

DISTRIBUIÇÃO DAS FONTES DE INFECÇÃO DO HISTOPLASMA CAPSULATUM VAR. CAPSULATUM EM RIO DA PRATA — MUNICÍPIO DO RIO DE JANEIRO (RJ) (1)

Rosely M. ZANCOPE-OLIVEIRA (2) & Bodo WANKE (2)

RESUMO

Os Autores demonstram o índice de contaminação do solo pelo *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, na localidade de Rio da Prata, área periurbana com características rurais, do Município do Rio de Janeiro. A análise de 111 amostras do solo coletadas em diferentes locais determinou 8 (7,2%) amostras positivas, todas obtidas de galinheiros, em um dos quais também foi observado guano de morcegos. O elevado nível de contaminação do solo nesta região pode ser comparado aos níveis observados em áreas endêmicas de histoplasmose nos EUA.

UNTERMOS: Histoplasmose; *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*; Fontes de infecção; Isolamento do solo; Epidemiologia.

INTRODUÇÃO

O mecanismo de transmissão e a fonte de infecção da histoplasmose ficaram desconhecidos por vários anos após sua descoberta por DARLING⁶, pensando-se inicialmente haver participação de alguns animais no ciclo epidemiológico desta micose, seja como reservatórios ou como transmissores do fungo⁷.

O *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* tem o solo como seu habitat natural⁸, onde cresce saprofiticamente sob forma filamentosa. Têm-se demonstrado através de amplos estudos ecológicos, que verdadeiros reservatórios deste fungo são formados no meio ambiente, atuando como fontes de infecção a homens e animais. Outros estudos realizados em muitas partes do mundo forneceram informações interessantes sobre a epidemiologia da histoplasmose. Verificou-se que alguns fatores determinam a distribuição focal do *H. capsulatum* var. *capsulatum* em natureza, ge-

ralmente havendo associação do seu isolamento com microambientes abrigados como cavernas, construções abandonadas, galinheiros, árvores ou quaisquer outros locais onde o solo possa estar enriquecido com fezes de morcegos, galinhas e outras aves gregárias^{2,3,5,15,25,30,31}, além de apresentarem condições de temperatura e umidade ideais à sobrevivência deste agente.

A ocorrência da histoplasmose no Brasil tem sido demonstrada através da observação de casos clínicos autóctones, seja sob a forma de casos isolados ou sob a forma de micro-epidemias, e da realização de inquéritos epidemiológicos com o teste cutâneo da histoplasmina^{14,17,20,21,26,27}. Entretanto, o nicho ecológico do *H. capsulatum* var. *capsulatum*, suas características e distribuição têm sido pouco estudadas em nosso País. A Tabela I

(1) Trabalho realizado com auxílio do CNPq (Proc. n.º 40.0.373/79).

(2) Laboratório de Micologia — Hospital Evandro Chagas, Instituto Oswaldo Cruz — FIOCRUZ, Caixa Postal 926, CEP 20.010 Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

resume os isolamentos deste fungo de amostras de solo de várias regiões brasileiras, a maioria obtida de locais adubados com excretas de galinhas e ou morcegos.

T A B E L A I
Isolamentos de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* de solos descritos no Brasil

Localidade	Associação com aves ou morcegos	Amostras examinadas	Amostras positivas	Referência
Jacobina, BA	Galinheiros	50	1	Silva (24)
Ubatuba/Caraguatuba, SP	Fezes de morcegos	1	1	Fava Netto et al (10)
Lagoa Santa, MG	Galinheiro	2	1	Araújo (4)
Brasília, DF	Fezes de morcegos	15	2	Schmidt et al (22)
Humboldt, MT	Galinheiro	6	1	Moraes & Almeida (19)
Angra dos Reis, RJ	Galinheiro	2	2	Wanke (26)
	Fezes de morcegos	4	2	
São Gonçalo, RJ	Fezes de morcegos	7	5	Wanke (26)
Petrópolis (Itaipava), RJ	Fezes de morcegos (2 cavernas)	18	13	Wanke (26)
Niterói (Rio do Ouro), RJ	Fezes de morcegos	5	3	Wanke (26)
General Câmara, RS	Galinheiro	Severo et al (23)

