos com maior ou menor impacto antrópico;
- Investigar a distribuição mensal/sazonalidade e frequência horária das espécies de flebotomíneos potencialmente transmissoras de *Leishmania spp*.;
- Investigar a infecção natural por *Leishmania spp.* em fêmeas de flebotomíneos;

3. Material e Métodos

3.1. Área de estudo

O Parque Estadual do Jaraguá (fig. 4) está localizado no bairro do Jaraguá, na região noroeste do município de São Paulo e possui como bairros vizinhos Perus e Pirituba, além do município de Osasco. O parque está localizado nas proximidades do trecho oeste do Rodoanel Mario Covas (SP- 021) que liga as marginais Pinheiros e Tietê à região Metropolitana de São Paulo. Localiza-se também próximo às rodovias que ligam o Gasoduto Bolívia-Mato Grosso do Sul ao oeste do Estado e demais áreas que vem se mostrando como rotas de expansão da transmissão da LVA no Estado de São Paulo (Silva, 2015).

Nas imediações do Parque, próximo a Estrada Turística, encontra-se a Aldeia Guarani Tekoa Pyau (fig. 4), também conhecida por Aldeia Jaraguá-Itu, composta por mais de 800 moradores e é subdividida em “parte de cima” (localizada mais próxima da Rodovia dos Bandeirantes) e “parte de baixo” (ao lado do parque). A aldeia tem saneamento básico deficiente e possui muitos cães, sendo conhecida como ponto de abandono desses animais. Como o cão é um reservatório conhecido de LVA, o

monitoramento do entorno do parque é de extrema importância, pois casos caninos de LVA podem preceder casos humanos (Schimming, 2012).

Fig. 4 – Mapa do Parque Estadual do Jaraguá mostrando o entorno e as trilhas.

(Adaptado de Google Earth)

O Parque Estadual do Jaraguá possui aproximadamente 492 hectares abrigando um dos últimos remanescentes de Mata Atlântica da Região Metropolitana de São Paulo. Criado em 1961 a partir de uma fazenda, o parque possui uma riqueza em espécies nativas de flora e fauna como saguis, macacos-pregos, ipês-amarelos, entre outros. Suas trilhas e montanhas atraem muitos turistas interessados em turismo ecológico (Secretaria de Meio Ambiente, 2010).

O Parque recebe diariamente a visita de escolares, religiosos, pessoas interessadas em corridas, caminhadas e trilhas. Suas visitas podem ou não serem guiadas pelas três trilhas: da Bica, do Pai Zé e do Silêncio. Outro ponto turístico muito visitado é a trilha para o Pico do Jaraguá (Pai Zé), onde se encontra o ponto mais alto da cidade.

3.2. Coleta de flebotomíneos

As coletas foram realizadas quinzenalmente, das 18:00 às 10:00 horas, durante 16 meses consecutivos de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016 (com exceção de dezembro de 2015, que foi mensal), com armadilhas luminosas do tipo "CDC light traps" (fig. 5) e armadilhas de Shannon, nas cores branca e preta. (fig. 8), em ambiente antrópico (fig. 7) e de mata (fig. 6).

As armadilhas tipo CDC foram instaladas em locais com maior ou menor impacto antrópico. Em uma das armadilhas, a câmara coletora foi substituída por uma gaiola de Nylon (25x25x25 cm) na qual os espécimes coletados permaneceram mais protegidos da corrente de vento e com maiores chances de estarem vivos quando a armadilha foi desligada. Esta gaiola foi levada ao Laboratório de Entomologia em Saúde Pública (LESP), da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (FSP-USP) para dissecção das fêmeas e investigação da infecção natural por flagelados em seus tubos digestórios. Os espécimes coletados nas outras armadilhas foram triados e identificados pelo Labfauna no Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo (CCZ).

Nas armadilhas de Shannon um coletor fez a coleta por busca ativa utilizando capturador de Castro. A cada hora, os espécimes coletados foram separados em frascos individuais. Os exemplares coletados foram transportados para o LESP onde os machos foram clarificados segundo processo descrito por Forattini (1973) e identificados seguindo-se a chave da Galati (2015), e as fêmeas dissecadas para investigação da infecção por flagelados e identificação da espécie. A abreviação no nome dos gêneros foi feita de acordo com Marcondes (2007)

Fig. 5 – Exemplo de armadilha do tipo CDC

Fig. 6 – Exemplo de local na Trilha da Bica.

Fig. 7 – Exemplo de local na Aldeia.

Fig. 8 – Exemplo de armadilha de Shannon

3.2.1.Pontos de coleta

Foram amostrados um total de 10 pontos de coleta (8 com CDC e 2 com Shannon) em áreas de maior ou menor impacto antrópico descritos a seguir (tabela 1):

Tabela 1 – Características e tipos de áreas amostradas:

Tipo de Impacto	Características
Baixo	Sem ação antrópica; nenhum ou fluxo restrito de pessoas (funcionários do parque)
Médio	Baixa a média ação antrópica, pode possuir alguma construção; Baixo fluxo de pessoas e animais
Alto	Alta ação antrópica, possui construções e médio a alto fluxo de pessoas e animais

- CDC1: mata - Trilha do Silêncio; ponto de menor impacto antrópico; localizado nos fundos da trilha onde só é permitida a entrada de funcionários para manutenção de caixas d’agua. A armadilha permaneceu durante todo o estudo;

- CDC2: mata - Trilha do Silêncio; ponto de menor impacto antrópico; localizado no início da parte final da trilha, onde só é permitida a entrada de funcionários para manutenção de caixas d'agua. A armadilha permaneceu durante todo o estudo;
- CDC3: mata - Trilha do Silêncio; ponto com médio impacto antrópico; localizado no início trilha, colocada em um galho de uma árvore próximo a entrada da trilha. A armadilha permaneceu até março de 2016;
- CDC4: Trilha da Bica; ponto de médio impacto antrópico; localizado a 50m do inicio da trilha. A armadilha permaneceu até março de 2016;
- CDC5: Galinheiro da Trilha da Bica; ponto de alto impacto antrópico; localizado em uma casa dentro do parque com a armadilha voltada para a Trilha da Bica. A armadilha se iniciou em outubro de 2015 e permaneceu até o fim do estudo;
- CDC6: Localizado nos fundos da administração; local com baixo impacto antrópico; próximo à bananeira e locais de depósito orgânico. A armadilha se iniciou em agosto de 2016 e permaneceu até o fim do estudo;
- CDC7: Casa da Dona Maria, localizada próximo à aldeia na Estrada Turística do Jaraguá; local de médio impacto antrópico; próximo a bananeiras e um pequeno curso de água. A armadilha se iniciou em setembro de 2016 e permaneceu até o fim do estudo;
- CDC8: Aldeia, localizada no charco formado por curso de água ao lado da aldeia na Estrada Turística do Jaraguá; local de médio impacto antrópico. As coletas neste ponto iniciaram em setembro de 2015 e permaneceu até janeiro de 2016;
- Shannon: mata: ponto de menor impacto antrópico, localizado na parte final da Trilha do Silêncio, onde só é permitida a entrada de funcionários para manutenção de caixas d'agua. Localizado entre a CDC1 e a CDC2. A armadilha permaneceu durante todo o estudo;
- Shannon: peridomicílio, localizado próximo à administração do parque; ponto de alto impacto antrópico e de um banheiro público. A armadilha permaneceu durante todo o estudo.

Além destas capturas regulares, também foram feitas aspirações esporádicas no banheiro público e em um tronco de árvore próximo no início da Trilha do Silêncio, no peridomicílio.

3.3. Investigação da infecção natural por flagelados em flebotomíneos

A pesquisa foi feita segundo a metodologia de Ryan *et. al.* (1987), na qual as fêmeas foram dissecadas em estereoscópio com auxílio de dois estiletes sobre lâminas esterilizadas (colocadas na estufa por 12 horas a 150 ºC) em uma gota de solução de salina estéril. Com o auxílio dos estiletes, separou-se a cabeça do resto do corpo. A seguir, foi feita uma pequena incisão entre o 8º e 9º tergitos, e com movimento em ziguezague e leve tração da terminália em sentido oposto ao do tórax, o tubo digestório e espermatecas foram expostos. Após este procedimento, foi colocada uma lamínula sobre a gota de salina contendo o tubo digestório e demais partes do inseto. Sob microscópio, em aumento de 400 vezes, foi realizada a identificação da espécie do flebotomíneo com base na morfologia das espermatecas e outras partes do corpo, quando necessário e observação do tubo digestório na busca por flagelados. As fêmeas dissecadas para a investigação de flagelados foram acondicionadas em pequenos tubos do tipo Eppendorf com álcool absoluto, em pools ou isoladamente, segundo data, tipo de coleta, local e espécie, para posterior análise molecular por PCR (Polymerase Chain Reaction).

3.3.1. Testes moleculares para identificação de *Leishmania*

A realização dos testes moleculares foi realizada no Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo. A extração do DNA seguiu o protocolo estabelecido por Savani (2004), onde os tubos contendo as amostras de flebótomos do campo sofreram uma centrifugação por 10 minutos a 12000 rpm. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento foi adicionado a uma solução salina tamponada de 500µl (7 mM Na_2HPO_4, 26 mM NaH_2PO_4, 130 mM NaCl), para a realização de uma homogeneização e uma nova centrifugação. O processo de lavagem foi feito por duas vezes, onde ao fim de cada processo, o sobrenadante retirado.

Com o sedimento ressuspendido em 200 µl de TE (10 mM Tris pH 7,5, 1 mM EDTA pH 8,0), houve uma homogeneização e uma maceração, para posterior adição de 1% de Sódio-dodecil-sulfato (SDS) e 100 µg/ml de proteinase K, para uma leve homogeneização e incubação a 42°C por duas horas.

Um volume de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (na proporção 25:24:1) foi adicionado à mistura para nova homogeneização e centrifugação a 12000 rpm por 5 minutos na centrífuga refrigerada. A fase aquosa foi retirada com cuidado para não atrapalhar a interface e foi colocada em novo microtubo, para o qual foi acrescentado outra vez um volume de solução de fenol/clorofórmio/álcool isoamílico. O procedimento foi realizado por três vezes. Acrescentou-se à amostra 1 volume de clorofórmio com álcool isoamílico (24:1), a nova fase aquosa foi retirada para um microtubo diferente, sendo o processo realizado por 3 vezes.

