Universidade de São Paulo

Faculdade de Saúde Pública

Vigilância da leishmaniose visceral americana no município de São Paulo

Alessandra Ferreira da Silva

Tese apresentada no Programa de
Pós-Graduação em Saúde Pública
para obtenção do título de Doutor em
Saúde Pública

Área de concentração: Epidemiologia

Orientadora: Prof.^a Docente Eunice
Aparecida Bianchi Galati.

São Paulo
2015

Vigilância da leishmaniose visceral americana no município de São Paulo

Alessandra Ferreira da Silva

Tese apresentada no Programa de
Pós-Graduação em Saúde Pública
para obtenção do título de Doutor em
Saúde Pública

Área de concentração:
Epidemiologia

Orientadora: Prof.^a Docente
Eunice Aparecida Bianchi
Galati.

**São Paulo
2015**

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos desde que na reprodução figure a identificação autor, título, instituição e ano da tese.

Aos meus pais
Por minhas filhas.

Agradecimentos

Muitos foram os trabalhos realizados durante essa tese em cada um deles necessitei de colaboração de formas diferentes.

Agradeço aos meus mestres por ter me dado condições e a oportunidade de realizá-lo.

Em especial agradeço à minha orientadora Prof. Eunice Galati, a quem considero como minha segunda mãe.

Às Doutoradas Marcia Dalastra Laurenti e Vânia L.R. da Matta, à pós graduanda Mariana Aschar Ferraz e à colaboradora Thaíse Yumie Tomokane do Depto Patologia- LIM-50 da Faculdade de Medicina da USP pela mais que preciosa e providencial ajuda na realização dos testes EIE e PCR. Sou muito grata pela paciência e cordialidade. Aprendi muito e pretendo aprender ainda mais junto a vocês. Meus sinceros agradecimentos.

Ao Dr. Francisco Chiaravalloti Neto pela ajuda no geoprocessamento das notificações humanas de LVA.

Ao Ministério do meio Ambiente – MMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio e Sistema de Autorização de Informação em Biodiversidade - SISBIO pelas autorizações concedidas.

À Secretaria do Meio ambiente e Instituto Florestal – IF, pela comissão Técnico-Científica – COTEC e Administração do Parque Estadual do Jaraguá pelas autorizações concedidas e pela cooperação.

À equipe de monitoria e a da vigilância do Parque do Jaraguá que me guiaram e cuidaram de mim nas coletas noturnas de flebotomíneos. A ajuda dessas equipes foi fundamental na realização dessa tese.

À Secretaria do Verde e do Meio Ambiente do município de São Paulo, pela autorização das coletas e a Administração do Parque do Anhanguera pela cooperação.

À equipe de veterinários e biólogos do DEPAVE 3. Em especial ao M. S. e M V Marcelo Nardi pela compreensão da questão e pela ajuda em tornar a pesquisa possível. As equipes da vigilância e de apoio do Parque Anhanguera, que me ajudaram durante um ano de pesquisa, agradeço pela boa vontade e pela amizade.

À toda equipe do Laboratório de Entomologia da FSP, em especial aos meus companheiros nessa caminhada: Fredy Galvis Ovallos, Cecília de Oliveira Lavitschka e Priscila Bassan Sábio, pela amizade e ajuda nas coletas e identificação de flebotomíneos, e em todos os momentos da formulação dessa tese. À Marcia pela paciência e ajuda providencial, também ao Rubens que me ajudou em árduas coletas. Ao Dr. Andrey J. de Andrade pela ajuda na identificação dos pontos de captura e pela bela amizade.

Agradeço às médicas veterinárias e amigas, Patrícia Sheldon e Patrícia Kyrillos pela preciosa ajuda na coleta de sangue canino. A estudante de veterinária Srta. Débora Fortes pela dupla ajuda nessas coletas e pelas belas fotos. Para essas integrantes do “bando” em especial e a todos os outros amigos que incentivaram, apoiaram e responderam aos meus pedidos de “axuda”, minha eterna gratidão.

Agradeço à Prof.^a Leila Cristina Silva pela tripla ajuda, sendo que a coube a ela três funções: ajuda na coleta de sangue, relações públicas e revisora da tese.

Não tenho palavras para agradecer tamanho empenho e amizade, me resta dizer: obrigada!

Aos colegas veterinários da clínica veterinária Panamericano, que gentilmente colaborarão com amostras de sangue canino. A colaboração da classe veterinária na saúde pública é imprescindível.

Ao CCZ de São Paulo e a equipe da clínica veterinária Estimakão, em especial ao M. V. Erik Neves Rodrigues pela permissão que trabalhássemos no mutirão de castração no qual foi possível a coleta de grande parte da amostra de sangue canino.

Aos integrantes da TI Tekoa Ytu, pela paciência em tolerar minha presença na tribo. Em especial ao cacique Sr. Ari pela cordialidade e pelas conversas e, as crianças da tribo por brincarem com a caçadora de mosquitos.

À Jurema Aparecida da Silva, que foi a peça chave para que eu pudesse realizar esse trabalho. Sem sua ajuda não haveria tese. Muito obrigada.

A todos os meus amigos e familiares que me apoiaram e incentivaram durante essa jornada.

Agradeço em especial às minhas filhas Amanda Lua Rosa e Clara Lua Rosa pela ajuda nas coletas, compreensão e torcida. Deus as abençoe.

“A ciência nunca resolve um problema sem criar pelo menos outros dez”.

George Bernard Shaw

Resumo

Introdução: As leishmanioses são doenças que se apresentam como um sério obstáculo ao desenvolvimento socioeconômico. A leishmaniose visceral americana (LVA) tem como agente etiológico a *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi*, como reservatório doméstico principal o cão e os vetores são flebotomíneos (Diptera:Psychodidae). **Objetivo:** investigar a vulnerabilidade do município de São Paulo para a ocorrência de LVA, utilizando os parâmetros de casos humanos notificados, presença do vetor e infecção em reservatórios domésticos. **Método:** A área de estudo compreende a região dos distritos administrativos do Anhanguera, Jaraguá e Perus (município de São Paulo) que incluem o Parque do Anhanguera e o Parque estadual do Jaraguá. A justificativa para o estudo nessa área é o eixo viário oeste-leste de expansão da LVA no estado de São Paulo. Foram levantados notificações humanas de LVA entre os anos de 2007 a 2014, para análise espacial pelos programas SaTScan e Terra View, num total de 140 e nenhuma dessas é considerada autóctone. Realizamos levantamento entomológico nos parques Anhanguera e Jaraguá. A análise estatística foi realizada pelos cálculos da Média geométrica de Williams, pelo índice de diversidade de Shannon-Weaver (H) e a dominância pelo índice de Pielou (J) também foi calculado o índice de Abundância de espécies padronizado (IAEP). Realizamos inquérito canino amostral e obtivemos 126 amostras de sangue canino que foram submetidas aos testes EIE. Foram colhidas amostras de *Swab* bucal do cão sororreagente e contactantes, as quais foram analisadas por PCR (RFLP), juntamente às amostras de coágulos sanguíneos dos cães dos parques Anhanguera e Jaraguá num total de 31 amostras. **Resultado:** A análise espacial mostrou *Clusters* nos distritos do Brás e Guaianases ($p < 0,05$) e, a espaço temporal em Raposo Tavares e Parelheiros ($p < 0,05$). Os distritos do Carrão, Cachoeirinha e José Bonifácio formaram *clusters* secundários ($p > 0,05$). Foram capturados 3660 espécimes de flebotomíneos identificadas 16 espécies de flebotomíneos e as mais frequentes na amostra foram: *Pintomyia fischeri* (82,46%), *Psathyromyia pascalei* (5,57%), *Migonemyia migonei* (5,25%) e *Expapillata firmatoi* (3,22%). Dentre as espécies capturadas, está uma fêmea de espécie similar à *Lutzomyia longipalpis*. O inquérito canino sorológico apontou um sororreagente no distrito de Perus. Do total de 31 amostras analisadas por PCR, 10 foram positivas para *Leishmania* sp. Foi possível chegar à espécie em seis delas, três positivas para a espécie *L. (V.) shawi* ou *L. (V.) lainsoni* e três para *L. (L.) infantum chagasi*. **Conclusões:** A análise espacial das notificações de LVA humana dá direcionamento para investigações de uma possível transmissão autóctone no município. Há elos epidemiológicos que sugerem que as leishmanioses tegumentar e visceral caninas se tratam de doenças emergentes no município. Possivelmente, os casos caninos encontrados na região de estudo sejam parte da disseminação do eixo oeste-leste da leishmaniose visceral no Estado de São Paulo, pelo eixo viário.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral canina; Leishmaniose tegumentar canina; Vetores, Leishmaniose visceral americana; Município de São Paulo; *Leishmania infantum chagasi*; *Leishmania shawi*. PCR.

Abstract

Introduction: The leishmaniasis are diseases which are a serious obstacle to social economic development. American visceral leishmaniasis (AVL) has *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* as its etiological agent, the domestic dog is its main reservoir and sand flies (Diptera, Psychodidae) its vectors. **Objective:** to investigate the vulnerability of São Paulo municipality to the occurrence of AVL, using the parameters of notified human cases, the presence of the vector and infection in domestic reservoirs. **Method:** The study area covers the region of the distinct administrative districts of Anhanguera, Jaraguá and Perus (São Paulo municipality) which include the Parque do Anhanguera and the Parque Estadual do Jaraguá. The reason for undertaking the study in this area is the existence of the roads linking the west and east of São Paulo state along which AVL has expanded eastwards. A survey was made of the 140 human cases (none of which was considered autochthonous) of AVL notified from 2007 to 2014, for the spatial analysis of the SaTScan and Terra View programs. An entomological survey was conducted in the two parks mentioned. The statistical analyses of the insects were undertaken using Williams' geometrical means, Shannon-Weaver's diversity index (H), Pielou's evenness index (J) and the standardized species abundance index (SSAI). A canine sampling inquiry was conducted and 126 blood samples were submitted to the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) test. A total of five samples of mouth swabs of the serum positive dog and four of its contacts and also blood clot samples of a total of 26 dogs from the two parks were analyzed by PCR (RFLP). **Results:** The spatial analysis showed clusters in the Brás and Guaianases ($p < 0.05$) districts and the temporal/spatial analysis in Raposo Tavares and Parelheiros ($p < 0.05$) districts. The Carrão, Cachoeirinha and José Bonifácio districts formed secondary clusters ($p > 0.05$). A total of 3,660 specimens of sand flies were collected, representing 16 species, *Pintomyia fischeri* (82.46%), *Psathyromyia pascalei* (5.57%), *Migonemyia migonei* (5.25%) and *Expapillata firmatoi* (3.22%) being the most frequent. One female of a species similar to *Lutzomyia longipalpis* was captured. The canine serological enquiry showed one reagent in the Perus district. Of the total of 31 samples analyzed by PCR, 10 were positive for *Leishmania* sp., among which six were identified, three as species *L. (V.) shawi*/*L. (V.) lainsoni* and three as *L. (L.) infantum chagasi*. **Conclusions:** The spatial analysis of the AVL human cases notified suggests the direction to be followed for future investigation of a possible autochthonous transmission in the municipality. There are epidemiological links which suggest that the canine cutaneous and visceral leishmaniasis are emergent diseases in the municipality. Possibly the canine cases of visceral leishmaniasis found in this study region are part of its dissemination along the west-east axis of the disease's expansion in the state of São Paulo along the highways.

Palavras-chave: Canine visceral leishmaniasis; canine cutaneous leishmaniasis; São Paulo municipality; *Leishmania (L.) infantum chagasi*; *Leishmania shawi*/*Leishmania lainsoni*; PCR.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
1.1	LEISHMANIOSE VISCERAL.....	5
1.2	JUSTIFICATIVA.....	12
1.2.1	Eixo oeste leste e transmissão de LVA.....	14
1.2.2	Leishmaniose em São Paulo	17
2	OBJETIVOS.....	25
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3	METODOLOGIA	26
3.1	O RODOANEL	28
3.2	DESCRIÇÃO DO TERRITÓRIO.....	31
3.2.1	Regiões Metropolitanas de São Paulo	31
3.2.2	Município de São Paulo	33
3.2.3	Parque do Jaraguá	36
3.2.4	Parque do Anhanguera.....	39
3.3	LEVANTAMENTO DAS NOTIFICAÇÕES DE LVA HUMANA	40
3.4	LEVANTAMENTO ENTOMOLÓGICO.....	43
3.4.1	Análise Estatística	46
3.5	INQUÉRITO CANINO	48
3.5.1	Protocolo para o teste de EIE (ELISA).....	52
3.5.2	IPCR convencional para pesquisa de DNA de <i>Leishmania</i>	53
3.5.3	Extração e purificação do DNA das amostras.....	53
3.5.4	Condições da PCR convencional.....	54
3.5.5	Digestão dos produtos amplificados.	55
4	RESULTADOS.....	56
4.1	CASOS HUMANOS	56
4.2	FLEBOTOMÍNEOS	60
4.3	CASOS CANINOS	74
5	DISCUSSÃO.....	82
5.1	CASOS HUMANOS	82
5.2	FLEBOTOMÍNEOS	85
5.3	CASOS CANINOS	90
6	CONCLUSÃO	97
7	RECOMENDAÇÕES.....	99
	REFERÊNCIAS	101

ANEXOS

Anexo 1: Abdômen da fêmea de similar a <i>Lutzomyia longipalpis</i> , demonstrando oviposição prévia, 2014.	111
Anexo 2: Espermateca da fêmea similar a de <i>Lutzomyia longipalpis</i> , 2014.	112
Anexo 3: Cabeça com detalhe aos palpos da fêmea similar a de <i>Lutzomyia longipalpis</i> , 2014.	113
Anexo 4: Cibário da fêmea similar a de <i>Lutzomyia longipalpis</i> , 2014.	114
Anexo 5: Barraca de Shannon branca instalada em ponto de coleta no Parque do Jaraguá, 2014.	115
Anexo 6: Barraca de Shannon branca instalada e equipe de coleta no Parque do Jaraguá, 2014.	115
Anexo 7: Cães da Tribo Indígena Tekoa Ytu. Região do Parque do Jaraguá. São Paulo, 2014.	116
Anexo 8: Cão em inquérito canino no Parque do Anhanguera. São Paulo, 2015.	116
Anexo 9: Coruja orelhuda (<i>Asio clamator</i>) em recinto no Parque do Anhanguera. São Paulo, 2014.	117
Anexo 10: Vista da mata da residência de cão contaminado com <i>Leishmania</i> sp, e vizinha do cão contaminado com <i>L. (L.) infantum chagasi</i> no distrito de Perus. São Paulo, 2015.	118
Anexo 11: Esforço de coleta na mata da residência de cão contaminado com <i>Leishmania</i> sp, e vizinha do cão contaminado com <i>L. (L.) infantum chagasi</i> no distrito de Perus. São Paulo, 2015.	118
Anexo 12: Autorização do COTEC Instituto Florestal.	119
Anexo 13: Autorização do SISBIO.	120
Anexo 14: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP.	123
Anexo 15: Termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE. São Paulo, 2015.	125

CURRÍCULO LATTES

Índice de Figuras

Figura 1: Distribuição de leishmaniose visceral mundo.....	5
Figura 2: Áreas de transmissão de leishmaniose visceral no Brasil, 2008 a 2010.	12
Figura 3: Esquema básico para classificação de áreas com transmissão de leishmaniose visceral....	13
Figura 4: Concentração de casos LVA, Brasil, 2012.	13
Figura 5: Traçado completo do gasoduto Brasil-Bolívia.	15
Figura 6: Traçado das rodovias que ligam as regiões de Três Lagoas (MS) a São Paulo e Campinas a São Paulo.....	16
Figura 7: Ano de detecção do vetor <i>L. longipalpis</i> , São Paulo, 2012.	17
Figura 8: Ano de detecção do vetor em área urbana.	18
Figura 9: Ano de detecção de infecção canina no estado de São Paulo.	19
Figura 10: Evolução da situação epidemiológica dos municípios do estado de São Paulo para LVA, 2007, 2008, 2010 e 2011.	20
Figura 11: Classificação epidemiológica dos municípios do estado de São Paulo para LVA.	22
Figura 12: Representação dos municípios da Região Metropolitana de São Paulo, com destaque (em vermelho) para municípios nos quais já há transmissão canina de LVA.....	23
Figura 13: Localização dos Parques Anhanguera e Jaraguá, junto ao Rodoanel Mario Covas, Rodovias Anhanguera e Bandeirantes, com delimitação dos distritos administrativos e limites do município de São Paulo.	26
Figura 14: Parques Anhanguera e Jaraguá com seus limites geográficos e o limite do município de São Paulo.....	27
Figura 15: Traçado completo do Rodoanel.	29
Figura 16: Região Metropolitana de São Paulo, 2011.....	31
Figura 17: Mapa de uso e ocupação do solo do município de São Paulo.	35
Figura 18: Parque Estadual do Jaraguá.....	37
Figura 19: Vista aérea do Pico do Jaraguá.	37
Figura 20: Vista de torre de transmissão sobre o Pico do Jaraguá e da área de piquenique do lago interdita a visitação pública desde 2009, pela contaminação do lago, 2014.	38
Figura 21: Vista da cidade de São Paulo do mirante do Pico do Jaraguá.....	38
Figura 22: Vista do Parque do Anhanguera.	39
Figura 23: Área de fauna do DEPAVE 3, inserido no Parque do Anhanguera e vista do lago contíguo à área de fauna, dois pontos de coleta do levantamento entomológico, 2014.	40
Figura 24: Distribuição espacial dos casos de LVA no município de São Paulo, de 2007 a 2014.	41
Figura 25: Armadilhas do tipo CDC, instaladas em pontos de coleta do Parque do Jaraguá e do Parque Anhanguera.	45
Figura 26: Flebotomíneos capturados no Parque do Jaraguá. Macho e fêmea de <i>Psathyromyia pascalei</i> (Coutinho & Barretto).	45
Figura 27: Georreferenciamento das amostras aleatórias de sangue canino e distritos administrativos do Anhanguera, Jaraguá e Perus, São Paulo, 2015.	50
Figura 28: Coleta de amostra de sangue canino, Parque do Anhanguera. São Paulo, 2015.	51
Figura 29: <i>Clusters</i> em análise puramente espacial e raios em km das notificações de LVA, município de São Paulo, 2007 a 2014.	57
Figura 30: <i>Clusters</i> em análise espaço temporal e raios em km das notificações de LVA, município de São Paulo, 2007 a 2014.	57
Figura 31: Casos confirmados de LVA, sem determinação da LPI, São Paulo, de 2007 a 2014.	58
Figura 32: Distribuição mensal das notificações de LVA do município de São Paulo, 2007 a 2014.	59
Figura 33: Distribuição mensal do total das notificações de LVA do município de São Paulo, 2007 a 2014.	59
Figura 34: Pontos de Coleta de Flebotomíneos do Parque do Anhanguera. São Paulo, 2014 e 2015.	63
Figura 35: Pontos de Coleta de Flebotomíneos do Parque do Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.	64
Figura 36: Comportamento mensal das espécies mais frequentes. Média geométrica de Williams. Parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 a 2015.	65
Figura 37: Comportamento mensal das espécies do gênero <i>Brumptomyia</i> . Média geométrica de Williams. Parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 a 2015.	66
Figura 38: Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H), de equitabilidade de Pielou (J) e riqueza de espécies (S) para os Parques Anhanguera e Jaraguá segundo os pontos. São Paulo, 2014 e 2015.	68

Figura 39: Espécies capturadas nos parques do Anhanguera e Jaguaré segundo IAEP. São Paulo, 2014 e 2015.	70
Figura 40: Espécies capturadas nos parques do Anhanguera segundo IAEP. São Paulo, 2014 e 2015.	70
Figura 41: Média geométrica de Williams para armadilhas de Shannon branca e preta por espécies capturadas. Parques do Anhanguera e Jaraguá, 2014.	71
Figura 42: Média geométrica de Williams por espécime e tempo, por coleta livre em banheiro da ala 3 do Parque do Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.	72
Figura 43: Média geométrica de Williams para espécies capturadas por armadilha do tipo CDC, Parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.	73
Figura 44: Placa do teste EIE, demonstrando teste positivo. São Paulo, 2015.	74
Figura 45: Localização do endereço do cão sororreagente para LVC, no distrito de Perus. São Paulo, 2015.	75
Figura 46: Localização do caso canino sororreagente, das notificações humanas de LVA e dos parques do Anhanguera e Jaraguá, da região dos distritos administrativos do Anhanguera, Jaraguá e Perus, São Paulo, 2015.	76
Figura 47: Eletroforese em gel de agarose a 2% dos produtos de PCR com uso dos primers hsp 70 f e sp70r, demonstrando a positividade nas primeiras 14 amostras de coágulos, com seis cães positivos em primeira análise. São Paulo, 2015.	77
Figura 48: Eletroforese em gel de agarose a 2% dos produtos de PCR com uso dos primers hsp 70 f e sp70r, demonstrando a positividade nas 12 amostras restantes de coágulos, com três cães positivos em primeira análise. São Paulo, 2015.	77
Figura 49: Eletroforese em gel de agarose a 2% dos produtos de PCR com uso dos primers hsp 70 f e sp70r, demonstrando a positividade dos swab bucais em cinco amostras, com um cão positivo em primeira análise. São Paulo, 2015.	78
Figura 50: Eletroforese em gel de agarose a 3% dos produtos de PCR digeridos com a enzima <i>Hae</i> III com três amostras positivas, em Padrão Viannia. São Paulo, 2015.	79
Figura 51: Eletroforese em gel de agarose a 3% dos produtos de PCR digeridos com a enzima <i>Hae</i> III, com três amostras positivas, em Padrão Chagasi. São Paulo, 2015.	79
Figura 52: Distribuição de cães positivos por PCR para leishmaniose visceral canina (LVC) e leishmaniose tegumentar canina (LTC), nos distritos administrativos de Anhanguera, Jaraguá e Perus. São Paulo, 2015.	80
Figura 53: Distribuição de cães positivos por PCR para leishmaniose visceral canina (LVC) e leishmaniose tegumentar canina (LTC) e notificações leishmaniose visceral humana (LVA), nos distritos administrativos de Anhanguera, Jaraguá e Perus. São Paulo, 2015.	81

Índice de Tabelas

Tabela 1: Total de espécimes de ambos os sexos de flebotomíneos capturados nos parques Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, janeiro de 2014 a janeiro de 2015.	61
Tabela 2: Espécies capturadas por ponto de captura nos parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.	62
Tabela 3: Índices de Shannon-Weaver (H) e Índices de Pielou (J) para os parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.	67
Tabela 4: Espécies capturadas nos parques do Anhanguera e Jaraguá e seus respectivos IAE, IAEP e posição segundo abundância. São Paulo, São Paulo, 2014 e 2015.	69
Tabela 5: Tipos de armadilhas utilizadas, quantidade de flebotomíneos capturados e de esforços de captura nos parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.	71

Índice de Quadros

Quadro 1: Espécies de Leishmanias americanas e as principais do Velho Mundo, locais de ocorrência e manifestações clínicas.	2
Quadro 2: Municípios da Região Metropolitana de São Paulo, com área em km, população, produto interno bruto e índice de desenvolvimento humano médio, 2011.	32
Quadro 3: Localização geográfica dos pontos de captura de flebotomíneos, parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2015.	65
Quadro 4: Resultado da análise por PCR das 29 amostras de coágulos e <i>swab</i> bucais. São Paulo, 2015.	80

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças que se apresentam como um sério obstáculo ao desenvolvimento socioeconômico (WHO, 2011).