Recentemente foram encontrados dois *Metachirus opossum* e um *Rattus rattus* naturalmente infectados pelo *H. capsulatum* var. *capsulatum*, capturados em área periurbana do Município do Rio de Janeiro²³. Como a verificação deste fungo no solo é a mais forte evidência de que estes animais se infectaram na área de captura, os autores realizaram um estudo direcionado a demonstrar as possíveis fontes de infecção no local.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de Estudo: Conhecida como Rio da Prata, a localidade é considerada região periurbana do Município do Rio de Janeiro por apresentar uma área com características exclusivamente rurais (Serra do Rio da Prata) e uma região mais urbanizada (Rio da Prata), situada no maciço de Pedra Branca, entre os paralelos 22°50' e 23°50' e meridianos 43°20' e 43°35'. O clima predominante nas vertentes norte e noroeste deste maciço é do tipo Aw, com temperatura média anual de 27,70°C, precipitação pluviométrica total anual maior que 1400 mm e umidade relativa pouco variável, em torno de 75%.

Coleta das amostras de solo: foram coletadas 111 amostras de solo em 54 sítios residenciais da Serra do Rio da Prata no ano de 1983. A coleta de 99 amostras foi direcionada para locais favoráveis ao crescimento e pro-

liferação do *H. capsulatum* var. *capsulatum* tais como galinheiros e áreas circundantes, viveiros de patos e codornas, grutas e buracos naturais e artificiais. As 12 amostras restantes foram colhidas em outros ambientes ricos em matéria orgânica como coqueiras e currais. Cada amostra de solo consistiu de aproximadamente 100 g de terra retirada da camada superficial, acondicionada em recipientes plásticos estéreis de boca larga, fechados com tampa de rosca e identificados com o número do sítio, local de coleta e número da amostra.

Processamento das amostras de solo: a técnica escolhida para isolamento do *H. capsulatum* var. *capsulatum* foi o método de flutuação⁸, ligeiramente modificada por AJELLO¹ em 1960, o qual consiste na inoculação de uma suspensão solo-salina em camundongos suíços, não isogênicos, 30 dias após os animais foram sacrificados e fragmentos de fígado e baço foram semeados em meios apropriados. Os meios utilizados para cultivo da fase filamentosa do fungo foram agar Sabouraud e Mycosel e para cultivo da fase leveduriforme meio de infuso-cérebro-coração (BHI) adicionado de 1 g/l de α -cisteína. Além dos estudos micológicos habituais, realizaram-se também estudos histopatológicos com cortes corados pela hematoxilina-eosina (HE), pela impregnação argêntica (Método de Grocott) e reação do ácido periódico de Schiff (PAS).

Aos resultados obtidos aplicou-se Teste de Qui-quadrado (X^2), onde P igual a 0,05.

RESULTADOS

H. capsulatum var. *capsulatum* foi isolado de 8 (7,2%) das 111 amostras de solo estu-

dados (Tabel. II). As cepas do fungo foram identificadas como RPS09, RPS11, RPS35, RPS45, RPS47, RPS51, RPS65 e RPS86, isoladas do solo coletado em 7 galinheiros com características muito semelhantes entre si e que podem ser divididos em dois tipos: em uso ou abandonados.

TABELA II

Distribuição do *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* isolado de solos coletados em diferentes ambientes da localidade de Rio da Prata, RJ (1983)

Locais (Tipo)	N.º de amostras coletadas	Amostras N.º	Positivas %
Cocheiras e currais	12	—	—
Grutas naturais e artificiais	10	—	—
Galinheiros	78	08	10,3
Abrigo de outras aves	04	—	—
Ocos de árvores	07	—	—
Total	111	08	7,2

O isolamento das cepas RPS09, RPS35, RPS45, RPS65 e RPS86 foi obtido de galinheiros em atividade, mal feitos, de pau-a-pique, construídos com bambu, barro e tábuas (Fig. 1). Todos eram cobertos com palha ou telhas para proteção não só da chuva, como também do ataque de morcegos hematófagos.

