

Análise da distribuição espacial dos casos de leishmaniose tegumentar americana em Hipólito Yrigoyen, Orán, Salta, Argentina, no período 2005-2006*

Analysis of the Spatial Distribution of Cases of American Cutaneous Leishmaniasis in Hipólito Yrigoyen, Orán, Salta, Argentina, in period 2005-2006

Juan Carlos Rosales¹, Hyun Mo Yang², Antonia Ibarra³, Roberto Barraza³

¹Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Salta. Salta, Argentina. Laboratório de Informática da Universidade Estadual de Campinas (Lab-Epifisma-Unicamp). Campinas, SP, Brasil

²Instituto de Matemática Estatística e Computação Científica, da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Campinas, SP, Brasil

³Servicio de Epidemiología, Programa de Atención Primaria do Hospital Eva Perón. Salta, Argentina

Recebido 26/6/2008 – Aprovado em 28/11/2008

Resumo

Num recorte de cena composta de NDVI (Normal Difference Vegetation Index) foram localizados casos de leishmaniose tegumentar americana (LTA) em Hipólito Yrigoyen (HY), na Província de Salta, Argentina. Foram discriminados os casos ocorridos em regiões rurais (por atividades laborais ou de caça e pesca) dos casos urbanos. O objetivo foi identificar os possíveis locais de transmissão. Uma vez identificados os casos urbanos, construiu-se uma matriz simples de casos por zonas para cada ano, na localidade de HY, obtendo-se linhas de contorno para descrever a distribuição espacial dos casos de LTA. Os resultados permitem observar que no ano de 2005 houve um foco importante na zona Sudeste e outro menos importante na Noroeste, os quais se deslocaram para Sudoeste e centro de HY no ano de 2006. A distribuição espacial dos casos urbanos no período mostra que existe risco de aquisição da doença na localidade estudada.

Palavras-chave: leishmaniose tegumentar americana; modelagem; incidência; NDVI.

Abstract

In a patch obtained from NDVI (Normal Difference Vegetation Index) cases of American Cutaneous Leishmaniasis (ACL) were located in Hypolito Yrigoyen (HY), in the province of Salta, Argentina, in order to discriminate urban cases (infections due to activities like hunting and fishing during times of leisure) from those observed in the rural regions (during their labor activities), with the objective of identifying possible transmission sites. Once identified the urban cases, a simple matrix of cases was constructed, with the cases per zone for each year, in HY, drawing the contour lines to describe the spatial case distribution of LTA cases. Results show that, in 2005, an important transmission focus was registered in the Southeast zone and another, less important, in the Northwestern zone, both having moved to the Southeast region and to the central region of HY in 2006. Spatial distribution of urban cases during the period shows that there is a risk of acquiring the disease in the sites under study.

Key words: american cutaneous leishmaniasis; modeling; incidence; NDVI.

*Este trabalho foi parcialmente financiado pelo Conselho de Investigações da Universidade Nacional de Salta, Argentina, e Projeto Temático FAPESP, Lab-EPIFISMA

Introdução

A leishmaniose é uma zoonose considerada, inicialmente, de transmissão silvestre, em ambientes rurais. Atualmente, porém, ocorrem mudanças no padrão de transmissão da doença em decorrência das modificações socioambientais, como o desmatamento e o processo migratório caracterizado pelo êxodo rural, resultando no deslocamento do homem para as periferias das grandes cidades¹.

A doença é endêmica nas províncias de clima subtropical da Argentina, onde ocorrem aproximadamente 200 casos anuais, mais freqüentemente nas províncias de Jujuy, Salta y Tucumán². Nessas regiões concentra-se maioria dos casos do país.

Hipólito Yrigoyen (HY) localiza-se dentro dos vales subtropicais, demarcada pelas Serras Sub-Andinas, e pertence ao Departamento de Orán, na região Noroeste da Argentina, distante aproximadamente 262 quilômetros de Salta, capital da província de mesmo nome, e a 1.791 quilômetros de Buenos Aires. A cidade principal do Departamento de Orán é San Ramón de la Nueva Orán (SRNO), que é a última fundada pelos espanhóis na América do Sul, em 1794, para estender a colonização e evangelização indígena. HY fica a 14 quilômetros de SRNO.

Em Orán foram registrados surtos epidêmicos importantes entre 1984 e 1987, relacionados com o aumento do desmatamento. Ao longo de sua história, a localidade de HY apresentou casos de LTA com coeficientes de incidência que justificam o presente trabalho. O mesmo tem o propósito de ajudar na compreensão da situação atual da LTA na localidade, bem como entender a dinâmica do complexo processo de transmissão da doença, considerada como negligenciada no mundo. Também espera-se que a análise espacial sirva para orientar os governos municipal e provincial nas tomadas de decisões adequadas para a prevenção da LTA.

O objetivo é obter uma distribuição espacial que permita fazer inferências nos possíveis locais de transmissão. Outra questão que se pretende responder refere-se ao adoecimento das pessoas, basicamente por suas atividades profissionais (a maioria dos habitantes de Hipólito Yrigoyen é formada por trabalhadores rurais empregados na indústria açucareira) ou devido a atividades esportivas (caça e pesca). Nesse último caso, analisa-se a possibilidade de ocorrência de contaminação em área urbana.

Neste trabalho foram calculados os coeficientes de incidência de LTA nos anos de 2005 e 2006, com o

objetivo de comparar a transmissão de LTA nos dois anos pesquisados. Para tanto, foi construído um cenário obtido de NDVI (Normal Difference Vegetation Index) para a região, a fim de analisar os possíveis locais de transmissão dos casos rurais e urbanos. Além disso, foram discriminados espacialmente os casos urbanos em relação às várias zonas delimitadas da localidade de HY, para pesquisar possíveis padrões mediante linhas de contornos, em ambiente computacional utilizando o pacote Matlab.

Metodologia

Área de estudo

A localidade de Hipólito Yrigoyen compreende uma região entre os vales e a bacia hidrográfica formada pelos rios Grande de Tarija-Bermejo e San Francisco. Essa bacia é importante economicamente para a Província de Salta. Com maior precisão, a localização de HY fica entre os rios Bermejo e Santa María.

