

## FUENTES DE INFECCION DE HISTOPLASMOSIS EN LA ISLA DE LA JUVENTUD, CUBA

Carlos Manuel FERNANDEZ ANDREU (1) & Gerardo MARTINEZ MACHIN (1)

### RESUMEN

El propósito del presente trabajo es reportar el aislamiento de *Histoplasma capsulatum*, agente etiológico de la histoplasmosis, a partir del suelo de lugares habitados por murciélagos y gallinas en la Isla de la Juventud, Cuba. El hongo fue cultivado también a partir de los órganos de cuatro especies de murciélagos capturados en cuevas. La identificación de *H. capsulatum* se realizó mediante la conversión de la fase miceliana a levadura y por el test de exoantígenos. Se señala el valor epidemiológico de estos hallazgos en cuevas de gran importancia arqueológica, espeleológica y turística, así como el riesgo potencial que representan para la salud humana. Los autores concluyen con recomendaciones para evitar la infección por *H. capsulatum* en aquellas personas que por determinadas razones tengan que estar en contacto con estos ambientes contaminados.

**UNITERMOS:** *Histoplasma capsulatum*; Histoplasmosis; Fuentes de infección; Aislamientos del suelo.

### INTRODUCCION

La histoplasmosis comienza a ser estudiada en Cuba en 1951 con los reportes de SANGUILY et al. y BARQUET et al.<sup>20,3</sup>. A partir de 1952 se realizan diferentes encuestas epidemiológicas empleando la prueba intradérmica de histoplasmina, con cifras de reactores de hasta 20% entre individuos que habían afirmado no haber estado en contacto con posibles fuentes de infección definidas (cuevas, criaderos de aves, etc). Se han estudiado varios brotes de histoplasmosis entre militares y grupos de estudiantes que habían entrado en cuevas, obteniéndose una positividad en estos casos entre 24 y 100%<sup>13,16</sup>.

En 1975 FONT et al. lograron, por primera vez en Cuba, el aislamiento de *Histoplasma capsulatum*, agente etiológico de la histoplasmosis, a partir de muestras de suelos de diferentes cuevas de la provincia de La Habana<sup>12</sup>. FONT y MACOLA, en 1976, aislaron el hongo de las vísceras de murciélagos pertenecientes a cuatro especies y realizaron determinaciones serológicas en ganado de la provincia de La Habana<sup>11,16</sup>.

Los estudios de esta micosis en la Isla de la Juventud comenzaron a partir de los aislamientos del agente etiológico en dos cuevas del sur; poste-

riormente, se informaron dos casos de histoplasmosis asociados a trabajos de campo en cuevas de la zona este y se han realizado también aislamientos a partir de quirópteros<sup>6,7,8,10</sup>.

El presente trabajo tiene como objetivo presentar, de manera integrada, los estudios sobre posibles fuentes de infección de histoplasmosis realizados en la Isla de la Juventud, Cuba, en el período comprendido entre 1982 y 1990.

### MATERIALES Y METODOS

El municipio Isla de la Juventud (antes de 1978, Isla de Pinos) se encuentra ubicado al sur de las provincias de La Habana y Pinar del Río, en el Occidente de Cuba, entre los 21°26'18" y los 21°56'36" de latitud Norte y entre los 82°32'24" y los 83°11'24" de longitud Oeste. Tiene una extensión de unos 2.230 km<sup>2</sup> y una población de aproximadamente 60.000 habitantes. Su capital, Nueva Gerona, es su principal centro urbano y se encuentra situada al norte, en las márgenes y muy próxima a la desembocadura del río Las Casas. El segundo poblado en importancia es La Fe, al centro del territorio; otros poblados menores se localizan en las zonas norte, centro y oeste, mientras que en las regiones sur y este la población, rural en casi su totalidad, se encuentra más dispersa. Precisamente

(1) Laboratorio de Micología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourf", Apdo Postal 601, La Habana, Cuba.

son las zonas sur y este las que presentan un potencial turístico mayor por sus bellezas naturales y sus valores arqueológicos. La actividad económica fundamental de la región es el cultivo de cítricos, así como la ganadería y la pesca<sup>1</sup>.