Esta última fase aquosa teve adição de 0,3M de acetato de sódio e 2,5 volumes de álcool etílico absoluto gelado, para ser armazenada "overnight" em freezer a –20°C. A amostra refrigerada sofreu uma nova centrifugação por 10 minutos a 12000 rpm e o precipitado passou por uma lavagem com 500 µl de álcool etílico 70% gelado para depois secar à temperatura ambiente e sofrer uma nova ressuspensão com 20 µl de TE. A amostra de DNA foi armazenada em freezer a –20°C até o momento da realização da PCR.

Como sequência alvo da reação em cadeia da polimerase (PCR), a região escolhida foi a do DNA ribossômico (rDNA), que codifica a subunidade menor do ribossomo (SSU). Esta região contém uma ampla variedade de regiões conservadas, que permite a identificação do gênero e dos subgêneros de *Leishmania* (ULIANA et al., 1994). Para isto, foram utilizados os oligonucleotídeos S4 (5'- GAT CCA GCT GCA GGT TCA CC -3') e S12 (5'- GGT TGA TTC CGT CAA CGG AC -3'),que na sua amplificação gera um fragmento de 520 bp.

Para a realização da PCR, o volume final tinha 50 µl onde, 2 µl eram do DNA amostral (20ng), 1X de enzima tampão, 2 mM cloreto de magnésio, 0,2 mM deoxinucleotídeos trifosfatos, 0,2 µM de cada oligonucleotídeo utilizado e 2 U de *Taq* DNA Polimerase (Invitrogen Recombinant Brazilian). Para o controle positivo, foram incluídos 40 ng de DNA de *L. (L.) infantum chagasi* e como controle negativo, água bidestilada autoclavada ou TE.

As reações da PCR foram iniciadas em termociclador (Biorad) com um ciclo de desnaturação a 94 ºC por 3 minutos, depois 35 ciclos a 94°C por 1 minuto, 50°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto, e após o fim da reação, foi realizada uma extensão final por 7 minutos a 72°C. A análise foi feita por eletroforese em gel de agarose a 2,0% num tampão TAE 1X (40 mM Tris-acetato, 2mM EDTA pH 8,0) corado com brometo de etídeo 0,3 µg/ml, e uma diferença de potencial de 3 a 5 V/cm até que o azul de bromofenol do tampão de amostras (0,25% de azul de bromofenol, 0,25% de xilenocianol, 15% de ficoll tipo 400) percorresse mais de dois terços do gel. Como padrão de tamanho molecular foi utilizado 100 bp DNA ladder (Gibco-BRL). A observação das bandas no gel foi feita sob luz ultravioleta e fotografadas com câmera fotográfica.

Foi realizada uma segunda PCR (Nested-PCR) utilizando como molde o produto da primeira, com os oligonucleotídeos S17 (5'- CCAAG CTGCC CAGTA GAAT -3') e S18 (5'- TCGGG CGGAT AAAAC ACC- 3'). A segunda reação foi feita com desnaturação de 94 ºC por 4 minutos, seguindo-se 30 ciclos de 94ºC por 1 minuto, 55°C por 1 minuto e 72ºC por 30 segundos, seguindo as mesmas condições descritas anteriormente, usando como DNA alvo 1µl da primeira reação com os oligonucleotídeos S4 e S12. A análise do produto foi realizada conforme descrito anteriormente e o fragmento amplificado nesta PCR foi de aproximadamente 490 bp.

3.4. Dados climáticos.

Os dados referentes a precipitação mensal e temperaturas foram obtidos para o município de São Paulo, para o período de estudo, junto ao Instituto de Astronomia, Geofísicas e Ciências Atmosféricas da Universidade de São Paulo (IAG/USP).

3.5. Análise estatística

Para as análises estatísticas foram utilizados os seguintes índices: Índice de abundância de espécies padronizado (IAEP), média geométrica de Williams, índice de Shannon e índice de Pielou, além da porcentagem. O IAEP corresponde à abundância de uma determinada espécie em relação às demais num determinado espaço e tempo. Em seu cálculo, é considerado o número de indivíduos capturados de cada uma das espécies, em cada um dos pontos amostrais de um determinado local e período.

A abundância, diversidade e equitabilidade das espécies foi obtida pelas coletas com CDC.

Para o cálculo da abundância das espécies de flebotomíneos, utilizou-se o Índice de Abundância das Espécies (IAE), conforme Roberts & Hsi (1979), seguindo a fórmula:

$$IAE = \frac{a + Rj}{K}$$

sendo:

a = número de pontos de captura em que a espécie esteve ausente x ***c***;

c **=** maior valor obtido no "ranking" das espécies, segundo suas frequências em cada ponto de captura, considerando todos os pontos + 1.

Rj **=** somatória das posições no "ranking" de cada espécie;

K **=** número de pontos de captura.

Convertendo-se os valores obtidos de IAE em uma escala entre 0 e 1 obtém-se o Índice de Abundância Padronizado (IAEP). Neste índice, o valor 1 ou mais próximo de 1 corresponde ao da espécie mais abundante e o mais próximo de 0 ao da menos abundantes. A fórmula para o cálculo do IAEP é:

$$IAEP = \frac{c - IAE}{c - 1}$$

A Média geométrica de Williams é uma média geométrica modificada, sendo assim, uma medida de tendência central que reflete a frequência e a regularidade das espécies nas coletas (Haddow, 1960). Foi utilizada para avaliar a atividade da espécie mais abundantes.

A fórmula utilizada para o cálculo é:

$$\overline{X}w = \left[anti\log\left(\frac{\sum \log(y1+1) + \log(y2+1)...\log(yn+1)}{N} \right) \right] - 1$$

Onde y é cada valor de uma série de N observações.

O índice de Shannon é utilizado para analisar a diversidade de espécies em um determinado ambiente. Seu cálculo estabelece a relação entre o número de espécies e o número de indivíduos capturados em um determinado ponto, permitindo a comparação

entre eles, pois um pode apresentar maior riqueza em espécies que outro, mas não necessariamente em indivíduos, por unidade de área. Sua fórmula é:

H = - Σ pi ln (pi), onde:

pi = proporção de espécimes encontrada da enésima espécie

Quando apenas uma espécie predomina absolutamente, H é menor do que quando várias espécies contribuem substancialmente e, quando a proporção das espécies é a mesma para todas as espécies, H apresenta o máximo valor possível.

O índice de Pielou é uma medida de proporção em que cada espécie contribui na comunidade de um determinado ponto. Quando todas as espécies apresentam a mesma proporção de indivíduos tem-se a máxima equitabilidade. Todavia, esta situação não é muito comum de ocorrer. Assim, Pielou introduziu a seguinte medida:

$$J = \frac{H}{Ln(S)}$$

onde, S = nº de espécies e H = índice de Shannon, como uma medida de equitabilidade ou de dominância. Quanto apenas uma espécie ou poucas delas são dominantes, o valor de J é baixo. Quando houver uma proporção mais igualitária entre as espécies, o valor de J será maior (Hayek, 1997).

A frequência foi dada por porcentagem (%) que é a fração de um número inteiro expressa em centésimos. Serve para distinguir a quantidade de valores pela quantidade total de valores, sendo sua fórmula:

$$\frac{Quantidade}{Total} * 100$$

A taxa de infecção natural foi expressa pelo número de pools positivos em relação ao número total de insetos testados, multiplicado por 100. Sendo a sua fórmula:

$$\text{TI} = \frac{\text{nº de pools positivos}}{\text{nº de insetos testados}} \text{ x } 100$$

Os dados foram explorados para encontrar significância em alguns dos resultados obtidos.

O teste de de Pearson foi utilizado para medir o grau de correlação entre variáveis, onde seu coeficiente varia entre -1,0 e 1,0. O coeficiente é obtido através da divisão das covariâncias pelos produtos dos desvios padrão. Correlações de valor 0,7 a 0,9 (positivos ou negativos) sugerem forte significância.

O teste de Spearman é uma correlação não-paramétrica utilizada quando o conjunto de dados obtidos não possuem uma relação no formato de curva crescente ou decrescente.

Os testes de Pearson e de Spearman foram realizados para investigar possível correlação entre as médias obtidas de *Pintomyia fischeri* por armadilha CDC instaladas nos 5 pontos constantes durante o estudo (representados por dois na Trilha da Bica e três na Trilha do Silêncio) e as variáveis climáticas: precipitação mensal, mínima e máxima das temperaturas nos dias de coleta.

O qui-quadrado (X^2) foi utilizado para comparar a frequência de espécimes de *Pi. fischeri* coletados na armadilha de Shannon preta e branca.

As análises foram feitas no programa Microsoft Excel versão 2010 e as correlações no IBM SPSS Statistics versão 23. Como nível de significância foi utilizado $P < 0,05$.

4. Resultados

Durante dezesseis meses consecutivos de coleta com o uso de armadilhas do tipo CDC e de Shannon das cores branca e preta, assim como nas coletas esporádicas nas paredes de banheiro e tronco de árvore, foi capturado um total de 673 espécimes, divididos em 9 gêneros e 15 espécies: *Brumptomyia cardosoi* (Barretto & Coutinho, 1941), *Brumptomyia carvalheiroi* Shimabukuro, Marassá & Galati, 2007, *Brumptomyia cunhai* (Mangabeira, 1942), *Brumptomyia nitzulescui* (Costa Lima, 1932), *Expapillata firmatoi* (Barretto, Martins & Pellegrino, 1956), *Lutzomyia* sp., *Martinsmyia alphabetica* (Fonseca, 1936), *Migonemyia migonei* (França, 1920), *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939), *Pintomyia bianchigalatiae* (Andrade Filho, Aguiar, Dias & Falcão, 1999), *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926), *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932). *Psathyromyia pascalei* (Coutinho & Barretto, 1940), *Psychodopygus ayrozai* (Barretto & Coutinho, 1940) e *Psychodopygus lloydi* (Antunes, 1937) tab. 2).

As espécies mais frequentes foram *Pintomyia fischeri*, *Migonemyia migonei*, *Expapillata firmatoi* e *Psathyromyia pascalei*, respectivamente.

Tabela 2 – Número e percentual de espécimes coletados, segundo espécies capturadas nas coletas realizadas no Parque Estadual do Jaraguá. Setembro 2015 a Dezembro de 2016.