Trata-se de retículoendotelioses cuja importância epidemiológica está alicerçada na extensiva distribuição geográfica, nas incidências e nos quadros clínicos graves conhecidos, com evolução que pode causar mutilações severas, permanentes e até mesmo fatalidade e repercute diretamente na saúde da população de áreas tropicais (SILVA, 2005).

Constituem doenças infecto-parasitárias que possuem como agente etiológico os protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania*, subgêneros *Viannia* e *Leishmania* (Quadro 1) . Acometem o homem, animais silvestres, sinantrópicos e domésticos das regiões quentes do Velho e Novo Mundo. São antroponoses não contagiosas, transmitidas por flebotômíneos (Diptera, Psychodidae). (BRASIL, 2004; MARZOCHI, 1992; SILVA, 2005; HAYASHI, 2004).

Atualmente, a Organização Mundial de Saúde considera as leishmanioses endemias emergentes, negligenciadas e subnotificadas. Apresentam alta morbidade e baixa mortalidade, são endêmicas em 88 países de clima tropical e subtropical. No entanto, em apenas 32 desses países sua notificação é compulsória. (WHO, 2011).

No mundo, estima-se que 350 milhões de pessoas são susceptíveis à leishmaniose. Ocorrem cerca de dois milhões de novos casos por ano (1,5 milhões de casos de leishmaniose cutânea e 500 mil de leishmaniose visceral) e 12 milhões de infecções. Noventa por cento dos casos de leishmaniose visceral ocorrem no Brasil, Bangladesh, Índia e Sudão; 90% dos casos de leishmaniose cutaneomucosa

ocorrem no Brasil, Bolívia e Peru, e 90% dos casos de leishmaniose cutânea ocorrem no Brasil, Afeganistão, Irã, Peru, Arábia Saudita e Síria. (BASANO e CAMARGO, 2004; BENEVENUTO JUNIOR, 2000; WHO, 2011).

Quadro 1: Espécies de Leishmanias americanas e as principais do Velho Mundo, locais de ocorrência e manifestações clínicas.

Espécie de <i>Leishmania</i>	Local de ocorrência	Manifestação clínica
<i>L.(L.) aethiopica</i>	Etiópia e Quênia	Cutâneo-difusa
<i>L.(L.) amazonensis</i>	América do Sul – Brasil	Cutânea e cutâneo-difusa
<i>L.(L.) chagasi</i>	América	Visceral
<i>L.(L.) deanei*</i>	Brasil – Amazônia	Cutânea
<i>L.(L.) donovani</i>	Sudão, Etiópia, Bangladesh, Nepal e Índia	Visceral e dérmica pós-calazar
<i>L.(L.) enrietti*</i>	Brasil – Sul	Cutânea
<i>L.(L.) forattinii*</i>	Brasil – Nordeste – Sudeste	Cutânea
<i>L.(L.) hertigi*</i>	América Central	Cutânea
<i>L.(L.) infantum</i>	Europa Mediterrânea, Norte da África	Visceral
<i>L.(L.) major</i>	África, Ásia e Arábia	Cutânea
<i>L.(L.) mexicana</i>	América Central, do Sul (trans-andina), Estados Unidos	Cutânea e cutâneo-difusa
<i>L.(L.) pifanoi</i>	Venezuela	Cutâneo-difusa
<i>L.(L.) tropica</i>	Ásia	Cutânea e mucosa
<i>L.(L.) venezuelensis</i>	Venezuela	Cutânea
<i>L.(V.) braziliensis</i>	América Central e do Sul – Brasil	Cutânea e mucosa
<i>L.(V.) colombuensis</i>	Colômbia	Cutânea
<i>L.(V.) equatoriensis*</i>	Equador	Cutânea
<i>L.(V.) guayanensis</i>	Brasil – Amazônia	Cutânea e mucosa (raro)
<i>L.(V.) lainsoni</i>	Brasil – Amazônia	Cutânea
<i>L.(V.) lindenbergi</i>	Brasil – Amazônia	Cutânea
<i>L.(V.) naiffi</i>	Brasil – Amazônia	Cutânea
<i>L.(V.) panamensis</i>	América Central do Sul (trans-andina),	Cutânea e mucosa (raro)
<i>L.(V.) peruviana</i>	Andes	Cutânea
<i>L.(V.) shawi</i>	Brasil – Amazônia	Cutânea
<i>L.(L.) aristidesi*</i>	Panamá	Cutânea
<i>L.(V.) untingensis</i>	Brasil – Amazônia	Isolada só em flebotômíneo

Fonte: adaptado de Lainson e Shaw, 2005. (América)

V= subgênero *Viannia* e L= subgênero *Leishmania*

* Infecção Humana não conhecida

As leishmanioses são doenças associadas à pobreza e as populações com baixos índices de desenvolvimento humano, mais susceptíveis, devido a fatores como: analfabetismo, desnutrição, deficiência do sistema imunológico, precariedade na habitação (relevante em áreas urbanas), deslocamento constante e frequente entre áreas com falta de infraestrutura e nas quais há pelo menos, um vetor de importância epidemiológica.

O aumento da população exposta precede o aumento da incidência de leishmanioses. Crianças com idade inferior a 15 anos compõem o grupo mais severamente afetado. Cães habitualmente mantidos em ambiente doméstico são os principais reservatórios do agente da infecção. (CAMARGO-NEVES, 2002; WHO, 2011).

No norte da Argentina e em áreas de fronteira com Brasil e com o Paraguai, a leishmaniose visceral progride rapidamente. No Paraguai a transmissão urbana foi registrada na capital Assunção (WHO, 2011). No Uruguai o vetor foi encontrado nas regiões de Salto e de Artigas, nas fronteiras com Brasil, Paraguai e Argentina.

No Brasil, até 1999, epidemias de leishmaniose visceral ocorriam em ciclos com intervalos próximos de 10 anos. Desde então, registrou-se aumento no número de casos em áreas urbanas pelos fenômenos de urbanização das leishmanioses e da interiorização da infecção pelo HIV, devido à superposição geográfica das infecções (BRASIL, 2004).

O controle da leishmaniose com abrangência global foi proposto com base em três programas regionais:

1. Programa para a eliminação do kala-azar na região sudeste da Ásia, aprovado pelos Ministros da Saúde de Bangladesh, Índia e Nepal, em 2005;
2. Programa panamericano para reforçar o controle e a vigilância da leishmaniose, no qual se inclui o mapeamento da doença em 14 países e as atividades para controlar a progressão da leishmaniose visceral no Brasil, Argentina e Paraguai.
3. Plano regional sobre as estratégias de controle da leishmaniose na região do Mediterrâneo Oriental, com base em três pilares: a harmonização dos sistemas de vigilância; a capacitação epidemiológica com o uso de sistemas de

informação geográfica e gestão de casos; e a disseminação de informação (PEREIRA-CHIOCCOLA, 2009; WHO, 2011).

1.1 LEISHMANIOSE VISCERAL

A leishmaniose visceral é uma infecção que afeta os animais e o homem e está amplamente distribuída no mundo (WHO, 2012). A posição geográfica de ocorrência da leishmaniose visceral é associada à espécie do protozoário e à manifestação clínica da doença. Sem tratamento a LV apresenta letalidade de 90% (WHO, 2005; BOTELHO, 2009).

Figura 1: Distribuição de leishmaniose visceral mundo.

Fonte WHO 2012.

Na América Latina, a leishmaniose visceral americana (LVA) foi descrita em pelo menos 12 países. No Brasil ocorrem 90% do total de casos. A incidência ocorre em zonas rurais, periurbanas e urbanas de grandes centros (Rio de Janeiro, Belo Horizonte, Araçatuba, Corumbá, Campo Grande, Brasília, Goiânia, Campinas, todas as capitais do Nordeste.) (BRASIL, 2003; MONTEIRO, 2010; SUCEN, 2011).

O agente etiológico da leishmaniose visceral (LV) compreende várias espécies do gênero *Leishmania*, pertencentes ao complexo *Leishmania (Leishmania) donovani*.

As espécies de leishmanias causadoras da LV conhecidas no mundo são:

Leishmania (Leishmania) donovani: responsável pela forma visceral clássica (antropnose) e pela leishmaniose dérmica pós-calazar na Ásia;

Leishmania (Leishmania) infantum infantum: amplamente distribuída no Velho Mundo: Ásia, Europa e África; tem sido associada ao aumento do número de casos de leishmaniose visceral em pessoas portadoras do vírus HIV nos países da Europa Mediterrânea.

Leishmania (Leishmania) infantum chagasi: ocorre nas Américas. É responsável pela leishmaniose visceral americana (LVA) em pessoas e cães. Segundo alguns autores, essa leishmânia apresenta grande similaridade com *L. infantum infantum* encontrada em alguns países do Mediterrâneo e da Ásia. (LAINSON & SHAW, 2005; MARZOCHI, 1992, 2009; MARKELL, 2003; SUCEN, 2011) (Quadro 1). No entanto, estudos do perfil de microssatélites não encontraram diferenças entre ambas (KUHLS et al., 2011).

Quanto à origem da leishmaniose visceral no Novo Mundo, duas hipóteses foram levantadas, a primeira da introdução pela colonização européia na qual o agente etiológico seria a *Leishmania (L.) infantum infantum* ou, numa segunda hipótese, a introdução teria ocorrido há milhões de anos por canídeos e, nesse caso, o agente etiológico teria se diferenciado em *Leishmania (L.) infantum chagasi*. Estudos, por técnicas bioquímicas e moleculares não diferenciam as duas espécies, sugerindo a primeira hipótese. Já a alta taxa de infecção dos canídeos originários da Amazônia sugere a infecção autóctone (GONTIJO, 2004).

As leishmânias apresentam dois aspectos morfológicos:

- Formas amastigotas. Apresentam-se de forma arredondada ou oval com 2 a 7 μm de diâmetro, com um núcleo esférico e compacto e aflageladas. Intracelulares, multiplicam-se no hospedeiro vertebrado em seu sistema linfomonocitário, alojam-se nos fagossomos dos monócitos, histiócitos e macrófagos onde vivem e se multiplicam por divisão assexuada até romper a célula. Disseminam-se pelas vias hematogênica e linfática, onde provocam reação inflamatória e atraem outros macrófagos, o que realimenta o ciclo (BASANO e CAMARGO, 2004; BENEVENUTO JUNIOR, 2000; SUCEN, 2011).
- Formas promastigotas. Nesta fase, as leishmânias são fusiformes, com 16 a 18 μm de comprimento e flageladas. Alojamos-se no tubo digestivo do flebotomíneo onde se multiplicam por aparente divisão simples e assexuada. Após intensa multiplicação na parte posterior do intestino médio da fêmea, migram para a porção anterior (tórax) o que ocorre de 4 a 5 dias após o repasto infectante. A essa altura a maioria atinge formas metacíclicas (infectantes) e permanecem envoltas pelo gel que secretam. Esse gel secretado pelas promastigotas funciona como barreira à passagem de sangue pelo proventrículo do inseto quando de novo repasto, provocando regurgitamento contendo as formas flageladas infectantes, as quais são inoculadas na pele do hospedeiro (KAMHAWI, 2006). A *leishmânia* quando inoculada no hospedeiro, perde o flagelo e volta à forma amastigota, completando o ciclo (BASANO e CAMARGO, 2004; BENEVENUTO JUNIOR, 2000; SUCEN, 2011).

O ciclo biológico da leishmânia envolve obrigatoriamente insetos hematófagos da ordem Diptera; família Psychodidae; subfamília Phlebotominae (vetores) e mamíferos vertebrados (hospedeiros definitivos).

Os vetores são insetos chamados comumente de flebotomíneos. São pequenos, medindo por volta de 3 mm, têm o corpo coberto de pelos com coloração que pode variar de tons palha a castanho. Quando pousados permanecem com suas asas eretas ou semiabertas, e por isso são conhecidos como asa dura, birigui e cangalhinha.

O ciclo biológico do vetor é composto por quatro fases: ovo, larva (com quatro estádios), pupa e adulto e se completa em aproximadamente 30 dias.

Suas formas imaturas se desenvolvem em solos úmidos, ao abrigo de ventos e de luz, comumente coberto por vegetação ou entre raízes, troncos de árvores e tocas de animais. A temperatura mais adequada para seu desenvolvimento é de 20° a 30°C e a umidade, próxima a 80% (ASHFORD, 2001; SUCEN, 2011).

As formas aladas (tanto o macho quanto a fêmea) tendem a permanecer próximas aos criadouros ou locais de abrigo (em anexos peridomiciliares, principalmente em abrigos de animais domésticos), em cerca de 250 metros, entretanto chegam a se afastar desses locais em até 1 km. (MORRISON, 1993). As fêmeas do flebótomo *Lutzomyia longipalpis* demonstram cinofilia e antropofilia, o que propicia a transmissão. Nesse caso o controle mecânico no peridomicílio é um dos meios de controle do vetor. (SUCEN, 2011).

Ambos os sexos se alimentam de carboidratos extraídos da seiva de plantas (SUCEN, 2011), mas as fêmeas são hematófagas obrigatórias, pela necessidade da ovoposição e se alimentam de uma ampla gama de animais vertebrados de sangue quente (MORRISON, 1993). Essa atividade hematofágica é noturna e ocorre em até

1 hora após o crepúsculo. A longevidade da fêmea é estimada, em média, em 20 dias (FORATTINI, 1973; CAMARGO-NEVES, 2004).

Na América são cerca de 500 espécies de flebotomíneos conhecidas (GALATI et al. 2010) as quais, segundo a classificação de Galati (2003), estão distribuídas entre 23 gêneros, aquelas implicadas como vetores de *Leishmania* (L.) *infantum* *chagasi* distribuem-se nos gêneros *Lutzomyia*, *Migonemyia* e *Pintomyia*. Todavia infecção natural por este parasito tem sido encontrada em espécies de outros gêneros: *Nyssomyia* e *Evandromyia*.

Lutzomyia longipalpis é o principal vetor do protozoário *Leishmania infantum* *chagasi* (SUCEN, 2011). Na Colômbia também foi descrita a participação da *Pintomyia* (*Pifanomyia*) *evansi* (Nuñez-Tóvar, 1924) como vetora desse parasita (TRAVI et al., 1990). No Brasil, nas cidades de Corumbá e Ladário, no estado de Mato Grosso do Sul, a transmissão foi atribuída a *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) (GALATI et al., 1997; SANTOS et al., 2009; PITA-PEREIRA et al., 2008). Nessa mesma área, *Lu. forattinii* Galati, Nunes, Rego Junior e Teruya, 1985 apresentou alta prevalência no intradomicílio da área urbana (GALATI et al., 1997) e foi encontrada naturalmente infectada pelo parasita (PITA-PEREIRA et al., 2008). Ainda nesse estado, no município de Bonito, *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *almerioi* Galati & Nunes, 1999 foi encontrada naturalmente infectada por *L. (L.) infantum* (SAVANI et al., 2009).

Indícios da possibilidade do flebotomíneo *Migonemyia migonei* (França, 1920) agir como vetor foram obtidos por Carvalho et al. (2010) em São Vicente Férrer - Pernambuco, esses insetos foram predominantes no peridomicílio em áreas endêmicas de LVA e dois espécimes dos 50 capturados foram encontrados naturalmente infectados por *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum*, sugerindo que este

pode agir como vetor do parasita. Em La Banda, Santiago del Estero – Argentina, foram realizadas capturas após notificação de casos humanos e caninos de LV, constatou-se a presença de *Mg. migonei* como 93% da amostra, sugeriu-se a presença de ciclo enzoótico de LVA com transmissão humana acidental, e propôs-se que houvesse vigilância de casos isolados humanos em áreas de dispersão de *Mg. migonei* (SALOMÓN, 2009). Recentemente, o guia de vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014) também passou a apontar *Mg. migonei* como possível transmissora.

Pintomyia fischeri (Pinto, 1926) e *Migonemyia migonei* também vem sendo investigadas quanto ao potencial vetorial na região de Embu Cotia/, na Grande São Paulo (OVALLOS, 2011). Este autor aponta a primeira com potencial vetorial superior ao de *Mg. migonei*, sobretudo pela sua maior abundância.

Outras espécies de flebotomíneos têm sido encontradas com infecção natural por *L. (L.) infantum chagasi*: *Evandromyia cortelezzii* (Brèthes, 1923) (CARVALHO et al. 2008), *Evandromyia sallesi* (Galvão & Coutinho, 1939) (SARAIVA et al. 2009), *Evandromyia termitophila* (Martins, Falcão & Silva, 1962) (SARAIVA et al. 2010), *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (SARAIVA et al. 2010), *Nyssomyia neivai* (Pinto, 1926) (SARAIVA et al. 2009; Dias et al. 2013) e *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) (MARGONARI et al. 2010; SARAIVA et al. 2010), todavia o potencial vetorial dessa espécie para atuarem como vetores de *L. (L.) i. chagasi* necessita ser avaliado.

Em 2001 as investigações entomológicas desencadeadas pela confirmação de leishmaniose visceral em um gato no município de Cotia, no Distrito de Saúde de Caucaia do Alto, confirmada como *Leishmania (L.) i. chagasi* (CAMARGO-NEVES, 2001; SAVANI et al., 2004), constataram a presença das espécies anteriormente

descritas nesse município: *Mg. migonei*, *Pi. fischeri* (Pinto, 1926), *Evandromyia* (*B.*) *edwardsi* (Mangabeira, 1941), *Psychodopygus lloydi* (Antunes, 1937) e *Pintomyia* (*Pifanomyia*) *monticola* (Costa Lima, 1932).

Além da participação do vetor conhecido da *L. (L.) i. chagasi*, *Lu. longipalpis*, e possivelmente de outros flebotomíneos, e dos reservatórios principais, cão doméstico, há que se considerar a participação de outros artrópodes como vetores mecânicos, além de outros reservatórios.

Diversos animais mamíferos são reservatórios de leishmânias, porém a *L. (L.) i. chagasi* tem como principal reservatório nos ambientes rurais e urbanos o cão (*Canis familiaris*). Já nos ambientes silvestres e rurais, a raposa *Dusicyon vetulus* (*Lycalopex vetulus*) foi encontrada com a infecção no Nordeste do Brasil e a espécie *Cerdocyon thous* na Amazônia brasileira (Pará) e região Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul) (MELLO et al., 1988; COURTENAY et al., 2002). Esse parasita também foi encontrando em canídeos silvestres em cativeiros: *Cerdocyon thous* em Belo Horizonte (LUPPI et al., 2008), *Spheotos venaticus* (cachorro-vinagre) em Cuiabá (SOUZA et al., 2010), em Belo Horizonte (LUPPI et al., 2008) e no Rio de Janeiro, procedente de Mato Grosso (FIGUEIREDO et al., 2008). O gambá (*Didelphis albiventris*) foi encontrado com infecção no estado da Bahia, e o *Didelphis marsupialis* na Colômbia (SUCEN, 2011, ALMEIDA, 2011; FIGUEIREDO, 2008).

A ocorrência de leishmaniose em felinos tem sido relatada por diversos autores em países como França, Itália, Suíça, Espanha e Brasil (SAVANI, 2004; SILVA, 2010; BRESCIANI, 2010). Bresciani et al 2010, em Araçatuba, observou 0,7% (2/283) de infecção por leishmânia em gatos examinados por meio de *imprint* de linfonodos e nenhum animal apresentou títulos de anticorpos para *Leishmania* spp.

1.2 JUSTIFICATIVA

Segundo Monteiro et al. (2010), a leishmaniose visceral é endêmica nas cinco regiões brasileiras, ocorrendo em 21 das 27 Unidades da Federação. Os estados de Rondônia, Acre, Amazonas, Amapá, Santa Catarina e Paraná não apresentam casos autóctones notificados desde 2010 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Figura 2: Áreas de transmissão de leishmaniose visceral no Brasil, 2008 a 2010.

Fonte: SVS/MS http://medicinaveterinariapmpe.blogspot.com.br/2010_10_01_archive.html.

A intensidade da transmissão nas áreas do território brasileiro está classificada, segundo o Ministério da Saúde conforme o esquema da Figura 3.

Figura 3: Esquema básico para classificação de áreas com transmissão de leishmaniose visceral.

Fonte: Ministério da Saúde, 2006.

Historicamente, o Nordeste, concentrava o maior número de casos por ano, entretanto, este cenário vem se modificando e, em 2012 registrou 43,1% dos casos do país. Por outro lado, uma rápida dispersão da infecção por urbanização vem sendo observada, com registros de casos autóctones em grandes centros urbanos como Rio de Janeiro, Santarém, São Luís, Teresina, Fortaleza, Natal, Belo Horizonte, Palmas, Campo Grande, Araçatuba, Corumbá, Montes Claros e Camaçari (MESTRE, 2007; PEREIRA-CHIOCCOLA, 2009, BRASIL, 2014).

Figura 4: Concentração de casos LVA, Brasil, 2012.

Fonte: França, 2013.

1.2.1 Eixo oeste leste e transmissão de LVA.

Alguns estudos mostram a expansão da doença no eixo oeste-leste, como no de Antonialli et al. (2007), no estado de Mato Grosso Sul (MS) sugerindo que o trajeto do avanço da incidência de casos em direção a São Paulo parte do centro-sul do país, em MS. Tal dedução partiu do aumento da incidência de casos urbanos de leishmaniose visceral em Corumbá, no sentido oeste-leste, a partir da fronteira com a Bolívia até Campo Grande, capital do estado e no fim dos anos 90 e atingiu o município de Três Lagoas na divisa com o estado de São Paulo. Esse trajeto acompanhou o caminho do gasoduto Bolívia-Brasil, que no estado de São Paulo segue o traçado do rio Tietê rumo à capital paulista. Outro ramo segue a rodovia BR-262, que liga Corumbá ao Espírito Santo.

O Gasoduto Bolívia-Brasil, (Gasbol) é uma via de transporte de gás natural entre a Bolívia e o Brasil. Com extensão total de 3.150 km, tem sua origem na Bolívia, em Santa Cruz de La Sierra. Possui 557 km na Bolívia (trecho administrado pela GTB) e ao entrar em território brasileiro por Corumbá-MS, percorre 2.593 km (trecho administrado pela TBG) e passa por 136 municípios em cinco estados: Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.

O Gasbol constitui-se de tubos de aço carbono API 5L-X70 enterrados a uma profundidade média de 1,0 m. cujo custo foi de US\$ 2 bilhões. (US\$ 1,6 bilhão no Brasil e US\$ 400 milhões na Bolívia).

A construção, o funcionamento e o comércio do gás são regidos pelo Tratado de La Paz (1996). Suas obras iniciaram-se em 1997 e sua operação, em 1999. Somente a partir de 2010 esteve plenamente operativo. O objetivo é que o gás natural atinja 15% de todo o consumo energético brasileiro.

Figura 5: Traçado completo do gasoduto Brasil-Bolívia.

Fonte: http://www.revistaambientelegal.com.br/edicao04/imagens/cartas_na_mesa_02.jpg

Em São Paulo, o traçado acompanha o rio Tietê e serve à concentração industrial de Campinas de onde continua para a região de Guararema, situada perto de Mogi das Cruzes, na Região da Grande São Paulo. Paralela e relativamente próxima ao gasoduto em grande parte de sua extensão a oeste do estado tem-se a rodovia Marechal Rondon que se interliga a rodovia Castelo Branco. Esta por sua vez se conecta por meio do rodoanel Mario Covas às rodovias Anhanguera e Bandeirantes na região da Grande São Paulo. Estas duas rodovias também ligam a região metropolitana de São Paulo a Campinas.

Figura 6: Traçado das rodovias que ligam as regiões de Três Lagoas (MS) a São Paulo e Campinas a São Paulo.

Fonte: adaptado de <http://www.estradas.com.br/new2/guias.asp>.