As características climáticas da região são verões quentes, entre 21°C a 35°C, com temperaturas extremas de até 45°C; umidade relativa de 78%; e invernos parecidos com os de região temperada, com temperaturas entre 8,3 °C a 24 °C, e média anual em torno de 21,4°C.

A orientação das montanhas que contornam a região tem influência direta na distribuição das chuvas (precipitações), que se concentram no verão, nos meses de novembro a maio, e oscilam de 800 mm a 1.300 mm anuais³. No período de 1934 a 1990 HY apresentou uma precipitação média anual de 696 mm. A região encontra-se entre as isoietas climáticas anuais correspondentes 600 mm e 800 mm; entretanto, a isoietas correspondente aos 700 mm praticamente atravessa a localidade⁴.

O perfil da população em estudo é caracterizado, basicamente, por trabalhadores empregados em engenho de açúcar, vinculadas a atividades agrícolas e industriais.

Tipo de estudo e definições

O estudo observacional e descritivo foi baseado nas fichas epidemiológicas dos casos notificados de leishmaniose tegumentar americana em HY, no período 2005-2006. A população considerada: todos os residentes na localidade.

Definiu-se como caso de LTA as pessoas que foram diagnosticadas clinicamente e confirmadas ao menos com uma das análises laboratoriais – reação

em cadeia da polimerase (PCR) e intradermoreação de Montenegro.

Para a discriminação dos casos urbanos e rurais definiu-se como urbano o caso ocorrido em pessoas que não trabalham nos canaviais ou fincas e não realizaram atividades de caça e pesca. Entretanto, definiu-se como caso rural a negação do caso urbano, ou seja, pessoas que trabalharam nos canaviais, realizaram atividades de caça e pesca ou manifestaram que o possível local de contato é fora da localidade de HY.

Base de dados

Os dados utilizados na investigação foram obtidos do Programa de Enfermidades Dermatológicas de Interesse Sanitário (PEDIS), e corroborados com a base de dados do Serviço de Epidemiologia do Hospital Eva Perón, de Hipólito Yrigoyen, ambas as instituições subordinadas ao Ministério de Saúde Pública de Salta. Essas informações, obtidas de banco de dados, foram complementadas com o reconhecimento das zonas de transmissão pelos profissionais de atenção primária à saúde do Hospital Eva Perón.

Estatísticas e implementações

Os coeficientes de incidência de LTA para os casos humanos, número de casos novos notificados no Hospital Eva Perón nos anos de 2005 e 2006, (e o valor médio para esses anos), foram calculados segundo a fórmula: número de casos novos de LTA x 10.000 hab./população⁵. Os dados da população de HY foram obtidos do censo do Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INDEC)⁶. Também foram calculadas as porcentagens dos casos rurais e urbanos para o período mencionado.

Para a distribuição espacial dos possíveis locais de transmissão utilizou-se uma composição de imagens de satélite LANDSAT-ETM+, obtida em dezembro de 2003 do site da Global Land Cover Facility do Institute for Advanced Computer Studies⁷. Essas foram processadas no programa Multispec-3.1 da Purdue Research Foundation⁸, para obter uma classificação supervisionada. Pela transformação das bandas segundo Normalized Difference Vegetation Index (NDVI)⁹ – cuja equação é dada por

$$\text{ValorNDVI} = \frac{\text{Banda 4} - \text{Banda 3}}{\text{Banda 4} + \text{Banda 3}}$$

– foi obtido um mapa para posicionar, posteriormente, os lugares em que ocorreram os casos rurais e os urbanos com o programa DIVA-GIS, 5.2.0.2¹⁰.

Para estudar os casos urbanos com o DIVA-GIS, a localidade de HY foi dividida em sete zonas (Noroeste, Nordeste, Centro-oeste, Centro-leste, Sudoeste, Sudeste e Bairro Estación). Posteriormente, identificou-se o número de casos em cada zona, formando uma matriz simples para cada ano. Utilizando o ambiente Matlab¹¹, interpolações foram feitas para obter uma superfície, a partir da qual foram calculadas as correspondentes linhas de contorno para descrever a distribuição espacial dos casos urbanos para os anos de 2005 e 2006.

A demarcação das zonas para o estudo dos casos urbanos é mostrada na Figura 1, em que se destaca uma linha como limite da localidade HY, das serras Sub-Andinas e da floresta subtropical.



Figura 1 - Delimitação das sete zonas de divisão de Hipólito Yrigoyen para a análise da distribuição espacial dos casos urbanos de LTA.

Resultados

Calcularam-se os coeficientes de incidência por 10.000 habitantes, pois a população de Hipólito Yrigoyen, segundo o censo INDEC 2001, foi de 8.775 habitantes. Os valores obtidos são 26,21/10.000 e 18,23/10.000 para os anos de 2005 e 2006, respectivamente (Figura 2, esquerda). O valor médio encontrado foi 22,22/10.000. As porcentagens dos casos classificados em urbanos e rurais foram, respectivamente, 61% e 39%, no ano de 2005, enquanto em 2006 os casos urbanos representam 94% e os rurais somente 6% (Figura 2, direita).

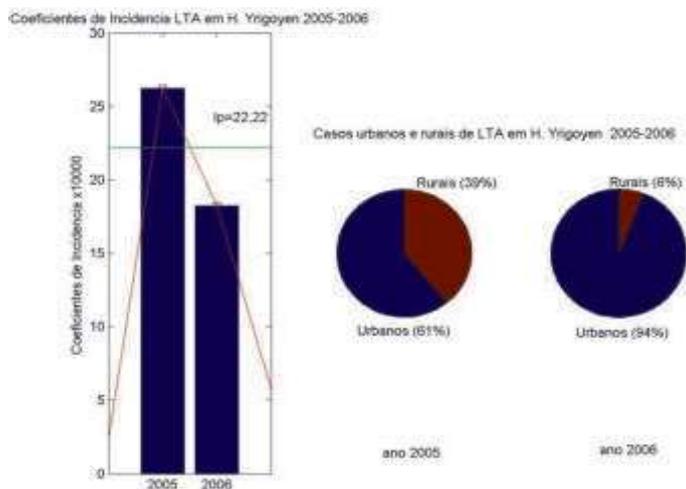


Figura 2 - Esquerda: coeficientes de incidência de LTA em Hipólito Yrigoyen no período 2005-2006. A linha verde representa o valor médio $\bar{p}=22,22$. Direita: porcentagens dos casos urbanos e rurais correspondentes aos anos de 2005-2006 em HY.