Espécie	Nº	%
Brumptomyia cardosoi	3	0,4
Brumptomyia carvalheiroi	3	0,4
Brumptomyia cunhai	5	0,7
Brumptomyia nitzulescui	4	0,6
Expapillata firmatoi	40	5,9
*Lutzomyia sp. (*próxima a *Lu. longipalpis*)	1	0,1
Martinsmyia alphabetica	1	0,1
Migonemyia migonei	42	6,2
Nyssomyia whitmani	1	0,1
Pintomyia bianchigalatiae	1	0,1
Pintomyia fischeri	535	79,5
Pintomyia monticola	6	0,9
Psathyromyia pascalei	25	3,7
Psychodopygus ayrozai	1	0,1
Psychodopygus lloydi	5	0,7
Total	673	100

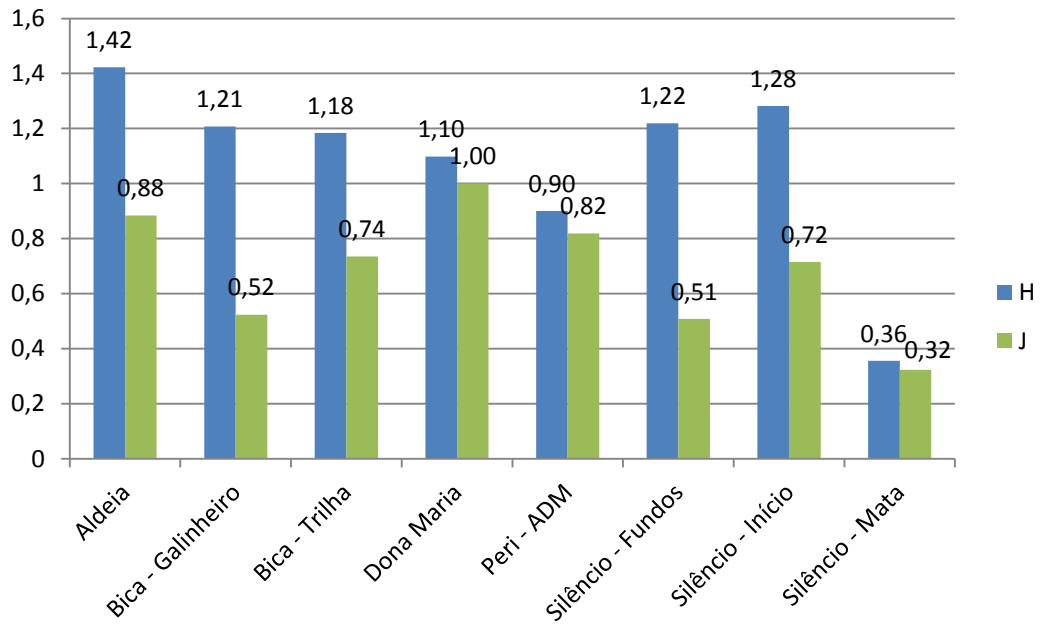
Nas coletas com CDC, nos oito locais amostrados, a maior riqueza foi evidenciada no ponto Trilha do Silêncio-Fundo (11 espécies), seguida no da Trilha da Bica-Galinheiro (10), e as menores, em igual número, em três pontos: Casa da Dona Maria, Peri ADM e Trilha do Silêncio-mata (3 espécies). O maior diversidade, segundo o Índice de Shannon, foi obtida na Aldeia, seguida pela Trilha do Silêncio-Fundos. As mais baixas foram obtidas nos três pontos com a menor riqueza. A máxima equitabilidade (1,0) foi obtida no ponto Casa da Dona Maria e o menor no ponto da Trilha Silêncio-mata (0,36). Com exceção da Aldeia, os índices de Pielou menores foram influenciados pela maior frequência de *Pi. fischeri*. (Tab.3, Fig. 9).

Tab. 3 – Número de espécimes capturados em armadilhas CDC, por espécies e ponto de coleta. Parque Estadual do Jaraguá de set/2015 a dez/2016.

Espécie	Aldeia	Bica - Galinheiro	Bica - Trilha	Dona Maria	Peri - ADM	Silêncio - Fundos	Silêncio - Início	Silêncio - Mata	Total
Br. cardosoi	0	1	2	0	0	1	1	0	5
Br. carvalheiroi	0	2	0	0	0	1	0	0	3
Br. cunhai	1	0	0	0	0	2	2	0	5
Br. nitzulescui	0	1	0	0	0	0	1	0	2
Ex. firmatoi	1	8	1	2	0	24	3	1	40
Lutzomyia sp.	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Mg. migonei	2	18	2	2	2	7	8	0	41
Mt. alphabetica	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Ny. whitmani	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Pa. pascalei	5	7	7	0	0	3	3	0	25
Pi. bianchigalatiae	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Pi. fischeri	3	98	15	2	5	70	27	21	241
Pi. monticola	0	5	0	0	0	1	0	0	6
Ps. ayrozai	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Ps. lloydi	0	4	0	0	0	1	0	0	5
Total	12	145	27	6	8	112	45	23	378
Índice de Shannon (H)	1,4243	1,2071	1,1841	1,0987	0,9003	1,2189	1,2822	0,3557	-
Índice de Pielou (J)	0,8850	0,5242	0,6827	1,000	0,8195	0,5083	0,6589	0,3237	-
Riqueza (S)	5	10	5	3	3	11	7	3	15

.

Fig. 9 – Índices de Shannon e de Pielou das espécies de flebotomíneos capturadas nas armadilhas CDC no Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.



O Índice de abundância padronizado (IAEP) obtido dos oito pontos amostrados com CDC mostra que *Pi. fischeri* é a espécie mais abundante, com seu valor (0,97) que se aproxima de 1,0. *Mg. migonei*, *Ex. firmatoi* e *Pa. pascalei* seguem, respectivamente, nas 2ª, 3ª e 4ª posições. *Lutzomyia sp.* (próxima a *Lu. longipalpis)* ficou ranqueada na 9ª posição (fig. 10).

Fig. 10 – Índice de Abundância Padronizado das espécies capturadas em armadilhas CDC no Parque Estadual do Jaraguá, setembro de 2015 a dezembro de 2016.

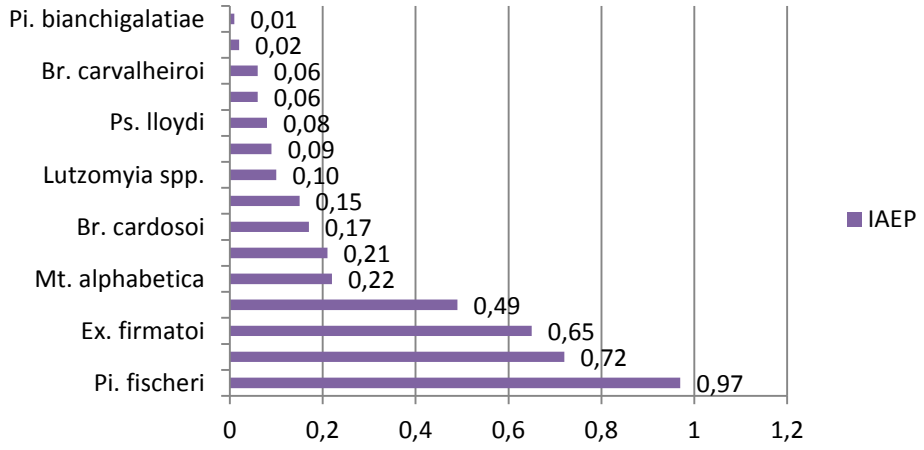
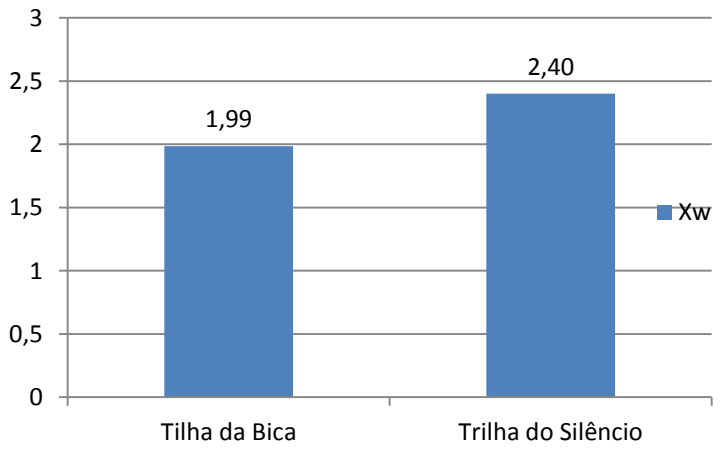


Tabela 4 – Posição das espécies capturadas nas armadilhas de CDC com os índices de abundância no Parque Estadual do Jaraguá, setembro de 2015 a dezembro de 2016.

Espécie	IAE	IAEP	Posição
Pi. fischeri	1,31	0,97	1ª
Mg. migonei	3,50	0,72	2ª
Ex. firmatoi	4,13	0,65	3ª
Pa. pascalei	5,56	0,49	4ª
Mt. alphabetica	8,06	0,22	5ª
Br. cunhai	8,06	0,21	6ª
Br. cardosoi	8,44	0,17	7ª
Ny. whitmani	8,62	0,15	8ª
*Lu. sp. (*próxima a *Lu. longipalpis)*	9,06	0,10	9ª
Pi. monticola	9,19	0,09	10ª
Ps. lloydi	9,31	0,08	11ª
Br. nitzulescui	9,44	0,06	12ª
Br. carvalheiroi	9,44	0,06	12ª
Ps. ayrozai	9,81	0,02	13ª
Pi. bianchigalatiae	9,87	0,01	14ª

A Média de Williams (fig. 11) obtidas para *Pi. fischeri* nas coletas efetuadas nos três pontos da Trilha do Silêncio e nos dois na Bica, mostrou-se mais elevada na primeira trilha (2,4 e 1,9 insetos por armadilha, respectivamente).

Fig. 11 – Média Geométrica de Williams de *Pi. fischeri* por armadilha, nas coletas com CDC nas trilhas da Bica e Silêncio do Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.



As médias mensais por armadilha para *Pi. fischeri* obtidas com CDC nos 5 pontos constantes, foram mais elevadas em setembro e dezembro de 2015 e julho 2016 (tabela 4) e em relação à estação do ano, no inverno (fig. 12).

Todavia, a análise de correlação entre essas médias mensais com variáveis climáticas, chuvas mensais e temperaturas mínima e máxima nos dias das coletas realizada, não mostrou correlação significante com essas variáveis climáticas (tabela 5; fig. 13; anexo C).

Tab. 5 – Médias mensais de espécimes de *Pi. fischeri* por armadilha distribuídas em cinco pontos nas trilhas da Bica e do Silêncio e precipitação mensal (em mm) no município de São Paulo. Setembro/2015 a dezembro/2016.