Nota: — Rodovias Marechal Rondon (SP 300) e Presidente Castelo Branco (SP 280).

— Rodovias Anhanguera (SP 330) e Bandeirantes (SP 348).

1.2.2 Leishmaniose em São Paulo

No estado de São Paulo, ao final da década de 70 e início da década seguinte, houve registros sobre a ocorrência da leishmaniose visceral nos municípios de Diadema e de São Paulo. Todavia, não foi possível identificar os elos da cadeia de transmissão no que tange ao reservatório e ao vetor. (IVERSSON, 1979; IVERSSON, 1982).

No período entre 1985 e 1995, realizaram-se capturas nas quais se destaca o encontro de *Lutzomyia longipalpis* (1992) no município de Pirapora do Bom Jesus (CAMARGO-NEVES, 1999).

Figura 7: Ano de detecção do vetor *L. longipalpis*, São Paulo, 2012.

Fonte: Ciaravolo, 2013.

Em Araçatuba, no estado de São Paulo, em 1997, cães infectados por *L. (L.) infantum chagasi* foram encontrados um ano após ter sido confirmada a presença do inseto transmissor *Lu. longipalpis*.

Figura 8: Ano de detecção do vetor em área urbana.

Fonte: SUCEN 2011.

Em 1999, foi confirmado o primeiro caso humano de LVA autóctone do estado de São Paulo na cidade de Araçatuba. Ocorreu então à expansão da doença atingindo 72 municípios nas regiões de Araçatuba, Bauru, Marília, Presidente Prudente e, recentemente, a região de São José do Rio Preto e Campinas (CAMARGO-NEVES, 2002; CAMARGO-NEVES, 2004; NASSER, 2009; SUCEN, 2011).

Figura 9: Ano de detecção de infecção canina no estado de São Paulo.

Fonte: SUCEN 2011.

Figura 10: Evolução da situação epidemiológica dos municípios do estado de São Paulo para LVA, 2007, 2008, 2010 e 2011.

Fonte: SUCEN 2011.

Segundo o Estado de São Paulo e Ministério da Saúde (2006 e 2014) os conceitos básicos para a definição das áreas de transmissão de LV seguem a estratificação realizada quando implementado o Programa de Controle de *Aedes aegypti* – PEAA. Esse se refere ao setor, ao conjunto de setores ou ao município, com a seguinte classificação:

- Áreas de transmissão: município onde esteja ocorrendo a transmissão de LV.
- Área sem casos ou silenciosa: municípios sem registro de casos autóctones de leishmaniose visceral humana ou canina.
- Área com casos: municípios com registro de pelo menos um caso autóctone de leishmaniose visceral humana ou canina.
- Área em investigação: municípios com casos suspeitos humanos ou caninos que aguardam a conclusão da investigação para classificação.
- Áreas vulneráveis: municípios sem casos autóctones de LV humana e/ou LV canina, mas que são contíguos aos municípios com casos de LV, ou que possuem fluxo migratório intenso ou mesmo que fazem parte de um mesmo eixo viário dos municípios com casos de LV.
- Áreas não vulneráveis: são municípios que não atendem um ou mais dos critérios citados para as áreas vulneráveis.
- Áreas receptivas: são os municípios em que, após a realização do inquérito entomológico, verificou-se a presença do *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi*, comprovadamente vetores e *Mg. migonei* como ainda não comprovado.
- Áreas não receptivas: são os municípios em que, após a realização do inquérito entomológico, verificou-se a ausência do *Lu. longipalpis* ou *Lu. cruzi*.

Figura 11: Classificação epidemiológica dos municípios do estado de São Paulo para LVA.

Fonte: Rangel, 2013.

Em 1981 foi descrita a notificação de um caso de leishmaniose visceral em uma criança com dois anos de idade, residente no bairro do Capão Redondo, da capital paulista. Apesar de transmissão congênita ou por transfusão de sangue ter sido cogitada e a primeira hipótese rejeitada pelos exames realizados na mãe, é provável que a infecção tenha decorrido de mecanismo habitual, como ocorrência autóctone relativa do estado de São Paulo (AMATO NETO, 1981).

Em 2007, o município de São Paulo entra em investigação devido à notificação de um caso humano de LVA e em decorrência da notificação de cão com suspeita clínica da doença, também os seguintes municípios do estado de São Paulo: Flora Rica, Mariápolis, Iguaraçu do Tietê, Mogi das Cruzes, Ferraz de Vasconcelos, Suzano e Itaquaquecetuba, esses últimos contíguos à cidade de São Paulo (CCD/SUCEN/SES-SP, 2007).

Figura 12: Representação dos municípios da Região Metropolitana de São Paulo, com destaque (em vermelho) para municípios nos quais já há transmissão canina de LVA.

Fonte: adaptado de SP - Turismo, 2011.

Na região de Cotia e Embu, situada a oeste de São Paulo houve registro da transmissão canina e também nos municípios a leste, como Mogi das Cruzes.

Na Serra da Cantareira existe notificação da leishmaniose tegumentar. Foram realizadas capturas periódicas no local e encontradas várias espécies de flebotomíneos, principalmente a espécie *Pintomyia fischeri* (MOSCHIN, 2010).

Assim, tendo-se presente a evolução na distribuição espacial e temporal do vetor e da infecção humana e canina (Figuras 7 a 10), bem como as estradas que percorrem e conectam essas áreas, não parece absurdo que a doença alcance a maior metrópole da América do Sul, onde vivem 19 milhões de pessoas, via deslocamento do vetor *Lu. longipalpis* e cães infectados.

Além disto, o Rodoanel Mario Covas (SP 021) que interliga três rodovias (Presidente Castelo Branco, Anhanguera e Bandeirantes) as quais conectam áreas

com transmissão humana e/ou canina de LVA, também corta áreas próximas a remanescentes de mata, onde ocorrem outras espécies de flebotomíneos com potencial para atuarem na transmissão de *L. (L.) infantum chagasi* (OVALLOS, 2011; MOSCHIN et al. 2013).

A presença de cães domésticos que comumente são vistos nessas áreas remanescentes, além de possíveis reservatórios de *L. (L.) i. chagasi* silvestres, podem favorecer a instalação de zoonose silvestre. O risco desta se instalar no ambiente doméstico ou periurbano é favorecido pela formação de biocenose secundária, com preservação de focos naturais entre o ambiente primitivo e artificial. Neste caso, como ocorre o aumento das populações hospedeiras na presença do parasita e vetor, aumenta-se o risco de transmissão da infecção (CONDINO, 2007).

2 OBJETIVOS

Investigar a vulnerabilidade do município de São Paulo para a ocorrência de leishmaniose visceral americana (LVA) utilizando os parâmetros de casos humanos notificados, presença do vetor e infecção em reservatórios domésticos.

2.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Analisar os bancos de dados de notificações de LVA humana do Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN, de 2007 a 2014, usando técnicas de análise espacial.

Realizar levantamento entomológico da região noroeste do Município de São Paulo, onde se encontram dois parques, o Parque Estadual do Jaraguá e o Parque do Anhanguera, para levantamento e identificação da fauna de flebotomíneos.

Desenvolver inquérito canino na região, com o intuito de identificar infecção por *Leishmania* spp.

Propor atividades de vigilância epidemiológica para as leishmanioses com base nas evidências obtidas.

3 METODOLOGIA

A área investigada é considerada vulnerável em termos da rota de expansão da doença (eixo noroeste do estado – zona oeste/norte da capital). Nessa estão incluídos dois parques com a presença de matas remanescentes e áreas residenciais adjacentes. Os parques são: Anhanguera – zona norte, com administração municipal e Jaraguá, administração estadual – zona oeste. A região está situada dentro dos distritos administrativos do município de São Paulo denominados como Anhanguera, Jaraguá e Perus.

Figura 13: Localização dos Parques Anhanguera e Jaraguá, junto ao Rodoanel Mario Covas, Rodovias Anhanguera e Bandeirantes, com delimitação dos distritos administrativos e limites do município de São Paulo.

Fonte: Google Earth, 2015.

Figura 14: Parques Anhanguera e Jaraguá com seus limites geográficos e o limite do município de São Paulo.

Fonte: Google Maps, 2012.

O Parque Anhanguera e o Parque do Jaraguá situados na região noroeste do município de São Paulo são os mais próximos das rodovias que ligam o eixo Bolívia – Mato Grosso-Oeste do Estado que tem se mostrado como rota da transmissão de LVA no estado de São Paulo, o qual coincide com a primeira fase do rodoanel, em seu trecho oeste.

3.1 O RODOANEL

O Rodoanel Mário Covas (SP-021), também conhecido como Rodoanel Metropolitano de São Paulo ou simplesmente Rodoanel, é uma autoestrada de 177 quilômetros, duas pistas e oito faixas de rodagem, que está sendo construída em torno do centro da Região Metropolitana de São Paulo, na tentativa de aliviar o intenso tráfego de caminhões oriundos do norte e sul do Brasil e que hoje cruzam as duas vias urbanas marginais da cidade (Pinheiros e Tietê), cujo reflexo no tráfego vem provocando grave situação de congestionamentos (WIKIPÉDIA, 2011; PORTAL DA PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2011).

O seu prolongamento na alça sul encontrará a região do Guarapiranga, ao norte a APA da Cantareira, e continuará até a região leste, onde há a APA do Carmo.

Para tentar a compensação dos impactos ambientais negativos causados pela construção do rodoanel e com uma parcela dos recursos da compensação ambiental referente ao licenciamento ambiental do empreendimento rodoviário no trecho sul, serão destinados recursos para a construção de quatro Parques Naturais Municipais no total de 1200 ha na cidade de São Paulo. Esses impactos negativos acontecerão sobre os remanescentes naturais da Mata Atlântica e várzeas originais da região, além de ecossistemas associados situados na Área de Proteção de Mananciais ao Sul do Município, inserida na Área de Proteção aos Mananciais e na Reserva da Biosfera do Cinturão Verde de São Paulo. Serão os Parques Naturais Jaceguava, Itaim, Bororé e Varginha (PORTAL DA PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2011).

Figura 15: Traçado completo do Rodoanel.

Fonte: Dersa e Prefeitura da cidade de São Paulo/ Secretaria do Verde e Meio Ambiente, 2011.

A Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente elaborou um plano de trabalho que foi encaminhado ao órgão licenciador estadual (Departamento de Avaliação de Impacto Ambiental – DAIA da Secretaria de Estado do Meio Ambiente), em julho de 2006, visando a orientar toda a implantação do Parque, custeada pela empresa DERSA, incluindo: levantamento fundiário, estudos preliminares (fauna e flora), demarcação e cercamento, desapropriação e infraestrutura. O processo de implantação deverá ser supervisionado por uma Comissão de Acompanhamento,

composta pelo empreendedor, o órgão licenciador e a municipalidade. A compensação também prevê a desapropriação de uma faixa de 300 metros dos dois lados da via, que promoverá a conectividade entre os fragmentos e ainda evitará possíveis ocupações irregulares do entorno no Rodoanel (DERSA, 2011; PORTAL DA PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2011).

3.2 DESCRIÇÃO DO TERRITÓRIO

3.2.1 Regiões Metropolitanas de São Paulo

A região Metropolitana de São Paulo ou Grande São Paulo, reúne 39 municípios em processo de conurbação, ou seja, a extensão da capital paulista com seus municípios liminhos numa marcha urbana contínua, que juntas ultrapassam 29 milhões de habitantes, aproximadamente 75% da população do estado de São Paulo (TEODORO, 1990).

Figura 16: Região Metropolitana de São Paulo, 2011.

Fonte: Wikipédia e Portal da Cidade de São Paulo, 2011.

A área territorial total da região metropolitana de São Paulo é 7994 km² e a área urbanizada 2139 km². A latitude é 23, 533 Sul e a longitude a oeste.

Quadro 2: Municípios da Região Metropolitana de São Paulo, com área em km, população, produto interno bruto e índice de desenvolvimento humano médio, 2011.

Município	Área (km ²)	População	PIB (2007)	IDH-M (2000)
Arujá	97	74.818	1.172.270.000	0,788
Barueri	64	240.656	25.478.564.000	0,826
Biritiba-Mirim	317	28.573	224.481.000	0,75
Caieiras	96	86.623	1.313.212.000	0,813
Cajamar	128	64.113	3.077.194.000	0,786
Carapicuíba	35	369.908	2.348.098.000	0,793
Cotia	324	201.023	4.269.359.000	0,826
Diadema	31	386.039	8.652.723.000	0,79
Embu das Artes	70	240.007	2.475.359.000	0,772
Embu-Guaçu	155	62.846	444.129.000	0,811
Ferraz de Vasconcelos	30	168.290	1.026.230.000	0,772
Francisco Morato	49	154.538	627.916.000	0,772
Franco da Rocha	134	131.603	1.469.399.000	0,778
Guararema	271	25.861	403.779.000	0,798
Guarulhos	318	1.222.357	27.446.503.000	0,798
Itapevi	91	200.874	1.938.255.000	0,759
Itapeçerica da Serra	151	152.380	2.266.326.000	0,783
Itaquaquecetuba	82	321.854	2.320.414.000	0,744
Jandira	18	108.436	1.175.029.000	0,801
Juquitiba	522	28.732	187.790.000	0,754
Mairiporã	321	80.920	769.730.000	0,803
Mauá	62	417.281	5.393.239.000	0,781
Mogi das Cruzes	714	387.241	5.535.959.000	0,801
Osasco	65	666.469	24.688.012.000	0,818
Pirapora do Bom Jesus	108	15.727	138.625.000	0,767
Poá	17	106.033	1.933.259.000	0,806
Ribeirão Pires	99	113.043	1.355.226.000	0,807
Rio Grande da Serra	37	44.084	310.072.000	0,764
Salesópolis	426	15.639	190.443.000	0,748
Santa Isabel	361	50.464	452.946.000	0,766
Santana de Parnaíba	184	108.875	2.892.806.000	0,853
Santo André	175	673.914	13.387.244.000	0,835
São Bernardo do Campo	406	765.203	25.533.808.000	0,834
São Caetano do Sul	15	149.571	9.047.607.000	0,919
São Lourenço da Serra	187	13.985	119.952.000	0,771
São Paulo	1.523	11.253.503	319.994.633.000	0,841
Suzano	206	262.568	5.321.200.000	0,775
Taboão da Serra	20	244.719	3.581.274.000	0,809
Vargem Grande Paulista	34	42.946	535.785.000	0,802
Total	7.943	19.681.716	509.498.850.000	0,828

Fonte: Wikipédia e Portal da Cidade de São Paulo, 2011.

3.2.2 Município de São Paulo

A cidade de São Paulo, capital do estado de São Paulo, é o principal centro financeiro, corporativo e mercantil da América Latina.

É a cidade mais populosa do Brasil, do continente americano e de todo o hemisfério sul. É também a cidade brasileira mais influente no cenário global, sendo considerada a 14ª cidade mais globalizada do planeta, recebendo a classificação de Cidade Global Alfa, por parte do *Globalization and World Cities Study Group & Network* (GaWC).

Possui o 10º maior PIB do mundo e representa, isoladamente, 12,26% de todo o PIB brasileiro e 36% de toda a produção de bens e serviços do estado de São Paulo, sendo sede de 63% das multinacionais estabelecidas no Brasil, e é responsável por, aproximadamente 25% da produção científica do Brasil.

São Paulo, sexta maior cidade do planeta, e sua região metropolitana, com 19 223 897 habitantes, é a quarta maior aglomeração urbana do mundo. Situa-se próxima ao paralelo 23°32'52" sul e do meridiano 46°38'09" oeste, com área total de 1522,986 km².

Seu clima é considerado subtropical (tipo Cfa segundo Köppen), com diminuição de chuvas no inverno e temperatura média anual de 19,25 °C, com invernos brandos e verões com temperaturas moderadamente altas, ainda maiores quando sob o efeito da poluição e concentração de edifícios. Fevereiro é o mês mais quente, com temperatura média 22,5°C, e o mais frio, julho, com 16°C. A precipitação anual média é de 1376,2 mm, concentrados principalmente no verão. As estações do ano são relativamente bem definidas. Podem ocasionalmente

ocorrer geadas em regiões mais afastadas do centro. Já houve ocorrência oficialmente registrada de neve em 25 de junho de 1918, quando a temperatura atingiu $-2,8^{\circ}\text{C}$. As temperaturas variam pouco na cidade pela maritimidade. A altitude mantém as noites e madrugadas mais amenas mesmo nos dias mais quentes.

A cidade se localiza junto à bacia do rio Tietê, e sub-bacias dos rios Pinheiros e Tamanduateí. A altitude média é de 760 metros e o ponto culminante é o Pico do Jaraguá, com 1135 metros, localizado no Parque Estadual do Jaraguá, na Serra da Cantareira, onde também está a segunda maior floresta urbana do mundo, no Parque da Cantareira.

Figura 17: Mapa de uso e ocupação do solo do município de São Paulo.

Fonte: GAEA, 2001; PREFEITURA DE SÃO PAULO, 2011.

3.2.3 Parque do Jaraguá

Criado em 1961, em torno do Pico do Jaraguá (ponto mais alto da cidade de São Paulo, com 1.135 metros), com cerca de cinco mil hectares de área constituída principalmente pela vegetação remanescente da mata atlântica e cerrado. Integra a Zona Núcleo da Reserva da Biosfera do Cinturão Verde da cidade de São Paulo e contribui para a Regulação Térmico-Energética, Hídrica e a Minimização da Poluição do Ar.

O entorno do parque compõe-se de casas autoconstruídas, conjuntos habitacionais, bairros residenciais e industriais, além das rodovias: Anhanguera (construída na década de 1940), que possui tráfego pesado de caminhões especialmente no trecho que liga São Paulo a Campinas; Bandeirantes, inaugurada em 1978, construída quando a capacidade da Rodovia Anhanguera chegou ao limite na década de 1960 e concomitante à criação do Parque Estadual do Jaraguá; Rodoanel Mário Covas – trecho oeste (2002), que concluiu o processo de isolamento da Unidade de Conservação, diminuindo consideravelmente as possibilidades do fluxo gênico com outras áreas protegidas. As consequências do processo de expansão da malha rodoviária podem ser observadas, no crescente adensamento populacional da região considerado um dos mais expressivos do município de São Paulo (WIKIPÉDIA, 2012; CIDADE DE SÃO PAULO, 2012).

Figura 18: Parque Estadual do Jaraguá.

Fonte: <http://caminhosturismo.wordpress.com/2008/03/03/valeu-de-novo/attachment/16/>

Figura 19: Vista aérea do Pico do Jaraguá.

Fonte: <http://turmasabado.hd1.com.br/sonia/parques.htm>

Figura 20: Vista de torre de transmissão sobre o Pico do Jaraguá e da área de piquenique do lago interditada a visitação pública desde 2009, pela contaminação do lago, 2014.

Figura 21: Vista da cidade de São Paulo do mirante do Pico do Jaraguá.

3.2.4 Parque do Anhanguera

Originou-se de uma área remanescente do Sítio Santa-Fé, uma antiga fazenda de reflorestamento adquirida pela Prefeitura em 1978. Possui uma área de aproximadamente nove milhões de metros quadrados de mata atlântica com matas ciliares, campos secos e alagados (brejos), capoeiras e uma grande quantidade de cursos d'água. Os eucaliptos ocupam uma grande área do parque.

O parque Anhanguera é um parque municipal situado no extremo noroeste da capital de São Paulo, no bairro de Perus, criado em 1979 e está próximo ao pico do Jaraguá.

Figura 22: Vista do Parque do Anhanguera.

Fonte: <http://www.saopaulo.com.br/parque-anhanguera>.

Figura 23: Área de fauna do DEPAVE 3, inserido no Parque do Anhanguera e vista do lago contíguo à área de fauna, dois pontos de coleta do levantamento entomológico, 2014.

3.3 LEVANTAMENTO DAS NOTIFICAÇÕES DE LVA HUMANA

Uma análise espacial pode identificar, ao longo do tempo e do espaço, áreas de transmissão de doenças de baixa incidência, porém presentes.

Os bancos de notificação de casos de LVA do SINAN foram filtrados para o período de 2007 a 2014. Foram utilizados os dados que se enquadraram nos parâmetros de informação suficiente para a localização dos casos humanos por endereço, usando técnicas de geocodificação, totalizando 137 notificações (79 casos confirmados).

Figura 24: Distribuição espacial dos casos de LVA no município de São Paulo, de 2007 a 2014.

Fonte: Google Earth, 2015.

Nenhuma das notificações pesquisadas nos bancos anuais do SINAN foi confirmada como caso autóctone, portanto não se considera o município de São Paulo endêmico para LVA humana. Os dados do Sistema de notificação nacional (SINAN) foram filtrados e geoprocessados no intuito de identificar *clusters* no programa SaTScan V 9.4 e georreferenciados pelo programa Terra View 4.2.2. As análises utilizadas foram: puramente espacial e espaço temporal.

3.4 LEVANTAMENTO ENTOMOLÓGICO

Na verdade o termo levantamento entomológico é mais adequado à situação aqui apresentada, pois tem como objetivo identificar vetores e/ou atualizar a sua distribuição. Essa pesquisa se insere nas atividades de vigilância entomológica, já que tem o objetivo de identificar áreas receptivas, conhecer presença, distribuição e dispersão dos vetores de leishmaniose (CHIARAVOLO, 2013).

Para a realização das capturas do levantamento entomológico para a população de estudo, os flebotomíneos, foram necessárias autorizações do Comitê de Ética em Saúde Pública da FSP/USP, através do registro da pesquisa na Plataforma Brasil para obtenção do Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP sob o nº 232.370 de 22/03/2013; do Ministério do Meio Ambiente – MMA, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio - e Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO- sob o número: 37404-3, pré-requisito para a solicitação de autorização junto ao Instituto Florestal - IF- por meio da Comissão Técnico Científica – COTEC - que dá parecer para o acesso ao Parque do Jaraguá, segundo a Resolução SMA-25, de 8/11/2000, que dispõe sobre a Medida Provisória nº 2052-3, de 27/11/2000; a Portaria do Diretor Geral do Instituto Florestal, de 23/01/90; a Portaria do Diretor Geral do Instituto Florestal, de 19/07/93; a Instrução Normativa do Ministério do Meio Ambiente, IBAMA nº 154, de 1º de março de 2007, retificada em 14/03/2007 e o Decreto nº 98.830 de 15/01/90, que autorizou a pesquisa segundo PROCESSO SMA nº. : 260108 – 002.442/2013; da Secretaria do Verde e Meio Ambiente, cujo pedido resultou no processo nº 2013-0.096.492-4 para autorização das capturas de flebotomíneos no Parque do Anhanguera.

As capturas foram realizadas utilizando armadilhas automáticas luminosas do tipo CDC, armadilhas de Shannon nas cores preta e branca, coletas manuais com coletor de Castro em paredes de um sanitário e armadilhas adesivas.

As armadilhas CDC eram instaladas ao entardecer e retiradas na manhã seguinte, num total de oito pontos fixos de coleta: seis pontos no Parque do Jaraguá e dois no parque do Anhanguera, com regularidade aproximadamente quinzenal, em virtude de condições meteorológicas propícias.

As capturas com armadilhas de Shannon foram realizadas nos dois parques, do entardecer até aproximadamente às 22h, ou quando se percebia baixa na atividade dos insetos.

As coletas manuais foram realizadas no Jaraguá, principalmente dentro de um sanitário na ala três do parque. As armadilhas adesivas foram instaladas apenas no parque Anhanguera em gaiolas de animais cativos.

O início das capturas se deu em testes em outubro de 2013, e foi efetivamente realizada de janeiro de 2014 a janeiro de 2015.

