



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA,
CAMPUS DE PRESIDENTE PRUDENTE
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM GEOGRAFIA

LOURDES APARECIDA ZAMPIERI D’ANDRÉA

LEISHMANIOSE VISCERAL NA REGIÃO DE PRESIDENTE
PRUDENTE, SÃO PAULO: DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E ROTAS
DE DISPERSÃO

Presidente Prudente – SP

2017

LOURDES APARECIDA ZAMPIERI D'ANDREA

**LEISHMANIOSE VISCERAL NA REGIÃO DE PRESIDENTE
PRUDENTE, SÃO PAULO: DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E ROTAS
DE DISPERSÃO**

**Tese de doutorado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Geografia ao Programa de
Pós-Graduação em Geografia da Universidade
Estadual Paulista – UNESP, campus de
Presidente Prudente - SP.**

**Linha de Pesquisa: Produção do Espaço
Geográfico
Orientador: Prof. Dr. Raul Borges Guimarães**

Presidente Prudente – SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

D176L D'Andrea, Lourdes Aparecida Zampieri.
Leishmaniose Visceral na região de Presidente Prudente, São Paulo,
distribuição espacial e rotas de dispersão / Lourdes Aparecida Zampieri
D'Andrea. - Presidente Prudente : [s.n.], 2017
157 f. : il.

Orientador: Raul Borges Guimarães
Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências e Tecnologia
Inclui bibliografia

1. Leishmaniose Visceral. 2. Distribuição espacial. 3. Rotas de
dispersão. 4. Vigilância em saúde. I. Guimarães, Raul Borges. II.
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. III.
Título.

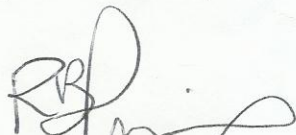
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: *Leishmaniose visceral na região de Presidente Prudente, São Paulo: distribuição espacial e rotas de dispersão*

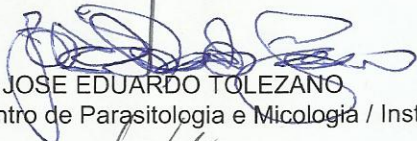
AUTORA: LOURDES APARECIDA ZAMPIERI D'ANDREA

ORIENTADOR: RAUL BORGES GUIMARAES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em GEOGRAFIA, área: PRODUÇÃO DO ESPAÇO GEOGRÁFICO pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. RAUL BORGES GUIMARAES
Departamento de Geografia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente - FCT/UNESP



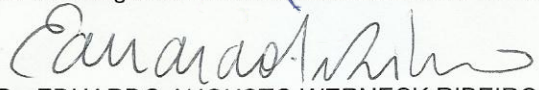
Dr. JOSE EDUARDO TOLEZANO
Centro de Parasitologia e Micologia / Instituto Adolfo Lutz/SP



Prof. Dr. VAMILTON ALVARES SANTAREM
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal / Universidade do Oeste Paulista



Prof. Dr. SAMUEL DO CARMO LIMA
Instituto de Geografia / Universidade Federal de Uberlândia



Prof. Dr. EDUARDO AUGUSTO WERNECK RIBEIRO
Campus São Francisco do Sul / Instituto Federal Catarinense - IFC

Presidente Prudente, 08 de agosto de 2017

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese de doutorado primeiramente a *DEUS* por me preservar a vida e permitir que mesmo diante de muitos obstáculos eu concluísse este sonho, iluminando meu caminho, me sustentando e dando forças para seguir sempre em frente.

Aos meus pais Luiz e Leondira, pelo alicerce da estrutura moral e familiar, carinho, amor, apoio e orações em todos os momentos; aos meus queridos filhos Tiago e Gabriela dons especiais; a nora Renata e ao genro Rodrigo; e demais familiares em especial ao Sérgio pelo amor, carinho, compreensão e apoio para realização deste trabalho.

Ao pai de meus filhos *In Memoriam*, Dirceu Zaine D' Andrea, o qual a dezenove anos atrás nos privou do convívio, mas em vida sempre me incentivou para a melhoria de minha formação profissional e realização dos meus sonhos.

A todos os funcionários da Área da Saúde Pública que vestem a camisa, trabalham com muito amor e dedicação em prol de uma Saúde Pública de qualidade, procurando superar todos os tipos de dificuldades que enfrentamos no nosso dia a dia e, que incansavelmente, sempre prontos a encarar os novos desafios e buscar novos caminhos e enfim se reinventando.

Em especial a todos aqueles que acreditaram na minha capacidade de concluir este projeto, investiram no meu sonho e colaboraram de alguma forma para eu chegasse ao fim desta empreitada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a DEUS, pela presença real e atuante em minha vida em todos os momentos, capacitando-me e protegendo na caminhada.

Ao prof. Dr. RAUL BORGES GUIMARÃES, por ter acreditado em minha capacidade profissional e intelectual, pela orientação, por todos os ensinamentos, pela oportunidade de longas e ricas discussões sobre os resultados que iam se obtendo em cada fase do desenvolvimento da pesquisa e do norteamento dos próximos passos e do conhecimento que estava sendo construído. Minha eterna gratidão e admiração, pela confiança depositada em mim, pela paciência, incentivo, grande capacidade de discernimento e acima de tudo pela sua amizade.

Ao prof. Dr. EDILSON FERREIRA FLORES que acreditou na minha capacidade de aprendizagem dos Sistemas de Informação Geográfica (SIGs) e com toda a sua habilidade, didática e paciência aos poucos foi me ensinando a trabalhar com estes sistemas, organizar os bancos de dados o que possibilitou que eu realizasse o mapeamento da tese.

Ao HÉLIO HEHL CAIAFFA FILHO, Diretor Geral do Instituto Adolfo Lutz da Coordenadoria de Controle de Doenças (CCD) da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo (SSESP) e a MARIZA MENEZES ROMÃO, Diretora Técnica do Centro de Laboratório Regional de Presidente Prudente V (CLR IAL PP V) pela autorização junto a CCD- SSESP para que eu me ausentasse de minhas atividades como pesquisadora científica no CLR IAL PP V em determinados períodos para poder cursar e concluir o doutorado, bem como o incentivo e apoio.

Aos meus colegas do CLR – IAL PP V pelo apoio, compreensão e cooperação durante as minhas ausências. Em especial, agradeço a minha QUERIDA equipe técnica do Laboratório de Parasitologia: GENI, ROSEMARY e CREUZA pela dedicação e competência na realização das atividades dos exames laboratoriais em atendimento ao Programa de Vigilância e Controle da LV na macrorregião de Saúde de Presidente Prudente, um dos objetos da presente tese.

A prof. Dra. VIRGINIA BORDELÃO – CLR IAL Bauru pelas análises de biologia molecular da presente tese.

A IVETE DA ROCHA ANJOLETE, Diretora Técnica de Serviços de saúde da Superintendência do Controle de Endemias (Sucen) de Presidente Prudente pelo apoio prestado para realização deste trabalho.

A Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Geografia e ao corpo docente pelos ensinamentos.

Aos bolsistas do Programa de Aprimoramento Profissional, em especial ao Calebe, Bianca, Luiz Eduardo e Ana Carolina que contribuíram com levantamento de dados e trabalhos de campo.

Ao ELIVELTON DA SILVA FONSECA pelo companheirismo e ensinamentos da Geografia.

A todos, em especial os amigos discentes da UNESP/Presidente Prudente – SP, sem menção de nomes para evitar esquecimentos, que, de alguma forma, contribuíram para que esta tese viesse tornar-se realidade, em especial aos membros do grupo de pesquisa do Laboratório de Biogeografia e Geografia da Saúde e ao Coletivo CETAS pelas discussões teóricas para o entendimento dos conceitos mais intrínsecos de Geografia.

A todos os veterinários responsáveis pelos serviços de controle de vetores/zoonoses e centros de zoonoses municipais e suas equipes de trabalho pelas coletas de materiais biológico dos cães, parcimônia e companheirismo no desenvolver desta pesquisa, colaborando com as supervisões, trabalho de campo e informações que lhes eram solicitadas para o entendimento do processo saúde-doença.

A bibliotecária MICHELE OSHIMA pela revisão e orientação das referências bibliográficas.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

Pelo apoio,

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – FCT -Unesp de Presidente Prudente

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL de São Paulo, Presidente Prudente e Bauru

FAPESP e Sucen

Secretarias Municipais de Saúde da macrorregião de Presidente Prudente

Viver é uma arte daqueles que possuem capacidade de se adaptarem facilmente a novas situações, sejam elas quais forem. Caso contrário, amargarão consequências e desilusões.

SUMÁRIO

RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XII
LISTA DE FIGURAS.....	XV
LISTA DE TABELAS.....	XVIII
LISTA DE QUADRO.....	XIX
LISTA DE GRÁFICOS.....	XIX
INTRODUÇÃO.....	01
CAPITULO I - Biogeografia - Origem e difusão espacial das Leishmanias: uma revisão sistemática da literatura.....	18
CAPITULO II - Identificação de espécies de <i>Leishmanias</i> circulantes na população canina da Rede Regional de Atenção à Saúde - RRAS 11 de Presidente Prudente.....	41
CAPITULO III - Expansão da LV na macrorregião de Presidente Prudente-SP: distribuição espacial dos casos de LV humana e canina na área urbana de Dracena e Tupi Paulista- SP/Brasil entre 2006 e 2015.....	63
CAPITULO IV - Leishmaniose visceral no meio rural: uma nova fronteira.....	88
CAPITULO V - Leishmaniose visceral: política pública e interfaces escalares, arsenal diagnóstico laboratorial, programa de vigilância e controle e rotas de dispersão.....	109
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	132
REFERÊNCIAS	135
APÊNDICES.....	150

RESUMO

A questão central desenvolvida na presente tese é uma abordagem integrada de elementos que envolvem as ações de vigilância e o controle da leishmaniose visceral (LV), relacionando dados e análise do mundo microbiológico ao conjunto de informações espaciais existentes sobre o tema. Teve como principal objetivo, avaliar a distribuição espacial dos casos humanos com LV notificados e relacioná-los com a infecção na população canina nos municípios pertencentes à Rede Regional de Atenção à Saúde – RRAS 11 de Presidente Prudente – SP e as rotas de dispersão do agente patógeno. Para isto, foram utilizados conhecimentos geoepidemiológicos e de ferramentas de geoprocessamento e análise espacial para analisar as rotas de disseminação dos agentes e da infecção da doença na população canina na área urbana e rural. O estudo foi desenvolvido nos 45 municípios da macrorregião de Presidente Prudente – SP, com base populacional, no delineamento transversal e na coleta de dados *in locu*. Para entender o contexto da área foi realizado: levantamento de dados secundários, que constitui a criação de bases cartográficas que tenham sido elencadas como explicativas do fenômeno estudado (LV), com base na bibliografia sobre o tema; identificação das espécies de *Leishmania* circulantes na população canina, discutindo-se fatores de risco individuais para soropositividade de *Leishmania* em cães em áreas urbanas e rurais, bem como avaliando a prevalência de LV canina em assentamentos rurais da Região de Saúde de Presidente Prudente – SP. Também foi estratificado áreas para LV humana e canina, segundo o risco epidemiológico, com base em mapas temáticos, análises espaciais e proposto um modelo preditivo de rotas de dispersão e fluxos de transmissão da LV na população humana e canina. Com base nesses resultados, foi possível identificar na RRAS 11 de Presidente Prudente três diferentes tipos de centros de dispersão da LV: *core*, *eixo* e *borda* e a necessidade de a política pública repensar o Programa de Vigilância e Controle da LV e estabelecer estratégias diferenciadas para cada tipo de centro de dispersão, visando a quebra da cadeia de transmissão da doença e/ou o retardo do processo de dispersão em território Paulista.

PALAVRAS CHAVE: Leishmaniose Visceral, Distribuição espacial, Rotas de dispersão, Vigilância em saúde.

ABSTRACT

The central issue developed in this thesis is an integrated approach of elements that involve actions of surveillance and controlling of the visceral leishmaniasis (VL), relating data and analysis of the microbiological world to the set of spatial information on this subject. The main objective was to evaluate the spatial distribution of human cases with reported VL and to relate them to infection in the canine population in the municipalities belonging to the Regional Network of Health Care - RRAS 11 of Presidente Prudente - SP and the pathogen's routes of dispersion. Geoepidemiological knowledge, geoprocessing tools and spatial analysis were used to analyze the agents' routes of dissemination and the disease's infection in the canine population in urban and rural areas. The study was carried out in the 45 municipalities of macroregion of Presidente Prudente - SP, with population base, in the cross - sectional design and *in locu* data collection. To understand the context of the area, were carried out: secondary data collection, for the creation of cartographic bases that have been listed as explanatory of the phenomenon studied (VL), based on the bibliography on the subject; identification of the circulating *Leishmania* species in the canine population, discussing individual risk factors for *Leishmania* seropositivity in dogs in urban and rural areas, as well as evaluating the prevalence of canine VL in rural settlements of the Health Region of Presidente Prudente - SP. Areas for human and canine VL were also stratified, according to the epidemiological risk, based on thematic maps and spatial analyzes, and a predictive model of dispersion routes and VL transmission flows in the human population and Canine was proposed. Based on these results, in RRAS 11 of Presidente Prudente were identified three different types of VL dispersion centers: core, axis and border, and the need for public policy to rethink the VL Surveillance and Control Program and to establish differentiated strategies for each type of dispersion center, aiming at breaking the chain of transmission of the disease and / or delaying the dispersal process in the Sao Paulo state area.

KEY WORDS: Visceral Leishmaniasis, Spatial distribution, Routes of dispersal, Health surveillance.

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADN - *Ácido desoxirribonucleico*
- ATL - Área de Trabalho Local
- BAB - *Blood Agar Base*
- BHI - *Brain Heart Infusion*
- Bio – BioManguinhos
- BOD - *Biochemical Oxygen Demand*
- BVS – Biblioteca Virtual em Saúde
- CCZ - Centro de Controle de Zoonoses
- CDC
- CEPIAL- Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Adolfo Lutz
- CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
- CGR – Comitê Gestor da Rede
- CIR – Comissão Intergestores Regional
- CLR IAL PP V - Centro Laboratório Regional - Instituto Adolfo Lutz - Presidente Prudente V
- CT – Câmera Técnica
- CTC - Comitê Técnico Científico
- CVE- Centro de Vigilância Epidemiológica
- DNA - *Deoxyribonucleic Acid*
- DPP – *Dual Path Platform*
- DTU - *Discrete Typing Unit*
- DRS - Departamento Regional de Saúde
- ELISA - *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*
- ESP - Estado de São Paulo
- ESRI - Environmental Systems Research Institute
- EUA – Estados Unidos da América
- FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
- FIOCRUZ - Fundação Osvaldo Cruz
- GV - Grupo de Vigilância
- GVE - Grupo de Vigilância Epidemiológica
- GVS - Grupo de Vigilância Sanitária

HIV - *Human Immunodeficiency Virus*

IAL - Instituto Adolfo Lutz

IPEC - Instituto de Pesquisa Evandro Chagas

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ITESP - Instituição de Terras do Estado de São Paulo

LABGEO - Laboratório de Biogeografia e Geografia da Saúde

LACEN – Laboratório Central

LC – Leishmaniose Cutânea

LM - Leishmaniose Mucosa

L. infantum - Leishmania infantum

LIT - *Liver Infusion Triptose*

LPG - Lipofosfoglicano

LT – Leishmaniose Tegumentar

LTA – Leishmaniose Tegumentar Americana

Lu. longipalpis - Lutzomyia longipalpis

LV - Leishmaniose Visceral

LVC - Leishmaniose Visceral Canina

LVH - Leishmaniose Visceral Humana

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MS - Ministério da Saúde

MLEE - *Multilocus enzyme electrophoresis*

NCB - Núcleo de Ciências Biomédicas

NNN - *Novy MacNeal e Nicolle*

ONG - Organização Não Governamental

OPAS - Organização Panamericana de Saúde

PB – Pares de base

PCR - *Polymerase Chain Reaction*

PD – Parasitológico Direto

PSF – Programa de Saúde da Família

PVCLV - Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral

RAPD - Random Amplified Polymorphic DNA

RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

RJ - Rio de Janeiro
RRAS - Rede Regional de Atenção à Saúde
SES - Secretarias Estaduais de Saúde
SIG - Sistema de Informações Geográficas
SINAN - Sistema Nacional de Agravos de Notificação
SFB - Soro Fetal Bovino
SMS -Secretaria Municipal de Saúde
SP – São Paulo
SUCEN – Superintendência de Controle Endemias
SUS – Sistema Único de Saúde
TR - Teste Rápido
UNESP – Universidade do Estado de São Paulo
WHO- *World Health Organization*

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Distribuição de leishmaniose visceral no mundo, 2013.....	2
Figura 02 - Modelo esquemático das discussões norteadoras da tese.....	7
Figura 03 - Distribuição de municípios do Estado de São Paulo, segundo a classificação epidemiológica para leishmaniose visceral, 2015.....	9
Figura 04 - Esquema de classificação epidemiológica dos municípios para leishmaniose visceral segundo critérios do Ministério da Saúde.....	10
Figura 05 - Classificação epidemiológica dos municípios do Estado de São Paulo quanto à transmissão de casos humanos de leishmaniose visceral, segundo critérios do Ministério da Saúde, 2013 a 2015.....	11
Figura 06 - Esquema representativo das hipóteses de pesquisa frente a situação problema da região de estudo e as possíveis contribuições da Geografia para saúde coletiva.....	13
Figura 07 - Comissão de Intergestores Regionais (CIRs) da RRAS 11 de Presidente Prudente/SP.....	14
Figura 08 - Ciclo da leishmaniose visceral.....	22
Figura 09 - Taxonomia das espécies de Leishmanias.....	25
Figura 10 - Períodos geológicos que mostram as datas aproximadas do surgimento de grupos de mamíferos e insetos importantes para a compreensão da evolução da <i>Leishmania</i>	34
Figura 11 - Esquema representativo da evolução do gênero <i>Leishmania</i>	35
Figura 12 - a: Mapa indicando possíveis rotas de migração de grandes grupos de <i>Leishmania</i> ; b: Filograma mostrando as relações entre os principais grupos de <i>Leishmania</i>	38
Figura 13 - Dendrograma de eletroforese de isoenzimas (Multilocus Enzyme Electrophoresis – MLEE) de espécies de <i>Leishmania</i> e <i>Endotrypanum</i>	39
Figura 14 - Relação filogenética entre sequências da subunidade catalítica da DNA polimerase e a subunidade maior da RNA polimerase II selecionadas de espécies de <i>Leishmania</i> e <i>Endotrypanum</i>	40
Figura 15 - Distribuição dos municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, segundo critério de seleção “área prioritária” para realização de diagnóstico molecular para pesquisa de espécies de Leishmanias.....	46
Figura 16- Gel 1,5% – primers <i>LITSR</i> e <i>5.8S</i> para gênero <i>Leishmania</i>	50
Figura 17- Gel 1,5% – primers <i>LcS1</i> e <i>LcS3</i> para espécie <i>Leishmania infantum</i>	50

Figura 18: Fotos da estufa BOD (<i>Biochemical Oxygen Demand</i>) e tubos com meios de cultura BAB-BHI semeados com punção de linfonodo de cão.....	53
Figura 19 - Distribuição espacial representativa da situação de cada município quanto à coleta de material biológico, para isolamento de <i>Leishmania</i> em meios de cultura BAB-BHI, os resultados das culturas, da identificação de gênero <i>Leishmania</i> e da espécie <i>Leishmania infantum</i> . Período de novembro de 2014 a março de 2017.....	59
Figura 20: Localização da área de estudo: Dracena e Tupi Paulista-SP.....	64
Figura 21 - Distribuição espacial representativa dos casos de leishmaniose visceral canino e humano na área urbana de Dracena-SP, segundo área e setor, entre janeiro de 2006 e dezembro de 2013.....	77
Figura 22 - Distribuição espacial representativa do quantitativo de cães com sorologia confirmada para leishmaniose visceral, segundo a quadra da área urbana de Dracena-SP. Período entre 2010 e 2015.....	78
Figura 23- Estimador de <i>Kernel</i> para cães confirmados sorologicamente com leishmaniose visceral canina no município de Dracena-SP. Período entre 2010 e 2015.....	79
Figura 24 – Distribuição espacial representativa do quantitativo de cães com sorologia confirmada para leishmaniose visceral segundo a quadra na área urbana de Tupi Paulista-SP. Período entre 2010 e 2015.....	80
Figura 25 - Estimador de <i>kernel</i> para o número total de cães e de galinhas existente na área urbana do município de Dracena-SP.....	81
Figura 26 - Fotos do Centro de Controle de Zoonoses de Dracena e seu entorno.....	81
Figura 27 – Fotos da área urbana de Dracena, ilustrando o entorno das áreas de maior concentração de ocorrência dos casos humanos de LV.....	82
Figura 28 - Área de estudo.....	91
Figura 29 - TR DPP® BioManguinhos.....	95
Figura 30 - Distribuição dos resultados das amostras coletadas nas áreas urbana e rural do município de Teodoro Sampaio-SP-Brasil, no período entre julho/2013 a novembro/2014.....	96
Figura 31 - Distribuição dos resultados das amostras coletadas nas áreas: urbana e rural do município de Tupi Paulista-SP-Brasil, no período entre janeiro/2006 e dezembro/2015.....	97
Figura 32: Mapa de distribuição dos 48 lotes do Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida - Teodoro Sampaio-SP-Brasil e identificação dos que apresentaram cães com LV.....	99
Figura 33 - Distribuição dos resultados de diferentes amostras coletadas na área rural Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, município de Teodoro Sampaio-SP-Brasil, no período entre Novembro/2014 e janeiro/2015.....	100

Figura 34 - Mapa de distribuição dos 48 lotes do Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida - Teodoro Sampaio-SP-Brasil e identificação dos que apresentaram cães com LV.....	101
Figura 35- Localização do bairro rural Córrego Seco na estrada vicinal entre a área urbana de Teodoro Sampaio/SP/Brasil e o PEMB e distribuição espacial dos cães analisados, segundo a propriedade.....	104
Figura 36 - Distribuição espacial dos cães analisados no primeiro e segundo inquérito sorológico para LVC realizados em 2015 e 2016, respectivamente, no Assentamento Santa Rita, área rural do município de Tupi Paulista/SP.....	106
Figura 37 - Mapa conceitual de Políticas Públicas.....	111
Figura 38 - Rotas de dispersão da leishmaniose visceral na RRAS 11 de Presidente Prudente-SP, segundo o ponto do centro médio do município de acordo com o ano de encontro do vetor (A), ano da notificação do primeiro caso canino (B) e humano (C).....	126
Figura 39 – Rotas de dispersão da leishmaniose visceral na RRAS 11 de Presidente Prudente-SP, segundo o ponto do centro médio do município de acordo com o ano de encontro do vetor, ano da notificação do primeiro caso canino e humano.....	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Estratificação dos municípios com transmissão de leishmaniose visceral humana, segundo critério estabelecido pelo MS, conforme o número médio de casos do triênio de 2014 a 2016 e a classificação epidemiológica por Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE)	15
Tabela 02- Distribuição dos principais grupos de <i>Leishmania</i>	37
Tabela 03 - Distribuição do quantitativo segundo o tipo de amostra biológica coletada de cães, para isolamento de <i>Leishmania</i> em meio de cultura bifásico BAB-BHI, segundo os municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente-SP.....	54
Tabela 04 - Distribuição dos resultados das culturas em meio de cultura bifásico BAB-BHI e das PCR para gênero e espécie de <i>Leishmania</i> dos materiais biológicos coletados de cães oriundos de municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente-SP	55
Tabela 05 - Distribuição anual do quantitativo dos casos e óbitos de LVH do município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP. Período entre 2006 e 2015.....	68
Tabela 06 - Classificação do município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP, quanto à transmissão de LVH, segundo critérios do MS.....	69
Tabela 07 - Distribuição anual do quantitativo dos casos de LVC do município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP, segundo o número de cães examinados, os casos confirmados, as eutanásias e as recusas. Período entre 2006 e 2015.....	70
Tabela 08 - Distribuição do quantitativo de cães examinados no município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP, segundo a área urbana e rural. Período entre 2006 e 2015.....	70
Tabela 09 - Distribuição das visitas técnicas, conforme o município da RRAS 11 de Presidente Prudente-SP e a data, realizadas em atendimento ao programa de controle de qualidade do diagnóstico da LV na rede de Leishmanioses do IAL, na área de abrangência do CLR IAL PP V. Período entre janeiro/2013 e abril/2017.....	118
Tabela 10 - Classificação epidemiológica para leishmaniose visceral dos 45 municípios da DRS/RRAS 11 de Presidente Prudente-SP, conforme o ano de encontro do vetor, ano da notificação do primeiro caso canino e humano.....	125

LISTA DE QUADRO

Quadro 01- Resultados de PCR realizados no NCB-CLR-IAL Bauru-SP.....60

Quadro 02- Resultados de PCR realizados no NCB-CLR-IAL Bauru-SP (continuação).....61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 - Distribuição da prevalência (%) de casos caninos e humanos de leishmaniose visceral em Dracena-SP. Período entre 2006 a 2015.....71

Gráfico 02 - Distribuição da prevalência (%) de casos caninos e humanos de leishmaniose visceral em Tupi Paulista-SP. Período entre 2006 a 2015.....71

INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, a Biogeografia é uma área de estudo do padrão de distribuição dos seres vivos com base em sua dinâmica na escala espacial e temporal no planeta Terra, bem como das variações nesse padrão, os quais ocorreram no passado e ainda ocorrem no presente. Assim, a Biogeografia sempre se destacou pelo seu caráter de síntese, uma vez que a partir de dados analíticos estudados por diferentes especialistas, tornou-se possível inferir dentre o conjunto de casos particulares que oferecem os seres vivos, certas leis fundamentais da distribuição dos organismos sobre a superfície do globo, pondo em evidência as causas que regem essa distribuição (LACOSTE; SALANON, 1973). Na história do pensamento biogeográfico, percebem-se duas principais linhas de investigação, não exclusivas, porém diferentes: uma taxonômica e outra ecológica. A primeira caracterizou-se pela Fitogeografia, complementada pela Zoogeografia; a outra surgiu da verificação das relações e adaptações dos organismos no seu meio físico (SANTOS, 1985).

Em anos mais recentes, impulsionada pelos avanços das pesquisas de mapeamento genético, a Biogeografia tem ampliado seu campo de estudo, incorporando em suas análises a escala microbiológica, dando origem à chamada “Biogeografia microbiológica” (MARTINY et al., 2006; FONTANETO, 2011).

Tendo por referência o debate acerca do potencial do mundo microbiológico para o entendimento do processo de distribuição da vida na Terra, a presente tese tem como objetivo compreender a relação entre a distribuição espacial dos casos humanos com leishmaniose visceral (LV) e da infecção na população canina nos municípios pertencentes à Rede Regional de Atenção à Saúde - RRAS 11 de Presidente Prudente – SP, considerando as espécies de *Leishmania* circulantes na população canina e possíveis rotas de dispersão desse agente patógeno.

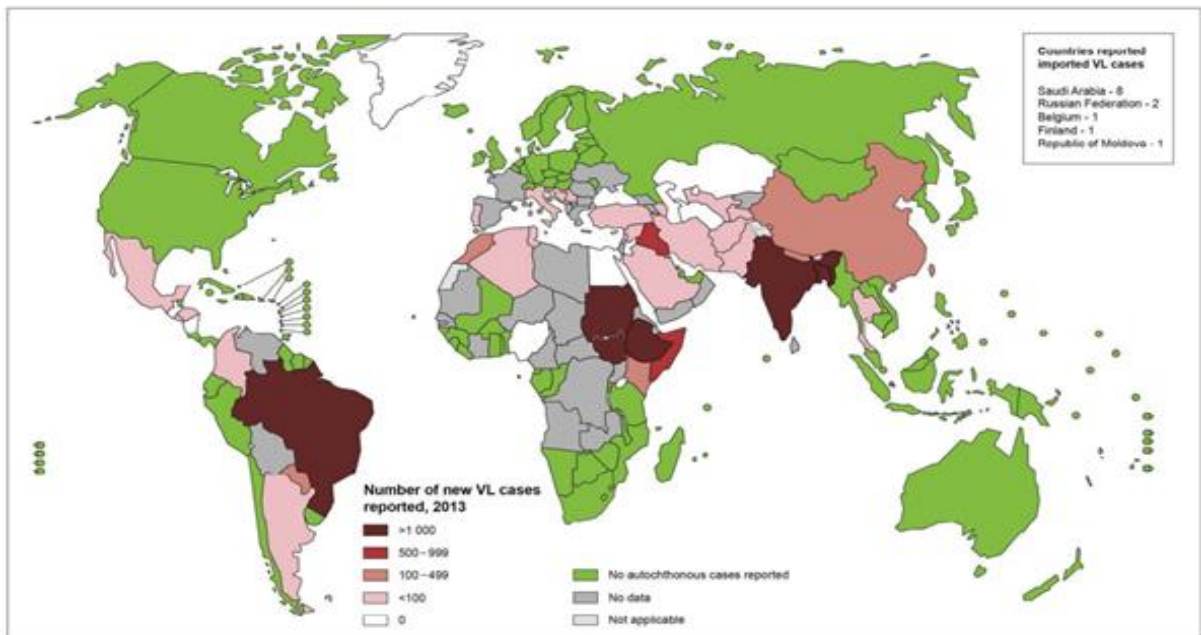
As leishmanioses são doenças parasitárias do sistema fagocítico mononuclear, causadas por protozoários do gênero *Leishmania* Ross, 1903, transmitidas pela picada de insetos flebotomíneos contaminados. Apresentam diversas manifestações clínicas, cujo espectro pode variar desde as manifestações clínicas discretas até as mais graves, possuindo diversidade epidemiológica, configurando-se como um crescente agravo em saúde pública no Brasil e em grande parte dos continentes americano, asiático, europeu e africano

(BRYCESON et al., 1996; CDC, 2013; 2016; WHO, 2014).

A LV ou calazar é uma doença de grande expansão geográfica no mundo e ocorre em regiões tropicais e subtropicais (Figura 01) (BRITO; OLIVEIRA, 2009), relatada em 98 países e três territórios, com aproximadamente 12 milhões de casos humanos (WHO, 2014). Estima-se que 350 milhões de pessoas estejam expostas à infecção (COSTA, 2005; WHO, 2010; 2014). O Brasil inclui-se entre os seis países prioritários que, em conjunto com Etiópia, Somália, Sudão, Índia, Nepal e Bangladesh correspondem a 90% dos casos da incidência mundial de LV (ALVAR et al., 2012; WHO, 2014).

Figura 01–Distribuição de leishmaniose visceral no mundo, 2013

Status of endemicity of visceral leishmaniasis, worldwide, 2013



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2015. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



Fonte: World Health Organization, 2013.

http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leishmaniasis_VL_2013.png

A LV é considerada uma doença tropical negligenciada e causada por parasito intracelular obrigatório, *Leishmania infantum* (sinonímia - *Leishmania chagasi*) (CDC, 2013). Está entre as doenças prioritárias do mundo, devido à sua incidência e alta mortalidade em indivíduos não tratados, em crianças desnutridas e em pessoas imunocomprometidas coinfectadas pelo *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) (SINGH; PANDEY; SUNDAR, 2006; BRASIL, 2009).

No Brasil, até meados de 1950, haviam sido relatados 379 casos de LV, pois se acreditava que a transmissão da doença era exclusivamente rural ou silvestre (MAIA-ELKHOURY et al., 2008). Até 1970, tratava-se de uma doença tipicamente rural brasileira, a partir de então, a população brasileira vivenciou um processo de transição, ocorrendo principalmente, em áreas urbanas e periurbanas (MELO et al., 2008).

O panorama da LV pode ser explicado pelas mudanças ambientais, resultantes de ações antrópicas que vêm modificando o perfil epidemiológico, tanto nas áreas onde a transmissão é florestal, como em focos enzoóticos naturais e em áreas onde a transmissão é periurbana, envolvendo reservatórios domésticos (DEANE; GRIMALDI, 1985; SHAW, 2002).

A questão central é desenvolver uma abordagem integrada de todos esses elementos, relacionando dados e análise do mundo microbiológico ao conjunto de informações já existentes sobre o tema. Do ponto de vista da Geografia da Saúde, estudos como o proposto se enquadram na abordagem definida por Curtis e Tacket (1996), que consiste na linha da padronização espacial da morbidade e da mortalidade. Essa vertente busca uma compreensão holística, por meio da cartografia da associação da doença com o contexto no qual a população se insere como contribuição ao modelo biomédico, entendendo o processo saúde-doença de forma mais ampla, sem a exclusão das experiências do processo, levando em consideração o modelo de determinação social da saúde, respondendo a questões como o “onde”, e o “por quê”, as quais a Geografia da Saúde tem como premissa responder (NOSSA, 2008; LIMA, 2016).

Ao pensar tais questões, a pesquisa nos remete a uma outra indagação: - *Em que medida a categoria espaço é fundamental para se compreender o processo saúde-doença?* Na medida em que existe todo um conjunto de particularidades que permite a compreensão da doença, agir somente no tratamento dos doentes como medida de controle, ou ignorar a espacialidade das variáveis do ciclo de transmissão, é reduzir o espaço a apenas um receptáculo de interações que promovem a doença (GUIMARÃES, 2015). O espaço é um elemento ativo que configura a experiência de saúde, conforme Kearns e Gesler (1998). Assim, a pesquisa permite a problematização do processo saúde-doença e a contribuição da Geografia para o estudo da saúde coletiva.

Em casos de zoonoses como a LV, mapas são tradicionalmente utilizados em

avaliações epidemiológicas para respaldar, principalmente, as atividades de vigilância e controle (MEADE; FLORIN; GESLER, 1988). A Geografia da Saúde acumula subsídios interessantes que permitem integrar não apenas as informações em mapas, como também as tecnologias que ajudam a construí-los, por exemplo, o geoprocessamento e o sensoriamento remoto (KOCH, 2005).

As metodologias que envolvem essas tecnologias apontam as potencialidades na identificação de focos de vetores para o estabelecimento de correlações entre doenças e fatores ambientais. Muitas doenças que se estabelecem numa determinada área geográfica apontam para uma forte dependência, tanto das características biológicas dos elementos envolvidos no ciclo de transmissão, as ecologias vetoriais e dos hospedeiros, das variáveis ambientais intercorrentes, bem como da maneira como se processa a ocupação do espaço pelo homem. Assim, têm sido amplas as possibilidades da modelagem espacial para correlacionar variáveis ambientais com presença de eventos (GATRELL, 2002). Para isto, a presente tese foi desenvolvida no Laboratório de Biogeografia e Geografia da Saúde (LABGEO) da Universidade do Estado de São Paulo (UNESP) de Presidente Prudente, possibilitando a análise dos dados e do tratamento cartográfico da informação.

Segundo Camargo et al. (2007), o controle de qualidade das informações a serem mapeadas representa uma etapa importante na construção de bases cartográficas. A partir delas avalia-se, principalmente, a qualidade geométrica dos dados cartográficos produzidos, assegurando-se uma base confiável de dados para diversas aplicações. A etapa da aplicação da análise espacial foi constituída numa plataforma de Sistema de Informações Geográficas (SIG). Para esse desenvolvimento, utilizamos os SIG's ArcGIS 10.3 (ESRI, 2009) e TerraView 4.2, conforme as necessidades do estudo. Os dados coletados nas etapas anteriores foram transpostos para tabelas de informação gráfica para geração de um SIG. Dados georreferenciados, uma vez sistematizados, permitiram interfaces amigáveis com outros bancos de dados, pressupondo o cruzamento de variáveis, para a elaboração de produtos cartográficos, de modo a diagnosticar áreas mais afetadas pela doença, definir locais de risco e traçar características a respeito da LV. Assim, a pesquisa pôde gerar diversas formas de representação, como mapas esquemáticos e cartas de síntese, que proporcionaram uma visão de conjunto dos aspectos qualiquantitativos do tema de estudo.

Os SIG's são uma importante ferramenta computacional utilizada na análise espacial. Auxiliam desde o armazenamento e tratamento dos dados geográficos até sua recuperação.

Esses sistemas são constituídos por uma gama de programas e processos de análise, cuja característica principal é focalizar o relacionamento de determinado fenômeno da realidade com sua localização espacial (TEIXEIRA; CHRISTOFOLETTI, 1992). Possuem uma ampla gama de aplicações dentro de diversas áreas, dentre elas podendo-se citar: - Ferramenta para produção de mapas; - Suporte para análise espacial de fenômenos; - Banco de dados geográficos, com funções de armazenamento e recuperação de informação espacial.

Os SIG's ArcGis 10.3 e TerraView 4.2 foram utilizados dentro das necessidades do estudo para auxiliar no processo da análise espacial. A plataforma de mapeamento e análises ArcGIS é um software comercializado pela Esri e conta com grandes funcionalidades para geoprocessamento, visualização, gerenciamento, elaboração e análises de dados geográficos. TerraView é um SIG de acesso livre, encontrado no site: <www.dpi.inpe.br/terraview/index.php>, e admite manipulação, armazenamento, gerenciamento e recuperação de dados.

Os produtos desenvolvidos nesse processo de trabalho – cartas analíticas e de síntese das situações de risco – foram objeto de discussão em diferentes fóruns e submetidos à avaliação crítica por informantes-chave, detentores do conhecimento especialista, no que tange à transmissão e dispersão da LV. Isso pode constituir um processo de gerenciamento de um sistema de Vigilância, com base nas ferramentas de geoprocessamento e análise espacial, que auxilie o trabalho das entidades envolvidas na temática. Mas, além disso, constitui também um processo de mapeamento sistemático para o apoio a decisão. Assim, por intermédio dessa metodologia de aproximação sucessiva da realidade, podemos inferir situações de risco para a saúde em diferentes escalas.

Com as informações do banco de dados obtidas, foram produzidos mapas a partir de uma base cartográfica, com informações sintéticas, por meio de operações de álgebra, modelagem e análise exploratória, com a estatística espacial e geoestatística. Essas técnicas permitem a definição de tipologias no espaço que estratificam a área, segundo o risco epidemiológico e avaliação das condições ambientais, sociais e demográficas, por meio de sobreposição de camadas de informações espaciais. Com base nessa análise espacial, foi possível elaborar modelos preditivos de rotas de dispersão e fluxos de transmissão – ainda que não estejam bem elucidadas pelo programa estadual de vigilância e controle da doença em suas várias esferas, articulando-se em diferentes níveis de escalas de análise.

Neste caso, o conceito de escala vai além da definição da cartografia que a considera como uma fração que indica a relação entre as medidas de proporção da representação gráfica do território, mas sim [como?] a possibilidade de reflexão sobre os diferentes modos de concepção do real (CASTRO, 2005). É preciso ultrapassar os limites conceituais da analogia entre as escalas cartográfica e geográfica para desenvolver um raciocínio analógico a fim de abordar a escala como um problema metodológico essencial que permita a compreensão do sentido e da visibilidade da complexidade dos fenômenos numa perspectiva espacial (BOUDON, 1991; CASTRO, 2005). A coerência entre o percebido e o concebido exige um nível de abstração para a mensuração do fenômeno pela aproximação do real (RACINE; RAFFESTIN; RUFFY, 1983).

Segundo CASTRO (2005), a discussão da escala como estratégia de apreensão da realidade define o campo empírico da pesquisa, isto é, os fenômenos dão sentido ao recorte espacial objetivado. Nessa dimensão, a escala tem dificuldade de representação gráfica dos níveis de abstração do real, embora seja uma medida que confere visibilidade ao fenômeno (LACOSTE, 1976).

A visibilidade do real é um problema crucial, pois a natureza da distribuição dos fenômenos se altera conforme as escalas de observação, tanto cartográfica como geográfica, trazendo como consequência a tendência ao crescimento da homogeneidade na razão inversa da escala (RACINE; RAFFESTIN; RUFFY, 1983), isto é, tendência à homogeneidade dos fenômenos observados na pequena escala e a heterogeneidade dos fenômenos na grande escala.

Uma noção fundamental do conceito de escala é que ela seja entendida como mediadora entre intenção e ação, o que aponta o componente de poder no domínio da escala, nas decisões do Estado sobre o território (RACINE; RAFFESTIN; RUFFY, 1983; CASTRO, 2005). Além dos conceitos acerca da escala aqui apresentados, devem ser considerados os papéis desempenhados pelos diferentes agentes de produção do espaço e a problemática do poder, bem como as consequências do processo decisório que ocorrem em diferentes escalas (ISNARD; RACINE; REYMOND, 1981). Na qualidade de uma resolução geográfica de processos sociais contraditórios de competição e cooperação, a escala geográfica regional é produzida pelas relações sociais dos atores políticos em jogo (SMITH, 1992, 2000). Isto é, a região não é um dado *a priori*, porém está em disputa, assim como suas fronteiras demarcam

a disputa social pelo lugar em torno do qual o poder é exercido e contestado (GUIMARÃES, 2005).

Com base no exposto, apresentamos a Figura 02 que representa o modelo esquemático das discussões norteadoras apresentadas na presente tese, embasada nas articulações escalares: local, regional e nacional que envolvem o ciclo evolutivo da *Leishmania* no território, produzindo o fenômeno/processo saúde-doença, bem como pelas políticas públicas que estruturam as ações de vigilância e controle da LV que ocorrem em diferentes níveis de gestão. O presente modelo é retroalimentado pela disputa de poder, mediada pelas políticas públicas entre a União, Estado e Município e que permeia e fragmenta o processo entre a intenção e a ação e no território se traduz no modelo de difusão da LV que pode ocorrer por irradiação, contiguidade e saltos, percorrendo através dos fluxos das rodovias, bens e prestação de serviços, perfilando entre a rede urbana e espalhando pelo meio rural. Em cada início de capítulo, se encontra em destaque no modelo esquemático, aquilo que será debatido nas discussões como forma de nortear o entendimento.

Figura 02 - Modelo esquemático das discussões norteadoras da tese



Elaborado por D' ANDREA, L.A.Z. (2017).

Em vista do exposto, há desafios específicos para o estudo da LV a partir da contribuição da Geografia da Saúde. Pouco se conhece sobre a diversidade das *Leishmanias* circulantes no Estado de São Paulo. Considerando-se o arsenal de técnicas e metodologias hoje disponíveis para a identificação específica e mesmo de subpopulações dos protozoários do gênero *Leishmania*, torna-se imprescindível conhecer a distribuição espacial e as rotas de dispersão de *Leishmanias* circulantes e suas interações escalares, com base na infecção em humanos e animais, seja para o esclarecimento de áreas silenciosas, ou de importância

epidemiológica, melhoria do diagnóstico laboratorial; seja na prospecção de fatores ambientais associados à transmissão.

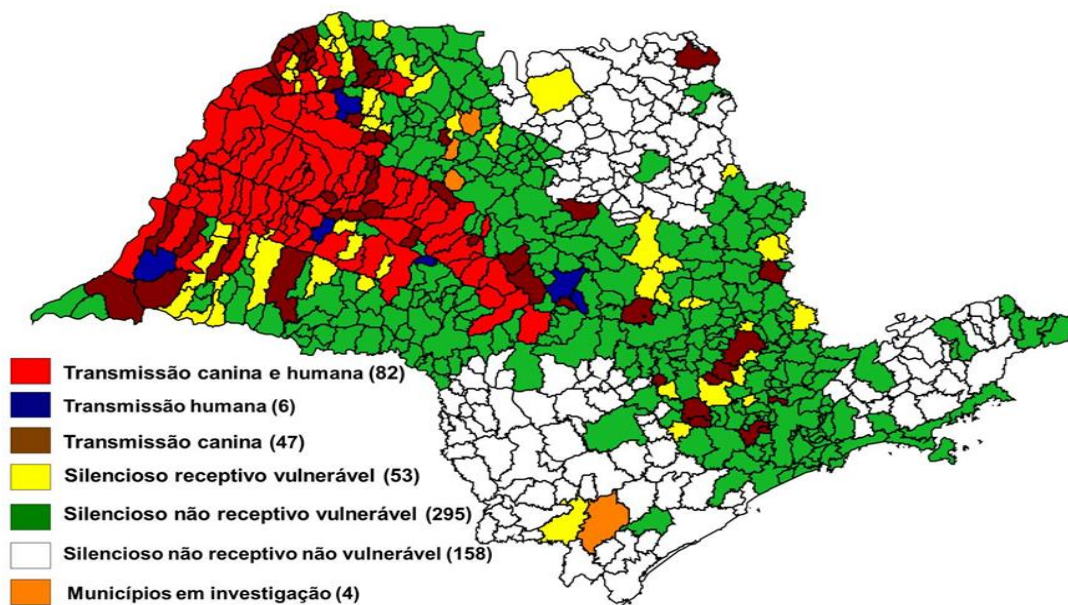
O município de Teodoro Sampaio, pertencente à RRAS 11 de Presidente Prudente, representa um exemplo de “área prioritária” com problemas de saúde pública, uma vez que apresenta um panorama diferenciado com sobreposição de casos de leishmaniose tegumentar americana (LTA) e LV. Somadas às dificuldades de capacidade operacional instaladas para a realização das ações de vigilância e controle na área urbana e a crescente notificação da presença de cães sintomáticos pelos agentes de serviços de saúde nos assentamentos rurais de reforma agrária (áreas rurais), torna-se necessário conhecer a prevalência de leishmaniose visceral canina (LVC) no meio urbano e rural, bem como investigar e identificar as espécies de *Leishmanias* circulantes.

Segundo dados disponibilizados pelo Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE), no período de 1999 até dezembro de 2016, foram notificados 6.708 casos humanos de LV no Estado de São Paulo (ESP), dos quais foram confirmados 2.710 casos humanos autóctones, distribuídos em 92 municípios e, desses, 233 evoluíram para óbito, resultando em uma letalidade de 8,6% (233/2.710).

A LV caracteriza-se como a principal endemia parasitária do Estado de São Paulo e de diversas outras regiões brasileiras (D'ANDREA et al., 2014). Desde 1998, são reconhecidos focos naturais de transmissão em Araçatuba e região. Atualmente, os Departamentos Regionais de Saúde (DRSs) de Araçatuba, Bauru, Marília, Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Campinas, Sorocaba e Região Metropolitana da Grande São Paulo identificam a autoctonia da LV com casos humanos e/ou caninos em sua área de abrangência (Figura 03).

Dos 645 municípios do ESP, registros do ano de 2015 apontam a presença do vetor *L. longipalpis* em 182 municípios, dos quais 135 apresentam transmissão canina e/ou humana de LV e 53 não registram casos caninos e/ou humanos da doença, sendo classificados como Silenciosos Receptivos Vulneráveis. Dos demais 463 municípios em que o vetor não foi detectado, 295 estão classificados como Silenciosos Não Receptivos Vulneráveis, 158 como Silenciosos Não Receptivos Não Vulneráveis e 06 municípios com registro de casos autóctones, porém sem a confirmação do encontro do vetor (Figura 03).

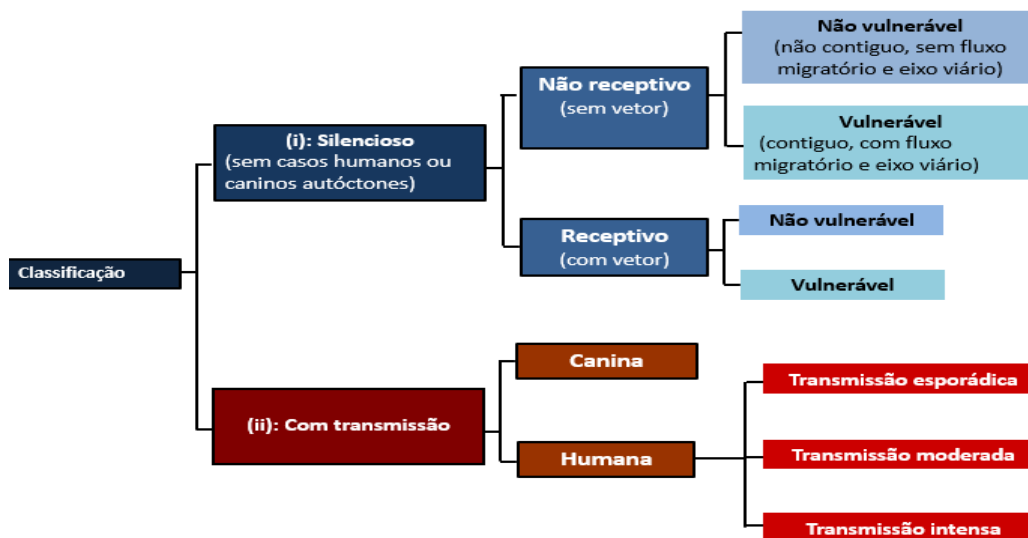
Figura 03 - Distribuição de municípios do Estado de São Paulo, segundo a classificação epidemiológica para leishmaniose visceral, 2015



Fonte: CVE, IAL e Sucen (2015).

A classificação epidemiológica dos municípios (Figura 04), encontra-se dividida em dois grandes grupos: (i) silenciosos - ou seja, sem confirmação de casos humanos e/ou caninos autóctones de LV; e (ii) com transmissão - ou seja, com confirmação de casos humanos e/ou caninos autóctones de LV. Para o grupo dos municípios silenciosos são considerados dois fatores de risco: (i) receptividade - relacionada com a presença ou não do vetor e (ii) vulnerabilidade - relacionada com a possibilidade de circulação de fontes de infecção em função do grau de vulnerabilidade, devido à proximidade e/ou à importância de fluxo de transporte e ou/migratório com outros municípios com transmissão de LVC ou humana (SÃO PAULO, 2006; BRASIL, 2014, 2016).

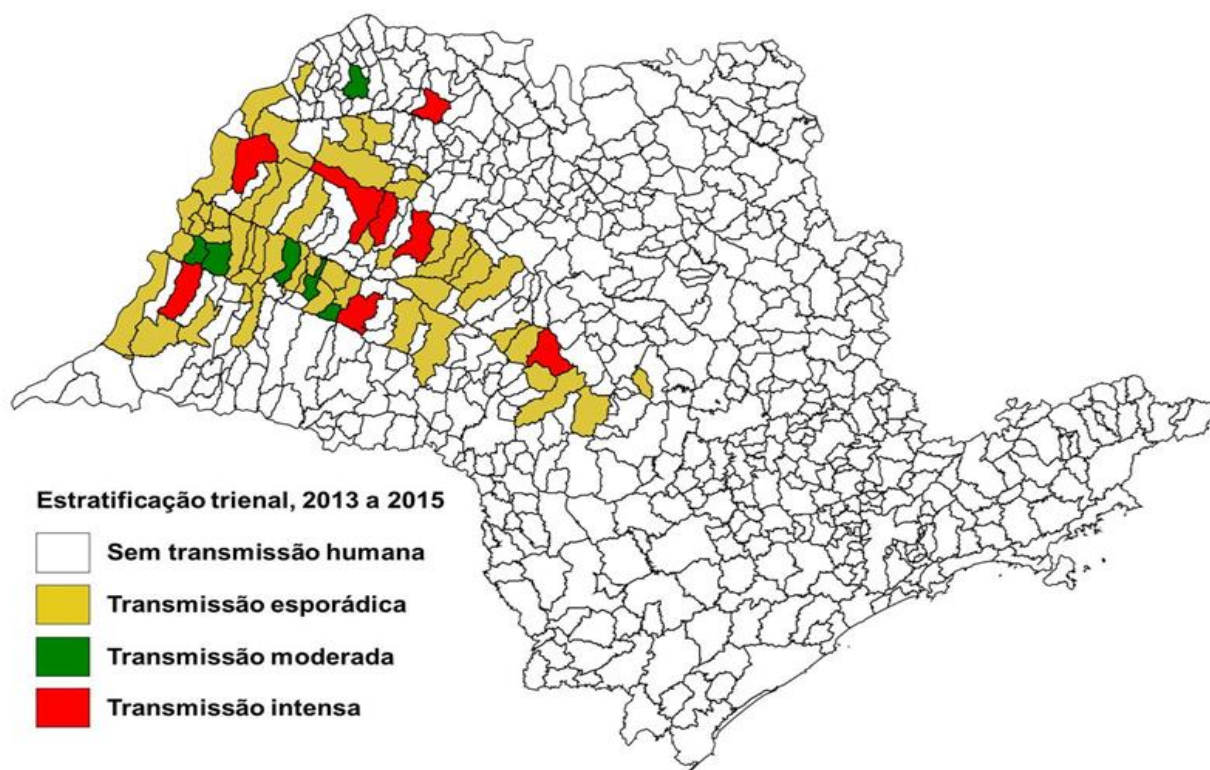
Figura 04 - Esquema de classificação epidemiológica dos municípios para leishmaniose visceral segundo critérios do Ministério da Saúde



Fonte: São Paulo (2006); Brasil (2014).

O critério estabelecido pelo Ministério da Saúde (MS) para classificação dos municípios brasileiros com transmissão de LV humana considera em categorias, conforme o número médio de casos num período consecutivo de três anos: “sem transmissão” (número médio de casos = 0), “transmissão esporádica” (número médio > 0 e $< 2,4$), “transmissão moderada” (número médio $\geq 2,4$ e $< 4,4$) e “transmissão intensa” (número médio $\geq 4,4$) (BRASIL, 2014, 2016) (Figura 05).

Figura 05 - Classificação epidemiológica dos municípios do Estado de São Paulo quanto à transmissão de casos humanos de leishmaniose visceral, segundo critérios do Ministério da Saúde, 2013 a 2015



Fonte: Sinan-Net

No ESP, de 1999 a 2015, foram notificados entre 85 e 1.103 casos de LV humana a cada ano (CVE, 2015). Isso, sem considerar os milhares de cães com diagnóstico positivo para infecção natural por *Leishmania* spp., identificados nos inquéritos sorológicos realizados como parte das ações de controle da LV. A concomitância de circulação de diferentes espécies de *Leishmanias* numa mesma localidade, em ciclos enzoóticos silvestres ou em ambientes modificados, rurais, periurbanos e urbanos já foram descritas em diferentes regiões paulistas (TOLEZANO, 2000; TOLEZANO et al., 2005, 2006, 2007, TANIGUCHI et al., 2009).

As ações de vigilância e controle da LV desenvolvidas nos municípios do Estado de São Paulo (ESP) são estruturadas a partir de diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (PVCLV) (SÃO PAULO, 2006). Com o objetivo de reduzir a mortalidade e letalidade por LV, foi elaborado o PVCLV pela Secretaria da Saúde de São Paulo, que prioriza as ações sobre três pilares identificados como estratégicos, à semelhança do programa do MS: diagnosticar e tratar precocemente os casos humanos, monitorar e

reduzir a densidade populacional de flebotomíneos e controlar os reservatórios domésticos de *L. infantum* representados por cães soropositivos (SÃO PAULO, 2006; BRASIL, 2014).

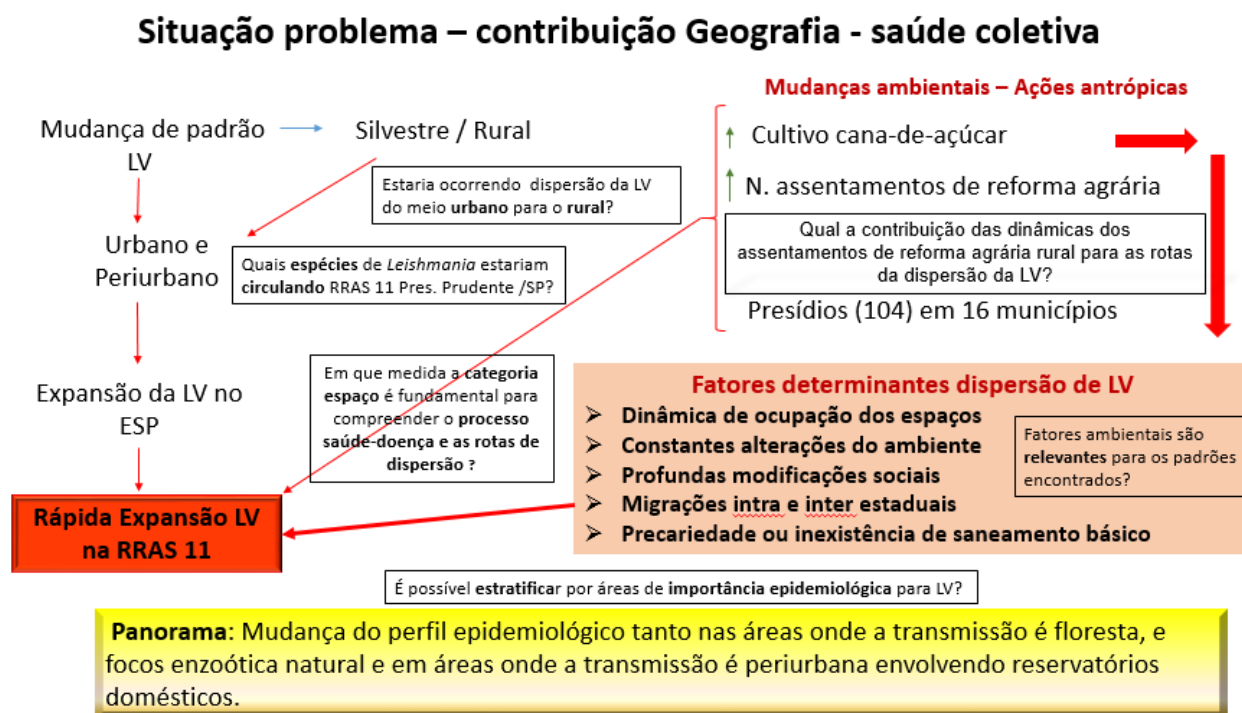
A luta antivetorial é realizada por meio de atividades de vigilância epidemiológica como: levantamento entomológico; pesquisa entomológica de foco e em unidades fixas; notificação pela população de insetos incômodos; atividades de prevenção e controle, como manejo ambiental, controle químico e atividades educativas. Outro ponto fundamental do PVCLV é o controle do reservatório canino por meio de inquérito sorológico amostral e censitário em municípios em transmissão (SÃO PAULO, 2006).