A Figura 3 apresenta um recorte da imagem composta do NDVI, na qual estão indicados com pontos vermelhos os lugares de possível transmissão dos casos notificados ao Hospital Eva Perón, nos anos de 2005 e 2006. Os casos rurais estão fora da circunferência amarela, enquanto os urbanos ocorrem dentro da circunferência amarela, que delimita a localidade de HY.



Figura 3 - Recorte de um cenário de NDVI, obtido de uma composição de imagens de satélite LANDSAT ETM. Observa-se o rio Bermejo (direita), Santa Maria (inferior) e Colorado (canto inferior direito). Os pontos vermelhos fora da circunferência amarela indicam os possíveis lugares de contatos rurais e os de dentro indicam os possíveis lugares de contatos urbanos nas zonas de Hipólito Yrigoyen. Dados: Hospital Eva Perón e Programa EDIS. Escala 1 cm: 1,5 km.

Considerando-se somente os casos urbanos em cada zona da Figura 1 e interpolando os valores para dar mais continuidade aos valores discretos dos casos de LTA, foram obtidas as Figuras 4 e 5. Nelas, têm-se as linhas de contornos da distribuição dos casos urbanos de LTA em HY. A Figura 4 foi obtida com sete linhas de contorno com seus valores; na

Figura 5 apresenta-se o desenho com 600 linhas para ter um efeito de continuidade da doença.

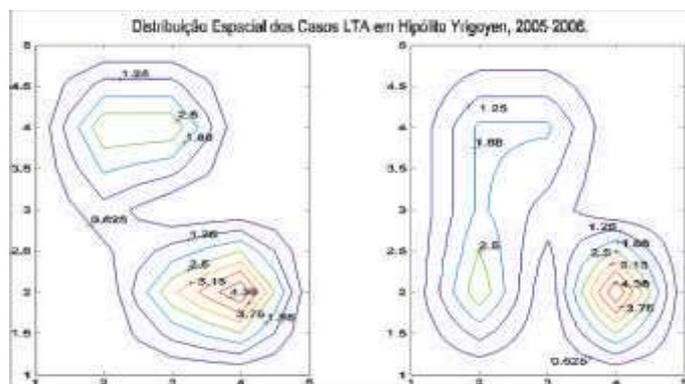


Figura 4 - Linhas de contornos segundo os valores dos casos urbanos e por zonas de divisão de Hipólito Yrigoyen, para os anos de 2005 e 2006. Dados do Hospital Eva Perón e o PEDIS. Zona Norte na parte superior e zona Sul, parte inferior.

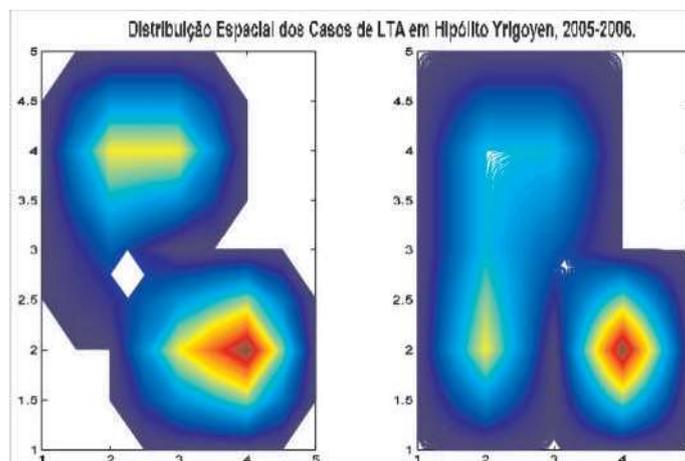


Figura 5 - Distribuição dos casos urbanos em Hipólito Yrigoyen nos anos de 2005 e 2006, segundo dados do Hospital Eva Perón e o PEDIS. A zona Norte situa-se na parte superior; a Sul, na parte inferior; e o Bairro Estación, no extremo inferior direito.

Discussão

Os valores dos coeficientes de incidência encontrados no período 2005-2006 são elevados para uma localidade como Hipólito Yrigoyen, que contabiliza 8.775 habitantes (segundo o censo de 2001 do INDEC). Esses valores serviram para estimar as taxas de infecção nos períodos estudados.

A localidade de HY apresenta para a população risco de aquisição da doença, já que existe a possibilidade de se ter contato com o vetor, pois a maioria dos casos no período 2005-2006, segundo os valores das porcentagens de casos, ocorreu na própria localidade (autóctone) (Figura 2, direita). Portanto, as medidas de prevenção e controle devem ser reconsideradas e planejadas adequadamente pelas autoridades municipais e provinciais. A população deve ser informada

sobre o risco da infecção por LTA ser relativamente elevado não somente quando as pessoas percorrerem áreas de mata, canaviais ou colônias do engenho. O risco está presente também para as pessoas que realizam atividades físicas ou de lazer na localidade.

A imagem do NVDI permite observar, também, que a localidade de HY, pelo lado Leste, tem como limite a floresta subtropical. Todos os outros limites são terrenos planos resultantes de desmatamento para o cultivo da cana-de-açúcar, que formam grandes áreas até chegar ao rio Santa Maria. Por outro lado, foi possível localizar os lugares de transmissão na beira do rio Bermejo, desde a planície de Chato Mendez até o encontro dos rios Bermejo e Colorado, marcados com pontos vermelhos no extremo direito da Figura 2. Esses são lugares muito freqüentados pelos pescadores e caçadores. Nessa mesma região ocorreu a instalação de famílias humildes, em barracos muito simples, que possuíam cães, outras possíveis vítimas do vetor transmissor da doença.