Os insetos foram transportados para o Laboratório de Entomologia em Saúde Pública - Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo – FSP/USP, onde os espécimes se encontram tombados. Os insetos foram clarificados segundo técnica proposta por de Forattini (1973) e identificados de acordo com a chave de identificação de Galati (2003).

Figura 25: Armadilhas do tipo CDC, instaladas em pontos de coleta do Parque do Jaraguá e do Parque Anhanguera.

Figura 26: Flebotomíneos capturados no Parque do Jaraguá. Macho e fêmea de *Psathyromyia pascalei* (Coutinho & Barretto).

3.4.1 Análise Estatística

Os flebotomíneos coletados foram analisados estatisticamente para obtenção da frequência, regularidade, diversidade e abundância. Todas as espécies capturadas em armadilhas tipo CDC, barracas de Shannon, coletas manuais com coletor de Castro e armadilhas adesivas, provenientes dos dois parques: Anhanguera e Jaraguá foram incluídas na análise.

A média geométrica de Williams (HADDOW, 1960) foi calculada segundo a fórmula a seguir, pois se trata de uma medida de tendência central que reflete a frequência e a regularidade das espécies nas capturas.

$$\text{Média de Williams} = \bar{X}_w = \frac{[\text{antilog} (\sum \log (n+1))]}{N} - 1$$

Onde **n** é cada valor de uma série de **N** observações.

O índice de diversidade de Shannon-Weaver (H) reflete a diversidade de espécie num determinado ambiente e tempo. Quanto maior o valor do índice, maior o número de espécies encontradas em um ponto de captura (MARTINI & PRADO, 2010).

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \cdot \ln p_i$$

p_i = abundância relativa (proporção) da espécie **i** na amostra.

$$p_i = n_i/N$$

n_i = número de indivíduos da espécie i .
 N = número de indivíduos total da amostra.

As medidas de equitabilidade ou dominância foram calculadas pelo Índice de Pielou (J), segundo a equação a seguir:

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

H = Shannon-Weaver
 S = número de espécies.

A curva de abundância foi calculada pelo índice de Abundância de Espécies Padronizado - IAEP, (ROBERT & HSI, 1979), na qual os valores próximos a 1 são os das espécies com maior abundância (JACQUES, 2010).

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

onde,

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

c = é o maior valor do ranking +1.
 a = é o número de pontos que a espécie não estava presente x c .
 R_j = soma de todas as posições do ranking atribuídas a uma determinada espécie.
 K = é o número de pontos de coleta.

3.5 INQUÉRITO CANINO

O inquérito sorológico amostral canino foi realizado na região dos parques Anhanguera e Jaraguá e no seu entorno, o que de fato compreende as áreas dos Distritos Administrativos de Anhanguera, Jaraguá e Perus. O inquérito amostral canino tem por intuito monitorar a positividade de leishmaniose visceral entre os cães.

Segundo Taniguchi (2013), é indicada com objetivo de identificar cães infectados para realização de eutanásia em áreas endêmicas, mas também para avaliar a prevalência. Os inquéritos caninos estão preconizados para áreas de municípios silenciosos receptivos (onde já se identificou o vetor); municípios com transmissão moderada e intensa para identificar áreas que necessitam de inquérito sorológico censitário; em zona urbana de município silencioso e receptivo com menos de 500 cães e em zonas rurais de municípios com transmissão (TANIGUCHI, 2013).

Segundo o Ministério da Saúde, 2006, a vigilância canina tem sua metodologia definida a partir da definição do caso. Quando há um caso canino suspeito ou proveniente de área endêmica, devem-se realizar exames em todos os cães com sintomas clínicos compatíveis, ou seja, febre irregular, apatia, emagrecimento, descamação furfurácea e úlceras na pele, em geral no focinho, orelhas e extremidades, conjuntivite, paresia dos membros posteriores, fezes sanguinolentas e crescimento exagerado das unhas.

A confirmação de caso canino pode acontecer por critério laboratorial (cão com manifestações clínicas compatíveis com leishmaniose visceral e que apresente teste sorológico reagente e/ou exame parasitológico positivo), ou por critério clínico

epidemiológico (cão proveniente de áreas endêmicas sem a confirmação do diagnóstico laboratorial) ou ainda cão infectado (cão assintomático com sorologia reagente e/ou parasitológico positivo em município com transmissão confirmada, ou procedente de área endêmica).

Na suspeita clínica de cão, deve-se delimitar a área para investigação do foco, num raio de 100 cães a serem examinados por busca ativa de cães sintomáticos para exame parasitológico e confirmação da presença de Leishmânia; se confirmada, coletar sorologia de todos os cães da área para definir a prevalência e desencadear as medidas de controle ou mesmo para confirmar a ausência de enzootia ou para avaliar taxas de prevalência.

A prevalência e o número de cães do setor podem ser calculados ou usar uma estimativa de prevalência conhecida como parâmetro de 2%.

Foram analisados dados primários oriundos do inquérito canino amostral, realizado durante o mês de janeiro de 2015, através de três formas diferenciadas de obtenção de amostras:

- a) Nos parques Jaraguá e Anhanguera, foram coletadas amostras de sangue em cães domiciliados, ou não, que permanecem nos parques e são tratados pelos moradores e funcionários.
- b) Visitas às clínicas veterinárias da região que forneceram amostras de pacientes para realização do exame de forma gratuita, principalmente dos cães que apresentaram sintomatologia compatível com a LVC.
- c) Junto à campanha de castração realizada pelo CCZ na região de Perus, onde foi possível colher a grande maioria das amostras de forma segura aos pesquisadores e aos animais, ou seja, no pós-operatório. Nessa coleta de amostras houve a colaboração de médicos veterinários credenciados

voluntários e assistentes para a correta autorização junto aos proprietários, com a utilização do termo de consentimento livre e esclarecido- TCLE, aprovado anteriormente pela Comissão de Ética em Pesquisa – CEP da FSP/USP (vide anexos), também para a correta identificação e armazenagem das amostras de sangue canino,

Pela campanha de castração apresentar uma oportunidade de reunir um grande número de animais da região ao mesmo tempo, foi possível realizar um corte transversal, com amostra aleatória de sangue canino, cuja abrangência cobriu todo o território estudado, além desse e também de municípios vizinhos. (Figura 28).

Figura 27: Georreferenciamento das amostras aleatórias de sangue canino e distritos administrativos do Anhanguera, Jaraguá e Perus, São Paulo, 2015.

Fonte: Google Earth, 2015.

As amostras de sangue dos animais foram colhidas por punção em veia cefálica, femoral ou jugular, portanto trata-se de sangue periférico. Foram acondicionadas em tubos secos siliconados e mantidas sob-refrigeração, até a formação do coágulo e depositadas em freezer a -20°C , conforme eram colhidas. Ao fim do processo de coleta, foram descongeladas sob-refrigeração e enviadas ao Laboratório de Patologia de Moléstias Infecciosas (LIM-50) da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP, onde foi possível extrair o soro utilizado na realização do teste de EIE (ELISA).

Figura 28: Coleta de amostra de sangue canino, Parque do Anhanguera. São Paulo, 2015.

3.5.1 Protocolo para o teste de EIE (ELISA)

A sensibilização foi realizada com antígeno utilizado foi *L. (L.) infantum chagasi* a 10µg/mL em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,5 (Overnight - 4°C) - 100µL/poço; As lavagens (3) com PBS-T 0,05% (solução salina tamponada com fosfato, com detergentes Triton X-100 ou Tween 20) são utilizados para permeabilizar a amostra. O Bloqueio foi realizado por incubação com solução de leite desnatado (*Molico – Nestlé*) a 10% em PBS por 1h à 37°C - 150µL/poço e mais três lavagens com PBS – T a 0,05%. A adição da amostra diluída usou o soro 1/400 e permaneceu em PBS – T 0,05% por 1h a 37°C - 100µL/poço (mais três lavagens com PBS-T A 0,05%). O Conjugado adicionado foi anti-IgG de cão com fosfatase alcalina (Beethyl) e permaneceu em PBS-T por 45 min a 37°C e 100µL/poço (três lavagens com PBS-T 0,05%). O substrato adicionado foi pNPP 1mg/mL em carbonato-bicarbonato pH 9,5 (30 min - 37°C) - 100µL/poço e a parada realizada com solução de hidróxido de sódio 2N - 50µL/poço. A leitura foi realizada com filtro de 405 nm.

Foi identificado um sororreagente na placa 3 (Cut-off de 0,3846) e amostra positiva de 0,8090 (D.O. - média).

Com o intuito de confirmar a infecção foram colhidas cinco amostras por meio de swabs bucais, do cão reagente e de quatro outros contactantes. O material colhido foi analisado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) no LIM 50.

Também foram submetidas à PCR, 26 amostras dos coágulos sanguíneos obtidas para o inquérito sorológico, sendo 04 da mesma rua do cão sororreagente e 22 dos dois parques. Os testes foram realizados no LIM-50.

3.5.2 IPCR convencional para pesquisa de DNA de *Leishmania*

A pesquisa do DNA de *Leishmania* sp foi realizada no sangue periférico (coágulo) (n= 26) e swab bucal (n= 5) de 31 cães empregando-se a reação em cadeia da polimerase (PCR). A sequência de nucleotídeos com 234 pares de base escolhida para amplificação do DNA do parasito encontra-se no gene da proteína de choque térmico de peso molecular de 70 kDa (hsp 70). O produto amplificado, após digestão com a enzima de restrição *Hae* III, gera fragmentos que podem diferenciar *L. (L.) infantum chagasi* de outras espécies do subgênero *Viannia* (Graça et al., 2012).

3.5.3 Extração e purificação do DNA das amostras

Antes da execução da PCR convencional, procedeu-se à extração do DNA dos swabs bucais com o Kit NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha). Resumidamente, foram adicionados 200 µL de tampão de lise (T1) e 25 µL da enzima proteinase K (20 mg/mL) nos microtubos contendo os swabs. Em seguida, os microtubos foram agitados em vortex por cinco segundos e incubados a 56°C por 2 horas. Após a incubação, a suspensão celular foi transferida para novos microtubos estéreis quando foram adicionados 200 µL de tampão de lise (B3) e em seguida incubados a 70° C para a completa lise celular. Para a desproteinização e separação dos ácidos nucleicos foram acrescentados 200 µL de etanol (96-100%) com posterior agitação em vortex por 15 segundos. O sistema de coluna, incluso no Kit NucleoSpin® Blood, foi devidamente montado e a suspensão de cada animal foi adicionada às colunas contendo sílica. Em seguida, o sistema foi centrifugado por

um minuto a 13.000 rpm. Para a lavagem da membrana de sílica da coluna foram necessárias duas etapas. Na primeira, foram adicionados 500 µL de tampão de lavagem (BW) e o sistema foi centrifugado por um minuto a 13.000 rpm. Na segunda, foram adicionados 600 µL de tampão de lavagem (B5) seguida de mais uma centrifugação por um minuto a 13.000 rpm. Para a eluição do DNA, cada coluna foi transferida para outro microtubo estéril de 1,5 mL. No centro da coluna foram adicionados 100 µL de tampão de eluição (BE) aquecido previamente a 70°C. Outra incubação por um minuto à temperatura ambiente e centrifugação a 13.000 rpm por dois minutos foi realizada. O DNA foi armazenado no freezer a -20°C até o uso.

A extração do DNA dos coágulos sanguíneos foi realizada com o kit NucleoSpin® Tissue (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha), seguindo o mesmo protocolo de execução acima explicitado, exceto a primeira etapa, quando os coágulos foram incubados com proteinase K em conjunto com o tampão de lise B3 e incubados a 70°C por 1 hora.

3.5.4 Condições da PCR convencional

A PCR foi realizada em microtubos estéreis num volume final de 20 µL contendo 4,8 µL de água ultrapura (Promega- EUA), 10 µL de Master Mix Go Taq Green 2x (Promega - EUA), 0,5 µL de cada *primer* na concentração final de 250 nM (hsp70 forward: 5'- GGACGAGATCGAGCGCATGGT-3' e hsp70 reverse: 5'- TCCTTCGACGCCTCCTGGTTG-3'), 0,2 µL de cloreto de tetrametilamônio (TMAC) a 5 mM final e 4 µL de DNA extraído dos coágulos sanguíneos e do swab bucal. Os tubos de reação foram então posicionados no termociclador Mastercycler Nexus GSX1 (Eppendorf- Alemanha) que foi programado com a seguinte ciclagem: 94°C

por 5 minutos para a desnaturação inicial das moléculas de DNA, mais 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 61°C por 1 minuto e 72°C por 3 minutos. A extensão final foi realizada a 72°C por 8 minutos.

Os produtos de amplificação foram aplicados em um gel de agarose a 2%. Após a eletroforese, o gel foi fotografado sob luz ultravioleta para visualização das bandas.

Em todas as reações de PCR, incluiu-se o DNA de diferentes espécies de *Leishmania* como controle positivo e para comparações dos perfis de bandas gerados após a digestão enzimática.

Para amostras positivas com banda fraca, uma reamplificação (nested-PCR) foi realizada com 1 µL do produto amplificado previamente (primeiro round), antes de ser submetido à digestão enzimática.

3.5.5 Digestão dos produtos amplificados.

O processo de digestão iniciou-se com o preparo de uma solução em um microtubo estéril contendo 1µL da enzima *Hae* III, 2 µL de água livre de DNase e 2 µL de tampão do kit (New England BioLabs–Reino Unido). Foram colocados 5 µL desta solução em cada microtubo contendo 15 µL do DNA amplificado. Os microtubos foram incubados a 37°C por 3 horas e, em seguida, a 80°C por 20 minutos para inativação da enzima. Os produtos digeridos foram aplicados em um gel de agarose a 3%. Após a eletroforese, o gel foi fotografado sob luz ultravioleta para visualização das bandas.

4 RESULTADOS

4.1 CASOS HUMANOS

Os resultados das análises apontaram *clusters* que representam agrupamentos de notificações no tempo e no espaço ou somente no espaço, em diversos distritos do município de São Paulo, porém demonstram duas situações distintas de notificação na cidade, onde há maior notificação, destacando a região do centro expandido da cidade e apresentam $p < 0,05$ e outra que se forma na periferia da cidade, em áreas onde há notificações em número considerável e há fatores de risco, como menor IDH e proximidade da moradia de áreas de vegetação, onde a análise mostrou $p < 0,05$.

A análise espacial demonstrou três *clusters*, dois deles primários ($p < 0,05$) nos distritos de Brás e Guaianases e um secundário no distrito do Carrão ($p > 0,05$).

A análise espaço-temporal demonstrou dois *clusters* primários ($p < 0,05$) em Raposo Tavares e Parelheiros, e dois *clusters* secundários ($p > 0,05$) localizados nos distritos de Cachoeirinha e José Bonifácio.

Figura 29: *Clusters* em análise puramente espacial e raios em km das notificações de LVA, município de São Paulo, 2007 a 2014.

Figura 30: *Clusters* em análise espaço temporal e raios em km das notificações de LVA, município de São Paulo, 2007 a 2014.

Figura 32: Distribuição mensal das notificações de LVA do município de São Paulo, 2007 a 2014.

O padrão se repete quando todos os anos são agrupados, conforme gráfico.

Figura 33: Distribuição mensal do total das notificações de LVA do município de São Paulo, 2007 a 2014.

4.2 FLEBOTOMÍNEOS

Foram capturados um total de 3.660 exemplares, identificados em 15 espécies e três gêneros em três subtribos: **Brumptomiina** – *Brumptomyia brumpti* (Larrousse, 1920), *Brumptomyia cardosoi* (Barretto & Coutinho, 1941), *Brumptomyia carvalhoi* (Shimabukuro, Marassá & Galati, 2007), *Brumptomyia cunhai* (Mangabeira, 1942), *Brumptomyia nitzulescui* (Costa Lima, 1932), *Brumptomyia ortizi* Martins, Silva & Falcão 1971, *Brumptomyia* sp; **Lutzomyiina** - *Evandromyia edwardsi* (Mangabeira 1941), *Expapillata firmatoi* (Barretto, Martins & Pelegriño, 1956), *Lutzomyia amarali* (Barretto & Coutinho, 1940), *Lutzomyia* sp - espécime similar a *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), *Migonemyia migonei* (França, 1920), *Pintomyia bianchigalatiae* (Andrade Filho, Aguiar, Dias & Falcão, 1999), *Pintomyia fischeri* (Pinto, 1926), *Pintomyia monticola* (Costa Lima, 1932); **Psychodopygina** - *Psathymomyia pascalei* (Coutinho & Barretto, 1940), *Psathyromyia* sp, *Psychodopygus lloydi* (Antunes, 1937). (Tabela 1).

Tabela 1: Total de espécimes de ambos os sexos de flebotomíneos capturados nos parques Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, janeiro de 2014 a janeiro de 2015.

Parque	Anhanguera		Jaraguá		TOTAL	%	Proporção por sexo				
Espécie	M	F	M	F			M	M%	F	F%	M/F
<i>Brumptomyia brumpti</i>	-	-	1	1	2	0.055	1	0.178	1	0.032	1.000
<i>Brumptomyia cardosoi</i>	-	-	9	12	21	0.574	9	1.601	12	0.387	0.750
<i>Brumptomyia carvalhoi</i>	-	-	3	6	9	0.246	3	0.534	6	0.194	0.500
<i>Brumptomyia cunhai</i>	-	-	2	2	4	0.109	2	0.356	2	0.065	1.000
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	-	-	17	4	21	0.574	17	3.025	4	0.129	4.250
<i>Brumptomyia ortizi</i>	-	-	1	-	1	0.027	1	0.178	-	-	-
<i>Brumptomyia sp</i>	1	-	6	18	25	0.683	7	1.246	18	0.581	0.389
<i>Evandromyia edwardsi</i>	2	2	-	1	5	0.137	2	0.356	3	0.097	0.667
<i>Expapillata firmatoi</i>	-	1	31	86	118	3.224	31	5.516	87	2.808	0.356
<i>Lutzomyia amarali</i>	-	-	1	1	2	0.055	1	0.178	1	0.032	1.000
<i>Lutzomyia sp</i>	-	-	-	1	1	0.027	-	-	1	0.032	-
<i>Migonemyia migonei</i>	2	1	99	90	192	5.246	101	17.972	91	2.937	1.110
<i>Pintomyia bianchigalatiae</i>	-	-	1	-	1	0.027	1	0.178	-	-	-
<i>Pintomyia fischeri</i>	3	24	290	2701	3018	82.459	293	52.135	2725	87.960	0.108
<i>Pintomyia monticola</i>	-	-	-	15	15	0.410	-	-	15	0.484	-
<i>Psathyromyia pascalei</i>	17	5	69	113	204	5.574	86	15.302	118	3.809	0.729
<i>Psathyromyia sp</i>	-	-	1	9	10	0.273	1	0.178	9	0.291	0.111
<i>Psychodopygus lloydi</i>	5	5	1	-	11	0.301	6	1.068	5	0.161	1.20
Total	30	38	532	3060	3660	100	562	100	3098	100	0.941

Os pontos de captura com armadilha CDC e coletas manuais com coletores de castro estão descritos a seguir na Tabela 2.

Os pontos de coleta número 1 e 2 se referem ao Parque do Anhanguera e os pontos número 0, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 12 se referem ao Parque do Jaraguá. Os pontos de número 0 e 12 foram descontinuados após alguns esforços de coleta. O ponto 4 refere-se à coleta manual e todos os outros para capturas com CDC.

Tabela 2: Espécies capturadas por ponto de captura nos parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.

Espécies	Ponto 0	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Ponto 4	Ponto 5	Ponto 6	Ponto 7	Ponto 8	Ponto 9	Ponto 12	Total
<i>Brumptomyia brumpti</i>	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	2
<i>Brumptomyia cardosoi</i>	-	-	-	-	-	8	1	2	10	-	-	21
<i>Brumptomyia carvalhoi</i>	-	-	-	-	-	1	-	6	2	-	-	9
<i>Brumptomyia cunhai</i>	-	-	-	-	-	1	-	1	2	-	-	4
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	-	-	-	1	-	8	-	3	9	-	-	21
<i>Brumptomyia ortizi</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
<i>Brumptomyia sp</i>	-	-	1	1	-	2	1	4	16	-	-	25
<i>Evandromyia edwardsi</i>	-	4	-	1	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Expallata firmatoi</i>	2	-	1	7	2	13	5	39	34	10	5	118
<i>Lutzomyia amarali</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-	-	2
<i>Lutzomyia sp</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Migonemyia migonei</i>	-	2	1	-	22	20	31	64	49	3	-	192
<i>Pintomyia bianchigalatae</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
<i>Pintomyia fischeri</i>	4	11	16	43	483	412	145	490	1373	30	11	3018
<i>Pintomyia monticola</i>	-	-	-	3	-	7	1	1	3	-	-	15
<i>Psathyromyia pascalei</i>	-	15	7	3	1	43	7	25	102	1	-	204
<i>Psathyromyia sp</i>	-	-	-	6	-	-	-	-	3	-	1	10
<i>Psychodopygus lloydi</i>	-	3	7	1	-	-	-	-	-	-	-	11
Total	6	35	33	67	508	517	191	637	1605	44	17	3660
Média	3.00	7.00	5.50	6.70	127.00	43.08	27.29	57.91	123.46	11.00	5.67	203.33

O ponto1 do parque Anhanguera situou-se junto a gaiolas onde permanecerem corujas orelhudas (*Asio clamator*) (vide anexo 9) por quase todo o período de coleta. Esse local foi escolhido pela presença das aves e de roedores, os quais eram oferecidos de alimento. O ponto 2 situou-se junto ao lago, atrás da área onde haviam animais cativos e onde a vegetação já se mostrava secundária. (Figura 34).

Figura 34: Pontos de Coleta de Flebotomíneos do Parque do Anhanguera. São Paulo, 2014 e 2015.

Fonte: Google Earth, 2015.

Os pontos do Jaraguá estão caracterizados de duas formas, a primeira delas no ambiente de mata referente aos pontos 0, 3, 5 e 12. O ponto 0, localizado na trilha da bica logo atrás das figueiras irmãs foi descontinuado por não apresentar captura diferenciada do ponto 5 que também se situa nessa trilha, e é o local de permanência de vigilantes do parque, sem guarita. Os pontos 3 e 12 situam-se próximos ao lago do Jaraguá (fechado à visitação pública por ser considerado contaminado). O ponto 12 foi descontinuado por estar muito próximo ao ponto 3 e demonstrar semelhanças nas condições ambientais e de espécies (Figura 35).

Figura 35: Pontos de Coleta de Flebotomíneos do Parque do Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.

Fonte: Google Earth, 2015.

A segunda situação ocorre na região antropizada da administração e residências do parque, na qual se situam os pontos 4, 6, 7 e 8. O ponto 4 é o único dessa série no qual o tipo de captura difere, pois foram realizadas capturas manuais com coletores de castro, trata-se de um banheiro público no qual era possível coletar flebotomíneos nas paredes. O ponto 7 é muito próximo do ponto 4 e onde é depositada matéria orgânica da varrição do parque. O ponto 6 está localizado em um galinheiro desativado na residência de um dos funcionários do parque e o ponto 8, na trilha do silêncio, muito próximo à administração e a monitoria do parque.

A localização geográfica dos pontos de captura com suas respectivas latitudes e longitudes, em grau, minutos e segundos estão representadas a seguir no Quadro 3.

Quadro 3: Localização geográfica dos pontos de captura de flebotomíneos, parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2015.