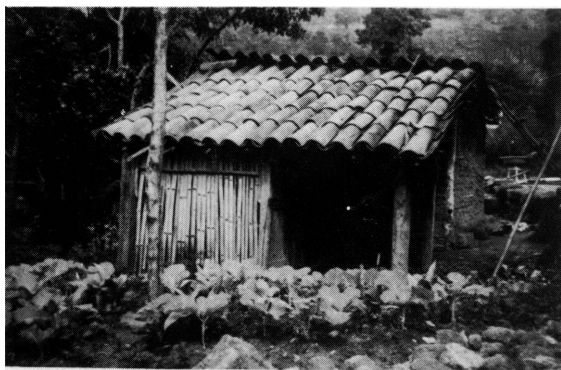


Fig. 1 — Galinheiro. Local de isolamento de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Cepa RPS09).

As demais cepas foram isoladas de ambientes onde anteriormente havia galinheiros. *H. capsulatum* var. *capsulatum* RPS11 foi isolado de uma amostra de solo coletada sob uma árvore frondosa, que produz sombra durante todo o dia, apresentando na época da coleta solo muito seco e com pouca quantidade de matéria orgânica (Fig. 2). As estirpes RPS47 e RPS51 foram isoladas de um mesmo sítio residencial, de uma construção

do tipo "estruque", em péssimo estado de conservação, que, segundo os moradores locais, ocasionalmente era utilizada como abrigo de morcegos. A primeira amostra foi obtida de solo com grande acúmulo de fezes ressecadas de galinhas e a segunda de material retirado, por raspagem, de parede da construção com excrementos de morcegos hematófagos, que se destacavam como pontos mais escuros, de cor quase negra.

De 78 amostras coletadas de galinheiros, 8 estavam contaminadas pelo *H. capsulatum* var. *capsulatum*, das quais 3 provieram de 18 amostras coletadas em galinheiros desativados e 5 de 60 amostras colhidas em galinheiros em uso (Tab. III).

O início do crescimento de todas as cepas *H. capsulatum* var. *capsulatum* ocorreu em um tempo médio de 9 dias, desenvolvendo-se sobre fragmentos dos órgãos. Nesta fase o fungo apresentava-se macroscopicamente como colônia branca e filamentosa (Fig. 3), composta microscopicamente de hifas com macroconídios sem tubérculos. Com aproximadamente 15 dias o número de macroconídios era muito maior, passando sua superfície apresentar protuberâncias, caracterizando os macroconídios tuberculados. Além disto havia também grande quantidade de microconídios (Fig. 4).

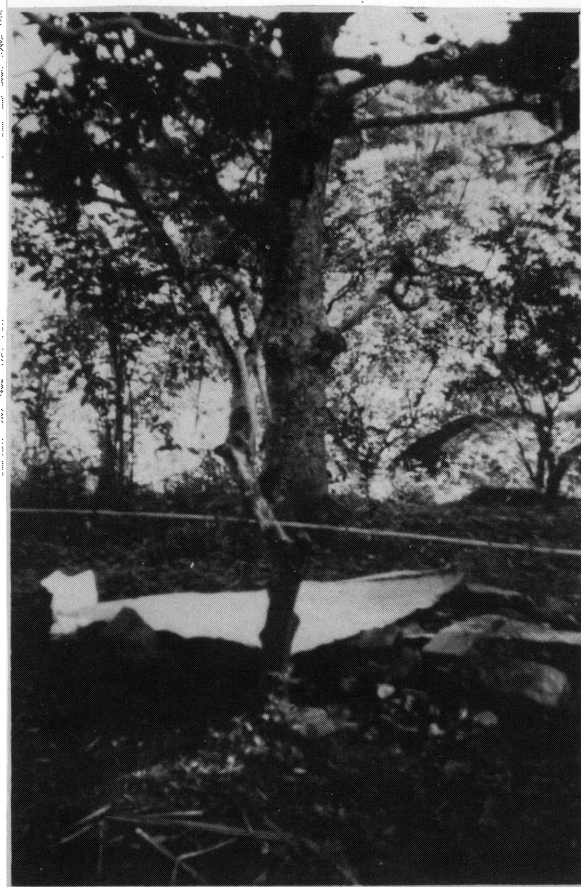


Fig. 2 — Foco contaminado com *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. No local existiu um galinheiro há alguns anos atrás.