Con el objetivo de conocer la presencia de *H. capsulatum* mediante su aislamiento, fueron estudiados diferentes habitats de murciélagos y de aves (gallinas) distribuidos por todo el municipio.

### Cuevas

Fueron estudiadas 12 cuevas, agrupadas, según su localización, de la siguiente forma:

- Tres cuevas en las proximidades de Nueva Gerona, conocidas como Cueva del Abra, Cueva de la Higuera y Cueva del Agua.

- Tres cuevas en la costa sur de la Isla, en una zona rural con un pequeño poblado semiurbano, conocido como Cocodrilo (Cueva de Cocodrilo, Cueva de los Murciélagos de Pedernales y Cueva de Carapachibey).

- Gruta Grande de Santa Isabel, en la región centro-oeste.

- Cueva de la Sigüanea, en la zona centro-oeste.

- Cuatro cuevas en la zona de Punta del Este, en el extremo oriental de la Isla de la Juventud, en un área de interés turístico y arqueológico, alejada de los centros urbanos. Estas cuatro cuevas se encuentran numeradas del 1 al 4.

### Otros habitats:

- Gallineros: Tres en el poblado de Cocodrilo y dos en la zona de Maniadero, al centro-oeste de la isla, además de una granja avícola en Nueva Gerona.

- Una construcción abandonada en la carretera de Júcaro, en la parte oriental, formada por paredes de bloques, en cuyo interior habitaban murciélagos, lo que daba lugar a la acumulación de guano en los alrededores de las mismas.

- Palmas "barrigonas" (*Colpothrinax wrightii*), en la zona de Maniadero, cuyos troncos huecos servían de refugio a los murciélagos.

La localización aproximada de cada uno de estos lugares se encuentra señalada en la Figura 1.

### Murciélagos:

Fueron capturados 230 murciélagos en las cuevas antes mencionadas y fueron clasificados por especies según SILVA TABOADA<sup>21</sup>.

### Método:

De cada uno de los lugares antes mencionados se tomaron muestras del suelo, conteniendo tierra y excretas de murciélagos o aves. A cada una de ellas se le hizo observación microscópica directa con lactofenol-azul de algodón. Posteriormente, se prepararon suspensiones de las muestras con penicilina (8,000 U/ml) y estreptomina (2 mg/ml) en solución salina estéril. Con cada una de estas suspensiones se inocularon 10 ratones por vía intraperitoneal. A las cuatro semanas se sacrificaron y los fragmentos de hígado y bazo de cada animal fueron macerados y sembrados separadamente en agar Sabouraud con cloranfenicol y cicloheximida, manteniéndose a temperatura ambiente (25-28°C) durante 8 semanas. De la misma forma fueron procesados los hígados, pulmones y bazos de cada uno de los murciélagos capturados<sup>2,4,7,8</sup>.

La confirmación de las cepas obtenidas se realizó mediante la conversión a la fase levaduriforme en el medio de agar glucosa cisteína con 10% de sangre de carnero y el test de exoantígenos<sup>2,9,14,15</sup>.

## RESULTADOS

En la Tabla 1 se observan los resultados obtenidos a partir de las muestras del suelo estudiadas. A la primera semana, y como promedio a los 10 días, comenzó a observarse la aparición de pequeñas colonias blancas, filamentosas, de crecimiento muy lento; al microscopio se pudieron apreciar hifas hialinas, microconidias lisas, piriformes y redondas, y macroconidias que al principio eran de superficie lisa y aproximadamente a la segunda semana ya presentaban el aspecto tuberculado típico de *H. capsulatum*. El hongo fue aislado en 7 de las cuevas y en la construcción abandonada, así como en gallineros domésticos en la localidad de Cocodrilo. Aparecen además, los resultados de los exámenes microscópicos directos de cada una de las muestras, así como la conversión a fase levaduriforme y el test de exoantígenos.

