

LEVANTAMENTO MICOLÓGICO DAS GRUTAS ARENÍTICAS DE ALTINÓPOLIS (SP) E  
UMA RESENHA INFORMATIVA SOBRE O HISTOPLASMA CAPSULATUM \*\*

Geraldo Stachetti Rodrigues\*

ABSTRACT

With the purpose of knowing the safety conditions of the arenitic caves of Altinópolis, a mycologic survey, in which the main agent in search was the H. capsulatum fungi, was carried out. Thirty samples from material encountered in seven caves were collected in sterilised glass flasks, taken to the laboratory and shaken in physiologic salt solution for disaggregation. Then, aliquots were inoculated in Saubaud medium and incubated at room temperature for ten days. The identification was obtained at the Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, and the most encountered genus was the ubiquitous Penicillium and, in a decreasing order, Mucor, Fusarium, Aspergillus, Botrytis, Monilia and Trichoderma. These genera, though opportunistic parasites, do not enable the characterization of a insalubrious environment, and by intradermic reactions in the researchers who visited the caves, the contact with the H. capsulatum was not confirmed. A review about the histoplasmosis and its relationship with speleology is enclosed.

INTRODUÇÃO

Por sua amenidade e constância, os ambientes cavernícolas tropicais provêm um meio altamente favorável para o desenvolvimento de microorganismos. Quando se trata de grutas areníticas, onde geralmente

\* Departamento de Bioquímica, UNESP, Rio Claro, C.P. 178 EGRIC - Es pelo Grupo de Rio Claro.

\*\* Trabalho apresentado no XVI Congresso Brasileiro de Espeleologia, Rio Claro, 1984.

a concentração de vida é maior, a incorporação de matéria orgânica permite o crescimento de enormes populações microbianas, que além de contribuir para a dinâmica dos processos ecológicos, podem assumir importância do ponto de vista espeleológico.

Além da possibilidade de se observarem ornamentações, formando verdadeiros bioespeleotemas, ou na sucessão de uma complexa e cientificamente importante cadeia alimentar, essas populações microbianas podem interferir no ambiente a ponto de alterar suas características de salubridade. Isso é especialmente verdadeiro quando se considera a íntima correlação entre endemicidade do agente etiológico da histoplasmoze, e a distribuição regional de grutas (MARTINEZ & ROCHA, 1980).

Neste trabalho procuramos alertar e informar o espeleólogo sobre a doença, e sugerir procedimentos que levem à melhoria de nossos conhecimentos sobre o assunto.

## HISTOPLASMOSE

### - Histórico

A histoplasmoze veio inicialmente a conhecimento através de Samuel Taylor Darling, em 1905, ao estudar cortes de tecido humano na América Central: A doença foi caracterizada pela presença de microorganismos fagocitados por histiocistos, apresentando células leveduriformes individuais, com cerca de 1 a 4  $\mu\text{m}$  de diâmetro, que foram classificadas, provavelmente por influência de Donovan e Leishmann, como um protozoário, denominado então Histoplasma capsulatum.

Em 1913, Henrique Rocha Lima, um brasileiro estudando em Hamburg, comparou uma secção microscópica mostrando os agentes de uma micose eqüina com uma amostra da doença de Darling, estabelecendo, através de parâmetros histológicos, a natureza fúngica desse agente.

O isolamento do fungo foi conseguido em 1929, por Catherine Dodd, a partir do sangue de uma criança. Após testar uma variedade de meios, conseguiu-se o crescimento fora do hospedeiro, o que resultou na descoberta da natureza dimórfica, micelial em cultura a temperatura ambiente, e leveduriforme na fase infestante. Com o isolamento tornou-se possível a infecção artificial de cobaias de laboratório.

Seguindo-se a essas descobertas, o evento mais importante da história da histoplasmoze foi a constatação, por Amos Christie, de que a doença de Darling não era uma rara e invariavelmente fatal curiosidade médica, mas sim uma infestação pulmonar comum e bastante difun

dida.

Em 1948, ocorreu o primeiro seminário sobre histoplasmose, no National Institute of Health, e nesse mesmo ano o fungo foi isolado de solo enriquecido com guano de aves. A partir da ocasional descoberta de Darling, em 1905, chegamos hoje ao conhecimento de que a histoplasmose é uma das mais difundidas doenças infecciosas do mundo, atacando cerca de 40 milhões de pessoas só nos EUA, e acredita-se que a micose se tornará tão prevalente quanto maiores forem nossos conhecimentos a respeito (RIPPON, 1982; LACAZ et alii, 1984).

#### - Manifestações Clínicas

Na década de 40, o serviço de saúde pública dos EUA realizou uma pesquisa de tuberculose nos estudantes de enfermagem de várias regiões. Ocorreu que, no meio-oeste, grande parte das pessoas apresentavam, ao exame radiológico, calcificações pulmonares (até então evidência invariável de tuberculose primária curada), sem contudo demonstrar hipersensibilidade à tuberculina. A marcante distribuição geográfica desta disparidade sugeriu a possibilidade de tratar-se de outra doença, partindo-se para a realização de testes intradérmicos com filtrados de diversas culturas, o que revelou que, nas regiões de ocorrências de calcificações aberrantes, as pessoas com tuberculina negativa, com lesões curadas, eram histoplasmina positivas (DAVIS et alii, 1973).