Ponto	Latitude	Longitude	Parque
0	23°27'34.08"S	46°45'25.19"O	Jaraguá
1	23°25'5.10"S	46°47'16.57"O	Anhanguera
2	23°24'46.50"S	46°47'13.13"O	Anhanguera
3	23°27'45.07"S	46°45'15.65"O	Jaraguá
4	23°27'42.67"S	46°45'25.09"O	Jaraguá
5	23°27'37.87"S	46°45'27.46"O	Jaraguá
6	23°27'41.98"S	46°45'26.75"O	Jaraguá
7	23°27'43.27"S	46°45'24.08"O	Jaraguá
8	23°27'45.56"S	46°45'28.85"O	Jaraguá
9	23°27'46.23"S	46°45'14.49"O	Jaraguá
12	23°27'45.02"S	46°45'14.76"O	Jaraguá

As espécies mais frequentes foram *Pintomyia fischeri* (82.46%), *Psathyromyia pascalei* (5.57%), *Migonemyia migonei* (5.25%) e *Expapillata firmatoi* (3.22%), cuja distribuição de suas a frequências mensais está representada na figura 36.

Figura 36: Comportamento mensal das espécies mais frequentes. Média geométrica de Williams. Parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 a 2015.

As espécies do gênero *Brumptomyia* foram numerosas na amostra e apresentam a seguinte distribuição mensal:

Figura 37: Comportamento mensal das espécies do gênero *Brumptomyia*. Média geométrica de Williams. Parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 a 1015.

Os resultados em relação ao índice de diversidade de Shannon-Weaver (H) e as medidas de equitabilidade ou dominância expressas pelo Índice de Pielou (J) estão representadas na Tabela 3.

Tabela 3: Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H) e de equitabilidade de Pielou (J) para os parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.

Espécie	Anhanguera	Jaraguá	Total
<i>Brumptomyia brumpti</i>	-	2	2
<i>Brumptomyia cardosoi</i>	-	21	21
<i>Brumptomyia carvalhoi</i>	-	9	9
<i>Brumptomyia cunhai</i>	-	4	4
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	-	21	21
<i>Brumptomyia ortizi</i>	-	1	1
<i>Brumptomyia sp</i>	1	24	25
<i>Evandromyia edwardsi</i>	4	1	5
<i>Expapillata firmatoi</i>	1	117	118
<i>Lutzomyia amarali</i>	-	2	2
<i>Lutzomyia sp</i>	-	1	1
<i>Migonemyia migonei</i>	3	189	192
<i>Pintomyia bianchigalatiae</i>	-	1	1
<i>Pintomyia fischeri</i>	27	2991	3018
<i>Pintomyia monticola</i>	-	15	15
<i>Psathyromyia pascalei</i>	22	182	204
<i>Psathyromyia sp</i>	-	10	10
<i>Psychodopygus lloydi</i>	10	1	11
TOTAL	68	3592	3660
H	1.442	0.754	0.781
J	0.740	0.261	0.270

Como representado, o Parque do Jaraguá apresenta grau de diversidade (H) e índice de Pielou (J) muito maior que o Parque Anhanguera.

Os pontos de coleta dos dois parques estão representados a seguir:

Figura 38: Índices de diversidade de Shannon-Weaver (H), de equitabilidade de Pielou (J) e riqueza de espécies (S) para os Parques Anhanguera e Jaraguá segundo os pontos. São Paulo, 2014 e 2015.

Nota: No ponto 4, as coletas foram realizadas com capturador manual de Castro. Nos pontos 0 e 12 as coletas foram descontinuadas. Todos os outros pontos as coletas foram com armadilha CDC.

O índice de abundância de espécies padronizado para a amostra demonstrou que a espécie *Pintomyia fischeri* é a mais abundante com IAEP = 0,95, seguida pelas espécies *Exapillata firmatoi* (0,47), *Psathyromyia pascalei* (0,45), e *Migonemyia migonei* (0,45).

Tabela 4: Espécies capturadas nos parques do Anhanguera e Jaraguá e seus respectivos IAE, IAEP e posição segundo abundância. São Paulo, São Paulo, 2014 e 2015.

Espécie	IAE	IAEP	Posição
<i>Brumptomyia brumpti</i>	9.409	0.011	16º
<i>Brumptomyia cardosoi</i>	8.318	0.139	8º
<i>Brumptomyia carvalheirc</i>	10.591	0.087	10º
<i>Brumptomyia cunhai</i>	11.045	0.043	13º
<i>Brumptomyia nitzulescui</i>	7.409	0.084	11º
<i>Brumptomyia ortizi</i>	13.409	0.007	18º
<i>Brumptomyia sp</i>	7.091	0.239	5º
<i>Evandromyia edwardsi</i>	6.545	0.076	12º
<i>Expapillata firmatoi</i>	3.091	0.477	2º
<i>Lutzomyia amarali</i>	13.000	0.040	14º
<i>Lutzomyia sp</i>	4.409	0.026	15º
<i>Migonemyia migonei</i>	3.727	0.455	3º
<i>Pintomyia bianchigalatia</i>	9.909	0.010	17º
<i>Pintomyia fischeri</i>	1.091	0.955	1º
<i>Pintomyia monticola</i>	9.182	0.182	6º
<i>Psathyromyia pascalei</i>	3.455	0.455	4º
<i>Psathyromyia sp</i>	8.273	0.144	7º
<i>Psychodopygus lloydi</i>	6.227	0.129	9º

As espécies menos abundantes foram: *Brumptomyia ortizi* (0,007), *Pintomyia bianchigalatiae* (0,101), *Brumptomyia brumpti* (0,106), *Lutzomyia sp* similar a *Lu. longipalpis* (0,025) e *Lutzomyia amarali* (0,040).

Figura 39: Espécies capturadas nos parques do Anhanguera e Jaguaré segundo IAEP. São Paulo, 2014 e 2015.

Somente para o parque Anhanguera há diferenciação no ranking de posição quanto à abundância de espécies capturadas, pois não há espécies capturadas no Anhanguera que não tenham sido capturadas também no Jaraguá. As espécies que diferem de posição são as de menor abundância: *Psychodopygus lloydi* (0,128) e *Evandromyia edwardsi* (0,075).

Figura 40: Espécies capturadas nos parques do Anhanguera segundo IAEP. São Paulo, 2014 e 2015.

As quantidades de flebotomíneos capturados por tipo de armadilha estão descritas abaixo:

Tabela 5: Tipos de armadilhas utilizadas, quantidade de flebotomíneos capturados e de esforços de captura nos parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.

Tipo de Armadilha	Flebotomíneos	%	Esforço de captura
Adesivas	2	0.05	3
CDC	3102	84.75	21
Manual c/ coletor de Castro	508	13.88	15
Shannon Branca	26	0.71	4
Shannon Preta	22	0.60	5
Total	3660	100	48

Foram realizados três esforços de coleta com armadilha adesiva, porém foram descontinuadas por sofrerem interferência das intempéries e dos animais cativos.

As armadilhas de Shannon das cores branca e preta foram utilizadas para captura de flebotomíneos, com distribuição temporal apresentada na figura 41.

Figura 41: Média geométrica de Williams para armadilhas de Shannon branca e preta por espécies capturadas. Parques do Anhanguera e Jaraguá, 2014.

As capturas manuais com coletor de Castro foram realizadas no banheiro da ala 3 do parque do Jaraguá, onde normalmente havia flebotomíneos nas paredes, inclusive durante a manhã. Em algumas coletas foi possível capturar flebotomíneos nas paredes internas e externas do banheiro, em outras, somente dentro do banheiro (dados não mostrados). A distribuição temporal dessas capturas está representada a na figura 42.

Figura 42: Média geométrica de Williams por espécime e tempo, por coleta livre em banheiro da ala 3 do Parque do Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.

As capturas com CDC contribuíram com maior quantidade de espécies e espécimes coletados (84,75%), sendo que os flebotomíneos do gênero *Brumptomyia* foram capturados apenas por esse tipo de armadilha.

Figura 43: Média geométrica de Williams para espécies capturadas por armadilha do tipo CDC, Parques do Anhanguera e Jaraguá. São Paulo, 2014 e 2015.

4.3 CASOS CANINOS

O total de amostras de sangue foi de 126, das quais 22 são provenientes dos cães dos parques, Anhanguera (14) e Jaraguá (8), quatro de clínicas e 100 da campanha de castração realizada nos dias 28 e 29 de janeiro de 2015, no distrito de Perus. As demais amostras foram colhidas durante todo o mês de janeiro de 2015.

Houve apenas um cão sororreagente pelo ELISA (fig. 44) proveniente da campanha de castração. O proprietário foi localizado e fomos até o endereço para colher amostras de *swab* bucal do cão e contactantes (no imóvel há mais quatro cães) para a contraprova do resultado positivo, pela reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional.

Figura 44: Placa do teste EIE, demonstrando teste positivo. São Paulo, 2015.

O cão sororreagente reside no distrito de Perus em rua situada em frente à área coberta por vegetação, na qual há um córrego, e transversalmente se estende por aproximadamente 500 metros até o Rodoanel Mario Covas. (Fig. 45)

Figura 45: Localização do endereço do cão sororreagente para LVC, no distrito de Perus. São Paulo, 2015.

Fonte: Google Earth, 2015.

A localização do cão sororreagente está contida em um raio de 1,5 km a 8 Km de casos humanos notificados. (Figura 46).

Figura 46: Localização do caso canino sororreagente, das notificações humanas de LVA e dos parques do Anhanguera e Jaraguá, da região dos distritos administrativos do Anhanguera, Jaraguá e Perus, São Paulo, 2015.

Fonte: Google Earth, 2015.

Dentre as 31 amostras submetidas à PCR (05 obtidas com *swabs* de cães da residência do cão sororreagente e 26 de coágulos sanguíneos, sendo 04 animais da mesma rua do sororreagente e 22 dos parques) 10 apresentaram PCR positiva para gênero *Leishmania* sp, nove em coágulos sanguíneo e uma no *swab* bucal. As amostras positivas foram testadas para as espécies *L. (L.) amazonensis*, *L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) guyanensis* e *L. (V.) lindenbergi*.

Figura 47: Eletroforese em gel de agarose a 2% dos produtos de PCR com uso dos primers hsp 70 f e sp70r, demonstrando a positividade nas primeiras 14 amostras de coágulos, com seis cães positivos em primeira análise. São Paulo, 2015.

Figura 48: Eletroforese em gel de agarose a 2% dos produtos de PCR com uso dos primers hsp 70 f e sp70r, demonstrando a positividade nas 12 amostras restantes de coágulos, com três cães positivos em primeira análise. São Paulo, 2015.

Figura 49: Eletroforese em gel de agarose a 2% dos produtos de PCR com uso dos primers hsp 70 f e sp70r, demonstrando a positividade dos swab bucais em cinco amostras, com um cão positivo em primeira análise. São Paulo, 2015.

As bandas reveladas no gel devem ser fortes para que os produtos amplificados sejam posteriormente submetidos à digestão pela enzima *Hae* III, o que não ocorreu em nenhum dos 10 cães positivos para *Leishmania* sp. Assim, estes produtos foram reamplificados (nested-PCR) antes da digestão. Apenas dois animais, cão 5 e cão 12, não mostraram bandas fortes após este processo e não foram incluídos no estudo de identificação. Dos oito animais restantes, e de acordo com os fragmentos encontrados, três estavam infectados com *Leishmania* (*L.*) *infantum chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) e três (cão 6, cão 8 e cão 10) com espécies do subgênero *Viannia*, *L. (V.) shawi* (Lainson et al., 1989) ou *L. (V.) lainsoni*. (Silveira et al., 1987). Não foi possível identificar com precisão a espécie infectante do cão 18 e do cão 1.

Figura 50: Eletroforese em gel de agarose a 3% dos produtos de PCR digeridos com a enzima *Hae* III com três amostras positivas, em Padrão Viannia. São Paulo, 2015.

Figura 51: Eletroforese em gel de agarose a 3% dos produtos de PCR digeridos com a enzima *Hae* III, com três amostras positivas, em Padrão Chagasi. São Paulo, 2015.

As espécies de *Leishmania* encontradas e os detalhes de cada cão estão descritos no Quadro 4.

Quadro 4: Resultado da análise por PCR das 29 amostras de coágulos e swab bucais. São Paulo, 2015.

Identificação Cão	Espécie	Procedência	Amostra	Situação
3	<i>L. (L.) i.chagasi</i>	Parque do Jaraguá	Coágulo	Domiciliado
5	<i>Leishmania</i> sp	Parque do Jaraguá	Coágulo	Domiciliado
6	<i>L. (V.) shawi</i> / <i>L. (V.) lainsoni</i>	Parque do Jaraguá	Coágulo	Domiciliado
8	<i>L. (V.) shawi</i> / <i>L. (V.) lainsoni</i>	Parque do Jaraguá	Coágulo	Domiciliado
10	<i>L. (V.) shawi</i> / <i>L. (V.) lainsoni</i>	Parque do Anhanguera	Coágulo	Não domiciliado
12	<i>Leishmania</i> sp	Parque do Anhanguera	Coágulo	Não domiciliado
18	<i>Leishmania</i> sp	Parque do Anhanguera	Coágulo	Não domiciliado
20	<i>L. (L.) i.chagasi</i>	Parque do Anhanguera	Coágulo	Não domiciliado
1	<i>Leishmania</i> sp	Perus	Swab oral	Domiciliado
110	<i>L. (L.) i.chagasi</i>	Perus	Coágulo	Domiciliado

A distribuição espacial dos cães com PCR positivas, segunda a manifestação clínica que os agentes determinam no hospedeiro está representada na figura 52, e acrescida dos casos humanos na figura 53.

Figura 52: Distribuição de cães positivos por PCR para leishmaniose visceral canina (LVC) e leishmaniose tegumentar canina (LTC), nos distritos administrativos de Anhanguera, Jaraguá e Perus. São Paulo, 2015.

Fonte: Google Earth, 2015.

Figura 53: Distribuição de cães positivos por PCR para leishmaniose visceral canina (LVC) e leishmaniose tegumentar canina (LTC) e notificações leishmaniose visceral humana (LVA), nos distritos administrativos de Anhanguera, Jaraguá e Perus. São Paulo, 2015.

Fonte: Google Earth, 2015.

5 DISCUSSÃO

5.1 CASOS HUMANOS

Tolezano (2013) cita a falta de investigação nos locais considerados não endêmicos das leishmanioses e conclui que há concentração de esforços somente em áreas onde há transmissão franca da doença, deixando de prever ocorrência em locais onde a doença assume uma baixa prevalência, o que pode ocorrer durante longos períodos de tempo, antes que essa se instale de forma evidente.

A Organização Mundial de Saúde – WHO - considera a LVA como uma doença negligenciada e subnotificada e, em São Paulo que não é considerada área endêmica se encaixa nessa descrição.

Os casos humanos confirmados em São Paulo não são considerados autóctones do município, alguns se encontram com local provável de infecção- LPI, indeterminada. Há possibilidade da falta de investigação adequada para os casos notificados. Dos casos que ocorreram na região do Jaraguá/Anhanguera, todos confirmados e com LPI indeterminada, no total de três, dois foram a óbito por LVA. Os bancos do SINAN apresentam baixa completude e informações incompatíveis.

O diagnóstico da LVA na cidade de São Paulo segue o padrão de locais com emergência da infecção, semelhantemente aos relatos do ocorrido em focos recentes da doença em Volta Redonda e Rio de Janeiro (PIMENTEL, 2014, SANGENIS, 2014; SILVA, 2014), ou seja, diagnósticos são realizados tardiamente quando o paciente já tem chance de cura reduzida, pois já se encontra fora dos padrões de utilização da Anfotericina B ou Antimoniais, pelo pobre estado geral, e

terminam por sucumbir á doença, apesar da gratuidade do tratamento via Sistema Único de Saúde - SUS. São comuns relatos de pacientes que buscam diagnósticos e tratamento em diversos centros de atendimento médico, até com hospitalizações recorrentes e que o diagnóstico definitivo só ocorreu com a manifestação final da doença e, em alguns casos no *post-mortem* (PIMENTEL, 2014; SANGENIS, 2014; SILVA, 2014).

O sistema de informação tem como função alertar para diagnóstico precoce, pois o diagnóstico retardado pela falta de alerta á classe médica vem sacrificando vidas humanas. Há informações recorrentes na literatura do encontro do vetor, seguido de cães contaminados e, por fim, casos humanos. Isso ocorreu em Volta Redonda (SANGENIS, 2014), Rio de Janeiro (SILVA, 2014), Araçatuba (CAMARGO-NEVES, 2003), São José do Rio Preto (SCANDAR, 2011), Campinas (ZUBEN, 2014), entre outras. Na maioria das situações já havia relatos da presença do vetor, também notificação de cães positivos e a informação não havia chegado à classe médica. Sangenis (2014) afirma a importância da investigação de LVA em pacientes com sinais clínicos característicos, mesmo em áreas não endêmicas, para diagnóstico precoce e redução da letalidade.

Nas análises espaciais realizadas foi possível identificar duas situações distintas, ocorrendo na região do centro expandido de São Paulo e outra no restante do município, ou seja, na periferia. Na região do centro as notificações parecem derivar dos centros de acolhimento da população de rua (albergues e abrigos) ou em locais próximos a eles, de forma sistemática, indicando um número maior e, portanto inverso ao restante do município. Foi necessário separar a análise entre distritos administrativos centrais e periféricos para que a validade da amostra fosse satisfatória, já que os distritos centrais por caracterizarem *border line*, assim como os

distritos sem nenhuma notificação, desviavam a análise para aceitar a hipótese nula, invertendo por completo o nível de significância (p).

A análise espacial foi capaz de identificar os *clusters* formados na região central e a espaço-temporal foi capaz de identificar *clusters* na periferia. Esses últimos são coincidentes com áreas em que notificações sem LPI definido. A região estudada não corresponde a um *cluster*, ou seja, não há número de notificações suficientes para identificação por ano que justifique um agrupamento, apesar de demonstrar elos epidemiológicos significativos para uma transmissão de LVA, o que leva a crer que nos distritos administrativos que formaram *clusters* esteja ocorrendo transmissão. Isso talvez não se aplique a área central da cidade que demonstra além do fator notificadores sistemáticos (abrigo para população de rua), há também uma maior concentração de coinfeção com HIV, com $p < 0,05$ em análise de Qui quadrado, quando comparada à área periférica.

A sugestão aqui é que sejam levadas em conta as diferenças regionais ímpares do município de São Paulo, com amostragem em conglomerado. Justifica-se esse tipo de análise já que São Paulo apresenta diferentes biótopos, os quais dão suporte à manutenção de reservatórios de patógenos e de artrópodes (GOMES, 1986), como bairros similares a áreas rurais, periferias com baixo IDH e próximas às áreas remanescentes de mata. Portanto é necessário uma setorização que diferencie áreas com maior vulnerabilidade. Os setores apontados pelos *clusters* formados a partir das notificações de LVA e seus raios são um bom ponto de partida para a vigilância.

Observou-se em relação às notificações no município de São Paulo que na maioria dos anos entre 2007 e 2014, há aumento de notificações nos meses de fevereiro, maio, agosto e outubro. Talvez esses picos de notificação estejam

associados a períodos de férias escolares e feriados prolongados, quando boa parte da população pode viajar para áreas endêmicas, acrescido de dois meses (período de incubação, cuja média fica entre 2 a 6 meses). Ainda que este nexos necessite de investigação, de qualquer maneira seria interessante a divulgação desta tendência para os serviços e profissionais que fazem o diagnóstico.

5.2 FLEBOTOMÍNEOS

As coletas manuais com coletor de Castro e com armadilhas do tipo CDC se mostraram mais eficazes para a obtenção da riqueza de espécies quando comparadas às realizadas com armadilhas de Shannon. Nestas, embora apenas cinco espécies tenham sido atraídas, três delas, *Pi. fischeri*, *Ex. firmatoi* e *Pi. monticola* são antropofílicas (MOSCHIN et al., 2013) e as duas primeiras têm potencial para atuarem na transmissão de *Leishmania (Viannia) braziliensis* (DINIZ et al. 2014).

As armadilhas adesivas mostraram baixo rendimento, possivelmente por ficarem expostas ao tempo e terminarem sofrendo perdas com a chuva, o vento e a interferência dos animais presentes nas gaiolas onde foram instaladas. Todavia, dois espécimes de *Evandromyia edwardsi* foram coletados em bandejas instaladas no recinto onde eram mantidas aves de rapina para as quais eram oferecidos camundongos como alimento.

A identificação dos pontos de coleta teve início em outubro de 2013, quando foram realizados esforços de coleta em pontos próximos aos lagos dos dois parques. Isso permitiu identificar fatores atrativos aos flebotomíneos como a presença de animais, tais como roedores e aves, no Parque Anhanguera, e gambás

(*Didelphis albiventris*), quatis (*Nasua nasua*) e teiús (*Tupinambis merianae*) no Parque do Jaraguá.

As capturas efetivamente tiveram início em janeiro de 2014 com a periodicidade quinzenal. Há que se observar que as condições climáticas têm fator determinante na presença de flebotomíneos. Optamos, após alguns esforços de coleta, pela captura de flebotomíneos em noites quentes, sem chuva, com preferência pelas noites anteriores ou logo após períodos chuvosos. A velocidade dos ventos parece influenciar na captura, porém esses dados não foram mensurados.

Há duas áreas distintas no parque do Jaraguá quanto se considera a instalação das armadilhas CDC. A primeira seria a área de mata cujos pontos são 0, 3,5 e 12. Os pontos 0 e 12 foram descontinuados. Os pontos 3 e 5 demonstraram riqueza de espécies alta, porém foi maior no ponto 5, já o índices de Shannon-Weaver e de Pileou forma inversos, respectivamente, $H=1,266$ / $J=0.576$ e $H=0.863$ / $J=0.347$, índices estes altamente influenciados pela alta prevalência de *Pi. fischeri*, respectivamente, 64% e 80%.

Na área antropizada do parque, o ponto 8 chama atenção pela maior riqueza (13 espécies), todavia com baixo índice de Shannon ($H= 0,653$) equitabilidade ($J=0,254$). Também altamente influenciado por *Pi. fischeri* (85,5%).

No ponto 4 encontramos os menores índices ($H=0,218$ E $J= 0,157$). Isso demonstra que a espécie *Pi. fischeri* influenciou fortemente a coleta e seu alto grau de antropofilia e a endofilia, uma vez que com frequência era capturada no interior dos banheiros.

As espécies *Pi. fischeri* e *Mg. migonei* foram capturadas até durante o dia no ponto 4. Isso leva a crer que ali seja um local de abrigo.

Esse banheiro localiza-se ao lado do local de despejo da varrição do parque no ponto 7 que apresentou índices $H=0,888$ e $J=0,37$, e a riqueza de 11 espécies. O manejo do lixo nos parque do Jaraguá propicia a formação de criadouros de flebotomíneos, pelo acúmulo de matéria orgânica.

Os cestos de lixo espalhados pelo parque e o lixo gerado nos postos de trabalho e residências são atrativos para animais sinantrópicos (roedores) e silvestres (gambás). A presença desses animais são fatores que atraem os flebotomíneos (TANIGUCHI, 2013).

Nota-se que as espécies do gênero *Brumptomyia* só foram capturadas nas armadilhas do tipo CDC, e principalmente no ponto da trilha do silêncio (ponto 8), onde há permanência de uma matilha de quatis (*Nasua nasua*) e onde se visualizou com frequência gambás (*Didelphis albiventris*). Cruz (2008) cita que gênero *Brumptomyia* está estreitamente associado a tocas de tatu (*Dasypus novemcinctus* – Tatu galinha – mais comum em São Paulo.). Esse ponto foi o de maior riqueza de espécies. As espécies de *Brumptomyia* nessa coleta foram abundantes e, até hoje, nenhuma foi indicada como vetor de leishmaniose.