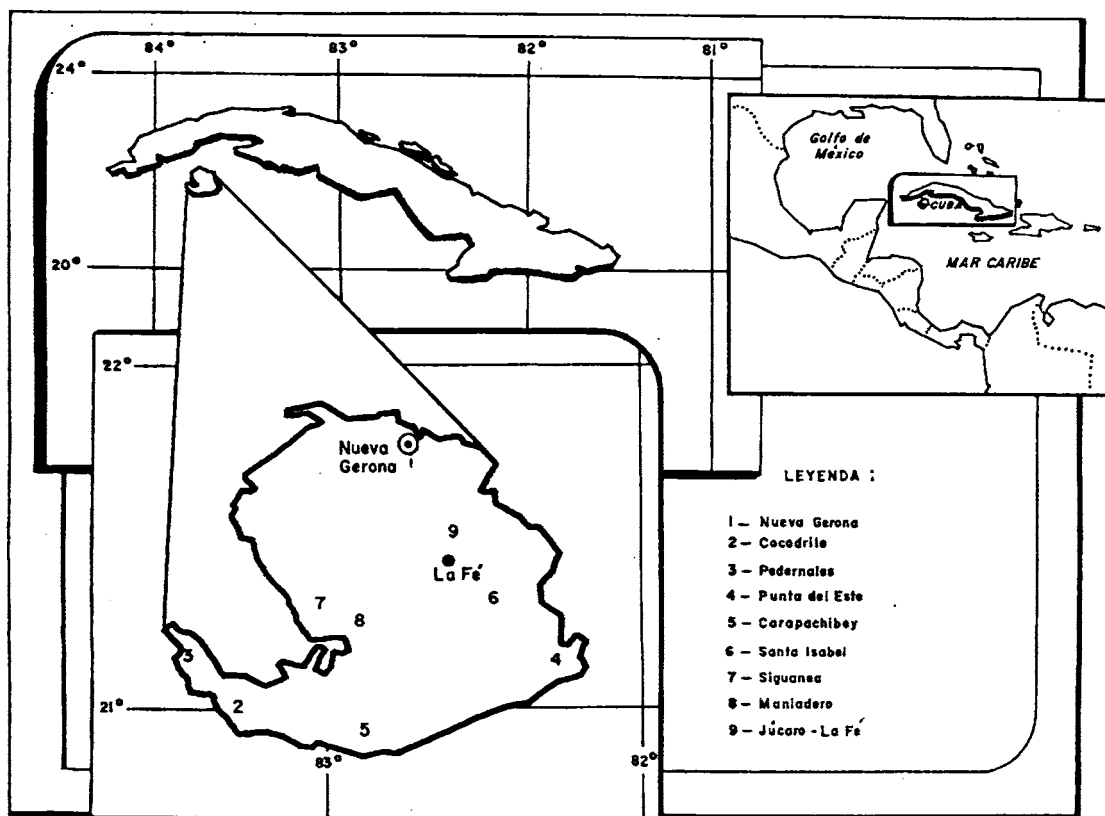


Figura 1. Localización aproximada de las regiones estudiadas en la Isla de la Juventud, Cuba.

Tabla 1

Aislamientos de *Histoplasma capsulatum* obtenidos a partir de las muestras del suelo

Origen de las muestras	E.D.	C.	C.F.L.	T.E.
<b>- Cuevas:</b>				
1. Abra (Nueva Gerona)	+	-	NR	NR
2. Higuera (Nueva Gerona)	+	-	NR	NR
3. Agua (Nueva Gerona)	-	-	NR	NR
4. Cocodrilo	+	+	+	+
5. Pedernales	+	+	+	+
6. Santa Isabel	-	+	+	+
7. Carapachibey	+	+	-	+
8. Siguanea	-	-	NR	NR
9. Punta del Este 1	-	-	NR	NR
10. Punta del Este 2	+	+	+	+
11. Punta del Este 3	+	+	+	+
12. Punta del Este 4	+	+	+	+
- Construcción abandonada	+	+	+	+
- Palmas "barrigonas"	+	-	NR	NR
<b>- Gallineros:</b>				
1. Cocodrilo	+	+	-	+
2. Maniadero	-	-	NR	NR
3. Nueva Gerona	-	-	NR	NR

NR: No se realizó; E.D.: Examen directo; C.: Cultivo; C.F.L.: Conversión a fase levaduriforme; T.E.: Test de exoantígeno.