A distribuição espacial dos casos rurais e urbanos, nessa imagem, permitiu ainda visualizar que o risco de contrair a LTA não está restrito à freqüência das pessoas às matas ou canaviais, seja por razões esportivas (de caça ou pesca), seja por trabalho. Essa distribuição confirma que existe um perigo real de aquisição da doença na localidade propriamente dita, cujo risco pode ser muito maior devido ao grau de desconhecimento da doença e do vetor por parte da população. Urge a necessidade de se organizarem campanhas de prevenção e conscientização das comunidades locais, por parte das instituições de saúde pública municipal e provincial.

No que diz respeito aos casos urbanos, pode-se observar que a localização dos casos no ano de 2005 concentra-se nas zonas Noroeste e Sudeste. A concentração dos casos no Bairro Estación tem especial destaque, pois o padrão sugere que naqueles anos os casos de LTA tiveram duas localizações bem definidas, sendo a maior nesse bairro. A partir desses focos iniciais, em 2006 os casos de LTA estenderam-se para as zonas central e Oeste, com a diminuição da incidência nas Norte e Sul.

Nesse ano, a concentração de casos no Bairro Estación continuou sendo ainda importante, mas ficou isolado em relação à zona Sudoeste, indicando um deslocamento nessa direção. Por isso, notam-se os máximos indicados pelas linhas de contornos durante os dois anos pesquisados (Figuras 4 e 5). Na verdade, esse bairro passou por um processo de urbanização

não planejada pelas autoridades municipais, sendo que os terrenos pertencem à ferrovia estadual. Antigamente, a faixa de terra entre esses terrenos e as bases das serras era ocupada por plantações de cana-de-açúcar. Portanto, a área ocupada pelo Bairro Estación foi, primeiro, submetida a um processo de desmatamento e, posteriormente, algumas famílias aproveitaram para improvisar nesse local moradias e hortas familiares. Infelizmente, o lugar apresenta todas as condições de risco relacionado ao processo de transmissão das leishmanioses. Tudo isso sugere que esse local é o ponto de entrada da doença e sua conseqüente expansão para outras áreas.

Entretanto, uma vez que o ser humano é uma fonte de infecção, os casos rurais têm importância na transmissão. As pessoas podem ficar infectadas fora da localidade de moradia, mas ao regressarem às suas casas aumentariam o risco de expansão da LTA no caso de haver vetores não infectados na localidade. Essa questão seria importante na avaliação do número de reprodutibilidade basal, como descrito nos trabalhos de Dye *et al.* e Rosales e Yang^{12,13}, uma vez que nesse cálculo são levados em consideração todos os hospedeiros (homens e animais domésticos que intervenham no ciclo).

É preciso a implementação de programas de prevenção por parte do hospital e da municipalidade. Esses programas, com o envolvimento de setores da sociedade, assim como a participação comunitária e individual, devem estar associados a um programa de controle da população animal, como os mencionados no estudo de Camargo-Neves *et al.*¹⁴, uma vez que, comprovada a suspeita a partir de feridas observadas, o cão tem participação no ciclo da LTA.

Nesse sentido, estudos das lesões e sua evolução na população canina na localidade de HY, como as feitas em o artigo de Marco *et al.*¹⁵, ajudaria na determinação da importância do papel de cão no ciclo de transmissão da LTA. Será interessante também que o desenvolvimento de controle de cães seja uma tarefa continuada, que poderia ser levada a cabo pelos agentes sanitários e pessoas dos planos sociais, um dos quais o chamado plano "Trabalhar".

São imprescindíveis os estudos do vetor envolvido na transmissão, como os efetuados em Camargo-Neves *et al.*¹⁴, adaptados à LTA na localidade de HY. Trabalhos entomológicos similares aos feitos nas pesquisas de Camargo-Neves *et al.*, Salomón *et al.* e Marco *et al.*^{14,16,17,18} para o vetor e estudos para avaliar o papel do cão (Marco *et al.*¹⁵) na zona da localidade de

HY ajudariam não somente na compreensão do complexo ciclo de transmissão da doença nessa região, mas também forneceriam dados para a avaliação dos diferentes parâmetros utilizados na modelagem da dinâmica da LTA.

Agradecimentos

Os autores agradecem às sugestões e correções que contribuíram substancialmente para o aprimoramento deste trabalho. Ao Consejo de

Investigaciones da Universidad Nacional de Salta e ao Lab-Epifisma (projeto temático Fapesp), pelo financiamento parcial desse trabalho; ao Hospital Eva Perón; ao Programa de Enfermidades Dermatológicas de Interesse Sanitário (EDIS); à Dra. Gloria M. de Chalabe; ao Dr. Pablo Duran Rosas e às organizações que disponibilizaram os trabalhos de pesquisas e softwares sem custo algum, o que permitiu levar adiante este estudo. À Laura Valeria Vesga Gómez, pela colaboração na tradução do texto do espanhol para o português.