Na literatura corrente, há lacunas nos estudos de difusão das leishmanioses e elas têm sido objeto de estudos recentes no Pontal do Paranapanema (FONSECA, 2013; PRESTES-CARNEIRO et al., 2015, D'ANDREA et al., 2015).

Assim, a pesquisa permite a problematização do processo saúde-doença e a contribuição da Geografia para o estudo da saúde coletiva (Figura 06). Dessa forma, o estudo da LV na Rede Regional de Atenção à Saúde RRAS 11 de Presidente Prudente suscita as seguintes questões:

- É possível estratificar a RRAS 11 por áreas de importância epidemiológica para LV?
- Fatores ambientais são relevantes para os padrões encontrados?
- Estaria ocorrendo na RRAS 11 de Presidente Prudente a dispersão da LV do meio urbano para o rural?
- Quais espécies de *Leishmania* estariam circulando na RRAS 11 de Presidente Prudente /SP?
- Qual a contribuição das dinâmicas dos assentamentos de reforma agrária rural para as rotas da dispersão da LV?

Figura 06 - Esquema representativo da hipótese de pesquisa frente a situação problema da região de estudo e a possível contribuição da Geografia para a saúde coletiva



Fonte: Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Objetivos

Geral

- Avaliar a distribuição espacial dos casos humanos com leishmaniose visceral (LV) notificados e relacioná-la com a infecção na população canina nos municípios pertencentes à Rede Regional de Atenção à Saúde - RRAS 11 de Presidente Prudente – SP e as rotas de dispersão do agente patógeno.

Específicos

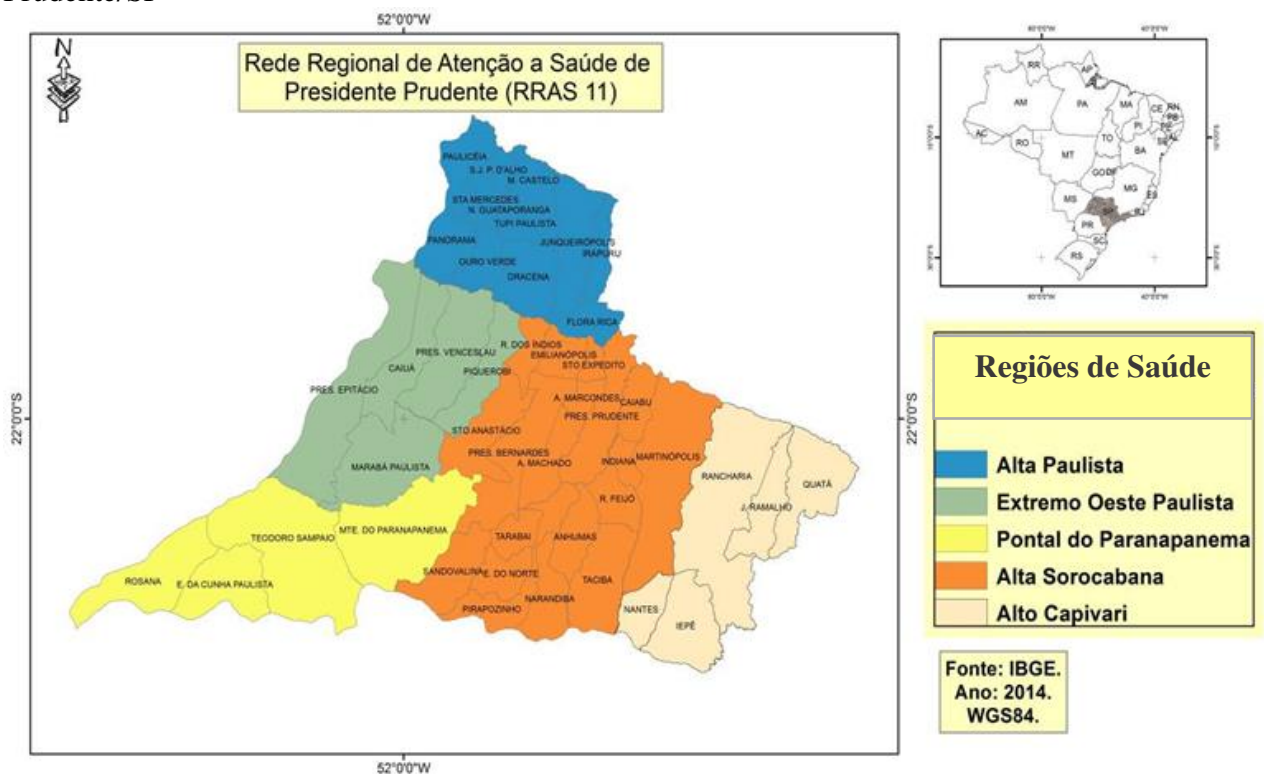
- Isolar a *Leishmania* spp. em meio de cultura (Capítulo II);
- Identificar as espécies de *Leishmania* circulantes na população canina na RRAS 11 de Presidente Prudente (Capítulo II);
- Estratificar áreas da RRAS 11 de Presidente Prudente - SP para LV humana e canina, segundo o risco epidemiológico, com base em mapas temáticos e análises espaciais (Capítulo III);

- Avaliar a prevalência de LV canina em assentamentos rurais e caracterizar fatores de risco para soropositividade de Leishmania em cães em áreas urbanas e rurais da RRAS 11 de Presidente Prudente – SP (Capítulo IV);
- Propor um modelo preditivo de rotas de dispersão e fluxos de transmissão da LV na população humana e canina da RRAS 11 de Presidente Prudente – SP (Capítulo V);

Área de estudo

A RRAS 11 de Presidente Prudente-SP compreende 45 municípios atendidos pelo Centro de Laboratório Regional - Instituto Adolfo Lutz de Presidente Prudente V (CLR-IAL PP V). Ela é composta por dois Grupos de Vigilância (GVs): o GV 21 de Presidente Prudente em que se subdividem em duas Regiões de Saúde das Comissões Intergestores Regional (CIRs): Alta Sorocabana e Alto Capivari e o GV 22 de Presidente Venceslau em que se subdividem outras três CIRs: Pontal do Paranapanema, Extremo Oeste e Alta Paulista (SÃO PAULO, 2012) (Figura 07).

Figura 07 – Comissão de Intergestores Regionais (CIRs) da RRAS 11 de Presidente Prudente/SP



Fonte: SES/SP (2016). Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

A estratificação dos municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente-SP com transmissão de leishmaniose visceral humana (LVH) entre 2014 e 2016, segundo critério estabelecido pelo MS de acordo com a média do número de casos no triênio e a classificação epidemiológica por Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE) encontra-se na Tabela 01. A exposição na tabela inicia-se com municípios da GVE 22 de Presidente Venceslau em função de serem compostas por municípios mais antigos de transmissão de LV na região estudada, seguida pela GVE 21 de Presidente Prudente, por serem de transmissão mais recente.

A abrangência geográfica de execução desse estudo incluiu todos os 45 municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente – SP, visto que o CLR – IAL PP V pertence à Rede Estadual de Laboratórios de Saúde Pública, que é referência regional para LV e tem atuação em toda RRAS 11.

Tabela 01 - Estratificação dos municípios com transmissão de leishmaniose visceral humana, segundo critério estabelecido pelo MS, conforme o número médio de casos do triênio de 2014 a 2016 e a classificação epidemiológica por Grupo de Vigilância Epidemiológica (GVE)

GVE	Município	Estratificação casos (Média 2014 a 2016)	Classificação Epidemiológica
22	Dracena	Transmissão intensa (5,7)	Transmissão canina e humana
22	Flora Rica	Transmissão esporádica (0,7)	Transmissão canina e humana
22	Irapuru	Transmissão esporádica (1,0)	Transmissão canina e humana
22	Junqueirópolis	Transmissão esporádica (2,2)	Transmissão canina e humana
22	Marabá Paulista	Transmissão esporádica (0,7)	Transmissão humana e canina*
22	Monte Castelo		Transmissão canina e humana
22	N. Guataporanga	Transmissão esporádica (1,0)	Transmissão canina e humana
22	Ouro Verde	Transmissão esporádica (1,7)	Transmissão canina e humana
22	Panorama	Transmissão esporádica (2,3)	Transmissão canina e humana
22	Pauliceia		Transmissão canina e humana
22	Pres. Epitácio	Transmissão moderada (4,0)	Transmissão canina e humana

22	Pres. Venceslau	Transmissão moderada (3,7)	Transmissão canina e humana
22	Santa Mercedes		Transmissão canina e humana
22	S. João Pau d'Alho		Transmissão canina e humana
22	Tupi Paulista	Transmissão esporádica (1,7)	Transmissão canina e humana
22	Caiuá		Transmissão canina*
22	Piquerobi		Transmissão canina
22	Teodoro Sampaio		Transmissão canina
22	Piquerobi		Transmissão canina
21	Pres. Prudente	Transmissão esporádica (1,3)	Transmissão humana e canina
21	Santo Anastácio	Transmissão esporádica (1,3)	Transmissão humana e canina
21	Santo Expedito		Transmissão humana e canina
21	Alfredo Marcondes		Transmissão canina
21	Alvares Machado		Transmissão canina*
21	Anhumas		Transmissão canina**
21	Emilianópolis		Transmissão canina**
21	Martinópolis		Transmissão canina**
21	Mirante do Paranapanema		Transmissão canina**
21	Narandiba		Transmissão canina**
21	Pres. Bernardes		Transmissão canina*
21	Rancharia		Transmissão canina*
21	Regente Feijó		Transmissão canina**
21	Ribeirão dos Índios		Transmissão canina*

Fonte: CLR-IAL PP V, site CVE. *Dados não publicados **Municípios em investigação transmissão canina LV.

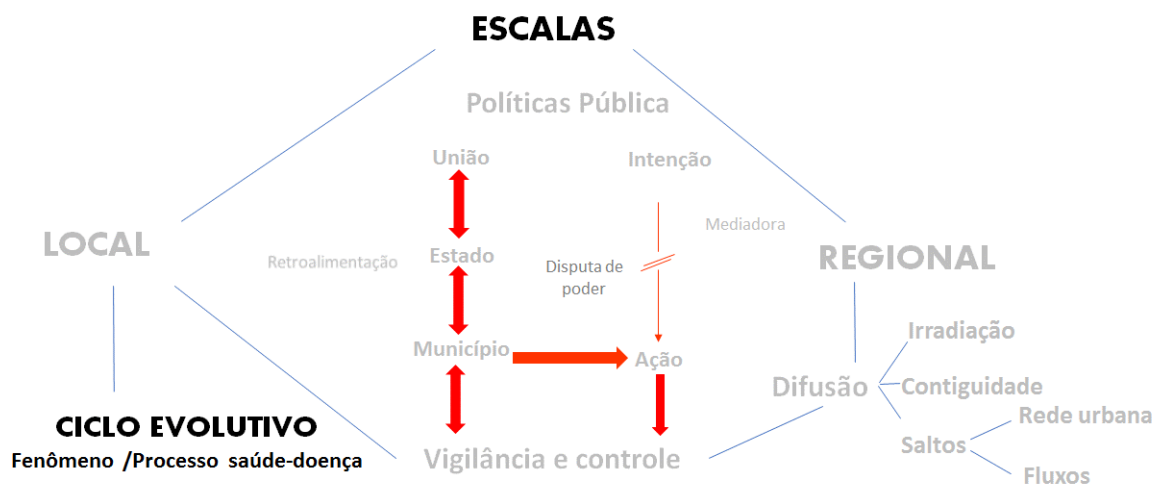
Modelo de estudo

- Estudo com base populacional - delineamento transversal e coleta de dados in loco (trabalho de campo foi utilizado um Global Position System (GPS) de navegação marca Garmin, modelo 96S, datum SAD 69) e dados secundários.
- Tratamento cartográfico da informação, com utilização de plataforma de Sistema de Informação Geográfica (SIG): ArcGIS 10.3 e TerraView 4.2: - Informações da área de estudo foram geradas em um nível de agregação do município para construção do banco de dados alfanumérico; - Os dados foram convertidos em mapas temáticos, analisados por superfícies de interpolação e fluxos baseados em geometrias de pontos, para estudar as conexões existentes.
- Utilização de técnicas de Geoprocessamento e aplicação de técnicas de Estatística Espacial (como a Estimador de Kernel Quântico com raio adaptativo, que permite a verificação de agrupamentos de casos de LV em determinadas regiões da área em estudo) e Geoestatística (ponto médio).

Aspectos éticos da pesquisa

O estudo aqui apresentado foi avaliado e aprovado pelo Comitê Técnico Científico do Instituto Adolfo Lutz - CTC-IAL sob o número CTC 25H.2015, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IAL – CEPIAL, cadastrado na Plataforma Brasil sob o número CAAE: 53247716.8.0000.0059 com parecer do colegiado emitido em 05/04/2016 e pelo Comissão de ética no Uso de Animais – CEUA- IAL sob número 02/2016 com parecer do colegiado emitido em 23/09/2016 em português e inglês.

CAPÍTULO I – Biogeografia - Origem e difusão espacial das *Leishmanias*: uma revisão sistemática da literatura



Na figura acima está representado em destaque no modelo esquemático das discussões norteadoras da tese, o que será debatido nas discussões do presente capítulo como forma de nortear o entendimento embasada em questões que envolvem o ciclo evolutivo da *Leishmania* no território, produzindo o fenômeno/processo saúde-doença.

Para compreensão do processo de origem e difusão espacial das Leishmanias no mundo e nas Américas e relacioná-la com sua dispersão, variância e distribuição dos agentes patógenos, foi realizada uma revisão sistemática da literatura. O objetivo foi avaliar as bases de dados utilizadas, apontar os principais centros que se destacaram nestes estudos e as principais teorias evolutivas, bem como os seus fundamentos. Desse modo, foi realizada uma revisão bibliográfica sistemática da literatura especializada acerca do tema da pesquisa, realizada por meio de bancos de dados on-line a seguir: PUBMED (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), BIREME (<http://www.paho.org/bireme/>), SCIELO (<http://www.scielo.org/php/index.php>) e BVS (<http://bvsalud.org/>).

A estratégia de busca incluiu os termos: “*Leishmaniasis routes*”, “*Leishmaniais dispersal*”, “*Leishmaniasis visceral, distribution geografic, origin and evolution genetic*”. Os textos selecionados deveriam apresentar acessos livres através do portal de periódicos da Capes, na forma de artigos originais. Deveriam ser escritos no idioma inglês, português ou espanhol e serem relacionados ao tema estudado.

Foram selecionados 104 artigos originais publicados em revistas indexadas referentes aos termos pesquisados, sendo 63 (60,6%) com “*Leishmaniasis routes*”; 35 (33,6%) com “*Leishmaniais dispersal*” e 6 (5,8%) com “*Leishmaniasis visceral, distribution geografic, origin and evolution genetic*”. O ano de publicação dos artigos selecionados compreendeu o período entre 1983 e 2014.

O critério de seleção dos artigos, dentro do universo pesquisado, foi primeiramente a leitura do resumo e em seguida o artigo completo. Após essa análise criteriosa, foram selecionados 64 artigos, publicados em 31 revistas diferentes que serviram de base para a revisão sistemática.

Os pesquisadores envolvidos nas publicações pertenciam a 15 diferentes países e a maioria dos estudos foram multicêntricos. O país de origem e o número de publicações, respectivamente foram: Brasil com 19 publicações; Reino Unido com 8; Alemanha, Estados Unidos e Índia com 6 publicações cada; França com 5; Argentina, Canadá, Irã, Israel, Paraguai e Portugal com duas publicações cada e Colômbia e República Tcheca com apenas 1 publicação cada.

Os centros de pesquisa que se destacaram na pesquisa e os seus respectivos países de origem foram: o Centro de Referência Nacional em Leishmanioses da Fundação Oswaldo

Cruz (FIOCRUZ), Instituto de Pesquisa Evandro Chagas (IPEC) e - Laboratório de Patologia de Moléstias Infecciosas do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo do Brasil; Liverpool School of Tropical Medicine do Reino Unido; o Centre National de Reference des leishmanioses da Université Montpellier da França; o Kala-azar Research Centre, Patna da Índia; o Instituto de Higiene e Medicina Tropical Lisbon de Portugal; o Centers for Disease Control and Prevention, Division of Parasitic Diseases, Atlanta dos Estados Unidos da América (EUA); Department of Biogeography, University of Bayreuth, Bayreuth, da Alemanha; Biology Centre, Institute of Parasitology da República Tcheca; Medical Geography e Department of Climatology of University of Isfahan do Iran.

Características principais da Leishmaniose Visceral, com base na revisão de literatura

As Leishmanioses são zoonoses parasitárias causadas por protozoários da família *Trypanosomatidae*, do gênero *Leishmania*. Este gênero inclui o complexo de *L. donovani* com duas espécies (*L. donovani*, *L. infantum* [também conhecida como *L. chagasi* no Novo Mundo]); o complexo *L. mexicana* com três espécies principais (*L. mexicana*, *L. amazonensis* e *L. venezuelensis*); *L. tropica*; *L. major*; *L. aethiopica*; e do subgênero *Viannia* com quatro espécies principais (*L. (V.) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) panamensis* e *L. (V.) peruviana*). As diferentes espécies são morfologicamente indistinguíveis, mas podem ser diferenciadas por análise de isoenzimas, pelos métodos moleculares ou anticorpos monoclonais (CDC, 2013).

O que caracteriza a doença é a espécie de *Leishmania*. De maneira geral é possível dizer que as leishmanioses podem desenvolver-se sob duas formas, conforme a especificidade da espécie de *Leishmania*: leishmaniose tegumentar (LT), com manifestação de tropismo cutâneo, sendo ainda referidas subformas clínico-epidemiológicas relacionadas a diferentes subgêneros, provocando feridas na pele, cartilagens e mucosas do corpo (CDC, 2013; 2016) e LV, com comprometimento de órgãos, podendo, nesse caso, levar a óbito, se o paciente não for submetido ao tratamento específico (HARISSON et al., 1986; MARZOCHI; MARZOCHI; CARVALHO, 1994; SÃO PAULO, 2006). De forma simplificada, a espécie de *Leishmania* demonstra certa especificidade para a manifestação de tropismo cutâneo ou visceral, causando LT ou LV, respectivamente.

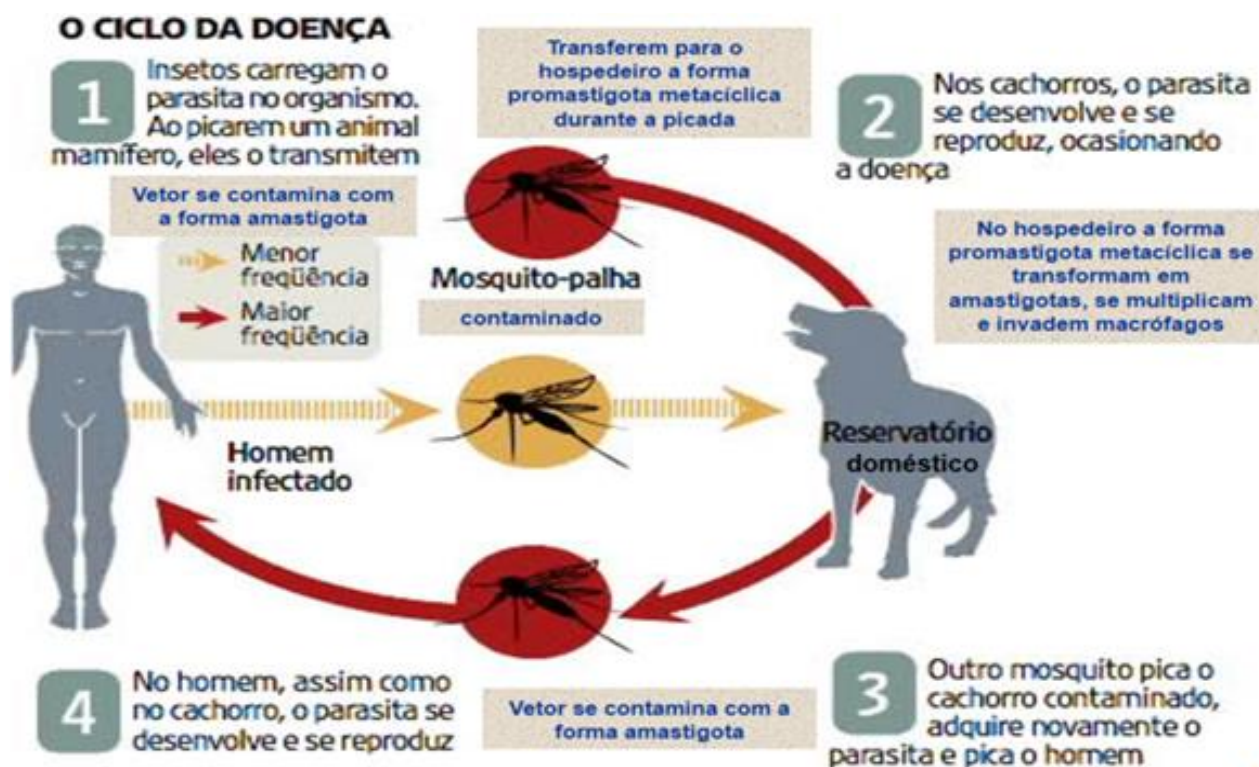
Os parasitas pertencentes ao gênero *Leishmania* possuem características biológicas específicas como a presença de uma organela citoplasmática, o cinetoplasto, que é derivado da mitocôndria, rica em ácido desoxirribonucleico (ADN) ou *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) e o kDNA (SOUZA- PINTO et al., 2009). As formas evolutivas flageladas (promastigotas) são encontradas no trato digestório do hospedeiro invertebrado e as formas imóveis (amastigotas) no sistema fagocitário mononuclear do hospedeiro vertebrado (LAINSON; SHAW, 1987; 2005; SHAW, 2002).

O vetor ao picar o hospedeiro vertebrado infectado contrai a doença, devido ao repasto sanguíneo contendo formas amastigotas do parasita, presentes no interior dos macrófagos, e na pele do indivíduo infectado. Já no inseto o parasita se transforma da forma amastigota para promastigota, na porção média do tubo digestivo, se multiplicando por fissão binária evoluindo para o estágio infectante, denominadas promastigotas metacíclicas. Normalmente o parasita completa seu ciclo de 6 a 9 dias, variando de acordo com a espécie (KAMHAWI, 2006; MONTALVO et al., 2012).

O inseto infectado ao picar um novo hospedeiro, inocula as formas infectantes do parasita. No hospedeiro vertebrado a forma amastigota é fagocitada pelo macrófago, transformando-se em amastigota, multiplicando-se até romper o vacúolo, ocorrendo assim sua disseminação hematogênica para órgãos como: linfonodo, fígado, baço e medula óssea (Figura 08) (URQUHART et al., 1998).

De acordo com o Manual de Vigilância e Controle da LV do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014) no Brasil, a forma principal forma de transmissão do parasita ao homem e a outros hospedeiros vertebrados é pela picada de fêmeas de dípteros da família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*, conhecidos genericamente por flebotomíneos (DOURADO E SOUZA, 2007), infectados pela *Leishmania infantum* (sinonímia – *L. chagasi*). Entre os flebotomíneos, apenas as fêmeas têm necessidade da ingestão de sangue para a maturação de seus óvulos (GONTIJO; MELO, 2004). Não ocorre transmissão direta da LV de pessoa a pessoa. A transmissão ocorre enquanto houver o parasitismo na pele ou no sangue periférico do hospedeiro (BRASIL, 2014).

Figura 08 – Ciclo da leishmaniose visceral



Fonte: <http://www.usp.br/aun/exibir.php?id=2833>, adaptado D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

No Brasil, duas espécies de flebotomíneos são incriminadas no ciclo de transmissão de *L. infantum*: a *Lutzomyia longipalpis* e *L. cruzi*, sendo a primeira considerada a principal espécie transmissora. A *L. longipalpis* é a espécie que tem demonstrado uma grande capacidade de se adaptar em diferentes ambientes antrópicos (hábito alimentar bastante eclético), aumentando muito a densidade desses insetos no ambiente intra e extra domicílio, facilitando, assim, a transmissão da doença (DEANE; DEANE, 1962; LAINSON, 1989).

Em localidades onde a LV é endêmica, o cão (*Canis familiaris*), é o hospedeiro doméstico, incriminado como o principal reservatório de *L. infantum* no ciclo de transmissão para o homem em áreas urbanas e rurais (DEANE; DEANE, 1954). Já as raposas (*Pseudalopex ventulus*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*) são os reservatórios no ambiente silvestre (BRASIL, 2009). Contudo, *L. longipalpis* tem sido observada alimentando-se de uma grande variedade de vertebrados, incluindo bovinos, equinos, primatas, suínos e galináceos no ambiente silvestre, e cães no intra e peridomicílio (LAINSON, 1989; BARATA et al., 2005). Aguiar et al. (1987) mostraram uma clara preferência de flebotomíneos por galinhas. Os dados de literatura mostram que o caráter oportunista parece predominar na alimentação desses insetos que podem se alimentar em ampla variedade de vertebrados (MORRISON; FERRO; TESH, 1993; QUINNELL; DYE; SHAW, 1992).

A LV é uma doença sistêmica, afetando principalmente órgãos como fígado, baço e medula óssea. Os sintomas presentes são de febre intermitente, perda de apetite, fraqueza, palidez, vômito, perda ponderal e hepatoesplenomegalia. Há também uma forma oligossintomática, ou seja, com poucos sintomas, que pode não ser percebida em seres humanos (GONTIJO; MELO, 2004). A LV atinge pessoas de todas as idades, porém é mais comum em crianças, com cerca de aproximadamente 50% dos casos em regiões endêmicas. É considerada emergente em indivíduos com diagnóstico de HIV devido a seu Estado imunológico baixo. É uma doença grave e os casos não tratados podem evoluir para a morte em consequência de infecções ou de fenômenos hemorrágicos. A cadeia constituída pelas fontes de infecção, agentes transmissores e animais ou hospedeiros suscetíveis assegura a manutenção da infecção na natureza. As manifestações clínicas da LV refletem o desequilíbrio entre a multiplicação dos parasitas nas células do sistema fagocitário mononuclear, a resposta imune do indivíduo e o processo inflamatório subjacente. O diagnóstico clínico da LV deve ser suspeitado quando o paciente apresentar: febre e esplenomegalia associado ou não à hepatomegalia. Outras manifestações importantes incluem hemorragias (epistaxe, gengivorragia e petéquias), icterícia e ascite. Em pacientes que evoluem para sua forma grave o óbito geralmente é determinado por infecções bacterianas e/ou sangramentos. As complicações mais frequentes da LV são de natureza infecciosa bacteriana. Dentre elas destacam-se: otite média aguda, piodermites, infecções dos tratos urinário e respiratório. Caso essas infecções não sejam tratadas, o paciente poderá desenvolver um quadro séptico com evolução fatal. As hemorragias são geralmente secundárias à plaquetopenia, sendo a epistaxe e a gengivorragia as mais comumente encontradas (SÃO PAULO, 2006; BRASIL, 2003, 2014; CVE, 2015, SPIR et al., 2017).

Tendo em vista as dificuldades de controle da doença, a metodologia proposta para a adoção de medidas para a vigilância baseia-se em uma melhor definição das áreas de transmissão ou de risco (BRASIL, 2003, 2014).

A taxinomia dos parasitas pertencentes ao gênero *Leishmania* ainda é assunto de considerável controvérsia. Inicialmente, eram classificados segundo uma proposta que se baseava em critérios biológicos e ecológicos, como o ciclo de desenvolvimento no inseto vetor (hospedeiro invertebrado), distribuição geográfica, tropismos, propriedades antigênicas e manifestações clínicas (LAINSON; SHAW, 1979, 1987; MCMAHON-PRATT; DAVID, 1981).

Em 1979, Lainson e Shaw propuseram a classificação das espécies de *Leishmania* baseadas no ciclo de vida e no local de desenvolvimento no trato digestório dos flebotomíneos vetores: i) Hipofilaria: abriga espécies mais primitivas (gênero *SauroLeishmania* Ranque, 1973), cujo desenvolvimento é restrito ao intestino posterior dos flebotomíneos, apenas encontradas em lagartos do velho mundo e cuja transmissão ocorre quando o inseto infectado é ingerido pelo lagarto; ii) Perifilaria: engloba espécies do subgênero *Viannia* (complexo *L. braziliensis* do Novo Mundo) que se desenvolvem obrigatoriamente no intestino posterior do flebotomíneos, depois migram para os intestinos médio e anterior, ocorrendo a transmissão pela picada do flebotomíneos infectado; e iii) Suprafilaria: esse grupo inclui espécies do subgênero *Leishmania* (complexos: *L. donovani*, *L. mexicana*, *L. ertigi* e *L. tropica*), cujo parasita se desenvolve somente nas porções média e anterior do intestino dos flebotomíneos.

Lainson e Shaw (1987) revisaram a antiga classificação, baseados em diferenças na distribuição geográfica, em análises do perfil de isoenzimas das *Leishmanias* (MILES et al., 1980), além do desenvolvimento das formas evolutivas nos flebotomíneos, subdividindo o gênero *Leishmania* em dois subgêneros: *Leishmania* Ross, 1903 e *Viannia* Lainson; Shaw, 1987.

Segundo os autores Lainson e Shaw (2005) e Cox (2005), a classificação aceita das espécies neotropicais de *Leishmania*, baseada em diferenças na distribuição geográfica, seus hospedeiros flebotomíneos suspeitos e comprovados, seus hospedeiros mamíferos, dados clínicos relacionados àquelas que infectam humanos e em análises do perfil de isoenzimas das *Leishmanias*, é apresentada a seguir:

Reino: *Protozoa* Golfus, 1818

Filo: *Euglenozoa* Cavalier Smith, 1998

Classe: *Kinetoplastea*: Honigberg, 1963

Ordem: Trypanosomatida Kent, 1880

Família: Trypanosomatidae Doflein, 1901

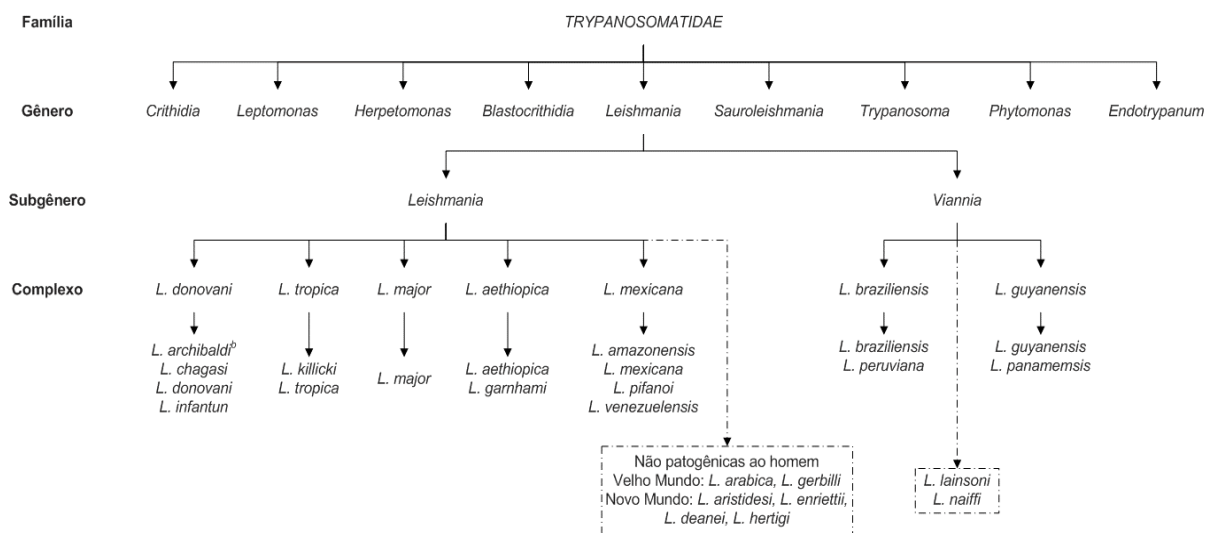
Gênero: *Leishmania* Ross, 1903

Subgênero: *Leishmania* Ross, 1903

Subgênero: *Viannia* Lainson & Swaw, 1987

A infecção humana é causada por cerca de 20 dentre as 30 espécies que infectam mamíferos (Figura 09). As diferentes espécies são morfologicamente indistinguíveis, mas podem ser diferenciadas por análise de isoenzimas, métodos moleculares, ou anticorpos monoclonais (CDC, 2013).

Figura 09 – Taxonomia das espécies de Leishmanias



Fonte: CDC, 2013.

A evidência da controvérsia acerca da taxonomia do gênero *Leishmania* ocorreu a partir de estudo de várias populações naturais de *Leishmania* em diferentes países (Velho e Novo Mundo) utilizando *Multilocus enzyme electrophoresis* (MLEE) e *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) como marcadores genéticos e com os dados interpretados em termos genéticos evolutivos, combinando critérios filogenéticos e de relevância clínico/epidemiológico (BAÑULS et al., 1999, CUPOLILLO et al., 1998).

Estabelecer o conceito biológico de espécie é difícil para microorganismos patogênicos: é necessária uma combinação de critérios filogenéticos e de relevância clínico/epidemiológico para descrever novas espécies. Além disso, inferências epidemiológicas com base em um conjunto limitado de marcadores genéticos pode ser enganosa. As bases estatísticas de *L. (L.) infantum* identificado como zimodemas 'MON-1' por outros autores apresentam heterogeneidade genética adicional e não correspondem a um distinto *Discrete Typing Unit* (DTU) e são, na verdade, polifiléticos. Os parasitas do gênero *Leishmania* têm uma estrutura populacional basicamente clonal; ocasionalmente, podem ocorrer possíveis trocas genéticas (BAÑULS et al., 1999).

Origens e difusão das Leishmanias: polêmica entre os principais autores

No velho mundo (África, Ásia e países da bacia do Mediterrâneo) as leishmanioses cutânea e visceral são causadas por quatro complexos de espécies, geograficamente dispersas: (1) complexo *Leishmania major* (*L. major*) na África ao norte do Saara, Oriente Médio e na Península Árabe; (2) *Leishmania tropica* (*L. tropica*) na Europa Oriental, Oriente Médio e Tunísia; (3) *Leishmania infantum* (*L. infantum*) no Mediterrâneo Ocidental; (4) *Leishmania donovani* (*L. donovani*) no Extremo Oriente (NOZAIS, 2003).

A compreensão da origem do cão e de sua domesticação é um fator importante no processo de entendimento da origem e evolução das Leishmanias, por se tratar na atualidade como o principal reservatório doméstico no ciclo, e ainda esta não foi bem estabelecida. O cão doméstico *Canis familiaris* pode ser descendente de uma raça selvagem *C. f. poutiatini* ou do lobo *C. lupus* (lobo da Síria, lobo da Espanha, lobo do Japão) (PETTER, 1972).

Canídeos domésticos e selvagens são os principais reservatórios dos complexos *L. infantum* e *L. donovani*, tendo o cão um papel principal na epidemiologia; entretanto, raposas são portadores da *L. donovani* e *L. infantum* em muitas áreas da bacia do Mediterrâneo e da África (DEDET, 1976; BENALLEGUE; TABBAKH, 1978; MORENO et al., 1986; ASHFORD, 1986; LEBLANCQ; PETERS, 1986) e podem ter sido uma fonte rara de infecção para o homem, uma vez que foram caçados em tempos pré-históricos até muito recentemente.

Esses contatos próximos, ao longo do tempo, entre o homem e o cão - reservatório da *Leishmania* - provavelmente levou ao aparecimento esporádico de calazar humano, logo que as primeiras aldeias do Mediterrâneo foram fundadas. Atualmente, o cão doméstico é o principal reservatório da leishmaniose para o homem (BRASIL, 2014).

Numerosas espécies de roedores silvestres são importantes reservatórios de *L. major* e eles entraram em contato muito cedo com o homem que os caçava por sua pele ou sua carne e que os expulsaram de seu habitat natural, a fim de preparar os campos para o cultivo. Provavelmente, foram importados da África tropical através do Deserto do Saara e se espalharam pelo Mediterrâneo, quando o atual deserto ainda era úmido e rico em aves e vegetação, entre 15.000 e 500 a.C. Em função disso, parece provável que a epidemiologia da leishmaniose cutânea rural não tenha sido significativamente modificada desde a origem do

homem nos focos do Mediterrâneo. Os principais reservatórios de roedores são: *Meriones*, *Rhombomys* e *Psammomys* (NOZAIS, 2003).

Por outro lado, o cão é um reservatório secundário para a *L. Tropica* na Grécia e no Oriente Médio (LEBLANCQ; PETERS, 1986). É essencialmente um parasita humano responsável pela leishmaniose cutânea urbana (ASHFORD, 1986, RIOUX et al., 1985). Ashford (1986), em particular, acredita que a adaptação de *L. tropica* ao homem remonta a local muito distante e dispersou-se a partir de seu foco original na África Oriental através de migrações humanas. A desertificação do Saara é recente, uma vez que começou há apenas 4.000 anos a.C. e que entre 15 mil e 500 a.C. existia umidade e vegetação abundante na área ligada à África do Sul e parte do norte (NOZAIS, 2003).

Segundo Moreno et al. (1986), a escola Montpellier mostrou que o complexo *L. infantum* estava presente apenas em áreas do Mediterrâneo central e ocidental com três zymodemes para formas viscerais e cinco zymodemes para formas cutâneas e a *L. infantum* MON 1 é responsável pela leishmaniose visceral zoonótica no Mediterrâneo. Os mesmos autores inferiram que os dois complexos, *L. donovani* e *L. infantum* foram separados há dois milhões de anos atrás e diversificados no Pleistoceno ou, talvez, mesmo em tempos modernos. Além disso, parece que o complexo *L. donovani* é originário da África Oriental (como o homem), e está presente no Oriente Médio, na Península Arábica e na Ásia, com oito zymodemes (RIOUX, 1985). Parece ter sido transportado pelo homem em direção ao leste, quando um grupo de homens atingiu o Oriente Médio.

L. tropica e *L. donovani* têm um ancestral comum, originárias da África Oriental e foram separadas provavelmente há cerca de 2 milhões de anos, ao mesmo tempo que *L. donovani* e *L. infantum* foram adquirindo, progressivamente, traços cada vez mais individuais até o Pleistoceno.

A *L. donovani* e *L. infantum* foram transportadas pelo homem e talvez por cães parcialmente domesticados, espalhadas na África Ocidental e separadas no Oriente Médio em uma cepa oriental a *L. donovani* e uma cepa ocidental a *L. infantum*, que depois se disseminou ao redor do Mediterrâneo e tem desempenhado papel importante na disseminação das leishmanioses pelo mundo (NOZAIS, 2003).

Killick Kendrick (1985) postulou que o parasita evoluiu simultaneamente com o vetor, o que explicaria a diversidade tanto dos flebotomíneos como de *Leishmanias*, resultantes da adaptação mútua: "diversidade das espécies morfológicamente próximos em Larrousius na

bacia do Mediterrâneo sugere uma evolução relativamente recente do grupo nessa região após a chegada da forma ancestral (do Phlebotomo), cerca de 5 a 6 milhões de anos atrás". Dessa forma, os vetores flebotomíneos, já instalados na bacia do Mediterrâneo bem antes da chegada do homem, alimentavam-se de roedores e canídeos silvestres já estabelecidos nas margens do Mediterrâneo.

Para os mesmos parasitas, a alternativa taxonômica mais moderna, e cada vez mais empregada, admitem-se três espécies distintas, *L. donovani*, *L. infantum* e *L. chagasi*. Muitos autores acreditam que *L. chagasi* seja somente um sinônimo de *L. infantum*, trazida para as Américas pelos cães dos colonizadores europeus. Também em relação às espécies causadoras da leishmaniose cutânea há considerável disputa em relação à taxonomia: subespécies do complexo *L. braziliensis* foram elevadas recentemente a espécies e agrupadas em um novo subgênero, *Viannia*. Enquanto um consenso não for alcançado, haverá sempre considerável confusão na classificação das espécies.

Origem das Leishmanias nas Américas

Quando os primeiros colonizadores pré-colombianos chegaram ao continente americano, os ameríndios já conheciam o que chamamos de leishmanioses.

Segundo Altamirano-Enciso et al. (2003), utilizando-se apenas de análise de fontes históricas pré e pós-colombianas, concentraram seus estudos em enfermidades causadas pelas leishmanioses no homem do continente sul-americano, baseados em documentos que relatam algumas ocorrências sugestivas de LT no território andino e que foram selecionados, por conter relatos de ocorrências de lesões cutâneo-faciais que se aproximam do diagnóstico da LT, a partir de quatro fontes etno-históricas do século XVI: Pizarro (1571 [1917]), Santillán (1572 [1879]), Loayza (1889) e Ávila (1975).

Embora a maioria dos cronistas espanhóis se concentrasse na descrição de paisagens, costumes, alimentos, flora, fauna e os recursos econômicos, houve os que coletaram também tradições relacionadas à sua ideologia, mitos e lendas nativas. A reinterpretação dessas fontes permitiu reconstruir historicamente a origem tanto da forma da leishmaniose mucosa (LM) ou espúndia quanto da forma cutânea (LC) ou uta no cenário andino e pré-amazônico. O estudo reforça a hipótese de que a LM tenha se originado na área amazônica ocidental em tempos arqueológicos, por intermédio de migrações humanas, depois ascendido à selva alta e,

posteriormente, às terras quentes interandinas, pelos limites da Bolívia e do Peru com o Brasil. As migrações dos mitmaq ou mitimaes contribuíram para sua intensificação durante o império inca. Tais fatos se desenvolvem no contexto histórico e social da queda do império inca e da instalação da colônia espanhola.

As teorias sobre a origem e difusão das leishmanioses evoluíram, principalmente, durante as eras bacteriológica e epidemiológica. Assim, a partir de 1890, Juliano Moreira e Aguiar Pupo propunham a primeira teoria de origem mediterrânea, enfatizando que os casos observados em pacientes da Bahia, doença chamada 'botão da Bahia' eram parecidos ao 'botão do Oriente' (LINDENBERG, 1909). Esta comparação fez inferir, inclusive, que as LT teriam sido introduzidas pelos fenícios ou sírios que, supostamente, chegaram ao nordeste do Brasil ainda na Antiguidade (MOREIRA, 1895, 1906; PUPO, 1926), muito embora tais viagens na antiguidade jamais tenham sido provadas historicamente ou arqueologicamente.

A segunda teoria é de origem andina. Esta começa a formular-se a partir dos descobrimentos de peças de cerâmica pré-colombiana ou huacos peruanos em 1895 (VIRCHOW, 1895; NEIVA et al., 1917; RABELLO, 1925), e reforçada pelos documentos do século XVI. Contudo, a discussão dos dados históricos é controversa, dividindo-se em dois grupos. Uma primeira corrente é representada pelos defensores das chamadas 'evidências' históricas (JIMÉNEZ DE LA ESPADA, 1897; LASTRES, 1951; PESCE, 1951), cujos argumentos se reforçam pelos estudos das representações de lesões feitas em objetos de cerâmica. Outro grupo de estudiosos apresenta-se como cético em relação a isso, alegando que os cronistas não eram médicos de profissão, não conheciam a nova doença e, portanto, fizeram vagas descrições sobre o mal (HERRER, 1956, 1957, 1977). Atribuímos a essa discussão grande importância, porque se passaram quase oitenta anos desde que Eduardo Rabello (1925) propôs que as origens da LM estariam, inicialmente, focalizadas nos territórios frios, sugerindo as regiões da Bolívia e do Peru, predominando sua teoria na literatura biomédica.

Há três períodos da história da doença no Brasil, segundo Rabello (1925). O primeiro de origem incerta e baseada em referências vagas que vai até 1895 e trata da evolução clínica do Botão da Bahia e sua filiação ao Botão do Oriente. O segundo, que se estende até 1909, faz referência à identificação ao agente etiológico da Úlcera de Bauru. O terceiro, com início em 1910, trata do achado do parasita, em lesões mucosas, cujo quadro clínico é incorporado à doença. Mas foi Gaspar Viana quem descreveu, de 1911 a 1914, as lesões de pele causadas pela *Leishmania*.

A etiologia da LV no Brasil também é polêmica. O agente etiológico da LV foi descrito pela primeira vez por Cunha e Chagas (1937), tendo recebido o nome específico de *Leishmania chagasi*. Esse parasita foi descrito como uma nova espécie de *Leishmania*, em razão da sua incapacidade de produzir, experimentalmente, a LV no cão doméstico, caráter esse que a diferenciou de outro agente etiológico já conhecido da LV na Bacia do Mediterrâneo na Europa: *Leishmania infantum* Nicolle, 1908.

Após 50 anos de trabalhos baseados em biologia experimental, morfologia, bioquímica, ecoepidemiologia, das manifestações clínicas e da imunopatologia da doença causada pelo parasita *Leishmania chagasi* na América, o gênero *Leishmania* sofreu ampla revisão por Lainson e Shaw (1987, 2005) que reclassificaram o parasita como membro do subgênero *Leishmania*, espécie *Leishmania (Leishmania) chagasi* e defenderam sua origem na América (SILVEIRA; CORBETT, 2010).

Após uma série de estudos utilizando análise molecular usando a técnica da amplificação aleatória polimórfica do DNA (RAPD), que comparou várias cepas de *L. (L.) chagasi* que haviam sido isoladas de diferentes origens e países da América do Sul, particularmente do Brasil (de humanos, cachorros domésticos e da raposa selvagem *Cerdocyon thous*), e cepas de *L. (L.) infantum* originadas da área endêmica para LV em países europeus da Bacia do Mediterrâneo, tais como Portugal e Espanha a *L. (L.) chagasi* com a *L. (L.) infantum*, foi concluído que ambos os parasitas eram geneticamente indistinguíveis e, portanto, que a *L. (L.) chagasi* era sinônimo de *L. (L.) infantum* (MAURICIO et al., 1999; 2000; LUKES et al., 2007). Esses autores defendem que a *L. (L.) chagasi*, sinônimo de *L. (L.) infantum* fora introduzida na América durante a sua colonização.

Diante de controvérsias, dois questionamentos são fundamentais e devem ser considerados. Os primeiros casos de LV no Brasil foram diagnosticados em 1934 (PENNA, 1934), como explicar então, que em um curto intervalo de tempo, *L. (L.) infantum* tornou-se rapidamente capaz de sobreviver em *Cerdocyon thous* que, diferentemente do cachorro doméstico, não apresenta quaisquer sinais ou sintomas devido à ação patogênica induzida pelo parasita? Essa adaptação reflete um estágio de coexistência entre o parasita e seu hospedeiro vertebrado geralmente aceito após um longo processo interativo entre aquele e a resposta imune deste, o que ocorre somente depois de milhares de anos. Segundo, *L. (L.) infantum*, que estava adaptado ao seu vetor flebotomíneo, *Phlebotomus dubosqi*, em países endêmicos da Europa, precisaria ter-se adaptado rapidamente a outra espécie de vetor

flebotomíneo, *Lutzomyia longipalpis*, original de um continente que apresenta condições climáticas e ecologia inteiramente diferentes das observadas no continente europeu.

É importante destacar evidências recentes sugerindo que esse processo de especialização entre o parasita e seu vetor flebotomíneo é fortemente influenciado por uma interação específica entre as moléculas de glicoconjugados ligantes, especialmente o lipofosfoglicano (LPG), presentes na membrana plasmática de superfície das formas promastigotas metacíclicas das espécies de *Leishmania* e seus receptores na membrana das células epiteliais da parede do intestino médio do vetor flebotomíneo (BUTCHER et al., 1996; SOARES et al., 2002; 2005).

O LPG foi implicado como uma molécula de adesão específica que intermedeia a interação entre *Leishmania* e o epitélio do intestino médio do vetor flebotomíneo. Diante disto, dever-se-ia supor que *L. (L.) infantum*, que é transmitido naturalmente por *Phlebotomus dubosqi*, seria capaz de se adaptar rapidamente ao epitélio do intestino médio de *Lutzomyia longipalpis*, um vetor flebotomíneo de espécie e gênero completamente diferentes de *L. (L.) infantum* encontrado em uma área endêmica na Europa (SILVEIRA; CORBETT, 2010).

As espécies conhecidas atualmente no Brasil, causadoras das formas tegumentar e visceral, bem como a sua distribuição acompanha as rotas da colonização e do progresso: “ciclo econômico da borracha, às fazendas cafeeiras e ao crescimento das cidades”, onde foram registrados surtos da doença entre 1880 e 1930 (ALTAMIRANO- ENCISO et al., 2003).

Dentre os fatores determinantes da dispersão da LV destacam-se a dinâmica de ocupação de espaços, as constantes alterações do ambiente, as profundas modificações sociais, as migrações intra e interestaduais e a precariedade ou inexistência de saneamento básico.

Teorias Evolucionistas do gênero Leishmania

A evolução da história das Leishmanias data de 75 milhões de anos, destacando como prováveis primeiros hospedeiros os arborícolas insetívoros, passando pelos lemurióides, tassioides, símios, pongídeos até o *Homo sapiens*, surgido por volta de 300 a 400 mil anos atrás.

O gênero *Leishmania* é monofilético segundo Thomaz Soccol et al. (1993), mas a inferência de sua origem e evolução é complicada por sua distribuição geográfica disjunta (WHO, 1990). A chamada teoria monofilética, baseada em estudos de DNA mitocondrial de vinte espécies diferentes de *Leishmanias* do mundo, considera que os troncos *Viannia* e *Leishmania* tiveram origem comum, remontando aos períodos cretáceo e jurássico, há 120 milhões de anos, quando os continentes estavam unidos na Pangeia. Contudo, a questão sobre o local de origem das espécies de *Leishmanias* continua controverso, entre as regiões neotropical (LAINSON et al., 1998; NOYES, 1998), paleártica (KERR, 2000) ou africana (MOMEN et al., 2000).

Origem das espécies de Leishmanias, segundo a teoria Neotropical

Noyes (1998) considerou a origem Neotropical sustentando-se em análises de sequências filogenéticas. Apresentou uma hipótese de que o clado (cepa) *Leishmania / Endotrypanum* durante o Paleoceno, sugerindo que as preguiças (*Xenarthra*) serviram como os primeiros reservatórios vertebrados do clado, que *L. hertigi* divergiu do *Endotrypanum* como resultado da adaptação ao porco-espinho (Rodentia: *Erethizontidae*) durante o Eoceno, e que a *Leishmania* foi introduzido no Neártico em um tipo de porco-espinho através da ponte de terra de Bering ao Paleártico durante o Mioceno em um reservatório de mamífero não especificado. Este fato produziu duas ramificações: *Leishmania donovani*, no subcontinente indiano, e *Leishmania infantum*, no continente europeu.

Mais recentemente, foi também sugerida que *Leishmania infantum* teria sido introduzida na América por seus colonizadores. Esta hipótese evolucionária parece ser especulativa e contraditória: é impossível acreditar que um ancestral de *Leishmania* migraria para o continente asiático sem deixar um parasita descendente em seu lugar de origem (SILVEIRA; CORBETT, 2010).

É de Noyes (1998) a hipótese de que *SauroLeishmania* evoluiu mais tarde no Mioceno, quer no Neártico ou Paleártico, como resultado da adaptação de répteis. As implicações para a classificação dos flebotomíneos da hipótese de uma origem Neotropical da *Leishmania* também são consideradas por ele.

A classificação de Galati (1995) propõe ser a mais consistente com a hipótese de uma origem Neotropical da *Leishmania*, enquanto classificações que colocam evolução de espécie separadamente no novo e velho mundo são inconsistentes com essa hipótese.

O subgênero *Viannia* é restrito à região Neotropical, enquanto o subgênero *Leishmania/Endotrypanum* ocorre tanto no novo mundo (Neotropical e sul Neártico) como no velho mundo (Paleártico, africanos e orientais). Killick-Kendrick (1985) sugeriram que a *L. (L.) chagasi*, um membro do complexo *L. (L.) donovani* (WHO, 1990), poderiam ter sido importados do velho mundo para o novo mundo por seres humanos, durante os tempos históricos, uma visão que recebeu apoio de estudos por Beverley et al. (1987), Momen et al. (1987), Rioux (1990), Schonian et al. (1996) e Travi et al. (1998).

Contestações da teoria Neotropical

Por uma série de razões, as hipóteses da teoria Neotropical são contestadas. Em primeiro lugar, apesar de porcos-espinhos haverem se deslocado do Neotropical ao Neártico, o registro fóssil indica que isso não ocorreu até depois da formação da ponte de terra panamenha no Plioceno (MARSHALL, et al., 1982; NOWAK, 1991). Em segundo lugar, os porcos-espinhos não se moveram através do estreito de Bering. Em terceiro lugar, enquanto um grande peso é dado à importância de adaptação de *L. hertigi* para o porco-espinho como um mecanismo de isolamento do gênero de *Endotrypanum*, não é explicado por que preguiças continuam a ser importantes reservatórios de *Leishmania*. Em quarto lugar, a hipótese exige uma *Leishmania* adaptada para roedores murídeos separadamente no Neotropical, no Neártico e no Paleártico. Em quinto lugar, a evidência fóssil indica que flebotomíneos (LEWIS, 1982) são os únicos vetores, e os roedores murídeos (NOWAK, 1991), os reservatórios zoonóticos mais importantes, tendo originado no Paleártico, tornando improvável que a *Leishmania* tenha originado no Neotropical.

Lainson e Shaw (1987) caracterizaram desenvolvimento *peripylarian* em *L. (Viannia)* como o estado de caráter primitivo, mas a validade desse conceito tem sido contestada por Anez et al. (1989) e Croan e Ellis (1996).

A maior diversidade de *Leishmania* no novo mundo em relação ao velho mundo foi dada como prova de uma origem no Neártico (LAINSON; SHAW, 1987; CROAN; MORRISON; ELLIS, 1997). Os autores basearam-se na suposição errônea de que as novas espécies aparecem a uma velocidade constante e, conseqüentemente, um grande número de espécies indicaria um longo tempo de residência (COX; MOORE, 1993). A diversidade de *Leishmania* no novo mundo pode, em alternativa, refletir a evolução acelerada na Neotropical devido ao relevo topográfico extremo (VRBA, 1992).

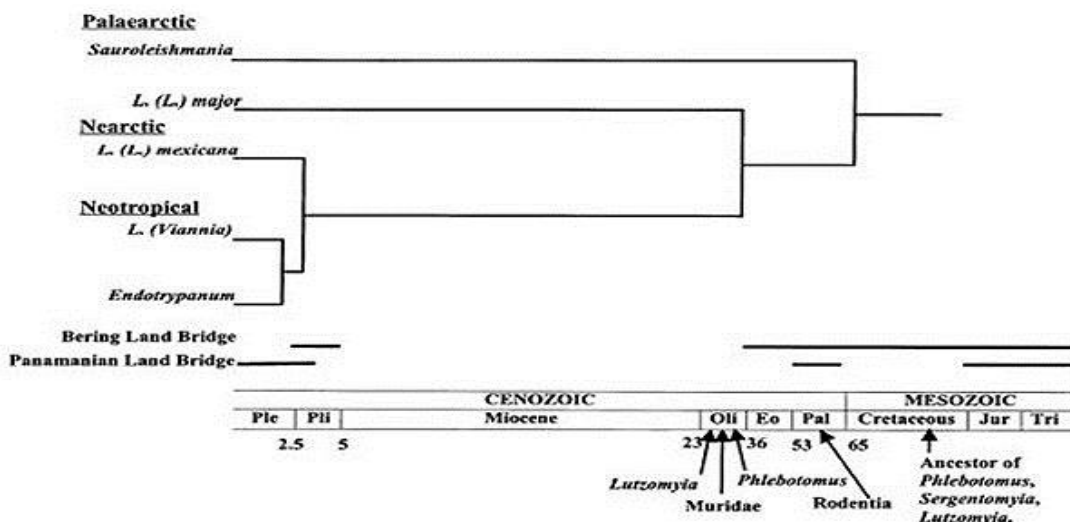
Origem das espécies de *Leishmania*, segundo a teoria Paleártica

A hipótese de origem Paleártica de *Leishmania* no início do Cenozoico é a de que roedores murídeos e seus ancestrais imediatos têm sido importantes reservatórios de mamíferos, desde a origem de *Leishmania* e a dispersão do Neártico no final do Eoceno ao Neotropical no Plioceno.