Segundo-RIPPON (1982), aproximadamente 95% dos casos de infecção são inaparentes, subclínicos, somente diagnosticáveis por radiografia pulmonar, sorologia ou intradermoreação com histoplasmina. Os pacientes restantes mostram doença pulmonar progressiva crônica, com tosse seca, febre, prostração e dispnéia; doença sistêmica ou cutânea crônica, ou até uma fulminante infecção sistêmica rapidamente fatal, caso comum em crianças. A intradermoreação é um processo simples e rápido de teste, sendo recomendado para pessoas com suspeita de infecção, podendo contudo ocorrer reações cruzadas com a coccidiodomicose e blastomicose.

#### - Tratamento

LACAZ et alii (1984) recomendam tratamento com sulfamida para casos incipientes de infecção, citando vários autores que obtiveram sucesso com sulfas variadas, mas alude que o tratamento mais seguro se faz com anfotericina B, que pode ter efeito mais rápido por sinergismo com rifampicina ou 5-fluorocitosina (fungicidas).

- Histoplasma capsulatum - classificação, habitat e ecolo-

gia:

O Histoplasma capsulatum é um ascomycete da família Gymnoascaceae, Ordem Eurotiales dos Ascomycota, apresentando uma variedade de ocorrência restrita no continente africano, o H. capsulatum var. duboisii.

A forma não infectante é caracterizada por crescimento micelial, com colônias brancas ou pardacentas, cotonosas, que ao exame microscópico mostram hifas ramificadas e septadas com presença de elementos especiais, os hiposporos intercalares ou terminais, bastante ornamentados. O fungo é saprofítico, crescendo abundantemente em solos enriquecidos com matéria orgânica nitrogenada, daí sua relação com o guano de aves e morcegos. Essa relação já está bem estabelecida, tendo se isolado o parasito dos tecidos e excrementos desse mamífero "in situ", o que indicá sua importância como disseminador, mas é improvável que represente um vetor da doença ao homem (BURROWS et alli, 1964).

A infecção, que ataca também numerosos animais selvagens e domésticos, com exceção das aves, dá-se por inalação dos esporos, que permanecem aerolizados em locais de crescimento do fungo, como galinheiros, pombais, cavernas ou cavidades de árvores antigas, onde excreções e outros materiais orgânicos, em condições de umidade, provêm condições favoráveis. Numa escala geográfica ampla, o maior número de intradermoreações positivas encontra-se em áreas com temperatura entre 22° e 29° C, precipitações anuais de 1000mm e UR na estação de crescimento entre 67 a 87% ou mais. Há numerosas referências concordando na informação de que os solos preferidos são aqueles podzólicos vermelho amarelo ou calcários, o que induz certa alusão espeleológica.

#### - Formas de pesquisa e importância dos levantamentos

Há duas diferentes possibilidades de pesquisa que resultam em importantes informações sobre o histoplasma: a epidemiológica e a microbiológica. A pesquisa microbiológica tem maior valor num sentido predictivo para espeleólogos, excursionistas ou mesmo granjeiros, permitindo a tomada de precauções salutares com vista a evitar a infecção.

A pesquisa epidemiológica tem especial importância médica, evitando diagnósticos errôneos nos casos de doenças pulmonares, ou permitindo programas de saúde pública, principalmente em áreas endêmicas. Esse tipo de estudo tem sido realizado através de intradermoreações à histoplasmina, mostrando a maior incidência de infecção em áreas de grande endemicidade. Devido à simplicidade de realização e ao retorno social, esse tipo de trabalho deveria ser realizado em mais áreas, mesmo por grupos de espeleólogos, que estariam assim prestando valioso

serviço às comunidades locais das regiões visitadas com fins espeleológicos.

O estudo microbiológico do histoplasma já é mais complicado, em termos metodológicos, por envolver a utilização de drogas, equipamentos e habilidades especiais, nem sempre acessíveis aos grupos interessados. O fastidioso procedimento de laboratório envolvido no cultivo e identificação de fungos é um entrave evidente, sendo contudo altamente recomendável um exame da possibilidade de se estabelecerem convênios com laboratórios de patologia. Isto permitiria congregiar esforços de grupos espeleológicos (que seriam os coletores das amostras) e essas instituições comprometidas com a saúde pública, que certamente terão interesse em promover o aumento dos conhecimentos sobre o problema, já que os casos de epidemias descritos na literatura são indicadores do alto valor dessa iniciativa.

CAMPINS et alli (apud LACAZ, 1961) registraram uma epidemia de histoplasnose, ocorrida na Venezuela, em 5 excursionistas, de um grupo de 11, que referiram haver visitado uma gruta. Frente à suspeita da infecção ter aí acontecido, os pesquisadores resolveram efetuar um estudo no local, visando isolar o agente da doença "in situ". Dezesesseis dias após a coleta, um dos pesquisadores apresentou quadro clínico da doença, necessitando hospitalização.