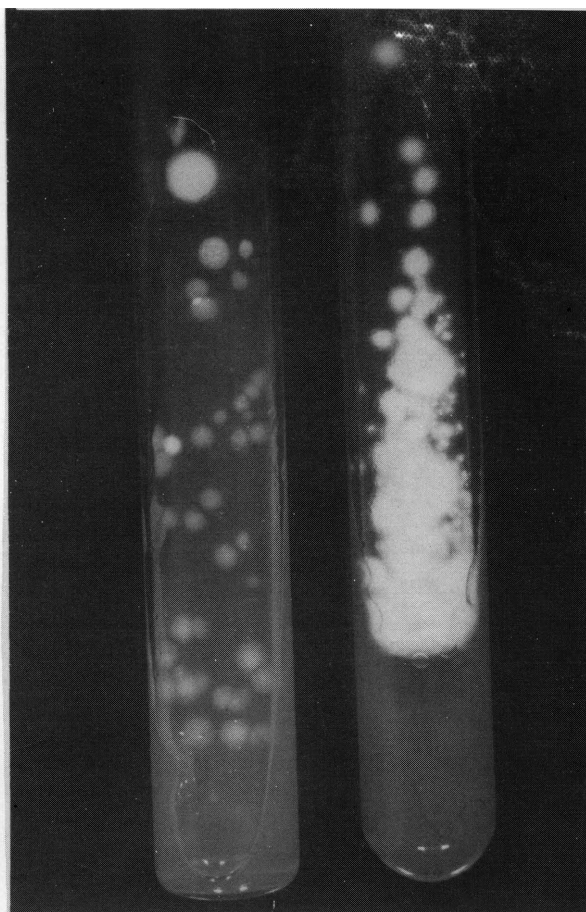


Fig. 3 — *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Aspecto macroscópico de cultivo à temperatura ambiente (Colônia filamentososa).

T A B E L A III
Frequência de isolamento de *H. capsulatum* var. *capsulatum* em galinheiros. Rio da Prata, RJ (1983)

Estado atual dos galinheiros	N.º de amostras de solo estudadas	Amostras com <i>H. capsulatum</i>	
		N.º	%
Em atividade (45)	60	05	8,3
Desativados (10)	18	03	16,3
Total	78	08	10,3

$\chi^2 = 1,04$ $0,50 > P > 0,05$

Nas tentativas de conversão à fase leveduriforme, somente uma cepa (12%) quando incubada a 37°C em BHI, converteu-se totalmente, apresentando-se como colônias cerosas, branco-leitosas, 30 dias após incubação (Fig. 5). Foram observadas, na microscopia, leveduras unibrotantes (Fig. 6). As estirpes restantes converteram parcialmente a esta fase, sendo confirmadas como *H. capsulatum* var. *capsu-*

latum pelo C.D.C.* através da técnica dos exoantígenos.

Os exames histopatológicos dos órgãos de todos os camundongos inoculados com a suspensão de solo, dos quais se isolou o fungo, permitiu visualizar células fúngicas de tamanho e morfologia uniforme caracterizadas como *H. capsulatum* var. *capsulatum* (Fig. 7).