Outra particularidade do Parque do Jaraguá é a presença da Tribo Indígena – TI - Tekoa Ytu - na divisa do parque. A tribo luta pela demarcação da terra indígena e enfrenta situação peculiar pelo abandono de cães na aldeia (vide anexo 7). Essa situação é divulgada largamente pelos meios de comunicação e os indígenas recebem apoio de entidades protetoras dos animais e o Centro de Controle de Zoonoses – CCZ - tem atuação na manutenção desses cães. A última estimativa gira em 200 indígenas e 400 cães no local, segundo informação pessoal do cacique da tribo Sr. Ari, que também nos informou que eles queimam madeira e ervas todas as noites para espantar os mosquitos, além de outros motivos. Em três esforços de

coleta na tribo, não foi capturado nenhum flebotomíneo, porém mantivemos dois pontos de coleta a 50 metros da tribo, nos quais capturamos sistematicamente flebotomíneos em todas as amostragens.

O parque do Jaraguá é um local com mata nativa e secundária, colonização antiga (a casa do Bandeirante Sardinha data de 1580) e áreas que são inacessíveis, além de outras que são conhecidas apenas por alguns funcionários e moradores. Foram realizados esforços de coletas em áreas com altitude maior e em áreas mais remotas do parque, nas quais não houve captura de flebotomíneos.

O Parque do Anhanguera, ao contrário do Jaraguá é uma região mais antropizada, onde as matas são compostas principalmente por eucaliptos. A peculiaridade é a presença de animais silvestres no Departamento de Parques e Áreas Verdes - DEPAVE 3, onde efetivamente foram realizadas as capturas. Talvez o animal mais atrativo aos flebotomíneos fosse os roedores que eram servidos às aves de rapina ainda vivos, principalmente às corujas. Já no final da pesquisa, no mês de dezembro, os animais foram relocados para o novo hospital veterinário recém-construído, a aproximadamente 2 km do anterior, com isso a captura de flebotomíneos sofreu modificação de espécies, onde antes era capturado *Evandromyia edwardsi*, após a retirada dos animais, não foram mais capturados e os *Pi. fischeri* foram gradualmente aparecendo em maior número. Taniguchi (2010) capturou essa espécie em galinheiros. Talvez sejam as aves presentes que atraíam a espécie *Ev. edwardsi*.

A mata do Jaraguá é contígua à mata da Cantareira onde foi desenvolvida a pesquisa de Moschin et al. (2013) e as espécies que coincidem nas duas matas são: *Br. cardosoi*, *Br. carvalhoi*, *Ex. firmatoi*, *Mg. migonei*, *Pi. bianchigalatiae*, *Pi. fischeri*, *Pi. monticola* e *Ps. lloydi*. Não foram encontradas nessa pesquisa as

espécies *Psathyromyia limai* [sinônimo sênior de *Pa. pestanai* (Sábio et al. 2013)]; e *Psychodopygus ayrozai*. Na mata do Jaraguá foram encontradas também as espécies *Br. brumpti*, *Br. cunhai*, *Br. nitzulescui*, *Br. ortizi*, *Ev. edwardsi*, *Lu. amarali* e espécime de *Lutzomyia* sp. similar a *Lu. longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e, mais dois gêneros o *Psathyromyia* sp e o *Brumptomyia* sp, os quais não puderam ser identificados pela não diferenciação das fêmeas de *Brumptomyia* sp morfologicamente e pela não descrição ainda da espécie dos espécimes encontrados de *Psathyromyia* sp.

O espécime de *Lutzomyia* sp, similar a *L. longipalpis* é uma fêmea, e foi coletada em 07/02/2014, com armadilha do tipo CDC, no Parque do Jaraguá. Várias espécies próximas a *Lu. longipalpis* não são possíveis de distinção apenas pela fêmea, sendo a identificação realizada apenas pelo macho (GALATI, 2003). Portanto, como macho do grupo não foi coletado até o fim do período de estudo, não foi possível a identificação da espécie. Essa fêmea quando examinada mostrou-se com ovo em seu abdômen, o que indica que havia ovisposto pelo menos uma vez.

Não se descarta a possibilidade desse espécime ser fruto de contaminação de laboratório, apesar de no momento da triagem e identificação não haver no laboratório, outras amostras de pesquisas, entre as quais poderia haver troca accidental. Além do que o espécime estava fresco (vide fotos em anexos de 1 a 4) e, caso estivesse há mais tempo nos equipamentos, estaria dessecado. Há a possibilidade da existência dessa espécie no local em baixa densidade, pela peculiaridade do momento de encontro desse espécime, já que neste ano (2014), na cidade de São Paulo, a umidade se manteve baixa além dos limites e as temperaturas do verão foram mais altas do que a média anual, ou seja, são características comuns em locais com transmissão de leishmaniose visceral para

essa espécie. Esse espécime foi capturado a menos de 100 metros da Aldeia. Para que realmente houvesse certeza da presença ou ausência desse vetor seria necessário empreender esforços de coletas contínuos em ecótopos diferentes dos que foram realizados, como por exemplo, nas pedreiras ao redor dos parques, em peridomicílio nos locais onde há notificações humanas e casos caninos.

Há outros relatos do encontro de poucos exemplares dessa espécie: São Paulo (FORATTINI, 1970), Campo Grande (OLIVEIRA, 2000), Araçatuba (CAMARGO-NEVES, 1999), Uberlândia (PAULA, 2008), *Ciudad de Sincelejo* – Colômbia (VIVERO, 2009), São Paulo - região centro leste do estado (CUTOLO, 2008), Minas Gerais (LOIOLA, 2007), São Paulo – Vale do Ribeira (PETAR) (GALATI et al., 2010), entre outros.

5.3 CASOS CANINOS

Levando-se em conta que há a possibilidade da presença do vetor principal, *Lutzomyia longipalpis* e que outras espécies de flebotomíneos como o *Migonomyia migonei* e *Pintomyia fischeri* abundantes na amostra, têm poder vetorial para *L. (L.) infantum chagasi*, portanto, potenciais vetores do agente da LVA (OVALLOS, 2011) e a presença de casos humanos na região sem local provável de infecção – LPI - e confirmados (SINAN, 2014), optou-se por realizar inquérito canino amostral para identificar cães contaminados, e em caso positivo, tentar determinar a espécie de leishmania.

O inquérito canino amostral é uma pré-investigação, já que antecede e define a necessidade de um inquérito canino censitário. Deve ser realizado em focos declarados ou suspeitos pelos elos da cadeia epidemiológica, para identificar uma

possível transmissão para reservatórios domésticos. Os casos caninos normalmente antecedem os casos humanos como demonstrado pelas investigações do CVE nas áreas de transmissão do oeste do estado de São Paulo (TANIGUCHI, 2013).

O protocolo do Ministério da Saúde (2011) preconiza que seja realizada a triagem utilizando o teste TR DPP® Biomanguinhos (*Dual Path Platform*) a campo, e que os cães reagentes sejam retestados utilizando soro para a realização do ensaio imunoenzimático (EIE) ou imunofluorescência indireta (RIFI), dentro dos laboratórios de apoio, confirmando o diagnóstico do cão sororreagente (FUNED, 2013).

Leal (2009), sobre o diagnóstico da leishmaniose visceral americana canina afirmou que se baseava na combinação de técnicas, pois, não havia uma única técnica que pudesse de modo inequívoco indicar a infecção. O protocolo anterior era ensaio imunoenzimático (EIE) como triagem e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para confirmação dos sororreagentes.

O teste rápido imunocromatográfico (TRI - TR DPP® Biomanguinhos) para leishmaniose visceral canina (LVC), como teste de triagem nos trabalhos de campo, facilitaria o manejo e baratearia o custo, segundo De Santis 2013, esse teste mostrou-se promissor no diagnóstico da LVC. A pesquisa, realizada em Cuiabá, com amostra de 45 cães e comparando-o aos testes RIFI e EIE, demonstrou que 26,3% cães foram classificados como expostos, 26,3% como infectados e 47,4% como doentes. O DPP nesse trabalho foi considerado um bom preditor da infecção, com sensibilidade 62%, especificidade 87% e para os valores preditivos positivo e negativo: 83,30% e 81,48%, coeficiente Kappa 0,50 de concordância moderada. Já o trabalho realizado por Mendonça, 2014 mostrou resultados diferentes para uma amostra de 313 cães: sensibilidade 89,90%, especificidade 73,83%, coeficiente Kappa 56,65% e acurácia 78,91%. Segundo essa autora o DPP® apresentou baixa

sensibilidade e especificidade sendo assim pouco conclusivo para o diagnóstico de LVC. Esses dois trabalhos tiveram como padrão ouro o parasitológico direto.

Queiroz Júnior (2011) utilizou o DPP e o EIE para validação e o RIFI como padrão ouro. A amostra de 103 cães foi categorizada em assintomáticos (35), oligossintomáticos (31) e sintomáticos (37), com sensibilidade de respectivamente para o DPP 12%, 52,40% e 88,90% e especificidade de 100%. Já o EIE mostrou sensibilidade de 4%, 38% e 88,90% com especificidade também de 100%. Num total de sensibilidade de 56,10% para o DPP e 50% para o EIE. A conclusão a que chegou foi que o DPP obteve maior sensibilidade nos cães sintomáticos do que em assintomáticos e oligossintomáticos, e apresentou melhor desempenho em relação ao EIE.

Segundo FIOCRUZ, 2012, no ensaio sorológico imunoenzimático (ELISA), a sensibilidade varia de 71 a 100% e a especificidade entre 85 a 100%, e os fatores que influenciam esses valores são o antígeno utilizado (bruto ou recombinante) e o protocolo padrão (tempo de incubação e tipo de microplaca utilizada). O antígeno bruto limita a especificidade do Elisa, e pode ocorrer reação cruzada com outros tripanossomatídeos. Os antígenos recombinantes de *Leishmania* melhoram a especificidade e a sensibilidade.

Leandro Junior (2014) avaliou o desempenho dos testes de DPP®, EIE e RIFI com formas promastigotas de *L. (L.) i. chagasi* em amostras de soros de cães infectados clinicamente sintomáticos e assintomáticos, também cães sadios e não infectados, notou que os testes DPP® e EIE apresentaram reação cruzada com *Babesia canis* (44% e 97,53% respectivamente). Também os testes ELISA Biomanguinhos e RIFI Biomanguinhos mostraram reação cruzada para *Babesia canis*, *Diroffilaria immitis*, *Trypanosoma cruzi*, *Erichia canis*, *Neospora caninum* e

Toxoplasma gondii.

Queiroz et al., 2010, mostrou que a especificidade dos testes sorológicos em seus ensaios chegou a aproximadamente 85%, portanto afirma ser necessário confirmação dos casos negativos para eliminar a possibilidade de testes falsos negativos.

Em vista do exposto optamos pela realização dos testes de EIE, não por ser o mais eficiente, mas por ser o disponibilizado pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A mesma instituição disponibilizou também testes de PCR, para a confirmação dos reagentes. Houve um animal sororreagente, e, em visita ao endereço do proprietário do animal para colher amostra, notam-se evidências epidemiológicas para o desenvolvimento de flebotomíneos, e ainda há a presença de casos confirmados em um raio de aproximadamente 1,5 km, portanto há elos epidemiológicos.

Na verdade em um raio de 8 km do cão sororreagente há 10 notificações de LVA, das quais oito foram confirmadas e duas descartadas por critério desconhecido. Três das oito restantes caracterizaram coinfecção com HIV. A evolução dessas oito notificações foi: cinco evoluíram para cura, em uma consta transferência, um paciente veio a óbito por outras causas e dois por LVA (sem LPI).

Em um inquérito canino amostral, principalmente se é utilizado teste sem elevadas especificidade e sensibilidade, o que, até o momento, não está disponibilizado, deve ser realizado após a comprovação da possibilidade de um elo epidemiológico, como a presença de um possível vetor e/ou casos comprovados de LV humana e/ou canina (TANIGUCHI, 2013).

Os bancos do SINAN são úteis para indiciar os possíveis casos humanos, porém os dados caninos precisam ser comprovados, pois não há um banco de

dados para tal fim. No município de São Paulo há coletas sistemáticas de sorologia canina para LVC pelo Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo - CCZ, porém não há divulgação pública de tais dados. Tais bancos, segundo o alegado pelo CCZ de São Paulo, contêm as informações das coletas sorológicas realizadas nos cães da aldeia Tekoa Ytu, cuja situação epidemiológica em relação à LVC é desconhecida publicamente.

Savani, em 1998, testou cães capturados pelo CCZ de São Paulo, entre fevereiro de 1995 e novembro 1996, para identificar anticorpos anti-leishmania para leishmaniose tegumentar americana (LTA) em 973 cães pelo IFI e não encontrou nenhum cão sororreagente. Nesse trabalho concluiu-se que apesar de esporádica na época em humanos no município, havia presença do parasita no ambiente, aliado à presença de vetores. A aparente ausência de cães infectados nas áreas de maior risco sugeriu a hipótese de que o ciclo do parasita no Município de São Paulo estivesse sendo mantido por animais silvestres e, assim, o cão seria um hospedeiro acidental, como o homem (SAVANI, 1998).

Iversson et al. (1983) em inquérito sorológico realizado entre 1979 e 1982, encontrou uma prevalência de 2,5% de LVC na população canina no município de São Paulo.

Nesse inquérito canino, com amostra de 126 animais foi possível identificar 10 animais positivos para infecção por Leishmania. O PCR se mostrou mais eficiente para a detecção de infecção que o EIE. A prevalência para EIE foi de 0,79% e para o PCR na amostra total de 7,9% e para amostra selecionada de 32,25%. Porém o EIE foi direcionado para a espécie *L. (L.) i chagasi* e nesse caso temos prevalência para amostra total pelo PCR 2,38% e para a amostra selecionada de 9,68%.

A prevalência da infecção para leishmaniose canina, na região de estudo é de

1,22 cães infectados por 10 mil cães, e para leishmaniose visceral canina é de 0,37.

A limitação da análise da amostra foi a do custo e disponibilidade dos testes de PCR, pois só foram retestados com PCR os cães que apresentaram elos epidemiológicos como presença de possíveis vetores ou da região do cão sororreagente. Caso todas as 126 amostras fossem novamente testadas, dessa vez por PCR, provavelmente seriam detectados mais cães positivos na região, porém, com prevalência menor, já que as que foram retestadas apresentaram maior risco. Há de discutir qual o melhor tipo de amostra para realização de PCR, pois os coágulos de sangue utilizados ainda apresentam baixa positividade quando comparados com as amostras de *swab* conjuntivais e bucais. (FARIA, 2012; FERREIRA, 2013)

Há cães positivos para LVC nos três distritos administrativos e dentro dos parques. Somente os cães do Anhanguera não são domiciliados, sugerindo que essas infecções podem ter outra origem que não o local onde permanecem. Os outros cães do parque Jaraguá e de Perus (domiciliados) estão no local há tempo suficiente para sugerir autoctonia. A presença nos três distritos administrativos da *L. (L.) infantum chagasi*, sugere transmissão local de leishmaniose visceral canina. Assim como a presença de cães com infecção por *L. (V.) shawi* / *L. (V.) lainsoni* em dois dos três distritos administrativos também sugere autoctonia, e em conjunto com as amostras nas quais não foi possível à identificação da espécie de leishmania, sugerem uma transmissão canina para leishmaniose tegumentar.

A presença de *L. (V.) shawi* ou de *L. (V.) lainsoni* é um achado inédito no estado de São Paulo. A distribuição geográfica mencionada na literatura refere à região Norte do país (NARDI, 2010; FONTELES, 2009).

O vetor conhecido da *L. (V.) shawi* é o flebótomo *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) (LAISON, 2010). Seus reservatórios silvestres principais são primatas, e constatou-se presença nos dois parques estudados. O gênero *Cebus apela* (Macaco prego) (Cebidae) é encontrado em bandos no Parque do Jaraguá, assim como matilhas de *Nasua nasua* (Quati) (Procyonidae). Os primatas do gênero *Chiropotes satanas* (Cebidae) e as preguiças *Choloepus didactylus* e *Bradypus tridactylus* (Xenarthra) também são reservatórios naturais (LAISON, 2010). No parque Anhanguera há um centro de triagem de silvestres do DEPAVE 3, onde circulam diversas dessas espécies.

Já a espécie *L. (V.) lainsoni*, cujos, reservatório natural e vetores conhecidos são: a paca (*Agouti paca*) (Rodentia: Dasyproctidae), e o flebótomo *Trichophoromyia ubiquitalis* (Mangabeira, 1942), *Trichophoromyia velascoi* (Le Pont & Desjeux, 1992) (suspeito como vetor na Bolívia). A distribuição geográfica consta como áreas das florestas do Brasil, Peru e Bolívia (SILVEIRA et al., 1991; LAISON, 2010). Nenhuma dessas espécies de flebótomo foi encontrada em nossas capturas.

6 CONCLUSÃO

Para investigação da vulnerabilidade do município de São Paulo à leishmaniose visceral, foram utilizados os parâmetros: casos humanos notificados, presença do vetor e infecção em reservatórios domésticos.

A análise espacial das notificações humanas de LVA dá direcionamento para investigações posteriores de transmissão autóctone de LVA no município.

Deve-se atentar que as notificações do centro expandido da cidade representam outra situação, provavelmente relacionada à população de rua da cidade de São Paulo. Porém não é um ambiente propício para transmissão de LVA por vetores. A coinfecção AIDS – LVA é um problema de saúde pública relevante e foi assinalada como mais abundante nessa região da cidade.

As leishmanioses no município de São Paulo são subnotificadas e negligenciadas, com a mesma tendência mundial.

O levantamento entomológico realizado identificou 15 espécies de flebotomíneos (e três gêneros), cujas mais frequentes foram *Pintomyia fischeri* (82.46%), *Psathyromyia pascalei* (5.57%) *Migonemyia migonei* (5.25%) e *Expapillata firmatoi* (3.22%). Sendo que as espécies *Pi. fischeri* e *Mg. migonei* apresentam potencial como vetor de *L. (L.) infantum chagasi*.

A fêmea de *Lutzomyia* sp com morfologia similar à de *Lu. longipalpis* é um achado importante que merece ser investigado de forma mais ampla. Há a possibilidade da presença da espécie *Lu. Longipalpis* no município em baixa incidência.

Há diferenças na fauna de flebotomíneos entre as matas da Cantareira e do Jaraguá, apesar de serem matas contíguas, o que revela que os biótipos são diferentes, mesmo havendo proximidade física entre as áreas.

O inquérito canino desenvolvido pôde apurar infecções possivelmente autóctones de *Leishmania* sp, de *L. (V.) shawi* / *L. (V.) lainsoni* e de *L. (L.) infantum chagasi*, na região dos parques Anhanguera e Jaraguá e no distrito administrativo de Perus.

A prevalência de infecção canina por *L. (L.) i. chagasi* na amostra do inquérito canino foi de 2,38%.

Há elos epidemiológicos que sugerem que as leishmanioses tegumentar e visceral caninas se tratam de doenças emergentes no município.

Há possibilidade de que os casos caninos encontrados na região de estudo sejam parte da disseminação do eixo oeste-leste da leishmaniose visceral no Estado de São Paulo, pelo eixo viário.

7 RECOMENDAÇÕES

Recomenda-se investigação de vetores e cães contaminados na região dos distritos administrativos do Anhanguera, Jaraguá e Perus, em escala maior que a realizada nesse estudo, pelos órgãos governamentais competentes, com implantação de planos de controle de LVA e LTA no município de São Paulo, que incluam treinamento de pessoal para coleta entomológica e inquérito canino. As áreas limítrofes aos parques devem ser monitoradas quanto à presença de vetores e não somente as áreas internas, principalmente aquelas onde há domicílios. Atentar quanto às notificações de LVA de residentes próximos à área de matas.

Em ambos os parques, há grande quantidade de funcionários e moradores que são mais expostos aos vetores que os visitantes, já que permanecem nos locais após o crepúsculo e/ou durante a noite. Esses precisam lançar mão das medidas de proteção individual e coletiva, pois é inviável pulverizar áreas verdes com inseticidas. É necessário implantar plano de manejo ambiental para evitar a formação de criadouros de flebotomíneos nos parques. Esse plano inclui: destinação adequada de matéria orgânica (folhas, galhos, etc.), que devem ser recolhida e acondicionada. O lixo produzido deve ser acondicionado de forma a não atrair animais sinantrópicos e animais da mata (gambás) que são atrativos aos flebotomíneos. Evitar acesso de pessoas às áreas de mata durante e após o crepúsculo. Evitar criação de animais atrativos dentro da área dos parques, como cães e galinhas e evitar abandono de cães em áreas de parques.

Recomenda-se a investigação e análise por conglomerado das áreas nas quais se formaram *clusters* na análise espacial das notificações, pois pode haver

transmissão em curso nesses locais. São elas Brás, Carrão, Guaianases, José Bonifácio, Cachoeirinha, Raposo Tavares e Parelheiros.

Ao sistema de vigilância recomenda-se melhorar a qualidade das notificações do SINAN, através de treinamento para a classe notificadora nos postos de atendimento médico e criar mecanismos de disseminação de informação à classe médica para melhorar o diagnóstico e diminuir a mortalidade.

Informar a classe médica veterinária da presença de cães positivos nas áreas dos parques Anhanguera e Jaraguá e no distrito de Perus, para que sejam detectados casos caninos com maior facilidade. A LVC e a LTC são classificadas como notificação compulsória, e os casos devem ser notificados à autoridade sanitária municipal.