Esse tipo de microepidemia tem sido observada no Brasil e PAULA & AIDÉ (1979), realizando uma revisão sobre a histoplasnose entre nós, citam 7 casos minuciosamente estudados, todos relacionados com grutas, com exceção de 1 que envolve apenas os morcegos então habitando o forro de uma residência. Outras epidemias descritas envolvem trabalhos de terraplenagem, especialmente em locais de concentrações de aves.

Acredito que essas informações são já suficientes para levar todo "real caver" a refletir sobre o assunto, o que certamente não resolverá o problema, mas será talvez, um início de consciência para a tomada de medidas saneadoras, individual e socialmente.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O Levantamento foi realizado em 7 grutas areníticas no município de Altinópolis (SP), detalhadamente descritas por MARTINS & OLIVEIRA (1985). Foram coletadas 30 amostras de materiais diversos (solo, guano, colônias de fungos, restos deixados por visitantes, etc.), com espátula esterilizada em chama, transportadas ao laboratório em recipientes de vidro com tampa de rosca, esterilizados previamente (120°

C, 1 atm. por 20 min). No laboratório as amostras foram assepticamente transferidas para frascos de Erlenmeyer de 250 ml, contendo 100 ml de solução salina fisiológica, sendo agitadas a 250 rpm por 1 hora, para desagregação. O sobrenadante foi diluído e inoculado, nas frações  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-6}$ , em placas de Petri contendo meio agar dextrosado de Sabouraud, acrescido de solução de cloranfenicol (0,4%, 0,75 mg/placa). As culturas foram incubadas em temperatura ambiente durante, 10 dias, observando-se o crescimento dos organismos nesse período.

### RESULTADOS

As placas de Petri contendo as colônias foram encaminhadas para o Instituto de Medicina Tropical de São Paulo para identificação. Os resultados, que mostram a distribuição dos fungos nas grutas, podem ser observados na Tabela 1.

### DISCUSSÃO

Os diversos gêneros de fungos encontrados podem estar ligados ao aparecimento de manifestações alérgicas no homem. Entretanto, não se pode caracterizar a existência dos fungos como um fator de insalubridade específica das grutas, visto que os mesmos ocorrem também, em larga escala, na atmosfera exterior. A não constatação do H. capsulatum nas amostras, e os resultados negativos de exames de intradermoreação realizados nos quatro excursionistas que participaram das coletas, representam um importante fator na avaliação da salubridade das grutas de Altinópolis, em crescente assédio de visitantes.

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Prefeitura Municipal de Altinópolis pelo apoio dispensado. Ao Dr. Edward Porto, do Departamento de Micologia do Instituto de Medicina Tropical pela identificação dos microorganismos. Merecem especial menção os amigos Sebastião B.M.P. Martins, Eleonora Trajano e Nilza Godoy, pelo auxílio no campo, críticas à metodologia e incentivo na realização do trabalho.

TABELA 1 - Distribuição dos fungos cultivados a partir das amostras coletadas nas grutas areníticas de Altinópolis (SP).

fungo	<u>Penicil- lium</u>	<u>Mucor</u>	<u>Asper- gillus</u>	<u>Fusarium</u>	<u>Botrytis</u>	<u>Monilia</u>	<u>Tricho- derma</u>	Levedura	Bacterias
grutas Sertãozi- nho baixo	**			.				*	*
Sertãozi- nho cima	*					*		*	*
Itambé	****		**				*	*	***
Olho de Cabra	***	**		*				*	***
Túnel fra- dinhos	*	*	.						*
Cinco bo- cas	**	**		.					*
Gruta da captação	**			*	*			*	*****

Cada marca (\*) representa a presença do microorganismo em uma (1) das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURROWS, W.; MOULDER, J.W.; LEWERT, R.M. - 1964 - Textbook of Microbiology, W. B. Saunders Co., Philadelphia and London. 1155p.
- DAVIS, B.D.; DULBECCO, R.; EISEN, H.N.; GINSBERG, H.S.; WOOD, W.B. Jr. - 1973 - Microbiologia. Infecções Bacterianas e Micóticas. Edart, 415p, São Paulo.
- LACAZ, C.S. - 1961 - Doença das grutas. Folha de São Paulo, 27/01/61.
- LACAZ, C.S.; PORTO E.; MARTINS, J.E.C. - 1984 - Micologia Médica. Sarvier - São Paulo.
- MARTINEZ, F.E. & ROCHA, G.M. - 1980 - Reação intermediária à histoplasmina em escolares do município de Iporanga, Vale do Ribeira, SP. J. Ped. 48(1) : 17-20.
- MARTINS, S.B.M.P. & OLIVEIRA, L. - 1985 - O distrito espeleológico arenítico de Altinópolis, SP, Supl. Ciência e Cultura, 37 (7) : 632.
- PAULA, A. de & AIDÉ, M.A. - 1979 - Histoplasmosose no Brasil. J. Bras. Med. nov: 67-81.
- RIPPON, J.W. - 1982 - Medical Mycology, The Pathogenic Fungi and the Pathogenic Actinomycete, W.B. Saunders Co. Phil. and Lon., 950p. .