* Dr. Libero Ajello

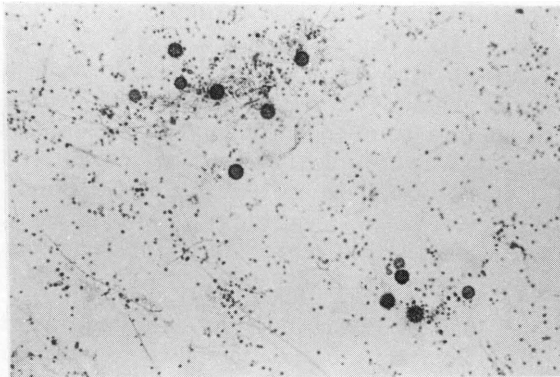


Fig. 4 — *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Cultivo em lâmina com hifas, macroconídios e microconídios. Lactofenol-Azul de Algodão (400x).

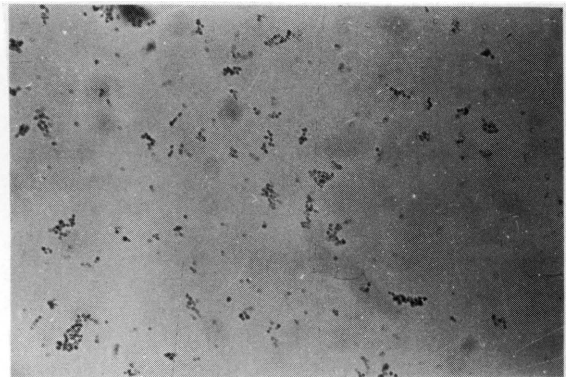


Fig. 6 — *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Leveduras unibrotantes. Lactofenol-Azul de Algodão (400x).

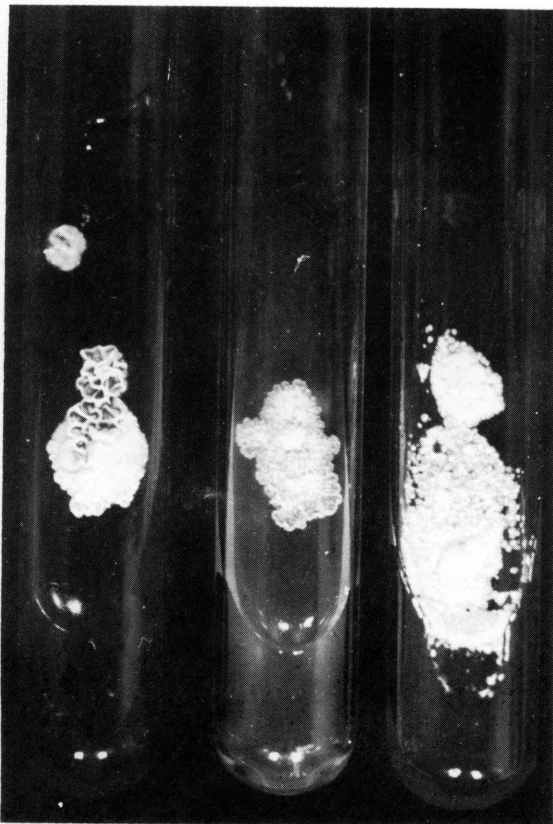


Fig. 5 — *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Aspecto macroscópico de cultivo a 37°C (Colônia leveduriforme).

DISCUSSÃO

A histoplasmose e seus aspectos epidemiológicos têm sido intensamente estudados desde 1945 e, devido aos conhecimentos rela-

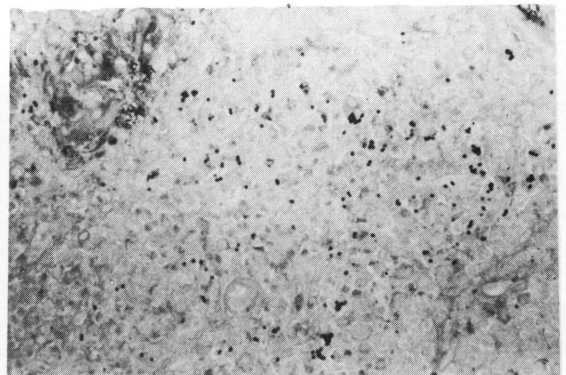


Fig. 7a — *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* em fígado de camundongos. Leveduras unibrotantes. Grocott (400x).