Los murciélagos capturados pertenecían a 12 especies, en 12 ejemplares de 4 de estas especies se logró aislar el hongo a partir de sus vísceras (hígado, pulmones y bazo) (Tabla 2).

### DISCUSION

La observación microscópica de muestras de suelos es un paso importante, pero en ningún caso definitorio en la búsqueda de posibles fuentes de infección por *H. capsulatum*, ya que, como es sabido, existen especies de hongos saprófitos de los géneros *Chrysosporium*, *Arthroderma* y *Sepedonium* cuya micromorfología es muy similar a la de *H. capsulatum* y pudieran confundirse<sup>2,7,8,15,19</sup>. En la Tabla 1 aparecen tres casos que se corresponden con lo planteado anteriormente, es decir, muestras con exámenes directos que sugerían la presencia de *H. capsulatum* a partir de las cuales no se obtuvo crecimiento y, por el contrario, aparece un caso en que se obtuvo el cultivo siendo el examen directo negativo.

No fue aislado *H. capsulatum* a partir del guano acumulado en el interior y los alrededores de los troncos huecos de las palmas "harrigonas" (*C. wrightii*). Esto pudiera deberse a la existencia de una rica entomofauna y acarofauna en este guano, las cuales pudieran afectar la viabilidad o supervivencia del hongo.

La presencia de *H. capsulatum* en gallineros es bien conocida desde los trabajos iniciales de

EMMONS<sup>5</sup>; sin embargo, en Cuba, hasta el momento sólo se habían reportado los aislamientos de este patógeno a partir de microfocos relacionados siempre con murciélagos, pero no con aves, por lo que este hallazgo, en gallineros domésticos, adquiere importancia como fuente de infección de posibles microepidemias familiares<sup>5,23</sup>.

En la literatura revisada no han sido hallados reportes previos de *H. capsulatum* en murciélagos de la especie *Macrotus waterhousei minor*. Este también es el primer reporte, en Cuba, de aislamiento de *H. capsulatum* a partir de la especie *Tadarida brasiliensis muscula*. En trabajos anteriores, FONT y MACOLA (1976) ya habían informado el aislamiento en las otras dos especies (*Brachyphylla nana nana* y *Artibeus jamaicensis parvipes*)<sup>11,16</sup>. Los murciélagos desempeñan un importante papel en la epidemiología de la histoplasmosis, y aunque no existe transmisión directa del animal al hombre, ellos crean las condiciones adecuadas para el desarrollo saprofito de *H. capsulatum*<sup>6,17</sup>.

Uno de los resultados de este estudio que más llama la atención ha sido el hallazgo de *H. capsulatum* en un ambiente abierto y bajo la incidencia directa del sol, en una construcción abandonada, habitada por murciélagos, sitio "improbable" según algunos autores que aseguran que este hongo debe buscarse en los lugares más oscuros e internos de las cuevas. Desde el punto de vista epidemiológico, este hecho reviste gran importan-

Tabla 2

Aislamientos de *Histoplasma capsulatum* obtenidos a partir de los murciélagos capturados

Especies	Total	C.	C.F.L.	T.E.
1. <i>Artibeus jamaicensis parvipes</i>	114	6	4	6
2. <i>Tadarida brasiliensis muscula</i>	20	2	2	2
3. <i>Phyllonycteris poeyi</i>	18	0	-	-
4. <i>Pteronotus parnelli parnelli</i>	17	0	-	-
5. <i>Brachyphylla nana nana</i>	16	3	3	3
6. <i>Pteronotus quadridens quadridens</i>	15	0	-	-
7. <i>Pteronotus macleayii macleayii</i>	15	0	-	-
8. <i>Natalus lepidus</i>	8	0	-	-
9. <i>Macrotus waterhousei minor</i>	3	1	1	1
10. <i>Eptesicus fuscus dutertrei</i>	2	0	-	-
11. <i>Mormoops blainvillei</i>	1	0	-	-
12. <i>Monophyllus redmani clinedaphus</i>	1	0	-	-
Total	230	12	10	12