A origem paleártica das *Leishmanias* do novo mundo é mais aceita atualmente do que a proposta por Noyes (1998), e está apoiada por diversas linhas de evidência (KERR, 2000). Segundo essa proposta, as *SauroLeishmania*, originadas no Cretáceo e que parasitavam répteis, originaram as *Leishmanias*, que passaram a dispor de uma variedade de mamíferos surgidos no início do Cenozoico. Uma espécie de flebotomíneo, ancestral dos atuais *Lutzomyia* e *Phlebotomus*, migrou pela ponte do estreito de Behring, acompanhando a fauna de roedores, no fim do Eoceno. As *Leishmanias* acompanharam, naturalmente, seus hospedeiros. A separação entre *Phlebotomus* e *Lutzomyia* teria ocorrido quando da destruição da ponte de Behring, no Oligoceno.

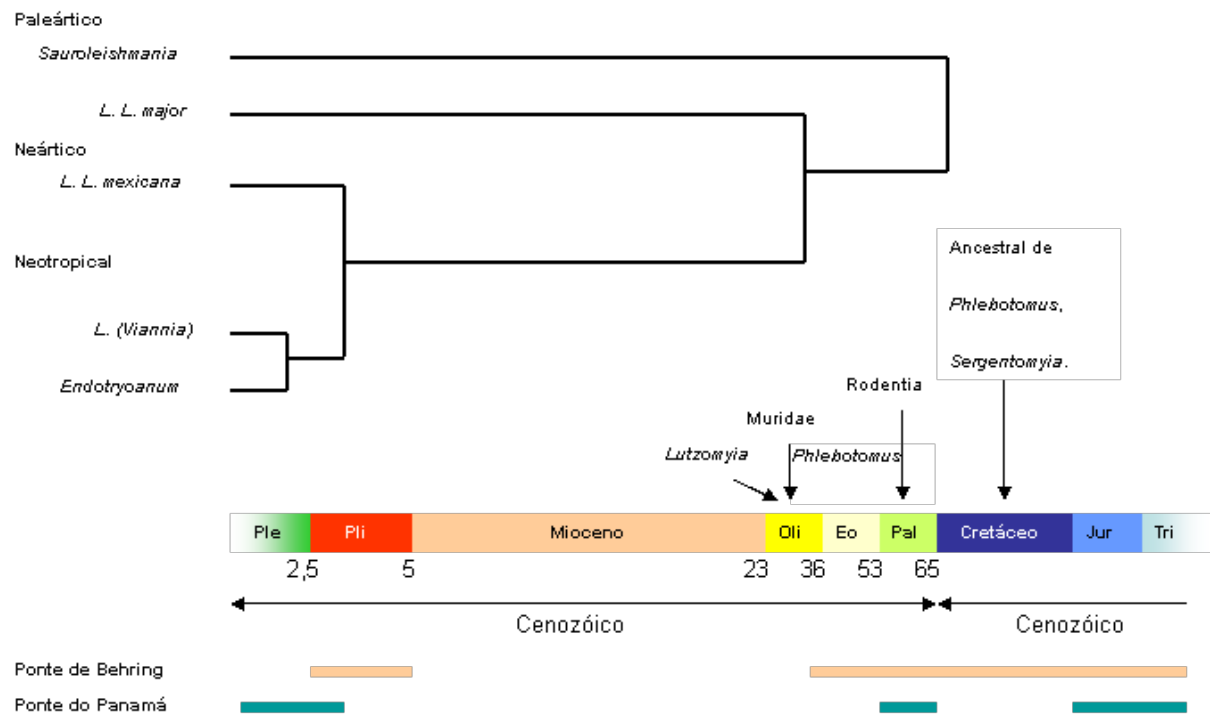
Do hemisfério norte, as *Leishmanias*, seus hospedeiros e vetores teriam conseguido acesso à América do Sul através da ponte do Panamá, no fim do Plioceno e início do Pleistoceno. As Figuras 10 e 11 resumem essa proposta, especificando as espécies/subgêneros ancestrais prováveis. Quanto à espécie *L. chagasi*, vários autores creem que ela pode ser sinônima de *L. infantum*. Uma posição final dessa questão ainda não foi alcançada.

Figura 10 - Períodos geológicos que mostram as datas aproximadas do surgimento de grupos de mamíferos e insetos importantes para a compreensão da evolução da *Leishmania*.



Fonte: KERR, 2000. Os números indicam milhões de anos atrás. Datas de origem de mamífero são de Nowak (1991) e de flebotomíneos são de Lewis (1982). A filogenia da cepa *SauroLeishmania/Leishmania/Endotrypanum* é baseada em Biogeografia, registros fósseis de mamíferos e flebotomíneos, e ecologia. Regiões Zoogeográficas de origem de cada complexo de espécies são sublinhadas.

Figura 11 – Esquema representativo da evolução do gênero *Leishmania*



Fonte: Modificado de Kerr, 2000.

Estudos bioquímicos, moleculares, biogeográficos, entomológicos, mamalógicos e ecológicos apoiam um cenário mais simples, consistente com a hipótese de Lysenko (1971) de que a *Leishmania* é originada no Paleártico. As evidências também apoiam fortemente a dispersão do Paleártico através do estreito de Bering, ao Neártico durante o Oligoceno, a dispersão do outro lado do Estreito do Panamá durante o Plioceno, e radiação muito rápida após a chegada à Neotropical. Entretanto, para cada uma dessas evidencias são apresentadas contestações.

Origem das espécies de Leishmania, segundo a teoria Africana

Estudo de sequências moleculares recentes reavivou o interesse sobre a origem e evolução do gênero *Leishmania*. Noyes (1998) renovou a hipótese de uma origem neotropical para o gênero, usando argumentos baseados, principalmente, nas relações filogenéticas de sequências de genes. Esta hipótese foi contestada por Kerr (2000) que, em seu lugar, propôs uma origem paleártica para *Leishmania* e sugeriu que o gênero só foi introduzido na região neotropical durante o Plioceno, após a formação do estreito do Panamá, cerca de 3 milhões de anos atrás.

Uma proposta alternativa sobre a filogenia de *Leishmania* com base nas principais divisões dentro do gênero é apresentada por Momen e Cupolillo (2000). Nessa hipótese, a origem Neotropical é mantida para *L. (Viannia)* e *ParaLeishmania*, uma seção recentemente descrita dentro do gênero *Leishmania*, enquanto uma origem Africana é proposta para *L. (Leishmania)* e, possivelmente, *SauroLeishmania*. A distribuição atual de *Leishmania* na região Neotropical é explicada como o produto de várias introduções de *Leishmania* parasitas para o novo mundo (MOMEN; CUPOLILLO, 2000)

Segundo Kerr (2000), o cenário de evolução da *Leishmania* propõe que *SauroLeishmania* originou-se em répteis do Cretáceo, na região Paleártica. A Terra esfriou, os répteis diminuíram, e durante o Cenozoico, mamíferos irradiaram. Uma espécie de flebotomíneo ancestral para *Phlebotomus* e *Lutzomyia* adaptou a alimentação para roedores, em vez de répteis; tocas de roedores com alta umidade e abrigo do frio, tanto para roedores e insetos-vetores. *Leishmania*, junto com seu vetor flebotomíneo e um reservatório roedor, poderiam ter evoluído na Paleártica e se dispersado no Neártico, no final do Eoceno, momento em que a ponte de terra entre a Paleártica e Neártica estava intacta, e o clima era suficientemente quente para permitir a dispersão de flebotomíneos (KÜRTEEN, 1972). O registro fóssil dos flebotomíneos, por mais escasso que possa ser, fornece um ponto de separação de *Phlebotomus* e *Lutzomyia* durante o Oligoceno, coincidindo com uma interrupção na conexão com a contiguidade de terras do Paleártico com o Neártico.

Após a formação da ponte Panamenha Land Bridge há 3 milhões de anos, a radiação de roedores *Sigmodontine*, *Leishmania* e *Lutzomyia* acelerou-se rapidamente. Quando o clima úmido voltou a esquentar, flebotomíneos puderam ter sido libertados da prisão de tocas de animais e passaram a habitar o dossel da floresta. A variedade de mamíferos arborícolas pode, então, ter substituído animais que viviam em tocas como hospedeiros de *Leishmania*. Mamíferos de origem sul-americana, como roedores, porcos-espinhos, preguiças e gambás, por falta de exposição prévia, podem ter sido particularmente suscetíveis a elas. Operando em conjunto com a mudança climática e vicariante, a adaptação a novos hospedeiros mamíferos pode ter acelerado muito a taxa de especiação de *Leishmania*.

A hipótese sobre a origem de *Leishmania* na região Neotropical, segundo Momen e Cupolillo (2000), melhor reflete os dados sistemáticos moleculares disponíveis e, em especial, as grandes diferenças entre a *ParaLeishmania* e os subgêneros *EuLeishmania Viannia* e *Leishmania* (Tabela 02).

Tabela 02 - Distribuição dos principais grupos de *Leishmania*

Distribution of principal <i>Leishmania</i> groups			
Genus/sub-genus/species	Section	Vector	Distribution
Sauroleishmania	?	<i>Sergentomyia</i>	Old World
<i>L. (Leishmania)</i>	Euleishmania	<i>Phlebotomus/Lutzomyia</i>	Worldwide
<i>L. (Viannia)</i>	Euleishmania	<i>Lutzomyia</i>	New World
<i>L. hertigi, L. deanei</i> ^a	Paraleishmania	<i>Lutzomyia</i>	New World
<i>L. colombienseis, L. equatorensis, L. herreri</i> ^a	Paraleishmania	<i>Lutzomyia</i>	New World

^a: includes laboratory strains currently classified as *Endotrypanum*.

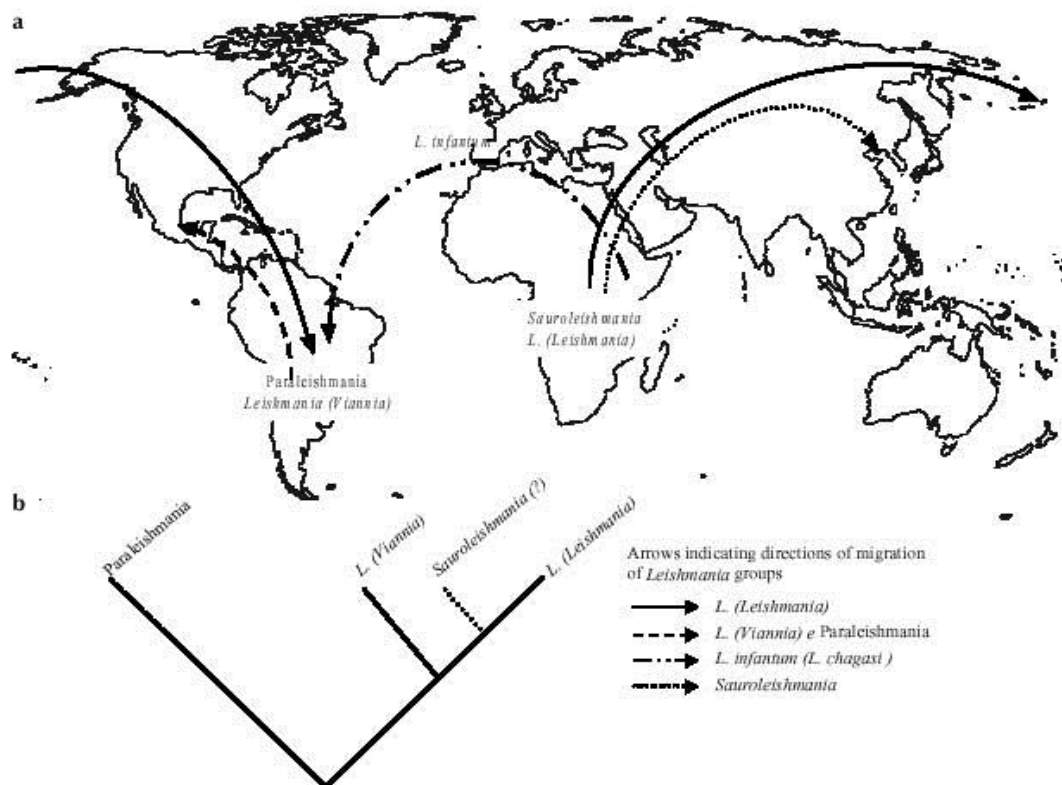
Fonte: MOMEN; CUPOLILLO, 2000

É importante comparar filogenias com base em vários genes independentes que exibem diferentes pressões evolutivas, como sugerido por Phillippe (1998). Ele sugere o fator de alongação (EF-1^{um}), proteína de choque térmico (HSP70) e gliceraldeído -desidrogenase (GAPDH) de genes, que codificam uma única cópia de todos os genes de proteína, como candidatos para o estudo da sistemática molecular de cinetoplastídeos.

Momen e Cupolillo (2000) propuseram uma origem Africana de *L. (Leishmania)* associada com *SauroLeishmania* e quatro eventos distintos ou introduções do gênero *Leishmania* na região neotropical (Figura 12). *L. (Viannia)*, com a separação de Gondwana no Mesozoico; *ParaLeishmania* com a introdução de roedores *hys-tricomorph* no início do Cenozoico; *L. mexicana* com a formação da ponte de terra panamenha no Plioceno e *L. chagasi*, mais recentemente (Figura 12).

A taxonomia da *Leishmania* foi, por muitos anos, baseada na evolução e no aspecto clínico da doença por ela provocada, na morfologia do parasita, no seu desenvolvimento em meio de cultura e em seus vetores, distribuição geográfica, assim como pela infecção experimental em animais de laboratório. Posteriormente, métodos bioquímicos e imunológicos, tais como padrões de isoenzimas, mapeamento de DNA, reatividade imunológica a anticorpos monoclonais e análise de ácido graxo, foram utilizados para esse fim, melhorando substancialmente a caracterização de cepas isoladas (KONTOS; KOUTINAS, 1993).

Figura 12 – a: Mapa indicando possíveis rotas de migração de grandes grupos de *Leishmania*; b: Filograma mostrando as relações entre os principais grupos de *Leishmania*



Fonte: MOMEN; CUPOLILLO, 2000.

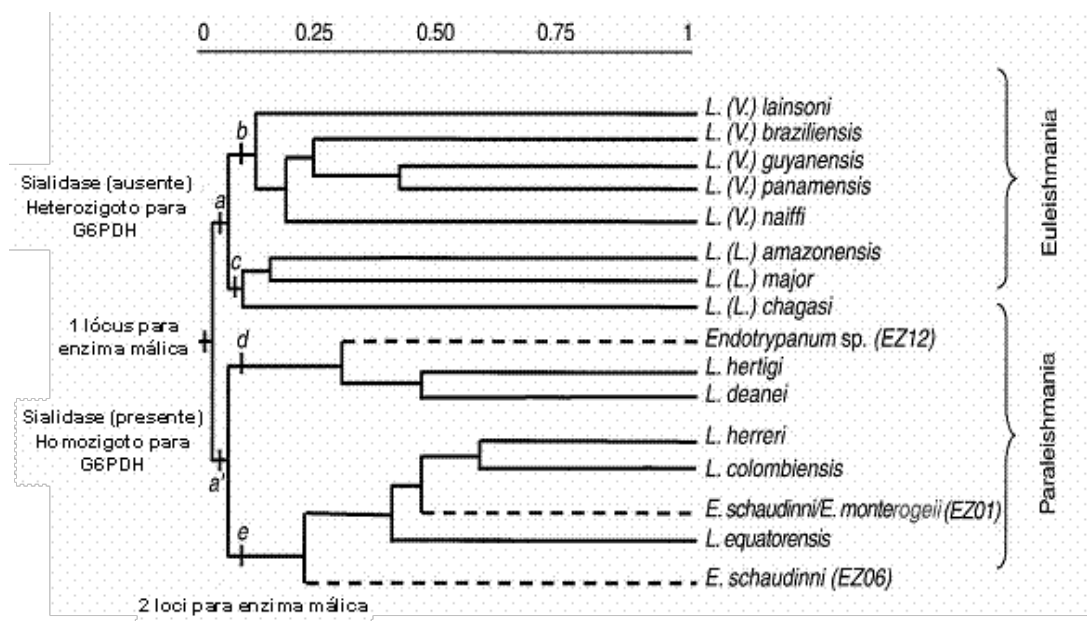
Em 1986, por técnica de padrão de isoenzimas, Morenos et al. demonstraram que o complexo *L. infantum* estava presente apenas em áreas do Mediterrâneo Central e Oeste, com três zimodemas para a forma visceral e cinco para a forma cutânea; além disso, propuseram que os complexos *L. infantum* e *L. donovani* se separaram há 2 milhões de anos, diversificando-se no Pleistoceno ou, talvez ainda, em tempos mais modernos.

Em 1987, as linhagens de *Leishmania* do novo mundo foram classificadas em dois subgêneros de acordo com a sua localização no vetor: *L. (Leishmania)* quando o desenvolvimento do parasita ocorre no intestino anterior e médio do flebótomo e *L. (Viannia)* quando se desenvolve no intestino posterior (LAINSON; SHAW, 1987).

Estudos mais recentes (CUPOLILLO et al., 2000), utilizando técnicas moleculares propõem duas linhagens filogenéticas principais e divergentes para o gênero *Leishmania*, que podem ser denominadas de seções, por analogia ao gênero *Trypanosoma*. A seção denominada *EuLeishmania* inclui espécies classificadas dentro dos subgêneros *L. (Leishmania)* e *L. (Viannia)*. A *ParaLeishmania* compreenderia as espécies com classificação prévia ainda incerta como *L. herreri*, *L. equatoriensis*, *L. deanei*, *L. hertigi*, *L. colombiensis* e

amostras de *Endotrypanum*. Essa divisão em seções é corroborada pelas análises da presença ou ausência da atividade das enzimas sialidase e málica, e por estrutura (homozigose ou heterozigose) da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G₆PDH) (Figura 13).

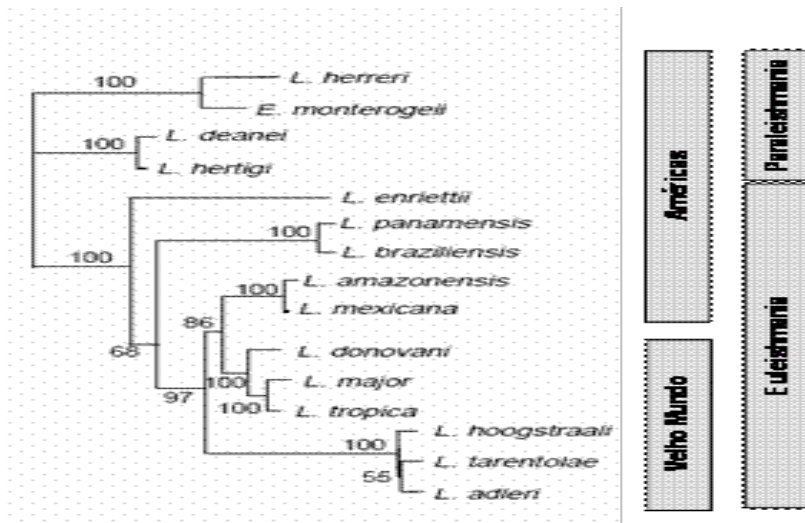
Figura 13- Dendrograma de eletroforese de isoenzimas (*Multilocus Enzyme Electrophoresis – MLEE*) de espécies de *Leishmania* e *Endotrypanum*



Fonte: CUPOLILLO et al., 2000.

Noyes et al. (2000) empregaram uma combinação de seqüências de genes de DNA e RNA polimerases para a análise filogenética de 16 *Leishmanias* e espécies associadas, do Novo e do Velho Mundo. O dendrograma obtido (Figura 14) é compatível com aquele proposto por Cupolillo et al. (2000) e confirma a separação das espécies da seção *ParaLeishmania* daquelas da seção *EuLeishmania*, assim como também agrupa as espécies pertencentes aos subgêneros *Viannia* e *Leishmania* em dois grupos distintos.

Figura 14 - Relação filogenética entre sequências da subunidade catalítica da DNA polimerase e a subunidade maior da RNA polimerase II selecionadas de espécies de *Leishmania* e *Endotrypanum*

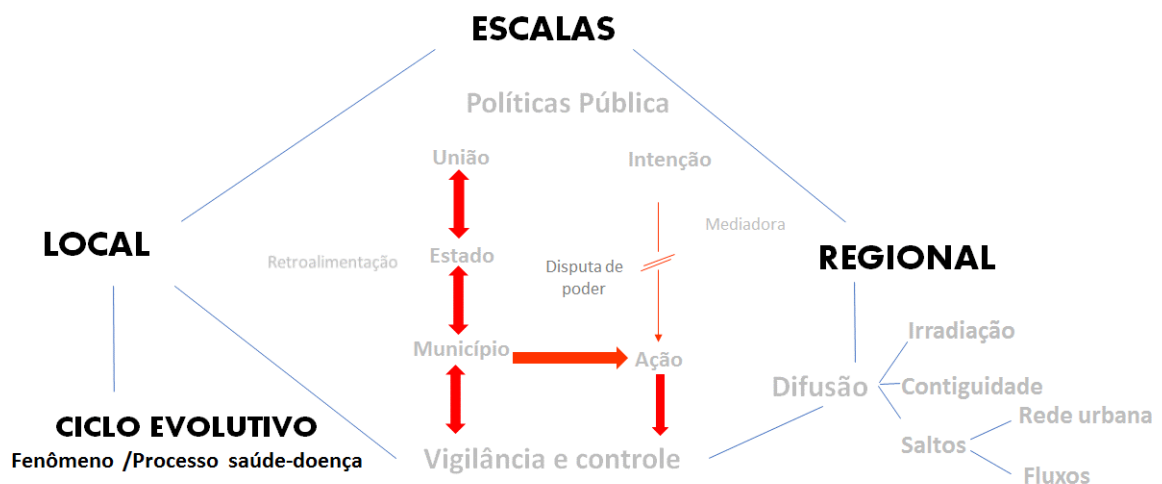


Fonte: Adaptado de NOYES et al., 2000.

Principais contribuições da revisão de literatura para a tese

A revisão de literatura possibilitou o reconhecimento da importância do estudo de fatores determinantes para a compreensão da dispersão da leishmaniose visceral. Dentre estes fatores, a literatura internacional destaca a dinâmica de ocupação de espaços, assim como as constantes alterações do ambiente, as profundas modificações sociais, as migrações intra e interestaduais e a precariedade ou inexistência de saneamento básico. Por sua vez, a própria história evolutiva das leishmanioses no mundo comprova a influência dos fatores determinantes e que evidenciam perpetuar no tempo e espaço, a menos que mudanças profundas ocorram nas políticas públicas e que sejam eficientes e inovadoras ao ponto de conseguir mudar o rumo da história evolutiva das leishmanioses. Em vista dessa compreensão sobre o tema, na presente tese iremos integrar na análise quais são as rotas de dispersão e os padrões de distribuição espacial da doença, sem perder de vista a capacidade de resposta do sistema de vigilância e controle da leishmaniose visceral.

Capítulo II - Identificação de espécies de *Leishmanias* circulantes na população canina da Rede Regional de Atenção à Saúde - RRAS 11 de Presidente Prudente



Na figura acima está representado em destaque no modelo esquemático das discussões norteadoras da tese, o que será debatido nas discussões como forma de nortear o entendimento no presente capítulo embasada em articulações escalares local e regional que envolvem o ciclo evolutivo da *Leishmania* no território, produzindo o fenômeno/processo saúde-doença.

Pouco se conhece sobre a diversidade das espécies de *Leishmanias* circulantes na RRAS 11 de Presidente Prudente. Considerando-se o arsenal de técnicas e metodologias hoje disponíveis para a identificação específica e mesmo de subpopulações dos protozoários do gênero *Leishmania*, torna-se imprescindível conhecer a distribuição espacial e as rotas de dispersão no Estado de São Paulo e suas interações escalares, com base na infecção em humanos e animais, para o esclarecimento de áreas silenciosas ou de importância epidemiológica, melhoria do diagnóstico laboratorial e na prospecção de fatores ambientais associados à transmissão.

Os diferentes métodos diagnósticos utilizados para cada forma de leishmaniose (cutânea, visceral ou muco cutânea) variam muito, porém o achado principal em todos os casos continua sendo o isolamento ou a identificação do parasita em tecidos apropriados (EVANS, 1993).

O exame microscópico direto é a forma mais simples e rápida de fazer o diagnóstico de leishmaniose, embora não detecte o parasita em todos os casos (ANDRESEN et al., 1996). As lâminas devem ser submetidas à fixação com metanol e coloração pelo *Giemsa*, considerada a melhor no sentido de identificação das formas amastigotas do parasita. Os amastigotas de *Leishmania* são células pequenas, ovoides ou arredondadas, com finas membranas celulares, núcleos relativamente grandes e cinetoplasto em forma de bastões. São vistos no interior de histiócitos, assim como no meio extracelular. Os cinetoplastos coram-se em vermelho pelo *Giemsa*.

Dependendo do investigador e da técnica utilizada, os esfregaços têm positividade de 50% a 80% (KALTER, 1996). Dados da literatura (BAHAMDAN et al., 1996) indicam que o esfregaço é um exame essencial no diagnóstico da leishmaniose, sendo usado rotineiramente por patologistas para espécimes de pele e outros tecidos, punção de linfonodo e medula óssea, *imprints* de baço, fígado e linfonodo.

A princípio, o *Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay* (ELISA)[®] BioManguinhos foi utilizado como método de triagem e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)[®] BioManguinhos como método confirmatório. A partir de 2012, a triagem passou a ser realizada com imunocromatografia de dupla migração, o teste rápido (TR) DPP[®] e o confirmatório dos casos reagentes com ELISA[®], ambos BioManguinhos. O cenário existente parece que os municípios com transmissão mais antiga apresentavam maior concordância entre os testes, demonstrando maior circulação do parasita; já em municípios de transmissão

mais recente apresentavam maior discordância, possivelmente em detrimento da circulação do parasita (D' ANDREA et al., 2015b). Geralmente, com o passar do tempo, essa discordância diminuía até patamares similares observados em diferentes municípios com transmissão mais antiga.

BRASIL (2006) preconiza o crescimento primário e o isolamento do parasita por meio de cultura um método empregado na visualização de formas promastigotas de *Leishmania* spp. em diversos materiais biológicos para o diagnóstico parasitológico indireto das leishmanioses tegumentar e visceral em hospedeiros humanos e em animais (BRASIL, 2009).

A capacidade de isolar *Leishmania* de diferentes materiais biológicos é dependente tanto da espécie do parasita quanto do meio de cultura acelular utilizado. O método de cultura “in vitro” é o mais rápido e sensível caminho de isolamento de *Leishmania* com os resultados usualmente obtidos de uma a três semanas. Os meios de cultura que possuem todos os seus componentes definidos e que são mais usados são: o *Novy MacNeal* e Nicolle - NNN (Ágar sangue modificado) suplementado com o meio líquido *Liver Infusion Triptose* – LIT, o meio sólido *Blood Agar Base* (BAB) suplementado com a meio líquido *Brain Heart Infusion* (BHI) e o meio de *Drosophila Schneider*, acrescido de 10% de soro fetal bovino (SFB), com cultivo entre 24°C e 26°C (EVANS, 1993; SCHUSTER; SULLIVAN, 2002).

Howard et al. (1991) demonstraram que a urina humana estéril é um possível fator de crescimento substituto ao soro fetal bovino que estimula a divisão celular *in vitro* de *Leishmania*, podendo facilitar o cultivo primário de células infectadas, numa concentração de 5%. Armstrong e Patterson (1994) relataram que a urina humana estéril, adicionada ao meio de cultura, também estimula a divisão celular de formas promastigotas e facilita o cultivo primário de células infectadas, podendo substituir o soro fetal bovino nos meios de cultura.

Em 1996, Belkaid et al. propuseram um meio de cultura mais simples, constituído apenas por soro de coelho coagulado. O autor compartilha a opinião geral de que o meio NNN e BAB-BHI são simples e suficientes para o diagnóstico, porém considera sua composição, preparação e conservação complexas para zonas endêmicas de leishmaniose, onde haveria pouca infraestrutura sanitária, sugerindo alternativa que atenderia a tais exigências.

O crescimento dos organismos da maioria das espécies costuma ocorrer de uma a duas semanas, mas as culturas devem ser mantidas e examinadas por quatro semanas com observação, antes da liberação do resultado negativo. De uma forma geral, tanto o esfregaço

para exame direto quanto a cultura devem ser feitos em casos suspeitos de leishmaniose, já que casos de esfregaços positivos podem ter cultura negativa e vice-versa (BERMAN, 1997).

Há métodos de biologia molecular, como a *Polymerase Chain Reaction* (PCR), isto é, reação em cadeia da polimerase, dotados de grande sensibilidade no diagnóstico das leishmanioses (PARVIZI et al. 2005; FAGUNDES et al. 2010). Essa técnica, entretanto, necessita de equipe especializada, infraestrutura adequada, tornando pouco prática e também onerosa sua execução, estando ainda distante de entrar na prática diária. Importante, procurar, dentro da realidade do país, aperfeiçoar os métodos disponíveis em todos os níveis de saúde que permitam direcionar a terapêutica e melhorar o prognóstico da doença (LASKAY et al., 1995; SAMPAIO et al. 2002).

Têm-se observado diferenças significativas no padrão sorológico apresentado nas diferentes regiões dentro da RRAS 11 de Presidente Prudente. A princípio essas diferenças foram atribuídas em função da introdução de novas áreas em transmissão dentro da RRAS 11, pois se percebia que esse padrão diferenciado se caracterizava por apresentar discordâncias entre os testes sorológicos de triagem e confirmatório, independente da metodologia utilizada. Observa-se, também, que esse mesmo fenômeno vem ocorrendo em alguns municípios de transmissão mais antiga, em determinados períodos. Fato intrigante é que, em alguns municípios, como Teodoro Sampaio, esse cenário padrão não ocorre e, mesmo passados anos após a identificação do primeiro caso canino autóctone, esse mesmo cenário de alta discordância entre o teste de triagem sorológica e confirmatório se mantém. O fato suscitou enorme curiosidade de pesquisa e nos levou a suspeitar da possibilidade da circulação de uma outra espécie de *Leishmania* que pudesse estar causando esse padrão diferente.

Em vista do exposto, no presente capítulo reunimos os resultados obtidos nas atividades de pesquisa que tiveram como objetivo isolar a *Leishmania* spp. em meio de cultura e identificar as espécies de *Leishmanias* circulantes na população canina da Rede Regional de Atenção à Saúde - RRAS 11 de Presidente Prudente, no período de novembro de 2014 a março de 2017.

Para isto, foi desenvolvida uma análise com base populacional, no delineamento transversal e coleta de dados *in loco*. As informações da RRAS 11 de Presidente Prudente - SP utilizadas na pesquisa foram geradas em um nível de agregação do município, para construção do banco de dados alfanumérico. Esses dados foram convertidos em mapas temáticos, analisados por superfícies de interpolação, e fluxos baseados em geometrias de pontos, para estudar as conexões existentes.

Critério de seleção de áreas prioritárias dentro da RRAS 11 de Presidente Prudente

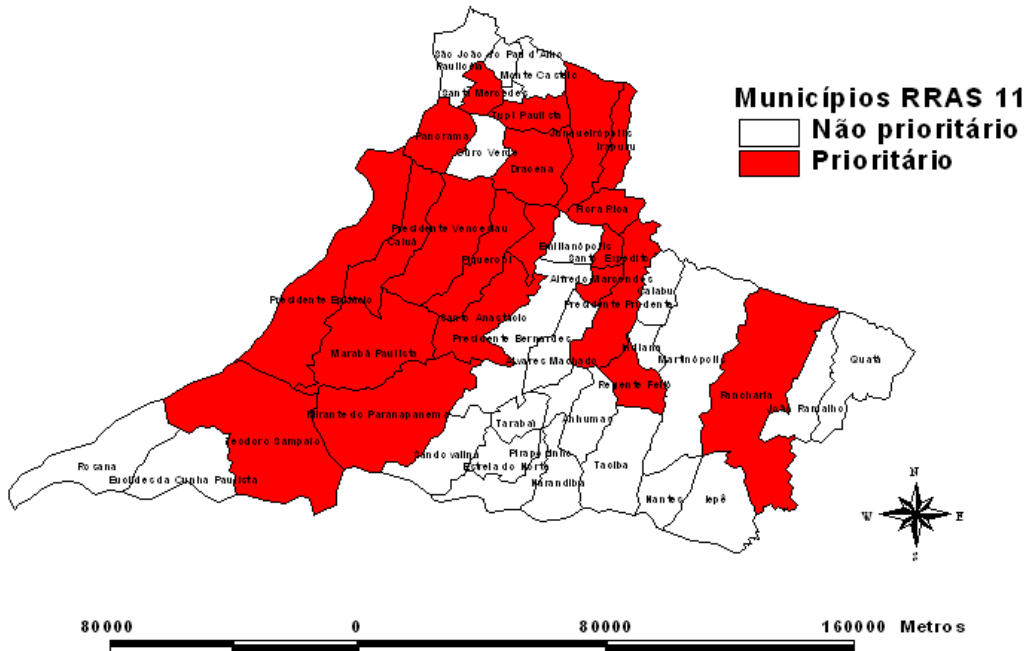
Foi realizada uma maior intensidade de atuação em municípios selecionados por configurarem “área prioritária” em Saúde Pública pela intensidade de transmissão humana e canina da LV (como é o caso de Dracena, Presidente Epitácio e Presidente Venceslau), por abrigarem um grande número de assentamentos de reforma agrária – caso de Teodoro Sampaio – e naqueles municípios que se encontram em investigação e/ou de transmissão recente de transmissão canina da LV – caso de Álvares Machado, Anhumas, Caiuá, Emilianópolis, Marabá Paulista, Piquerobi, Rancharia, Regente Feijó, Santo Anastácio e municípios que têm apresentado um padrão diferenciado de LV, como é o caso de Presidente Prudente.

Os critérios de seleção dos municípios por serem “áreas prioritárias” da RRAS 11 para colheita de material canino para isolamento em meio de cultura bifásico com fase sólida de ágar sangue (BAB) e fase líquida de infusão de cérebro e coração (BHI) e diagnóstico molecular para identificação de espécies foram: a) municípios do Estado de São Paulo que fazem fronteira com outros Estados e/ou possuem assentamentos de Reforma Agrária – caso de Teodoro Sampaio, Presidente Epitácio, Panorama, Tupi Paulista b) eixo de circulação de mercadorias e prestação de serviços – Dracena, Irapuru, Flora Rica, Santo Expedito, Alfredo Marcondes, Presidente Prudente, Presidente Venceslau, Santo Anastácio (Figura 15).

Critério de seleção dos cães

O critério utilizado para a inclusão dos cães para realização de isolamento em meios de cultura bifásico BAB-BHI e diagnóstico molecular para identificação da espécie no estudo: exigia: 1- possuir sorologia reagente para LV; 2- pertencer a áreas prioritárias dentro da RRAS 11 de Presidente Prudente.

Figura 15 - Distribuição dos municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, segundo critério de seleção “área prioritária” para realização de diagnóstico molecular para pesquisa de espécies de Leishmanias



Fonte: CLR IAL PP V. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Métodos

Para entender o contexto da área, foi realizado o levantamento de dados secundários, para constituir a criação de bases cartográficas que foram elencadas como explicativas do fenômeno estudado (LV), com base na bibliografia sobre o tema.

A comparação das diferentes experiências, assim como os resultados laboratoriais de diagnóstico das leishmanioses foi incorporada nas camadas de informação dos mapeamentos e análises cartográficas que foram realizadas.

A segunda etapa foi o tratamento cartográfico da informação.

Identificação das Espécies de Leishmanias e Análise Crítica das Técnicas Laboratoriais que Constituem Arsenal do Diagnóstico da (s) Leishmanioses para melhor Compreensão do Processo Saúde-Doença

O PVCLV prevê a realização de inquérito sorológico canino do tipo amostral e/ou censitário. Foi utilizada amostragem estratificada por conglomerados, utilizando-se como estrato o setor do Aedes (setorização utilizada no Programa de Controle de Dengue) e como conglomerado, o quarteirão.

A colheita de material biológico (sangue, aspirado de medula óssea e linfonodo, aspirado e fragmento de baço e/ou fígado) foi realizada pelo médico veterinário responsável pelo serviço de zoonoses dos respectivos municípios em estudo, conforme rotina programada dos inquéritos sorológicos e necessidade de isolamento e identificação da espécie de *Leishmania* com procedimentos específicos para cada material coletado. Após coletados e identificados, os materiais foram triados, acondicionados e enviados ao CLR – IAL- PP V, o laboratório de referência para esse agravo na região. A triagem sorológica com teste rápido (TR) DPP BioManguinhos para LVC foi realizada, geralmente, pelos serviços de controle de vetores/zoonoses municipais e a confirmação sorológica pelo ELISA, foi realizada todos pelo CLR – IAL- PP V, que é referência regional para LV.

O Laboratório de Parasitologia do Núcleo de Ciências Biomédicas CLR – IAL- PP V foi o responsável pelo diagnóstico das leishmanioses, que realizou exames parasitológicos (microscópico direto após a coloração por *Giemsa* e cultura e isolamento em meio bifásico BAB-BHI) e sorológico ELISA.

Os métodos moleculares: extração de DNA e execução do PCR foram realizados pelo Núcleo de Ciências Biomédicas – CLR – IAL Bauru II, com recurso do Laboratório de Biogeografia e Geografia da Saúde (LABGEO) da UNESP de Presidente Prudente, Projeto FAPESP- Processo: 2012/23959-9 (Vigência: 01/08/2013 a 31/07/2018).

O repasse dos Kits e insumos recebidos do MS para o diagnóstico sorológico da LVC (TR DPP e ELISA BioManguinhos), bem como o controle de qualidade e a distribuição dos meios de cultura bifásico BAB-BHI foram de responsabilidade do Centro de Parasitologia e Micologia – IAL Central.

Segundo o que preconiza o manual do PVCLV, os inquéritos sorológicos devem ser realizados pelos municípios, por meio do TR DPP, para a triagem de LVC, e o confirmatório

dos reagentes realizado pelos laboratórios de referência, por meio do teste de ELISA, ambos da Bio-Manguinhos®/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (RJ), seguindo suas recomendações de uso, após serem testados pelo Centro de Parasitologia e Micologia – IAL – Central.

Amostragem para pesquisa de espécies de Leishmania:

Para cultura e isolamento de *Leishmania* spp., em meio bifásico BAB-BHI, foram utilizadas 181 amostras biológicas, pertencentes a 104 cães confirmados sorologicamente reagentes (TR DPP e ELISA para LV canino, ambos da BioManguinhos); para LVC de 21 municípios selecionados, sendo 46 coletadas de aspirado de linfonodo, 30 de aspirado de medula óssea, 55 de baço e 50 de fígado (Tabela 03). Na sequência, essas amostras, conservadas em frasco estéril com gentamicina, foram encaminhadas ao CLR – IAL PP V, para serem semeadas em meios de cultura bifásico BAB-BHI, no prazo de 24 horas, no máximo, para isolamento de *Leishmania*. Juntamente, foi enviada uma segunda amostra de sangue coletado dos cães para obtenção de soro, em que foram retestados para sorologia, TR DPP e ELISA para LV canino, ambos da BioManguinhos. Foram realizadas análises moleculares para a amplificação de DNA de espécies de *Leishmania* provenientes das culturas obtidas e/ou do material biológico armazenadas em freezer -80 °C, utilizando diferentes *primers* já descritos na literatura. Não foram utilizados dados primários (coletas) de amostras humanas.

A extração de DNA das amostras de cultura foi realizada utilizando-se o Kit *Illustra Tissue & Cells genomic Prep Mini Spin* (GE Healthcare), conforme instruções do fabricante. A quantificação de DNA foi avaliada em espectrofotômetro (Epoch-Biotek).

A amplificação do DNA foi realizada utilizando-se os *primers* já descritos na literatura para *Leishmania* spp.: LITSR (5'-CTGGATCATTTCGATG-3') e L5.8S (5'-TGATACTTATCGCACTT-3') (EL TAI et al., 2000).

Para *L. infantum* utilizaram-se os *primers* LCS1 e LCS3, resultando em produtos de 259 pares de base (pb) (NETO et al., 2012). Para *L. major* foram utilizados os *primers* CSB1XR (5'-ATTTTTCGCGATTTTCGAGAACG-3') e CSB2XF (5'-CGAGTAGCAGAACTCCCGTTCA-3'), seguido da *Nested-PCR* com os *primers* 13Z (5'-

ACTGGGGGTTGGTGTAAAATAG-3`) e LIR (5'-TCGCAGAACGCCCCTG-3`) resultando em produtos de 560 pb (POURMOHAMMADI et al., 2008).

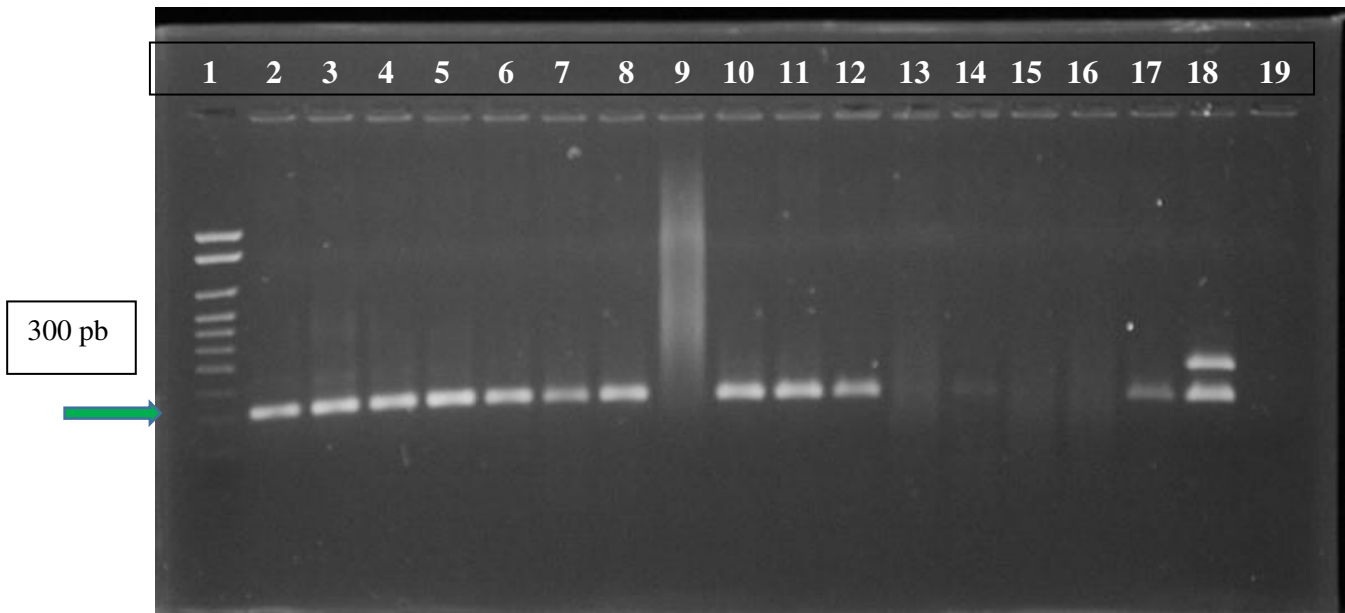
Para *L. amazonensis* foram utilizados os *primers* A1 (5'-TGCGAGGATAAAGGGAAAGAA-3`) e A2 (5'-TGCCCTGACTTGCATGTCTA-3`, resultando em produtos de 62 pb (MIMORI et al., 1998).

Para *L. braziliensis* foram utilizados os *primers* B1 (5'-GGGGTTGGTGTAAATATAGTGG-3`) e B2 (5'-CTAATTGTGCACGGGGAGG -3`) resultando em um produto de 750 pb (DE BRUIJN; BARKER, 1992).

De modo geral, as reações de PCR foram realizadas em microtubo de 0,5 mL com volumes totais de 25 µL contendo tampão de reação (20 mM Tris HCl pH 8,0, 50 mM KCl), 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 10 pM de cada *primer*, 1 unidade de *Taq* DNA polymerase (Invitrogen™, Life Technologies®, EUA) e 10 ng de DNA genômico. A incubação foi realizada em termociclador AB Veriti 96 well *Thermal Cycler* (Life Technologies®, EUA). A visualização do material amplificado foi avaliada pela corrida eletroforética em gel de agarose a 1,5% adicionado de 0,1 µL/mL de *SYBR Safe* DNA gel stain (Invitrogen™, Life Technologies®, EUA). Foram utilizados 8 µL do material amplificado e como marcador de peso molecular 4 µL de 100 pb *ladder* (Norgen Biotek, Canadá).

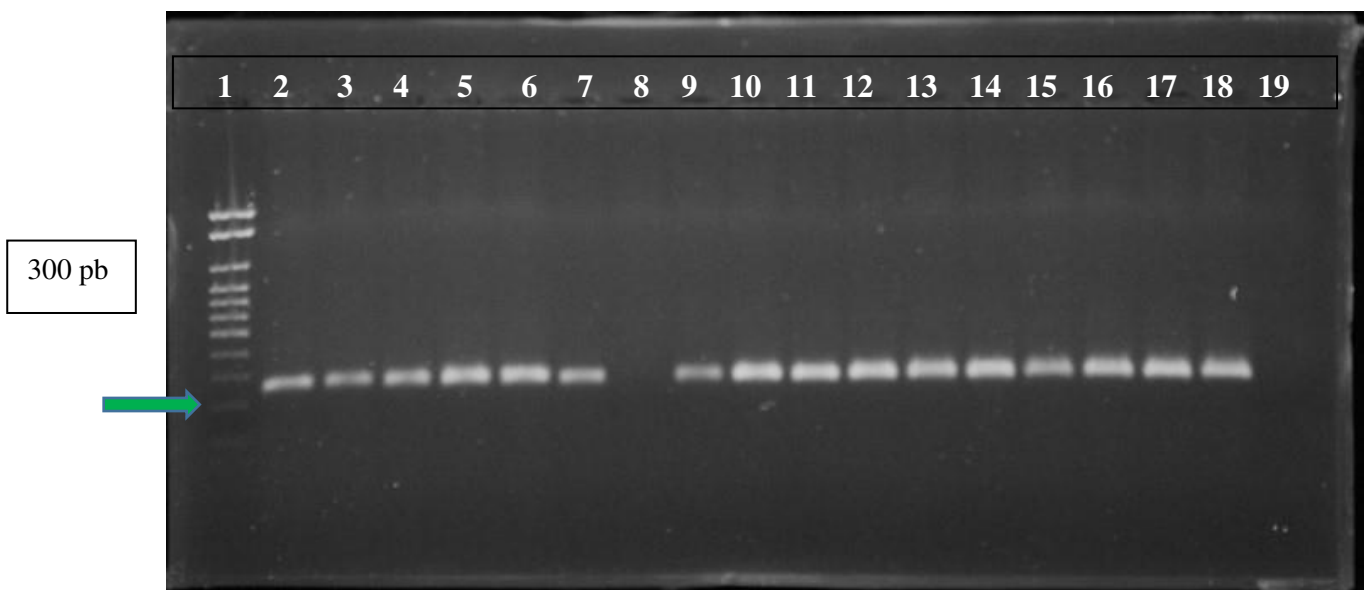
Para todas as amostras, foram acrescidos 2 µL do tampão de corrida (0,25% azul de bromophenol, 0,25% xileno cianol, 30% glicerol, 70% água Milli-Q). A eletroforese foi realizada em cuba horizontal, contendo TBE 1X (0,1M Tris, 0,09 M ácido bórico e 0,001 M EDTA) e a voltagem empregada foi de 65V. Após o término da corrida, o gel foi visualizado em transluminador de luz UV (MANIATIS et al., 1982) e a imagem capturada pelo sistema de documentação digital (Figuras 16 e 17).

Figura 16 - Gel 1,5% – primers *LITSR* e *5.8S* para gênero *Leishmania*



1. Marcador 100pb Norgen; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 17 amostras positivas; 9, 13, 14, 15, 16 amostras negativas; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H₂O. Fonte: CLR – IAL – Bauru II.

Figura 17- Gel 1,5% – primers *LcS1* e *LcS3* para espécie *Leishmania infantum*



1. Marcador 100pb Norgen; 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 e 17 amostras positivas; 8 amostra negativa; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H₂O. Fonte: CLR – IAL – Bauru II.

Levantamento de Dados Secundários

- Dados socioambientais obtidos em organizações como o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e Instituição de Terras do Estado de São Paulo (ITESP).

- Dados do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN) e do Centro de Vigilância Epidemiológica.

- Dados sobre inquéritos sorológicos para LVC já realizados e encerrados oficialmente em anos anteriores, para a caracterização da doença na RRAS 11 de Presidente Prudente - SP. Esses dados foram coletados no Sistema de Informação e Gestão Hospitalar, denominado SIGH, do Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz de Presidente Prudente e planilhas organizadas e compiladas em sistema Excel fornecidas pela Superintendência de Controle de Endemias (Sucen) – Regional de Presidente Prudente, cujas fontes de informações são do município e do CLR IALPP V.

A realização do presente estudo só foi possível por meio da integração de esforços que envolveram o Laboratório de Saúde Pública do Estado de São Paulo, o Instituto Adolfo Lutz (IAL) e o Laboratório de Biogeografia e Geografia da Saúde da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Unesp/Campus de Presidente Prudente-SP. O IAL contribui com recursos obtidos com a linha de fomento de auxílio à pesquisa em Políticas Públicas para o SUS, processo 12/51267-4: Aprimoramento do diagnóstico etiológico das leishmanioses no Estado de São Paulo: bases para a implantação de uma rede de laboratórios para a identificação das rotas de disseminação e monitoramento da diversidade fenotípica e genotípica dos protozoários do gênero *Leishmania*, sob a coordenação do pesquisador e diretor do Centro de Parasitologia e Micologia, Prof. Dr. José Eduardo Tolezano, em resposta às necessidades de revisão da política pública relativa à vigilância e ao controle das leishmanioses.

Com o desenvolvimento desse projeto, foi possível a capacitação da equipe técnica e a aquisição de incubadora de Demanda Bioquímica de Oxigênio (BOD), para a implantação da cultura em meio bifásico BAB-BHI no Laboratório de Parasitologia do Núcleo de Ciências Biomédicas do Centro de Laboratório Regional do Instituto Adolfo Lutz, de Presidente Prudente V (NCB CLR IAL PP V), para crescimento primário e isolamento da *Leishmania* spp. em diversos materiais biológicos, oriundos de municípios da RASS 11 de Presidente Prudente. Os meios de cultura foram confeccionados pelo setor de meios de cultura do IAL Central e distribuídos aos IALs regionais, através do Centro de Parasitologia e Micologia do IAL Central, conforme a necessidade e programação dos IALs regionais.

O Laboratório de Biogeografia e Geografia da Saúde da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Unesp/Campus de Presidente Prudente-SP, sob a responsabilidade do Prof. Dr.

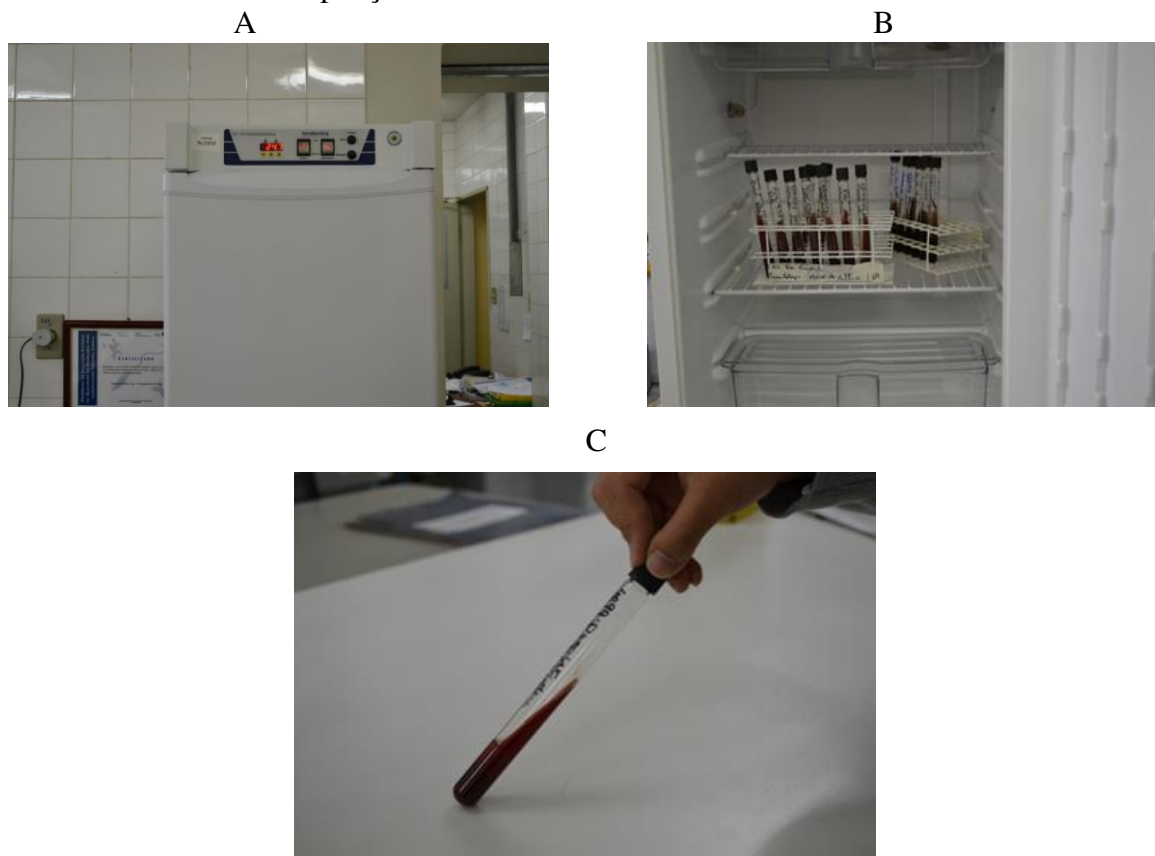
Raul Borges Guimarães, contribuiu com a aquisição de insumos para execução dos testes de biologia molecular para identificação de espécies de *Leishmania* em amostras biológicas canina com recursos do projeto FAPESP- Processo: 2012/23959-9: Mapeamento e análise do território do agro-hidronegócio canavieiro no Pontal do Paranapanema-São Paulo-Brasil: Relações de trabalho, conflitos e formas de uso da terra e da água, e a saúde ambiental.

O meio de cultura para *Leishmania* spp. é constituído de meio sólido BAB: *Blood Agar Base* em tubos de 16x160mm e Caldo BHI: *Brain Heart infusion* (com 200 µg/ml de gentamicina e 5% de urina humana estéril) como fase líquida em tubos 12x120mm. O meio de Cultura BHI com Urina 5% é constituído por:

- 1,66 mL de BHI
- 45 mL de água destilada
- 2,5 mL urina humana
- 3 mL gentamicina
- Autoclavar 120°C - 15 minutos
- Resfriar manter em geladeira de 4 a 8°C

Para esse procedimento o material para ser coletado, o animal foi sedado por via intramuscular com acepromazina (0,1-0,2 mg/kg) e cetamina (10 mg/kg). Procederam à anestesia no local da biópsia com lidocaína 2%. Aspirados de medula óssea, linfonodo, baço e fígado e fragmentos de baço, fígado e linfonodo foram obtidos e conservados em solução fisiológica estéril contendo 200 µg/ml de gentamicina. Após 24 horas no máximo, foram semeados em meio de cultura suplementado com 5% de urina humana. Os tubos com meio de cultura BAB-BHI (Figura 18C) foram incubados à temperatura de 26°C - 28°C em estufa BOD (Figuras 18A e 18B) e examinados por microscopia óptica, semanalmente. A cultura considerada positiva é aquela em que há o encontro de formas Só foi considerada cultura negativa, após 30 dias de incubação, com pesquisa semanal sem o encontro de formas do parasita. Esse exame possibilitou o isolamento de formas promastigotas, identificadas posteriormente por PCR, após serem criopreservadas em freezer -80°C.

Figura 18: Fotos da estufa BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) e tubos com meios de cultura BAB-BHI semeados com punção de linfonodo de cão



A - Estufa BOD; B- Estufa BOD com tubos semeados em meios de cultura BAB-BHI incubados em seu interior; C- Tubo de cultura semeado em meio BAB-BHI. Fonte: Arquivo pessoal de D'ANDREA, L.A.Z.(2017).

O diagnóstico molecular foi realizado no NCB CLR IAL Bauru II, sob a responsabilidade da pesquisadora científica Prof. Dra. Virginia B. Richini Pereira, com recursos do projeto FAPESP- Processo: 2012/23959-9.

Através do banco de dados obtidos, foram produzidos mapas a partir de uma base cartográfica, com informações sintéticas organizadas em Excell, por meio de operações de álgebra e análise exploratória e a utilização do SIG ArcGIS 10.3.

Resultados e discussões

Foram coletados 181 materiais biológicos de 104 cães provenientes de 21 municípios investigados (Tabela 01, Prancha 01- Figura 19A), dentre os 45 pertencentes à RRAS 11 de Presidente Prudente, elencados como prioritários (Figura 15).