REFERÊNCIAS

1. Almeida ABPF, Paula DAJ, Colodel EM, Dutra V, Nakazato L, Souza URF. Leishmaniose visceral e hepatite infecciosa em cachorro-vinagre mantido em cativeiro no Brasil – Relato de Caso. *Semana: Ciências Agrárias*, Londrina. 2011; v. 32, n. 1:333-338.
2. Amato Neto V, Blanco Filho F. Leishmaniose visceral adquirida no estado de São Paulo (Brasil). *Rev. Saúde Pública*, 1981; v. 15, n. 6:643-545.
3. Ambiente Legal [homepage na internet] [acesso em 01/09/2012]. Disponível em:
http://www.revistaambientelegal.com.br/edicao04/imagens/cartasna_mesa_02.jpg
4. Antonialli SAC, Torres TG, Paranhos Filho AC, Tolezano JE. Spatial analysis of American Visceral Leishmaniasis in Mato Grosso do Sul State, Central Brazil. *Journal of Infection*. 2007; v.54. n. 5:509-514.
5. Ashford RW. Leishmaniasis. In: *The encyclopedia of Arthropod-Transmitted Infections of Man and Domesticated Animals*. London: MW Service; 2001:269-279.
6. Basano SA e Camargo ALM. Leishmaniose tegumentar americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. *Rev. Bras. Epidemiol.* 2004; v.7. n.3:328-37.
7. Benevenuto Junior P, Geografia e Ecologia da Leishmaniose Tegumentar no Estado do Espírito Santo [Dissertação de Mestrado]. Escola Nacional de Saúde Pública Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro; 2000. p 82.
8. Botelho ACA, Natal D. Primeira descrição epidemiológica da leishmaniose viscera em Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev. Soc. Brás Med. Trop.* 2009; v.42. n. 5:503-508.
9. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2003.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 812 p. Modo de acesso www.saude.gov.br/bvs
11. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento da co-infecção *Leishmania*-HIV / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
12. Brasil. Ministério da Saúde; Fundação Nacional de Saúde. *Manual* de controle da leishmaniose tegumentar americana. Brasília: Ministério da Saúde, 2000.
13. Bresciani KDS, Serrano CM, Matos LVS, Savani ESMM, D'Auria SRN, Perri FLB et al. Ocorrência de *Leishmania* spp. Em felinos do município de

- Araçatuba, SP. Rev. Brás. Parasitol. Vet., Jaboticabal. 2010; v. 19, n.2:127-129.
14. Camargo-Neves VLF de, Rodas LAC, Poletto DW, Gomes AC. Feeding habitat of *Lutzomyia longipalpis* in Araçatuba County, State São Paulo, Brazil. Entomol. Vect. 9 (Supl1) ISOPS IV: 63, 2002.
 15. Camargo-Neves VLF de. Aspectos epidemiológicos e avaliação das medidas de controle da leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo, Brasil. São Paulo, 2004 [Tese de Doutorado]. Faculdade de Saúde Pública da USP. p 225.
 16. Camargo-Neves VLF et al. Leishmaniose Visceral Americana no estado de São Paulo: situação epidemiológica em 2001-2002. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2003; vol.36.
 17. Camargo-Neves VLF, Características da transmissão da Leishmaniose Tegumentar Americana no Estado de São Paulo, Brasil. São Paulo, 1999.
 18. Camargo-Neves VLF, Katz, G, Rodas LAC, Poletto DW, Lage LC, Spínola, RMF, Cruz OG. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana - Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998 -1999. Cadernos de Saúde Pública (Fiocruz). Rio de Janeiro, 2001; v. 17. n. 5:1263-1267.
 19. Camargo-Neves VLF. Detecção de *Lutzomyia edwardsi* infectada na Região da Grande São Paulo. BEPA. Outubro, 2004. ano 1. n. 10.
 20. Caminhos Turismo [homepage na internet] [acessado em 15 de outubro de 2012] Disponível em: <http://caminhosturismo.wordpress.com/2008/03/03/valeu-de-novo/attachment/16>
 21. Canatto BD, Silva EA, Bernardi F, Mendes MCNC, Paranhos NT, & Dias RA. Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2012; 64(6), 1515-1523.
 22. Carvalho GML, Andrade-Filho JD, Falcão AL, Lima ACVMR, Gontijo CMF. Naturally infected *Lutzomyia* sandflies in a *Leishmania*-endemic area of Brazil. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2008, v. 8 n. 3:407-414.
 23. Carvalho MR, Valença HF, Silva FJ, Pita-Pereira D. Pereira TA, Britto C, Brazil RP. Brandão Filho S P. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonomyia migonei* (França, 1920) (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. Acta Tropica, 2010, n.116:108-110
 24. Carvalho MS, Souza-Santos R. Análise de dados espaciais em saúde pública: métodos, problemas, perspectivas. Cad. Saúde Pública, 2005; v. 21, n. 2:361-378.
 25. Ccd/Sucen/Ses-Sp.- Coordenadoria de Controle de Doenças, Superintendência de Controle de Endemias, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. Grupo de Estudos em Leishmanioses. Atualização da classificação epidemiológica dos municípios para a leishmaniose visceral americana. Setembro, 2007. v. 4. n. 45.
 26. Ciaravolo R. Muriçoca não, mas mosquito palha pode transmitir: a complexidade da vigilância vetorial da LVA. .II Fórum de Leishmaniose Visceral Americana do Estado De São Paulo: Conhecer, Difundir, Integrar; 30/10/2013; São Paulo. Brasil. Centro de Vigilância Epidemiológica; Disponível em www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_leishvis.html.

27. Cidade de São Paulo [homepage na internet]. São Paulo: Parques da cidade de São Paulo. [acessado em 01 de setembro de 2012]. Disponível em <http://www.cidadedesapaulo.com/sp/o-que-visitar/pontos-turisticos/216-pico-do-jaragua>
28. Condino MLF. Estudo da ocorrência da Leishmaniose Tegumentar Americana no Litoral Norte Paulista, período 1993 a 2005[Dissertação de Mestrado] Faculdade de Saúde Pública da USP. São Paulo, 2007
29. Courtenay O, Quinnell RJ, Garcez LM, Dye C. Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum*: the crabeating fox is not important for transmission. *Parasitology*. 2002; v.125:407–414.
30. Cruz, MFR. Estudo epidemiológico de Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) no município de Itamaracá, região norte do Estado do Paraná, Brasil, em áreas de influência do complexo hidrelétrico na bacia do rio Paranapanema, 2004-2006 [tese de doutorado]. São Paulo. Faculdade de Saúde Pública; 2008.
31. Cve- Centro de Vigilância Epidemiológica [homepage na internet]. disponível em <URL www.cve.saude.sp.gov.br/. [atualizado abril 2011, acessado 27 agosto 2011] disponível em http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/lvah_auto9904.htm
32. Cve- Centro de Vigilância Epidemiológica [homepage na internet]. disponível em <URL www.cve.saude.sp.gov.br/. [atualizado 30 maio 2011, acessado 27 agosto 2011] disponível em http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/lta_lpi.htm
33. De Santis, B et al. Desempenho do teste rápido imunocromatográfico (TRI) para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina: comparação com outros métodos sorológicos em cães suspeitos de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2013; v. 50, n. 3:198-205.
34. Dersa [homepage na internet]. Rodoanel. [atualizado em 15 agosto 2011, acesso em 18 agosto 2011]. Disponível em: <http://www.dersa.sp.gov.br/rodoanel/default.asp>
35. Dias ES, Michalsky EM Nascimento JC, Ferreira EC, Lopes JV, Fortes-Dias CL. Detection of *Leishmania infantum*, the etiological agent of visceral leishmaniasis, in *Lutzomyia neivai*, a putative vector of cutaneous leishmaniasis. *Journal of Vector Ecology*. 2013; v. 38, n.1:193-196.
36. Diniz MMCSL, Ovallos FG, Gomes CMC, Lavitschka CO, Galati EAB. Host-biting rate and susceptibility of some suspected vectors to *Leishmania braziliensis*. *Parasites & Vectors*. 2014;n.7:139.
37. Estradas.com.br [homepage na internet] [acesso em 01/09/2012]. Disponível em: <http://www.estradas.com.br/new2/guias.asp>.
38. Faria AR, Andrade HM de. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. *Rev Pan-Amaz Saude*. 2012;3(2): 47-57.
39. Ferreira SA et al. Nasal, oral and ear Swabs for canine visceral leishmaniasis diagnosis: New practical approaches for detection of *Leishmania infantum* DNA. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013; v. 7,n.4: e2150.
40. Figueiredo FB; Grêmio IDF, Pereira SA, Medulo LP, Menezes RC, Balthazar D A, Schubach TMP, Madeira MF. First report of natural infection of a bush dog (*Speothos venaticus*) with *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. London. 2008; v.102:200-201.

41. Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz. [homepage na internet] disponível em <http://www.bio.fiocruz.br/index.php/produtos/reativos/ensaios-sorologicos/imunoenzimatico/leishmaniose-canina>. [atualizado 2012 - acessado 03 outubro de 2014].
42. Fonteles RS, Vasconcelos GC e, Azevêdo PCB, Lopes GN, Moraes JL P, Lorosa ES et al. . Preferência alimentar sanguínea de *Lutzomyia whitmani* (Diptera, Psychodidae) em área de transmissão de leishmaniose cutânea americana, no Estado do Maranhão, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2009;v. 42,n.6:647-650.
43. Forattini OP, Rabello EX, & Pattoli DGB. Sobre o encontro de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) no Estado de São Paulo, Brasil. Revista de Saúde Pública. 1970; v.4,n.1: 99-100.
44. Forattini OP. Subgênero *Lutzomyia* França, 1924. In: Entomologia Médica. Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartolense. São Paulo: Ed. Edgard Blucher Ltda. e Ed. Universidade de São Paulo; 1973; v.4: 212-228.
45. França, ACC. De Populina à Cananéia, de Bananal à Rosana: os desafios da vigilância no Estado de São Paulo. II Fórum de Leishmaniose Visceral Americana do Estado De São Paulo: Conhecer, Difundir, Integrar; 30/10/2013; São Paulo. Brasil. Centro de Vigilância Epidemiológica; Disponível em www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_leishvis.html.
46. Fundação Seade. População dos distritos administrativos do município de São Paulo. São Paulo. 2015.
47. Funed, 2013. Serviço de Doenças Parasitárias Referência Nacional para o Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças Instituto Octávio Magalhães – Lacen – MG. Fundação Ezequiel Dias – Funed Manual do Programa de Avaliação da Qualidade Imunodiagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina. 2013. Disponível em: <http://funed.mg.gov.br/wp-content/uploads/2011/07/Manual-PAQ-Programa-de-avalia%C3%A7%C3%A3o-da-Qualidade-da-leishmaniose-visceral-canina-para-o-campo.pdf>
48. Gaea – Grupo de apoio em Eventos Astronômicos [homepage na internet]. Mapa de uso e ocupação do solo da cidade de São Paulo.[atualizado 19 jun 2010, acessado 15 agosto 2011]. Disponível em http://1.bp.blogspot.com/_RF2dskXwFZ0/TBzEJvQgNII/AAAAAAAAAF_g/mGL74c_LF_8/s1600/sp_uso_e_ocupacao_do_solo.jpg
49. Galardo AKR et al. Primeira ocorrência de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) no Estado do Amapá, Brasil. Biota Amazônia. 2013; Macapá. v.3, n.1, p.179-183.
50. Galati E A B. Morfologia e taxonomia. In Rangel E F, Lainson R (orgs) Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003. p. 23-51.
51. Galati EAB Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) Classificação, Identificação, Morfologia e Terminologia de adultos. São Paulo; 2010. [Apostila do curso de Entomologia Médica - Depto. Epidemiologia – FSP/ USP].
52. Galati EAB, Massará AM, Gonçalves-Andrade RM, Consales CA & Bueno EFM. Phlebotomines (Diptera, Psychodidae) in the Speleological Province of the Ribeira Valley: 2. Parque Estadual do Alto Ribeira (PETAR), São Paulo State, Brazil. Revista Brasileira de Entomologia. 2010; v. 5,n.3:477-487.
53. Galati EAB. Bioecologia de Flebotomíneos [slides]. São Paulo: 2006.

54. Gomes AC. Mecanismos e significação epidemiológica da domiciliação. Rev. Saúde públ., São Paulo. 1986; v.20, n.5:385-90.
55. Gontijo CM, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev. bras. epidemiol. 2004; v. 7, n. 3:338-349.
56. Google Earth [programa de computador]. Disponível em: <http://www.google.com/earth/index.html>. Acessado em 27 de agosto de 2012.
57. Google Maps [homepage da internet] <http://maps.google.com.br/> acessado em 25 de agosto de 2012.
58. Graça GC, Volpini AC, Romero GA, Oliveira Neto MP, Hueb M, Porrozzi R, Boité MC, Cupolillo E. Development and validation of PCR-based assays for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis and identification of the parasite species. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2012; v.107, n.5:664-74.
59. 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; v. 50:759-779.
60. Hayashi EE, Estudo da leishmaniose tegumentar americana no Estado do Mato Grosso, no período de 1994 a 1999 [dissertação de mestrado]. Ribeirão Preto, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; 2004.
61. Iversson LB, Camargo ME, Silva EOR, Chieffi PP, Barros JAC. Investigação epidemiológica de um caso de leishmaniose visceral autóctone da Grande São Paulo, Brasil. Rev. Saúde Pública. 1979; n.13:159-167.
62. Iversson LB, Pires RBR, Ribeiro MA, Takeda AK, Escrivão-Jr A, Tolezano JE, Buralli GM. Investigação de um novo caso de leishmaniose visceral ocorrido na Grande São Paulo. Rev. Saúde Pública. 1982; n.16:205-219.
63. Iversson LB, Camargo ME, Villanova A. Inquérito sorológico para pesquisa de leishmaniose visceral em população canina-urbana do município de São Paulo-Brasil (1979-1982). Revista do instituto de Medicina Tropical.1983; v.25:310-317.
64. Jacques FEC. A fauna flebotomínea (Diptera: Psychodidae) de Espírito Santo do Pinhal, São Paulo, Brasil [Dissertação de Mestrado]. Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Campinas; 2010.
65. Kamhawi S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? Trends in Parasitology. 2006; n.22:439-445.
66. Kuhls K, Alam MZ, Cupolillo E, Ferreira GEM, Mauricio IL, et al. Comparative Microsatellite Typing of New World *Leishmania infantum* Reveals Low Heterogeneity among Populations and Its Recent Old World Origin. PLoS Negl Trop Dis. 2011; v.5, n.6: e1155.
67. Lainson R, Shaw J J. New World Leishmaniasis,. In: Cox FEG; Wakelin D; Gillespie SH, Despommier DD. (eds.). Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. London, Hodder Arnold; 2005; v.2. p 313-349.
68. Lainson R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. Revista Pan-Amazônica de Saúde. 2010; v.1,n.2:13-32.
69. Leal CRB. Métodos disponíveis e possíveis para o diagnóstico da leishmaniose visceral americana canina. Boletim Epidemiológico Paulista. São Paulo. 2009; v.6, n.4.
70. Leandro Junior MVS. Análise comparativa do teste imunocromatográfico DPP-Biomanguinhos com ELISA e RIFI no diagnóstico da leishmaniose visceral canina. [Master's Dissertation], Faculdade de Medicina, University of São Paulo, São Paulo; 2014.

71. Loiola CF, Silva DA, Galati EAB. Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) and species abundance in an endemic area of American cutaneous leishmaniasis in southeastern Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007;v.102, n.5:581-585.
72. Luppi MM, Malta MCC, Silva TMA, Silva FL, Motta ROC, Miranda I, Ecco R, Santos RL. Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. *Vet Parasito*. 2008; v.155:146-141.
73. Margonari C, Soares RP, Andrade Filho JD, Xavier DC, Saraiva L, Fonseca AL, Silva RA, Oliveira ME, Borges CE, Sanguinette CC, Melo MN. Flebotomínea flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e *Leishmania* infecção no Gafanhoto Park, Divinópolis, Brasil. *Journal of Medical Entomology*. 2010; v 47, n.6:1212-1219.
74. Markell EK, John DT, Krotoski WA. Outros Protozoários que habitam o sangue e os tecidos. In *Parasitologia Médica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2003. p. 136-149.
75. Martini AMZ & Prado IKL. Índices de diversidade de espécies.[acessado em 07 de março de 2015]. http://ecologia.ib.usp.br/let/lib/exe/fetch.php?id=didatico:quantif:start&cache=cache&media=didatico:quantif:qdb_indicesdiversidade.pdf.
76. Martins AV, Falcão AL, Silva JE, Miranda Filho R. Estudos sobre flebotomíneos do Estado de Minas Gerais. XV – Descrição do macho e da fêmea de *Lutzomyia ramirezi* N. SP. e da fêmea de *Lutzomyia alencari* Martins, Souza e Falcão, 1962. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 1982; v. 77, c. 4:417-424.
77. Marzochi MCA. Leishmanioses no Brasil: as leishmanioses tegumentares. *JBM* 1992; v.63. n 5/6:82-104.
78. Mello DA, Rego Jr FA, Oshozo E, Nunes VLB 1988. *Cerdocyon thous* L.(Carnivora, Canidae) naturally infected with *Leishmania (donovani) chagasi* (Cunha & Chagas, 1973) in Corumbá (Mato Grosso do Sul State, Brazil). *Mem Inst Oswaldo Cruz* v.83: 259.
79. Mendonça, IL et al. Validação do teste DPP no diagnóstico de leishmaniose Visceral canina. ANAIS 35º ANCLIVEPA- Associação Nacional dos Clínicos Veterinários de Pequenos Animais. <http://www.anclivepa2014.com.br/353/340.pdf>. 2014; p.1050.
80. Mestre GLC, Fontes CJF. A expansão da epidemia da leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005. 2007; v. 40, n. 1:42-48.
81. Ministério da Saúde. [acessado em 04 de março de 2015] <http://portalsaude.saude.gov.br/images/pdf/2014/setembro/09/LV-Casos.pdf>
82. Monteiro SG, Stainki DR, Dalmolin F, Braccini ET, Pinto Filho STL, Gaira MS et al. Detecção de *Leishmania infantum* em cão no município de Uruguaina, RS: Uma contribuição para a discussão das leishmanioses na região Sul do Brasil. *Vet. e Zootec*. 2010; v.17, n. 4:497-501,.
83. Morrison, A. C.; Ferro, C.; Morales, A, Tesh RB, Wilson ML. Dispersal of the sand fly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) at an endemic focus of visceral leishmaniasis in Colombia. *J. Med. Entomol*. 1993; v. 30:427-435.
84. Moschin JC. Aspectos ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) do Parque Estadual da Cantareira (PEC) e Parque Estadual Alberto Löfgren (PEAL) região metropolitana de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil [Dissertação de mestrado] Faculdade de Saúde Pública da USP. São Paulo; 2010. p 113.

85. Moschin JC. Aspectos ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) do Parque Estadual da Cantareira (PEC) e Parque Estadual Alberto Löfgren (PEAL) região metropolitana de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Rev Bras Epidemiol. 2013; v.16, n.1:190-201.
86. Nardi MS. Pesquisa de Leishmania sp. em flebótomos e mamíferos silvestres de fragmentos florestais na região do Pontal do Paranapanema, SP [dissertação de mestrado]. São Paulo: University of São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 2010.
87. Nasser JT; Donalisio MR; Vasconcelos CH. Distribuição espacial dos casos de leishmaniose tegumentar americana no município de Campinas, Estado de São Paulo, no período de 1992 a 2003. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2009; v. 42, n.3:309-314.
88. Oliveira AG et al. Primeiro encontro de Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Campo Grande, MS, Brasil. Rev. Saúde Pública. 2000; São Paulo. v. 34, n. 6
89. Ovallos, FG. Estudo da capacidade vetorial de *Migonemyia migonei* (França) e de *Pintomyia fischeri* (Pinto) (Diptera:Psychodidae) para *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum chagasi* Cunha & Chagas, 2011 [Tese de Mestrado]. Faculdade de Saúde Pública da USP. p 107.
90. Paula MBC. Primeiro encontro de Lutzomyia longipalpis (Lutz & Neiva, 1912) na área urbana de Uberlândia, MG, concomitante com o relato de primeiro caso autóctone de leishmaniose visceral humana. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2008; v.41, n.3:304-305.
91. Pereira-Chiocola VL. Diagnóstico molecular das leishmanioses: contribuição ao Programa de Vigilância e Controle da LVA no Estado de São Paulo. 2009; v.6, n.68:4-13 .
92. Pimentel MI et al. High visceral leishmaniasis mortality rate in Barra Mansa, a new area of visceral leishmaniasis transmission in the State of Rio de Janeiro, Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Uberaba. 2014; v. 47, n. 4
93. Pita-Pereira D, Cardoso MA, Alves CR, Brazil RP, Britto CC. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. Acta Trop. 2008; v.107:66-69.
94. Portal da Prefeitura de São Paulo [homepage na internet]. Parques Municipais Rodoanel e Cratera. [acesso em 18 agosto 2011]. Disponível em: http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/mapa_rodoanel_1254161928.jpg
95. Portal da Prefeitura de São Paulo [homepage na internet]. Parques Naturais Jaceguava/Itaim/Bororé/Varginha. Parques Naturais Municipais. [acesso em 18 agosto 2011]. Disponível em: http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/meio_ambiente/unid_de_conservacao/index.php?p=5415
96. Portal da Prefeitura de São Paulo [homepage na internet]. São Paulo: Parques da cidade de São Paulo. [acessado em 15 de outubro de 2012]. Disponível em: http://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/meio_ambiente/parques/programacao/index.php?p=5730
97. Queiroz Júnior, E M D. Validação do teste imunocromatográfico rápido DUAL PATH PLATFORM para o diagnóstico da leishmaníase visceral canina.

- [Dissertação de Mestrado] Universidade Estadual do Ceará. 2011. p 77. Disponível em <http://www.uece.br/ppgcv/dmdocuments/eudsonjunior.pdf>
98. Queiroz NMGP, Assis J, Oliveira TMFS, Machado RZ, Nunes CM, Buzetti WAS. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina pelas técnicas de imunoistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. Ver. Brás. Parasitol. Vet. Jaboticabal. 2010; v.19, n.1:32-38.
 99. Rangel, O et al. Classificação epidemiológica dos municípios segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo para 2013. Boletim Epidemiológico Paulista. São Paulo. 2013; v.10, n.111:3-14.
 100. Roberts DR & Hsi, BP. An index of species abundance for use with mosquito surveillance data. Environmental Entomology.1979; n.8:1007-1013.
 101. Sábio PB. Definição do status taxonômico do complexo Shannoni (Diptera:Psychodidae:Phlebotominae) no Brasil [Dissertação de Mestrado]. Faculdade de Saúde Pública da USP. São Paulo, 2013. P. 128.
 102. Salomón OD, Quintan MG, Bezzi G, Morán ML, Betbeder E, Valdéz DV. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. Centro Nacional de Diagnóstico e Investigación en Endemo-epidemias, ANLIS, Ministerio de Salud de la Nación, Argentina. Acta tropica, 2009; n.10:1016
 103. Sangenis LHC et al. Expansion of Visceral Leishmaniasis in The State of Rio de Janeiro, Brazil: Report of The First Autochthonous Case in the Municipality of Volta Redonda and The Difficulty of Diagnosis. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo. 2014; v.56, n.3: 271-274.
 104. Santos DR, Santos AR, Poiani LP, Oliveira O, Silva AMS, Galati EAB. Ocorrência de *Nyssomyia intermedia* (Lutz & Neiva) (Diptera:Psychodidae) e Fauna Associada, no Paraná. Neotropical Entomology. 2009; v 30, n.2:298-301.
 105. São Paulo [homepage na internet] [acessado em 15 de outubro de 2012] Disponível em <http://www.saopaulo.com.br/parque-anhanguera>
 106. Saraiva L, Andrade Filho J, Silva SO, Andrade ASR, Melo MN.. The molecular detection of different *Leishmania* species within sand flies from a cutaneous and visceral leishmaniasis sympatric area in Southeastern Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.2010; v.105, n.8:1033-1039.
 107. Saraiva L, Carvalho GML, Gontijo CM, Quaresma PF, Lima ACVMR, Falcão AL, Andrade Filho JD. Natural Infection of *Lutzomyia neivai* and *Lutzomyia sallesi* (Diptera: Psychodidae) by *Leishmania infantum chagasi* in Brazil. J. Med. Entomol. 2009; v.46, n.5:1159-1163.
 108. Savani ESM, Nunes VLB, Galati EAB, Castilho TM, Zampieri RA, Floeter-Winter LM. The finding of *Lutzomyia almerioi* and *Lutzomyia longipalpis* naturally infected by *Leishmania* spp. In a cutaneous and canine visceral leishmaniasis focus in Serra da Bodoquena, Brazil. Vet. Parasit. 2009; n.160:18-24.
 109. Savani ESM. Aspectos da transmissão de leishmanioses no Assentamento Guaicurus, Planalto da Bodoquena, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, 2002-03. Infecção natural em animais domésticos e vetores [Master's thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2004. 132 p.
 110. Savani ESM. Inquérito sorológico sobre Leishmaniose Tegumentar Americana em cães errantes do município de São Paulo, 1995-1996. São Paulo, 1998. P.78.