Mês	mm	Média
set/15	235,6	4,3
out/15	97,8	1,47
nov/15	307,8	0,4
dez/15	172,8	4,2
jan/16	168,5	2,7
fev/16	330,1	0,2
mar/16	193,8	1,7
abr/16	2,8	0,1
mai/16	151,5	0,8
jun/16	179,6	0
jul/16	7,4	4
ago/16	73,3	1,1
set/16	24,6	3
out/16	82,2	0
nov/16	187,7	0
dez/16	137,7	0

Fig. 12 – Média de espécimes de *Pi. fischeri* coletados nas CDC instaladas em cinco pontos distribuídos nas trilhas do Silêncio e da Bica, segundo estação do ano. Parque do Jaraguá, Set 2015 a dezembro de 2016.

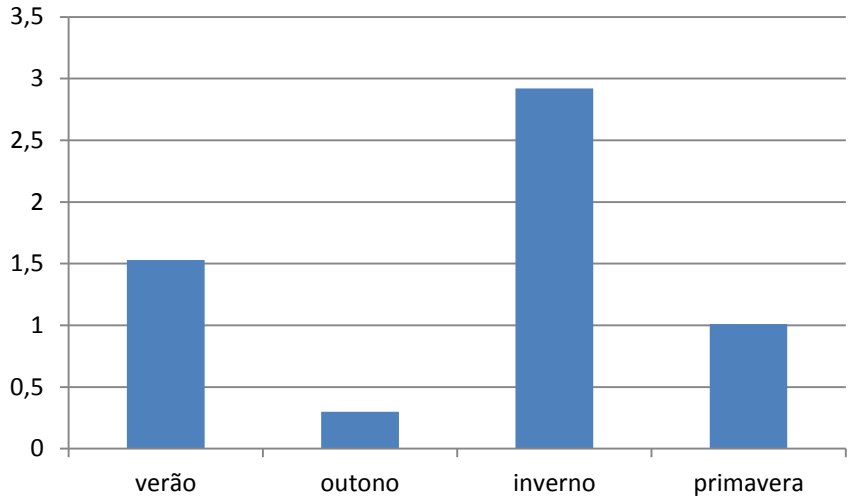
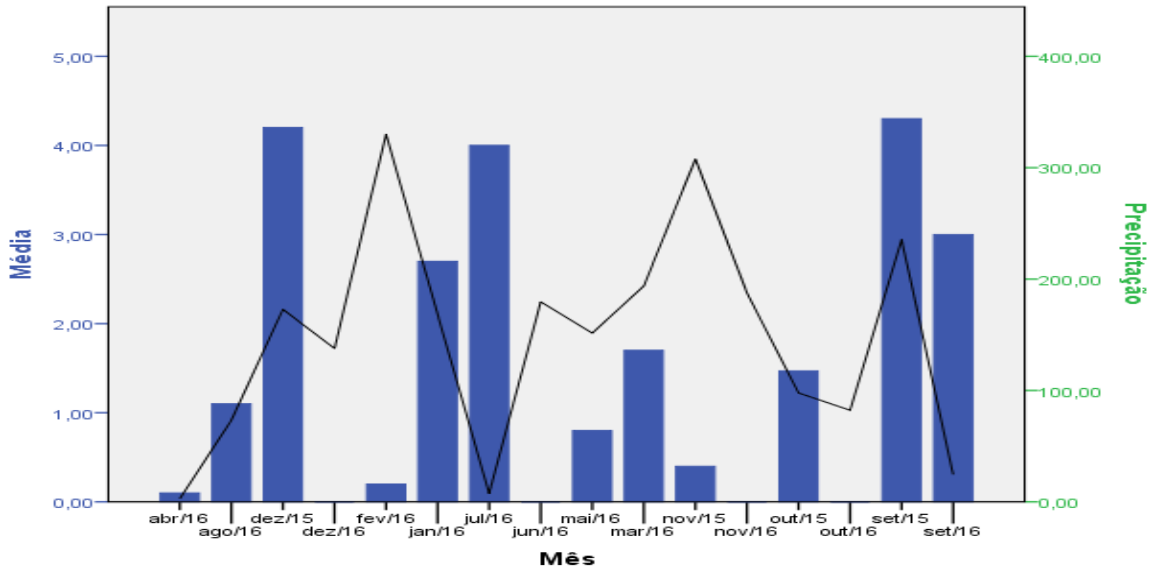


Fig. 13 – Distribuição das médias mensais de *Pi. fischeri* por armadilha distribuídas em cinco pontos nas trilhas da Bica e do Silêncio e precipitação mensal (em mm) no município de São Paulo. Set/2015 a Dez/2016. Linha = média de insetos; barras = precipitação mensal.



Nas coletas com armadilhas de Shannon branca ou preta, apenas *Pi. fischeri* foi coletada. Tanto na mata, como no peridomicílio a branca atraiu mais espécimes do que a preta, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$). Mas na mata a preta atrai 10 vezes mais que a branca e no peridomicílio este valor foi de 7,0 vezes (tab. 6).

Tabela 6 - Número de espécimes capturados de *Pi. fischeri*, segundo sexo e cor da armadilha de Shannon. Parque Jaraguá, set 2015 a dez/2016.

Ambiente	Mata		Peridomicílio		Total		
Armadilha/Sexo	M	F	M	F	M	F	Ambos sexos
Branca	-	81	-	95	-	176	176
Preta	-	8	4	17	4	25	29
Total	-	89	4	112	4	201	205
Branca/Preta		10,1*	-	5,6*		7,0*	
$\chi 2$		59,9		54,3		113,4	

*Diferença entre o número de fêmeas entre as armadilhas branca e preta pelo teste do $\chi 2$, com grau de liberdade = 1 $p < 0,001$.

As frequências horárias de *Pi. fischeri* das armadilhas branca e preta tanto na mata como no peridomicílio apresentam algumas diferenças: na branca o pico mais elevado ocorreu das 19 – 20h e um segundo pico entre 00 – 01h, ao passo que na preta, os respectivos picos ocorreram no horário das 22 – 23h e das 01 – 02 (figs. 14 e 15). Na armadilha branca a atividade se estendeu durante a noite toda e início da manhã, ao passo que na preta apenas até o horário das 02-03hr.

Fig. 14 – Distribuição da Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon branca do peridomicílio e da mata no Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.

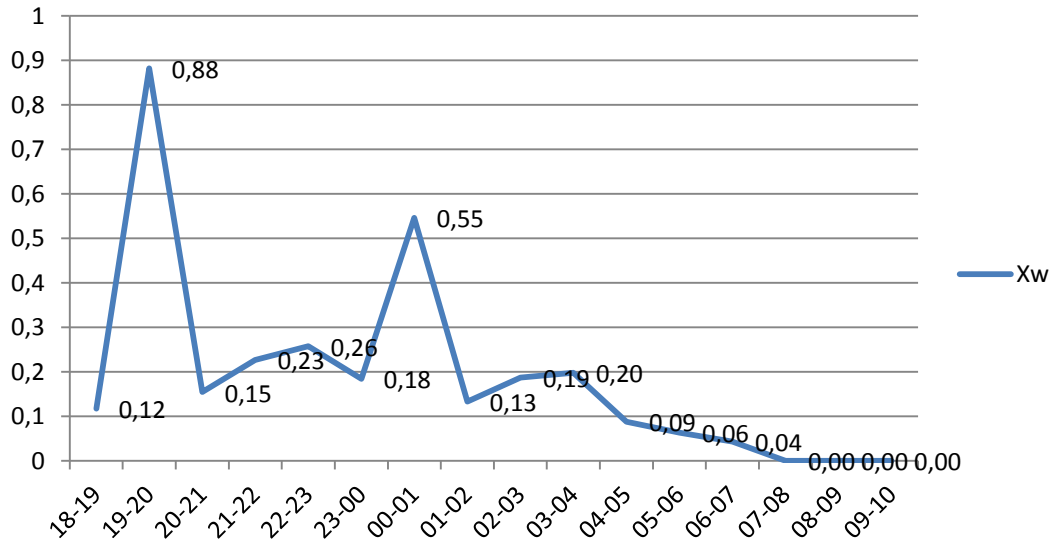
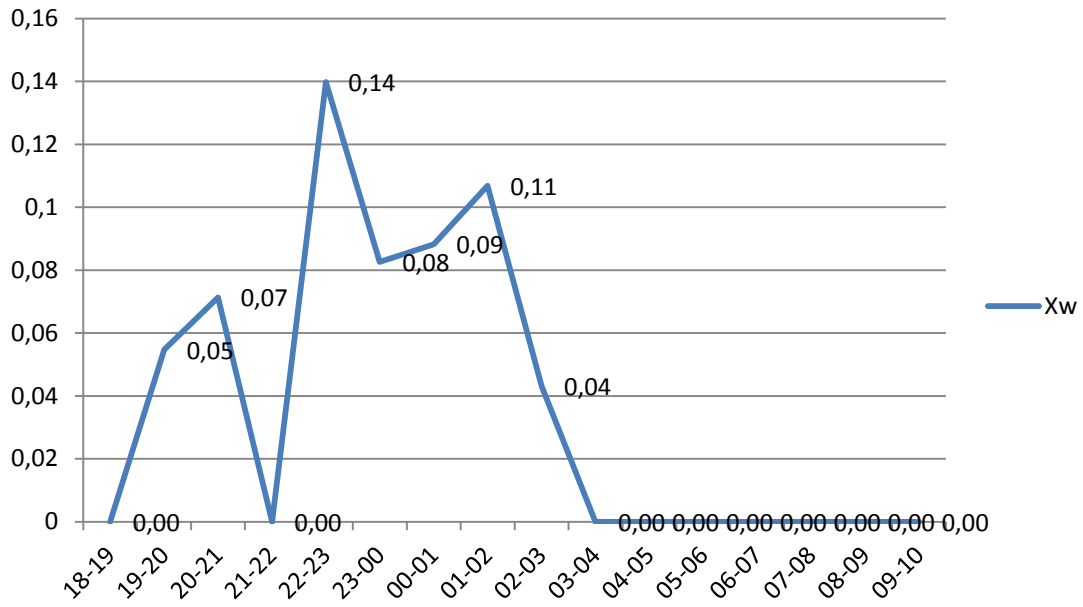


Fig. 15 – Distribuição da Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon Preta do peridomicílio e da Mata no Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.