Referências bibliográficas

1. Programa Nacional de DTS e Aids. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento da co-infecção *Leishmania*-HIV. Serie A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2004.
2. Ministerio de Salud, Dirección de Epidemiología, Bs. As. Boletín Epidemiológico Nacional. 2000-2001.
3. Arroyo AR. Diagnóstico productivo del Departamento de Orán. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Orán 2004. Disponível em: <http://www.inta.gov.ar/yuto/info/documentos/extension/oran.pdf>.
4. Secretaria de Agricultura Ganadería, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Centro Regional Salta-Jujuy. Distribución geográfica de las lluvias en el Noroeste de Argentina (Región NOA).
5. Organización Panamericana de la Salud - Opas. Módulos de principios de epidemiología para el control de enfermedades. 2ª ed. Washington, DC. U3.84p. 2002.
6. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INDEC). Censo 2001. [Acesso em 30 novembro de 2007]. Disponível em: http://www.indec.gov.ar/censo200152_2.
7. Global Land Cover Facility do Institute for Advanced Computer Studies. [Acesso em setembro de 2007]. Disponível em: <http://www.landcover.org/siteMap.shtml>.
8. Multispec-3.1 Purdue Research Foundation. [Acesso em setembro de 2007]. Disponível em: <http://cobweb.ecn.purdue.edu/~biehl/MultiSpec/>.
9. Carneiro D, Bavia ME, Rocha W, Lobão J, Madureira Filho C, Oliveira JB, et al. Identificação de áreas de risco para LVA através de estudos epidemiológicos e sensoriamento remoto orbital, em Feira de Santana, Bahia, Brasil. Revista Baiana de Saúde Pública. 2004;28:19-32.
10. Diva-Gis [software]. [Acesso em 5 de dezembro de 2007]. Disponível em: <http://www.diva.gis.org/>.
11. Matlab. Disponível em: <http://www.mathworks.com>.
12. Dye C, Killick-Kendrick R, Vitutia MM, Walton R, Killick-Kendrick M, Harith AE, et al. Epidemiology of canine leishmaniasis: prevalence, incidence and basic reproduction number calculated from a cross-sectional serological survey on the island of Gozo, Malta. Parasitology. 1992;105:35-41.
13. Rosales JC, Yang HM. Estimación del número de reproducibilidad basal para la leishmaniasis tegumentar americana em localidades del Nordeste de Salta, Argentina. Cad Saúde Pública. 2007;23(11):2663-71.
14. Camargo-Neves VLF. A leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo: situação atual [boletim na internet]. Bepa. 2004;1(6):1-4. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa6_lva.htm.
15. Marco JD, Padilla MA, Diosque P, Fernández MM, Malchioldi EL, Basombrio MA. force of infection and evolutions of lesions canine tegumentary Leishmaniasis in Northwestern Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001;96(5):649-52.
16. Salomón OD, Sosa-Estani S, Canini L, Córdoba E. Leishmaniasis tegumentaria en un área con niveles epidémicos de transmisión, Salta, Argentina, 1998. Medicina. 2001;61(3):284-90.
17. Salomón OD, Rossi G, Spinelli GR. Ecological aspects of *Phebotomine* (Diptera, Psychodidae) in an endemic area of tegumentary leishmaniasis in the Northeastern Argentina, 1993-1998. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002;97(2):163-8.
18. Marco JD, Barroso PA, Calvopiña M, Kumasawa H, Furuya M, Korenaga M, et al. Species assignation of leishmania from human and canine ATL cases by multilocus enzyme electrophoresis in North Argentina. Am J Trop Med Hyg. 2005;72(5):606-11.

Correspondência/correspondence to:

Juan Carlos Rosales
Consejo de Investigaciones de La Universidad Nacional de Salta
Buenos Aires, 177 – Salta – Argentina
CP: 4400
Tel.: 54 387 4258612
E-mail: jrcsalta@yahoo.com.ar

Seção de Coleção de Culturas do Instituto Adolfo Lutz – 68 Anos de história dedicados à saúde pública

Culture Collection Departamento of the Adolfo Lutz Institute – 68 years of history dedicated to public health

Tânia Sueli de Andrade^{1*}, Lia Teixeira Bastos¹, Mônica C. Georgete Scola¹, Júlia M. M. Souza Felipe²

¹Seção de Coleção de Culturas, ²Divisão de Biologia Médica. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. São Paulo, SP

Recebido em 6/11/2008 – Aprovado em 26/11/2008

Resumo

A Seção de Coleção de Culturas do Instituto Adolfo Lutz (IAL) foi estabelecida em 1940. O acervo foi formado com o intuito de organizar linhagens isoladas e adquiridas pelos pesquisadores, como *Streptococcus* spp., enviados pela Dra. Rebeca Lancefield do Instituto Rockefeller, EUA; enterobactérias, doadas pelo Dr. Luiz R. Trabulsi, procedentes do CDC, EUA, outras 507 linhagens deste mesmo centro; *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. da Dinamarca, enviadas pelo Dr. Fritz Kauffmann; *Haemophilus* spp., enviadas pela Dra. Margareth Pittman, NIH, EUA, *Neisseria meningitidis* desta mesma instituição e outras do Centre International de Référence pour les Meningocoques, França; *Mycobacterium* spp., da Universidade de Osaka, Japão; cerca de 200 linhagens de *Leptospira* spp., da Argentina, provenientes do Instituto Pan-Americano de Proteção de Alimentos e Zoonoses (Opas); 308 do ATCC; 59 do NCTC; 14 da Colection de l'Institut Pasteur, França, e outras do INCQS, Brasil. Além das linhagens consideradas de referência, outras de importância para a saúde pública fazem parte do acervo: 336 de *Neisseria meningitidis* (epidemia brasileira de 1974); *Haemophilus aegyptius* (diagnóstico da febre purpúrica brasileira, 1986); linhagens de *Vibrio* causador da pandemia de cólera (Peru, 1991). Além de linhagens de protozoários: *Leishmania* sp e *Trypanosoma* sp e uma coleção de 120 fungos demácios. Atualmente, o acervo conta com 2.450 linhagens que são disponibilizadas para a comunidade científica (pesquisa de vacinas, anticorpos monoclonais), diagnósticos (produção do antígeno de Montenegro pela Seção, até 2005, diagnóstico de doença de Chagas, leptospirose e bartonelose) e também para uso industrial (controle biológico de insumos e produtos). Assim, o acervo da coleção de culturas do IAL constitui um banco genético de extrema importância para a área médica e industrial, além de fazer parte fundamental da história da saúde pública do Brasil.

Palavras-chave: coleção; culturas; microrganismos; antígeno; bactérias; fungos.

Abstract

The Culture Collection Section of the Adolfo Lutz Institute was established in 1940. The collection was formed for the purpose of organizing isolates acquired by researchers such as *Streptococcus* spp. sent by Dr. Rebeca Lancefield of the Rockefeller Institute, USA; *Enterobacteriaceae* family donated by Dr. Luiz R. Trabulsi from the CDC, USA, 507 others strains of the same center, *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. from Denmark sent by Dr. Fritz Kauffmann, *Haemophilus* spp. sent by Dra. Margareth Pittman, NIH, USA, *Neisseria meningitidis* of the same institution and the others of the Centre International de Référence pour les Meningocoques, France; *Mycobacterium* spp from Osaka University, Japan; about 200 strains of *Leptospira* spp from the American Institute for Food Protection and Zoonoses (PAHO); 308 of the ATCC; 59 of the NCTC, 14 of the Colection de l'Institut

Pasteur, France, and others of the INCQS, Brazil. Beyond strains of reference, others of importance to public health are part of the *acquis*: 336, *Neisseria meningitidis* (brazilian epidemic of 1974), *Haemophilus aegyptius* (diagnosis of Brazilian Purpuric Fever, 1986), strains of *Vibrio* that caused the pandemic of cholera (Peru, 1991). In addition to strains of protozoa: *Leishmania* sp e *Trypanosoma* sp and a collection of 120 fungi demacious. Currently, it has 2450 strains that are available to the scientific community (search for vaccines, monoclonal antibodies), diagnostics (production of antigen of Montenegro until 2005, diagnosis of Chagas disease, leptospirosis and bartonellosis) and industrial (biological control of input and products). Thus, the Cultures Collection of the IAL *acquis* is a genetic bank of extreme importance for medical and industrial area, and is a fundamental part of the history of public health in Brazil.