Dos 104 cães, dos quais foram coletadas 181 amostras de diferentes materiais biológicos (Tabela 03), para isolamento de *Leishmania* spp. em meio de cultura bifásico BAB-BHI, houve o crescimento da *Leishmania* spp. em apenas 76 delas, representando 42% do total das amostras analisadas (Tabela 04). E do total de cães estudados, foram identificados por PCR, 40 deles infectados com gênero *Leishmania* e 49 com espécie *L. infantum*, representando respectivamente 38,5% e 44,2% do total analisado (Tabela 04).

Tabela 03 - Distribuição do quantitativo segundo o tipo de amostra biológica coletada de cães, para isolamento de *Leishmania* em meio de cultura bifásico BAB-BHI, segundo os municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente-SP

Municípios	N. cães (%)	Tipo Amostra Biológica				
		Sangue	Aspirado Linfonodo	Baço	Fígado	Aspirado Medula
Alfredo Marcondes	3	3	3	1	1	2
Caiuá	3	3	0	3	3	0
Dracena	1	1	0	1	1	0
Flora Rica	3	3	0	3	3	0
Irapuru	8	8	2	8	8	0
Junqueirópolis	3	3	0	3	3	0
Marabá Paulista	3	3	3	0	0	0
Mirante Paranapanem	3	3	3	0	0	0
Panorama	2	2	0	2	2	0
Piquerobi	6	6	1	4	2	2
Presidente Epitácio	5	5	1	4	2	5
Presidente Prudente	9	9	7	5	8	2
Presidente Venceslau	3	3	0	3	3	0
Rancharia	1	1	1	0	0	0
Regente Feijó	3	3	0	0	0	3
Ribeirão dos Índios	2	2	0	1	1	2
Santo Anastácio	4	4	0	0	0	4
Santa Mercedes	3	3	0	3	3	0
Santo Expedito	9	9	7	7	4	0
Teodoro Sampaio	25	25	15	3	3	10
Tupi Paulista	5	5	3	4	3	0
Total	104	104	46	55	50	30

Fonte: CLR – IAL PP V.

Tabela 04 - Distribuição dos resultados das culturas em meio de cultura bifásico BAB-BHI e das PCR para gênero e espécie de *Leishmania* dos materiais biológicos coletados de cães oriundos de municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente-SP

Municípios	N. cães (%)	TR DPP 2ª amostra		ELISA 2ª amostra		Parasitológico Direto		Cultura meio NNN			Genero <i>Leishmania</i>		Espécie <i>L. infantum</i>			Espécie <i>L. brasiliensis</i>			
		Reagente	Não Reagente	Reagente	Não Reagente	Positivo	Negativo	Positiva	Negativa	Contaminada	Positivo	Negativo	Não realizado	Positivo	Negativo	Não realizado	Positivo	Negativo	Não realizado
Alfredo Marcondes	3 (2,9)	3	0	3	0	3	0	3	4	2	1	0	2	2	0	1	0	0	3
Caiuá	3 (2,9)	3	0	3	0	3	0	2	2	4	1	0	2	1	0	2	0	0	3
Dracena	1 (0,9)	1	0	1	0	1	1	2	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1
Flora Rica	3 (2,9)	3	0	3	0	3	0	3	3	1	2	0	1	2	1	0	0	0	3
Irapuru	8 (7,7)	8	0	8	0	8	0	3	15	7	2	0	6	2	0	6	0	0	8
Junqueirópolis	3 (2,9)	3	0	2	1	2	1	6	3	0	0	1	2	1	0	2	0	1	2
Marabá Paulista	3 (2,9)	3	0	2	0	2	0	1	2	0	2	1	0	2	1	0	0	1	2
Mirante Paranapanema	3 (2,9)	3	0	2	1	0	0	0	3	0	0	3	0	0	1	2	0	1	2
Panorama	2 (1,9)	2	0	2	0	2	0	3	1	0	2	0	0	2	0	0	0	2	0
Piquerobi	6 (5,8)	6	0	6	0	6	0	7	2	2	1	0	5	3	0	3	0	0	6
Presidente Epitácio	5 (4,8)	5	0	5	0	2	0	9	3	1	3	0	2	5	0	0	0	1	4
Presidente Prudente	9 (8,7)	9	0	9	0	5	0	6	16	5	5	0	4	4	1	4	0	0	9
Presidente Venceslau	3 (2,9)	3	0	3	0	3	0	5	1	0	2	1	0	2	1	0	0	0	3
Rancharia	1 (0,9)	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
Regente Feijó	3 (2,9)	3	0	3	0	3	0	1	2	0	1	0	2	3	0	0	0	1	2
Ribeirão dos Índios	2 (1,9)	2	0	2	0	2	0	0	4	0	2	0	0	2	0	0	0	2	0
Santo Anastácio	4 (3,8)	4	0	4	0	3	0	4	0	0	2	0	2	3	0	1	0	0	4
Santa Mercedes	3 (2,9)	3	0	3	0	3	0	4	2	1	3	0	0	3	0	0	0	3	0
Santo Expedito	9 (8,7)	9	0	9	0	5	1	9	9	1	5	1	3	5	0	4	0	0	9
Teodoro Sampaio	25 (24)	19	6	2	4	8	2	0	31	7	1	8	16	1	8	16	0	0	25
Tupi Paulista	5 (4,8)	5	0	5	0	5	0	8	2	2	4	0	1	4	0	1	0	3	2
Total	104 (100)	98	6	78	6	70	5	76	105	33	40	15	49	49	12	43	0	15	89

Fonte: CLR – IAL PP V.

Na Prancha 01- Figura 19B, estão distribuídos espacialmente em seus respectivos municípios de origem os 76 cães que apresentaram cultura positiva para *Leishmania* nos materiais biológicos semeados em meios de cultura bifásico BAB-BHI. Na Prancha 01- Figura 19C, estão distribuídos espacialmente os 40 cães identificados com gênero *Leishmania* (os resultados da PCR para gênero se encontram na Tabela 04 e Anexo I, Figuras de 01 a 06) e na Figura 19D, os 49 cães identificados espécie *L. infantum* (os resultados da PCR para espécie se encontram na Tabela 04 e Anexo I, Figuras de 07 a 10), conforme o quantitativo de animais por município.

Houve dificuldade de isolamento da *Leishmania* spp., em meios de cultura bifásico BAB-BHI, pela grande quantidade de análises comprometidas em função da contaminação por fungos ou bactérias e/ou ambos, totalizando 33 amostras, representando 18,2% do total (Tabela 04). Embora, seja utilizado meio de transporte em solução fisiológica estéril contendo 200 µg/ml de antibiótico gentamicina, as condições de coleta a campo não permitem uma higienização boa o que provoca as contaminações.

O comportamento da *Leishmania* em meio de cultura bifásico BAB-BHI, proveniente de materiais coletados de cães de diferentes municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente,

apresentaram padrões de crescimento diferenciado. Enquanto as culturas de materiais caninos oriundos de municípios localizados na microrregião de Dracena na Alta Paulista apresentaram altos índices de crescimento em poucos dias, os provenientes do Pontal do Paranapanema (Teodoro Sampaio e Mirante do Paranapanema), Alta Sorocabana (Ribeirão dos Índios, Presidente Prudente, Regente Feijó) e Alto Capivari (Rancharia) tiveram maior dificuldade de crescimento e isolamento, apresentando índices mais baixos. Esse fato, provavelmente, pode ter ocorrido em função da *Leishmania* na microrregião de Dracena ter uma circulação mais antiga e com maior intensidade, demonstrando possuir uma cepa possivelmente mais bem adaptada ao meio de cultura bifásico BAB-BHI.

Já no Pontal do Paranapanema como é de transmissão mais recente de LV e local de sobreposição de LT, os resultados demonstram uma circulação com menor intensidade e/ou uma cepa com maior dificuldade de crescimento, no meio de cultura bifásico BAB-BHI, embora os cães sorologicamente confirmados com LV apresentem sintomatologia. A continuidade da pesquisa com disponibilidade de técnicas e equipamentos mais avançados é de extrema importância para melhor elucidar essa questão e mapear as diferenças gênicas do DNA da *Leishmania* que podem estar provocando esse padrão diferenciado de comportamento do parasita.

Outro fato que chama a atenção entre os municípios estudados da RRAS 11 de Presidente Prudente (Tabela 04) é o fato de não se ter conseguido isolar *Leishmania* spp. em nenhum dos cães oriundos de Teodoro Sampaio/SP. Isto é, não houve crescimento do parasita, apesar de Teodoro Sampaio ser o município que contribuiu com o maior número de cães investigados, ao todo 25, correspondendo a 24% do total analisado no período. Dentre as amostras coletadas, só foi possível identificar gênero *Leishmania* e espécie *L. infantum* em apenas um cão por PCR no IAL Central, no início da investigação, quando foi possível mudar a classificação do município para município em transmissão.

Outro fato intrigante que ocorreu com os resultados dos cães de Teodoro Sampaio é que dentre esses animais estudados, a maioria com sorologia confirmada para LVC, quando foram retestados numa segunda amostra (no período de 21 a 33 dias), por ocasião da coleta de material para cultura e coleta para confirmação sorológica, os cães não confirmam reatividade no teste ELISA ou até mesmo, em alguns casos, não confirmam reatividade no

teste de triagem TR DPP. Aí ficam algumas perguntas de pesquisa que precisam ser elucidadas:

- Estaria ocorrendo reação sorológica cruzada com outros tripanossomatídeos no TR DPP BioManguinhos?

- Seria uma outra espécie de *Leishmania* circulando no município e os métodos diagnósticos empregados não estariam detectando, ou apenas uma variante gênica da espécie *L. infantum* (sinonímia. *L. infantum chagasi*)?

- Por que o município continua com padrão sorológico inicial da doença em sua área geográfica, mesmo tendo se passado nove anos (9) anos do início da transmissão?

- Haveria algum fator ambiental funcionando como uma barreira geográfica e interferindo na adaptação e disseminação da *Leishmania* no território de Teodoro Sampaio?

- A equipe técnica do serviço de vigilância e controle do município de Teodoro Sampaio não estaria identificando áreas prioritárias do município, visto ser uma equipe pequena sem capacidade operacional para atuar na área urbana do município, sem contar os inúmeros assentamentos de reforma agrária que possui?

Nesse processo, é importante levar em conta na discussão que a ação humana gera arranjos de formas espaciais fundamentais, o que possibilita a reflexão acerca de conceitos geográficos de concentração e dispersão. A concentração espacial de um determinado fenômeno pode ocorrer de três tipos: *core*, eixo e borda. A concentração espacial do tipo *core* significa que há um centro ou núcleo de onde ocorre a dispersão de um determinado patógeno a partir daí. Concentração tipo eixo, significa que a concentração espacial possui uma linha que guia o movimento de dispersão de um determinado patógeno, ou seja, área de transição entre o núcleo *core* e a borda limítrofe; interface entre *core* e borda; concentração espacial intermediária com tendência de guiar o movimento de dispersão. Concentração tipo borda significa que a concentração espacial possui uma zona limítrofe ou fragmento, pode haver a dispersão ou não de um determinado patógeno, isto é, poderá ser encontrado ou não. Diante do exposto acerca de diferentes padrões encontrados no comportamento da *Leishmania* na RRAS 11 de Presidente Prudente, é possível correlacionar conceitos geográficos de

concentração e dispersão com a forma com que a LV se dispersa no sudoeste do Estado de São Paulo, Brasil. A concentração espacial pode se apresentar na forma *core*, eixo ou borda.

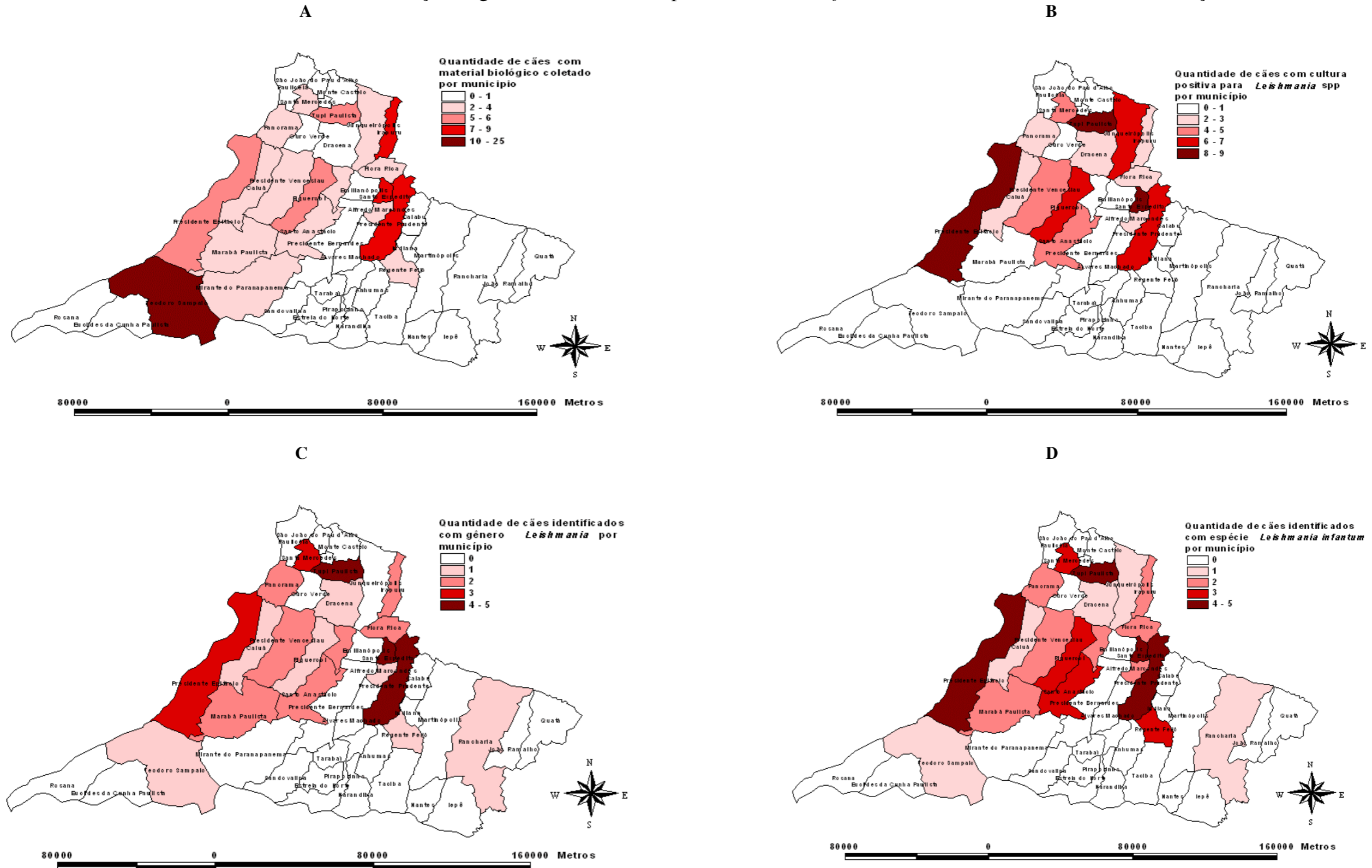
Municípios da microrregião de Dracena, na Alta Paulista, comportam-se como municípios *core*, por serem os primeiros municípios a notificar o encontro do inseto *Lutzomyia longipalpis*, vetor da LV, em casos caninos e humanos. A partir desses centros *core* de concentração de LV, houve a dispersão por diferentes rotas pela macrorregião de Presidente Prudente. Dracena pode ser considerada uma microrregião centro *core* de casos caninos e humanos diagnosticados com LV, alta concordância entre os testes sorológicos de diagnósticos de triagem e testes confirmatórios, facilidade no isolamento da *Leishmania* em meios de cultura apropriado e identificação de gênero espécie por PCR. A partir desse centro *core* de Dracena, a LV difundiu-se para outras regiões da macrorregião de Presidente Prudente, e o município sede dessa macrorregião, é um exemplo de município eixo, por apresentar poucos casos caninos e humanos de LV, concordância baixa entre os testes sorológicos de triagem e confirmatório e maior dificuldade de isolamento do parasita em meios de cultura e identificação de gênero e de espécie por PCR. Definimos municípios eixo como aqueles em que, gradualmente, o ciclo se estabelece no ambiente e o parasita tende a circular numa velocidade crescente.

Já em municípios borda o ciclo se estabelece, porém tem dificuldade de circular no ambiente, ora sendo identificado ora não. Teodoro Sampaio é um município considerado borda, por apresentar poucos casos de LVC, nenhum caso humano autóctone, apenas um caso importado e a concordância entre os testes sorológicos de triagem e confirmatório é extremamente baixa, não sendo possível o isolamento do parasita em meios de cultura bifásico BAB-BHI. Nesse caso, a identificação da espécie por PCR só foi possível no início da transmissão há nove anos. Em municípios considerados *core*, o ciclo da *Leishmania* se instala e permanece com alta circulação do parasita.

Provavelmente, existem fatores que influenciam diretamente no ciclo da *L. infantum* que retardam o seu completo estabelecimento e/ou o processo de competição com outras espécies de *Leishmanias*. Com esses resultados encontrados, podemos afirmar que os conceitos geográficos de concentração e dispersão podem ser aplicados para LV.

PRANCHA 01

FIGURA 19: Distribuição espacial representativa da situação de cada município quanto a coleta de material biológico para isolamento de *Leishmania* em meios de cultura NNN, os resultados das culturas, da identificação de gênero *Leishmania* e espécie *Leishmania infantum*. Período de novembro de 2014 a março de 2017



Fonte: CLR- IAL – PP V, SUCEN PP e CCZ Dracena. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Quadro 01- Resultados de PCR realizados no NCB-CLR-IAL Bauru-SP

Nº Amostra	Nome do cão	RA	Município	Material Coletado	Quantificação	PCR LITSR e 5.8S	PCR LcS1 e LcS3
						<i>Leishmania</i> spp.	<i>Leishmania infantum</i> (chagasi)
1	Pingo	57	Santo Expedito	biópsia de linfonodo	15,735	Positivo	Positivo
2	Bob	51	Santo Anastácio	punção linfonodo	4,139	Positivo	Positivo
3	Quike	137	Santo Anastácio	punção linfonodo	6,332	Positivo	Positivo
4	Malu	142	Santo Expedito	fragmento linfonodo	6,433	Positivo	Positivo
5	Malu	142	Santo Expedito	baço	9,034	Positivo	Positivo
6	Betina		Presidente Epitácio	fragmento baço	4,252	Positivo	Positivo
7	Betina		Presidente Epitácio	aspirado baço	7,616	Positivo	Positivo
8	Nick		Presidente Epitácio	fragmento baço	7,549	Positivo	Positivo
9	Nick		Presidente Epitácio	aspirado baço	1,641	Positivo	Positivo
10	Belinha		Panorama	fragmento baço	10,263	Positivo	Positivo
11	Cabrito		Panorama	fragmento fígado	16,502	Positivo	Positivo
12	Cabrito		Panorama	fragmento baço	7,23	Positivo	Positivo
13	Bidu	11078	Tupi Paulista	linfonodo	7,443	Positivo	Positivo
14	Bidu	11078	Tupi Paulista	linfonodo	9,08	Positivo	Positivo
15	Bidu	11078	Tupi Paulista	linfonodo	5,929	Positivo	Positivo
16	Bidu	11078	Tupi Paulista	linfonodo	1,318	Positivo	Positivo
17	Bidu	11078	Tupi Paulista	fragmento baço	4,141	Positivo	Positivo
18	Bidu	11078	Tupi Paulista	fragmento baço	6,312	Positivo	Positivo
19	Bidu	11078	Tupi Paulista	linfonodo	4,463	Positivo	Positivo
20	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	6,225	Positivo	Positivo
21	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	1,744	Positivo	Positivo
22	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	3,489	Positivo	Positivo
23	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	5,982	Positivo	Positivo
24	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	12,704	Positivo	Positivo
25	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	6,936	Positivo	Positivo
26	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	6,209	Positivo	Positivo
27	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	8,823	Positivo	Positivo
28	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	10,376	Positivo	Positivo
29	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	6,646	Positivo	Positivo
30	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	9,023	Positivo	Positivo
31	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	2,676	Positivo	Positivo
32	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	7,754	Positivo	Positivo
33	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	7,692	Positivo	Positivo
34	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	6,26	Positivo	Positivo
35	Camila	11047	Tupi Paulista	linfonodo	7,219	Positivo	Positivo
36	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	4,648	Positivo	Positivo
37	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	7,856	Positivo	Positivo
38	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	0,413	Positivo	Positivo
39	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	7,872	Positivo	Positivo
40	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	7,805	Positivo	Positivo
41	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	7,971	Positivo	Positivo
42	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	8,692	Positivo	Positivo
43	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	12,975	Positivo	Positivo
44	Sexta Feira	11063	Tupi Paulista	fragmento baço	6,848	Positivo	Positivo
45	Neguinha	11090	Tupi Paulista	fragmento baço	7,179	Positivo	Positivo
46	Neguinha	11090	Tupi Paulista	fragmento baço	8,415	Positivo	Positivo
47	Neguinha	11090	Tupi Paulista	fragmento baço	7,426	Positivo	Positivo
48	Neguinha	11090	Tupi Paulista	fragmento baço	6,094	Positivo	Positivo
49	Neguinha	11090	Tupi Paulista	fragmento baço	8,98	Positivo	Positivo
50	Neguinha	11090	Tupi Paulista	fragmento baço	3,078	Positivo	Positivo
51	Neguinha	11090	Flora Rica	fragmento baço	6,098	Positivo	Positivo
52	Maia	30	Flora Rica	baço	22,593	Positivo	Positivo
53	Maia	30	Flora Rica	fígado	30,4	Positivo	Positivo
54	Maia	30	Flora Rica	baço	3,397	Positivo	Positivo
55	Jully	33	Flora Rica	baço	4,709	Negativo	não realizado
56	Chiquinha	405	Dracena	fígado	4,463	Positivo	Positivo
57	Chiquinha	405	Dracena	baço	2,538	Positivo	Positivo
58	Kelvin	683	Piquerobi	baço	5,927	Positivo	Positivo
59	Neguinha	93	Santo Expedito	fígado	1,934	Positivo	Positivo
60	Neguinha	93	Santo Expedito	baço	5,861	Positivo	Positivo
61	Lupe	90	Santo Expedito	linfonodo	5,039	Negativo	não realizado
62	Lupe	90	Santo Expedito	baço	6,474	Negativo	não realizado
63	Neguinha	93	Santo Expedito	fígado	2,326	Positivo	Positivo
64	Neguinha	93	Santo Expedito	baço	5,549	Positivo	Positivo
65	Neguinha	11090	Tupi Paulista	SI	3,287	Positivo	Positivo
66	Rayca	17	Catuaí	fígado	1,94	Positivo	Positivo
67	Zuca	3510	Teodoro Sampaio	linfonodo	4,814	Negativo	não realizado
68	Zuca	3510	Teodoro Sampaio	Medula	2,328	Negativo	não realizado
69	Cristal	3771	Teodoro Sampaio	Medula	17,179	Negativo	não realizado
70	Pretinho	3763	Teodoro Sampaio	Medula	3,165	Negativo	não realizado
71	Pretinho	3763	Teodoro Sampaio	linfonodo	5,556	Negativo	não realizado
72	Presente	3764	Teodoro Sampaio	Medula	8,971	Negativo	não realizado
73	Presente	3764	Teodoro Sampaio	linfonodo	6,021	Negativo	não realizado
74	Jhuly	3498	Teodoro Sampaio	Medula	4,846	Negativo	não realizado
75	Jhuly	3498	Teodoro Sampaio	linfonodo	13,385	Negativo	não realizado
76	Presente	3764	Teodoro Sampaio	masserado	25,708	Negativo	não realizado
77	Presente	3764	Teodoro Sampaio	exoesqueleto	13,562	Negativo	não realizado
78	Cristal	3771	Teodoro Sampaio	macerado	3,253	Negativo	não realizado
79	Cristal	3771	Teodoro Sampaio	exoesqueleto	4,497	Negativo	não realizado
80	Pretinho	3763	Teodoro Sampaio	macerado	4,901	Negativo	não realizado
81	Pretinho	3763	Teodoro Sampaio	exoesqueleto	6,287	Negativo	não realizado
82	Rex	7003	Junqueirópolis	baço	3,294	Negativo	não realizado

Não realizado = Não foi realizado PCR com primers LcS1 e 3 por ter dado negativo com primers LITSR

Quadro 02- Resultados de PCR realizados no NCB-CLR-IAL Bauru-SP (continuação)

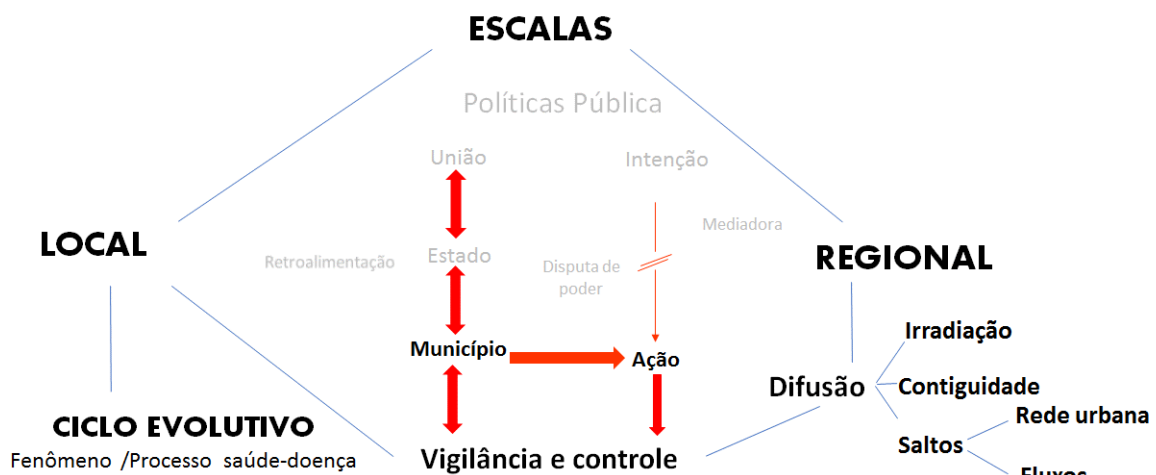
Nº Amostra	Nome do cão	RA	Município	Material	Quantific ação	PCR LITSR e 5.8S Leishmania	LcS3 Leishmania infantum	PCR Leishmania braziliensis
83	Pretinha	15	Mirante do Paranapanema	linfonodo	1,2	Negativo	não realizado	não realizado
84	Rex	1	Mirante do Paranapanema	linfonodo	4,5	Negativo	não realizado	não realizado
85	Branca	28282	Pres. Venceslau	baço	23,4	Positivo	Positivo	Negativo
86	Branca	28282	Pres. Venceslau	figado	25,9	Positivo	Positivo	Negativo
87	Branca	28282	Pres. Venceslau	baço (criopreservado)	17,6	Positivo	Positivo	Negativo
88	Branca	28282	Pres. Venceslau	figado (criopreservado)	18,6	Positivo	Positivo	Negativo
89	Julie	16858	Pres. Venceslau	baço	22,3	Positivo	Positivo	Negativo
90	Julie	16858	Pres. Venceslau	figado	25,6	Positivo	Positivo	Negativo
91	Julie	16858	Pres. Venceslau	baço (criopreservado)	20,8	Positivo	Positivo	Negativo
92	Julie	16858	Pres. Venceslau	figado (criopreservado)	24,3	Positivo	Positivo	Negativo
93	Lupi	27976	Pres. Venceslau	baço	10,3	Negativo	não realizado	não realizado
94	Lupi	27976	Pres. Venceslau	figado	11,3	Negativo	não realizado	não realizado
95	Lupi	27976	Pres. Venceslau	baço (criopreservado)	13,1	Negativo	não realizado	não realizado
96	Dog	3357	Santa Mercedes	baço	25,4	Positivo	Positivo	Negativo
97	Dog	3357	Santa Mercedes	figado	18,9	Positivo	Positivo	Negativo
98	Dog	3357	Santa Mercedes	baço (criopreservado)	16,3	Positivo	Positivo	Negativo
99	Amarelo	3328	Santa Mercedes	baço	19,7	Positivo	Positivo	Negativo
100	Amarelo	3328	Santa Mercedes	figado	21,6	Positivo	Positivo	Negativo
101	Amarelo	3328	Santa Mercedes	figado (criopreservado)	18,5	Positivo	Positivo	Negativo
102	Mick	3336	Santa Mercedes	baço	16,3	Positivo	Positivo	Negativo
103	Mick	3336	Santa Mercedes	figado	15,5	Positivo	Positivo	Negativo
104	Mick	3336	Santa Mercedes	baço (criopreservado)	8,0	Positivo	Positivo	Negativo
105	Mick	3336	Santa Mercedes	figado (criopreservado)	8,9	Positivo	Positivo	Negativo
106	Lara		Ribeirão dos Índios	baço	18,9	Positivo	Positivo	Negativo
107	Lara		Ribeirão dos Índios	figado	17,7	Positivo	Positivo	Negativo
108	Lara		Ribeirão dos Índios	linfonodo	37,1	Positivo	Positivo	Negativo
109	Joaquim	3	Marabá Paulista	linfonodo	5,2	Positivo	Positivo	Negativo
110	Joaquim	3	Marabá Paulista	linfonodo (criopreservado)	5,4	Positivo	Positivo	Negativo
111	Nick		Ribeirão dos Índios	linfonodo	14,1	Positivo	Positivo	Negativo
112	Nick		Ribeirão dos Índios	linfonodo	12,4	Positivo	Positivo	Negativo
113	Fiel		Regente Feijó	medula óssea	5,9	Positivo	Positivo	Negativo
114	Fiel		Regente Feijó	M.O. (criopreservado)	6,3	Positivo	Positivo	Negativo

Principais resultados da análise laboratorial para a tese

Em municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, podemos afirmar que está circulando a espécie de *L. infantum*, agente causador da LV, e que apresenta diferentes padrões de dispersão. A microrregião de Dracena, na Alta Paulista, é um centro *core* de dispersão, com circulação da espécie de *L. infantum* mais intensa em humanos e em cães, alta concordância entre os testes diagnósticos, apresentando uma cepa do parasita mais bem adaptada ao meio de cultura bifásico BAB-BHI. Presidente Prudente é um município eixo de dispersão, por apresentar baixa concordância entre os testes sorológicos de triagem e confirmatório e maior dificuldade de isolamento do parasita em meios de cultura bifásico BAB-BHI e identificação de gênero e espécie *L. infantum* por PCR. Já Teodoro Sampaio é um município considerado borda, por apresentar poucos casos de LVC, nenhum caso humano autóctone e a concordância entre os testes sorológicos de triagem e confirmatório é extremamente baixa, não sendo possível o isolamento do parasita em meios de cultura bifásico BAB-BHI, embora os cães sorologicamente confirmados com LV apresentem sintomatologia para doença.

Ainda que seja preciso dar continuidade à pesquisa dessa natureza, visando à produção de novos conhecimentos que poderão auxiliar na elucidação das questões ainda não esclarecidas sobre os diferentes padrões de circulação da *Leishmania* apresentados na RRAS 11 de Presidente Prudente, os resultados obtidos nessa análise microbiológica serão associados mais adiante com os padrões espaciais de distribuição e dispersão da doença. Veremos que a associação entre os dados da escala regional com os da escala microbiológica possibilitará uma compreensão geográfica sobre a LV na RRAS 11 de Presidente Prudente.

**Capítulo III – Expansão da LV na macrorregião de Presidente Prudente-SP:
distribuição espacial dos casos de LV humana e canina na área urbana de Dracena e
Tupi Paulista- SP/Brasil entre 2006 e 2015**



Na figura acima está representado em destaque no modelo esquemático das discussões norteadoras da tese, o que será debatido no presente capítulo, embasada em articulações escalares que envolvem o ciclo evolutivo da *Leishmania* no território, as ações de vigilância e controle na escala municipal e o processo de difusão da LV no território na escala regional, considerando o meio urbano e periurbano.

Neste capítulo, discutiremos a rota de dispersão da LV na escala local, chegando até a microescala da quadra da malha urbana. A compreensão do padrão de distribuição e dispersão no espaço intraurbano é importante, uma vez que o município é o principal responsável pela execução das atividades de vigilância e controle da LV no Brasil. A LV - um grave problema de saúde pública – encontra-se em franca expansão em território paulista e vem se disseminando pelo oeste do Estado de São Paulo, mas há uma grande variação de situações de município para município, o que se torna um aspecto importante para o desenvolvimento de uma visão geográfica e integrada da doença. Para isso, foi comparado o comportamento da LV humana e canina na área urbana de dois municípios considerados como centro *core* de dispersão do oeste paulista de diferentes tamanhos, um de médio e outro de pequeno porte, respectivamente Dracena e Tupi Paulista-SP, Brasil (Figura 20).

Figura 20 - Localização da área de estudo: Dracena e Tupi Paulista-SP



Fonte: Google Earth

Dracena caracteriza-se como uma região de clima tropical úmido quente, com um a dois meses de seca, cuja temperatura média é superior a 18°C em todos os meses do ano (IBGE 2010a). A estimativa da população humana é de 46.600 habitantes (IBGE, 2010b) e da população canina de 10.052 (ALVES et al., 2005). Ocupa uma área total de 488,041 Km², cuja densidade demográfica é de 93,43 habitantes por Km². Faz parte da 10^a Região Administrativa do Estado de São Paulo, limitando-se com os municípios de Tupi Paulista ao

norte; Piqueroibi, Presidente Venceslau, Ribeirão dos Índios a sul; Junqueirópolis a leste e Ouro Verde a oeste. Dista 55 km de Adamantina, 110 km de Presidente Prudente, 200 km de Marília, 647 km de São Paulo e 40 km da divisa do Estado com o Mato Grosso do Sul, próximo ao novo lago do Rio Paraná que transformou a região em mais uma atração turística do Estado, cuja principal atividade era a agropecuária.

Tupi Paulista é um dos doze municípios que pertencem à microrregião de Dracena, situada no oeste do Estado de São Paulo, com uma latitude de 21° 22' 52"; longitude de 51° 34' 14" e altitude de 400 metros (Figura 20). Segundo dados do IBGE (2010a), sua população está estimada em 14.269 habitantes e a população canina de 3.567 (ALVES et al., 2005). Ocupa uma área total de 245,3 Km², cuja densidade demográfica é de 58,1 habitantes por Km².

O município de Tupi Paulista-SP faz divisa com os municípios de Monte Castelo e Nova Guataporanga ao norte; Santa Mercedes e Ouro Verde a oeste, Dracena ao sul e Junqueirópolis a noroeste. Sua economia é baseada na agropecuária, destacando-se pela força na viticultura e produção de leite. Atualmente, a produção de cana de açúcar teve um aumento significativo no município. Em 2003, os municípios de Dracena e Nova Guataporanga foram os primeiros a detectar a presença de *Lutzomyia longipalpis*, seguidos em 2004 por Tupi Paulista, Junqueirópolis, Monte Castelo, Flora Rica, Santa Mercedes, Ouro Verde e São João do Pau D'Alho, municípios esses pertencentes à microrregião de Dracena. Em 2005, todos os doze municípios pertencentes a essa região já tinham registrado a presença de flebotomíneos, sendo que as transmissões canina e humana foram detectadas de um a três anos após a detecção do vetor, expandindo-se, inclusive, para municípios limítrofes, como é o caso do município de Presidente Venceslau, onde houve detecção do vetor, em janeiro de 2008 (D'ANDREA et al., 2009). Em Dracena, o primeiro caso humano ocorreu em 2005 e em Tupi Paulista em 2006.

Desde então, a LV tornou-se endêmica nesses dois municípios da Alta Paulista, assim como nos demais municípios da região, os quais procuraram estruturar-se com equipes de zoonoses para atender às atividades de vigilância e controle da LV, definidas pelo PVCLV. Dracena por ser um município de médio porte, possui um Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) bem estruturado, já em Tupi Paulista por ser de pequeno porte o setor é denominado de serviço de controle de vetores/zoonoses.

O CCZ de Dracena iniciou seus trabalhos entre os anos de 2006 e 2008. Atualmente, o CCZ dispõe de um diretor, sendo ele o médico veterinário responsável pela eutanásia dos

animais soro reagentes para LVC, e nove agentes de controle de zoonoses. Desses, quatro fazem parte das equipes de inquérito com dois funcionários cada equipe, dois na parte administrativa, um no laboratório e dois na busca e apreensão de animais.

Em Tupi Paulista não é diferente, existe um veterinário responsável pelas atividades e equipes de zoonoses, os quais, em função da disponibilidade de pessoal e de outras demandas como a dengue, por exemplo, acabam variando muito no decorrer do ano, podendo ser compostas por uma ou mais equipes. A quantidade de equipes disponíveis e a atenção dispensada para a realização das ações de vigilância e controle da LV em um dado município podem influenciar diretamente no comportamento da doença no seu território.

São muitas as atribuições dos agentes do CCZ. Entre elas destacam-se: - realização do inquérito sorológico canino com a coleta de sangue, preparo das amostras e execução dos testes imunocromatográfico de triagem; - preparo dos boletins de cadastro e relatório dos animais coletados no inquérito; - envio da remessa de sangue coletado nos inquéritos sorológico; - envio de relatórios semanais, mensais e trimestrais para a Sucen e Vigilância Epidemiológica; - vacinação antirrábica; - recolhimento de morcegos e envio da amostra para o Instituto Pasteur; - ministrar palestras nas escolas do município objetivando a conscientização sobre a leishmaniose, raiva e posse responsável dos animais; - realização de notificação e busca de animais soro reagentes para a LVC; - apreensão de animais soltos nas vias públicas do município; - recolhimento de animais mortos nas vias públicas e nas estradas vicinais; - apreensão de animais de grande porte (equinos, bovinos e ovinos); - limpeza das baias (recolhimento das fezes) e manutenção no CCZ; - encaminhamento dos animais eutanasiados para aterro sanitário; - censo canino e felino; - entrega de panfletos e trabalho de conscientização com a população; - manutenção e sanidade dos animais apreendidos e doados da população.

O descarte dos cadáveres é feito por empresa terceirizada, para que seja feita a sua incineração. Com relação aos vetores de importância sanitária, é realizado o manejo ambiental pela Secretaria responsável pelo recolhimento dos materiais que servem de proliferação ao mosquito. Trabalhos de educação ambiental também têm sido desenvolvidos, como palestras nas escolas e orientação aos moradores das residências pelos agentes de zoonoses e os agentes de vigilância epidemiológica, além de borrifações.

Atualmente, o município de Dracena conta com uma organização não governamental (ONG) que realiza trabalhos de castrações em cães e gatos e desenvolve outras atividades afins.

Em vista dos desafios da vigilância em saúde no controle da disseminação da LV no espaço urbano de Dracena e de Tupi Paulista, é de grande importância identificar o padrão de distribuição espacial, com auxílio da cartografia temática, identificando as áreas vulneráveis e/ou receptivas com potencial risco de transmissão da doença na área urbana desses municípios paulistas, a fim de quebrar a cadeia de transmissão e evitar que a doença se espalhe pelo território. Em vista disto, procurou-se identificar o padrão de distribuição espacial, segundo a situação epidemiológica da doença na área urbana de Dracena e Tupi Paulista-SP-Brasil, para identificar áreas urbanas vulneráveis e/ou receptivas com potencial risco epidemiológico e correlacionar com a prevalência da LV na população canina e humana no período entre janeiro de 2006 e dezembro de 2015.

Para a identificação dos padrões de distribuição espacial, utilizamos o mapeamento temático e a estatística descritiva de dados coletados em inquérito sorológico canino censitário, realizado e encerrado oficialmente, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2015. Entre janeiro de 2006 e abril de 2012, os inquéritos sorológicos eram realizados com o protocolo para identificação dos casos caninos, com a triagem sorológica com teste imunoenzimático - ELISA[®] para pesquisa de anticorpos Anti-Leishmania e a RIFI[®] como teste confirmatório, ambos da BioManguinhos, FioCruz/RJ. A partir de abril de 2012, o protocolo modificou, passando a ser utilizado o teste imunocromatográfico rápido de duplo percurso - TR DPP[®] como teste de triagem e o ELISA[®] como teste confirmatório, ambos da BioManguinhos, FioCruz/RJ (D' ANDREA et al., 2015b).

Na estatística descritiva, utilizamos correlação de duas variáveis: a prevalência canina e a prevalência humana, para verificar a evolução da enfermidade nessas duas populações. Para isto, utilizamos o software Excel 2010. Para o cálculo da prevalência de LVC para a série histórica em estudo, foram considerados o valor total de cães investigados e o total de cães sorologicamente confirmados com LV por ano x 100. Para o cálculo da prevalência da LV humana foram considerados o número total da população humana, segundo estimativa do IBGE, e o número de casos ocorridos por ano x 100.

No mapeamento temático, elaboramos mapas temáticos com a prevalência canina nas diferentes áreas do município, identificando as zonas de risco no espaço urbano. Para esse desenvolvimento, utilizamos o ArcGIS 10.3. O TerraView foi utilizado para o mapeamento do estimador de Kernel Quântico com raio adaptativo.

As fontes de dados são do Centro de Vigilância Epidemiológica - CVE/SES-SP, CLR- IAL- PP V, Sucen, Vigilância Epidemiológica, CCZ de Dracena e Serviço de Controle de Vetores/Zoonoses de Tupi Paulista.

Resultados e discussão

No período avaliado de janeiro de 2006 a dezembro de 2015 ocorreram 145 casos de LVH, com 5 óbitos no município de Dracena e 36 casos de LVH com 3 óbitos, em Tupi Paulista (Tabela 05).

Tabela 05 - Distribuição anual do quantitativo dos casos e óbitos de LVH do município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP. Período entre 2006 e 2015

Anos	LV humana Dracena		LV humana Tupi Paulista	
	Nº Casos	Nº Óbitos	Nº Casos	Nº Óbitos
2006	41	1	2	0
2007	38	0	7	1
2008	19	2	4	0
2009	6	0	3	0
2010	10	2	4	1
2011	14	0	6	1
2012	5	0	3	0
2013	2	0	4	0
2014	3	0	2	0
2015	7	0	1	0
TOTAL	145	5	36	3

Fonte: CLR – IAL PPV, Sucen e SMS Dracena. Elaborado por D' ANDREA, L.A.Z.; PIVETA, L.E.G. (2017).

Segundo os critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde (MS), considerando a média dos casos ocorridos para LVH dentro de um triênio, o município de Dracena variou sua classificação de transmissão intensa a moderada, com predomínio de transmissão intensa em seis (6) dos oito (8) triênios estudados. Já o município de Tupi Paulista variou de transmissão intensa a esporádica, com predomínio de transmissão moderada em seis (6) dos oito (8) triênios avaliados (Tabela 06).

Tabela 06- Classificação do município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP, quanto à transmissão de LVH, segundo critérios do MS

Triênios	LVH em Dracena		LVH em Tupi Paulista	
	Média Triênio/3	Classificação	Média Triênio/3	Classificação
2006 - 2008	32,7	Intensa	4,3	Moderada
2007 - 2009	21,0	Intensa	4,6	Intensa
2008 - 2010	11,7	Intensa	3,6	Moderada
2009 - 2011	10,0	Intensa	4,3	Moderada
2010 - 2012	9,7	Intensa	4,3	Moderada
2011 - 2013	7,0	Intensa	4,3	Moderada
2012 - 2014	3,3	Moderada	3,0	Moderada
2013 - 2015	4,0	Moderada	2,3	Esporádica

Fonte: CLR – IAL PPV, Sucen e SMS Dracena. Elaborado D' ANDREA, L.A.Z.; PIVETA, L.E.G. (2017).

No município de Dracena-SP, no período estudado, foi analisado um total de 29.512 cães domiciliados na área urbana e rural do município de Dracena, em inquérito sorológico canino censitário. Foram diagnosticados 26% (7.680) animais confirmados com diagnóstico reagente para LVC (Tabela 07), sendo que dos 29.512 cães, 93,5% (27.586) pertenciam à área urbana, contabilizando 26,3% (7.268) casos, e apenas 6,5% (1.926) pertenciam à área rural, com 21,4% (412) casos (Tabela 08). A porcentagem média de animais eutanasiados em Dracena, no período avaliado, foi de 58,5% (4.489) e a recusa de 4,9% (373) (Tabela 07).

Em Tupi Paulista-SP, foi examinado um total de 12.029 soros de cães para LVC, domiciliados na área urbana e rural do município, identificando 19,1% (2.303) de prevalência média da doença no período avaliado (Tabela 07), sendo que dos 12.029, 69,1% (8.317) pertenciam à área urbana, contabilizando 1.877 (22,1%) casos e 30,9% (3.712) pertenciam à área rural com 426 (12,6%) casos (Tabela 08). A porcentagem média de animais eutanasiados no período avaliado foi de 80,6% (1.757) e a recusa de 13,5% (310) (Tabela 07).

Comparando os dados desses dois municípios, observa-se que em Dracena há uma maior urbanização da doença, onde dos 26% de cães confirmados com LVC, 93,5% eram da área urbana e 6,5% da área rural. Já em Tupi Paulista, observa-se uma menor urbanização, onde dos 19,1% dos cães confirmados com LVC, 69,1% eram da área urbana e 30,1% da área rural.

Tabela 07 - Distribuição anual do quantitativo dos casos de LVC do município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP, segundo o número de cães examinados, os casos confirmados, as eutanásias e as recusas. Período entre 2006 e 2015

Anos	LV canina Dracena				LV canina Tupi Paulista			
	Nº Examinados	Casos (%)	Eutanasiados (%)	Nº Recusas (%)	Nº Examinados	Casos (%)	Eutanasiados (%)	Nº Recusas (%)
2006	7082	1964 (27,7)	1404 (71,5)	188 (9,6)	2565	396 (15,4)	322 (81,3)	54 (13,6)
2007	4321	1340 (31)	837 (62,5)	90 (6,7)	2530	480 (18,9)	412 (87,3)	55 (11,5)
2008	2954	850 (28,8)	652 (76,7)	17 (2,0)	1519	370 (24,4)	292 (78,9)	78 (21,1)
2009	3435	750 (21,8)	368 (49,1)	51 (6,8)	1365	237 (20,1)	171 (72,2)	46 (21,1)
2010	3550	873 (31,0)	409 (46,8)	0 (0,0)	1054	369 (35,0)	222 (60,2)	31 (8,4)
2011	1305	232 (17,8)	99 (42,7)	0 (0,0)	1006	143 (14,2)	103 (72,0)	11 (7,0)
2012	2770	546 (19,7)	230 (42,1)	1 (0,2)	213	51 (23,9)	41 (80,4)	8 (15,7)
2013	2024	587 (29,0)	250 (42,6)	0 (0,0)	607	149 (24,5)	108 (72,5)	26 (17,5)
2014	1205	212 (17,6)	63 (29,7)	0 (0,0)	386	31 (8,0)	20 (64,5)	1 (3,2)
2015	866	326 (37,6)	177 (54,3)	26 (8,0)	784	77 (9,8)	66 (85,7)	0 (0,0)
TOTAL	29512	7680 (26,0)	4489 (58,5)	373 (4,9)	12029	2303 (19,1)	1757 (80,6)	310 (13,5)

Fonte: CLR – IAL PPV, Sucen e SMS Dracena. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

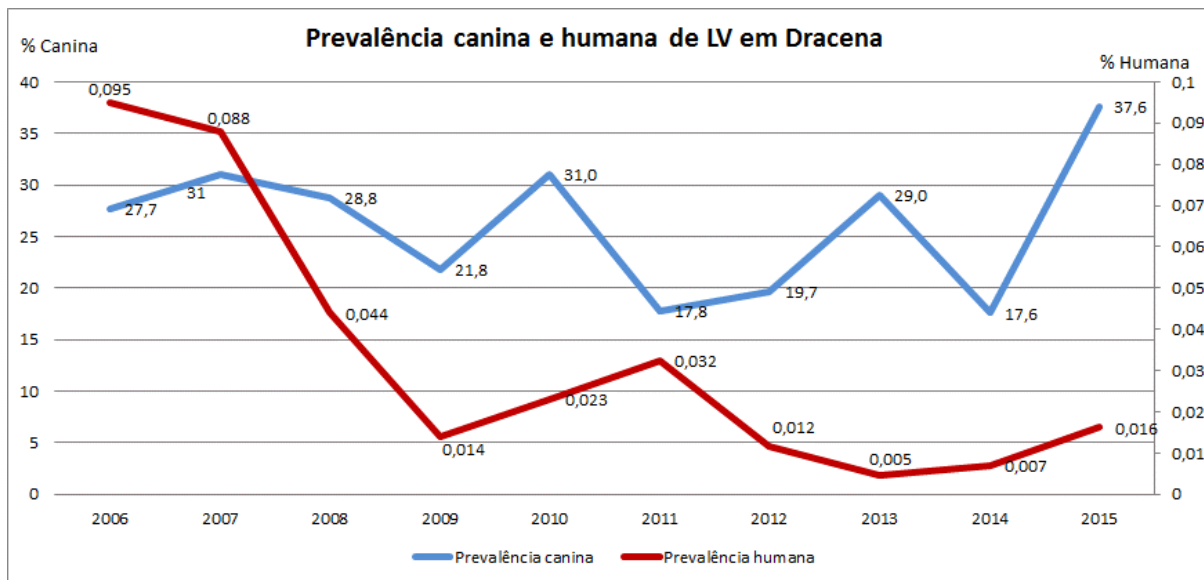
Tabela 08- Distribuição do quantitativo de cães examinados no município de Dracena-SP e Tupi Paulista-SP, segundo a área urbana e rural. Período entre 2006 e 2015

Áreas	2006		2007		2008		2009		2010			
	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)		
Dracena	6856	1815 (26,5)	4321	1340 (31)	2820	833 (29,5)	2955	690 (23,4)	3153	773 (24,5)		
Urbano												
Rural	226	149 (65,9)	0	0	134	17 (12,7)	480	60 (12,5)	397	100 (25,2)		
Total	7.082	1964 (27,7)	4.321	1.340 (31)	2.954	850 (28,8)	3.435	750 (21,8)	3.550	873 (31,0)		
Áreas T.	2006		2007		2008		2009		2010			
Paulista	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)		
Urbano	2.565	396 (15,4)	1.635	365 (22,3)	1.519	370 (24,4)	431	119 (27,6)	1.054	369 (35,0)		
Rural	0	0	895	115 (12,8)	0	0	934	118 (12,6)	0	0		
Total	2.565	396 (15,4)	2530	480 (18,9)	1.519	370 (24,4)	1.365	237 (20,1)	1.054	369 (35,0)		
Áreas	2011		2012		2013		2014		2015		TOTAL	
Dracena	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)
Urbano	1305	232 (17,8)	2220	475 (21,4)	2024	587 (29,0)	1066	197 (18,5)	866	326 (37,6)	27.586	7268
Rural	0	0	550	71 (12,9)	0	0	139	15 (10,8)	0	0	1.926	412
Total	1.305	232 (17,8)	2.770	546 (19,7)	2024	587 (29,0)	1.205	212 (17,6)	866	326 (37,6)	29.512	7.680 (26)
Áreas T.	2011		2012		2013		2014		2015		Total	
Paulista	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)	Exam.	Casos(%)
Urbano	200	40 (20)	213	51 (23,9)	607	149 (24,5)	54	10 (18,5)	39	8 (20,5)	8.317	1.877
Rural	806	103 (12,8)	0	0	0	0	332	21 (6,3)	745	69 (9,3)	3.712	426
Total	1.006	143 (14,2)	213	51 (23,9)	607	149 (24,5)	386	31 (8,0)	784	77 (9,8)	12.029	2.303 (19,1)

Fonte: CLR – IAL PPV, Sucen e SMS Dracena. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

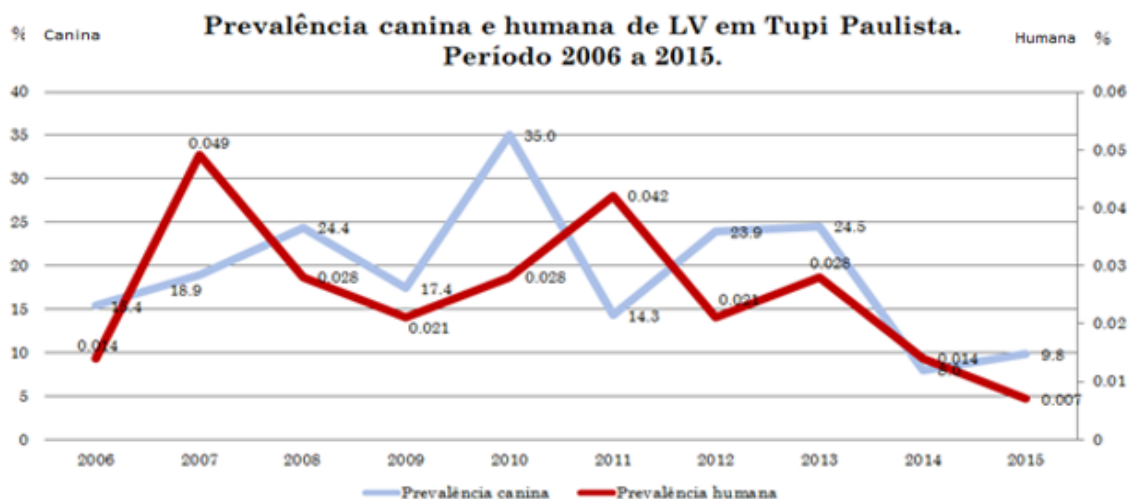
A distribuição da prevalência de LV humana e canina em Dracena-SP e em Tupi Paulista-SP, no período entre 2006 e 2015 encontram-se, respectivamente, nos Gráfico 01 e Gráfico 02.

Gráfico 01- Distribuição da prevalência (%) de casos caninos e humanos de leishmaniose visceral em Dracena-SP. Período entre 2006 e 2015



Fonte: CLR – IAL PPV, Sucen e SMS Tupi Paulista-SP. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Gráfico 02 - Distribuição da prevalência (%) de casos caninos e humanos de leishmaniose visceral em Tupi Paulista-SP. Período entre 2006 e 2015



Fonte: CLR – IAL PPV, Sucen e SMS Tupi Paulista-SP. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

A LV inicialmente presente apenas nos Estados do Nordeste brasileiro, vem se disseminando rapidamente por todo país, e está presente nos 26 Estados brasileiros da

federação. Na macrorregião de Presidente Prudente-SP temos uma situação parecida, que necessita de estudos e atenção para o controle dessa doença.

Nos municípios em estudo, foi encontrado o vetor, pela primeira vez, em Dracena-SP em 2003 e a transmissão canina e humana para LV ocorreu em 2005. Já em Tupi Paulista-SP, o vetor foi encontrado pela primeira vez em 2004 e a transmissão canina e humana ocorreu em 2006.

Em 2003, foram registrados o encontro do vetor apenas nos municípios de Dracena e Nova Guataporanga, apresentando uma rota de dispersão do vetor por saltos, pois Nova Guataporanga é um município vizinho de Dracena, porém não limítrofe com ela. Já em 2004, o vetor foi encontrado em sete (7) dos 12 municípios da microrregião de Dracena, apresentando uma forte tendência a espalhar-se pela circunvizinhança (Tupi Paulista, Junqueirópolis, Ouro Verde, Monte Castelo, Santa Mercedes e Flora Rica). A Leishmania, inclusive, foi notificada em cães em três (3) desses municípios em 2006, todos limítrofes com Dracena (Ouro Verde, Junqueirópolis e Tupi Paulista) influenciada principalmente pela rota de rodovias, pelo fluxo de pessoas, mercadorias, bens e serviços.

Tanto em Dracena como em Tupi Paulista passaram-se dois anos entre o primeiro encontro do vetor e o aparecimento de casos caninos e humanos de LV. Percebe-se que na microrregião de Dracena, o primeiro foco de flebotomíneos foi encontrado em Dracena e só um ano depois é que foram encontrados em Tupi Paulista e nos demais municípios adjacentes, demonstrando, claramente uma rota de dispersão por irradiação, a partir de Dracena, ocorrendo por contiguidade e/ou por saltos.

De modo geral, percebe-se que a atuação da vigilância foi muito importante, pois a LVH decresceu nos dois municípios estudados, embora os dados avaliados da série histórica de 10 anos, revelem que houve a ocorrência de casos de LV humana em todos os anos, apresentando maior prevalência em Dracena (0,31%) do que em Tupi Paulista (0,25%) (Tabela 06).

Em Dracena, isso se comprova a partir do ano de 2011, que segue com uma dissensão do número de casos da LVH até 2013 (Tabela 05). Porém, a partir de 2012, houve um aumento, novamente, da prevalência canina, apresentando índices semelhantes aos do início da endemia, refletindo diretamente no aumento do número de casos humanos de LV (Tabela 05 e 07). Analisando o comportamento dessa doença no decorrer da série histórica de 10 anos, nos dois municípios, podemos inferir que o aumento de casos caninos de LV foi seguida pelo

aumento da notificação de casos humanos de LV e esse fato está demonstrado nos Gráficos 01 e 02, respectivamente de Dracena e Tupi Paulista, fato também bastante descrito por outros estudos citados na literatura corrente.