C.: Cultivo; C.F.L.: Conversión a fase levaduriforme; T.E.: Test de exoantígenos.

cia ya que pudiera aclarar el origen de los brotes erróneamente asociados en algunos casos, a cuevas o ambientes cerrados y, en otros casos, de origen desconocido<sup>15,19</sup>.

Resulta interesante señalar el hecho de que todas las cuevas en que se encontró *H. capsulatum* estaban ubicadas en las zonas sur y este de la Isla de la Juventud, de gran interés desde el punto de vista arqueológico, espeleológico y turístico. Debido a la endemidad que parece tener la histoplasmosis en Cuba, y en particular en la Isla de la Juventud, queremos llamar la atención sobre la imperiosa necesidad de tomar el máximo de precauciones por parte de la población que por determinadas razones tenga adentrarse en cuevas contaminadas con *H. capsulatum*.

En primer lugar es importante que las autoridades competentes conozcan cuáles son dichas cuevas en cada región. En muchos casos la medida más efectiva ha sido la clausura de la cueva o limitar el acceso a la misma mediante la colocación de avisos consignando el riesgo que ellas representan. Igualmente, se hace necesario divulgar las medidas de protección o bioseguridad, entre las cuales las más importantes son evitar por todos los medios la formación de aerosoles a partir del suelo o las paredes y el uso de máscaras protectoras<sup>14,10,19</sup>. En el tratamiento de los suelos se han ensayado diferentes agentes químicos, siendo el más efectivo el uso de formalina al 3%, que logra eliminar al hongo al menos de manera temporal<sup>22</sup>. Sin embargo, este tratamiento puede afectar considerablemente la fauna y la flora del área, por lo que debe ser aplicado después de un detallado estudio ecológico.

### SUMMARY

#### Sources of infection of histoplasmosis in the Island of Youth, Cuba.

The purpose of this work is to report the isolation of *Histoplasma capsulatum*, etiologic agent of histoplasmosis, from soil in sites inhabited by bats and chicken in the Island of Youth, Cuba. The fungus was cultured from four species of cavedwelling bats too. The identification of *H. capsulatum* was done by mycelial to yeast conversion and exoantigen test. It is pointed out the epidemiological value of some of these isolations in caves of great importance from the archeologic, speleologic or touristic point of view; and the po-