111. Savani, ESMM, Nunes VLB, Galati EAB, Castilho TM, Araújo FS, Ilha IMN et al. Occurrence 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; v.100, n.7:739-741.
112. Scandar SAS et al. Ocorrência de leishmaniose visceral americana na região de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil; Superintendência de Controle de Endemias. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São José do Rio Preto, SP, Brasil. Bepa 2011; v.8, n.88:13-22.
113. Silva AF; Latorre MRDO, Galati EAB. Fatores relacionados à ocorrência de leishmaniose tegumentar no Vale do Ribeira. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2010; v. 43, n.1:46-51.
114. Silva DA. Aspectos Ecológicos da fauna flebotomínea (Diptera, Psychodidae) e suas implicações na epidemiologia das leishmanioses em Cotia, Estado de São Paulo, Brasil [Dissertação de Mestrado]. Faculdade de Saúde Pública da USP. São Paulo, 2005.
115. Silva GAR da et al. . First Case of Autochthonous Human Visceral Leishmaniasis in the Urban Center of Rio de Janeiro: Case Report. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo. São Paulo. 2014; v.56, n.1.
116. Silveira FT, Lainson R, Shaw JJ, Braga RR, Ishikawa EEA, & Souza AAA. Leishmaniose cutânea na Amazônia: isolamento de *Leishmania (Viannia) lainsoni* do roedor Agouti paca (Rodentia: Dasyproctidae), no estado do Pará, Brasil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 1991; v.33, n.1:18-22.
117. SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação: Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de Vigilância Epidemiológica. [Banco de dados]; 2007-2014.
118. Souza NP. Almeida ABPF, Pádua T, Freitas TPT, Paz PCR, Nakazato L, Sousa VRF. *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* em canídeos silvestres mantidos em cativeiro, no Estado de Mato Grosso. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 2010; v.43, n.3:333-225.
119. SP-Turismo [homepage da internet]. Mapa da região Metropolitana de São Paulo. [acessado 19 agosto 2011]. Disponível em <http://www.sp-turismo.com/grandesp.htm>
120. SUCEN – Superintendência de Controle de Endemias [homepage na internet]. Vetores e Doenças. Leishmaniose Visceral Americana. [acesso em 15 agosto 2011]. Disponível em: <http://www.sucen.sp.gov.br/atuac/viscer.html>
121. Taniguchi HH. Dinâmica de circulação de *Leishmania* spp. no ambiente enzoótico de duas regiões do Estado de São Paulo. [tese de doutorado]. São Paulo. Faculdade de Saúde Pública, 2010.
122. Taniguchi, HH. Reservatórios e Meio Ambiente: a importância no ciclo de transmissão. II Fórum de Leishmaniose Visceral Americana do Estado De São Paulo: Conhecer, Difundir, Integrar; 30/10/2013; São Paulo. Brasil. Centro de Vigilância Epidemiológica; Disponível em www.cve.saude.sp.gov.br/html/cve_leishvis.html.
123. Teodoro, U et al. Fauna de flebotomíneos em municípios do norte pioneiro do Estado do Paraná, Brasil. Rev. de Patologia Tropical. 2010; v.39, n.4:322-330.
124. Tgb [homepage na internet]. São Paulo: Parques da cidade de São Paulo. [acessado em 01 de setembro de 2012]. Disponível em Gasoduto Bolívia-Brasil / Informações Técnicas do Lado Brasileiro / Abril de 2010 4 -

- <http://www.ideosfera.ggf.br/wp-content/uploads/2011/07/TGB-Transportadora-Brasileira-Gasoduto-Bol%C3%ADvia-Brasil-S.A.pdf>
125. Tolezano, JE. O quanto caminhamos: avanços e... II Fórum de Leishmaniose Visceral Americana do Estado De São Paulo: Conhecer, Difundir, Integrar; 30/10/2013; São Paulo. Brasil. Centro de Vigilância Epidemiológica; Disponível em www.cve.saude.sp.gov.br/htm/cve_leishvis.html.
 126. Travi BL, Vélez ID, Brutus L, Segura I, Jaramillo C, Montoya J. *Lutzomyia evansi*, an alternative vector of *Leishmania chagasi* in Colombia focus of Visceral Leishmaniasis. Trans. R. Soc. Trop. Med.Hyg. 1990; n.84:676-677.
 127. Turmas Sábado [homepage na internet] [acessado em 15 de outubro de 2012] Disponível em: <http://turmasabado.hd1.com.br/sonia/parques.htm>
 128. Vivero RJ et al. Nuevos registros de flebotomíneos (Diptera:Psychodidae), com el hallazgo de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), em los alrededores de la Ciudad de Sincelejo, Colombia. Biota Neotrop, 2009; v.9, n.4:277-280.
 129. Who – World Health Organization [homepage na internet]. Geneva;2012 [acesso em 16 outubro 2014]. Disponível em <http://gamapserver.who.int/>
 130. Who - World Health Organization. Tropical Disease Research. Seventeenth Programme Report – Progress 2003-2004. Geneva; 2005.
 131. Wikipédia.org [homepage na internet]. Gasoduto Brasil-Bolívia. [atualizado 31 de julho de 2012; acesso em 26 agosto 2012]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Gasoduto_Bol%C3%ADvia-Brasil
 132. Wikipédia.org [homepage na internet]. História da cidade de São Paulo. [atualizado 26 jun 2011; acesso em 18 agosto 2011]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Hist%C3%B3ria_da_cidade_de_S%C3%A3o_Paulo
 133. Wikipédia.org [homepage na internet]. Região metropolitana de São Paulo. [atualizado 04 agosto 2011; acesso em 18 agosto 2011]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Regi%C3%A3o_Metropolitana_de_S%C3%A3o_Paulo
 134. Wikipédia.org [homepage na internet]. São Paulo: Parques da cidade de São Paulo. [atualizado em 12 agosto 2011; acesso em 18 agosto 2011]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Parques_da_cidade_de_S%C3%A3o_Paulo
 135. Wikipédia.org [homepage na internet]. São Paulo: Parques da cidade de São Paulo. [acessado em 01 de setembro de 2012]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Parques_da_cidade_de_S%C3%A3o_Paulo
 136. Wikipédia.org [homepage na internet]. São Paulo: Parques da cidade de São Paulo. Parque Anhanguera [acessado em 15 de outubro de 2012]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Parque_Anhanguera_%28S%C3%A3o_Paulo%29
 137. Wikipédia.org [homepage na internet]. São Paulo: Portal da São Paulo. [atualizado 4 fev. 2011; acesso em 18 agosto 2011]. Disponível em: http://pt.wikipedia.org/wiki/Portal:S%C3%A3o_Paulo_%28cidade%29
 138. Zuben APB et al. The first canine visceral leishmaniasis outbreak in Campinas, State of São Paulo Southeastern Brazil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. Uberaba.2014; v.47, n.3.

ANEXOS

Anexo 1: Abdômen da fêmea de similar a *Lutzomyia longipalpis*, demonstrando oviposição prévia, 2014.

Anexo 2: Espermateca da fêmea similar a de *Lutzomyia longipalpis*, 2014.

Anexo 3: Cabeça com detalhe aos palpos da fêmea similar a de *Lutzomyia longipalpis*, 2014.

Anexo 4: Cibário da fêmea similar a de *Lutzomyia longipalpis*, 2014.

Anexo 5: Barraca de Shannon branca instalada em ponto de coleta no Parque do Jaraguá, 2014.

Anexo 6: Barraca de Shannon branca instalada e equipe de coleta no Parque do Jaraguá, 2014.

Anexo 7: Cães da Tribo Indígena Tekoa Ytu. Região do Parque do Jaraguá. São Paulo, 2014.

Anexo 8: Cão em inquérito canino no Parque do Anhanguera. São Paulo, 2015.

Anexo 9: Coruja orelhuda (*Asio clamator*) em recinto no Parque do Anhanguera. São Paulo, 2014.

Anexo 10: Vista da mata da residência de cão contaminado com *Leishmania* sp, e vizinha do cão contaminado com *L. (L.) infantum chagasi* no distrito de Perus. São Paulo, 2015.

Anexo 11: Esforço de coleta na mata da residência de cão contaminado com *Leishmania* sp, e vizinha do cão contaminado com *L. (L.) infantum chagasi* no distrito de Perus. São Paulo, 2015.

Anexo 12: Autorização do COTEC Instituto Florestal.

PROCESSO SMA Nº.

INTERESSADO

ASSUNTO

EQUIPE

VIGÊNCIA

SECRETARIA DO MEIO AMBIENTE

INSTITUTO FLORESTAL

Rua do Horto, 931 - CEP 02377-000 - S. Paulo, SP - Brasil - Fone: (0xx11) 2231-8555

www.iflorestal.sp.gov.br

: 260108 - 002.442/2013

: Alessandra Ferreira da Silva

: Encaminha o projeto de pesquisa: "Vigilância de leishmaniose viscerar americana no município de São Paulo"

: Alessandra Ferreira da Silva e Eunice Aparecida Bianchi Galati

: Março de 2013 a Junho de 2015

Carta COTEC Nº. 440/2014 D24/2013 BA

São Paulo, 27 de Agosto de 2014.

Senhora

Alessandra Ferreira da Silva

Rua Nicodemo Biondo, 67

São Paulo-SP

CEP: 03.678-040

Tel.: (11) 2539-5209 / (11) 9-9355-7832

E-mail: aleferreira@usp.br

Em adendo à carta COTEC nº 353/2013 de 24 de Junho de 2013, informamos que o projeto "Vigilância de leishmaniose visceral americana no município de São Paulo", constante do processo em referência, de autoria de Alessandra Ferreira da Silva e Eunice Aparecida Bianchi Galati, foi prorrogado, para ser executado, no período de Março de 2013 a Junho de 2015, na seguinte Unidade:

UNIDADE e RESPONSÁVEL	ENDEREÇO DA UNIDADE DE CONSERVAÇÃO	OBSERVAÇÕES
Parque Estadual do Jaraguá Ao responsável pela Unidade	<p>a) Sede Administrativa: Endereço: Rua Antônio Cardoso Nogueira, n.º. 539 Vila Chioia Luiza São Paulo-SP CEP: 05.184-000</p> <p>Telefones para informação: (11) 3943-5222 / (11) 3941-2162 E-mail: pe.jaraguá@iflorestal.sp.gov.br</p> <p>Dias e horários de funcionamento: segunda-feira a sexta-feira, das 8h às 17h.</p> <p>b) Visitação: Endereço: Rua Antônio Cardoso Nogueira, n.º. 539 Vila Chioia Luiza São Paulo-SP CEP: 05.184-000</p> <p>Dias e horários de funcionamento: segunda-feira a domingo, das 7h às 17h.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Com relação à realização do projeto no Parque Estadual do Jaraguá, manifestamo-nos: <u>De acordo com a execução do projeto</u>; • Com relação aos resultados do projeto, as informações geradas serão de: Alta prioridade; • Com relação ao planejamento da Unidade, o Parque Estadual do Jaraguá possui: Plano de Manejo; • Com relação às atividades previstas pelo projeto: não existe restrição; • <u>As seguintes observações devem ser observadas pelos autores, por ocasião da visita a esta Unidade:</u> <ul style="list-style-type: none"> • Agendar visita com 01 (uma) semana de antecedência, com a administração da Unidade; • Relatórios parciais e final encaminhados à COTEC devem também ser remetidos ao Parque Estadual do Jaraguá, para serem juntados ao acervo da Unidade.

"O projeto é muito importante e merece receber apoio total da Instituição gerenciadora da área."

Anexo 13: Autorização do SISBIO.

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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 37404-3	Data da Emissão: 23/02/2015 18:08	Data para Revalidação*: 24/03/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Alexandre Ferreira da Silva	CPF: 113.175.958-31
Título do Projeto: Vigilância de leishmaniose visceral americana no município de São Paulo	
Nome da Instituição: Faculdade de Saúde Pública, USP	CNPJ: 03.025.530/0017-71

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta entomológica	01/2015	01/2017

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passado, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exclui o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para as fins previstas na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2015, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou exportativos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para Importação ou Exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros de sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condições in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/gen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Eunice Aparecida Ilanchi Galati	Orientadora	006.115.165-04	5119382 SSPSP-SP	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	SÃO PAULO	SP	Parque estadual Jaraguá	Poss de UC Federal
2		SP	Parque municipal Anhanguera	Poss de UC Federal

Atividades X Taxons

#	Atividade	Taxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Insecta
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Insecta
3	Coleta/transporte de espécimes de fauna silvestre in situ	Insecta (Ordem: 1000)

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 12514444

Página 1/3

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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 37404-3	Data da Emissão: 23/02/2016 18:08	Data para Revalidação*: 24/03/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades e ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Alessandra Ferreira da Silva	CPF: 113.175.958-31
Título do Projeto: Vigilância de leishmaniose visceral americana no município de São Paulo	
Nome da Instituição : Faculdade de Saúde Pública, USP	CNPJ: 63.025.530/0017-71

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Armadilha de interceptação de vôo, Guarda-chuva entomológico, Captura manual, Rede entomológica, Outros métodos de captura/coleta(Coleta manual com aspirador de cabelo.), Armadilha luminosa
---	---	---

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Faculdade de Saúde Pública, USP	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 12514444

Página 2/3

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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 37404-3	Data da Emissão: 23/02/2016 18:08	Data para Revalidação*: 24/03/2018
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades e ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Alessandra Ferreira da Silva	CPF: 113.175.958-31
Título do Projeto: Vigilância de leishmaniose visceral americana no município de São Paulo	
Nome da Instituição: Faculdade de Saúde Pública, USP	CNPJ: 63.025.530/0017-71

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Taxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 12514444

Página 3/3

Anexo 14: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa – CEP.

FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP									
DADOS DO PROJETO DE PESQUISA Título da Pesquisa: Vigilância da leishmaniose visceral americana no município de São Paulo. Pesquisador: Alessandra Ferreira Área Temática: Versão: 1 CAAE: 09426313.4.0000.5421 Instituição Proponente: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - FSP/USP Patrocinador Principal: Financiamento Próprio									
DADOS DO PARECER Número do Parecer: 232.370 Data da Relatoria: 22/03/2013 Apresentação do Projeto: O projeto está adequadamente apresentado. Objetivo da Pesquisa: O objetivo da pesquisa é investigar a vulnerabilidade do município de São Paulo na possível ocorrência da Leishmaniose Visceral, baseando-se nos parâmetros de presença do vetor e infecção em reservatórios domésticos. Avaliação dos Riscos e Benefícios: Para os sujeitos da pesquisa, cães e proprietários os riscos são irrelevantes. Comentários e Considerações sobre a Pesquisa: É uma pesquisa pertinente e oportuna cujos resultados poderão contribuir para o aprimoramento do Sistema de Vigilância Epidemiológica do município de São Paulo e da Grande São Paulo. Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória: É claro e completo, inclusive fazendo referência sobre a possibilidade de sacrificar os cães que forem eventualmente diagnosticados como infectados. Recomendações: Nada a recomendar. Conclusões ou Pendências e Lista de inadequações: Não há pendências.									
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715</td> <td style="padding: 2px;">CEP: 01.248-904</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Bairro: Cerqueira César</td> <td style="padding: 2px;"></td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">UF: SP</td> <td style="padding: 2px;">Município: SÃO PAULO</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Telefone: (11)3081-7779</td> <td style="padding: 2px;">Fax: (11)3081-7742 E-mail: cocep@fsp.usp.br</td> </tr> </table>		Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715	CEP: 01.248-904	Bairro: Cerqueira César		UF: SP	Município: SÃO PAULO	Telefone: (11)3081-7779	Fax: (11)3081-7742 E-mail: cocep@fsp.usp.br
Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715	CEP: 01.248-904								
Bairro: Cerqueira César									
UF: SP	Município: SÃO PAULO								
Telefone: (11)3081-7779	Fax: (11)3081-7742 E-mail: cocep@fsp.usp.br								

FACULDADE DE SAÚDE
PÚBLICA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SAO PAULO, 28 de Março de 2013

Assinador por:

Claudio Leone
(Coordenador)

Endereço: Av. Doutor Arnaldo, 715

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 01.248-904

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3061-7779

Fax: (11)3061-7742

E-mail: ceep@fsp.usp.br

Anexo 15: Termo de consentimento livre e esclarecido – TCLE. São Paulo, 2015.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa: **Vigilância da leishmaniose visceral no município de São Paulo.**

A JUSTIFICATIVA, OS OBJETIVOS E OS PROCEDIMENTOS: O motivo que nos leva a estudar a Leishmaniose Visceral é tratar-se de uma doença grave que pode ser transmitida pela picada de um inseto conhecido como febre do sono. Esse inseto vive próximo a matas e tem como hábito se alimentar do sangue de animais domésticos e de pessoas. Quando se alimenta pode se infectar com o parasita (Leishmania) de um animal contaminado e transmitir a doença para outro animal ou para as pessoas. A pesquisa se justifica pelo avanço da doença pelo estado de São Paulo em direção a capital nos últimos anos, vinda da região de Araçatuba e Campinas. O objetivo desse projeto é investigar se a doença já se instalou na região, para isso procuramos se há o inseto e/ou algum cão que já esteja contaminado na região. Para saber se o cão já apresenta infecção precisamos retirar uma amostra de sangue para um exame chamado de ELISA. Esse sangue será examinado pela FACULDADE DE MEDICINA DA USP e se houver suspeita de resultado positivo serão necessários outros testes para confirmação.

DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS: Não há risco para o animal com a coleta, que é feita na pata do animal. O animal deve ser contido para a retirada do sangue. O benefício para o animal e para as pessoas é saber da presença ou não da doença e se constatado que o animal não tem a doença ele pode ser vacinado para prevenção. Com a certeza da presença da doença as pessoas podem prevenir a infecção.

FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA: Já constatamos a presença desse inseto na região e este trabalho irá desencadear medidas de controle. Acontecerá ação de eliminação do inseto, orientação da população e da classe médica quanto à presença da doença, o que facilita o diagnóstico rápido tanto para pessoas quanto para animais. O tratamento das pessoas é oferecido pelo SUS. Os cães com Leishmaniose Visceral são fontes de infecção para as pessoas e podem ter de ser sacrificados, pois não há tratamento eficaz e ele representa risco à saúde pública. O sacrifício de um cão com Leishmaniose Visceral depende da autorização do proprietário, e há formas de prevenir que o cão passe a doença para as pessoas, principalmente com uso de repelentes, evitando que o inseto se contamine e transmita a doença para as pessoas.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. A pesquisadora irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados dos exames laboratoriais serão enviados para você e permanecerão confidenciais. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada no Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo e outra será fornecida a você.

CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional. No caso você sofrer algum dano decorrente dessa pesquisa a pesquisadora será a responsável pelo ressarcimento.

DECLARAÇÃO DA PARTICIPANTE OU DO RESPONSÁVEL PELA PARTICIPANTE: Eu,

fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. A orientadora Professora Livre Docente Eunice Aparecida Bianchi Galati, certificou-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar a estudante Alessandra Ferreira da Silva (Médica Veterinária – CRMV SP 9418 e especialista em saúde da PMSP RF 787089.2), a orientadora Professora Livre Docente Eunice Aparecida Bianchi Galati nos telefones (11) 25395209 ou 993557832 ou 30617786 ou o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sito à Av. Dr. Arnaldo, 715, Cerqueira César – São Paulo, SP.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

NOME:
ASSINATURA:
TESTEMUNHA:
TESTEMUNHA:
DATA:

PESQUISADORA : ALESSANDRA FERREIRA DA SILVA email: sleferre@usp.br

Ass:

CURRÍCULO LATTES

29/03/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Alessandra Ferreira da Silva)

Alessandra Ferreira da Silva

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/3319181550749025>
Última atualização do currículo em 20/06/2014

Doutoranda em saúde pública pela FSP USP (Departamento de Epidemiologia). Mestre em Vigilância de Saúde Pública pela FSP USP, atualmente se especializa em epidemiologia, saúde pública, estatística, geoprocessamento e entomologia (leishmaniose). Graduada em Medicina Veterinária. Atua na área de vigilância em saúde pública com ênfase em zoonoses e doenças transmitidas por vetores, entre elas leishmaniose e dengue. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome: Alessandra Ferreira da Silva
Nome em citações bibliográficas: SILVA, Alessandra Ferreira da

Endereço

Endereço Profissional: Prefeitura Municipal de São Paulo, Secretaria Municipal da Saúde do Estado de São Paulo,
Rua Candapuá, 492 - Vila Marieta
Penha
03621-000 - São Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 27911577
Fax: (11) 27917997

Formação acadêmica/titulação

2010 Doutorado em andamento em Epidemiologia.
faculdade de saúde pública universidade de são paulo.
Título: Vigilância das leishmanioses no município de São Paulo,
Orientador: Eunice Aparecida Bianchi Galati.
Palavras-chave: Leishmaniose; Saúde Pública; Município de São Paulo;
Vigilância em Saúde; Georreferenciamento.
Grande área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva.
Setores de atividade: Administração pública, defesa e segurança social;
Atividades de atenção à saúde humana integradas com assistência social,
prestadas em residências coletivas e particulares; Atividades de atenção à
saúde humana.

2007 - 2008 Mestrado profissional em Vigilância em Saúde Pública.
faculdade de saúde pública universidade de são paulo.
Título: Fatores Associados a ocorrência de Leishmaniose Tegumentar
Americana no Vale do Ribeira., Ano de Obtenção: 2008.
Orientador: Profa. Dra. Eunice Aparecida Bianchi Galati.
Palavras-chave: Bioestatística; Epidemiologia; Leishmaniose; Leishmaniose
Tegumentar Americana; Regressão Logística; Saúde Pública.

2004 - 2005 Especialização em Administração Hotelaria.
Faculdade Senac de Turismo e Hotelaria.
Título: Avaliação de qualidade de pratos regionais servidos em restaurante de
Hotel na cidade de Natal - Rio Grande do Norte..
Orientador: Eduardo Antonio Bonzatto.

1990 - 1995 Graduação em Medicina Veterinária.

29/03/2015

Currículo do Sistema de Currículos Lattes (Eunice Aparecida Bianchi Galati)

Eunice Aparecida Bianchi Galati

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1C

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/1399035734723864>
 Última atualização do currículo em 07/12/2014

Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade de São Paulo (1977), graduação em Ciências pela Universidade de São Paulo (1976), mestrado em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (1981) e doutorado em Saúde Pública pela Universidade de São Paulo (1990). Atualmente é professor associado da Universidade de São Paulo. Tem experiência no ensino sobre Epidemiologia e Entomologia em Saúde Pública. Em pesquisa em Entomologia Médica, atuando principalmente nos seguintes temas: Phlebotominae, Psychodidae, leishmaniose tegumentar, taxonomia e epidemiologia. Atualmente desenvolve projeto sobre capacidade vetorial de Phlebotominae em relação às leishmânias: *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum chagasi*. (Texto informado pelo autor)

Identificação

Nome	Eunice Aparecida Bianchi Galati
Nome em citações bibliográficas	GALATI, E. A. B.; Galati, E.A.B.; Galati, Eunice A. B.; GALATI, EUNICE A.B.; BIANCHI GALATI, EUNICE APARECIDA; EUNICE APARECIDA GALATI

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Epidemiologia. Av. Dr. Arnaldo, 715 Cerqueira Cesar 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617786 Fax: (11) 30617926
------------------------------	---

Formação acadêmica/titulação

1983 - 1990	Doutorado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Sistemática dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) das Américas. Ano de obtenção: 1990. Orientador: Ubirajara Ribeiro Martins de Souza. Palavras-chave: Sistemática; Psychodidae; Taxonomia; Phlebotominae; Diptera. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Zoologia / Subárea: Taxonomia dos Grupos Recentes / Especialidade: Entomologia Médica. Setores de atividade: Saúde Humana.
1979 - 1981	Mestrado em Saúde Pública (Conceito CAPES 6). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Aspectos taxonômicos e biogeográficos do gênero <i>Psychodopygus</i> Mangabeira, 1941 e sua importância epidemiológica (Diptera, Phlebotominae). Ano de Obtenção: 1981. Orientador: Oswaldo Paulo Forattini. Palavras-chave: Taxonomia; Biogeografia; Diptera; Phlebotominae; Psychodopygus. Grande área: Ciências Biológicas / Área: Zoologia / Subárea: Taxonomia dos Grupos Recentes / Especialidade: Entomologia Médica.