Quando se analisa as médias horárias de Williams obtidas para *Pi. fischeri* por meio no conjunto das armadilhas branca e preta na mata e as compara com as do peridomicílio, pode-se notar que na mata o intervalo de atividade é mais longo, com vários picos durante a noite, sendo o maior deles entre 01-03 horas (fig. 16). Já no peridomicílio, o intervalo de atividade é menor e com um único pico das 22-23 horas (fig. 17).

Fig. 16 – Distribuição da Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon Branca e Preta no ecótopo Mata do Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.

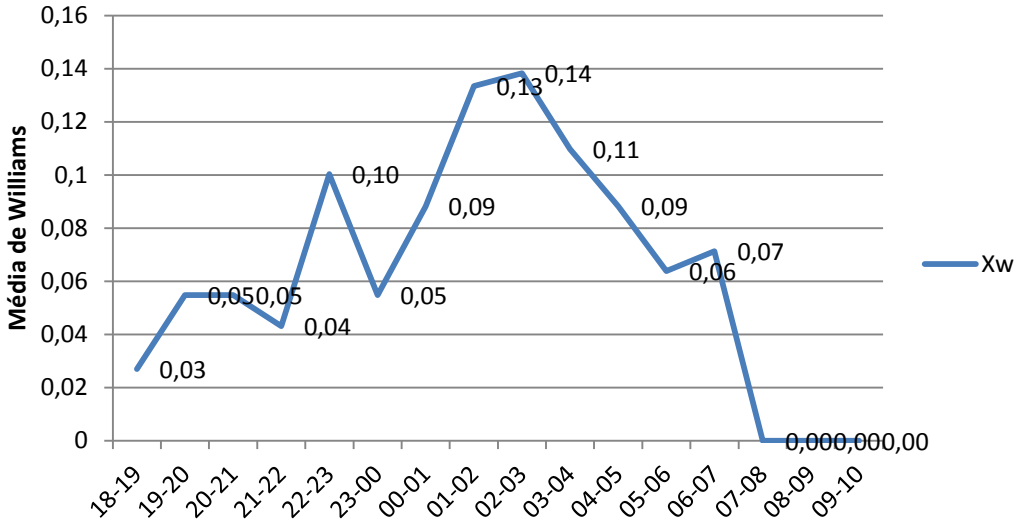
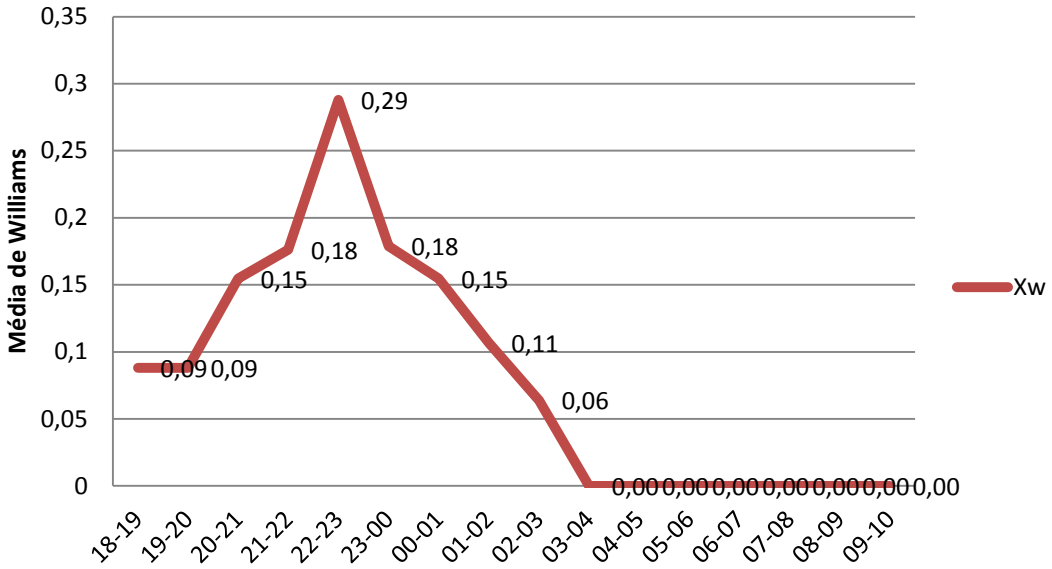


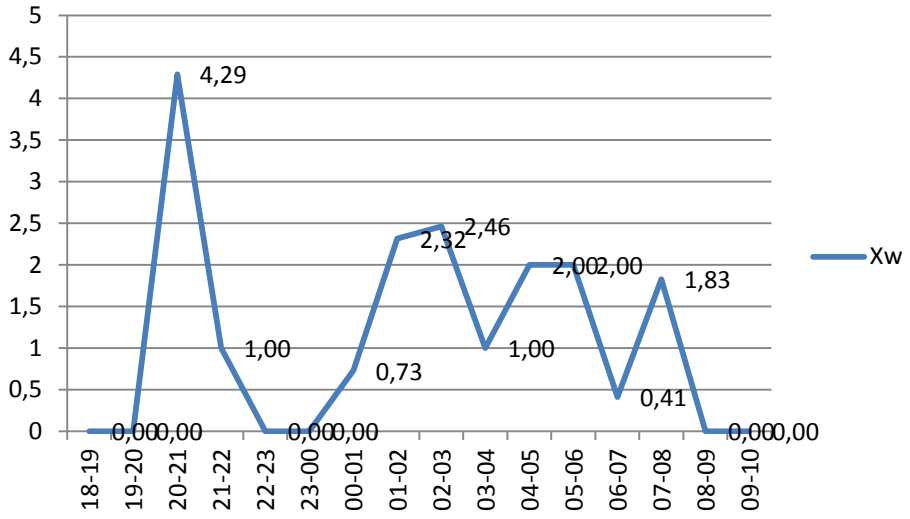
Fig. 17 – Distribuição da Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* na armadilha de Shannon Branca e Preta no ecótopo peridomicílio do Parque Estadual do Jaraguá de Setembro de 2015 a Dezembro de 2016.



Ocorreram duas capturas em um banheiro público situado aproximadamente 50 m do peridomicílio onde as armadilhas eram instaladas, em uma ocasião também se capturou insetos em um tronco de árvore distando cerca de 5 m das armadilhas do

peridomicílio concomitante a armadilha de Shannon. No banheiro foram coletados 82 insetos de *Pi. fischeri*, com a média de Williams por horário apresentada a figura 18, na qual pode-se notar um ritmo horário de atividade bem próximo ao da armadilha branca. Na única coleta por meio de aspiração em tronco de árvore foram obtidos 3 espécimes de *Pi. fischeri*.

Fig. 18 – Distribuição da Média Geométrica de Williams da frequência horária de *Pi. fischeri* no ecótopo banheiro do peridomicílio no Parque Estadual do Jaraguá nos dias 09/12/2015 e 21/07/2016



Na busca por infecção natural por leishmânia nas fêmeas capturadas na armadilha do tipo CDC da Trilha do Silêncio – Mata e das armadilhas de Shannon branca e preta do peridomicílio e da mata, inicialmente por dissecção e observação em microscópio óptico para investigação da presença de flagelados, sendo o material posteriormente analisado por PCR, foram analisadas 288 fêmeas de *Pi. fischeri* e uma de *Lu. sp.* (próxima à de *Lu. longipalpis*). Na pesquisa por flagelados, na dissecção, todos os espécimes mostraram-se negativos. Na fêmea de *Lu.* sp assim como nos 69 pools de fêmeas de *Pi. fischeri* não se detectou a presença de DNA de *Leishmania* spp. O resultado da PCR encontra-se no anexo B.

5. Discussão

Entre as quinze espécies encontradas nos 16 meses do estudo, foram coletadas, *Ex. firmatoi*, *Mg. migonei*, *Ny. whitmani*, *Pi. fischeri* e *Ps. ayrozai*, que têm sido incriminadas ou suspeitas de atuarem como vetoras de *Leishmania* spp., agentes de LTA (Diniz et al. 2014). Destaca-se o encontro novamente de uma fêmea provável de *Lu. longipalpis* - assim considerada, uma vez que a fêmea desta espécie, morfologicamente, não se distingue a de várias outras espécies afins (Galati, 2015) - como já assinalado neste mesmo parque por Silva (2015). Se de fato esta espécie for comprovada como *Lu. longipalpis*, vetor da *Leishmania infantum chagasi*, apesar de sua baixa frequência (apenas 1 fêmea em ambos os estudos), reforça-se a necessidade de monitoramento entomológico e avaliação dos cães do parque e vizinhança, em função do processo de expansão desta espécie e da doença no estado de São Paulo (Casanova et al. 2015).

A fauna flebotomínea no parque do presente estudo mostrou riqueza de 15 espécies, e, portanto, menor que a da encontrada por Silva (2015) nesta mesma localidade (18 espécies). Além disto, também diferiu nas espécies capturadas. Em relação ao estudo em Silva (2015) não foram capturadas as espécies *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920), *Lutzomyia amarali* (Barretto & Coutinho, 1940), *Evandromyia edwardsi* (Mangabeira, 1941) e *Psathyromyia baratai* Sábio, Andrade & Galati, 2015 (à época denominada de *Psathyromyia sp.);* em contra partida, coletou-se *Martinsmyia alphabetica*, não capturada anteriormente. No entanto, o rendimento das armadilhas CDC foi bem inferior, sendo o rendimento médio por armadilha nos pontos amostrados continuamente (Trilha do Silêncio e da Bica) de 2,2 insetos por armadilhas, enquanto no estudo anterior esta média variou nos pontos do parque do Jaraguá de 5,5 a 127,0 insetos por armadilha. Esta queda de rendimento talvez tenha sido influenciada pela estiagem de chuvas que ocorreu de 2014 a 2015, atingindo a região metropolitana. Possivelmente a densidade populacional dos flebotomíneos tenha sido duramente afetada por essa estiagem e o retorno de seu equilíbrio pode levar ainda algum tempo.

A média mais elevada para *Pintomyia fischeri* no inverno (fig. 12), mostra-se oposta à observada por Barretto (1943) na Serra da Cantareira, que encontrou nesta estação os valores mais baixos, e os mais altos, no verão. No estudo atual, os testes

estatísticos não mostram correlação estatisticamente significante entre as médias de captura por armadilha de *Pi. fischeri* no parque e as condições climáticas, envolvendo precipitação mensal e temperaturas mínimas e máximas nos dias da coleta. Possivelmente esta discordância entre estações em relação à observada na década de 40 e a falta de correlação seja reflexo de sua instabilidade populacional.