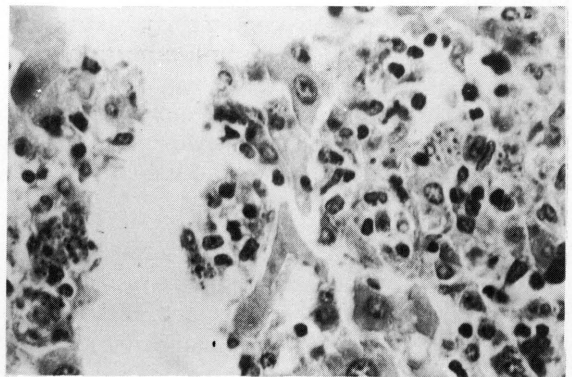


Fig. 7b — *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Células fúngicas unibrotantes intracelulares em fígado de camundongos. PÁS (1000x).

tados na literatura mundial, tudo faz crer que o solo desempenhe o mais importante papel na epidemiologia desta micose sistêmica. O estudo do habitat natural, suas características físico-químicas e biológicas, além do aspecto geográfico destas áreas, têm importância pri-

mordial em saúde pública, por demonstrar as fontes infectantes existentes em determinada região.

Na região do Rio da Prata, 8 (7,2%) das 111 amostras de solo estudadas estavam contaminadas com *H. capsulatum* var. *capsulatum*, índice semelhante aos encontrados em zonas de alta endemicidade dos E.U.A.^{1,12}. Todos os isolamentos obtidos se originaram de solos coletados dentro ou fora de galinheiros em uso ou desativados, sem diferença estatisticamente significativa entre os dois (Tab. III). Discordantes de nossos resultados, FURCOLOW¹² obteve 70% de seus isolamentos de solos coletados de galinheiros abandonados. Uma explicação para esta discrepância poderia estar no fato da nossa coleta sempre ter sido direcionada para locais onde excrementos se apresentavam secos e com aspecto envelhecido, não importando o estado atual do galinheiro.

A escolha de locais de coleta como galinheiros e áreas circundantes, grutas e buracos naturais e artificiais, currais e coqueiras, deve-se à estreita relação existente entre ambientes enriquecidos com guano de aves e morcegos e o *H. capsulatum* var. *capsulatum*^{9,30,31}. Acredita-se que esta interrelação seja decorrente da adubação dos solos pelos excretas que beneficiariam o crescimento do fungo em sua fase saprofitária, permitindo sua sobrevivência na competição com outros microorganismos do solo², além da utilização pelo fungo, como fonte de nitrogênio em seu metabolismo, de alguns componentes químicos encontrados em elevada concentração nas fezes de aves e morcegos, como por exemplo o ácido úrico¹⁶.

A presença ou ausência de excretas de quípteros e aves no ambiente não são os únicos governantes da ocorrência e distribuição do *H. capsulatum* var. *capsulatum* em natureza e outros fatores ecológicos devem ter importante papel sobre o seu crescimento e sobrevivência. Esta suposição se deve ao fato de que muitas áreas do mundo povoadas com aves e morcegos estão livres do agente causal da histoplasnose. Demonstrou-se que o tipo de solo, a textura e a acidez são elementos influentes no habitat deste fungo, havendo coincidência entre áreas de alta prevalência de sensibilização à histoplasmina e solos predo

minantemente podzólicos vermelho-amarelados, com grande acidez e pouca profundidade²⁹. Além do tipo de solo, observou-se também que a maioria das regiões endêmicas de histoplasnose apresentam temperaturas médias anuais entre 20 e 30°C, índices de precipitação pluviométrica acima de 1000 mm anuais e umidade relativa do ar em torno de 70% ou mais, sendo estes dados corroborados por bons estudos laboratoriais^{13,18}.