tential risk that they represent to human health. The authors conclude with some recommendation to prevent the infection with *H. capsulatum* in people who have to keep in contact with those environments.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ATLAS DE CUBA. - Instituto Cubano de Geodesia y Cartografía. La Habana, 1978.
2. BALOWS, A. & HAUSLER, W.J. - *Diagnostic procedures for bacterial, mycotic and parasitic infections*. 6ª ed. Washington, Amer. Pub. Health Ass. Inc., 1981. p. 957-965.
3. BARQUET-CHEDIAK, A.; CHEDIAK, M. & MAGRÑAT, G. - Histoplasmosis. Resumen de la enfermedad. Presentación de un caso diagnosticado por punción ganglionar. *Rev. KUBA*, 7: 135-143, 1951.
4. BONIFAZ, A. - *Micología Médica Básica*. México, D.F., Ed. Méndez Cervantes, 1990. p. 235-250.
5. EMMONS, C.W.; BINFORD, C.H.; UTZ, J.P. & KWON-CHUNG, K.J. - *Medical Mycology*. 3ª ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1977. p. 305-341.
6. FERNANDEZ ANDREU, C. - Aislamiento de *H. capsulatum* en murciélagos en Cuba. *Rev. cuba. Med. trop.*, 40: 36-43, 1988.
7. FERNANDEZ ANDREU, C. & LOPEZ ABRAHAM, A.M. - Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* en la Isla de la Juventud. *Rev. cuba. Med. trop.*, 36: 297-304, 1984.
8. FERNANDEZ ANDREU, C. & LOPEZ ABRAHAM, A.M. - Confirmación diagnóstica mediante el cultivo del agente causal en dos casos de histoplasmosis ocupacional. *Rev. cuba. Med. trop.*, 38: 32-37, 1986.
9. FERNANDEZ ANDREU, C.; VILARRUBIA MONTES DE OCA, O.L.; MARTINEZ MACHIN, G. & ORAMAS RODRIGUEZ, B. - Utilización de exoantígenos para la identificación de *Histoplasma capsulatum*. *Rev. cuba. Med. trop.*, 42: 272-278, 1990.
10. FERNANDEZ LLANES, R.; FERNANDEZ ANDREU, C. & FUENTES GONZALEZ, O. - Riesgo biológico asociado a trabajos de campo: Informe de dos casos de histoplasmosis. *Rev. cuba. Med. trop.*, 39: 61-68, 1987.
11. FONT D'ESCOUBET, E. & MACOLA OLANO, S. - *Histoplasma capsulatum*: aislamiento de murciélagos en Cuba. *Rev. cuba. Med. trop.*, 28: 119-125, 1976.
12. FONT D'ESCOUBET, E.; MACOLA OLANO, S. & CHANG PUGA, M. - Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* del medio en Cuba. *Rev. cuba. Med. trop.*, 27: 115-127, 1975.
13. GONZALEZ OCHOA, E. - Información sobre los estudios de histoplasmosis en Cuba. *Rev. cuba. Hig. Epidem.*, 21: 210-214, 1983.

14. KAUFMAN, L. & STANDARD, P.G. - Specific and rapid identification of medically important fungi by exoantigen test. *Ann. Rev. Microbiol.*, 41: 209-225, 1987.
15. KONEMAN, E.W. & ROBERTS, G.D. - *Micología. Práctica de Laboratorio*. 3ª ed. Buenos Aires, Ed. Médica Panamericana, 1987. p. 141-143.
16. MACOLA OLANO, S. & FONT D'ESCOUBET, E. - Valor de la prueba de inmunodifusión doble en el diagnóstico de la histoplasmosis animal. *Rev. cuba. Med. trop.*, 29: 81-84, 1977.
17. McMURRAY, D.N. & RUSSELL, L.H. - Contribution of bats to the maintenance of *Histoplasma capsulatum* in a cave microfocus. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 31: 527-531, 1982.
18. NOCEDO POUS, B.; PRINCE BARO, A. & FERRERONS ACEVEDO, F. - Contribución al estudio de la epidemiología de la histoplasmosis en Cuba. *Rev. cuba. Med.*, 4: 143-178, 1965.
19. RIPPON, J.W. - *Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*. 2ª ed. Philadelphia, W.B. Saunders Co., 1982. p. 342-379.
20. SANGUILY, J.; FERNANDEZ FERRER, O. & LEON BLANCO, F. - Histoplasmosis en Cuba. Reporte de un caso con breve revisión de la literatura. *Arch. Soc. Estud. clín. Habana*, 44: 1-44, 1951.
21. SILVA TABOADA, G. - los Murciélagos de Cuba. La Habana, Ed. Academia, 1979. p. 45-64.
22. UTZ, J.P. - Histoplasmosis. In: HOEPRICH, P.D. - *Tratado de Enfermedades Infecciosas*. La Habana, Ed. Científico-Técnica, 1982. p. 383-388.
23. ZANCOPE-OLIVEIRA, R.M. & WANKE, B. - Distribuição das fontes de infecção *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* em Rio da Prata - Município do Rio de Janeiro, (RJ). *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 29:243-250, 1987.

Recebido para publicação em 29/7/1991  
Aceito para publicação em 22/7/1992