Já Tupi Paulista apresentou poucos casos no início da transmissão (2 em 2006), aumentando durante os anos seguintes, tendo o pico de casos em 2007 (7 casos) e 2011 (6 casos) (Tabela 05). Desde 2014, tem-se mantido entre 1 e 2 casos, porém sem óbitos, desde o ano de 2011 (Tabela 05). A taxa de óbitos por LVH em Dracena foi menor (3,5%) do que em Tupi Paulista (8,3%). Provavelmente, o fato pode ser explicado pelo fato de Dracena ter uma Santa Casa instalada em seu município, cuja pactuação feita na região da Alta Paulista como sendo a referência regional para tratamento da LVH em pacientes adultos. Esse fato pode ter facilitado a entrada de pacientes no sistema, proporcionando diagnóstico e tratamento precoce desse agravo, influenciando na diminuição das complicações, o que levaria os pacientes a óbito. Tal fato, porém, já não aconteceu para os pacientes de outros municípios da região, que são prejudicados pelo maior tempo que pode demandar entre o primeiro atendimento nas unidades básicas de saúde de seus municípios e o encaminhamento para serem atendidos na referência para diagnóstico e tratamento em outro município, no caso, a Santa Casa de Dracena.

Segundo os critérios estabelecidos pelo MS, considerando a média dos casos ocorridos de LVH dentro de um triênio, o município de Dracena foi classificado como município de transmissão intensa em seis (6) dos oito (8) triênios estudados. Já o município de Tupi Paulista variou de transmissão intensa a esporádica, com predomínio de transmissão moderada em seis (6) dos oito (8) triênios avaliados (Tabela 06). Percebe-se, porém, uma melhora epidemiológica da LV nos dois municípios: Dracena, nos dois últimos triênios, passou de transmissão intensa para moderada e Tupi Paulista, no último triênio passou de moderada para esporádica, demonstrando que a atuação das vigilâncias municipais foi efetiva, registrando uma pequena melhora na situação epidemiológica desse agravo nos dois municípios.

No período analisado, os dois municípios estudados apresentaram uma prevalência média alta de LVC, sendo 26% e 19,1%, respectivamente em Dracena e Tupi Paulista que apresentou uma grande variação anual de LVC (8,0% a 35%), já em Dracena, a variação foi um pouco menor (17,6% a 37,6%). Resultados parecidos com Tupi Paulista foram encontrados por Nobrega (2010), onde a prevalência foi de 19,65%, no Centro de Controle de Zoonoses de João Pessoa/PB e similar a Dracena, foram encontrados por D'Andrea et al.

(2009) em estudo conduzido na microrregião de Dracena de 2005 a 2008 (23,78%). Já em São Luís/MA a positividade foi de 51,6% (SILVIA - ABREU et al., 2008).

Um fator agravante observado é que dentre as ações de controle da doença preconizada pelo MS e realizada pelos municípios em transmissão, - a eutanásia dos cães com sorologia confirmada para LVC -, apenas 58,3% (4.489) dos animais com LV foram eutanasiados em Dracena, permanecendo um grande número de cães que funcionaram como reservatório da doença no ambiente, além da rápida reposição dos animais pelos proprietários, propiciando a manutenção do ciclo, embora a taxa de recusa tenha sido baixa, 4,9% (373) (Tabela 07). Diferentemente, em Tupi Paulista a porcentagem média de animais eutanasiados foi de 80,6% (1.757), enquanto que a taxa de recusa foi de 13,5% (310), apresentando-se ambas as taxas mais altas do que as encontradas em Dracena (Tabela 07).

A porcentagem média de eutanásia realizada em cães com LV em Tupi Paulista foi considerada alta (80,63%), quando comparada a outro estudo realizado por D'Andrea, et al., (2009), nos 12 municípios pertencentes à microrregião de Dracena (62,44%). Scandar, et al., (2011), em estudo realizado na região de São José do Rio Preto/SP, obteve o resultado similar ao de Dracena, com 58,6% de eutanásias.

Nos primeiros anos em que foram realizados os inquéritos sorológicos caninos (de 2006 a 2010), percebe-se um elevado número de cães examinados nos dois municípios estudados. Porém, passados os anos, houve um decréscimo significativo no quantitativo de cães examinados, demonstrando falhas na vigilância. Essa pode ser uma das razões do aumento do número de casos humanos em 2011. O fato torna-se mais claro a partir de 2012. Esse quantitativo baixo pode ter sido em decorrência da baixa reposição de animais e/ou à diminuição da capacidade operacional da equipe de zoonoses do município. Nos anos de 2014 e 2015, o baixo quantitativo de animais avaliados foi em decorrência da falta de Kits de TR DPP BioManguinhos para LVC, enviados pelo MS, um dos fatores que prejudicaram o andamento do inquérito sorológico.

O presente estudo apontou uma grande diferença na quantidade de cães analisados entre o meio urbano e o rural. Os dados nos mostram que no município de Dracena, as ações de vigilância e controle atuaram mais intensamente na área urbana totalizando 93,5% do total de cães examinados contra apenas 6,5% da área rural. Enquanto em Tupi Paulista, as ações se dividiram entre o urbano com 69,1% e o rural com 30,9%, isto é, a quantidade de animais examinados no meio rural, foi muito maior que em Dracena.

Isso fica mais evidente em Tupi Paulista, a partir de 2009, onde a quantidade de animais examinados do meio rural é sempre maior, quando comparada ao quantitativo do meio urbano (Tabela 08). Uma das hipóteses que pode explicar tal diferença seria por conta existir, no meio rural de Tupi Paulista, uma maior quantidade de animais, do que no meio rural de Dracena. Porém, apesar dessa diferença onde há uma maior quantidade de cães analisados no meio rural do que no urbano em Tupi Paulista, a prevalência média canina de casos confirmados de LVC no meio urbano foi maior (22,1%) do que no rural (12,6%) (Tabela 08). Em um estudo realizado por Mattos et al., (2006), na cidade de Mossoró/RN, os resultados da área rural foram superiores, chegando a uma prevalência de 45% sobre a urbana que foi de 34%.

Os anos de 2006 e 2007 chamaram atenção pelo grande número de cães examinados e em 2007 foi o ano em que se obteve o maior número de eutanásias (87,3%). Provavelmente esse fato se deu em função do alto número de casos humanos (7) ocorridos no município, o maior do período estudado. Conseqüentemente, o município deve ter intensificado as ações de vigilância e controle, promovendo um maior esclarecimento e conscientização da população, que levou a entregar o animal doente para ser eutanasiado, por entender que manter um animal doente no quintal, poderia significar um maior risco à saúde humana.

Comparando os casos confirmados durante o período analisado, o ano de 2014 foi o que obteve a menor porcentagem de animais reagentes para LVC - apenas 8% - um número considerado baixo, quando comparado com os anos anteriores. Uma explicação para o fato é, que nesse ano, houve problema no abastecimento de kits de TR DPP para triagem da LVC por parte do MS; conseqüentemente, também houve baixa quantidade de animais testados. O ano de 2014, também se destacou pelo baixo número de recusas, pois somente 3,2% do total dos cães foram confirmados com LVC, fato que se refletiu, pois a grande maioria dos animais identificados com LV nos inquéritos, possivelmente era de demanda espontânea, cujos proprietários já tinham intenção de se livrar do animal sintomático, por considerarem um problema em seus quintais.

Percebe-se que o padrão de distribuição de casos caninos e humanos de LV no período analisado evoluiu de forma semelhante à de outros municípios endêmicos do país (RANGEL et al., 2013), em que o aumento dos casos caninos é seguido posteriormente pelo aumento de casos humanos. De modo geral, vê-se que a atuação da vigilância foi muito importante, pois a doença em humanos decresceu nos últimos anos. Porém, a vigilância deve ficar atenta e dar

continuidade às ações de vigilância e controle da doença, pois a série histórica demonstrou picos alternados de altos e baixos nos municípios, com elevação dos casos caninos em Dracena. Esse fato nos leva a inferir que poderá ocorrer aumento da notificação de casos de LV em humanos.

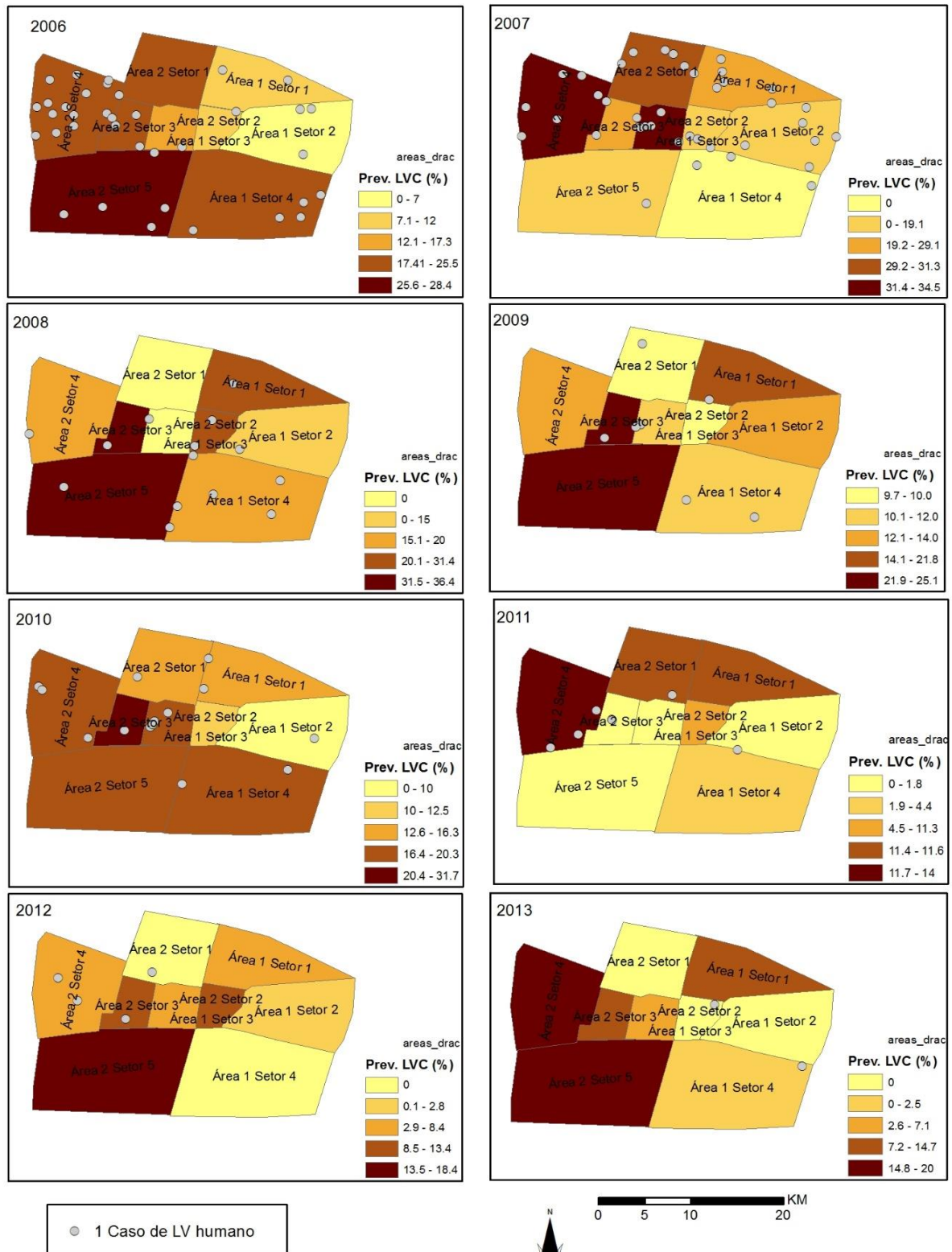
A distribuição espacial dos casos de LV canino e humano na área urbana de Dracena, na escala local, segundo área e setor da dengue, entre janeiro de 2006 e dezembro de 2013, encontra-se na Figura 21. A distribuição espacial do quantitativo de cães com sorologia confirmada para LV segundo a quadra da área urbana de Dracena no período de 2010 a 2015 encontra-se na Prancha 02, Figuras 22A a 22F, já o de Tupi Paulista, também da área urbana, encontra-se nas Pranchas 04 Figuras 24A a 24F. Estimador de Kernel para cães confirmados sorologicamente com e sem LVC no município de Dracena, no período de 2010 a 2015, encontra-se na Prancha 03 - Figuras 23A a 23F e Estimador de Kernel para o número total de cães e de galinhas existente na área urbana do município de Dracena encontra-se na Prancha 05 - Figuras 25A e 25B.

Em Dracena, o trabalho de vigilância começa, efetivamente, em 2008, quando já tinham sido notificados casos canino e humano em todos os setores (Figura 21). Numa análise espacial da prevalência dos casos caninos da LV, é importante identificar áreas de risco e a ocorrência da evolução espacial da doença.

As áreas com maior ocorrência de casos humanos são justamente aquelas mais populosas da cidade, principalmente a área 2, setores 4 e 5 (Figura 21), além do que, são as que possuem uma população mais carente, na maioria das vezes com grau de instrução menor, o que, conseqüentemente, dificulta o entendimento quanto à prevenção. Em trabalhos de campo, podemos observar nessas áreas um ambiente propício para o desenvolvimento do vetor: grande quantidade de acúmulo de matéria orgânica nos quintais e terrenos, áreas verdes com acúmulo de entulhos, lixo e folhas, inclusive casas abandonadas.

De acordo com a Figura 21, pode-se inferir que, a partir de altas prevalências caninas, ocorrem casos humanos. Podemos analisar nesses dados o comportamento de alguns locais: a área 2, setor 4 foi a que apresentou o maior número de casos humanos (30) no período, também foi a que manteve altas taxas de prevalência canina durante cinco (5) anos (2006, 2007, 2010, 2011 e 2013) dentre os oito (8) estudados.

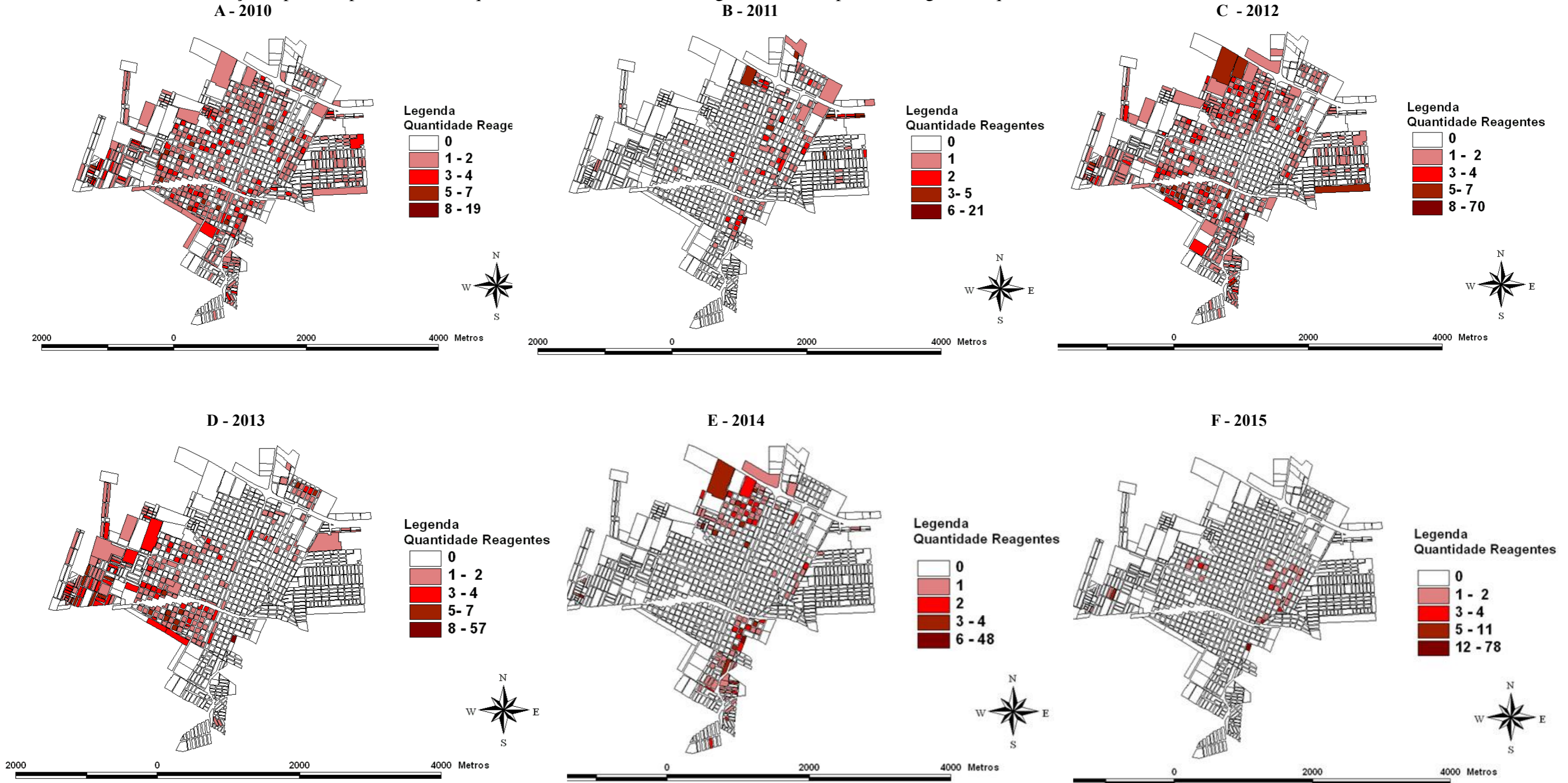
Figura 21 - Distribuição espacial representativa dos casos de leishmaniose visceral canino e humano na área urbana de Dracena, segundo área e setor, entre janeiro de 2006 e dezembro de 2013



Fonte: CLR- IAL – PP V, Sucen PP, CCZ Dracena, CVE (2015).

PRANCHA 02

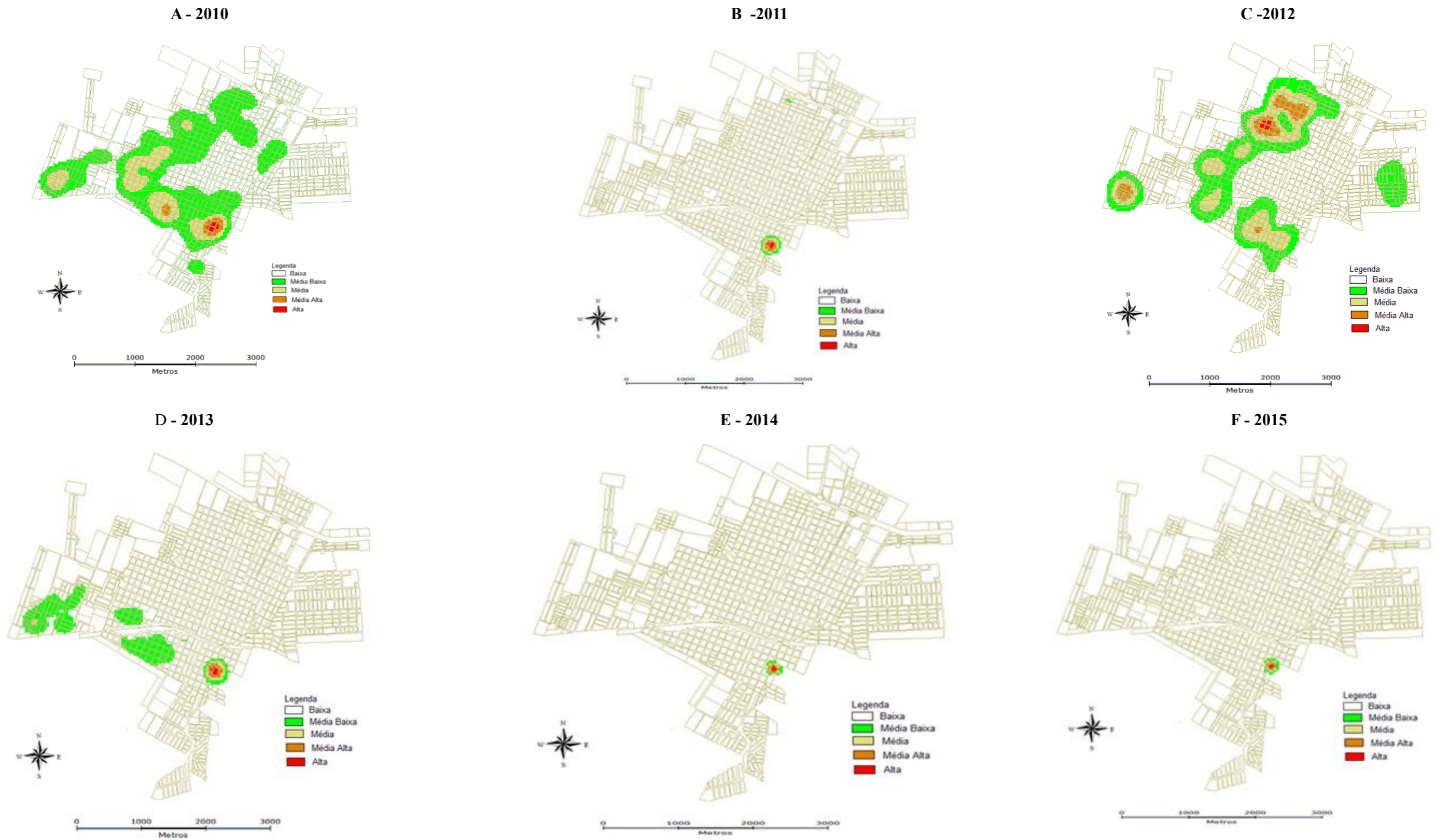
FIGURA 22 Distribuição espacial representativa do quantitativo de cães com sorologia confirmada para LV, segundo a quadra da área urbana de Dracena-SP. Período entre 2010 e 2015



Fonte: CLR- IAL – PP V, SUCEN PP e CCZ Dracena. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

PRANCHA 03

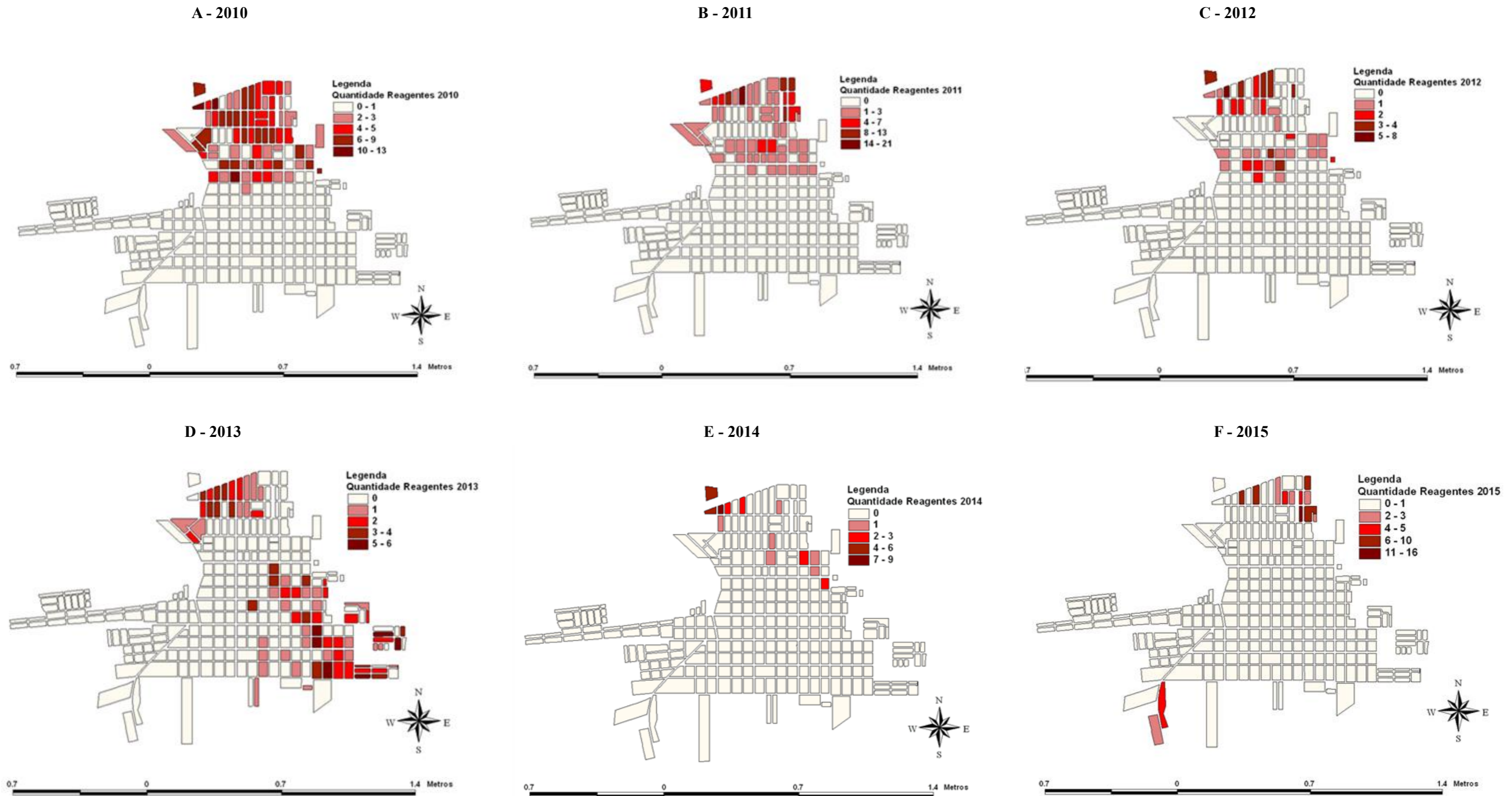
FIGURA 23- Estimador de *Kernel* para cães confirmados sorologicamente com leishmaniose visceral canina (LVC) no município de Dracena-SP. Período entre 2010 e 2015



Fonte: CLR- IAL – PP V, SUCEN PP e CCZ Dracena. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

PRANCHA 04

FIGURA 24- Distribuição espacial do quantitativo de cães com sorologia confirmada para LV segundo a quadra da área urbana de Tupi Paulista-SP, Brasil. Período de 2010 a 2015



Fonte: CLR- IAL – PP V, SUCEN PP e CCZ Tupi Paulista. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z.; PIVETA, L.E.G. (2017).

PRANCHA 05

FIGURA 25: Estimador de *kernel* para o número total de cães e de galinhas existente na área urbana do município de Dracena-SP



A – Número total de cães; B – Número total de galinhas. Fonte: CLR- IAL – PP V, SUCEN PP e CCZ Dracena. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

FIGURA 26: Fotos do Centro de Controle de Zoonoses de Dracena-SP e seu entorno



A- Sede do CCZ Dracena; B- CCZ – Canil; C- Vizinhança do CCZ. Fonte: Arquivo pessoal de D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

PRANCHA 06

FIGURA 27 – Fotos da área urbana de Dracena-SP, ilustrando o entorno das áreas de maior concentração de ocorrência dos casos humanos de LV

A



B



C



D



E



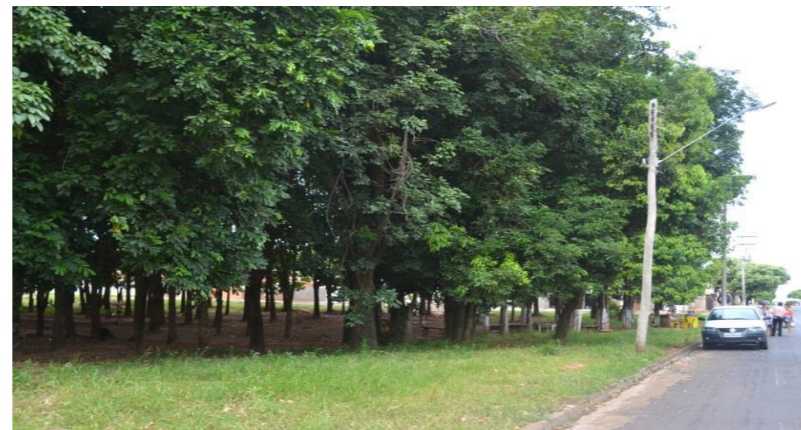
F



G



H



I



A- Chácara; B- Vazios urbanos de fundo de vale; C- Chácara com criação de animais; D- Terrenos vazios com animais soltos pastando; E- Fundo de vale reflorestado; F- Terreno baldio com lixo; G- Galinha solta pelos terrenos; H- Parque- área verde reflorestada; I- Praça. Fonte: Arquivo pessoal de D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Fato importante para ser levado em consideração na análise do padrão da distribuição espacial dos casos de LV canino da série histórica de Dracena é que, durante os anos de 2008 a 2010, as atividades de inquérito sorológico foram executadas, regularmente, durante o ano todo, sendo realizadas nas 2 áreas e nos 9 setores urbanos existentes no município. Já a partir de 2011, houve uma redução drástica do quadro de funcionários do CCZ, o que prejudicou a realização dos inquéritos sorológicos, impossibilitando a sua conclusão dentro do ano.

Na Prancha 02 - Figura 22A está apresentada a distribuição espacial do quantitativo de cães confirmados com LV por quadra no ano de 2010 e na Prancha 02 - Figura 22B está apresentada a distribuição espacial do quantitativo de cães confirmados com LV por quadra no ano de 2011. Percebe-se, nitidamente, a diminuição das atividades de um ano para outro, fato que se manteve nos anos subsequentes (Prancha 02 – Figuras 22C e 22 D).

Segundo informações do próprio CCZ, o inquérito sorológico era sempre retomado no ano seguinte, no local onde havia parado no ano anterior. As áreas e setores que não foram trabalhadas no município foram respectivamente: ano de 2011: 2.1/2.2/2.5; ano de 2012: 1.4/2.1; ano de 2013:1.2; 1.3; 2.1. Portanto, explica-se o padrão da distribuição espacial com baixa prevalência nessas áreas nos anos de 2011 a 2013 (Figura 21), lembrando que nelas não foi possível realizar o inquérito sorológico do que ocorreu em função da redução de recursos humanos, além da grande demanda da equipe em função da epidemia de dengue no município nesses anos estudados. Relatam, ainda, que a partir de 2011 houve muitos animais suspeitos, aos quais foram analisados e identificados por demanda espontânea pela população.

A área 1, setor 2 em 2006 e a área 1, setor 4 em 2007 foram as que apresentaram maior número de casos humanos, em relação ao número de casos caninos, destoando do padrão encontrado nos demais locais onde se observa que há uma correlação entre a quantidade de casos caninos e humanos (Figura 21).

A área 2, setor 2 (uma área central e populosa da cidade) também apresentou comportamento diferenciado, tendo dois anos com a presença de LVC muito alta e um ano sem a presença da doença e assim respectivamente entre 2006 e 2013 (2006 e 2007 presença de LV, 2008 sem presença, 2009 e 2010 presença, 2011 sem presença e 2012 e 2013 novamente presença da LVC).

A área 2, setor 3, que apresentou casos de LVC nos anos de 2006 a 2010, conseguiu conter os casos em 2011, mas em 2012 e 2013 eles retornaram. A área 2, setor 1 apresentou o comportamento mais típico da LV, tendo de 2006 a 2012, muitos casos de LVC e em 2013 casos de LV humana.

Em Tupi Paulista, durante os anos de 2006 a 2009, as atividades de inquérito sorológico foram executadas regularmente durante o ano todo, não demonstrada nos mapas, não sendo possível, por isso, fazer a identificação dos animais por quadra, pois as informações não eram informatizadas, fato que só ocorreu a partir de 2010. Já a partir desse ano, assim como em Dracena, houve uma redução do quadro de funcionários do CCZ, o que prejudicou a realização dos inquéritos sorológicos censitários, ficando mais crítica a situação a partir de 2012, reduzindo drasticamente o número de animais analisados e impossibilitando a conclusão dentro do ano.

Claramente se percebe que o padrão de distribuição espacial do quantitativo de cães confirmados com LV por quadra em Dracena e Tupi Paulista são diferentes. Em Dracena a distribuição dos animais doentes está por toda cidade (Prancha 02 - Figura 22A e 22C) e em Tupi Paulista (Prancha 04 - Figura 24A a 24F) se manteve concentrada em algumas áreas. Nas Figuras 24A, 24B e 24C está a distribuição espacial da área urbana de Tupi Paulista nos anos de 2010, 2011 e 2012, respectivamente. Percebe-se, nitidamente, que foram trabalhadas por demanda espontânea as mesmas áreas em três anos consecutivos em bairros considerados áreas prioritárias do município, assim como nos demais anos persistiram (Prancha 04 - Figuras 24D, 24E e 24F) e se caracterizam por serem áreas mais carentes e populosas da cidade.

Houve diminuição das atividades a partir de 2012, fato que se manteve nos anos subsequentes (Prancha 04 - Figuras 24D, 24E e 24F). Segundo informações do próprio serviço de zoonoses do município, o inquérito sorológico, a partir de 2010, foi sempre realizado por demanda espontânea da população e acabava por se estender em torno do foco encontrado. No ano de 2013 (Prancha 04 - Figura 24D), houve um deslocamento dos focos e a confirmação dos casos de LVC para região leste da área urbana do município e, em 2015, um pequeno foco na região oeste da área urbana de Tupi Paulista foi identificado.

Portanto, explica-se o padrão da distribuição espacial em Tupi Paulista com predominância de áreas silenciosas na área urbana em anos consecutivos. Áreas silenciosas, não significa que a doença não existia, mas sim por não ter sido possível realizar o inquérito sorológico, isto é, por não ter sido investigada e/ou por serem áreas com nível socioeconômico mais alto, os proprietários podem ter procurado o serviço privado para identificação de animais doentes e não notificou o serviço público. Outro ponto importante a ser considerado, segundo informações dos próprios funcionários do serviço de controle de

vetores/zoonoses municipais, essa região silenciosa e central da cidade tem poucos cães e a taxa de reposição é mais baixa do que nos demais bairros da cidade, que também são mais populosos.

Com o estimador de Kernel representado é possível observar com mais clareza a intensidade dos agrupamentos por quadras para cães confirmados sorologicamente com LVC, no município de Dracena no período de 2010 a 2015, apresentado na Prancha 03 - Figura 23, respectivamente nas Figuras 23A, 23B, 23C, 23D, 23E, 23F. Observa-se que há uma maior concentração de cães na área que corresponde ao CCZ (Prancha 05- Figuras 26A, 26B e 26C) em todos os anos da série estudada (2010 a 2015), o que se deve à demanda espontânea dos moradores, levando seus animais até o CCZ, em função da diminuição das equipes de zoonoses nesse período. Atendimento de demanda espontânea, não é fazer vigilância!

Isso demonstra que, mesmo sendo demanda espontânea, o correto é registrar o animal em sua área de domicílio e não de coleta, assim como fez Tupi Paulista (Prancha 04, Figuras 24A a 24F), com o registro do domicílio do animal doente, foi possível mapear as áreas prioritárias. Também foi possível com o estimador de kernel, identificar as áreas com maior concentração de cães (Prancha 05 - Figura 25A) e de galinhas (Prancha 05 - Figura 25B) na área urbana de Dracena.

Corroborando a literatura de que em cidades pequenas, o urbano e o rural se confundem, encontramos na área urbana de Dracena, locais com maior concentração de cães e de galinhas, os quais também foram áreas onde houve o maior número de ocorrência de casos de LV humana e canina. Contextualizando o ambiente urbano dessas áreas, temos a Figura 27 (Prancha 06) com algumas fotos: 27A - Chácara; 27B- Vazios urbanos de fundo de vale; 27C- Chácara com criação de animais; 27D- Terrenos vazios com animais soltos pastando; 27E- Fundo de vale reflorestado; 26F- Terreno baldio com lixo; 26G- Presença de galinhas soltas pelos terrenos; 27H- Parque- área verde reflorestada; 27I- Praça.

Frente a esse conhecimento, é possível identificar áreas prioritárias no município, intensificando ações de vigilância e controle da LV, podendo evitar o aparecimento de casos humanos e auxiliar na tomada de decisão pelos gestores municipais.

Principais resultados da análise espacial intraurbana para a tese

Ao longo dos 10 anos da série histórica analisada, houve ocorrência de casos de LVH em todos os anos, prevalecendo a classificação de transmissão intensa no município de Dracena-SP e moderada em Tupi Paulista-SP-Brasil em seis (6) dos oito (8) dos triênios avaliados.

O padrão de distribuição espacial da LVC apresentado na escala local na área urbana nos municípios de Dracena e Tupi Paulista-SP no período analisado permite inferir a possibilidade da ocorrência do aumento do número de casos humanos, sendo necessária a intensificação de ações de vigilância e controle da doença. Esse conhecimento permite a identificação de áreas urbanas prioritárias e pode ser efetivo, no que tange à vigilância no enfrentamento do agravo no município, desde que seja um trabalho contínuo e com equipe especializada. Nessa perspectiva, o uso de geotecnologias em saúde pode ser uma estratégia útil para melhorar a eficácia das medidas de controle, enquanto diminui os custos operacionais, sendo uma importante ferramenta que pode ser explorada para auxiliar na tomada de decisão dos gestores municipais na vigilância e no controle da LV.

Houve uma prevalência média alta de LVC nos dois municípios avaliados, embora a eutanásia de cães tenha sido elevada em relação às recusas. O número de animais examinados nos dois primeiros anos da ocorrência LV foi alto, mas não se manteve, diminuindo quase pela metade nos quatro anos subsequentes e drasticamente nos três últimos anos analisados, demonstrando que o serviço público municipal de controle de zoonoses não está funcionando adequadamente. Entretanto, houve diminuição da prevalência canina e humana de LV, as ações realizadas de vigilância e controle foram centralizadas em áreas prioritárias e demonstraram ser efetivas.

São de extrema importância a continuidade e a intensificação das ações de vigilância e controle da LV, tanto na área urbana como na rural, principalmente com a identificação de áreas prioritárias, como ferramenta para auxiliar na gestão na escala local e buscar a quebra na cadeia de transmissão da doença. Contudo, mesmo os municípios que executam as ações de vigilância sob sua responsabilidade, obtendo com isso efetividade, dependendo de onde estejam localizados (áreas *core*, eixo ou borda), o ciclo de transmissão pode ser controlado, mas dificilmente eliminado. Se, por razões de ordem política, as ações sofrem descontinuidade, a doença se transforma novamente num grave problema de saúde pública do município. Essas diferentes situações que envolvem o programa de vigilância e controle serão

retomadas no último capítulo. Por ora, cabe-nos indagar em que medida tal ações, na escala intraurbana, e periurbana (ciclo urbano) são suficientes, sem considerar as interações espaciais com o ciclo silvestre e rural, incluindo os assentamentos de reforma agrária, assim como os circuitos regionais dos quais essas cidades fazem parte, contribuem para a dispersão regional da LV.

Esse é um tema importante como a doença se urbanizou e como se difunde no território regional.

Capítulo IV - Leishmaniose visceral no meio rural: uma nova fronteira



Na figura acima está representado em destaque no modelo esquemático das discussões norteadoras da tese, o que será debatido no presente capítulo, embasada em articulações escalares que envolvem o ciclo evolutivo da *Leishmania* no território, as ações de vigilância e controle na escala municipal e o processo de difusão da LV no território na escala regional, considerando o meio rural.

No Brasil, até meados de 1980, a ocorrência da LV estava limitada a áreas rurais e a pequenas localidades urbanas. Atualmente, encontra-se em franca expansão para grandes centros, estando distribuída em todas as regiões brasileiras, com predomínio na região Nordeste (BRASIL, 2009).

Segundo Cardim et al. (2013), a expansão da LV no Brasil está associada à urbanização da doença e do vetor, mudanças socioambientais e dificuldades de controle em grandes centros urbanos, onde problemas de desnutrição, condições de moradia e saneamento básico estão presentes. A migração de populações humana e canina de áreas endêmicas contribui para sua expansão, ao introduzir o parasita em novos ambientes.

O município de Teodoro Sampaio-SP, desde 1940, é considerado área endêmica para a LT, por apresentar casos humanos (CONDINO et al., 1998) e casos de LV em cães (D'ANDREA, et al., 2015c). Configura-se como uma área de sobreposição de casos de LT e LV e apresenta grandes dificuldades operacionais, por falta de recursos humanos para compor equipes de trabalho em número suficiente para a realização das ações de vigilância e controle da LV na área urbana do município (D'ANDREA, et al., 2015c).

Os serviços de vigilância e controle do município têm desenvolvido atividades para a identificação de cães sintomáticos, por meio de capacitações de agentes de saúde. Esses profissionais atuam em visitas mensais às residências da área urbana e rural do município, inclusive em assentamentos de reforma agrária. A capacitação de agentes de saúde tem por objetivo a identificação de cães sintomáticos para LV, além de implementar a atuação desses profissionais para o desenvolvimento de uma visão integrada da doença no território, observando o meio ambiente em que o indivíduo está inserido, visando estrategicamente a melhoria da eficácia das ações de vigilância e controle da LV, desenvolvidas no município de Teodoro Sampaio.

O referido município conta ainda com registro de disseminação de cães sintomáticos em assentamentos rurais provenientes da área urbana, que diante da expansão da monocultura de cana de açúcar se encontram confinados em condições ambientais propícias para a manutenção do ciclo da LV (D'ANDREA, et al., 2015c). Observa-se, ainda, em Teodoro Sampaio, grande fluxo de animais, mercadorias e pessoas que, juntamente com visitantes voltados para o ecoturismo regional oferecido pelo Parque Estadual Morro de Diabo (PEMD), circulam pelo território.

Embora ainda não se tenham relatos da confirmação de casos autóctones de *L. infantum* confirmados em cães oriundos da área rural dos assentamentos de reforma agrária em Teodoro Sampaio e, sim apenas da área urbana do município, observa-se que há

possibilidade do encontro de espécies de *Leishmania* circulando pelo município, tanto na área urbana como na rural, pois há registros recentes de notificações de cães sintomáticos pela população dos assentados.

Tupi Paulista assim como outros municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente são endêmicos para LV, com ocorrência de casos humano e canino e também abrigam um assentamento de reforma agrária e várias propriedades rurais em seu território.

Frente ao exposto, torna-se necessário conhecer a prevalência de LVC no meio rural de Teodoro Sampaio e de Tupi Paulista - SP, bem como identificar a espécie de *Leishmania* ali circulante.

Diante desse cenário, alguns questionamentos precisam ser esclarecidos, pois são de extrema importância:

- As ações de vigilância e controle dos municípios de Teodoro Sampaio e Tupi Paulista-SP têm sido eficazes no controle da LV em seu território?
- A dinâmica dos assentamentos de reforma agrária rural é um fator que tem contribuído para dispersão da LV nos municípios de Teodoro Sampaio e Tupi Paulista-SP?

O objetivo geral do presente capítulo foi caracterizar e analisar os casos de leishmaniose visceral canina na área rural do município de Teodoro Sampaio-SP, no período de julho/2013 a novembro/2014 e os casos de leishmaniose visceral canina na área rural do município de Tupi Paulista - SP, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2015. Para isso, foi necessário identificar cães soro-reagentes, pelo teste rápido (TR) DPP® e ELISA®, ambos da Bio-Manguinhos Fundação Oswaldo Cruz (RJ); conhecer a prevalência de LVC da área urbana e rural do município de Teodoro Sampaio-SP; - conhecer a prevalência de LVC da área rural do município de Tupi Paulista-SP e avaliar a dinâmica dos assentamentos de reforma agrária rural como fator que contribui para a dispersão da LV no município.

Procedimentos Metodológicos

Área de estudo: Área urbana do município de Teodoro Sampaio-SP

O município de Teodoro Sampaio está localizado no Estado de São Paulo, na região conhecida como Pontal do Paranapanema, próximo ao rio Paranapanema (Figura 28). Com uma população de 21.386 habitantes e extensão territorial de 1.555,994 Km² (IBGE, 2010a), tem sua população canina estimada em 5.347 animais, segundo Alves et al. (2005). É nacionalmente conhecida por sediar o PEMD, uma unidade de conservação de

33.845,33 hectares de floresta tropical estacional semidecidual (SÃO PAULO, 2014). O município abriga um grande número de assentamentos rurais de reforma agrária - são 20 ao todo, distribuídos ao longo de seu território, dentre os 168 existentes em terras paulistas (ITESP, 2014).

Figura 28 - Área de estudo



Fonte: Google Earth. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Teodoro Sampaio pertence à Rede Regional de Atenção à Saúde (RRAS) 11 – Presidente Prudente, fazendo parte do CIR do Pontal do Paranapanema que pertence ao GVE e GVS 22 de Presidente Venceslau (SÃO PAULO, 2012). Em 2010, passou a ser classificado epidemiologicamente, como sendo de transmissão canina para LV, com a atividade de inquérito sorológico canino apenas na área urbana, realizada pela Vigilância Sanitária (um dos serviços de saúde municipal de Teodoro Sampaio).

Área de estudo – Área rural de Teodoro Sampaio -SP - Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida

O assentamento Santa Terezinha da Água Sumida (Figura 28), localizado a 50 km da sede do município de Teodoro Sampaio/SP, foi um projeto de assentamento criado em julho de 1999, domínio do Estado, divididas em 48 lotes em uma área total de 1.345,82 hectares (ITESP, 2014). Atualmente, encontra-se em uma região cercada por extensivas plantações de cana de açúcar e /ou pastagens, reservas florestais e proximidade com a floresta tropical Semidecidual do PEMD.

O assentamento apresenta uma dinâmica bem definida. Seus habitantes cultivam a terra, têm criação de porcos, galinhas e gado de corte e leite, sendo a produção leiteira a principal atividade pecuária. Existe também pequeno comércio local, porém bem estabelecido, no Distrito do assentamento Água Sumida. Há um posto de atendimento do Programa de Saúde da Família (PSF) e escola que atende os filhos dos assentados com ensino fundamental e médio.

O referido assentamento possui uma população canina de 135 animais cadastrados pela vigilância sanitária. Alguns dos habitantes ainda estão diretamente ligados à cidade, o que demonstra um grande fluxo de pessoas que transitam entre o meio urbano e o rural.

Observa-se que, em torno das residências, há a presença de árvores frutíferas em quase todos os lotes e, também, acúmulo de matéria orgânica e resíduos espalhados pelas áreas do peridomicílio. Muitas famílias acumulam lixo em seus quintais e conservam seus bens em depósitos, que aparentemente não apresentam nenhum tipo de infraestrutura para a higienização periódica do espaço. As casas são de alvenaria, porém o acabamento é determinado de acordo com a renda de cada família.

Através de trabalho de campo foi possível verificar que cada lote apresenta um grande número de animais, sendo que apenas quatro proprietários não possuem cães, que em sua maioria vivem soltos, têm acesso a lotes vizinhos, pastos e trechos de reservas florestais. Essa situação gera uma grande população canina que circula diariamente na área do assentamento e, muitas vezes, não há a chamada “posse responsável” do animal, e alguns donos, nem se “lembram” de que os cães estes estão sobre sua guarda e responsabilidade. Fato este, demonstrado no momento da coleta de material em que alguns desses proprietários não sabem o nome do animal e também não tem certeza se pertencem ao seu lote.

Tupi Paulista-SP conta apenas com um assentamento de reforma agrária estadual denominado Santa Rita (Figura 28), fundado em 1996, em virtude de acordo entre fazendeiro e o ITESP, constituído de 31 lotes, numa área total de 749,56 hectares (ITESP, 2014-<http://www.itesp.sp.gov.br/br/info/acoes/assentamentos.aspx>). A principal atividade é o cultivo do urucum, frutas e hortaliças.

De acordo com Feliciano (2009), a maioria das famílias desse assentamento era de arrendatários oriundos da própria região de Dracena e Junqueirópolis, os quais, por meio do poder público municipal, buscaram o projeto de assentamento, sem a necessidade de ocupações e de acampamentos. Em trabalho de campo, pode-se observar que o padrão da infraestrutura, da conservação e da higienização das habitações deste assentamento é bom, demonstrando que a renda *per capita* de sua população é de classe média, embora o assentamento esteja, no momento atual (2017), cercado por imensos canaviais.

Metodologia

A Vigilância Sanitária é o órgão público municipal responsável pelo serviço de vetores/zoonoses em Teodoro Sampaio e Tupi Paulista. Juntamente com o Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz de Presidente Prudente V (CRL-IAL-PP V), que é referência regional para o diagnóstico da LV e Sucen, realizaram o levantamento dos dados de animais domiciliados, incluídos em inquérito sorológico canino do PVCLVA.

Foram coletadas e analisadas 1.033 amostras de soro de cães oriundos das áreas urbana e rural do município de Teodoro Sampaio-SP, no período entre julho/2013 e novembro/2014. Todas as amostras do estudo foram submetidas ao fluxograma determinado pela Nota Técnica conjunta nº 01/2011, que utiliza o TR DPP® Bio para LVC como método de triagem e o ELISA® Bio para LVC como teste confirmatório.

Em Tupi Paulista foram coletadas e analisadas 12.029 amostras de soro de cães oriundos das áreas urbana e rural do município, no período entre janeiro/2006 e dezembro/2015. Entre janeiro de 2006 e abril de 2012, os inquéritos sorológicos eram realizados com o protocolo para identificação dos casos caninos com a triagem sorológica com teste imunoenzimático o ELISA® para pesquisa de anticorpos Anti-*Leishmania* e a RIFI®

como teste confirmatório, ambos da BioManguinhos, FioCruz/RJ. A partir de abril de 2012, passou a utilizar o novo protocolo determinado pela Nota Técnica conjunta nº 01/2011.

Os dados foram obtidos pelos boletins de campo para a coleta dos inquéritos sorológicos caninos – BOL_CAO 3, realizados na área de abrangência dos setores censitários urbano e rural dos municípios estudados, onde constam os resultados dos testes rápidos imunocromatográfico de duplo percurso (TR DPP®) para LVC, realizados pelo município, relatórios online de utilização de TR DPP® e boletins informativos com os resultados do teste confirmatório ELISA® para LVC, fornecidos pelo CLR – IAL PP V.

O critério de inclusão utilizado para esse estudo foi a seleção de todos os cães com amostra de soro com resultado de diagnóstico reagente e não reagente para LVC coletados durante o período do estudo, oriundo dos dois municípios analisados.

O médico veterinário responsável pelo programa em cada um dos municípios analisados e sua equipe realizaram as coletas de sangue canino, com uso de seringas por punção venosa, transferido para tubos de ensaio com gel separador e, posteriormente centrifugados para a obtenção do soro. Em seguida foram aliquotados em tubos tipo eppendorf e armazenados a - 20° C, conforme normativas contidas no Manual do PVCLVA do ESP e estocadas de acordo com as orientações da Portaria DG/IAL – 16, de 22 de dezembro de 2010, sobre a temporalidade das amostras do Instituto Adolfo Lutz (SÃO PAULO, 2010), para posterior controle de qualidade do diagnóstico laboratorial da subrede de Leishmaniose do ESP. Quando necessário, foi solicitada a recoleta de sangue de animais soro reagentes, para confirmar a positividade sorológica e a coleta de punção de linfonodo e medula óssea para a realização do parasitológico direto, isolamento de *Leishmania* em meios de cultura acelulares bifásico BAB-BHI e identificação da espécie por métodos moleculares – PCR.

O TR DPP® para LVC BioManguinhos - FIOCRUZ/RJ é um teste imunocromatográfico rápido, realizado com o soro obtido da amostra de sangue coletada em campo pelo município, utilizado como teste de triagem sorológica na rotina dos inquéritos, para fim de identificação dos cães reagentes, processado conforme bula do fabricante (BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ, 2013). O aparecimento de apenas uma linha vermelha indica que o resultado da amostra é não reagente (Figura 29). Caso apareçam duas linhas vermelhas, uma no teste (T) e outra no controle (C) a amostra é reagente para LVC (Figura 29).

Figura 29 - TR DPP® BioManguinhos Não Reagente e Reagente



Fonte: Arquivo pessoal de D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

O ELISA® para LVC BioManguinhos - FIOCRUZ/RJ é um teste imunoenzimático, utilizado como teste confirmatório, em que o soro é incubado em uma placa pré-sensibilizada com antígenos de *Leishmania* e, ao final da reação, a densidade óptica da amostra é lida em espectrofotômetro, conforme padronizado pela bula do fabricante (ELISA, 2004). Anexo III.

O meio de cultura para *Leishmania* spp. é constituído de meio sólido BAB: Blood Agar Base em tubos de 16x160mm e Caldo BHI: *Brain Heart infusion* (com 200 g/ml de gentamicina e 5% de urina humana estéril) como fase líquida em tubos 12x120mm. Após quatro (4) dias da semeadura ela foi lida em microscopia ótica para a pesquisa de formas promastigotas “*in vivo*”. Só foi considerada cultura negativa, após 30 dias de incubação com pesquisa semanal sem o encontro de formas do parasita. Esse exame possibilitou o isolamento de formas promastigotas “*in vivo*” de *Leishmania* spp, identificadas posteriormente por PCR, após serem criopreservadas em freezer -80°C.

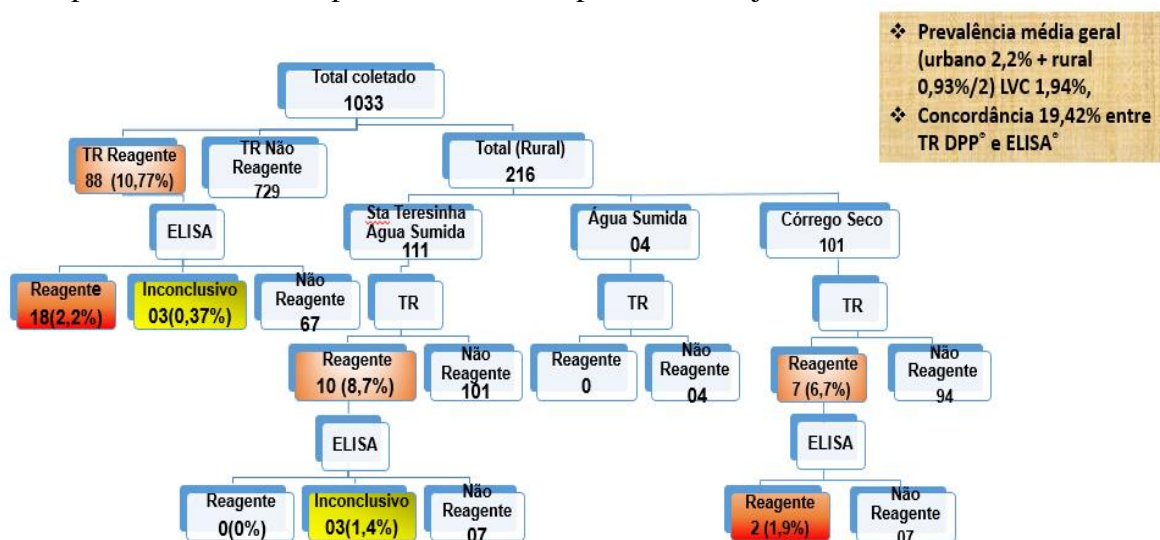
A identificação da espécie foi realizada por testes moleculares de PCR, após extração de DNA. Para o isolamento e identificação da espécie de *Leishmania* utilizou-se um kit de extração de DNA (Qiagen) e procederam-se às amplificações, conforme instruções do fabricante.

Os dados obtidos foram organizados em planilhas no software Excel, para a elaboração de fluxogramas e análise estatística. As análises estatísticas foram realizadas segundo Ferreira e Ávila (1996).

Resultados e Discussão

Em Teodoro Sampaio, do total de amostras analisadas no período, o panorama que se obteve foi: a) área urbana 10,77% (88) das amostras reagentes no TR DPP® e 2,20% (18) confirmadas no teste de ELISA®; b) área rural 7,9% (17) das amostras reagentes no TR DPP®, 0,93% (2) das amostras reagentes no ELISA® e 1,40% (3) se apresentaram inconclusivas no ELISA®; c) a prevalência média (urbana + rural) de LVC confirmada no município de Teodoro Sampaio foi de 1,94% (20) no período analisado; d) a concordância foi de 19,42% entre os testes utilizados na triagem e no teste confirmatório, respectivamente com TR DPP® e ELISA® ambos Bio-Manguinhos (Figura 30).