Todas as variáveis acima descritas atuam sobre determinado microambiente, formando pequenas áreas geograficamente restritas, propiciando excelentes condições à formação do nicho ecológico do *H. capsulatum* var. *capsulatum*. CAMPBELL⁵ denominou estas pequenas áreas de microfocos e considerou-as como fontes de infecção em potencial da histoplasnose. Baseados neste conceito, consideramos que 7 microfocos de histoplasnose estão presentes na Serra do Rio da Prata, por ter-se encontrado o seu agente etiológico em sítios específicos. Estes resultados reforçam a importância dos excretas de galinhas na gênese de microfocos do *H. capsulatum* var. *capsulatum*.

Pode-se afirmar que a região do Rio da Prata seja uma área endêmica de histoplasnose não só pela elevada frequência de microfocos encontrados, mas também pelos altos índices de sensibilidade à histoplasmina em escolares²⁷ e por ter sido verificado a presença de animais naturalmente infectados²⁸. Além disso, a região possui características geográficas semelhantes às encontradas em outras consideradas endêmicas^{11,12}, com um índice de precipitação pluviométrica anual maior que 1400 mm, temperatura média anual de 27,7°C e umidade relativa do ar sempre bastante elevada, em torno de 75%.

SUMMARY

Distribution of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* soil sources in Rio da Prata — Rio de Janeiro (RJ).

Histoplasma capsulatum var. *capsulatum* was isolated from soil of Rio da Prata, a rural area situated near the city of Rio de Janeiro. Analysis of 111 soil samples determined 8 (7.2%) contaminated foci, all of them rela-