A distribuição das armadilhas levou em consideração o grau de preservação das áreas, circulação de pessoas e animais e abrigo das adversidades climáticas. Os locais com maior ação antrópica tendem a apresentar menor riqueza de espécies e quantidade de espécimes. No entanto, foge a este padrão o resultado obtido com a CDC localizada no galinheiro da trilha da Bica, pois mesmo sendo um local com forte impacto antrópico, ainda assim, apresenta uma grande riqueza de espécies de flebotomíneos (tabela 4). Outro destaque a ser feito em relação à trilha do Silêncio, é diferença no número de espécies coletados entre método de coleta e pontos amostrados. No início da trilha, apesar de ser um local com uma ação antrópica alta, capturou-se mais espécies (7) na CDC que a do meio da mata (3), porém, menos do que no fundo da trilha (11 espécies). No entanto, nesta trilha apenas uma espécie, *Pi. fischeri*, foi capturada nas armadilhas de Shannon.

Entre os oito pontos amostrados, o índice de Shannon (tabela 3) mostra seis pontos com escores acima de 1,0, um deles pouco menor que 1,0 e outro bem mais reduzido. O menor de todos os escores ocorre no meio da trilha do Silêncio, com *Pi. fischeri* respondendo pela maior proporção. Este ponto coincide com o da instalação das armadilhas de Shannon na mata, onde apenas esta espécie compareceu nas coletas. Corroborando assim, a afirmação de Barretto (1943) que menciona o hábito selvático desta espécie. Esses ambientes com baixa atividade antrópica, mantendo o ambiente relativamente mais preservado, onde espécies mais sensíveis e menos adaptadas a locais como abrigos de animais e pastos podem competir igualmente por alimento e locais para oviposição.

Já, a análise da equitabilidade mostrada pelo índice de Pielou (J) apresenta uma um pouco diferenciada em relação ao índice Shannon. Pontos com nenhuma ou pouca dominância de espécies mostram-se com os índices mais altos, sendo estes os locais com ação antrópica maior e onde poucas espécies tendem a se manter.

Mas, o que de fato chama a atenção, é a coleta exclusivamente de *Pi. fischeri* nas armadilhas de Shannon. Isto porque na análise da abundância feita a partir de coletas com armadilhas tipo CDC, embora, haja domínio quase absoluto de *Pi. fischeri,* outras estão bem representadas nos ecótopos amostrados, amplamente distribuídos no parque, em locais pouco e muito antropizados.

A Média de Williams nas armadilhas com capturas contínuas (fig.11) reflete uma tendência de atividade mais elevada na Trilha do Silêncio, onde a cobertura mais densa da vegetação cria barreiras para correntes de vento que possam atrapalhar a locomoção por meio do voo dos flebotomíneos. O mesmo não se pode ser dito para as áreas mais antropizadas que mesmo com a oferta de fonte de alimentação sanguínea a falta de abrigo contra o vento pode impedir a livre movimentação dos insetos.

Moschin et. al. (2013), na Serra da Cantareira, obtiveram resultados semelhantes, com predomínio de *Pi. fischeri* e pouco rendimento das CDC. Todavia, nas armadilhas de Shannon *Pi. fischeri* dominou, mas não foi exclusiva e teve rendimentos bem mais elevados, nas duas cores, porém para as fêmeas a preta atraiu mais que a branca com diferença estatisticamente significante, diferente do que ocorreu no presente estudo (tab. 6).

Nas armadilhas de Shannon a atratividade exclusivamente de uma espécie é um tanto incomum. *Pi. fischeri* foi a única espécie presente nas capturas durante todo o estudo. Também foi observada a sua ocorrência exclusiva no ecótopo Banheiro e árvore. As capturas no ecótopo banheiro refletem uma adaptação já evidenciada da espécie da busca do repasto sanguíneo em locais de abrigo humano (Barretto, 1943).

Quando se analisa as médias de Williams das frequências horárias obtidas nas armadilhas de Shannon branca e preta e na mata e peridomicílio, observa-se uma atividade de *Pi. fischeri* mais intensificada na branca e também na mata. Na Shannon branca (fig. 14), é evidente uma atratividade mais contínua e prolongada do que na preta (fig.15). Na branca, ocorre um pico mais pronunciado das 19 – 20h, e o segundo pico se apresenta entre 00 – 01h. O primeiro pico se dá em horário com maior atividade humana, e no segundo, quando possivelmente a maior parte da população humana encontra-se dormindo.. Já na Shannon preta, temos picos mais proeminentes em horários de menor atividade humana. A análise das capturas no banheiro mostra um

comportamento semelhante ao da Shannon branca: Um pico de atividade mais evidente durante o início da noite e picos menores no início da madrugada e começo da manhã.

Já na análise conjunta de ambas as armadilhas de Shannon, em cada ambiente, têm-se novamente diferenças pronunciadas nos picos e duração da atividade. Apesar de ambas começarem no primeiro horário crepuscular vespertino, a armadilha do Peri (fig. 17) apresenta somente um pico de atividade (22 – 23h) e a atividade se estende até o horário de 02-03 horas, enquanto que na mata (fig. 16), são três picos, o primeiro coincidente com o do peridomicílio, o segundo e mais proeminente entre as 03 – 04h e um final entre 06 – 07h. A duração da atividade da armadilha da mata se estende por um período maior, indo até as 07h. Essas diferenças de atividades de *Pi. fischeri* entre os dois ambientes possivelmente esteja associada a hábitos das populações de hospedeiros que podem servir de fonte de alimentação sanguínea para as fêmeas, em cada um dos ambientes.

Observando-se as armadilhas do peridomicílio, no geral, pode-se ver que os picos iniciais de *Pi. fischeri* coincidem com horários onde as pessoas costumam chegar das atividades do cotidiano, o segundo pico se apresenta quando frequentemente as pessoas estão dormindo, criando assim uma maior oportunidade para as fêmeas realizarem o repasto sanguíneo. O último pico pode ser associado ao começo das atividades da população humana, quando as fêmeas mais "retardatárias" podem fazer uma última tentativa de repasto. Já na mata, os animais costumam ser mais ativos durante a noite e procurarem abrigos no início do crepúsculo matutino, portanto, a concordância do pico próximo ao fim da noite e começo da madrugada pode refletir numa melhor oportunidade para um repasto completo. Já ao fim da atividade mostrada no gráfico, os animais estão praticamente restritos aos seus abrigos, e assim há menos oportunidade para os repastos sanguíneos. Este comportamento é semelhante ao descrito por Vezenegho et. al. (2016) em *Anopheles darlingi* onde os picos de atividade das picadas ocorrem no início da noite, próximo ao horário de dormir. No início da manhã, a taxa de picadas é baixa e há o encontro de fêmeas mais velhas e portanto, retardatárias, que buscam também uma tentativa de repasto.

Para *Lu. longipalpis*, Casanova et. al. (2015) descrevem no Estado de São Paulo a ocorrência de duas populações distintas em relação ao feromônios secretados pelos machos, uma denominada de população com o quimiotipo (S)-9-Metilgermacreno-B,

associada a altas densidades de insetos, alta prevalência de casos caninos e ocorrência de casos humanos e com característica de colonização do inseto mais recente nos municípios. Por outro lado, o segundo tipo (cembreno-1) está associado a locais de baixa frequência de espécimes capturados nas armadilhas, baixa prevalência de casos caninos e colonização do inseto mais antiga dos municípios. Portanto, pela baixa frequência observada da possível *Lu. longipalpis* encontrada no Jaraguá, tanto no presente estudo como no de Silva (2015) sugere que se trata de um representante da população cembreno-1. No entanto, há necessidade do encontro de macho para confirmar se de fato estas fêmeas são de *Lu. longipalpis* e também para a caracterização química do feromônio.

No estado de São Paulo, *Pi. fischeri* vem sendo suspeito como principal vetor de LTA (Moschin et al. 2013) e, em alguns casos, atuando como vetor secundário em várias localidades (Camargo-Neves, 2002) Em estudos recentes, foi proposto que em locais como municípios da Grande São Paulo, *Pi. fischeri* e *Mg migonei* podem estar participando na transmissão de LVA (Galvis-Ovallos et. al. 2017) e em Córdoba na Argentina (Moya et. al 2015) e São Vicente Férrer em Pernambuco (Carvalho et. al. 2010), *Mg. migonei*, possam de alguma forma atuar na expansão e urbanização da LVA. Nesses locais não há registros da presença *Lu. longipalpis* ou esta se encontra em baixa densidade, e no entanto, se assinala cães infectados por *Leishmania infantum chagasi*.

Em Córdoba na Argentina, *Mg. migonei* e *Ny. withmani* foram sugeridas como possíveis vetoras de *L. infantum chagasi* e posteriormente confirmado com o uso de PCR após capturas com insetos da espécie em locais onde surtos epidêmicos de LVA com baixas frequências de *L. longipalpis* e grande abundância destas (Moya et. al. 2015; Visintin et. al. 2016). Silva et. al. (2014), em estudo conduzido em Fortaleza, sugerem que *Mg. migonei* pode estar assumindo o lugar de vetor secundário de LVA, como observado através de mudanças comportamentais e densidade semelhante à de *Lu. longipalpis* em áreas endêmicas. Estudos de infecção experimental por *L. infantum chagasi* vem corroborando estas hipóteses e mostrando que *Mg. migonei* pode ser considerado um vetor permissivo e competente, podendo de alguma forma assumir um papel de vetor secundário e até mesmo principal em áreas endêmicas de LVA (Guimarães et. al. 2016).

Galvis-Ovallos et. al. (2017) mostraram em condições experimentais, uma taxa de sobrevivência de 21% de fêmeas de *Pi. fischeri* após o repasto sanguíneo e consequente oviposição, além de que, em aproximadamente 25% das fêmeas, foi identificado DNA de *Leishmania* através de PCR. Ainda é mostrado que 4% tinham formas flageladas e que ocorreu migração de formas flageladas que se desenvolveram no inseto para a parte torácica do tubo digestório, onde permanecem as formas infectantes do parasito. O estudo conduzido por Diniz et. al. (2014) mostra resultados semelhantes com *Leishmania braziliensis,* no qual, além de *Pi. fischeri*, outros vetores como *Ex. firmatoi*, *Mg. migonei* e *Ny. whitmani,* encontrados no Parque do Jaraguá, mostraram concordância gonotrófica, desenvolvimento de formas infectantes e sobrevivência a postura de ovos. A susceptibilidade desses insetos de se infectarem pela *Leishmania braziliensis* e a capacidade em manter e sustentar a infecção do parasito nas formas infectantes aliadas ao fato de que estas espécies possuem um comportamento de busca de alimento e abrigo no peri, são fatores que podem contribuir para o estabelecimento e manutenção do ciclo da doença neste ambiente.