Key words: collection; culture; microorganisms; antigen; bacteria; fungi.

Os microrganismos representam uma imensa diversidade genética e desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas, como componentes fundamentais de cadeias de alimentos e ciclos geoquímicos; em contrapartida, também podem causar pandemias e epidemias.

Atualmente, com a evolução da biotecnologia e da engenharia genética, as chamadas coleções de culturas passaram a ter enorme valor comercial. Estima-se que a participação de produtos provenientes de microrganismos seja da ordem de US\$ 50 bilhões a US\$ 100 bilhões ao ano ou mais¹. Dessa forma, as coleções de cultura de microrganismos têm um papel fundamental no estudo e conservação dos recursos genéticos microbianos.

Existem diversos tipos de coleções, que são classificadas de acordo com atendimento prestado. Por exemplo: de trabalho, aquelas que são mantidas nos laboratórios dos pesquisadores e são utilizadas em linhas específicas de pesquisa (muitas vezes essas coleções são extintas quando os pesquisadores mudam de linha ou são desligados); institucional, a qual abastece diversas linhas de pesquisa de uma única instituição; e as coleções de serviços, que são assim denominadas porque possuem acervo abrangente, curadoria profissional e, por isso, têm papel fundamental na aquisição, caracterização taxonômica e tecnológica, manutenção e distribuição de microrganismos e células autenticadas para toda comunidade, sejam para fins industriais ou de pesquisa.

Segundo dados da World Federation for Culture Collections (WFCC)², encontram-se catalogadas 531 coleções de culturas distribuídas entre 63 países, sendo 146 subsidiadas pelos governos, 30 com

suplementação partilhada (governos/outros fomentos), 130 por universidades, 6 por indústrias e 18 coleções privadas. Desse total, 202 produzem catálogos de divulgação e ainda geram 2.803 empregos para as pessoas que trabalham nas coleções com 13.374.113 organismos. Entre as coleções privadas e governamentais, podem ser destacadas, respectivamente, a da American Type Culture Collection (ATCC) e National Collection of Type Cultures (NCTC); e uma mistura dos dois modelos de provimento, que é a Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ). Todas essas coleções são conhecidas internacionalmente e já trabalham com material certificado.

No Brasil existem coleções que atendem às áreas da saúde, indústria e agricultura. Poucas são organizadas e possuem estrutura que garantam o futuro da coleção, sendo a maioria chamada de coleções de trabalho, o que torna preocupante a possibilidade da perda desse patrimônio genético.

Nesse cenário, podemos destacar a Seção de Coleção de Culturas do Instituto Adolfo Lutz (IAL) – órgão vinculado à Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) –, também membro da WFCC, sob número 282, que fornece culturas para toda a comunidade desde 1940. O acervo de 2.450 linhagens começou a ser organizado por Filomena B. M. Jordão (curadora da coleção por mais de 25 anos), com o intuito de catalogar e manter diversas culturas isoladas pelos pesquisadores em seus laboratórios e outras adquiridas pelos mesmos em visitas científicas a outras coleções.

Desse modo, diversas linhagens importantes foram depositadas na coleção. São exemplos: a coleção de

Streptococcus spp. enviada pela Dra. Rebeca C. Lancefield, do Instituto Rockefeller, dos Estados Unidos, em 1964; a coleção de enterobactérias depositada pelo Dr. Luiz R. Trabulsi, que foi utilizada em diversos trabalhos do ilustre pesquisador desde a década de 1960³, e que também encontra-se depositada no Center Disease of Control and Prevention (CDC), de Atlanta, EUA (além dessas, diversas outras culturas também são procedentes do CDC, totalizando 507 linhagens desse centro); culturas de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. provenientes da Dinamarca, enviadas pelo Dr. Fritz Kauffmann; culturas de *Haemophilus* spp. enviadas pela Dra. Margareth Pittman, do Institute National of Health (NIH), Bethesda, EUA; culturas de *Neisseria meningitidis* dessa mesma instituição e outras provenientes do Centre d'Instruction et de Recherches du Service de Santé des Troupes de Marine Laboratoire de Recherches de Microbiologie (Centre International de Référence pour les Meningocoques), Marselha, França; culturas de *Mycobacterium* spp. recebidas da Universidade de Osaka, Japão; cerca de 200 linhagens de *Leptospiras* spp. provenientes do Instituto Pan-Americano de Proteção de Alimentos e Zoonoses da Organização Pan-Americana da Saúde (Opas), Argentina. Além dessas linhagens, a coleção conta com outras provenientes de coleções reconhecidas internacionalmente como centros de recursos biológicos, sendo 308 do American Type Culture Collection (ATCC), EUA; 59 do National Culture of Type Collection (NCTC), Londres, Inglaterra; 14 da Colection de l'Institut Pasteur (CIP), Paris. E outras provenientes de outros pesquisadores internacionais e coleções nacionais, como o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), ligado à Fundação Oswaldo Cruz.

A despeito das linhagens consideradas de referência, a coleção também possui importantes linhagens que foram introduzidas por seus pesquisadores em épocas importantes para a saúde pública, como segue.