ted to chicken habitats. One infected site was enriched with both chicken and bat guano. The high frequency of isolation of the fungus from the soil in this region is similar to that observed in the endemic areas of the USA.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Dr. Alexandre A. Alencar pela orientação nos estudos histopatológicos, ao Dr. Libero Ajello, pela confirmação das amostras do fungo isoladas do solo, ao Sr. Genilto José Vieira, pelas reproduções fotográficas e ao Sr. Mauro de Medeiros Muniz pelo auxílio técnico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AJELLO, L. — *Histoplasma capsulatum* soil studies. Mykosen, 3: 43-48, 1960.
2. AJELLO, L. — Relationship of *Histoplasma capsulatum* to avian habitats. Publ. Hlth. Rep. (Wash.), 79: 266-270, 1964.
3. AJELLO, L. & ZEIDBERG, L. D. — Isolation of *Histoplasma capsulatum* and *Allescheria boydii* from soil. Science, 113: 662-663, 1951.
4. ARAUJO, F. G. — Primeiro isolamento de *Histoplasma capsulatum* de solo em Minas Gerais. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 12: 185-191, 1970.
5. CAMPBELL, C. C. — The epidemiology of histoplasmosis. Ann. intern. Med., 62: 1333-1336, 1965.
6. DARLING, S. T. — A protozoan general infection producing pseudotubercules in the lungs and focal necrosis in the liver, spleen and lymphonodes. J. Amer. med. Assoc., 46: 1283-1285, 1906.
7. DEMONBREUN, W. A. — The dog as a natural host for *Histoplasma capsulatum*. Amer. J. trop. Med., 19: 565-587, 1939.
8. EMMONS, C. W. — Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. Publ. Hlth. Rep. (Wash.), 64: 892-896, 1949.
9. EMMONS, C. W. — Association of bats with histoplasmosis. Publ. Hlth. Rep. (Wash.), 73: 590-595, 1958.
10. FAVA NETTO, C.; SILVA, V. A.; CHAMMAS, F. & LACAZ, C. S. — Histoplasmosse epidêmica. Estudo clínico, radiológico, micológico e imunológico de surto ocorrido no Estado de São Paulo, Brasil. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 9: 222-232, 1967.
11. FONSECA, J. C. — Analisis estadística y ecología-epidemiológica de la sensibilidad a la histoplasmina en Colombia, 1950-1968. Antíquia méd., 21: 109-154, 1971.
12. FURCOLOW, M. L. — Recent studies on the epidemiology of histoplasmosis. Ann. N.Y. Acad. Sci., 72: 129-163, 1958.
13. GOODMAN, N. L. & LARSH, H. W. — Environmental factors and growth of *Histoplasma capsulatum* in soil. Mycopathologia (Den. Haag), 33: 145-156, 1967.
14. LACAZ, C. S.; PORTO, E. & MARTINS, J. E. C. — Micologia médica. Fungos, actinomicetos e algas de interesse médico. 7.ª ed. São Paulo, Sarvier 1984. 479 p.
15. LARSH, H. W.; HINTON, A. & COZAD, G. C. — Natural reservoir of *Histoplasma capsulatum*. Amer. J. Hyg., 63: 18-27, 1956.
16. LOCKWOOD, G. F. & GARRISON, R. G. — The possible role of uric acid in the ecology of *Histoplasma capsulatum*. Mycopathologia (Den Haag), 35: 377-388, 1968.
17. LONDERO, A. T. & RAMOS, C. D. — The status of histoplasmosis in Brazil. Mycopathologia (Den Haag), 64: 153-156, 1978.
18. MENGES, R. W.; FURCOLOW, M. L.; LARSH, H. W. & HINTON, A. — Laboratory studies on histoplasmosis. I — The effect of humidity and temperature on the growth of *Histoplasma capsulatum*. J. infect. Dis., 90: 67-70, 1952.
19. MORAES, M. A. P. & ALMEIDA, M. M. R. — Isolamento de *Histoplasma capsulatum* do solo de Humboldt (Estado de Mato Grosso, Brasil). Acta amaz., 6: 43-47, 1976.
20. PAULA, A. & AIDÉ, M. A. — Histoplasmosse no Brasil. J. bras. Med., 37: 67-81, 1979.
21. PAULA, A. & AIDÉ, M. A. — As microepidemias de histoplasmosse do Estado do Rio de Janeiro. J. bras. Med., 49: 18-28, 1985.
22. SCHMIDT, S.; MACHADO, O. P. & GALVÃO, A. B. — Microepidemia de histoplasmosse na zona rural de Brasília, DF. II — Estudo epidemiológico e parasitológico da fonte de infecção. Rev. Soc. bras. Med. trop., 7: 107-115, 1973.
23. SEVERO, L. C.; PETRILLO, V. F.; CAMARGO, J. J.; GEYER, G. R. & PORTO, N. S. — Acute pulmonary histoplasmosis and first isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil of Rio Grande do Sul, Brazil. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 28: 51-55, 1986.
24. SILVA, M. E. — Isolamento de *Histoplasma capsulatum* do solo, em zona endêmica de calazar na Bahia, Brasil. Bol. Fund. G. Moniz., 10: 1-7, 1956.
25. TOSH, F. E.; DOTO, I. L.; BEECHER, S. B. & CHIN, T. D. Y. — Relationship of starling blackbird roosts and endemic histoplasmosis. Amer. Rev. resp. Dis., 101: 283-288, 1970.
26. WANKE, B. — Histoplasmosse. Estudo epidemiológico, clínico e experimental. Rio de Janeiro, 1985. (Tese de doutoramento — Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro).
27. ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. — Histoplasmosse. Estudo epidemiológico em área periurbana do Município do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 1985. (Dissertação de mestrado — Instituto Oswaldo Cruz — FIOCRUZ).

28. ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. & WANKE, B. — Isolamento do *Histoplasma capsulatum* de animais silvestres do Município do Rio de Janeiro. *Cadern. Saúde Públ.*, 2: 42-52, 1986.
29. ZEIDBERG, L. D. — A theory to explain the geographic variations in the prevalence of histoplasmin sensitivity. *Amer. J. trop. Med.*, 3: 1057-1065, 1954.
30. ZEIDBERG, L. D. & AJELLO, L. — Environmental factors influencing a occurrence of *Histoplasma capsulatum* and *Microsporum gypseum* in soil. *J. Bact.*, 68: 156-159, 1954.
31. ZEIDBERG, L. D.; AJELLO, L.; DILLON, A. & RUNYON, L. C. — Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. *Amer. J. Publ. Hlth.*, 42: 930-935, 1952.

Recebido para publicação em 24/2/87.