Figura 30 - Distribuição dos resultados das amostras coletadas nas áreas urbana e rural do município de Teodoro Sampaio-SP-Brasil, no período entre julho/2013 e novembro/2014



Fonte: CLR–IAL PP V e Secretaria Municipal de Teodoro Sampaio. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

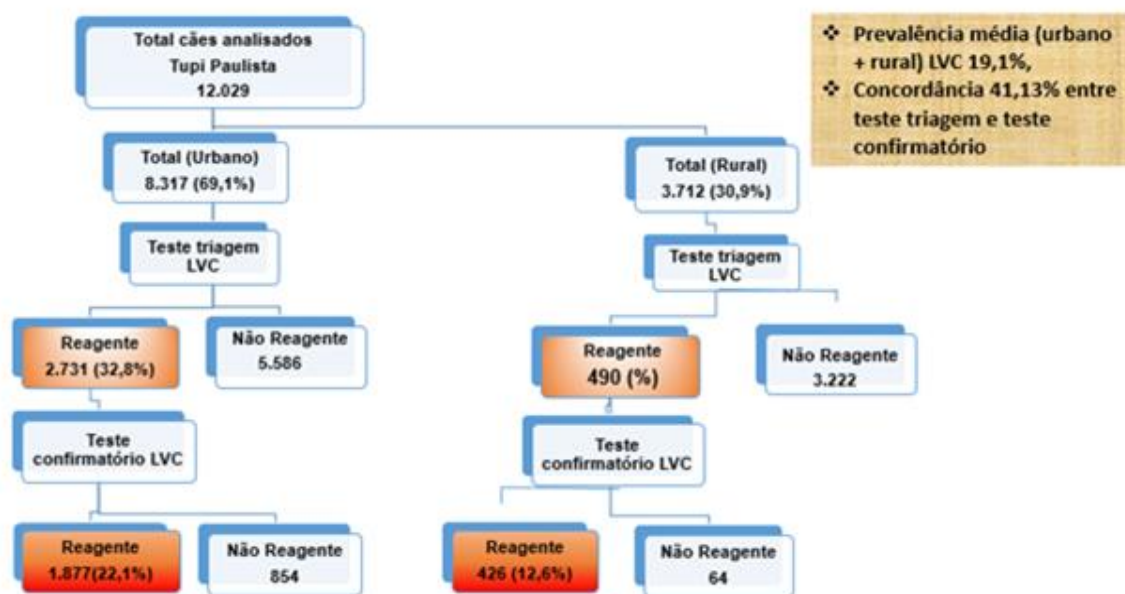
Resultados superiores de prevalência canina (4,24%) e concordância (32,78%) entre os testes de triagem e confirmatório foram obtidos por D'Andrea et al. (2014) em estudos realizados na mesma área de pesquisa, porém, apenas com amostras de cães provenientes da área urbana, realizado no período entre agosto de 2012 e junho de 2013. Observa-se que houve uma redução de 2,31 % na prevalência canina e 14,6% na concordância entre os testes.

Esse fato, provavelmente, pode ter ocorrido, como demonstrado em estudos realizados por D'Andrea et al. (2012) onde em áreas em início de transmissão, a prevalência canina e a concordância entre os testes de triagem e confirmatório são baixos.

Do total de amostras analisadas no período, o panorama que se obteve em Tupi Paulista foi: a) área urbana 32,8% (2.731) das amostras reagentes nos testes de triagem e

22,1% (1.877) no teste confirmatório para LVC; b) área rural 13,2% (490) das amostras reagentes nos testes de triagem, 12,6% (426) das amostras reagentes no teste confirmatório; c) a prevalência média (urbana + rural) de LVC no município de Tupi Paulista foi de 19,1% (2.303) no período analisado; d) a concordância foi de 41,13% entre os testes utilizados na triagem e nos testes confirmatório, ambos Bio-Manguinhos (Figura 31).

Figura 31 - Distribuição dos resultados das amostras coletadas nas áreas: urbana e rural do município de Tupi Paulista-SP-Brasil, no período entre janeiro/2006 e dezembro/2015



Fonte: CLR-IAL PP V e Secretaria Municipal de Tupi Paulista. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Considerando os resultados nesses dois municípios, podemos observar que a prevalência média para LVC tanto urbano (22,1%) como rural (12,6%) em Tupi Paulista foi superior à encontrada em Teodoro Sampaio, respectivamente, na área urbana (2,2%) e rural (0,93%). Podemos inferir que, pelo perfil de resultados sorológicos apresentados, Tupi Paulista é considerado município “*core*”, isto é, a circulação do parasita no território é maior. Já pelo perfil sorológico de Teodoro Sampaio, com uma prevalência média bem mais baixa, com uma taxa de concordância também menor, podemos considerar que seja um município “*borda*”, isto é, onde a circulação do parasita é baixa. Esse achado pode ser também comprovado, considerando que em Tupi Paulista, de 2006 a 2015, foram notificados 36 casos de LVH, já em Teodoro Sampaio, até a presente data (2017), não foi notificado nenhum caso de LVH autóctone, contando com apenas um caso importado.

A positividade encontrada em Teodoro Sampaio pode ser considerada baixa, se a compararmos com o estudo realizado por Borges et al. (2011), em Juatuba (MG) que mostraram uma prevalência estimada em 10,6% e levando em consideração os valores entre

5,9% a 29,8% encontrados na microrregião de Dracena, na Alta Paulista, áreas endêmicas para LV (D'ANDREA et al, 2009). Resultado similar a Tupi Paulista foi encontrada por Nobrega (2010), onde a prevalência foi de 19,65%, no Centro de Controle de Zoonoses de João Pessoa/PB. Já em São Luís/MA resultados superiores foram encontrados por Sílvia-Abreu et al. (2008), onde a positividade para LVC foi de 51,6%.

Do total (1.033) das amostras coletadas em Teodoro Sampaio, 79,1% (817) foram provenientes da área urbana, contabilizando 18 casos de LVC e 20,1% (216) eram da área rural com 2 casos. Desse total da zona rural de Teodoro Sampaio, 111 eram provenientes de cães do assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, quatro (4) do assentamento Água Sumida e 101 do bairro Córrego Seco (Figura 30). Em Tupi Paulista, do total (12.029) de animais analisados, 69,1% (8.317) pertenciam à área urbana, contabilizando 1.877 casos de LVC e 30,9% (3.712) eram da área rural com 426 casos (Figura 31). Do total da área rural de Tupi Paulista, os animais eram oriundos de 14 bairros rurais e de um único assentamento de reforma agrária existente no município - o assentamento Santa Rita.

As atividades de inquérito sorológico canino na área rural de Teodoro Sampaio tiveram início apenas em 2014, devido à notificação de um cão suspeito no assentamento Água Sumida e de um cão no assentamento Santa Terezinha da Água Sumida. Quando a equipe de zoonoses da Vigilância Sanitária do município foi a campo realizar as coletas dos cães suspeitos notificados, os animais já tinham ido a óbito, diferentemente do município de Tupi Paulista, em que a equipe de zoonoses desenvolveu as atividades de inquérito censitário na área rural, com maior frequência, geralmente a cada dois anos.

Foram realizadas coletas de amostras de sangue de quatro (4) cães do lote onde foi notificado o cão suspeito do assentamento Água Sumida. Porém, nenhuma amostra apresentou anticorpos Anti-Leishmania no teste de triagem TR DPP® Bio. A equipe de zoonoses de Teodoro Sampaio não conseguiu voltar mais a esse assentamento para realizar outras coletas. Já no assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, foram coletadas 111 amostras de sangue de cães, e submetidas ao fluxograma atual. Dessas, 10 mostraram-se reagentes no TR DPP® Bio realizadas pelo município (ANEXO II e Prancha 07 - Figura 34), sendo que três (3) se mostraram indeterminadas. Isto é, uma quantidade muito baixa de anticorpos, na chamada “zona cinza” e sete (07) delas não apresentaram positividade no teste confirmatório de ELISA. Observa-se que existe uma relação de proximidade entre os lotes que identificaram cães com anticorpos Anti – Leishmania (Lotes 06, 09, 10, 31, 36, 37, 39 e 40 – Anexo II e Prancha 07 - Figura 34), demonstrando que a circulação do parasita segue uma rota de dispersão por contiguidade (Figura 32 e Prancha 07 - Figura 34).

Figura 32 - Mapa de distribuição dos 48 lotes do Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida - Teodoro Sampaio-SP-Brasil e identificação dos que apresentaram cães com LV



Fonte: Google Earth. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

O fato mobilizou novamente a equipe da Vigilância Sanitária que realiza as atividades de controle de vetores/zoonoses do município, alertando, também, para a questão sobre como os assentamentos de reforma agrária poderiam estar ligados à dinâmica de transmissão e dispersão da LV no município. Ou, ainda, qual seria a espécie que poderia estar circulando no município, uma vez que a discordância entre os testes de triagem e confirmatório tinha aumentado em relação a inquéritos anteriores.

Foi solicitada a coleta de sangue dos cães do assentamento que apresentaram o TR DPP® Bio para LVC reagentes para confirmação de positividade sorológica; coleta de punção de linfonodo para realização de parasitológico direto para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp. e coleta de punção de medula óssea para isolamento em meios de cultura acelulares e realização de PCR para identificação da espécie de *Leishmania*.

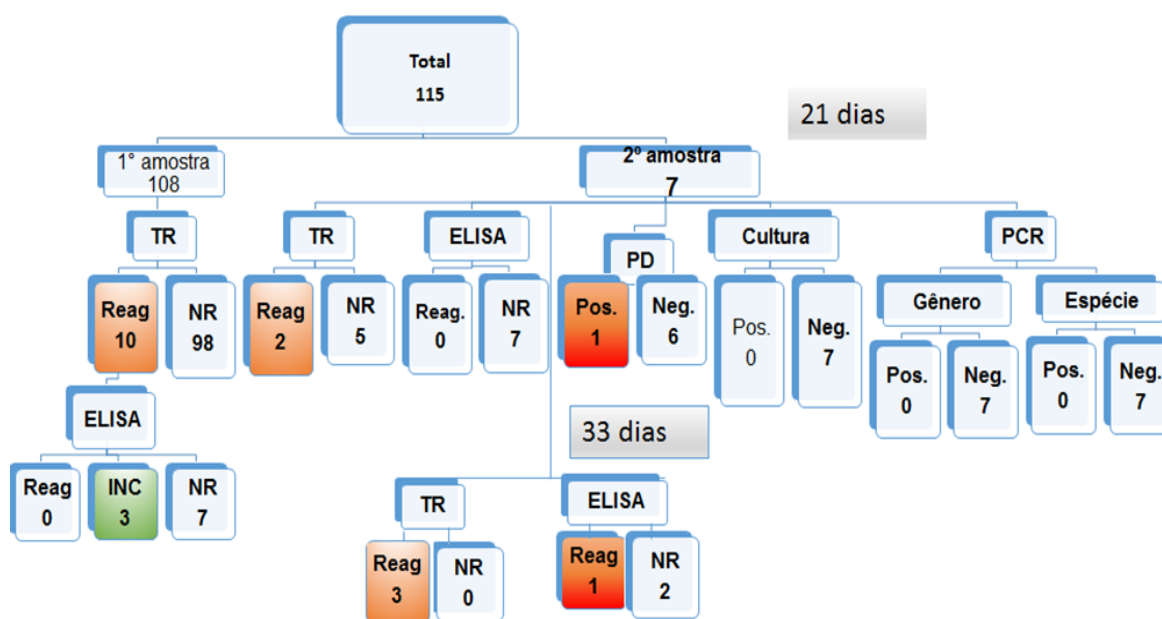
Com um intervalo de 21 dias, foram realizadas as referidas coletas, sendo que dos 10 animais solicitados, apenas sete (7) foram coletados (Figura 33). Os três (3) cães que apresentaram TR DPP® Bio para LVC reagentes e o ELISA® indeterminado, foram agendados para serem coletados em uma nova data, pois não se encontravam na propriedade.

Este é um problema agravante que dificulta as atividades na área rural de Teodoro Sampaio, além de serem localidades distantes da área urbana.

Observa-se, perante esse cenário, que na segunda amostra coletada, apenas duas delas concordaram com os resultados sorológicos obtidos na primeira amostra nos testes, isto é, dos sete (7) animais que na primeira amostra apresentaram Anticorpos Anti-Leishmania no TR DPP® Bio, na segunda amostra, apenas dois (2) confirmaram a presença de anticorpos (cães dos Lotes 36 e 37). E apenas um animal (cão do Lote 36) teve o parasitológico direto positivo com o encontro de formas amastigotas de *Leishmania* spp. Porém, não houve crescimento de *Leishmania* em nenhuma das sete (7) amostras semeadas em meios de culturas acelulares bifásico BAB-BHI e os testes moleculares para gênero e espécie também se apresentaram todos negativos (Figura 33).

Após 33 dias da primeira coleta, os outros três (3) animais foram recoletados e os resultados com TR DPP foram confirmados, sendo que apenas o cão do lote 10 confirmou reatividade no ELISA (Prancha 07 - Figura 34) e os outros dois animais tiveram resultado inconclusivo (ANEXO II). Portanto, no assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, foi comprovada a transmissão de LVC autóctone, por se tratar de dois animais que foram confirmados a doença e se infectaram no próprio assentamento. Digo autóctones, porque os proprietários do animal informaram que o mesmo não saiu do referido assentamento.

Figura 33 - Distribuição dos resultados de diferentes amostras coletadas na área rural Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, município de Teodoro Sampaio-SP-Brasil, no período entre novembro/2014 e janeiro/2015



Fonte: CLR-IAL PP V e Secretaria Municipal de Teodoro Sampaio. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

PRANCHA 07

Figura 34: Mapa de distribuição dos 48 lotes do Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida - Teodoro Sampaio-SP-Brasil e identificação dos que apresentaram cães com LV



A: Peridomicílio de lote, tendo em vista a questão do acúmulo de lixo e matéria orgânica; B: Situação ambiental do peridomicílio dos lotes; C: Peridomicílio de lote mostrando acúmulo de lixo, galinheiro, curral, chiqueiro ao fundo e materiais no entorno da residência; D: Área de peridomicílio de lote, com vistas ao fundo de vizinhança com área canavieira; E: Área de vegetação localizada dentro do Assentamento margeando seis lotes (09,10,11, 24, 25,43,44). Fonte: Prefeitura Municipal de Teodoro Sampaio e fotos arquivo pessoal de VICENTINI, CF; D'ANDREA, LAZ, 2016.

Tendo em vista que o município de Teodoro Sampaio é uma área endêmica para a leishmaniose tegumentar, torna-se necessária a investigação acerca da espécie de *Leishmania* circulante na região. Uma vez que foi identificada a presença do patógeno *Leishmania* spp. em exame parasitológico direto e da presença de anticorpos Anti-*Leishmania* nos testes TR DPP®, que apresenta em sua constituição a proteína rK39, específica para o Gênero *Leishmania*, e poucos confirmaram no ELISA®, o que comprova que a circulação do parasita existe, porém, ainda em baixa quantidade no meio rural. Outra explicação para o fato de se ter dificuldade de identificação por biologia molecular, é o de que pode estar circulando uma nova espécie de *Leishmania* que os primers utilizados no PCR não estão detectando. Nesse caso, seriam necessários outros estudos com outros primers diferentes para comprovar essa hipótese.

Anteriormente, D'Andrea et al. (2014), submeteram quatro amostras de seu estudo de cães provenientes da área urbana de Teodoro Sampaio para a realização de PCR para identificação da espécie, pois os animais apresentavam sorologia reagente para LV. Entretanto, também encontraram a mesma dificuldade, não conseguindo identificar a espécie de *Leishmania* em nenhum daqueles quatro animais.

Na oportunidade de visita ao local de estudo, no assentamento de reforma agrária Santa Terezinha da Água Sumida, no momento da coleta de material biológico dos animais em investigação, foi feito um trabalho de campo, com o intuito de realizar uma caracterização ambiental nos lotes que apresentaram cães com a sorologia reagente. O local apresentava muitos indícios de que poderia estar ocorrendo a circulação e manutenção do ciclo do agente causador, uma vez que apresentava todos os fatores ambientais propícios ao desenvolvimento do vetor: presença de uma área de vegetação que margeia uma faixa interna do assentamento (Prancha 07 - Figura 34E); acúmulo de matéria orgânica no peridomicílio de algumas das residências (Prancha 07 - Figura 34A e 34B); presença de galinheiro, curral e chiqueiro ao fundo e acúmulo de matéria orgânica no entorno da residência (Prancha 07 - Figura 34C) proximidade com as plantações de cana que margeiam a maioria dos lotes (Prancha 07 - Figura 34D); áreas de pastagens (uma vez que a principal atividade entre os assentados é a criação de gado leiteiro), o que cria um clima propício para reservatórios silvestres (cães do mato e marsupiais) associado à liberdade que os cães dos lotes têm no ir e vir.

O peridomicílio das residências, na maioria dos casos, é composto por grandes árvores frutíferas, criações de aves e suínos. O descarte dos resíduos das residências, muitas das vezes está a céu aberto, e o lixo gerado, não é recolhido, ficando espalhado pelo ambiente (Prancha 07 - Figuras 34A e 34B). Um costume comum entre os moradores é o acúmulo de

materiais, utensílios domésticos e mobílias que ficam entulhados nos quintais, o que torna possível não só o desenvolvimento de flebotomíneos, mas também diferentes tipos de vetores que utilizam esses materiais como abrigos/ninhos para seu ciclo reprodutivo e maturação de seus ovos/larvas.

A falta de manutenção da higienização com o peridomicílio e a grande quantidade de animais que são criados soltos no entorno das residências, associada com cães que circulam livremente, provavelmente pode ser fator determinante do aumento do raio de dispersão da doença, pois uma vez que o flebotomíneo apresenta um limite de voo, pode ocorrer dispersão do parasita pelos lotes.

Embora a Sucen de Presidente Prudente já tenha realizado capturas em alguns lotes do assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, apenas foi encontrado um exemplar do vetor em armadilhas do tipo CDC. Será necessária a programação de outros trabalhos de campo para a captura de mais exemplares e o estudo da fauna de flebotomíneos da região em estudo. Outro fato importante a ser considerado nesse cenário é que o assentamento Santa Terezinha da Água Sumida está cercado por extensos canaviais e havendo ali pulverização aérea de defensivos agrícolas. Sendo assim, possivelmente pode ter provocado a morte de flebotomíneos adultos, fato que explicaria a baixa incidência de exemplares por ocasião da pesquisa entomológica realizada pela Sucen. Mais um forte indício da caracterização de Teodoro Sampaio ser classificada como área “borda” para LV.

Outro fator observado que possibilitaria a manutenção do ciclo da doença é a grande quantidade de criadouro de aves. É possível verificar que galináceos, podem tornar-se reservatórios, porém, com baixa infecciosidade e estariam mais relacionados como fonte de alimento para os flebotomíneos, assim como rebanhos de gado, cavalos e pocilgas de suínos, que poderão permanecer nos arredores das casas, facilitando a expansão da população de insetos vetores (ALVES, 2012; CALDAS, 2001) e possibilitando que o agente causador seja transmitido para a população canina e humana.

O fato de os animais andarem livremente pelos lotes e o contato com a mata das proximidades (Prancha 07 - Figura 34E), mostra uma possibilidade de infecção desses animais, podendo ocasionar a infecção de locais fora do raio de alcance do flebotomíneo.

No bairro rural Córrego Seco, localizado às margens da estrada vicinal que liga Teodoro Sampaio ao PEMD (Figura 35), também foi realizado um inquérito sorológico censitário entre o final do ano de 2015 e início de 2016. Do total de 104 cães domiciliados no bairro, foi possível coletar sangue e testar frente a anticorpos Anti-*Leishmania* de 99 animais,

dos quais foram detectados 6,7% (7) com TR DPP para LV Bio reagentes e 1,9% (2) de animais confirmados com a presença de anticorpos pelo ELISA (Figura 35).

Figura 35 - Localização do bairro rural Córrego Seco na estrada vicinal entre a área urbana de Teodoro Sampaio-SP-Brasil e o PEMB e distribuição espacial dos cães analisados, segundo a propriedade



Fonte: Google Earth. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

A distribuição espacial dos cães analisados do bairro rural Córrego Seco, município de Teodoro Sampaio/SP/Brasil, segundo a localização da propriedade e os resultados sorológicos, encontra-se na Figura 35. Os dados nos mostram que o que está ocorrendo no assentamento de reforma agrária e no meio rural, não tem sido diferente do que vem ocorrendo no meio urbano, revelando um novo panorama da doença no município de Teodoro Sampaio, a exemplo de um cão do meio urbano de Teodoro Sampaio que apresentou o mesmo padrão de resultados encontrado em amostras dos cães do assentamento em investigação. Durante três anos consecutivos o animal apresentava-se assintomático e foi acompanhado pela equipe de zoonoses municipal, o animal apresentou em todas as coletas anuais, resultado reagente no teste de triagem TR DPP® Bio e não reagente no teste confirmatório de ELISA®. Entretanto, após três anos de acompanhamento, houve o aparecimento de sintomatologia da doença, como perda de peso, alopecia, crescimento das unhas e aumento de linfonodos.

O serviço de zoonoses municipal foi acionado pelo proprietário que solicitou repetição dos exames e nova amostra de soro foi coletada do animal. Novamente foi confirmada a

presença de anticorpos Anti-*Leishmania* no TR DPP® Bio. Porém, ao realizar o teste de ELISA®, o resultado não foi confirmado. Diante desse panorama, o proprietário doou o cão para eutanásia pelo estado deplorável do animal que foi recolhido pelo serviço de vetores/zoonoses. No momento da eutanásia, o médico veterinário deu prosseguimento à investigação diagnóstica, uma vez que o caso suscitava dúvidas. Foi realizada uma coleta de material de punção de linfonodo para realização do parasitológico direto e punção de medula para isolamento em meios de culturas acelulares. Na pesquisa direta foi encontrada *Leishmania* spp. no parasitológico direto, porém não houve crescimento em meio de cultura bifásico BAB-BHI e não foi possível realizar investigação por PCR desse animal.

Acredita-se que possa estar havendo a circulação de uma outra espécie de *Leishmania* e/ou reação cruzada com outro tipo de parasita ou tripanossomatídeos.

É de extrema importância que se dê prosseguimento à investigação diagnóstica e continuidade aos estudos no referido município para que seja identificada a espécie de *Leishmania* circulante, pois até o fechamento dos resultados deste estudo, isso ainda não foi possível, ficando assim a oportunidade para pesquisas futuras.

Na literatura corrente, existe uma correlação entre a ocorrência da infecção canina e a ocorrência de infecção humana, demonstrando assim que o diagnóstico canino identifica cães soro reagentes e representa um passo de grande importância para o controle da LV. Em Teodoro Sampaio não é diferente; no ano de 2014 foi notificado o primeiro caso de LV humana no município, porém após a investigação epidemiológica para comprovar a autoctonia, a mesma não se confirmou, pois, o paciente era uma criança que também circulou e conviveu em outras áreas endêmicas da região. Nesse caso, foi o município de Presidente Venceslau, onde a criança visitava familiares frequentemente.

Tendo em vista o panorama apresentado do município de Teodoro Sampaio/SP, observou-se uma diminuição da prevalência de LVC de 2,31% no período estudado, comparado a estudos anteriores no mesmo território. Provavelmente, isso deve ter ocorrido em função da introdução de áreas novas de transmissão do município, fato comprovado com atividades de inquéritos sorológicos nos assentamentos de reforma agrária, onde foi detectada presença de cães infectados com LV.

No assentamento Santa Rita, localizado na área rural de Tupi Paulista, composto por 31 lotes, foi realizado um inquérito sorológico para LVC em 2015, sendo analisados 65 cães, identificando 04 (6,2%) com teste rápido para LV reagente e confirmado através do ELISA, ambos da BioManguinhos, cujos animais pertenciam aos lotes 05, 08, 11 e 15 respectivamente (Figura 36). Dos quatro animais com sorologia para LVC reagentes, após a

autorização de seus respectivos proprietários, após a eutanásia, foram coletados materiais do fígado, baço e linfonodo e isoladas *Leishmania* em meio de cultura bifásico BAB-BHI de todos os materiais cultivados. Na sequência, foram identificados a espécie *Leishmania infantum* e o Gênero *Leishmania* através do PCR em todas as amostras analisadas. Diferentemente da situação descrita acima, relatando a dificuldade de isolamento e identificação da *Leishmania* de amostras de cães de Teodoro Sampaio, a *Leishmania* isolada e identificada como *Leishmania infantum* (sinonímia *L. chagasi*) provenientes de cães do assentamento Santa Rita de Tupi Paulista, estão sendo utilizadas, como controle positivo das culturas no laboratório de parasitologia do CLR IAL PPV, sendo repicadas as cepas a cada 20 dias com a manutenção das cepas viáveis no meio de cultura bifásico BAB-BHI.

Em dezembro de 2016, foi realizado um segundo inquérito sorológico censitário no Assentamento Santa Rita em Tupi Paulista, onde foram analisados 50 cães, identificando cinco (10%) animais com TR DPP reagente, porém apenas três (6%) confirmaram reatividade no ELISA, ambos da BioManguinhos. Os animais com diagnóstico confirmado para LV, pertenciam aos lotes 06, 19 e 24. Os dois (4%) cães que não confirmaram reatividade no ELISA, pertenciam aos lotes 18 e 26, respectivamente (Figura 36).

Figura 36 - Distribuição espacial dos cães analisados no primeiro e segundo inquérito sorológico para LVC realizados em 2015 e 2016, respectivamente, no Assentamento Santa Rita, área rural do município de Tupi Paulista/SP



Fonte: Google Earth. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

Em trabalho de campo realizado no assentamento Santa Rita, na área rural de Tupi Paulista, podemos constatar, que esse assentamento se encontra no meio de extensos canaviais, mas como há a ocorrência de animais importados de outras localidades endêmicas para LV da Alta Paulista e mesmo da área urbana do município, o ambiente é bastante propício para a ocorrência do vetor e, possivelmente, favorece a manutenção do ciclo da LV no ambiente. A exemplo de outros estudos realizados no Pontal do Paranapanema, em Teodoro Sampaio/SP, situação semelhante também foi observada no assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, onde foi encontrado LVC que se encontra no meio de extensos canaviais e um ambiente propício para manutenção do ciclo (D'ANDREA et al., 2015d).

Analisando os dois inquéritos sorológicos realizados no assentamento Santa Rita, podemos observar que a ação de retirada dos animais doentes, que são reservatórios domésticos da infecção, é de extrema importância para o controle da doença. Embora a prevalência canina tenha se mantido em 6%, observou-se nas Figuras 35 e 36, que a rota de dispersão da LV no assentamento ocorreu por contiguidade demonstrada pela proximidade de cães diagnosticados com LV, localizados em lotes vizinhos.

O fato chama a atenção para outras áreas de assentamentos de reforma agrária existentes na RRAS 11 de Presidente Prudente, onde os gestores municipais devem dar uma atenção especial e disponibilizar equipes de zoonoses para atuarem nesses locais com a realização de inquéritos sorológicos censitários, por se configurarem áreas prioritárias que possibilitam a dispersão da LV no território.

Principais considerações para a tese

Foi confirmada a transmissão da LVC na área urbana e rural do município de Teodoro Sampaio/SP e a presença de cães infectados com *L. infantum* no meio rural no Assentamento Santa Rita no município de Tupi Paulista-SP, demonstrando que possivelmente, a dinâmica dos assentamentos de reforma agrária pode contribuir para a dispersão da LV, o que precisa ser estudado mais profundamente.

A saúde de uma determinada comunidade está associada à dinâmica dos sistemas ambientais ali encontrados e estão relacionados diretamente à introdução, manutenção e expansão de uma determinada doença, como é o caso das leishmanioses. Basta o animal circular pelo peridomicílio da vizinhança, e este coabitar com o vetor, para ser possível que reservatórios aumentassem o raio de abrangência de dispersão da doença.

A dinâmica ambiental encontrada nos assentamentos de reforma agrária rural no Pontal do Paranapanema pode ser um dos fatores que contribuem para a dispersão e manutenção do ciclo da LV (foco natural da doença). É de extrema importância a identificação da espécie de *Leishmania* circulante, bem como a continuidade na investigação diagnóstica através de inquéritos sorológicos em outros assentamentos de reforma agrária, bem como compreender melhor o padrão da doença, a dinâmica ambiental mais a dinâmica social (complexo patogênico), buscar parcerias e meios para o enfrentamento da LV no meio urbano e rural.

Por fim, no último capítulo discutiremos a política pública, as interfaces escalares e o programa de vigilância e controle da LV, levando em consideração as rotas de dispersão dos elementos envolvidos no ciclo da doença: vetor, hospedeiro cão e homem, nos diferentes centros de dispersão: *core*, eixo e borda.

Capítulo V – Rotas de dispersão da Leishmaniose Visceral: política pública e interfaces escalares, arsenal diagnóstico laboratorial, programa de vigilância e controle



Na figura acima está representado em destaque no modelo esquemático das discussões norteadoras da tese, o que será debatido no presente capítulo embasada em articulações escalares: local, regional e nacional que envolvem políticas públicas que estruturam as ações de vigilância e controle da LV em diferentes níveis de gestão, retroalimentado pela disputa de poder, mediada entre a União, Estado e Município e que permeia e fragmenta o processo entre a intenção e a ação e no território se traduz no modelo de difusão da LV.

Este capítulo foi estruturado em quatro seções. Na primeira, tratamos da complexidade dos conceitos de políticas públicas e das interfaces escalares entre os órgãos dos sistemas de vigilância em saúde. Na segunda, discorremos sobre o arsenal diagnóstico no enfrentamento da LV e o Programa de Vigilância e Controle em seus diferentes níveis escalares a partir dos níveis de atuação dos gestores em saúde na prevenção e controle da doença. Na terceira, abordamos as rotas de dispersão da LV na RRAS 11 de Presidente Prudente: vetor *Lutzomyia longipalpis*, casos caninos e humanos. Por fim, a quarta seção é uma síntese dos principais delineamentos da tese.

A LV é um grave problema de saúde pública e se encontra em franca expansão em território paulista. Para compreender o processo saúde-doença, a distribuição espacial, as rotas de dispersão, e atuar de forma a conter a expansão da endemia é de extrema importância compreender as interações escalares que envolvem a LV e a dimensão do reflexo das ações que são desenvolvidas em cada nível das escalas, nas quais são estruturadas as ações do programa de vigilância e controle. Essas ações abrangem as esferas nacional, estadual e municipal, além do conhecimento do ambiente acometido pela doença.

A LV tornou-se endêmica no oeste do Estado de São Paulo e tem-se dispersado e expandido percorrendo rotas que integram o mesmo eixo rodoviário de outros municípios com transmissão influenciada pelo fluxo de pessoas, mercadorias e prestação de serviços.

Política Pública e interfaces escalares

O PVCLV é um exemplo de política pública aplicada na área da saúde. Políticas públicas são conjuntos de ações, atividades ou programas desenvolvidos pelos governos direta ou indiretamente, frente a situações problemáticas para as quais se buscam soluções, ou pelo menos procurar trazê-las a níveis manejáveis, com a participação de entes públicos ou privados, e que influenciam a vida dos cidadãos (LYNN, 1980; PETERS, 1996; DEUBEL, 2006).

Dye (1984) sintetiza a definição de política pública como “o que o governo escolhe fazer ou não fazer”. A definição mais conhecida continua sendo a de Laswell, ou seja, decisões e análises sobre política pública implicam responder às seguintes questões: quem ganha o que; por que e que diferença isso faz (LASWELL, 1936, 1958).

Segundo Monteiro (1982), do ponto de vista da ciência econômica, o termo “política pública” remete a um plano de escolhas racionais de agentes que tomam decisões. Para a teoria da administração, refere-se, principalmente, aos resultados alcançados pela organização

governamental. Já a ciência política e a análise sociológica tratam de investigar a política como resultado de interações entre diferentes grupos, segmentos ou classes sociais.

Castells (1983, p. 16) utiliza o termo “política pública” como “(...) a instância na qual a sociedade trata as contradições e defasagens das diferentes instâncias que a compõem”.

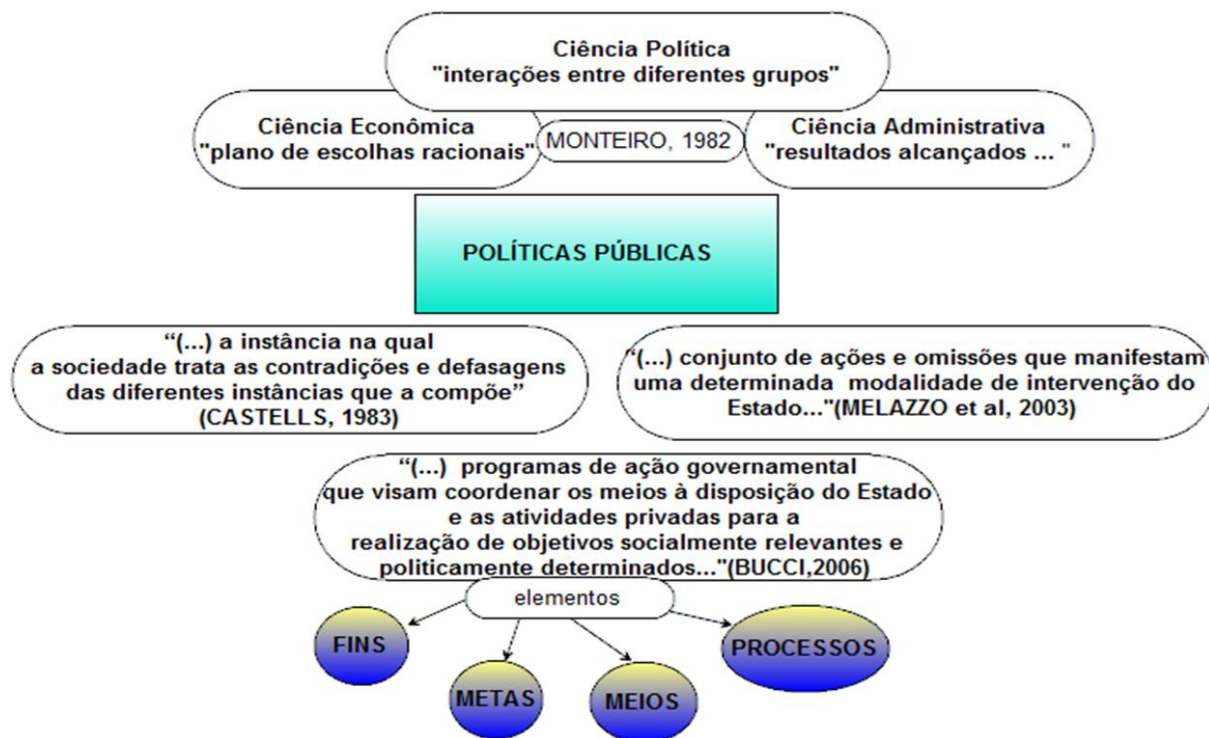
Para Melazzo et al. (2003), a “política pública” pode ser entendida como um conjunto de ações e omissões que manifestam uma determinada modalidade de intervenção do Estado em relação a uma questão que lhe chama atenção, interesse e mobilização de outros setores.

Bucci (2006) acrescenta que “políticas públicas” são programas de ação governamental que visam coordenar os meios à disposição do Estado e as atividades privadas para a realização de objetivos socialmente relevantes e politicamente determinados, distinguindo quatro elementos constitutivos:

- 1) os fins almejados pela ação governamental;
- 2) as metas nas quais se desdobra esse fim;
- 3) os meios alocados para a realização das metas;
- 4) os processos de sua realização.

Com base no exposto por diferentes autores, apresentamos a Figura 37 que representa o Mapa conceitual de “políticas públicas” contendo as principais ideias aqui apresentadas.

Figura 37 - Mapa conceitual de Políticas Públicas



Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

A vigilância epidemiológica é um dos componentes do PVCLV, cujos objetivos são reduzir as taxas de letalidade e grau de morbidade através do diagnóstico e tratamento precoce dos casos de leishmaniose, bem como diminuir os riscos de transmissão mediante controle da população de reservatórios e do agente transmissor (BRASIL, 2014; 2016).

O processo saúde-doença é diretamente influenciado pela disputa de poder nas diferentes escalas. O que geralmente ocorre nos processos de transição do poder na escala local, isto é, no município, é uma descontinuidade nas atividades das ações de vigilância e controle das enfermidades preconizadas pelas políticas públicas. O impacto dessa descontinuidade pode variar muito de município para município, dependendo do poder das interações multiescalares vivenciadas por cada um e poderão ser avaliadas mediante o comportamento da doença num determinado período.

Por isso, a política pública de planejamento é uma questão de escala dentro dos princípios em que devem ser pensadas. O planejamento urbano segue planos de “idealização”. Entretanto, na prática, tais planos não são eficazes, ocasionando impasses, dos quais o maior talvez, seja a regionalização que é traçada para aplicação das políticas públicas, baseada em uma tradição histórica do órgão nacional IBGE, resultado da necessidade de moldar as regiões aos limites jurídico-administrativos dos Estados e Municípios da federação (GUIMARÃES, 2005). Assim, ao se falar de políticas e planejamento em saúde, a escala é questão elementar.

Há uma necessidade de que as políticas públicas de planejamento percebam as diferenças quando modificam de escala, seja ela nacional, regional ou mesmo dentro de uma cidade. Há diferenças internas de um Estado para o outro, indo além, entre bairros vizinhos em uma mesma cidade. O problema ocorre porque o planejamento em escala local deve ser ajustado e elaborado conforme as características locais, por exemplo, para uma cidade, onde diferentes grupos sociais e realidades coexistem.

Na escala mundial, a OMS atua indiretamente através da Organização Panamericana de Saúde (OPAS), traçando panoramas e metas, influenciando as decisões em outros níveis escalares (WHO, 2015). Em nível regional e local, as decisões nacionais, estaduais e sobretudo, municipais, são as responsáveis pela vigilância e controle da LV e atuam de forma direta.

Na escala nacional, o MS é o órgão que estabelece as diretrizes do programa de vigilância e controle da LV, através de manuais, guias, portarias e recomendações; investe em pesquisas em diagnóstico, tratamento e na política de assistência à saúde do SUS. Fornece os insumos para os exames diagnósticos que são realizados tanto no cão como no homem - em

escala estadual - através dos Laboratórios Centrais (LACENs) de Referência Nacional e Municipal, por meio das Secretarias Municipais de Saúde. É na esfera do SUS que são tomadas as decisões em nível nacional e estabelecida as diretrizes do programa da doença com todas as normativas e ações que deverão ser executadas a partir de um padrão do que é o ideal para todos os Estados. Assim, suas decisões são amplamente rebatidas em outras escalas.

Não obstante, sabendo das diferenciações existentes entre os Estados brasileiros, esses têm certa autonomia para lidar com as políticas de vigilância e controle da LV. Na escala estadual, no Estado de São Paulo, há órgãos específicos que lidam com os vetores e com o agente causal. São a Sucen e o IAL, respectivamente.

Neste processo saúde-doença, temos a atuação dos municípios, escala local, onde devem ser desencadeadas e tomadas as principais decisões, pois é onde, efetivamente os casos da doença acontecem. Conseqüentemente, o comportamento da LV num dado município pode ser entendido como fruto das decisões tomadas e das ações desencadeadas, contribuindo para o bloqueio da transmissão da doença ou para sua dispersão. Aqui se situa um dos maiores nós críticos do programa, pois muitos municípios não conseguem realizar as ações de vigilância e controle como é recomendado pelo MS e tampouco dar continuidade a essas ações.

No município, também temos diferentes escalas de atuação na área da Saúde, conforme a natureza do órgão municipal: o controle de vetores/zoonoses; o controle e vigilância dos cães; as vigilâncias: epidemiológica no diagnóstico, tratamentos e notificação dos casos humanos e a sanitária na parte ambiental. Quando os casos caninos de LV são confirmados, nos municípios em transmissão, os animais devem ser eutanasiados por constituírem a principal reservatório da doença. Em 2016 foi autorizado tratamento de cães conforme a Nota técnica nº.11/2016/CPV/DFIP/DAS/GM/MAPA. Os casos humanos quando diagnosticados, são tratados, direcionados para unidades referenciadas do SUS pactuadas regionalmente.

Arsenal Diagnóstico laboratorial da Leishmaniose Visceral e o Programa de Vigilância e Controle

Diferentes metodologias podem ser utilizadas para o diagnóstico laboratorial de LV humana e canina. Há uma variedade de técnicas disponíveis; no entanto, o diagnóstico laboratorial apresenta dificuldades com relação à sensibilidade e especificidade, constituindo

um grande desafio para os serviços de saúde pública no Brasil (GONTIJO; MELLO, 2004). Dentre essas dificuldades, destaca-se a detecção de cães infectados sem sinais clínicos ou com sinais clínicos que possam ser confundidos com outras doenças caninas (PEREIRA-CHIOCCOLA, 2009).

Estão disponíveis diversas metodologias para o diagnóstico da LV, podendo ser realizado por meio de exames parasitológicos como o parasitológico direto, que pesquisa as formas amastigotas em lâmina de esfregaço; cultura (*in vivo* e *in vitro*) para pesquisa das formas promastigotas da *Leishmania* e exame histopatológico das lesões; testes imunológicos para pesquisa de anticorpos e identificação de espécies de *Leishmania*, por isoenzimas e métodos moleculares de amplificação do ácido nucleico, como a Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) e PCR quantitativo (*Real Time PCR*) (MOREIRA et al., 2007; QUEIROZ et al., 2010).

O requisito básico e determinante (padrão-ouro) no diagnóstico laboratorial da LV é o encontro de formas amastigotas da *Leishmania*, em material obtido da punção de gânglios linfáticos, medula óssea, baço ou fígado, corado por *Giemsa* e a leitura em microscópio óptico (MARZOCHI; MARZOCHI; CARVALHO, 1994). Porém, é considerado procedimento invasivo, exige ambiente apropriado para coleta, profissional especializado, não sendo adequado para estudos epidemiológicos em larga escala (DEREURE et al., 1998).

Normalmente, a análise sorológica de cães assintomáticos revela a dificuldade em detectar resposta imune específica¹. Outro fator que corrobora para interferir na especificidade² dos métodos laboratoriais empregados é a diversidade endêmica encontrada nas regiões brasileiras. Algumas regiões podem ser endêmicas também para *L. braziliensis*, o agente causador da LT ou para *Trypanosoma cruzi*, o agente etiológico da doença de Chagas (GONTIJO; MELLO, 2004; SÃO PAULO, 2006; BRASIL, 2014), para erliquiose e para LV (D'ANDREA et al., 2009; 2015).

O diagnóstico clínico da LVC é complexo, apresentando amplo espectro de sinais clínicos, desde os oligossintomáticos, dependendo da fase da doença e das condições imunológicas, até estágios mais avançados, onde há manifestação sistêmica e crônica, ou

¹O sistema imunológico reconhece a *Leishmania* como uma substância estranha ao organismo e produz uma resposta imunológica específica frente ao antígeno apresentado, que são os anticorpos.

² Capacidade que um teste diagnóstico tem de identificar os verdadeiros negativos nos indivíduos verdadeiramente saudáveis.

permanecendo clinicamente inaparente por longos períodos. Entretanto, cães infectados, mesmo assintomáticos, constituem fonte de infecção para os flebotomíneos e têm papel ativo na transmissão de *Leishmania* (PALATNICK DE SOUZA et al., 2001).

O período de incubação da leishmaniose visceral não é bem determinado, podendo variar de dias a meses ou até a anos (MARZOCHI; MARZOCHI; CARVALHO, 1994).

As ações de vigilância e controle da LV são desenvolvidas a partir de diretrizes do PVCLV no ESP. Entretanto, outras orientações foram gradativamente discutidas e incorporadas de acordo com a portaria do Ministério da Saúde (MS) nº 2472/2010, que padroniza os procedimentos normativos relacionados à notificação compulsória e à vigilância em saúde no âmbito do SUS; das Notas Técnicas Nº 33/2010/Sub-ZVR/CGDT/5 DEVEP/SVS/MS, que determinam a caracterização da espécie *Leishmania infantum chagasi* por meio da técnica de Isoenzimas no Laboratório de Referência Nacional/FioCruz/RJ, como condição obrigatória para a identificação do agente causal do primeiro caso de LVC para mudar a classificação do município e Nº 01/2011CGDT/GLAB/DEVIT/SVS/MS, que trata dos “Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina” (CLVA, 2011; BRASIL, 2011; RANGEL et al., 2013).

Com relação ao reservatório canino, no ano de 2012 ocorreu uma mudança significativa no diagnóstico sorológico, que até então era realizado utilizando-se o ELISA como método de triagem e a RIFI como método confirmatório. Esses testes imunológicos são utilizados para a detecção de anticorpos anti-*Leishmania*, constituindo um método indireto para o diagnóstico da LVC e, portanto, indicam somente o contato com o parasito.

Após diversos estudos, esse cenário pôde ser modificado, utilizando-se o teste imunocromatográfico rápido (TR) DPP® Bio-Manguinhos para LVC, como teste de triagem de preferência pela esfera municipal, e ELISA® Bio-Manguinhos para LVC como teste confirmatório (Nota Técnica nº 01/2011 – CGDT/CGLAB/DEVIT/SVS/MS), e deverá ser realizado nos LACENs ou em laboratórios de centros de controle de zoonoses (CCZ) municipais, de acordo com a pactuação local (RANGEL et al., 2013, BRASIL, 2016).

A partir disso, a triagem sorológica com TR DPP® Bio passou a ser uma atividade realizada pelos municípios, após cadastro, adequação da estrutura física e capacitação de profissionais pelas equipes técnicas dos LACENs. É importante que haja, periodicamente, o controle de qualidade dos exames realizados. O Laboratório de Referência Nacional realiza o

controle de qualidade dos LACENs, e esses fazem o controle de qualidade na esfera municipal.

Em 2012, foram capacitados e sensibilizados pelos Lacens do Estado de São Paulo, o IAL e seus Centros de Laboratórios Regionais, 420 funcionários de quase 180 municípios do ESP, para utilizarem o novo cenário, os quais realizaram em torno de 70.000 testes (RANGEL et al., 2013).

A partir deste marco legal de 2012, passou a ser uma rotina nas atividades desenvolvidas pelo IAL central e seus Centros de Laboratórios Regionais - principalmente naqueles cujas áreas de abrangência são endêmicas para LV ou estão em investigação - inúmeras capacitações foram ministradas a profissionais de serviços de controle de vetores/zoonoses municipais e CCZs para a implantação dos serviços de triagem sorológica e/ou capacitação de novas equipes ou quando identificada a necessidade de atualização e / ou capacitação das equipes.

Além disso, passou-se a realizar assessoria e controle de qualidade do diagnóstico através de supervisão técnica direta e indireta aos laboratórios locais. Uma vez o município inserido na rede de Leishmaniose do ESP, passa a receber os kits de TR DPP BioManguinhos fornecidos pelo MS e distribuídos pelo IAL, conforme a programação de inquérito sorológico realizada pelo município, da disponibilidade dos insumos e da prestação de contas dos testes realizados através de relatórios mensais online. O não cumprimento do acima estipulado, levará o município a não receber mais os insumos.

A supervisão técnica direta é realizada pela visita técnica aos serviços de triagem sorológica para LVC municipais, com o objetivo de avaliar requisitos de infraestrutura, biossegurança, equipamentos, insumos, recursos humanos, práticas técnicas específicas e de documentação. A visita técnica é previamente agendada pelo técnico responsável pela rede de Leishmanioses na instância do IAL regional, em comum acordo com a disponibilidade dos envolvidos. No âmbito da área de atuação do CLR IAL PP V, para cada visita é solicitada a presença dos técnicos municipais responsáveis para que acompanhem a supervisão: médico veterinário e sua equipe de controle de vetores/zoonoses; vigilâncias sanitária e epidemiológica e o gestor do SUS. Ao final da supervisão, o técnico responsável pela subrede, emite um relatório que é assinado por todos os envolvidos e, posteriormente, enviada para cada setor envolvido no PVCLV, tanto nas esferas local (serviços de zoonoses,

vigilâncias municipais e gestor do SUS) como regional (vigilâncias estaduais epidemiológica e sanitária), acompanhado de um ofício.

O relatório técnico é um poderoso instrumento a ser utilizado em diferentes instâncias para tomada de decisões, muito embora se perceba que em alguns municípios pouco se avançou nos pontos críticos ou houve tomada de decisão por parte do gestor do SUS para melhoria. Algumas vezes se registra a mesma situação encontrada em visita técnica anterior. Entretanto, quando esse tipo de situação ocorre, a providência tomada pelo técnico do IAL responsável pela rede de Leishmaniose na escala regional, é levar essa pauta para as instâncias da CIRs, em reuniões de Câmara Técnica (CT) e de gestores para que o problema seja discutido, com o intuito de sensibilizar e conscientizar os gestores municipais do SUS da necessidade da realização das adequações pertinentes e efetuar as pactuações de melhoria. É um trabalho bastante árduo para os técnicos da rede do IAL que, com o avançar da doença em território paulista, a tendência é só aumentar as atividades desenvolvidas e a área de atuação.

No entanto, de uma forma geral, nota-se que a visita técnica é um instrumento regulador. É um trabalho de campo que proporciona um momento muito importante para discussão e reavaliação das ações de vigilância e controle da LV num determinado município. O Estado deveria investir mais em pessoal técnico capacitado para compor a rede de Leishmanioses do IAL, com infraestrutura de transporte e diárias para proporcionar o deslocamento dos técnicos para as visitas técnicas. Espera-se que, após a publicação oficial da hierarquização da Rede de Laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo para o Diagnóstico e Controle das Leishmanioses (que no momento está construindo uma proposta de organização) mais recursos sejam disponibilizados para esse tipo de atuação de vigilância em saúde.

A supervisão indireta é realizada pelo envio de soro triado pelos serviços municipais (10% das amostras testadas não ultrapassando 20) aos IALs regionais para serem retestadas no TR DPP Bio.

Na RRAS 11 de Presidente Prudente, área de abrangência de atuação do CLR IAL PP V, no período de abril de 2012 a abril de 2017, a pesquisadora responsável pelo laboratório de parasitologia e da subrede de Leishmaniose, juntamente com a sua equipe técnica, ministraram 26 capacitações, perfazendo um total de 208 horas a 166 funcionários de nível superior e médio, pertencentes a 28 municípios, para utilizarem o TR DPP Bio como teste de

triagem, em decorrência deste novo cenário no país. Já no período de 2010 a 2016, foram ministradas três capacitações, perfazendo um total de 31 funcionários de nível superior, pertencentes a 16 municípios e/ou hospitais de referência da região para utilizarem o TR imunocromatográfico para diagnóstico da LV humana.

No período de janeiro de 2013 a abril de 2017 foram realizadas 60 visitas técnicas a 25 municípios com atividades de triagem sorológica para LVC, sendo emitidos 60 relatórios técnicos, sendo sete em 2013, 19 em 2014, 11 em 2015 e de janeiro a abril de 2017 foram quatro visitas técnicas aos municípios da rede de Leishmanioses do IAL, na área de abrangência do CLR IAL PPV (Tabela 09).

Tabela 09 – Distribuição das visitas técnicas, conforme o município da RRS 11 de Presidente Prudente-SP e a data, realizadas em atendimento ao programa de controle de qualidade do diagnóstico da LV na rede de Leishmanioses do IAL, na área de abrangência do CLR IAL PP V. Período entre janeiro/2013 a abril/2017

Nº	Municípios RRS 11 Pres. Prudente	Anos					Nº de supervisões
		2013	2014	2015	2016	2017	
1	ALFREDO MARCONDES	20/mai	09/dez		12/dez		3
2	ALVARES MACHADO		11/abr	26/mai	27/dez		3
3	CAIUÁ			22/dez	04/jan		2
4	DRACENA	13/dez		10/mar	09/mar		3
5	EMILIANÓPOLIS			23/abr	29/dez		2
6	FLORA RICA	14/mai	02/dez		12/dez		3
7	IRAPURU	13/mai	02/dez		09/nov		3
8	JUNQUEIRÓPOLIS		01/jul			04/jan	2
9	MARABÁ PAULISTA			26/nov			1
10	MONTE CASTELO		09/abr		11/mai	29/mar	3
11	NOVA GUATAPORANGA		06/mai	09/set	28/set		3
12	OURO VERDE		13/ago			04/jan	2
13	PANORAMA		09/abr		13/jul		2
14	PAULICÉIA		08/abr		27/abr		2
15	PIQUEROBI		10/abr	22/dez			2
16	PRESIDENTE EPITÁCIO				02/jun		1
17	PRESIDENTE PRUDENTE	13/mar	05/ago		07/nov		3
18	PRESIDENTE VENCESLAU		10/abr	05/mai	06/dez		3
19	RANCHARIA				03/nov		1
20	SANTA MERCEDES		06/mai		13/jul		2
21	SANTO ANASTÁCIO		11/abr	28/dez			2
22	SANTO EXPEDITO	08/out	09/dez		29/dez		3
23	S. JOÃO DO PAU D'ALHO		07/mai			25/jan	2
24	TEODORO SAMPAIO	15/ago	23/set	07/mai	28/jan		4
25	TUPI PAULISTA		18/fev	02/jun	08/ago		3
25	TOTAL	7	19	11	19	4	60

Fonte: CLR – IAL PP V.

No período de abril/2014 a abril/2017, o CLR-IAL-PPV que é o laboratório de referência regional, recebeu um total de 1.126 amostras de soro enviadas pelos serviços de zoonoses municipais ou CCZs para controle de qualidade (supervisão indireta), sendo que desse total, foram 752 amostras de soro com resultado não reagente e 374 com resultado reagente no TR DDP BioManguinhos, em seus respectivos municípios de origem. Todas estas amostras (não reagentes e reagentes) foram retestadas no TR DPP BioManguinhos, com número de lote diferente daquele utilizado no município, resultando em uma concordância de 89,3% entre os resultados (Anexo IV).

Nestes quatro anos de avaliação do controle de qualidade, participaram ao todo 25 municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, sendo 18 em 2014, 19 em 2015, 25 em 2016 e 9 em 2017 (Anexo IV). Nos dois primeiros anos de descentralização da triagem do diagnóstico de LVC (2012 e 2013), não foi possível realizar o controle de qualidade externo, em função do processo de estruturação da rede de Leishmanioses no âmbito da macrorregião de Presidente Prudente, fato que teve o seu início em 2014. Nesses quatro anos de análise, de 2014 a 2017, percebe-se que o número de municípios pertencentes à rede só aumentou, de 18 em 2014, passaram a ser 25 em 2016 e em 2017 e, já contamos com mais um serviço implantado e mais sete capacitados, em fase de estruturação dos serviços, registrando um aumento de 32% na rede de Leishmaniose do IAL na macrorregião de Presidente Prudente.

Outro fato que tem demandado atuação dos LACENs foi o MS ter determinado a descentralização do diagnóstico rápido da LV humana para as Secretarias Municipais de Saúde (SMSs). As SMSs, com o apoio das Secretarias Estaduais de Saúde (SESs), têm a responsabilidade de organizar a rede básica de saúde para suspeitar, assistir, acompanhar e/ou encaminhar para referência hospitalar os pacientes com LV. Para tanto, é necessário estabelecer um fluxo de referência e contrarreferência, bem como oferecer as condições para diagnosticar e tratar precocemente os casos de LV. O atendimento pode ser realizado por meio da demanda passiva, registro e busca ativa de casos em áreas de maior risco ou quando indicadas pela vigilância epidemiológica, ou ainda, quando o acesso da população à rede é dificultado por diversos fatores (BRASIL, 2016).

Na RRAS 11 de Presidente Prudente, já temos profissionais de nível superior capacitados e recebendo insumos para realizar o diagnóstico com o teste rápido “IT LEIH” para LV humana e o teste descentralizado em três centros de referência para diagnóstico e tratamento deste agravo: Hospital Regional de Presidente Prudente, Santa Casa de Presidente

Prudente e Santa Casa de Dracena. No momento, estão sendo discutidas as diretrizes dessa descentralização na região de Presidente Prudente, para, posteriormente, serem pactuadas com os gestores municipais. A municipalização da vigilância em saúde dos municípios pequenos é um processo bastante dificultoso por diversas razões que a inviabiliza, seria necessário ter uma estrutura regional que assumisse esta tarefa.

Contudo, no Brasil, o PVCLV é pensado e estruturado pela política pública na esfera nacional, levando em consideração o perfil de municípios tipo core, acompanhado e monitorado na escala estadual por diferentes órgãos que atuam em saúde pública, mas é na escala local municipal que as ações do PVCLV são desencadeadas ou “não” no território. Esse é um dos principais nós críticos do programa, uma vez que as ações deveriam ser estruturadas, levando em conta o perfil do município: se ele é *core*, eixo ou borda. Além do que, enquanto alguns municípios da Federação cumprem responsabilidades, outros não o fazem, ou ainda não mantêm uma regularidade na realização de atividades de vigilância e controle, fazendo com que a doença se disperse no território e mantenha seu ciclo.

Para que as atividades do programa sejam executadas na escala local do município, elas dependem de diferentes atores e instâncias envolvidas nas decisões. É de extrema importância em saúde pública compreender a dinâmica da doença numa determinada região, suas interações escalares e a dimensão do reflexo das ações que são desenvolvidas em cada nível que envolve o PVCLV, avaliando a sua efetividade.

Conforme o Guia de Vigilância em Saúde (BRASIL, 2016), o MS passou a recomendar que os municípios com transmissão moderada e intensa de médio ou grande porte (com população igual ou superior a 50.000 habitantes) devem estratificar seu território em Áreas de Trabalho Local (ATL). Essa estratificação visa direcionar o município na priorização, planejamento, execução e avaliação das ações de vigilância e controle da LV. Já municípios de pequeno porte (população igual ou menor a 50.000 habitantes) considerados prioritários, as ações de vigilância e controle da LV devem ser uniformes em todo o seu território.