- Durante a década de 1970 a cidade de São Paulo foi palco da maior epidemia meningocócica de que se tem notícia. Nessa época, o Instituto Adolfo Lutz ficou responsável pelo diagnóstico e monitoramento laboratorial da doença. Para tanto, diversas pesquisas foram desenvolvidas, e a necessidade de amostras controles foi muito importante: as linhagens de *Neisseria meningitidis* provenientes do CDC e da França, depositadas na coleção de culturas do IAL (depositadas pelo Dr. Gil V. A. Pessoa) foram utilizadas em trabalhos para otimizar e caracterizar antígenos

polissacarídeos⁴. Essas mesmas amostras e outras depositadas (336 provenientes de pacientes do Hospital Emílio Ribas) são utilizadas em pesquisas que avançaram e agora caminham para o desenvolvimento de novas técnicas diagnósticas, como na reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real^{5,6,7} e na produção de novas vacinas e anticorpos monoclonais^{8,9}.

- Entre 1984 a 1985 vários óbitos de crianças e adolescentes ocorridos nas cidades de Promissão, no Estado de São Paulo¹⁰, e Londrina, no Paraná¹¹, estavam sem solução; como o quadro clínico era semelhante à síndrome de Waterhouse-Friderichsen, o Centro de Referência Nacional de Meningites, localizado na Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, foi acionado e, em parceria com outros órgãos, como o Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac" (CVE/SES-SP) e o CDC (EUA), estabeleceu, em 1986, o diagnóstico da febre purpúrica brasileira, doença que ainda não tinha sido descrita e que tem como agente etiológico a bactéria *Haemophilus aegyptius*¹¹. Essas culturas também estão depositadas na Seção de Coleção de Cultura do IAL.
- Outra linha de pesquisa muito desenvolvida na instituição é o estudo da leptospirose, umas das mais importantes zoonoses do mundo. Novamente, a Seção de Coleção de Culturas do IAL pôde colaborar ao longo dos anos em diversos trabalhos com suas linhagens^{12,13,14,15,16,17}.
- Nas últimas décadas, com o surgimento da síndrome da imunodeficiência humana muitos microrganismos que raramente ou pouco causavam doenças graves passaram a ser considerados de grande preocupação na população imunodeprimida. Dentre eles, podemos citar o *Streptococcus pneumoniae*^{18,19,20,21} e *Rhodococcus equi*^{22,23,24}. Nesses casos, a Seção de Coleção de Culturas do IAL pôde colaborar como fornecedora no primeiro caso e depositária no segundo, recebendo e mantendo linhagens de *Rhodococcus equi* vindas de Ontário, Canadá, enviadas pelo Dr. John F. Prescott, e do Istituto di Sanità, Universidade La Sapienza, Roma, Itália, enviadas pelo Dr. Cláudio Mastroianni, além das linhagens obtidas dos pacientes e animais envolvidos no projeto.

- Outro grande problema de saúde pública é doença transmitida por água e alimento (DTAA). O grupo coordenado pela Dra. Elisabeth N. Gaspari^{25,26,27} tem desenvolvido anticorpos monoclonais para aplicação em técnicas imunológicas para detecção das bactérias *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio cholerae* O1 e toxinas Stx1 e Stx2 em alimentos. Essas linhagens utilizadas pelo grupo também fazem parte do acervo da Seção. A coleção também possui linhagens de *Vibrio* causador da pandemia de cólera que se iniciou no Peru em 1991 e atingiu 25 países da América Latina, incluindo o Brasil.
- Mais recentemente, a Seção de Coleção de Culturas pôde colaborar com pesquisadores da Seção de Riquetsias do IAL, fornecendo culturas de *Bartonella henselae* Houston, provenientes da França, que foram utilizadas para confecção de lâminas para diagnóstico de bartoneloses por imunofluorescência indireta, dispensando, assim, o uso de kits comerciais importados.
- Um dos últimos depósitos recebidos pela Seção de Coleção de Culturas foi de linhagens de *Mycobacterium massiliense*, oriundas do Paraná e relacionadas com surto ocorrido em vários Estados brasileiros. Essas linhagens foram recebidas e identificadas por pesquisadores do Setor de Micobactérias da Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz.

Apesar da coleção ser basicamente composta por bactérias, também possui em seu acervo linhagens de protozoários, como *Leishmania* sp, utilizada para produção do antígeno de Montenegro pela Seção²⁸, o qual foi fornecido por 30 anos para todo o Brasil e alguns países da América Latina. Outra linhagem de protozoário pertencente à coleção é de *Trypanosoma* sp linhagem Y, que é utilizada pela Seção de Sorologia do IAL para realizar diagnóstico de doença de Chagas²⁹. Linhagens de fungos também estão presentes no acervo, sendo que recentemente foi depositada uma coleção de 120 fungos demácios^{30,31}.

Além de fornecer linhagens para pesquisa, a Seção de Coleção de Culturas do IAL também oferece outros serviços. Entre eles, a produção de cadarços com linhagens de *Geobacillus stearothermophilus* e *Bacillus subtilis* para controle de esterilidade de autoclaves e estufas de esterilização de toda a Instituição; liofilização de diferentes amostras (microrganismos, soros, complemento para diagnóstico da doença de Chagas e antígenos)³² e, principalmente, depósitos de linhagens utilizadas em diagnósticos e trabalhos científicos, além de realizar permutas de microrganismos com coleções nacio-nais e internacionais. Todos esses serviços também são oferecidos para instituições privadas, e têm como parceiros indústrias, laboratórios particulares e universidades, entre outros.

Atualmente, a Seção conta com sete funcionários capacitados e treinados, sendo Lia Teixeira Bastos (37 anos dedicados à Seção) a curadora e grande responsável pela manutenção desse impressionante acervo.

Por todas essas ações, a Coleção de Culturas do IAL é classificada como coleção de serviço, pois atua como centro de conservação e distribuição de material biológico autenticado. O acervo da coleção de culturas do IAL constitui um banco genético de extrema importância para a área médica e industrial, além de fazer parte fundamental da história da saúde pública do Brasil. Por isso, foi incluída como meta do Instituto Adolfo Lutz no Plano Estadual de Saúde 2008-2011, no Eixo de Melhoria Diagnóstica dentro do Projeto de Aprimorar a Rede Laboratorial de Saúde Pública, Programa de Riscos e Agravos Prioritários com o Subprojeto "Certificações de Coleções Estabelecidas".