A atratividade pelos cães também foi observada por Galvis-Ovallos et. al. (2017), que capturaram predominantemente *Pi. fischeri* nos canis amostrados.

Considerando-se que o Parque Estadual do Jaraguá possui grande circulação de cães e contiguidade com a aldeia, com alto grau de insalubridade (conhecida como um ponto de abandono canino), onde esses animais circulam livremente entre a aldeia e matas no entorno e interior do parque, uma população vulnerável dos indígenas com acesso irrestrito às matas para caça noturna, a presença na mata de um vetor permissivo, antropofílico e endofílico como *Pi. fischeri,* com atividade horária em concordância com atividades desta comunidade, além de outros vetores de *Le. braziliensis* incriminados ou confirmados, pode-se afirmar que o Parque do Jaraguá e seu entorno possui condições para que ocorra o ciclo de LTA e também, vulnerabilidade e possível receptividade à introdução do ciclo da LVA na cidade de São Paulo.

Por fim, a busca por infecção natural não houve resultado positivo para *Leishmania spp*., talvez isso se deva ao fato de que possa ter sido uma amostra pequena, mas ainda é algo que deve ser investigado posteriormente em outros estudos.

6. Conclusões

A fauna flebotomínea no presente estudo foi composta por 15 espécies pertencentes a 9 gêneros;

As maiores riquezas foram nas trilhas do Silêncio - fundos e na da Bica (galinheiro); a maior diversidade observada na Aldeia e Trilha do Silêncio – fundos; os pontos com maior e menor grau de equitabilidade, foram Casa da Dona Maria e Trilha do Silêncio – Mata;

Pi. fischeri foi a espécie mais abundante nas capturas realizadas com CDC, seguida por *Mg. migonei* e *Ex. firmatoi*, as três suspeitas de atuarem na transmissão de LTA;

A distribuição sazonal de *Pi. fischeri*, os dados apontam para a sua maior frequência no inverno;

A frequência horária de *Pi. fischeri* , independente do ambiente de peridomicílio ou mata, a armadilha de cor branca os picos ocorreram entre 19 – 20h e 00 – 01h, enquanto na de cor preta, entre 22 – 23h e 01 – 02h. Na armadilha branca a espécie mostrou atividade continua durante a noite toda e início da manhã e a preta até o intervalo de 02-03hr;

A investigação da infecção natural por *Leishmania spp.* em fêmeas de flebotomíneos não obteve resultado.

7. Referências Bibiográficas

Barretto, MP. Observacões sobre a Biologia em Condições Naturais, dos Flebótomos de São Paulo (Diptera: Psychodidae). São Paulo: Tipografia Rossolino, 1943.

Battisti, JM; Lawyer, PG; Minnick, MF. Colonization of *Lutzomyia verrucarum* and *Lutzomyia longipalpis* Sand Flies (Diptera: Psychodidae) by *Bartonella bacilliformis*, the Etiologic Agent of Carrión's Disease. PLoS Negl Trop Dis 2015; 9(10):e0004128.

Camargo-Neves, VLF. Características da Transmissão da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo, Brasil**.** São Paulo. Dissertação [Mestrado em Saúde Pública] – Faculdade de Saúde Pública da USP; 1999.

Camargo-Neves, VLF; Gomes, AC; Antunes, JLF. Correlation of the presence of Phlebotominae species (Diptera: Psychodidae) with records of American tegumentary leishmaniasis cases in the State of São Paulo, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 2002; 35(4): 299-306.

Carvalho, MR; Valença, HF; Silva, FJ; Pita-Pereira, D; Pereira, TA; Britto, C; Brazil, RP; Brandão-Filho, SP. Natural *Leishmania infantum infection* in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. Acta Tropica 2010; 116: 108-10.

Casanova, C ; Colla-Jacques, FE ; Hamilton, JGC ; Brazil, RP ; Shaw, JJ. Distribution of *Lutzomyia longipalpis* Chemotype Populations in São Paulo State, Brazil. PLoS Negl Trop Dis 2015; 9(3): 1-14.

Castelo, NO; Nascimento, ACP; Oliveira, RC; Marques, S; Gonçalves, EFB; Galati, EAB. Fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) em parques do Município de São Paulo, estado de São Paulo, Brasil. Bepa 2015; 12(141): 3-9.

Costa, AIP; Casanova, C; Rodas, LAC; Galati, EAB. Atualização da distribuição geográfica e primeiro encontro de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Públ 1997; 31(6): 632-3.

Diniz, MMCSL; Galvis Ovallos, F; Gomes, CMC; Lavitschka, CO; Galati, EAB. Host-biting rate and susceptibility of some suspected vectors to *Leishmania braziliensis*. Parasites & Vectors 2014; 7:139.

Forattini, OP; Rabello, EX; Serra, OP; Cotrim, MD; Galati, EAB; Barata, JMS. Observação sobre a transmissão da leishmaniose tegumentar no Estado de São Paulo, Brasil. Rev Saúde Públ 1976; 10: 31-43.

Galati, EAB. Classificação, Morfologia, Terminologia e Identificação de Adultos. São Paulo: 2015. [Apostila da disciplina de Bioecologia e Identificação de Phlebotominae – Departamento de Epidemiologia – FSP/USP].

Galati, EAB. Morfologia, Terminologia de Adultos e Identificação dos Táxons da América. In: Rangel EF, Lainson R (org.). Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2003. p. 53-175.

Galvis-Ovallos, F. Estudo da capacidade vetorial de *Migonemyia migonei* (França) e de *Pintomyia fischeri* (Pinto) (Diptera: Psychodidae) para *Leishmania* (*Leishmania) infantum chagasi* Cunha & Chagas. São Paulo. Dissertação [Mestrado em Saúde Pública] – Faculdade de Saúde Pública da USP; 2011.

Galvis-Ovallos, F. Leishmaniose visceral americana: avaliação dos parâmetros da capacidade vetorial de *Lutzomyia longipalpis* em área urbana no município de Panorama, São Paulo, Brasil. São Paulo. Tese [Doutorado em Saúde Pública] – Faculdade de Saúde Pública da USP; 2016.

Galvis-Ovallos, F; Silva, MD; Bispo, GBS; Oliveira, AG; Neto, JRG; Malafronte, RS; Galati, EAB. Canine visceral leishmaniasis in the metropolitan area of São Paulo: *Pintomyia fischeri* as potential vector of *Leishmania infantum*. Parasite 2017; 24(2).

Gomes, AC; Coutinho, SG; Paim, GV; Oliveira, SMO; Galati, EAB; Nunes, MP; Capinzaiki, AN; Yamamoto, TI; Rotter, P. Aspectos ecológicos da leishmaniose tegumentar americana. 8. Avaliação da atividade enzoótica da *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* em ambiente florestal e peridomiciliar, região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. Rev Inst Med Trop São Paulo 1990; 32:105-115.

Gomes, AC; Galati, EAB; Paula, MB; Mucci, LF. Phlebotomines in the area adjacent to the Porto Primavera Dam, between São Paulo and Mato Grosso do Sul states, Brazil. Rev Pat Trop 2012; 41 (2): 215-221.

Gomes, AC. Sand fly vectorial ecology in the State of São Paulo. Mem Inst Oswaldo Cruz 1994; 89: 457-460.

Guimarães, VCFV; Pruzinova, K; Sadlova, J; Volfova, V; Myskova, J; Brandão-Filho, SP; Volf, P. *Lutzomyia migonei* is a permissive vector competent for *Leishmania infantum*. Parasite & Vectors 2016; 9(159).

Haddow, A. J. Studies on the biting-habits and medical importance of East African mosquitos in the genus *Aedes*. I. Subgenera *Aedimorphus*, *Banksinella* and *Nunnius*. Bull Entomol Res 1960; 50: 759-779.

Hayek, LAC; Buzas, MA. Surveying Natural Populations. New York, Columbia University Press, 563 p.

Iversson, LB; Camargo, ME; Rocha e Silva, EO; Chieffi, PP; Barros, JAC. Investigação Epidemiológica de um caso de Leishmaniose Visceral Autóctone da Grande São Paulo, Brasil. Rev Saúde Públ. 1979; 13: 159-67.

Iversson, LB; Pires, RBR; Ribeiro, MA; Takeda, AK; Júnior, AE; Tolezano, JE; Buralli, GM. Investigação de um novo caso de Leishmaniose Visceral ocorrido na Grande São Paulo, Brasil. Rev Saúde Públ. 1982; 16: 205-19.

Lainson, R; Shaw, JJ; Silveira, FT; Souza, AAA; Braga, RR; Ishikawa, EAY. The dermal Leishmaniases of Brazil, with Special Reference to the Eco-epidemiology of the Disease in Amazônia. Mem Inst Oswaldo Cruz 1994; 89: 435-443.

Marcondes, CB. Taxonomic changes: disprove or accept them. Trends Parasitol 2007; 23(7): 302-3.

Moschin, JC**;** Galvis-Ovallos, F**;** Sei, IA; Galati, EAB**.** Aspectos ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) da Serra da Cantareira, Região Metropolitana da Grande São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Rev Bras Epidemiol 2013; 16:190-20.

Moya, SL; Giuliani, MG; Acosta, MM; Salomón, OD; Liotta, DJ. First description of *Migonemyia migonei* (França) and *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho)

(Psychodidae: Phlebotominae) natural infected by *Leishmania infantum* in Argentina. Acta Tropica 2015; 152: 181-84.

Paraná confirma primeiro caso de leishmaniose visceral em humanos. Portal G1, Foz do Iguaçu, 16/17 jun. 2015. Disponível em: < http://g1.globo.com/pr/oeste-sudoeste/noticia/2015/07/parana-confirma-primeiro-caso-de-leishmaniose-visceral-em-humanos.html>. Acesso em: 22 jun 2015.

Rangel, EF 1995. Epidemiology of American cutaneous leishmaniasis in Brazil. Tropical Diseases, Society and the Environmet Techinal Report 1995; p. 103-110.

Rangel, O; Hiramoto, RM; Henriques, LF; Taniguchi, HH; Ciaravolo, RMC; Tolezano, JE; França, ACC; Yamashiro, J; Oliveira, SS. Classificação epidemiológica dos municípios segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo, para 2013. Bepa 2013; 10(111): 3-14.

Roberts, DR; His, BP. An index of species abundance for use with mosquito survillance data. Environ Entomol 1979; 8: 1007-1013.