É um bom caminho a identificação das ALTs, porém, diante do que se tem visto nos municípios, dificilmente se chegará a esse nível de atuação. O Estado terá que investir intensamente nesse tipo de treinamento, para capacitar os gestores municipais para que desenvolvam esse olhar crítico, bem como a disponibilização de ferramentas apropriadas para identificar os ATLs, a fim de subsidiar a tomada de decisão.

Diante do exposto, acredito que a Geografia da Saúde possui as ferramentas necessárias para a identificação das ALTs. Infelizmente, é ainda um recurso pouco utilizado, apenas aplicado a pesquisas.

A importância do diagnóstico da LVC no Brasil reside no fato de que, dentre as estratégias de controle da doença, encontra-se a eliminação do cão doméstico sororeagente, uma vez que o registro da infecção nesses animais, geralmente precede a ocorrência de casos humanos. Geralmente, a enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido mais prevalente do que no homem (BRASIL, 2007; MAIA-ELKHOURY et al., 2008; D'ANDREA et al., 2009).

Quando os casos caninos de LV são confirmados, nos municípios em transmissão, os cães devem ser eutanasiados por constituírem o principal reservatório da doença (BRASIL, 2016). Este é outro nó crítico do programa, pois muitos municípios não conseguem recolher e eutanasiar 100% de seus cães identificados com LV. Isso ocorre em função de o município não dispor de uma legislação que proteja as ações de vigilância e controle ou se tem, ela não é cumprida. Com isso, inúmeros processos tramitam na Justiça e em alguns municípios os proprietários conseguem liminar judicial para o não recolhimento e eutanásia do cão doente, chegando a ser autorizado o seu tratamento com outros medicamentos que não seja o recomendado.

Segundo a legislação brasileira, tratar os cães com medicamento utilizado para o tratamento da LV humana é proibido, com risco de o profissional médico veterinário perder o registro no Conselho de medicina veterinária.

Para agravar essa situação já bastante caótica, em 2016 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) autorizou o registro do produto Milteforan, sob número SP 000175-9.000003, de propriedade da empresa *Virbac Saúde Animal*, indicado para o tratamento da LVC, conforme a Nota técnica n.º.11/2016/CPV/DFIP/DAS/GM/MAPA. O licenciamento do medicamento foi emitido respeitando-se as determinações da Portaria Interministerial n.º.1.426 de 11 de julho de 2008, que regulamenta o tratamento de cães, proibindo tratamento da LV com produtos de uso humano ou não registrados no MAPA.

Cabe destacar que o tratamento de cães com LVC não se configura como uma medida de saúde pública para controle da doença e, portanto, trata-se única e exclusivamente de uma escolha do proprietário do animal, de caráter individual e de custo bastante elevado. Ressalta-se a necessidade de cumprimento do protocolo de tratamento descrito na rotulagem do produto respeitando-se a necessidade de reavaliação clínica, laboratorial e parasitológica

periódica pelo médico veterinário, a necessidade de realização de novo ciclo de tratamento, quanto indicado e a recomendação de utilização de produtos para repelência do flebotomíneo, inseto transmissor do agente causal da LVC.

Aqui se situa outro grande problema no enfrentamento da LV no Brasil: se os serviços de controle de vetores/zoonoses ou CCZs municipais muitas vezes não dão conta nem das atividades de vigilância e controle que devem rotineiramente realizar, como darão conta de fiscalizar esses animais em tratamento? Caberia aqui a implantação de um sistema de parceria entre os profissionais médicos veterinários de serviços públicos e privados, com intuito de garantir uma integração nas ações de vigilância e controle da LV.

Infelizmente é um futuro ainda bastante sombrio, pois não é qualquer proprietário que tem condições de custeá-lo por ser um tratamento oneroso. De uma maneira geral, cria-se uma expectativa na população de que não seria mais preciso eliminar o cão doente. Aí entra todo um trabalho de ações educativas e de conscientização da população, além de um apoio jurídico do município para as ações de vigilância e controle.

Na região de Presidente Prudente, o único município que saiu na frente e possui legislação aprovada para o enfrentamento e fiscalização dos cães com LV em tratamento canino com o Milteforan foi o município de Presidente Prudente. Segundo o responsável pelo CCZ de Presidente Prudente, até abril de 2017 já possuíam sete animais notificados e em acompanhamento de tratamento da LVC com Milteforan.

Ainda com relação à eutanásia canina, um outro problema enfrentado pelos gestores municipais é o descarte final destes animais. Segundo a Resolução RDC N° 306, de 7 de dezembro de 2004, que *dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde*, aponta que o animal eutanasiados com LV é de responsabilidade do município gerir este tipo de resíduo (BRASIL, 2004). Isso muitas vezes não ocorre, ou porque o município não possui um serviço especializado contratado para o recolhimento deste tipo de resíduo ou porque não tem um descarte apropriado em aterro sanitário legalizado.

Como foi exposto acima, o arsenal diagnóstico para a LV tem se atualizado, embora ainda muito se tenha a fazer. O PVCLV mesmo com todos os seus entraves, também tem funcionado e, as ações de vigilância em saúde têm sido efetivas no que tange a diminuição da notificação do número de casos de LV humana. Porém, o fator agravante que se tem observado é a expansão geográfica do fenômeno no ESP. Este será o assunto tratado a seguir,

no fechamento desta tese em que tratamos sobre as rotas da dispersão dos agentes transmissores, reservatório canino e dos casos de LV humana.

Rotas de dispersão da LV na RRAS 11 de Presidente Prudente: vetor L. longipalpis, reservatório canino e do homem

A ocorrência da doença em uma determinada área depende, basicamente, da presença do vetor susceptível e de um hospedeiro/reservatório igualmente susceptível. A possibilidade de que o humano, principalmente crianças desnutridas, venham em alguns casos, a ser fonte de infecção, pode conduzir a um aumento da complexidade da transmissão da LV (GONTIJO; MELO, 2004). O transporte de cães infectados e/ou doentes para regiões indenes, provenientes das várias regiões brasileiras com transmissão de LV, pode ter contribuído para a introdução e expansão da doença (SCANDAR et al., 2011).

A LV vem apresentando desafios para o programa de vigilância e controle com características peculiares na região do extremo oeste paulista, também conhecida como Pontal do Paranapanema. Os municípios que fazem parte da Rede Regional de Atenção à Saúde - RRAS 11, de Presidente Prudente, apresentaram nos últimos anos uma rápida expansão de cultivo de cana de açúcar, utilizada como matéria-prima em várias usinas sucroalcooleiras (THOMAZ JUNIOR, 2002). Para agravar essa situação, um fato relevante a ser considerado no âmbito da LV no ESP, é por abrigar um grande número de assentamentos rurais de reforma agrária, totalizando 168, com aproximadamente 10.000 famílias assentadas, ocupando um total de 10.100 lotes, compreendendo uma área de 220.507,76 há (ITESP, 2014). Esses assentamentos estão distribuídos em 52 municípios do Estado e, deles, 16 estão localizados na sua região oeste, localizados na RRAS 11 de Presidente Prudente, com um total de 104 assentamentos (ITESP, 2014). Existe um efeito de radiação dos focos da LV que precisam ser elucidados, e tal difusão se configura em um problema de vigilância e controle, onde se observam diferentes eixos de dispersão (D' ANDREA et al., 2015a).

A população dos assentamentos ficou cercada por imensos canaviais, tornando aquelas áreas de residência possíveis ambientes de confinamento de insetos, como os flebotomíneos. Se, por um lado, o fenômeno de urbanização da LV foi decorrência de profundas transformações que ocorreram no espaço brasileiro, outro desafio que se coloca é compreender qual é o risco que se configura numa região onde ocorre o povoamento do meio

rural, por meio de assentamentos da reforma agrária. A mobilidade populacional, associada às condições socioambientais (dificuldade de geração de renda, precariedade das moradias, áreas de reflorestamento, extensos canaviais, substituição das pastagens intensivas) e estrutura produtiva regional, estaria favorecendo um quadro nosológico para a disseminação da LV?

O nível micro é onde a *Leishmania* está e o nível regional é o Pontal do Paranapanema. Existe um conjunto de inter-relações no sistema novo rural com a presença dos assentamentos de reforma agrária que, provavelmente, poderá vir a constituir-se uma das possíveis rotas de dispersão de agentes patógenos no extremo oeste paulista.

Na Tabela 10, encontra-se a classificação epidemiológica para LV dos 45 municípios da DRS/RRAS 11 de Presidente Prudente, conforme o ano de encontro do vetor, ano da notificação do primeiro caso canino e humano. Os dados foram utilizados como base para o cálculo do centro médio dos municípios para a construção das rotas de dispersão da LV, na região de Presidente Prudente, do vetor, do cão e do homem.

A metodologia utilizada foi a da tríade: coordenadas geográficas, espaço e tempo. O encontro do ponto do centro médio da rota de dispersão, foi obtido através da média das coordenadas x e y dos respectivos municípios (FERREIRA, 2014), considerando o ano de encontro do vetor *Lu. longipalpis* e o ano de detecção da notificação do primeiro caso autóctone canino e humano de LV, respectivamente. Na construção dos mapas representativos das rotas de dispersão espaço temporal na RRAS 11 de Presidente Prudente, foi utilizado o ArcGIS 10.3.

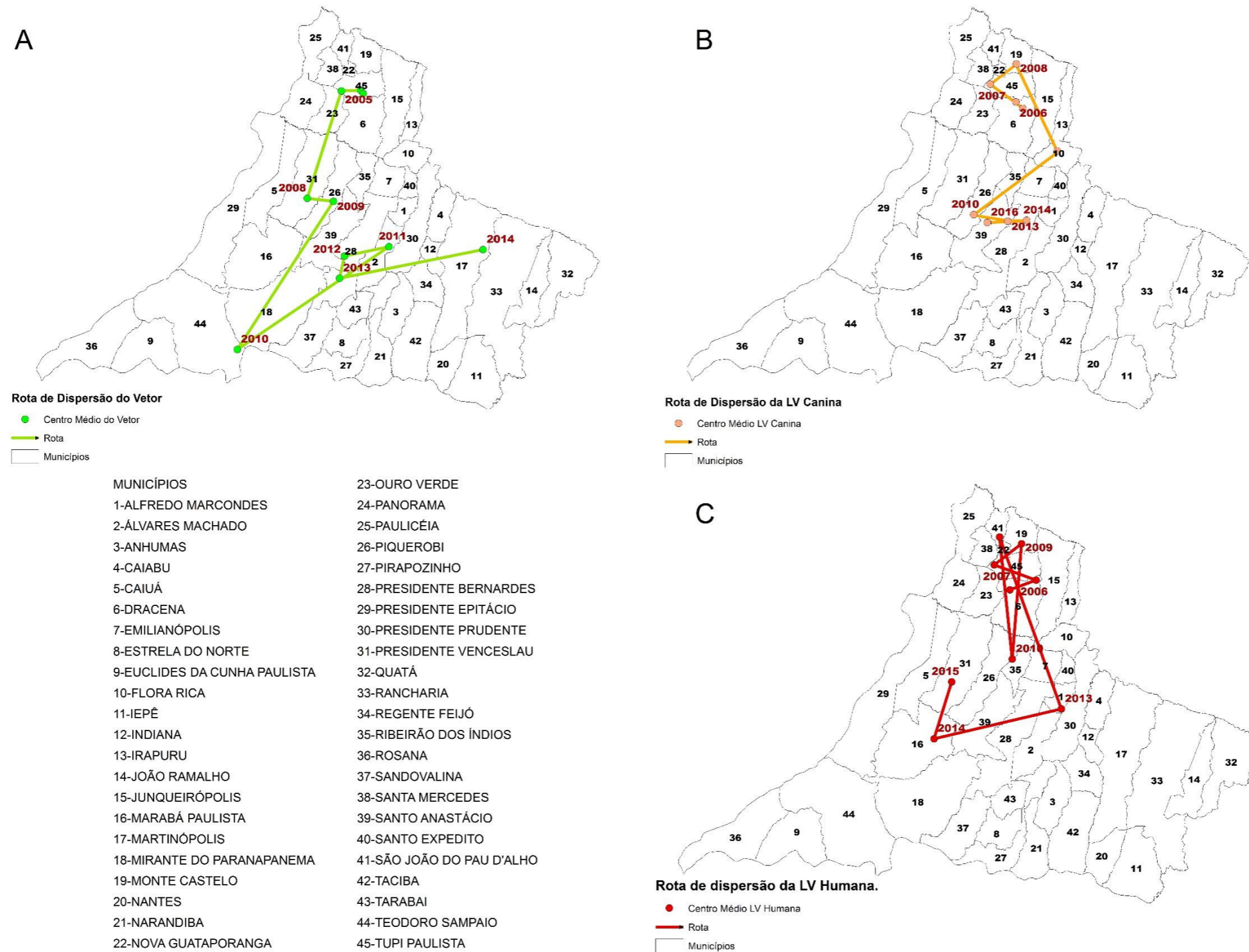
Tabela 10 - Classificação epidemiológica para leishmaniose visceral dos 45 municípios da DRS/RRAS 11 de Presidente Prudente-SP, conforme o ano de encontro do vetor, ano da notificação do primeiro caso canino e humano

Nº ord.	Código	Município	CLASS	SR	DRS	GVE	Ano vetor	Ano cão	Ano humano
1	3500808	Alfredo Marcondes	3	10	11	21	2.011	2.013	0
2	3501301	Álvares Machado	3	10	11	21	2.011	2.014	0
3	3502408	Anhumas	5	10	11	21	0	0	0
4	3508900	Caiabu	4	10	11	21	2.011	0	0
5	3509106	Caiuá	3	10	11	22	2.009	2.014	0
6	3514403	Dracena	1	10	11	22	2.003	2.005	2.005
7	3515129	Emilianópolis	4	10	11	21	2.014	0	0
8	3515301	Estrela do Norte	5	10	11	21	0	0	0
9	3515350	Euclides da Cunha Paulista	5	10	11	22	0	0	0
10	3515806	Flora Rica	1	10	11	22	2.004	2.009	2.010
11	3519907	Iepê	5	10	11	21	0	0	0
12	3520608	Indiana	5	10	11	21	0	0	0
13	3521606	Irapuru	1	10	11	22	2.005	2.007	2.007
14	3525607	João Ramalho	5	10	11	21	0	0	0
15	3526001	Junqueirópolis	1	10	11	22	2.004	2.006	2.006
16	3528700	Marabá Paulista	1	10	11	22	2.012	2.016	2.014
17	3529203	Martinópolis	4	10	11	21	2.011	0	0
18	3530201	Mirante do Paranapanema	6	10	11	22	2.013	0	0
19	3531605	Monte Castelo	1	10	11	22	2.004	2.008	2.009
20	3532157	Nantes	5	10	11	21	0	0	0
21	3532207	Narandiba	4	10	11	21	2.013	0	0
22	3533106	Nova Guataporanga	1	10	11	22	2.003	2.007	2.007
23	3534807	Ouro Verde	1	10	11	22	2.004	2.006	2.005
24	3535408	Panorama	1	10	11	22	2.005	2.007	2.007
25	3536406	Paulicéia	1	10	11	22	2.005	2.007	2.007
26	3538303	Piquerobi	3	10	11	22	2.011	2.014	0
27	3539202	Pirapozinho	4	10	11	21	2.012	0	0
28	3541208	Presidente Bernardes	6	10	11	21	2.012	2.016	0
29	3541307	Presidente Epitácio *	1	10	11	22	2.009	2.013	2.015
30	3541406	Presidente Prudente	1	10	11	21	2.009	2.010	2.013
31	3541505	Presidente Venceslau	1	10	11	22	2.008	2.010	2.010
32	3541703	Quatá	4	10	11	21	2.014	0	0
33	3542206	Rancharia	3	10	11	21	2.014	2.014	0
34	3542404	Regente Feijó	5	10	11	21	0	2.013	0
35	3543238	Ribeirão dos Índios	5	10	11	21	0	2.016	0
36	3544251	Rosana	5	10	11	22	0	0	0
37	3545506	Sandovalina	4	10	11	21	2.011	0	0
38	3547106	Santa Mercedes	1	10	11	22	2.004	2.007	2.007
39	3547700	Santo Anastácio	1	10	11	21	2.013	2.014	2.015
40	3548302	Santo Expedito	1	10	11	21	2.009	2.014	2.013
41	3549300	São João do Pau d'Alho	1	10	11	22	2.004	2.010	2.011
42	3552908	Taciba	5	10	11	21	0	0	0
43	3553906	Tarabai	5	10	11	21	0	0	0
44	3554600	Teodoro Sampaio	1	10	11	22	2.010	2.010	2.014
45	3555109	Tupi Paulista	1	10	11	22	2.004	2.006	2.006
		LEGENDA UTILIZADA NA CLASSIFICAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DOS MUNICÍPIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO / PROGRAMA DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA							
		0 MUNICÍPIO SILENCIOSO NÃO RECEPTIVO NÃO VULNERÁVEL							
		1 MUNICÍPIO C/ TRANSMISSÃO CANINA E HUMANA							
		2 MUNICÍPIO C/ TRANSMISSÃO HUMANA							
		3 MUNICÍPIO C/ TRANSMISSÃO CANINA							
		4 MUNICÍPIO SILENCIOSO RECEPTIVO							
		5 MUNICÍPIO SILENCIOSO NÃO RECEPTIVO VULNERÁVEL							
		6 MUNICÍPIO EM INVESTIGAÇÃO							

Fonte: CLR IAL PP e Sucen.

PRANCHA 08

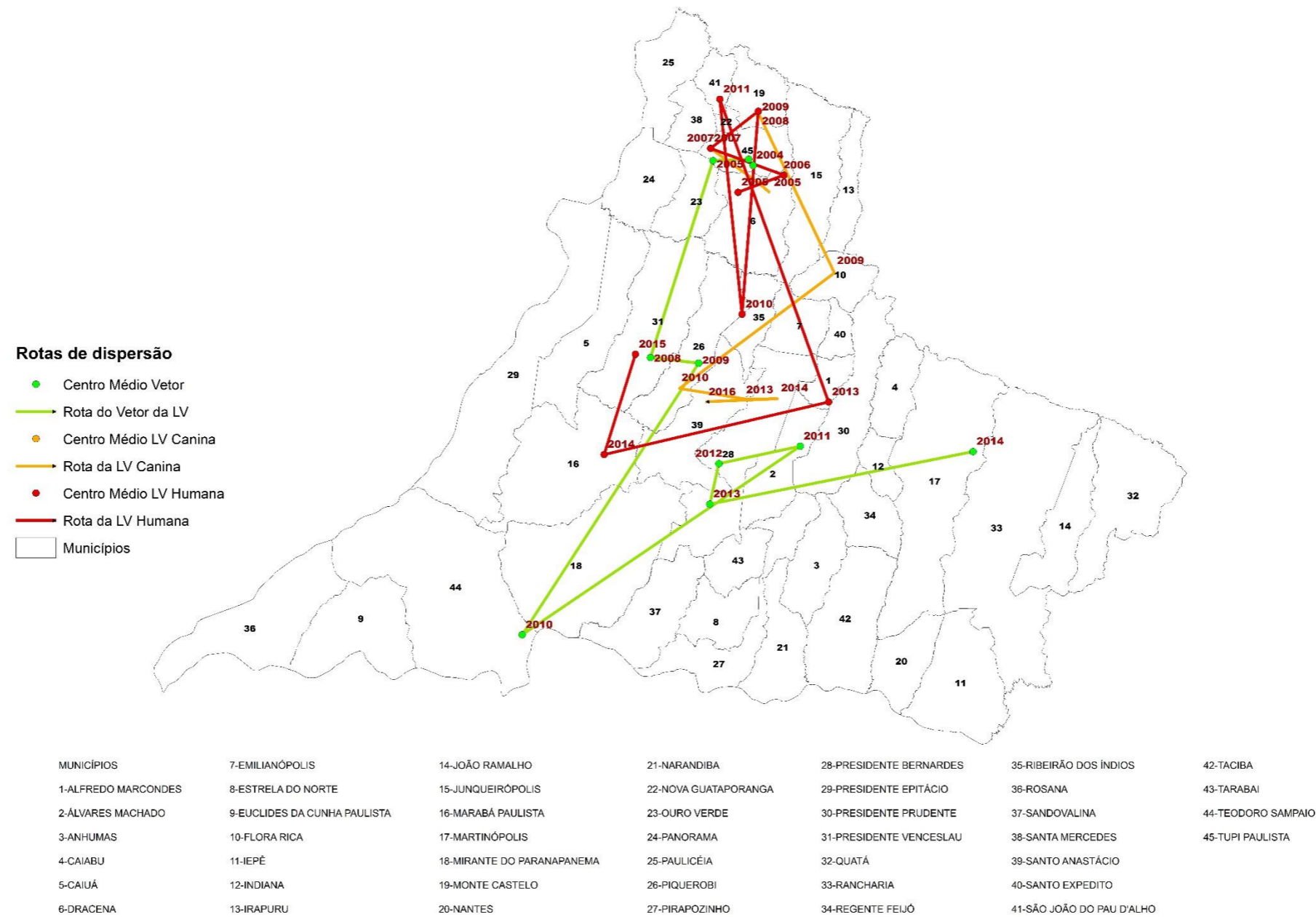
FIGURA 38 – Rotas de dispersão da Leishmaniose Visceral na RRAS 11 de Presidente Prudente-SP, segundo o ponto do centro médio do município de acordo com o ano de encontro do vetor (A), ano da notificação do primeiro caso canino (B) e humano (C)



Fonte: CLR- IAL – PP V e SUCEN PP. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

PRANCHA 09

FIGURA 39 – Rotas de dispersão da Leishmaniose Visceral na RRAS 11 de Presidente Prudente-SP, segundo o ponto do centro médio do município de acordo com o ano de encontro do vetor, ano da notificação do primeiro caso canino e humano



Fonte: CLR- IAL – PP V e SUCEN PP. Elaborado por D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

A rota de dispersão do vetor está representada na Prancha 08, Figura 38A, demonstrando que o movimento de dispersão do vetor no tempo e no espaço, tem seu início em 2003 do centro *core* de dois municípios da Alta Paulista, partindo do centro médio de Dracena (6) e Nova Guataporanga (22). Na sequência, em 2004, a rota se desloca ligeiramente para acima e para a esquerda pelo centro médio de sete municípios: Flora Rica (10), Junqueirópolis (15), Monte Castelo (19), Ouro Verde (23), Santa Mercedes (38), São João do Pau D'Alho (41), e Tupi Paulista (45). Em 2005, continua a se deslocar um pouco mais para a esquerda pelo centro médio de mais três municípios: Irapuru (13), Panorama (24) e Paulicéia (25).

Em apenas dois anos, o vetor da LV dispersou-se rapidamente por contiguidade, completando o seu encontro nos 12 municípios da região da Alta Paulista, onde se adaptou completamente, não encontrou nenhuma barreira geográfica que impedisse sua dispersão, sendo encontrado em todos os ambientes, tanto urbano como rural. Neste caso, houve um movimento ecológico, pois, a dispersão do vetor ocorreu por áreas contiguas. Passados três anos, em 2008, a rota do vetor desceu consideravelmente no sentido sudoeste da RRAS 11, até o centro médio do município de Presidente Venceslau (31). Em 2009, a rota se deslocou um pouco para a direita, no centro médio das coordenadas de quatro municípios: Caiuá (5) e Presidente Epitácio (29), pertencentes à região do Extremo Oeste; Presidente Prudente (30) e Santo Expedito (40) na região da Alta Sorocabana.

Em 2010, a rota de dispersão deu um salto, quando a Sucen registrou o encontro do vetor no município de Teodoro Sampaio (44), na região do Pontal do Paranapanema, área considerada borda para LV, com baixíssima circulação do patógeno, cujo centro médio se localiza muito próximo da divisa com o Estado do Paraná. Já em 2011, percebe-se que a rota retornou ao seu curso normal de contiguidade, cujo centro médio das coordenadas de seis municípios: sendo cinco da região da Alta Sorocabana (Alfredo Marcondes (1), Alvares Machado (2), Caiabu (4), Martinópolis (17) e Sandovalina (37) e um apenas do Extremo Oeste (Piquerobi / 26) compondo aí o chamado centro “eixo” de dispersão da LV, onde a *Leishmania* circula, mas com baixa intensidade. Em 2012, a rota do centro médio de dispersão do vetor se deslocou para a esquerda novamente, onde atingiu mais um município do Extremo Oeste (Marabá Paulista / 16) e dois da Alta Sorocabana (Pirapozinho / 27 e Presidente Bernardes / 28) por contiguidade. Em 2013 o centro médio dos três municípios (Mirante do Paranapanema / 18, Narandiba /21 e Santo Anastácio /39) e a rota desceram um

pouco para sudoeste. Um novo salto foi dado em 2014, quando o centro médio da rota dos municípios se deslocou para a região noroeste da RRAS 11, sendo o vetor encontrado em dois municípios da região do Alto Capivari (Quatá / 32 e Rancharia / 33) e um município da Alta Sorocabana (Emilianópolis / 7).

Dos 45 municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, até o momento do fechamento desta tese (2017), em apenas 11 não foram encontrados o vetor (Anhuma / 3, Estrela do Norte / 8, Euclides da Cunha / 9, Iepê / 11, Indiana / 12, João ramalho / 14, Nantes / 20, Regente Feijó / 34, Rosana / 36, Taciba / 42, Tarabai / 43), pois em abril de 2017, foi encontrado também no município de Ribeirão dos Índios (35). Provavelmente, a localização desses municípios encontrou algum tipo de fator que retardou a dispersão do vetor como barreira geográfica (rede hídrica), temperatura média anual abaixo de 18 C° ou pelo fato de não configurarem rotas de passagem das principais rodovias.

A rota de dispersão do LVC está representada na Prancha 08 - Figura 38B, demonstrando que o movimento de dispersão no tempo e no espaço, teve seu início em 2005 a partir de um centro *core* de dispersão que é Dracena (6); em seguida, subiu um pouco para a esquerda em 2006 e 2007; em 2008, deslocou-se para a direita. Em 2009, o centro médio dos municípios com a notificação de cães autóctones com LV, desceu consideravelmente para a direita. Entre 2005 e 2009, foi apenas notificada a presença de *L. infantum* em municípios da região da Alta Paulista. Em 2010, a rota continuou a descer consideravelmente, só que para a esquerda, fechando o ciclo dos 12 municípios da região da Alta Paulista e se dispersou consideravelmente na região de Presidente Prudente.

Interessante que nesse ano de 2010, foram notificados cães autóctones em quatro municípios de quatro regiões diferentes da RRAS 11 de Presidente Prudente: São João do Pau D'Alho (41) na Alta Paulista, Presidente Venceslau (31) no Extremo Oeste, Presidente Prudente (30) na Alta Sorocabana e Teodoro Sampaio (44) no Pontal do Paranapanema. Passaram-se dois anos sem notificação de novos municípios em transmissão de LVC, 2011 e 2012. Em 2013, a rota de dispersão se deslocou para a direita, e atinge três municípios: Presidente Epitácio (29) no Extremo Oeste, Alfredo Marcondes (1) e Regente Feijó (34) na Alta Sorocabana. Embora em Regente Feijó, a Sucen ainda não tenha encontrado o vetor, já foram encontrados cães autóctones com *L. infantum*, desde 2013. Provavelmente, podem estar ocorrendo duas situações distintas: ou a Sucen deverá utilizar outra metodologia de captura de

flebotomíneos em centros borda de dispersão ou poderá ter outro tipo de vetor envolvido no ciclo.

Em 2014, o centro médio da rota de dispersão deslocou-se um pouco para a direita, embora nesse ano tenham sido notificados cães autóctones com LV em seis municípios de três regiões distintas: Caiuá (5), Piquerobi (26) e Santo Anastácio (39) do Extremo Oeste; Santo Expedito (40) e Álvares Machado (2) da Alta Sorocabana e Rancharia (33) do Alto Capivari. Em 2015, não houve nenhum registro de notificação de casos em nenhum município. Já em 2016, a rota se deslocou um pouco para a esquerda novamente, isto é, o centro médio de três municípios: Ribeirão dos Índios (35) e Presidente Bernardes (28) da Alta Sorocabana e Marabá Paulista (16) do Extremo Oeste, fechando toda região do Extremo Oeste como municípios em transmissão de LVC. Em Ribeirão dos Índios, embora tenha sido notificado cão autóctone com *Leishmania infantum* em 2016, a sua mudança de classificação epidemiológica só ocorreu em abril de 2017, quando a Sucen registrou o encontro do vetor, passando a ser município em transmissão de LVC.

Pelo desenho da rota de dispersão da LVC, percebe-se que ela se localiza apenas sobre centros *core* de dispersão, demonstrando que, nessas regiões, a circulação do parasita é mais frequente, havendo a presença de maior quantidade de cães sintomáticos e que, de alguma forma, existe uma certa pressão da sociedade local para que o serviço público atue na investigação e recolhimento dos animais doentes.

A rota de dispersão da transmissão do cão com LV pode não ser uma representatividade real da presença ou não da circulação da *L. infantum*, porque entendemos que ela representa a capacidade operacional de trabalho da vigilância em saúde do serviço público, dos municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, bem como do nível de conscientização do gestor municipal com relação às ações de vigilância e controle e/ou de estruturação dos serviços de zoonoses. Afirmando isto, baseada no fato de que, há municípios notificados pela SUCEN com a presença do vetor a seis anos como Caiabu e Sandovalina ou a cinco anos como Pirapozinho e, que até a data de fechamento da presente tese, nenhum animal foi notificado e investigado pelo serviço público. Isto é, não foi registrada nenhuma entrada de exames de material biológico para investigação de LVC no laboratório de referência regional do IAL oriundos dessas localidades, seja para pesquisa de anticorpos através de testes sorológicos, seja do parasita em lâmina de esfregaço direto.

A rota de dispersão da transmissão da LV humana na RRAS 11 tem um trajeto muito parecido com a do cão (Prancha 08 - Figura 38C). Tem seu início em 2005, também no centro *core* de Dracena (6) e Ouro Verde (23) e nos anos seguintes até 2011 ela circula apenas em municípios da Alta Paulista, com exceção apenas de 2010, quando foi notificado em Presidente Venceslau (2010). Todos eram considerados centros *core* de dispersão, com presença de vetor, casos canino e humano de LV, com alta positividade nos inquéritos sorológicos e concordância nos testes entre triagem sorológica e teste confirmatório.

Entretanto, em 2013 e 2014 a rota se deslocou para o centro eixo de dispersão da LV, para, em 2015, retornar em direção a região do Extremo Oeste, que passou de centro eixo para centro *core* de dispersão, por notificar maior número de casos canino e humano.

No caso da rota de dispersão da LV humana apresentada na Prancha 08, Figura 38C, assim como no caso do vetor, é uma representação mais fidedigna da realidade da circulação da *Leishmania*, pois, mesmo com o serviço de zoonose em alguns municípios ainda não estavam estruturados, e o serviço básico do SUS, que estava cobrindo todo o território da RRAS 11, identificou, notificou e tratou os casos humanos, antes mesmo da notificação dos casos caninos. Exemplo disso foi o que ocorreu nos municípios de Santo Expedito e Marabá Paulista.

Na Prancha 09 - Figura 39, estão representadas as três rotas de dispersão sobrepostas, que demonstram, claramente, a possibilidade de identificar na RRAS 11 de Presidente Prudente os três níveis de centros de dispersão da LV: *core*, eixo e borda. Rotas entrelaçadas apontam a ocorrência de centro *core* de dispersão. Rotas um pouco mais frouxas demonstram centros eixo e em áreas que ocorrem apenas uma rota, aí se identificam os centros borda. Esse é um fenômeno bastante dinâmico. Diante do exposto, percebe-se que, uma vez instalado o ciclo, a doença se torna endêmica numa dada região e, que o PVCLV deveria ter pensado estratégias diferenciadas para cada tipo de centro de dispersão, pois só assim poderíamos, talvez, quebrar a cadeia de transmissão da doença ou pelo menos retardar um pouco mais o seu processo de dispersão no território.

Outro ponto que se observa, embora não demonstrada nas figuras, é que as rotas da LV circulam em torno do eixo das principais rodovias que cortam a região de Presidente Prudente, onde circula o maior fluxo de pessoas, mercadorias, bens e prestação de serviços.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a compreensão da dispersão da leishmaniose visceral é necessário o reconhecimento da importância de fatores determinantes como a dinâmica de ocupação de espaços, assim como as constantes alterações do ambiente, as profundas modificações sociais, as migrações intra e interestaduais e a precariedade ou inexistência de saneamento básico. Por sua vez, a própria história evolutiva das leishmanioses no mundo, comprova a influência dos fatores determinantes e que evidenciam perpetuar-se no tempo e espaço, a menos que mudanças profundas ocorram nas políticas públicas e que sejam eficientes e inovadoras ao ponto de conseguir mudar o rumo da história evolutiva das leishmanioses, mas sem perder de vista a capacidade de resposta do sistema de vigilância e controle da leishmaniose visceral.

Em municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, podemos afirmar que está circulando a espécie de *L. infantum*, agente causador da LV, e que apresenta diferentes padrões de dispersão. A microrregião de Dracena, na Alta Paulista, é um centro *core* de dispersão, com circulação da espécie de *L. infantum* mais intensa em humanos e em cães, alta concordância entre os testes diagnósticos e apresenta uma cepa do parasita mais bem adaptada ao meio de cultura bifásico BAB-BHI.

Presidente Prudente é um município eixo de dispersão, por apresentar baixa concordância entre os testes sorológicos de triagem e confirmatório e maior dificuldade de isolamento do parasita em meios bifásico BAB-BHI e identificação de gênero e espécie *L. infantum* por PCR. Já Teodoro Sampaio é um município considerado borda, por apresentar poucos casos de LVC, nenhum caso humano autóctone e a concordância entre os testes sorológicos de triagem e confirmatório é extremamente baixa, não sendo possível o isolamento do parasita em meios de cultura bifásico BAB-BHI. Embora, os cães sorologicamente confirmados com LV apresentem sintomatologia para doença e em alguns casos foi detectado a presença de *Leishmania* spp no parasitológico direto.

Ainda que seja preciso dar continuidade à pesquisa dessa natureza, visando à produção de novos conhecimentos que poderão auxiliar na elucidação das questões ainda não esclarecidas sobre os diferentes padrões de circulação da *Leishmania* apresentados na RRAS 11 de Presidente Prudente, os resultados obtidos nesta análise microbiológica foram associados com os padrões espaciais de distribuição e dispersão da doença para

compreender como se comporta a LV na região. A associação entre esses dados da escala regional com os da escala microbiológica possibilitou uma compreensão geográfica sobre a LV na RRAS 11 de Presidente Prudente.

Ao longo dos 10 anos da série histórica analisada em dois municípios da RRAS 11 de Presidente Prudente, houve ocorrência de casos de LVH em todos os anos, prevalecendo a classificação de transmissão intensa no município de Dracena-SP e moderada em Tupi Paulista-SP-Brasil em seis dos oito dos triênios avaliados.

O padrão de distribuição espacial da LVC apresentado na escala local na área urbana nos municípios de Dracena e Tupi Paulista-SP- Brasil, no período analisado permite inferir a possibilidade da ocorrência do aumento do número de casos humanos, sendo necessária a intensificação de ações de vigilância e controle da doença. Esse conhecimento permite a identificação de áreas urbanas prioritárias e pode ser efetivo no que tange à vigilância no enfrentamento do agravo no município, desde que seja um trabalho contínuo e com equipe especializada. Nessa perspectiva, o uso de geotecnologias em saúde pode ser uma estratégia útil para melhorar a eficácia das medidas de controle, enquanto diminui os custos operacionais, sendo uma importante ferramenta que pode ser explorada para auxiliar na tomada de decisão dos gestores municipais na vigilância e controle da LV.

Houve uma prevalência média alta de LVC nos dois municípios avaliados, embora a eutanásia de cães tenha sido elevada, em relação às recusas. O número de animais examinados nos dois primeiros anos da ocorrência LV foi alto, mas não se manteve, diminuindo quase pela metade nos quatro anos subsequentes e, drasticamente, nos três últimos anos analisados, demonstrando que o serviço público municipal de controle de zoonoses não está funcionando adequadamente. Entretanto, houve diminuição da prevalência canina e humana de LV, as ações realizadas de vigilância e controle foram centralizadas em áreas prioritárias e demonstraram ser efetivas.

São de extrema importância a continuidade e a intensificação das ações de vigilância e controle da LV, tanto na área urbana como rural, principalmente com a identificação de áreas prioritárias ou ATLS, como ferramenta para auxiliar na gestão na escala local e buscar a quebra na cadeia de transmissão da doença. Contudo, mesmo os municípios que executam as ações de vigilância sob sua responsabilidade, obtendo com isso efetividade, dependendo de onde estão localizados (áreas *core*, eixo ou borda), o ciclo de transmissão pode ser controlado, mas nunca eliminado. Se por razões de ordem política, as ações sofrem descontinuidade, a

doença se transforma novamente num grave problema de saúde pública do município. Por ora, cabe-nos indagar em que medida essas ações na escala intraurbana e periurbana (ciclo urbano) são suficientes, sem considerar as interações espaciais com o ciclo silvestre e rural, incluindo os assentamentos de reforma agrária, assim como os circuitos regionais dos quais essas cidades fazem parte, contribuem para a dispersão regional da LV.

Foi confirmada a transmissão da LVC na área urbana e rural do município de Teodoro Sampaio/SP e a presença de cães infectados com *L. infantum* no meio rural no Assentamento Santa Rita, no município de Tupi Paulista-SP, demonstrando que possivelmente, a dinâmica dos assentamentos de reforma agrária pode contribuir para a dispersão da LV.

A saúde de uma determinada comunidade está associada à dinâmica dos sistemas ambientais ali encontrados, os quais estão relacionados diretamente à introdução, manutenção e expansão de uma determinada doença, como é o caso das leishmanioses.

A dinâmica encontrada nos assentamentos de reforma agrária rural no Pontal do Paranapanema pode ser um dos fatores que contribuem para a dispersão e manutenção do ciclo da LV, tornando-se necessária a identificação da espécie de *Leishmania* circulante, bem como a continuidade na investigação diagnóstica através de inquéritos sorológicos em outros assentamentos de reforma agrária para podermos compreender melhor o padrão da doença, buscar parcerias e meios para o enfrentamento da LV no meio urbano e rural.

Foi possível identificar na RRAS 11 de Presidente Prudente três diferentes níveis de centros de dispersão da LV: *core*, eixo e borda e a necessidade urgente de a política pública repensar o PVCLV e estabelecer estratégias diferenciadas para cada tipo de centro de dispersão, pois, só assim poderemos, talvez, quebrar a cadeia de transmissão da doença ou, pelo menos, retardar um pouco mais o seu processo de dispersão no território Paulista.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, G. M.; VILELA, M. L.; LIMA, R. B. Ecology of the sandflies of Itaguaí, an area of cutaneous Leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro. Food references (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 583-584, 1987.
- ALTAMIRANO-ENCISO, A. J. et al. Sobre a origem e dispersão das leishmanioses cutânea e mucosa com base em fontes históricas pré e pós-colombianas. **Hist. Cienc. Saúde-Manguinhos**, v. 10, n. 3, dez. 2003.
- ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS One**, v. 7, n. 5, 2012.
- ALVES, M. C. G. P. et al. Dimensionamento da população de cães e gatos do interior do estado de São Paulo. **Rev. Saúde Pública**, v. 39, n. 6, p. 891-897, 2005.
- ALVES, G. B. Phlebotomine sandflies fauna (Diptera: Psychodidae) at rural settlements in the municipality of Cáceres, state of Mato Grosso, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 45, n. 4, p. 437-443, 2012.
- ANDRESEN, K. et al. Evaluation of the polymerase chain reaction in the diagnosis of cutaneous Leishmaniasis due to *Leishmania major*: a comparison with direct microscopy of smears and sections from lesions. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 90, p. 133-135, 1996.
- ANEZ, N.; NIEVES, E.; CAZORLA, D. A validade do padrão de desenvolvimento no intestino de flebotomíneos para a classificação de *Leishmania*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 83, p. 634-635, 1989.
- ARMSTRONG, T. C.; PATTERSON, J. L. Cultivation of *Leishmania braziliensis* in an economical Serum-free Medium containing human urine. **J. Parasitol.**, v. 80, p. 1030-1032, 1994.
- ASHFORD, D. W. Spéculations on the Origin and Evolution of Old World *Leishmania* System. In: autoria. **Título do livro**. Montpellier: OMS/INSERM, 1986. p. 257-264.
- ÁVILA, P. F. **Dioses y Hombres de huarochiri**. 2. ed. Cidade do México: Siglo XXI, 1975.
- BAHAMDAN, K. A. et al. Value of touch preparations (imprints) for diagnosis of cutaneous *Leishmaniasis*. **Int. J. Dermatol.**, v. 35, n. 8, p. 558-560, 1996.
- BAÑULS, A. L. et al. Molecular epidemiology and evolutionary genetics of *Leishmania* parasites. **Int. J. Parasitol.**, v. 29, n. 8, p. 1137-1147, 1999.
- BARATA, R. A. et al. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica de leishmaniose visceral, Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, p. 421-425, 2005.
- BELKAID, M. et al. À propos d'un milieu simple pour l'isolement et la culture des leishmanies. **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v. 9, p. 276-277, 1996.

BENALLEGUE, A.; TABBAKHE, E. La leishmaniose viscérale en Algérie. **Med. Trop.**, v. 38, p. 425-433, 1978.

BERMAN, J. D. Human Leishmaniasis: clinical, diagnostic, and chemotherapeutic developments in the last 10 years. **Clin. Infect. Dis.**, v. 24, p. 684-703, 1997.

BEVERLEY, S. M. et al. Evolution of the genus *Leishmania* as revealed by comparisons of nuclear DNA restriction fragment patterns. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 84, p. 484-488, 1987.

BORGES, L. F. N. M. et al. Prevalência, distribuição espacial e fatores de risco para leishmaniose visceral em cães de Juatuba, Minas Gerais, 2010. In: REUNIÃO DE PESQUISA APLICADA EM DOENÇA DE CHAGAS, 27.; REUNIÃO DE PESQUISA APLICADA EM LEISHMANIOSES, p.15., 2011, Uberaba. **Anais eletrônicos...** Uberaba: [s.n.], 2011.

BOUDON, P. Avant-propos. Pourquoi l' échelle? In: **De l'architecture à l'épistémologie. La question de l'échelle**. Paris: PUF, 1991. p. 1-24.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. Brasília, 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/gve_7ed_web_atual.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2017.

_____. **Nota Técnica Conjunta nº 1, de 29 de dezembro de 2011**. Esclarecimentos sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC). Brasília: Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis/Coordenação Geral de Laboratório de Saúde Pública, 2011.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 306, de 7 de dezembro de 2004**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Brasília, DF, 2004. Publicado no DOU de 10 dez. 2004. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0306_07_12_2004.html>. Acesso em: 04 fev. 2017.

_____. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, 2003.

_____. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. Brasília, 2007. Caderno 11.

_____. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de vigilância em saúde**. Brasília, 2016.

_____. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília, 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscer_al_1edicao.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2017.

BRITO, E. C.; OLIVEIRA, W. A. **Diagnóstico laboratorial da leishmaniose visceral humana**. 2009. 28 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Análises Clínicas e Toxicológica) – Faculdade de Ciências, Universidade de Tuiuti do Paraná, Brasília, 2009.

BRYCESON, A. D. et al. Imported mucocutaneous Leishmaniasis. **Clin. Exp. Dermatol.**, v. 21, p. 288-290, 1996.

BUCCI, M. P. D. (Org.). **Políticas públicas: reflexões sobre o conceito jurídico**. São Paulo: Saraiva, 2006.

BUTCHER, B. A. et al. Deficiency in β 1,3-galactosyltransferase of a *Leishmania* major lipophosphoglycan mutant adversely influences the *Leishmania*-sand fly interaction. **J. Biol. Chem.**, v. 271, n. 34, p. 20573-20579, 1996.

CALDAS, A. J. M. et al. Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em crianças de uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na ilha de São Luis-MA, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 5, p. 445-451, 2001.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. A leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo: situação atual. **BEPA, Bol. Epidemiol. Paul.**, v. 4, n. 48, p. 12-14, 2007.

CARDIM, M. F. M. et al. Introdução e expansão da Leishmaniose Visceral Americana em Humanos no estado de São Paulo, 1999-201. **Rev. Saúde Pública**, v. 47, n. 4, p. 691-700, 2013.

CASTELLS, M. **A questão urbana**. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1983.

CASTRO, I. E. O problema da escala. In: CASTRO, I. E.; GOMES, P. C. C.; CORREA, R. L. (Org.). **Geografia: conceitos e temas**. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2005. p. 117-140.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Parasites-Leishmaniasis**. 2013. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/parasites/Leishmaniasis/biology.html>>. Acesso em: 28 ago. 2016.

_____. **Leishmaniasis**. 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/>>. Acesso em: 05 fev. 2017.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. **Leishmaniose Visceral Humana: distribuição do número de casos e óbitos de LV segundo município e GVE de infecção 1999-2015**. Disponível em: <<http://www.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/leishmaniose-visceral/dados-estatisticos>>. Acesso em: 21 maio 2017.

COMITÊ DE LEISHMANIOSE VISCERAL AMERICANA (CLVA). Classificação epidemiológica dos municípios segundo o Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo, atualizado em novembro de 2011. **BEPA, Bol. Epidemiol. Paul.**, v. 8, n. 96, p. 32-36, 2011.

CONDINO, M. L. F. et al. Leishmaniose tegumentar americana: flebotômíneos de área de transmissão no município de Teodoro Sampaio, região sudoeste do estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 31, n. 4, 1998.

CONFALONIERI, U. E. C. Variabilidade climática, vulnerabilidade social e saúde no Brasil. **Terra Livre**, São Paulo, v. 19, n. 20, p. 193-204, 2003.

COSTA, J. M. Epidemiologia de leishmanioses no Brasil. **Gaz. Méd. Bahia**, Salvador, v. 75, n. 1, p. 3-17, 2005.

COX, C. B.; MOORE, P. D. **Biogeografia**: uma abordagem ecológica e evolutiva. Londres: Blackwell Scientific Public, 1993.

COX, F. E. Classification and introduction to the parasitic protozoa. In: COX, F. E.; WAKELIN, D.; GILLESPIE, S. H.; DESPOMMIER, D. D. (Ed.). **Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Parasitology**. 10th ed. London: Hodder Arnold Press, 2005. p. 186-199.

CROAN, D.; ELLIS, J. As relações filogenéticas entre *Leishmania*, *Viannia* e *SauroLeishmania* inferida a partir da comparação de um domínio variável dentro da RNA polimerase II maior gene da subunidade. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 79, p. 97-102, 1996.

CROAN, D. G.; MORRISON, D. A.; ELLIS, J. T. Evolução do gênero *Leishmania* revelado pela comparação das sequências de genes de DNA e RNA polimerase. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 89, p. 149-159, 1997.

CUPOLILLO, E. et al. Genetic diversity in natural populations of New World *Leishmania*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 663-668, 1998.

_____. A revised classification for *Leishmania* and *Endotrypanum*. **Parasitol. Today**, v. 16, p. 142-144, 2000.

CURTIS, S.; TACKET, A. **Health and societies**: changing perspectives. London: Edward Arnold, 1996.

D'ANDREA, L. A. Z. et al. American Visceral Leishmaniasis: Disease Control Strategies in Dracena microregion in Alta Paulista, SP, Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.**, v. 15, n. 2, p. 305-324, 2009.

_____. Avaliação prévia do inquérito sorológico do município de Junqueirópolis/SP utilizando teste rápido DPP Bio-Manguinhos como teste de triagem. In: ENCONTRO DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE VIGILÂNCIA E RESPOSTA RÁPIDA, 1., 2012, São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.], 2012

_____. Leishmaniose visceral canina - considerações sobre um inquérito sorológico canino no município de Teodoro Sampaio/SP/Brasil entre 2012 e 2013. In: ENCONTRO DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 10.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE VIGILÂNCIA E RESPOSTA RÁPIDA, 2., 2014, São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s.n.], 2014. M128-131.

_____. The shadows of a ghost: a survey of canine Leishmaniasis in Presidente Prudente and its spatial dispersion in the western region of São Paulo state, an emerging focus of visceral Leishmaniasis in Brazil. **BMC Vet. Res.**, v. 11, p. 273, 2015a.

_____. Leishmaniose Visceral: implantação do teste rápido DPP® BioManguinhos nos inquéritos sorológicos canino na área de abrangência do Instituto Adolfo Lutz de Presidente Prudente-SP. In: DIAS, L. S.; GUIMARÃES, R. B. (Org.). **Desafios da saúde ambiental**. Tupã: ANAP, 2015b. p. 126-140. Disponível em: <<http://www.amigosdanatureza.org.br/biblioteca/livros/categoria/cod/45>>. Acesso em: 21 nov. 2016.

_____. Leishmaniose visceral no meio rural de Teodoro Sampaio/SP/Brasil: uma nova fronteira. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE GEOGRAFIA DA SAÚDE, 7., 2015c, Brasília. **Anais...** Brasília: [s.n.], 2015. v. 7, p. 120-130.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Encontro de *Leishmanias* nas vísceras e na pele de uma raposa em zona endêmica de calazar, nos arredores de Sobral. **O Hospital**, v. 45, p. 419-421, 1954.

_____. Visceral Leishmaniasis in Brazil. Geographical distribution and transmission. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, p. 149-212, 1962.

DEANE, L. M.; GRIMALDI, G. Leishmaniasis in Brazil. In: CHANG, K. P.; BRAY, R. S. (Ed.). **Leishmaniasis**. New York: Elsevier, 1985. p. 247-275.

DE BRUIJN, M. H. L.; BARKER, D. C. Diagnosis of new world Leishmaniasis: specific detection of species of the *Leishmania braziliensis* complex by amplification of kinetoplast DNA. **Acta Trop.**, v. 52, p. 45-58, 1992.

DEDET, J. P. La leishmaniose viscérale dans le monde. Etapes des connaissances, répartition géographique et fréquence. **Bull. Inst. Pasteur**, v. 74, p. 413-434, 1976.

DEREURE, J. et al. Haemoculture as a tool for diagnosing visceral Leishmaniasis in HIV-negative and HIV-positive patients: interest for parasite identification. **Bull. World Health Organ.**, v. 76, p. 203-206, 1998.

DEUBEL, A. N. R. **Políticas públicas: formulación, implementación y evaluación**. Bogotá: Aurora, 2006.

DOURADO E SOUSA, Z. F. **Diagnóstico da Leishmaniose visceral em áreas rurais, endêmicas e não endêmicas, utilizando um teste imunocromatográfico recombinante K39, no período de 2004 a 2006**. 2007. 142 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

DYE, T. D. **Understanding Public Policy**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1984.

EL TAI, N. O. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed space in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand conformation polymorphisms and sequencing. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 94, p. 575-579, 2000.

ELISA. Rio de Janeiro: BIO-MANGUINHOS/FIOCRUZ, 2004. Bula do kit de ELISA: princípio da reação.

ENVIRONMENTAL SYSTEMS RESEARCH INSTITUTE. **ArcGIS**, v. **9.3**. Redlands: ESRI, 2009.

EVANS, T. G. Leishmaniasis. **Infec. Dis. Clin. North Am.**, v. 7, n. 3, p. 527-546, 1993.

FAGUNDES, A. et al. Evaluation of polymerase chain reaction in the routine diagnosis for tegumentary leishmaniasis in a referral centre. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.105, p.109-112, 2010.

FELICIANO, C. A. **Território em disputa: terras (re) tomadas no Pontal do Paranapanema**. 2009. 573 f. Tese (Doutorado em Geografia) – Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial: avaliação de métodos de diagnóstico das principais doenças infecciosas, parasitárias e auto-imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

FERREIRA, M. C. **Iniciação à análise geoespacial: teoria, técnicas e exemplos para geoprocessamento**. São Paulo: Ed. UNESP, 2014.

FONSECA, E. S. **Visão geográfica integrada das estratégias de controle das Leishmanioses no município de Teodoro Sampaio, SP, com o apoio do geoprocessamento**. 2013. 248 f. Tese (Doutorado em Geografia) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista, Presidente Prudente, 2013.

FONTANETO, D. **Biogeography of microscopic organisms: is every small everywhere?** Cambridge: Cambridge University Press, 2011. p. 388.

GALATI, E. A. B. Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. **Bol. Direc. Malariol. Saneam. Amb.**, v. 5, p. 133-142, 1995. Supplement 1.

GATRELL, A. C. **Geographies of Health: An Introduction**. Library of Congress Cataloguing in Publication Data, 2002.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 7, p. 338-349, 2004.

GUIMARÃES, R. B. Regiões de saúde e escalas geográficas. **Cad. Saúde Pública**, v. 21, n. 4, p. 1017-1025, jul./ago. 2005.

_____. **Saúde: fundamentos de geografia humana**. São Paulo: Ed. UNESP, 2015. v. 1.

HARISSON L. H. et al. Reciprocal relationships between undernutrition and parasitic disease visceral Leishmaniasis. **Rev. Infec. Dis.**, v. 8, p. 447-453, 1986.

HERRER, A. Antigüedad de la Leishmaniasis tegumentaria en América. **Rev. Bras. Malariologia**, n. 8, p. 187-196, 1956.

_____. 'Existieron en el Perú la verruga y la uta con anterioridad a la conquista?' **Rev. Hist. Huarochiri**, n. 1, p. 97-99, 1957.

_____. 'Reseña de entomología médica en el Perú I: principales aspectos entomológicos en la bartonelosis, trypanosomiasis y Leishmaniasis'. **Rev. Entomológica**, Lima, n. 20, p. 19-24, 1977.

HOWARD, M. K. et al. Human urine stimulates growth of *Leishmania* in vitro. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 85, p. 477-779, 1991.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) 2010a. Cidades. Disponível em: <http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=355430&search=Ilficos:-informa%E7%F5es-completas>. Acesso em: 19 nov. 2016.

_____. (IBGE) 2010b. Censo 2010. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br>. Acesso em: 30 jan. 2017.

_____. (IBGE) 2014. Mapas Temáticos. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/mapas_ibge/tem.php. Acesso em: 30 jan. 2017.

INSTITUIÇÃO DE TERRAS DO ESTADO DE SÃO PAULO (ITESP) 2014. Assentamentos: Situação quanto à localização municipal. Disponível em: <http://www.itesp.sp.gov.br/br/info/acoes/assentamentos.aspx>. Acesso em: 19 nov. 2016.

ISNARD, H.; RACINE, J. B.; REYMOND, H. Problématique de la géographie. Paris, PUF, 1981.

JIMÉNEZ DE LA ESPADA, M. 'Origen utoso de las lesiones representadas en los antiguos huacos antropomorfos peruanos'. **Soc. Antropol. de Berlim**. p.6-10, 1897.

KALTER, D. C. Laboratory tests for the diagnosis and evaluation of Leishmaniasis. **Dermatol. Clin.**, v. 12, n. 1, p. 37-50, 1994.

KAMHAWI, S. Phlebotomine sand flies and *Leishmania* parasites: friends or foes? **Trends Parasitol**, v. 22, n. 9, p. 439-445, 2006.

KEARNS, R. A.; GESLER, W. M. **Putting health into place**: landscape, identity and wellbeing. Nova York: Syracuse University Press, 1998.

KERR, S. F. Palearctic origin of *Leishmania*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 1, p. 75-80, 2000.

- KILLICK-KENDRICK, R. Some epidemiological consequences of the evolutionary fit between *Leishmaniae* and their phlebotome vectors. **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v. 78, p. 747-755, 1985.
- KOCH, T. **Cartographies of disease: maps, mapping and medicine**. Redlands: ESRI Press, 2005.
- KONTOS, V. J.; KOUTINAS, A. F. Old world canine leishmaniasis. **Contin. Educ. Articles**, n. 15, p. 949-959, 1993.
- KÜRTEEN, B. **A idade dos mamíferos**. Worcester: The Trinity Press, 1972.
- LACOSTE, A.; SALANON, R. **Biogeografia**. Barcelona: Oikos-tau, 1973.
- LACOSTE, Y. **La géographie, ça sert d'abord pour faire la guerre**. 3. ed. Paris: La Découverte, 1976.
- LAINSON, R. Demographic changes and their influence on the epidemiology of the American leishmaniasis. In: SERVICE, M. W. (Ed.). **Demog. Vect. Born Diseases**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 85-106.
- _____.; SHAW, J. J. The role of animals in the epidemiology of South American Leishmaniasis. In: LUMSDEN, W. H. R.; EVANS, D. A. (Ed.). **Biology of the Kinetoplastida**. London: Academic Press, 1979. p. 1-116.
- _____. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETEERS, W.; KILLICK-KENDRICK, R. (Ed.). **The Leishmaniasis in biology and medicine**. London: Academic Press, 1987. p. 12-120.
- _____. New World Leishmaniasis. In: COX, F. E. G.; WAKELIN, D.; GILLESPIE, S. H.; DESPOMMIER, D. D. (Ed.). **Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Parasitology**. 10th ed. London: Hodder Arnold ASM Press, 2005. p. 313-349.
- _____. et al. New World Leishmaniasis – the neotropical *Leishmania* species. In: COX, F. et al. (Org.). **Microbiology and microbial infections, Parasitology**. 9th ed. Londres: Topley & Wilson, 1998. v. 5, p. 241-268.
- LASKAY, T. et al. Detection of cutaneous *Leishmania* infection in paraffin-embedded skin biopsies using the polymerase chain reaction. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 89, p. 273-275, 1995.
- LASTRES, J. B. **La medicina en lá época Inca. História de lá medicina peruana**. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1951. v. 1.
- LASWELL, H. D. **Politics: who gets what, when, how**. Cleveland: Meridian Books, 1936-1958.
- LEBLANCQ, S. M.; PETERS, W. *Leishmania* in the Old World. The distribution of *L. donovani* s.l. zymodemes. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 80, p. 367-377, 1986.