Agradecimentos

Em especial, aos funcionários da Seção de Coleção de Culturas: Maria Neila de Souza Prata, Cleonice Pechi, Dra. Maricy A. Ribeiro e Denis Dionisio dos Santos, pelos trabalhos realizados, e Dra. Maria das Graças Alkmin, pela valiosa colaboração no desenvolvimento da Seção.

Referências bibliográficas

1. Brasil. Ministério da Ciência e Tecnologia. Sistema de Avaliação de Conformidade de Material Biológico. Brasília, SENAI/DN, 2002. 102p.
2. World Federation for Culture Collections (WFCC) – Disponível em: <http://wdcm.nig.ac.jp/wfcc/>.
3. Bastos LT, Scola MCG, Santos DD, Felipe JMMS, Andrade TS. Avaliação da coleção de enterobactérias da Seção de Coleção de Culturas do Instituto Adolfo Lutz pelo sistema de identificação BBL CRYSTAL™ – Resultados parciais. Anais do II Simpósio Nacional de Coleções Científicas; setembro de 2008; Rio de Janeiro, p. 31.
4. Carbonare SB, Takeda AT, Jordão FBM, Taunay AE. Especificidade imunológica dos polissacarídeos extraídos de diferentes grupos de *Neisseria meningitidis*. Rev Inst Adolfo Lutz. 1974;34:119-25.
5. Ferraz AS, Belo EFT, Coutinho LMCC, Oliveira AP, Carmo AMS, Franco DL, et al. Storage and stability of IgG and IgM monoclonal antibodies dried on filter paper utility in *Neisseria meningitidis* serotyping by Dot-blot ELISA. BCM Infect. Dis. 2008;8:30. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/8/30>.
6. Mothershed EA, Sacchi CT, Whitney AM, Barnett GA, Ajello GW, Schmink S, et al. Use of real time PCR to resolve slide agglutination discrepancies in serogroup identification of *Neisseria meningitidis*. J Clin Microbiol. 2004;42:320-8.
7. Lemos AP, Yara TY, Gorla MC, Paiva MV, Souza AL, Gonçalves MI, et al. Clonal distribution of invasive *Neisseria meningitidis* serogroup C strains circulating from 1976 to 2005 in greater São Paulo, Brazil. J Clin Microbiol. 2007;45:1266-73.
8. Ewin AL, Sandsted SA, Bonthuis PJ, Geelhood JL, Nelson KL, Unrath WC, et al. Analysis of genetic relatedness influenzae isolates by multilocus sequence typing. J Bacteriol. 2008;190:1473-83.
9. Carmo A, Gaspari N. Immunogenicity of intranasally administered Class 5C Protein of *Neisseria meningitidis*. Clinical Immunology. 2006;sup. 119.
10. Brazilian purpuric fever study group. Brazilian purpuric fever: epidemic purpura fulminans associated with antecedent purulent conjunctivitis. Lancet, 2:757-61, 1987.
11. Tondella MLC, Brandileone MCC, Vieira VSD, Zanela RC, Taunay AE. Atuação do Instituto Adolfo Lutz na investigação laboratorial da febre purpúrica brasileira. In: Antunes JLF, Nascimento CB, Nassi LC, Pregnotatto N P, organizadores. Instituto Adolfo Lutz – 100 anos do Laboratório de Saúde Pública. São Paulo: Letras e Letras, 1992. p. 255-71.
12. Gomes LS, Corrêa MOA, Jordão FM. Incidência das leptospiroses humanas em São Paulo. Rev Inst Adolfo Lutz. 1950;10:93-109.
13. Gomes LS, Ribas JC, Corrêa MOA, Jordão FM. Incidência da leptospira em ratos nas cidades de São Paulo e Santos. Rev Inst Adolfo Lutz. 1950;10:93-109.
14. Petrella SMCN, Catroxo M, Cury N, Camargo E, Scola M, Bastos L. Aplicação das técnicas de imunomicroscopia eletrônica (ISEM e Decoração) para detecção rápida e melhor visualização da leptospira. IV encontro do Instituto Adolfo Lutz – Encontro Nacional dos Laboratórios de Saúde Pública. 15 a 18 de outubro de 2001, São Paulo.
15. Camargo E, Spinosa C, Bastos L, Abrão RV. Estudo comparativo entre dois diferentes antígenos empregados no Elisa-IGM para diagnóstico da Leptospirose humana. IV encontro do Instituto Adolfo Lutz – Encontro Nacional dos Laboratórios de Saúde Pública. 15 a 18 de outubro de 2001, São Paulo.
16. Ribeiro MA, Nishida SK, Lombardini MT, Vieira JGH, Camargo ME, Camargo ED, et al. Monoclonal antibodies applied to leptospiral immunodiagnosis: Preliminary results. V Encontro do Instituto Adolfo Lutz – Encontro Nacional dos Laboratórios de Saúde Pública. 15 a 18 de outubro de 2001, São Paulo.
17. Romero EC, Yasuda PH. Molecular characterization of *Leptospira* sp strains isolated from human subjects in São Paulo, Brazil using a polymerase chain reaction – based assay: a public health tool. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006;1001(4):373-8.
18. Lima TS, Scola MCG, Brandão A, Xavier DHM, Ribeiro, GMF, Bellinati-Pires R. Influência do complemento presente nas amostras de soros de indivíduos imunizados contra *S. pneumoniae* nos ensaios de fagocitose e morte bacteriana por neutrófilos humanos. 2º Congresso de Infectologia do Cone Sul, 2 a 4 de dezembro de 2004.
19. Lima TS, Brandão A, Scola MCG, Oliveira, CAF, Xavier, DHM, Bellinati-Pires R. O papel do complemento endógeno em amostras de soro de indivíduos imunizados contra *Streptococcus pneumoniae* na opsonização, fagocitose e morte dos sorotipos 14, 1 e 6B da bactéria. 14 Congresso Brasileiro de Infectologia; 26 a 30 de novembro de 2005.
20. Lima TS, Scola MCG, Brandão A, Bellinati-Pires R. Avaliação funcional de soros imunes contra *S. pneumoniae* na fagocitose e morte dos sorotipos 14, 1 e 6B da bactéria por neutrófilos humanos. Anais do XLI Congresso da Sociedade Brasileira