Ryan, L; Lainson, R; Shaw, JJ; Braga, RR; Ishikawa, EA. Leishmaniasis in Brazil. XXV. Sandfly vectors of *Leishmania* in Pará State, Brazil. Med. Vet. Entomol 1987; 1(4): 383-95.

Sanger, F; Nicklen, S; Coulson, AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci 1977; 74(12): 5463-67.

Savani, ESMM ; Brandão-Nunes, VL ; Galati, EAB ; Castilho, TM ; Araújo, FS; Ilha, IMN; Camargo, MCGO; D'Auria, SRN; Floeter-Winter, LM. Ocurrence of co-infection by *Leishmania* (*Leishmania) chagasi* and *Trypanosoma* (*Trypanozoon*) *evansi* in a dog in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 2005; 100(7): 739-741.

Schimming, BC; Pinto e Silva, JRC. Leishmaniose visceral canina: revisão de literatura. Rev Ciena Eletr Med Vet 2012; 10(19).

Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília (DF): Editora MS; 2006.

Secretaria de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Tegumentar. Brasília (DF): Editora MS; 2007.

Secretaria do Estado da Saúde/ Superintendência de Controle de Endemias. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana do Estado de São Paulo. São Paulo (SP); 2006.

Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo. Plano de Manejo do Parque Estadual do Jaraguá. São Paulo (SP); 2010.

Shimabukuro, PH; Silva, TRR; Ribeiro, FOF; Baton, LA; Galati, EAB. Geographical distribution of American cutaneous leishmaniasis and its phlebotomine vectors (Diptera: Psychodidae) in the state of São Paulo, Brazil. Parasites & Vectors 2010; 3:1- 12.

Silva AF. Vigilância da leishmaniose visceral americana no município de São Paulo. São Paulo. Tese [Doutorado em Saúde Pública] – Faculdade de Saúde Pública da USP; 2015.

Silva DA. Aspectos Ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) e suas implicações na epidemiologia das leishmanioses em Cotia, Estado de São Paulo, Brasil. São Paulo. Dissertação [Mestrado em Saúde Pública] – Faculdade de Saúde Publica da USP; 2005.

Silva, RA; Santos, FKM; Sousa, LC, Rangel, EF; Bevilaqua, CML. Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in an endemic area for visceral leishmaniasis. Braz J Vet Parasitol 2014; 23(3): 320-27.

Sucen – Superintendência de Controle de Endemias [homepage na internet]. Vetores e Doenças. Leishmaniose Tegumentar Americana. Disponível em: < http://www.saude.sp.gov.br/sucen-superintendencia-de-controle-de-endemias/programas/leishmaniose-tegumentar-americana/doenca>. Acesso em: 15 dez 2016.

Tolezano, JE. Ecoepidemiological aspects of American cutaneous leishmaniasis in State of São Paulo, Brasil. Mem Inst Oswaldo Cruz 1994; 89: 427-434.

Tolezano, JE; Taniguchi, HH; Bisugo, MC; Araújo, MFL; Cunha, EA; Elias, CR; Larosa, R. Occurrence of natural *Leishmania* (*Leishmania*) infection in *Proechimys iheringi* in an endemic área of humam and canine cutaneuos leishmaniasis due *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* in Ilhabela, São Paulo, Brazil. In: Anais da XII

Jornada Paulista de Parasitologia da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Taubaté, São Paulo. São Paulo: Sociedade Brasileira de Parasitologia; 1998. p.9.

Uliana, SR; Nelson, K; Berveley, SM; Camargo, EP; Floeter-Winter, LM. Discrimination amongst *Leishmania* by polymerase chain reaction and hybridization with small subunit ribosomal DNA derived oligonucleotides. J. Eukaryot. Microbiol 1994; 41(4): 324-30.

Vezenegho, SB; Adde, A; De Santi, VP; Issaly, J; Carinci, R; Gaborit, P; Dusfour, I; Girod, R; Briolant, S. High malaria transmission in a forested malaria focus in French Guiana: How can exophagic *Anopheles darlingi* thwart vector control and prevention measures? Mem Inst Oswaldo Cruz 2016; 111(9): 561-569.

Visintin, AM; Beranek, MD; Amieva, MJ; Rosa, JR; Almirón, WR; Salomón, OD. Spread of Phlebotominae in temperate climates: province of Córdoba, Argentina. Men Inst Oswaldo Cruz 2016; 111(1): 75-78.

Zhen, L; Baumann, H; Novak, EK; Swank, RT. The signal for retention of the egasyn-glucuronidase complex within the endoplasmic reticulum. Arch Biochem Biophys 1993; 304(2): 402-14.

ANEXO A – Sugestões para os Serviços de Saúde responsáveis pela Vigilância entomológica:

- Monitoramento contínuo das áreas internas e adjacentes ao parque;
- Expandir pontos de coleta das áreas internas e adjacentes ao parque e possivelmente o número de armadilhas;
- Monitorar os cães do parque, bem como os cães da vizinhança como os que vivem na aldeia, em relação à infecção por *Leishmania*.
- Alertar e informar frequentadores, trabalhadores e vizinhos do parque, quanto a doença e forma de transmissão;
- Elaborar um material de divulgação contendo informações de forma simples e numa linguagem de fácil entendimento para a comunidade;
- Promover a divulgação das informações em conjunto com outras campanhas, como por exemplo, a de dengue, para uma maior divulgação;

ANEXO B – Resultado da PCR para as amostras do Parque do Jaraguá

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO
Secretaria Municipal da Saúde
Coordenação de Vigilância em Saúde
Centro de Controle de Zoonoses
LABORATÓRIO DE ZOONOSES E DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES

Rua Santa Eulalia, nr. 86 - Santana - São Paulo - CEP: 02031-020
Fones: (11) 3397-8945 / 3397-8997 (Fax)

PROCEDIMENTO: LEISHPCR ORIGEM: FACULDADE SAUDE PUBLICA USP PERÍODO: 01/02/17 a 20/03/17
LAUDO: LEISHPCR

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para Leishmania sp

Data Entrada	Pedido	Identificação de Origem	Nome	Nome Espécie	Espécie	Resultado
01/02/17	11293888		1A		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294000		1B		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294027		2A		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294043		2B		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294051		2C		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294078		2D		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294086		2E		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294094		2F		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294108		2G		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294116		2H		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294124		3A		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294132		3B		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294140		3C		FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294159		3D		FLEBOTOMÍNEA	Negativo

ELISA SAN MARTIN MOURI SAVANI
CRBio Nº 06.236/01

REGINA FUKAI
CRBio Nº 61.002/01

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO
Secretaria Municipal da Saúde
Coordenação de Vigilância em Saúde
Centro de Controle de Zoonoses
LABORATÓRIO DE ZOONOSES E DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES

Rua Santa Eulália, nr. 86 - Santana - São Paulo - CEP: 02031-020
Fones: (11) 3397-8945 / 3397-8997 (Fax)

01/02/17	11294167	3E	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294175	3F	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294183	3G	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294205	4A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294213	4B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294221	4C	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294230	4D	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294248	4E	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294256	4F	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294264	4G	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294272	4H	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294280	4I	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294299	4J	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294302	4K	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294310	5A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294329	5B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294337	5C	FLEBOTOMÍNEA	Negativo

ELISA SAN MARTIN MOURI SAVANI
CRBio Nº 06.236/01

REGINA FUKAI
CRBio Nº 61.002/01

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO
Secretaria Municipal da Saúde
Coordenação de Vigilância em Saúde
Centro de Controle de Zoonoses
LABORATÓRIO DE ZOONOSES E DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES

Rua Santa Eulalia, nr. 86 - Santana - São Paulo - CEP: 02031-020
Fones: (11) 3397-8945 / 3397-8997 (Fax)

01/02/17	11294345	5D	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294370	6A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294388	6B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294396	6C	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294418	6D	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294426	6E	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294434	6F	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294442	6G	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294450	6H	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294469	6I	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294477	6J	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294485	6K	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294493	7A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294507	7B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294515	8A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294523	8B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294531	8C	FLEBOTOMÍNEA	Negativo

ELISA SAN MARTIN MOURI SAVANI
CRBio Nº 06.236/01

REGINA FUKAI
CRBio Nº 61.002/01

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO
Secretaria Municipal da Saúde
Coordenação de Vigilância em Saúde
Centro de Controle de Zoonoses
LABORATÓRIO DE ZOONOSES E DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES

Rua Santa Eulália, nr. 86 - Santana - São Paulo - CEP: 02031-020
Fones: (11) 3397-8945 / 3397-8997 (Fax)

01/02/17	11294540	9A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294558	10A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
01/02/17	11294566	10B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295007	11A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295015	11B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295023	11C	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295031	11D	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295040	11E	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295058	11F	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295066	11G	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295074	11H	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295082	11I	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295090	11J	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295104	11K	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295112	12A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295120	12B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295139	12C	FLEBOTOMÍNEA	Negativo

ELISA SAN MARTIN MOURI SAVANI
CRBio Nº 06.236/01

REGINA FUKAI
CRBio Nº 61.002/01

PREFEITURA DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO
Secretaria Municipal da Saúde
Coordenação de Vigilância em Saúde
Centro de Controle de Zoonoses
LABORATÓRIO DE ZOONOSES E DOENÇAS TRANSMITIDAS POR VETORES

Rua Santa Eulália, nr. 86 - Santana - São Paulo - CEP: 02031-020
Fones: (11) 3397-8945 / 3397-8997 (Fax)

02/02/17	11295147	12D	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295155	12E	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295163	12F	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295171	12G	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295180	12H	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295198	12I	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295201	13A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295210	13B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295236	14A	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295244	14B	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295252	14C	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295260	14D	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295279	14E	FLEBOTOMÍNEA	Negativo
02/02/17	11295287	14F	FLEBOTOMÍNEA	Negativo

ELISA SAN MARTIN MOURI SAVANI
CRBio Nº 06.236/01

REGINA FUKAI
CRBio Nº 61.002/01

ANEXO C – Testes estatísticos

Correlações

		Precipitação	Média
Precipitação	Correlação de Pearson	1	-,154
	Sig. (bilateral)		,569
	N	16	16
Média	Correlação de Pearson	-,154	1
	Sig. (bilateral)	,569	
	N	16	16

Correlações

			Precipitação	Média
rô de Spearman	Precipitação	Coeficiente de Correlação	1,000	-,031
		Sig. (bilateral)	.	,909
		N	16	16
	Média	Coeficiente de Correlação	-,031	1,000
		Sig. (bilateral)	,909	.
		N	16	16