LEWIS, D. J. A taxonomic review of the genus *Phlebotomus* (Diptera: Psychodidae). **Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.) Entomology**, p. 121-203, 1982.

LIMA, S. C. **Território e promoção da saúde. Perspectivas para a atenção primária à saúde**. Jundiaí: Paco Editorial, 2016.

LINDENBERG, A. 'L' ulcere de Bauru ou le bouton d 'Orient au Brésil'. **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, n. 2, p. 252-254, 1909.

LOAYZA, R. 'Memorial de las cosas del Perú tocantes a los indios. Em Marquéz de Fuenzalida del Valle'. **Colecciones de documentos inéditos para la historia de España**. Madri: [s.n.], 1889. v. 94, p. 592-660.

LUKES, J. et al. Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 104, n. 22, p. 9375-9380, 2007.

LYNN, L. E. **Designing public policy: a casebook on the role of policy analysis**. Santa Monica: Goodyear, 1980.

LYSENKO, A. J. Distribution of Leishmaniasis in the Old World. **Bull. World Health Organ.**, v. 44, p. 515-520, 1971.

MAIA-ELKHOURY, A. N. S. et al. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2941-2947, 2008.

MANIATIS, T. et al. **Molecular cloning: a laboratory manual**. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.

MARSHALL, L. G. et al. Mammalian evolution and the great American interchange. **Science**, v. 215, p. 1351-1357, 1982.

MARTINY, J. B. H. et al. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 4, p. 102-112, 2006.

MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F.; CARVALHO, R. W. Visceral Leishmaniasis in Rio de Janeiro. **Parasitol. Today**, v. 10, p. 34-37, 1994.

MAURICIO, I. L. et al. Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. **Parasitology**, v. 119, n. 3, p. 237-246, 1999.

_____; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Parasitol. Today**, v. 16, n. 5, p. 188-189, 2000.

MCMAHON-PRATT, D.; DAVID, J. R. Monoclonal antibodies that distinguish between New World species of *Leishmania*. **Nature**, v. 291, p. 581-583, 1981.

MCMAHON-PRATT, D. et al. Loss of the GP46/M-2 surface membrane glycoprotein gene family in the *Leishmania braziliensis* family. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 50, p. 151-160, 1992.

MEADE, M.; FLORIN, J.; GESLER, W. **Medical geography**. New York: Guilford Press, 1988.

MELAZZO, E. S. et al. Políticas públicas e exclusão social: a construção do debate no interior do SIMESPP. In: FORUM DE CIÊNCIAS DA FCT/UNESP, 4., 2003, Presidente Prudente. **Anais...** Presidente Prudente: FCT/UNESP, 2003.

MELO, A. N. S. et al. Visceral Leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 12, 2008.

MILES, M. A. et al. Some methods for the enzymic characterization of Latin-American *Leishmania* with particular reference to *Leishmania mexicana amazonensis* and subspecies of *Leishmania hertigi*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 74, n. 2, p. 243-252, 1980.

MIMORI, T. et al. Rapid identification of *Leishmania* species from formalin-fixed biopsy samples by polymorphism-specific polymerase chain reaction. **Gene**, v. 210, p. 179-186, 1998.

MOMEN, H. et al. *Leishmania infantum*, the aetiological agent of American visceral Leishmaniasis (AVL)? **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 82, p. 447-448, 1987.

MOMEN, H. et al. Speculations on the origin and evolution of the genus *Leishmania*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 583-588, 2000.

MONTALVO, A. M. et al. Diagnostico de la Leishmaniasis: de la observacion microscopica del parasito a la deteccion del ADN. **Rev. Cubana Med. Trop.**, Habana, v. 64, n. 2, p. 108-131, 2012.

MONTEIRO, J. V. **Fundamentos da política pública**. Rio de Janeiro: IPEA/INPES, 1982.

MOREIRA, J. Existe na Bahia o botão de Biskra? **Gaz. Méd. Bahia**, p. 254-256, 1895.

_____. Botão endêmico dos países quentes. **O Brasil Médico**, n. 1, p. 100-101, 1906.

MOREIRA, M. A. B. et al. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of Leishmaniasis in dogs with different clinical signs. **Vet. Parasitol.**, v. 145, n. 3-4, p. 245-252, 2007.

MORENO, G. et al. Le Complexe *L. donovani* s.l. L'Analyse Enzymatique et Traitement Numérique. Individualisation du Complexe *L. infantum*. **Corollaire Biogéographique et Phyletiques. A Propos de 146 Souches Originaires de l'Ancien et du Nouveau Monde**. Montpellier: CNRS/INSERM, 1986. p. 105-117.

MORRISON, A. C.; FERRO, C.; TESH, R. B. Host preferences of the sandfly at an endemic focus of American Visceral Leishmaniasis in Colombia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 49, p. 68-75, 1993.

NEIVA, A. et al. Leishmaniasis tegumentaria americana'. In: CONFERENCIA DE LA SOCIEDADE SUDAMERICANA DE HIGIENE, MICROBIOLOGIA Y PATOLOGIA, 1., 1917, Buenos Aires. **Anais...**Buenos Aires: [s.n.], 1917. p. 311-373.

NETO, O. J. S. et al. Design of primer pairs for species-specific diagnosis of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* using PCR. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 21, n. 3, p. 304-307, 2012.

NOBREGA, G. D. **Levantamento de casos de leishmaniose visceral em raposas (*Cerdocyon thous*), cães (*Canis lupus familiares*) e humanos no município de João Pessoa, Paraíba, Brasil.** 2010. 50 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2010.

NOSSA, P. Linhas de investigação contemporâneas na geografia da saúde e a noção holística de saúde. In: BARCELLOS, C. (Org.). **A geografia e o contexto dos problemas de saúde.** Rio de Janeiro: ABRASCO, 2008.

NOYES, H. A. Implications of a neotropical origin of the genus *Leishmania*'. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 5, p. 657-661, 1998.

_____. et al. Evidence for a Neotropical Origin of *Leishmania*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 575-598, 2000.

NOWAK, R. M. **Walker's Mammals of the World.** 5th ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 1991. v. 2, p. 643-1629.

NOZAIS, J. P. The origin and dispersion of human parasitic diseases in the Old World (Africa, Europe and Madagascar). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 98, 2003.

PALATNICK DE SOUZA, C. B. et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral Leishmaniasis in Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 65, p. 510-517, 2001.

PARVIZI P. et al. First detection of *Leishmania major* in peridomestic *Phlebotomus papatasi* from Isfahan province, Iran: comparison of nested PCR of nuclear ITS ribosomal DNA and seminested PCR of minicircle kinetoplast DNA. **Acta Tropica**, v. 93, p.75-83, 2005.

PENNA, H. A. Leishmaniose visceral no Brasil. **Bras. Med.**, v. 48, p. 949-950, 1934.

PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. Diagnóstico molecular das leishmanioses: contribuição ao Programa de Vigilância e Controle da LVA no estado de São Paulo. **BEPA, Bol. Epidemiol. Paul.**, v. 6, n. 68, p. 4-13, 2009.

PESCE, H. 'Lepra en el Perú precolombino'. **Conferencia de Ciencias Antropológicas I. Actas y trabajos Homenaje al IV Centenario de la Fundación de la UNMSM.** Lima: [s.n.], 1951. p. 171-187.

PETERS, B. G. **American Public Policy.** Chatham: Chatham House, 1996.

PETTER, F. L'origine des mammifères domestiques. **La Vie des Mammifères**. Paris: Bordas, 1972.

PHILLIPE, H. **Molecular phylogeny of kinetoplasts**. In: COOMB, G. H. et al (eds), Evolutionary Relationships among Protozoa, Systematics Association, London, p. 195-212, 1998.

PISTA, R. P. Flebotomíneos (Phlebotominae). In: LANE, R. P.; CROSSKEY, R. W. (Ed.). **Insetos e aracnídeos medicos**. Londres: Chapman and Hall, 1993. p. 78-119.

PIZARRO, P. 'Relación del descubrimiento y conquista de los reinos del Perú etc.' In: FERNÁNDEZ NAVARRETE, M. (Org.). **Colecciones de documentos inéditos para la historia de España**. Madri: [s.n.], 1917 (1571). v. 5, p. 232.

POURMOHAMMADI, B. et al. Rodent infection with *Leishmania* in a new focus of human cutaneous leishmaniasis, in northern Iran. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, p. 102127-102133, 2008.

PRESTES-CARNEIRO, L. E. et al. The role of environment in the spreading of visceral Leishmaniasis in the west of, Brazil. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON PARASITOLOGY, 2015, Philadelphia. **J. Bacteriol. Parasitol.**, v. 6, n. 4, 2015.

PUPPO, J. A. 'Leishmaniose tegumentar. Epidemiologia, profilaxia e tratamento da leishmaniose americana'. **Ciência Médica**, n. 4, p. 387-409. 1926.

QUEIROZ, N. M. G. P. et al. Diagnóstico da leishmaniose visceral canina pelas técnicas de imunohistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 19, n. 1, p. 34-40, 2010.

QUINNELL, R. J.; DYE, C.; SHAW, J. J. Host preferences of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* in Amazonian Brazil. **Med. Vet. Entomol.**, v. 6, p. 195-200, 1992.

RABELLO, E. Contribuições ao estudo da Leishmaniose Tegumentar no Brasil. I. Histórico e sinonímia. **Ann. Bras. Dermatol. Syphilol.**, v. 1, n. 1, p. 3-31, 1925.

RACINE, J. B.; RAFFESTIN, C.; RUFFY, V. Escala e ação, contribuição para uma interpretação do mecanismo de escala na prática da geografia. **R. Bras. Geogr.**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 1, p. 123-135, 1983.

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. **BEPA, Bol. Epidemiol. Paul.**, v. 10, n. 111, p. 3-14, 2013.

RIOUX, J. A. Chorologie et phylogénèse des leishmanioses. **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v. 78, p. 780-781, 1985.

_____. Taxonomy of *Leishmania*. Use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. **Ann. Parasitol. Hum. Comp.**, v. 65, p. 11-125, 1990.

SAMPAIO, R. N. R., et al. Estudo comparativo de técnicas de demonstração de amastigotas e isolamento de promastigotas no diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana. **Ann. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 5, p. 557-561, 2002.

SANTILLÁN, F. 'Relación del origen, descendencia política y gobierno de los Incas'. In: JIMÉNEZ DE LA ESPADA, M. (Org.). **Tres relaciones de las antigüedades peruanas**. Madri: [s.n.], 1879 (1572). p. 195.

SANTOS, M. J. Z. Introdução à biogeografia. **Boletim de Geografia**, v. 3, n. 3, jan. 1985.

SÃO PAULO (Estado). Coordenadoria de Controle de Doenças. Instituto Adolfo Lutz. Portaria DG/IAL – 16, de 22 de dezembro de 2010. Dispõe sobre as normas de temporalidade das amostras biológicas e dos produtos armazenados no IAL. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, p. 101, 23 dez. 2010. Seção 1.

_____. Secretaria de Estado de Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral americana do estado de São Paulo**. São Paulo, 2006. Disponível em: <ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/zoo/lva06_manual.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2017.

_____. **Rede Regional de Atenção à Saúde 11**. Presidente Prudente, 2012.

_____. Sistema Ambiental Paulista. **Parque Estadual “Morro do Diabo”**. 2014. Disponível em: <<http://www3.ambiente.sp.gov.br/parque-morro-do-diabo/>>. Acesso em: 02 dez. 2016.

SCANDAR, S. A. S. et al. Ocorrência de leishmaniose visceral americana na região de São José do Rio Preto, estado de São Paulo, Brasil. **BEPA, Bol. Epidemiol. Paul.**, v. 8, n. 88, p. 13-22, 2011.

SCHONIAN, G. et al. Identification and determination of the relationships of species and strains within the genus *Leishmania* using single primers in the polymerase chain reaction. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 77, p. 19-29, 1996.

SCHUSTER, F. L.; SULLIVAN, J. J. Cultivation of Clinically Significant Hemoflagellates. American Society for Microbiology. **Rev. Clin. Microb.**, v. 15 (3), p.374-389, 2002.

SILVA-ABREU, A. L. et al. Soroprevalência, aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *leishmania* em cães naturalmente infectados e fauna de flebotomíneos em uma área endêmica na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 17, p. 197-203, 2008. Suplemento 1.

SILVEIRA, F. T.; CORBETT, C. E. P. *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937: nativa ou introduzida? Uma breve revisão. **Rev. Pan-Amaz. Saúde**, Ananindeua, v. 1, n. 2, jun. 2010.

SINGH, R. K.; PANDEY, H. P.; SUNDAR, S. Visceral Leishmaniasis (kala-azar): challenges ahead. **Indian J. Med. Res.**, v. 123, p. 331-344, 2006.

SHAW, J. J. New World Leishmaniasis: the ecology of Leishmaniasis and the diversity of Leishmanial species in Central and South America. In: FARRELL, J. (Ed.). **World Class Parasites: Leishmania**. London: Kluwer Academic Publishers Boston, 2002. p. 11-31.

SMITH N. Geography, difference and the politics of scale. In: DOHERTY, J.; GRAHAM, E.; MALEK, M. (Ed.). **Postmodernism and the social science**. London: Macmillan, 1992. p. 50-95.

_____. Contornos de uma política espacializada: veículos dos sem-teto e produção de escala geográfica. In: ARANTES, A. (Org.). **O espaço da diferença**. Campinas: Papirus, 2000. p. 132-75.

SOARES, R. P. et al. *Leishmania chagasi*: lipophosphoglycan characterization and binding to the midgut of the sand fly vector *Lutzomyia longipalpis*. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 121, p. 213-224, 2002.

_____. *Leishmania braziliensis*: a novel mechanism in the lipophosphoglycan regulation during metacyclogenesis. **Int. J. Parasitol.**, v. 35, p. 245-253, 2005.

SOUZA-PINTO, N. C. et al. Novel DNA mismatch-repair activity involving YB-1 in human mitochondria. **DNA Repair**, v. 8, n. 6, p. 704-708, 2009.

SPIR, P. R. N. et al. Clinical characteristics and spatial distribution of Visceral Leishmaniasis in children in São Paulo state: an emerging focus of Visceral Leishmaniasis in Brazil. **Pathog. Glob. Health**, v. 111, p. 91-97, 2017.

TANIGUCHI, H. H. et al. Dynamics of circulation and perpetuation of *Leishmania* spp. and Leishmaniasis in the state of São Paulo, Brazil, an ancient colonization region. In: WORLD CONGRESS ON LEISHMANIASIS, 4th, 2009, Lucknow. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2009. p. 260.

TEIXEIRA, A. L.; CHRISTOFOLETTI, A. **Introdução aos sistemas de informação geográfica**. Rio Claro: Ed. do Autor, 1992.

THOMAZ JUNIOR, A. **Por trás dos canaviais, os nós da cana**. São Paulo: FAPESP, 2002.

THOMAZ-SOCCOL, V. et al. 'Monophyletic origin of the genus *Leishmania* Ross, 1903'. **Ann. Parasitol. Hum. Comp.**, v. 68, n. 2, p. 107-108, 1993.

TOLEZANO, J. E. **Ecoepidemiologia da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA). Perpetuação da LTA no estado de São Paulo, Região Endêmica de Colonização Antiga**. 2000. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

_____. et al. Evidence of different *Leishmania* enzootic cycles, especially *L. (Viannia) braziliensis* in two endemic American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) regions of São Paulo State, Brazil. In: WORLD CONGRESS ON LEISHMANIASIS, 3rd, 2005, Palermo-Terrasini. **Proceedings...** Palermo: [Istituto Zooprofilattico Sperimentale Della Scilla], 2005. v. 1.

_____. Ecoepidemiology of Leishmaniasis in the State of São Paulo: 25 years of studies in an ancient endemic region. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON PARASITOLOGY, 11th, 2006, Glasgow. **Proceedings...** [Glasgow: ICOPA], 2006.

_____. The first records of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in dogs (*Canis familiaris*)

diagnosed clinically as having canine visceral Leishmaniasis from Araçatuba County, São Paulo State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 149, p. 280-284, 2007.

TRAVI, B. L. et al. Dynamics of *Leishmania chagasi* infection in small mammals of the undisturbed and degraded tropical forests of northern Colombia. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 92, p. 275-278, 1998.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

VIRCHOW, R. 'Sobre las cerámicas antropomorfas de los antiguos peruanos. Sesión extraordinária por el jubileo del prof. Georges Lewin del 22 de nov. 1895'. **Soc. de Dermatol. de Berlín**, Berlín, 1895.

VRBA, E. S. Mamíferos como uma chave para a teoria da evolução. **J. Mammal.**, v. 73, p. 1-28, 1992.

WERNECK, G. L. Forum: geographic spread and urbanization of visceral Leishmaniasis in Brazil. Introduction. **Cad. Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2937-2940, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The Leishmaniasis**. Geneva, 1990. (Technical Report Series, 701).

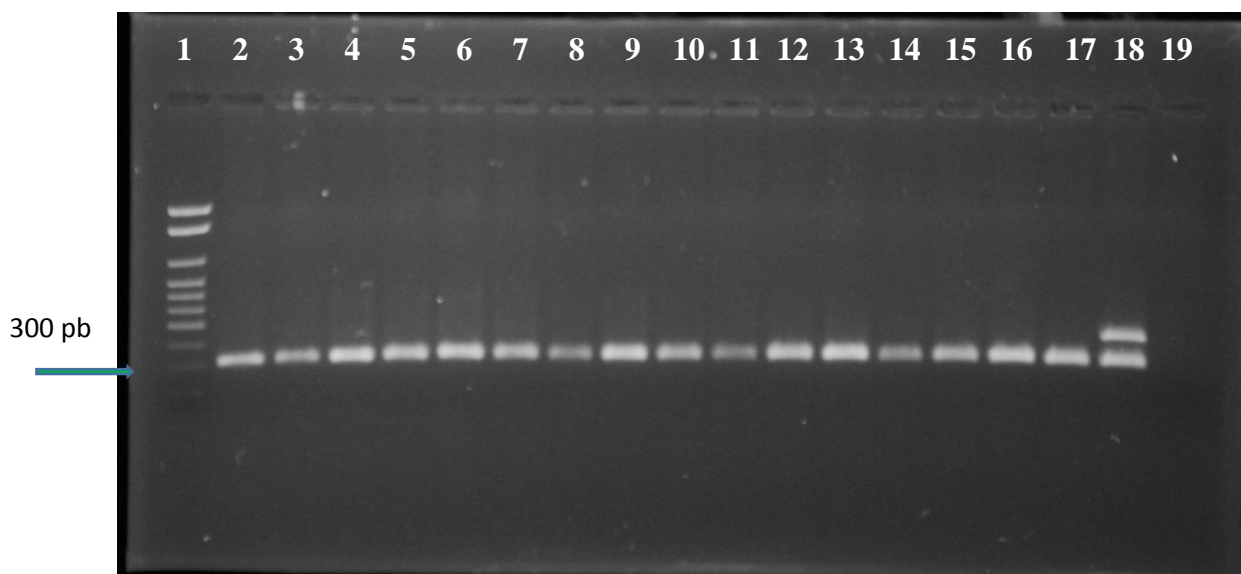
_____. **Control of the Leishmaniasis**: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva, 2010.

_____. **Leishmaniasis**. 2014. Disponível em:
<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Acesso em: 04 fev. 2017.

_____. **Informe epidemiológico das Américas**. 2015. p. 3-7. Disponível em:
<http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=29&Itemid=40754&lang=es>. Acesso em: 4 mar. 2017.

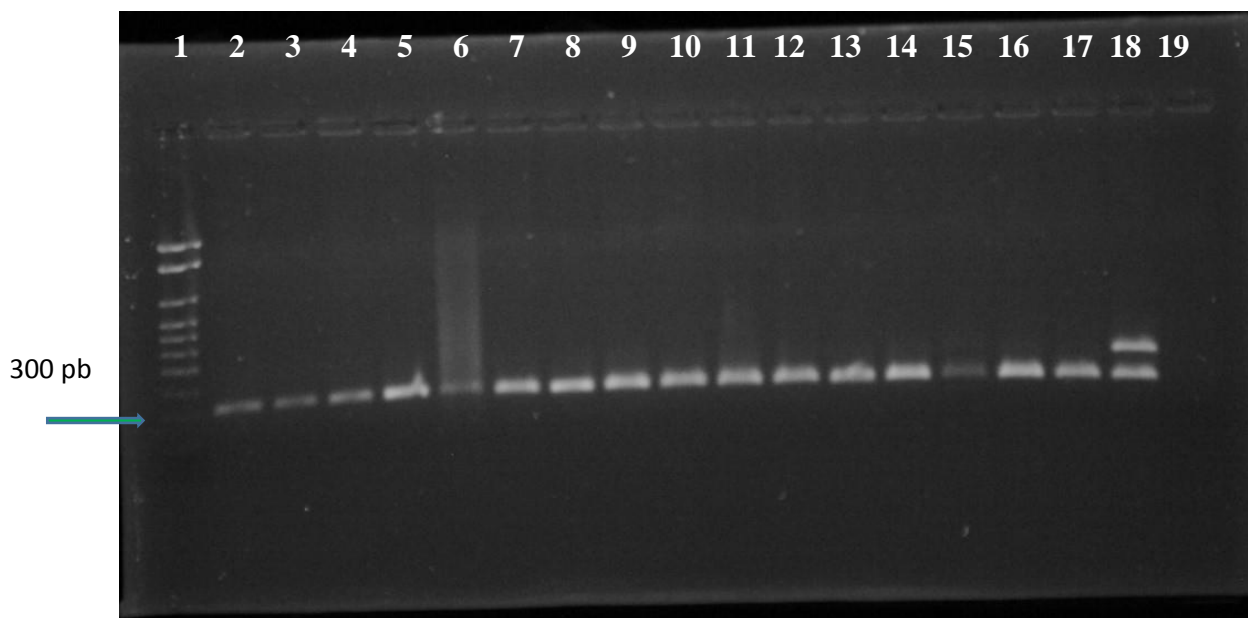
ANEXO I

Figura 01: Gel 1,5% – primers *LITSR* e *5.8S* (para gênero *Leishmania*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 09/03/2016



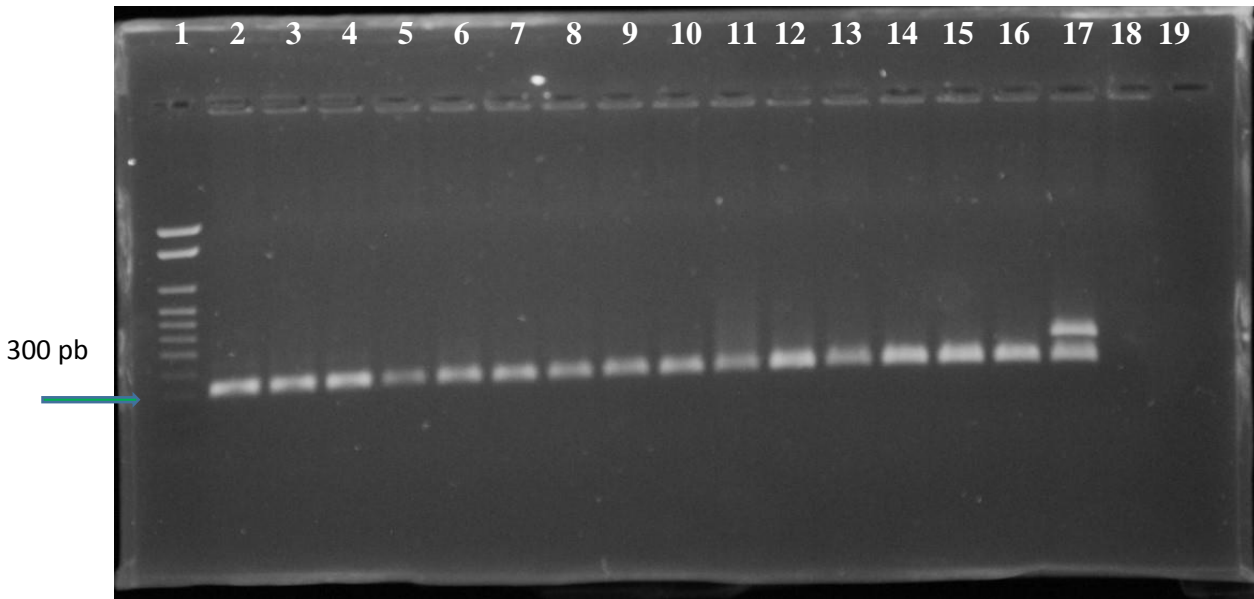
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Pingo 57 Linfonodo; 3. Bob Linfonodo; 4. Quike Linfonodo; 5. Malu Linfonodo; 6. Malu Baço; 7. Betina Baço; 8. Betina Baço; 9. Nick Baço; 10. Nick Baço; 11. Bolinha Baço; 12. Cabrito Fígado; 13. Cabrito Baço; 14. Bidu Linfonodo; 15. Bidu Linfonodo; 16. Bidu Linfonodo; 17. Bidu Linfonodo; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H₂O.

Figura 02: Gel 1,5% – primers *LITSR* e *5.8S* (para gênero *Leishmania*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 10/03/2016



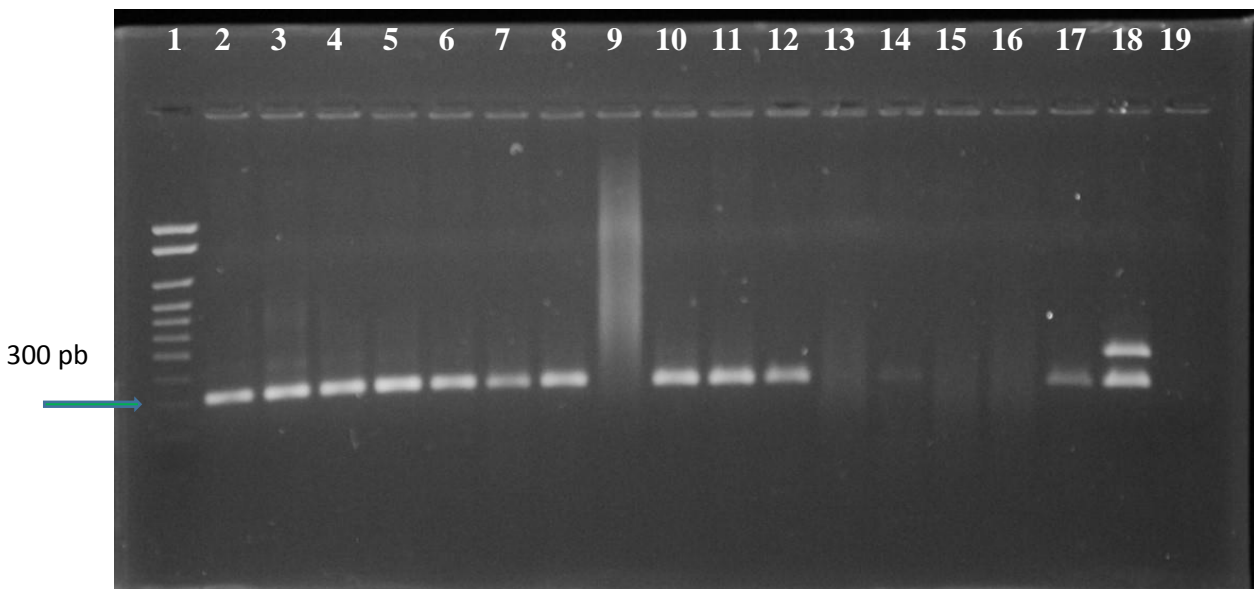
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Bidu Baço; 3. Bidu Baço; 4. Bidu Linfonodo; 5. Camila Linfonodo; 6. Camila Linfonodo; 7. Camila Linfonodo; 8. Camila Linfonodo; 9. Camila Linfonodo; 10. Camila Linfonodo; 11. Camila Linfonodo; 12. Camila Linfonodo; 13. Camila Linfonodo; 14. Camila Linfonodo; 15. Camila Linfonodo; 16. Camila Linfonodo; 17. Camila Linfonodo; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H₂O.

Figura 03: Gel 1,5% – primers *LITSR* e *5.8S* (para gênero *Leishmania*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 11/03/2016



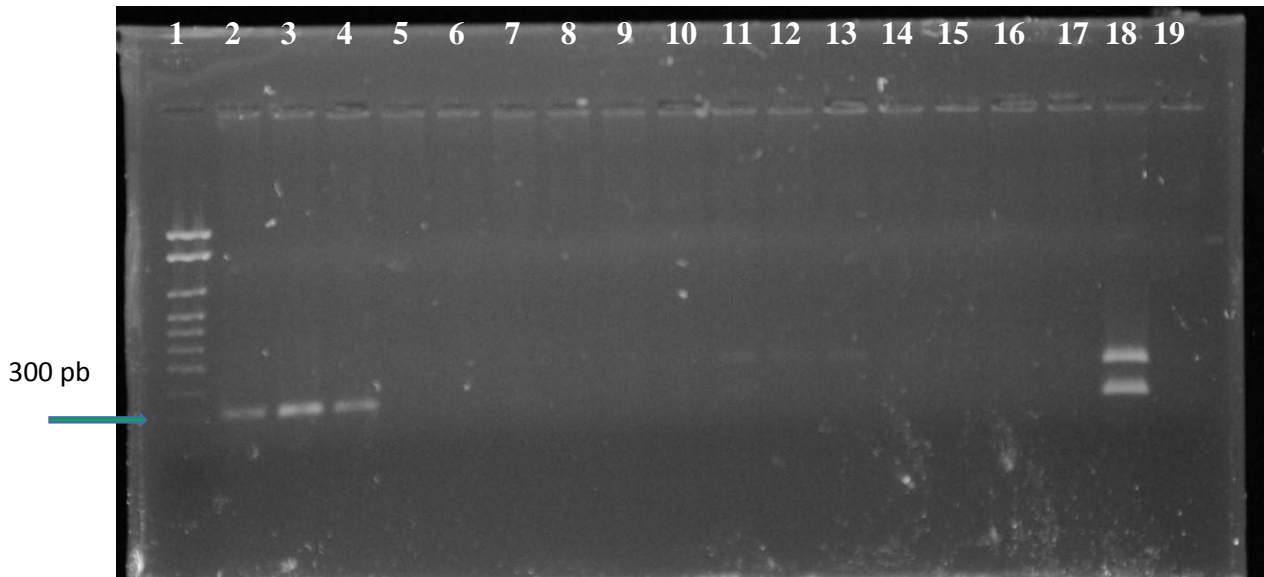
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Camila Linfonodo; 3. Camila Linfonodo; 4. Camila Linfonodo; 5. Sexta Feira Baço; 6. Sexta Feira Baço; 7. Sexta Feira Baço; 8. Sexta Feira Baço; 9. Sexta Feira Baço; 10. Sexta Feira Baço; 11. Sexta Feira Baço; 12. Sexta Feira Baço; 13. Sexta Feira Baço; 14. Sexta Feira Baço; 15. Neguinha Baço; 16. Neguinha Baço; 17. Controle + *L. infantum*; 18. Controle - H2O; 19. Vazio

Figura 04: Gel 1,5% – primers *LITSR* e *5.8S* (para gênero *Leishmania*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 11/03/2016



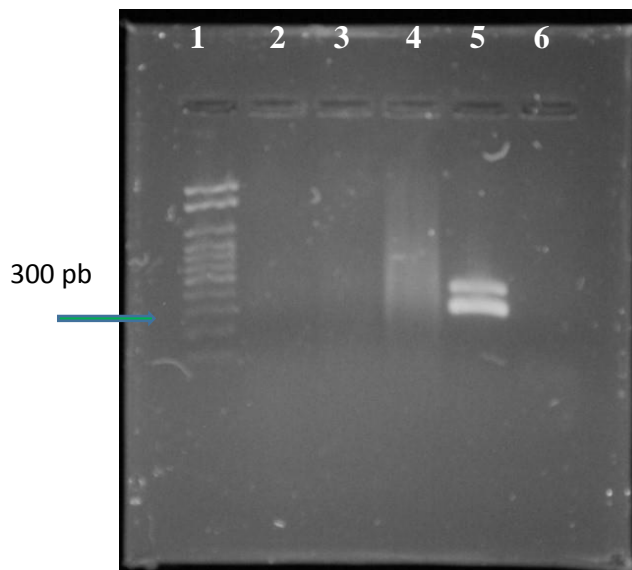
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Neguinha Baço; 3. Neguinha Baço; 4. Neguinha Baço; 5. Neguinha Baço; 6. Maia Baço; 7. Maia Fígado; 8. Maia Baço; 9. July Baço; 10. Chiquinha Fígado; 11. Chiquinha Baço; 12. Kelvin Baço; 13. Neguinha Fígado; 14. Neguinha Baço; 15. Lupe Linfonodo; 16. Lupe Baço; 17. Neguinha 93 Fígado; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H2O.

Figura 05: Gel 1,5% – primers *LITSR* e *5.8S* (para gênero *Leishmania*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 14/03/2016



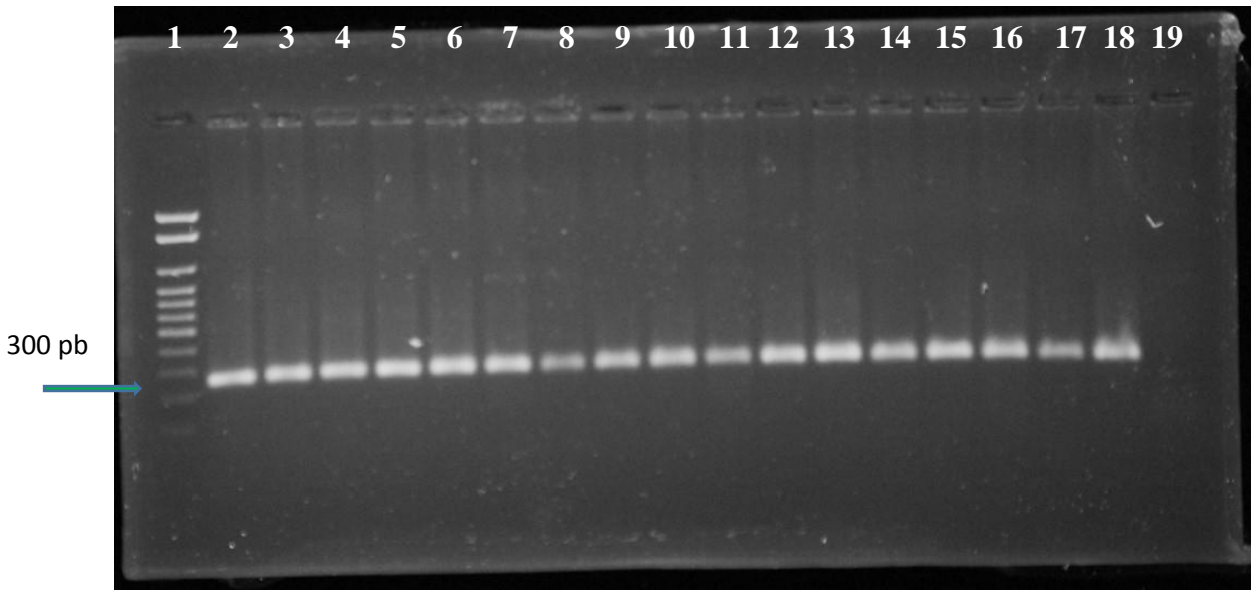
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Neguinha 93 Baço; 3. Neguinha 1190 órgão; 4. Rayca Fígado; 5. Zuca Linfonodo; 6. Zuca Medula; 7. Cristal Medula; 8. Pretinho Medula; 9. Pretinho Linfonodo; 10. Pretinho Medula; 11. Presente Linfonodo; 12. July Medula; 13. July Linfonodo; 14. Carrapato Presente Masserado; 15. Carrapato Presente Exoesqueleto; 16. Carrapato Cristal Masserado; 17. Carrapato Cristal Exoesqueleto; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H₂O.

Figura 06: Gel 1,5% – primers *LITSR* e *5.8S* (para gênero *Leishmania*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 15/03/2016



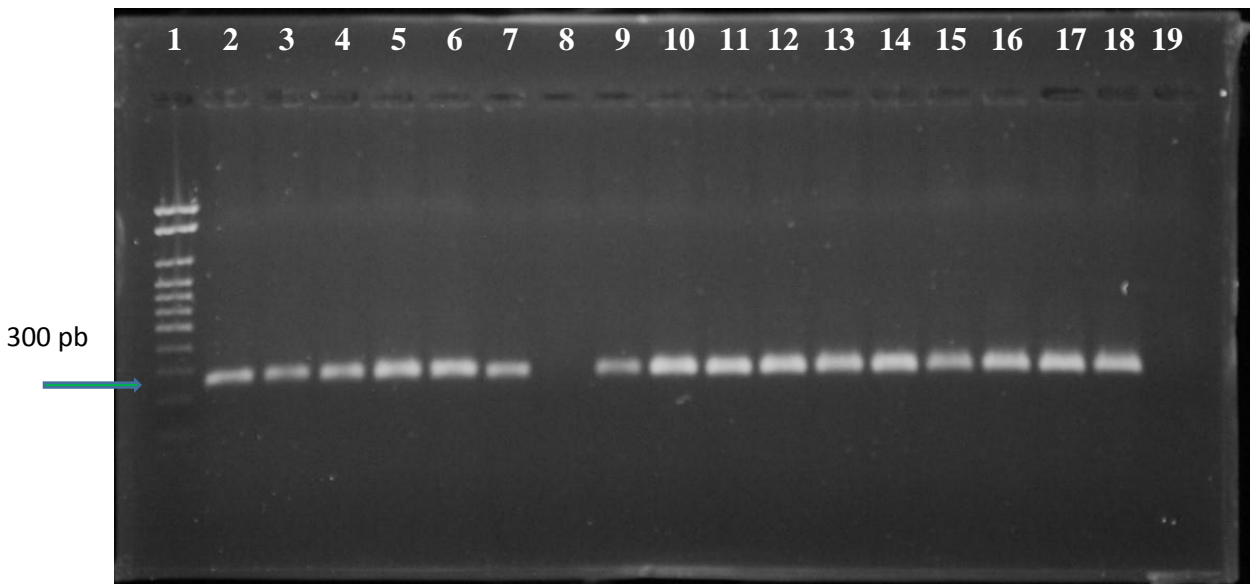
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Carrapato Pretinho Masserado; 3. Carrapato Pretinho Exoesqueleto; 4. Rex 70003 Baço; 5. Controle + *L. infantum*; 6. Controle - H₂O.

Figura 07: Gel 1,5% –primers *LcS1* e *LcS3*(para espécie *Leishmania infantum*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 15/03/2016



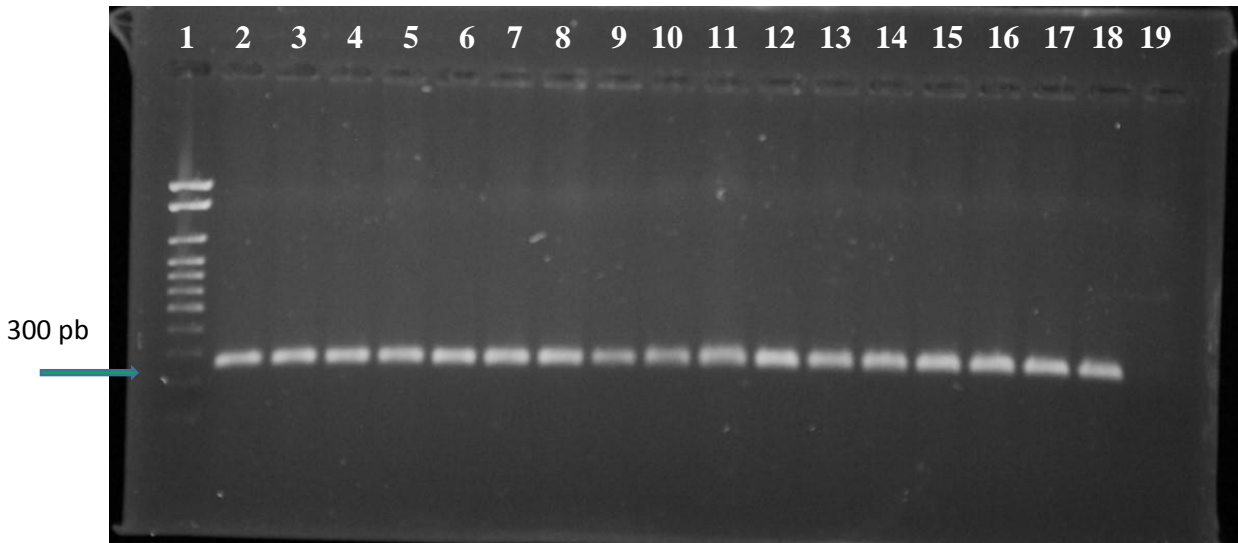
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Pingo 57 Linfonodo; 3. Bob Linfonodo; 4. Quike Linfonodo; 5. Malu Linfonodo; 6. Malu Baço; 7. Betina Baço; 8. Betina Baço; 9. Nick Baço; 10. Nick Baço; 11. Bolinha Baço; 12. Cabrito Fígado; 13. Cabrito Baço; 14. Bidu Linfonodo; 15. Bidu Linfonodo; 16. Bidu Linfonodo; 17. Bidu Linfonodo; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H2O.

Figura 08: Gel 1,5% –primers *LcS1* e *LcS3*(para espécie *Leishmania infantum*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 17/03/2016



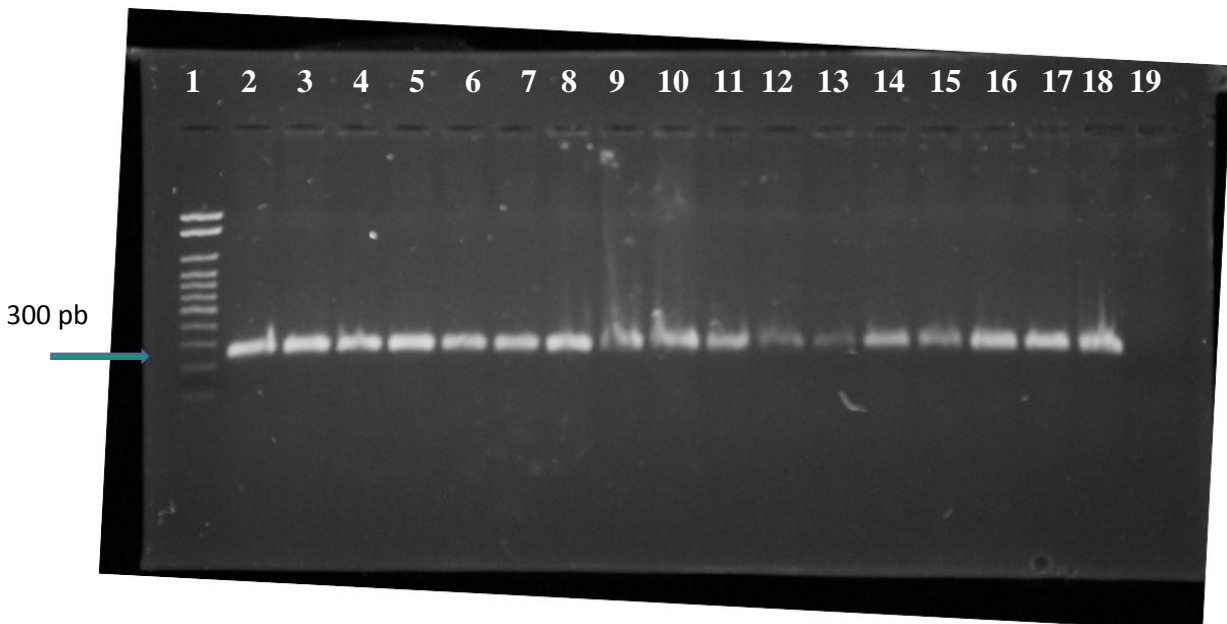
1. Marcador 100pb Norgen; 2. Bidu Baço; 3. Bidu Baço; 4. Bidu Linfonodo; 5. Camila Linfonodo; 6. Camila Linfonodo; 7. Camila Linfonodo; 8. Camila Linfonodo; 9. Camila Linfonodo; 10. Camila Linfonodo; 11. Camila Linfonodo; 12. Camila Linfonodo; 13. Camila Linfonodo; 14. Camila Linfonodo; 15. Camila Linfonodo; 16. Camila Linfonodo; 17. Camila Linfonodo; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H2O.

Figura 09: Gel 1,5% –primers *LcS1* e *LcS3*(para espécie *Leishmania infantum*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 21/03/2016



1. Marcador 100pb Norgen; 2. Camila Linfonodo; 3. Camila Linfonodo; 4. Camila Linfonodo; 5. Sexta Feira Baço; 6. Sexta Feira Baço; 7. Sexta Feira Baço; 8. Sexta Feira Baço; 9. Sexta Feira Baço; 10. Sexta Feira Baço; 11. Sexta Feira Baço; 12. Sexta Feira Baço; 13. Sexta Feira Baço; 14. Sexta Feira Baço;;15. Neguinha Baço; 16. Neguinha Baço; 17. Controle + *L. infantum*; 18. Controle - H2O; 19. Vazio

Figura 10: Gel 1,5% –primers *LcS1* e *LcS3*(para espécie *Leishmania infantum*. Amostras Presidente Prudente. Realizado em 21/03/2016



1. Marcador 100pb Norgen; 2. Camila Linfonodo (repetição); 3. Neguinha Baço; 4. Neguinha Baço;; 5. Neguinha Baço; 6. Maia Baço; 7. Maia Fígado; 8. Maia Baço; 9. Chiquinha Fígado; 10. Chiquinha Baço; 11. Kelvin Baço; 12. Neguinha 93 Fígado; 13. Neguinha 93 Baço; 14. Neguinha 93 Fígado; 15. Neguinha 93 Baço; 17. Rayca Fígado; 18. Controle + *L. infantum*; 19. Controle - H2O.

ANEXO II

Tabelas de resultados de TR DPP e ELISA da 1ª amostra coletada e TR DPP, ELISA, PD, Cultura, PCR Gênero *Leishmania* e PCR Espécie *L. chagasi* da 2ª amostra coletada de cães da área rural, Assentamento Santa Terezinha da Água Sumida, município de Teodoro Sampaio-SP

Tabela 01

LOTE	NOME/RA	1ª Amostra										
		TR		ELISA								
		Município Lote: 147TV008z (23/09/14) , (01/12/14)*	CLR IAL - PP Lote: 141TV001Z/ 13UTV020Z*/ 143TV004Z**	CLR IAL - PP Lote: 145ELO002R			CLR IAL - PP Lote:146EL003Z			CLR IAL - PP Lote: 148EL0067		
		CO 23/09/14	DO	RESULTADO	CO 09/12/14	DO	RESULTADO	CO 12/12/14	DO	RESULTADO		
09	VITORIA/3196	R	NR	0,166	0,095	NR	-	-	-	-	-	-
09	RUBINHO/3197	R	NR	0,166	0,113	NR	-	-	-	-	-	-
36	TUTY/3337	R	R	0,166	0,084	NR	-	-	-	-	-	-
37	CANGACEIRO/3335	R	R	0,166	0,128	NR	-	-	-	-	-	-
39	LEAO/3190	R	NR	0,166	0,138	NR	-	-	-	-	-	-
40	LEAO/3192	R	NR	0,166	0,143	NR	-	-	-	-	-	-
40	NICK/3194	R	NR	0,166	0,101	NR	-	-	-	-	-	-
31	TIGRE/3371	NR*	FR**	-	-	-	0,110	0,069	NR	0,164	0,271	R
06	LEAO/3406	FR*	NR*	-	-	-	0,110	0,049	NR	0,164	0,169	ZC
10	SAMY/3407	R*	R**	-	-	-	0,110	0,055	NR	0,164	0,188	ZC

Tabela 02

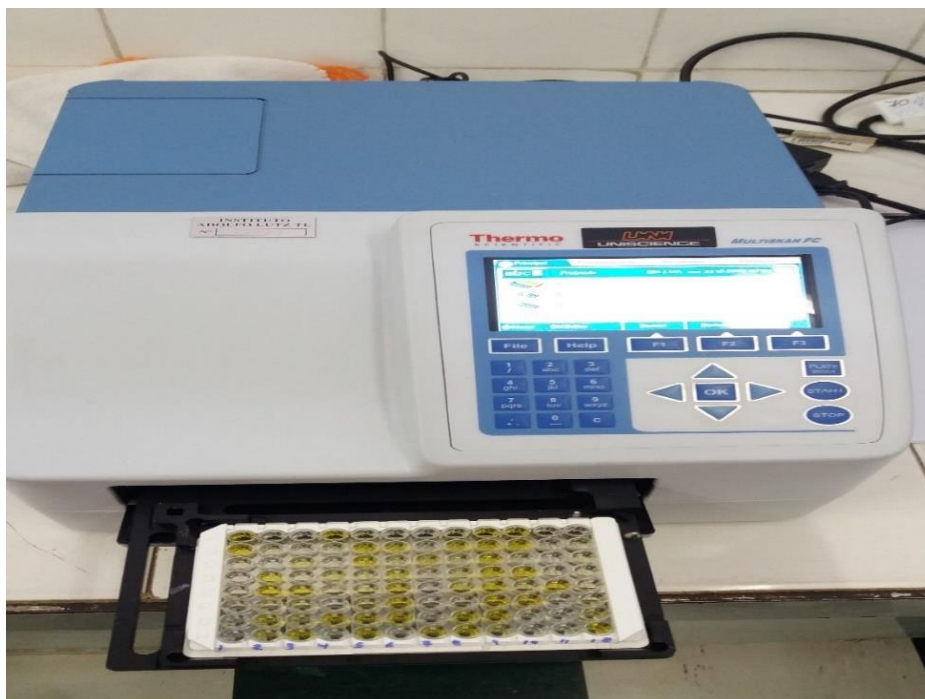
LOTE	NOME/RA	2ª amostra											
		TR 14/10/14		ELISA						PD	Cultura	PCR GEN.	PCR ESP.
		Município	CLR IAL - PP lote: 147TV008Z / 137TV010Z*	CLR IAL - PP Lote: 146ELO002R / 146EL005Z			IAL CENTRAL lote: 146EV003Z						
		CO 14/10/14	DO	RESULTADO	CO 20/10/14	DO	RESULTADO						
09	VITORIA/3196	-	NR	0,182	0,058	NR	0,152	0,091	NR	N	N	N	N
09	RUBINHO/3197	-	NR	0,182	0,068	NR	0,152	0,083	NR	N	N	N	N
36	TUTY/3337	-	R	0,182	0,122	NR	0,152	0,104	NR	P	N	N	N
37	CANGACEIRO/3335	-	R	0,182	0,119	NR	0,152	0,104	NR	N	N	N	N
39	LEAO/3190	-	NR	0,182	0,100	NR	0,152	0,141	NR	N	N	N	N
40	LEAO/3192	-	NR	0,182	0,093	NR	0,152	0,212	R	INAD.	N	N	N
40	NICK/3194	-	NR	0,182	0,101	NR	0,152	0,128	NR	N	N	N	N
31	TIGRE/3371	-	R*	0,142*	0,170	ZC	-	-	-	-	-	-	-
06	LEAO/3406	-	RF*	0,142*	0,147	ZC	-	-	-	-	-	-	-
10	SAMY/3407	-	R*	0,142*	0,190	R	-	-	-	-	-	-	-

LEGENDA S

R - REAGENTE N - NEGATIVO CO - CUT OFF
 NR - NAO REAGENTE P - POSITIVO DO - DENSIDADE OPTICA
 RF - REAGENTE FRACC INAD. - INADEQUAD ZC - ZONA CINZA

ANEXO III

Figura 01 - Leitora de microplacas de ELISA



Fonte: Arquivo pessoal de D'ANDREA, L.A.Z. (2017).

ANEXO IV

Supervisão Indireta LVC TR DPP Municípios 2014						
N	MUNICÍPIO	Total de amostras	MUNICÍPIO		IAL	
			NR	R	NR	R
1	CAIUA	8	8	0	8	0
2	DRACENA	73	64	9	48	25
3	FLORA RICA	21	21	0	18	3
4	IRAPURU	71	63	8	64	7
5	JUNQUEIROPOLIS	45	45	0	43	2
6	MONTE CASTELO	29	22	7	22	7
7	NOVA GUATAPORANGA	20	20	0	19	1
8	OURO VERDE	71	71	0	65	6
9	PIQUEROBI	6	6	0	6	0
10	PRESIDENTE PRUDENTE	19	19	0	18	1
11	PRESIDENTE VENCESLAU	101	96	5	88	13
12	RANCHARIA	2	2	0	2	0
13	SANTA MERCEDES	6	3	3	3	3
14	SANTO ANASTACIO	8	8	0	5	3
15	SANTO EXPEDITO	15	15	0	15	0
16	SÃO JOÃO DO PAU D'ALHO	5	5	0	5	0
17	TEODORO SAMPAIO	28	17	11	8	20
18	TUPI PAULISTA	10	10	0	9	1
	TOTAL	538	495	43	446	92

Supervisão Indireta LVC TR DPP Municípios 2015						
N	MUNICÍPIO	Total de amostras	MUNICÍPIO		IAL	
			NR	R	NR	R
1	ALFREDO MARCONDES	3	3	0	2	1
2	ÁLVARES MACHADO	2	2	0	2	0
3	CAIUA	3	3	0	3	0
4	DRACENA	20	17	3	14	6
5	EMILIANOPOLIS	9	9	0	8	1
6	FLORA RICA	6	6	0	6	0
7	IRAPURU	13	13	0	13	0
8	JUNQUEIROPOLIS	3	3	0	3	0
9	OURO VERDE	7	7	0	5	2
10	PANORAMA	10	6	4	6	4
11	PAULICEIA	7	3	4	3	4
12	PIQUEROBI	6	6	0	6	0
13	PRESIDENTE PRUDENTE	14	14	0	12	2
14	PRESIDENTE VENCESLAU	14	13	1	12	2
15	SANTA MERCEDES	5	5	0	5	0
16	SANTO EXPEDITO	11	11	0	11	0
17	SÃO JOÃO DO PAU D'ALHO	1	1	0	1	0
18	TEODORO SAMPAIO	22	12	10	12	10
19	TUPI PAULISTA	12	6	6	6	6
	TOTAL	168	140	28	130	38

Supervisão Indireta LVC TR DPP Municípios 2016						
N	MUNICÍPIO	Total de amostras	MUNICÍPIO		IAL	
			NR	R	NR	R
1	ALFREDO MARCONDES	1	1	0	1	0
2	ÁLVARES MACHADO	15	6	9	6	9
3	CAIUA	5	0	5	0	5
4	DRACENA	9	0	9	1	8
5	EMILIANÓPOLIS	3	0	3	1	2
6	FLORA RICA	4	0	4	0	4
7	IRAPURU	20	0	20	1	19
8	JUNQUEIROPOLIS	15	7	8	6	9
9	MARABÁ PAULISTA	1	0	1	0	1
10	MONTE CASTELO	5	0	5	0	5
11	NOVA GUATAPORANGA	2	0	2	1	1
12	OURO VERDE	15	0	15	0	15
13	PANORAMA	23	15	8	16	7
14	PAULICEIA	9	0	9	0	9
15	PIQUEROBI	3	0	3	1	2
16	PRESIDENTE EPITÁCIO	5	0	5	0	5
17	PRESIDENTE PRUDENTE	37	0	37	5	32
18	PRESIDENTE VENCESLAU	16	0	16	1	15
19	RANCHARIA	2	0	2	1	1
20	SANTA MERCEDES	19	10	9	11	8
21	SANTO ANASTACIO	2	0	2	0	2
22	SANTO EXPEDITO	6	0	6	1	5
23	SÃO JOÃO DO PAU D'ALHO	2	0	2	0	2
24	TEODORO SAMPAIO	91	43	48	77	14
25	TUPI PAULISTA	5	0	5	0	5
	TOTAL	315	82	233	130	185

Supervisão indireta LVC TR DPP Municípios 2017						
N	MUNICÍPIO	Total de amostras	MUNICÍPIO		IAL	
			NR	R	NR	R
1	ÁLVARES MACHADO	5	0	5	0	5
2	DRACENA	10	7	3	9	1
3	EMILIANÓPOLIS	9	9	0	9	0
4	IRAPURU	2	2	0	2	0
5	JUNQUEIROPOLIS	13	12	1	10	3
6	MONTE CASTELO	2	0	2	0	2
7	PRESIDENTE PRUDENTE	57	0	57	14	43
8	REGENTE FEIJÓ	2	0	2	0	2
9	SANTO EXPEDITO	5	5	0	5	0
	TOTAL	105	35	70	49	56