

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

OCORRÊNCIA DE *Histoplasma capsulatum* EM AMBIENTES SUBTERRÂNEOS, UMA
REVISÃO NA LITERATURA.

MARIANA ARAÚJO MOREIRA

BELO HORIZONTE

2015

MARIANA ARAÚJO MOREIRA

OCORRÊNCIA DE *Histoplasma capsulatum* EM AMBIENTES SUBTERRÂNEOS, UMA
REVISÃO NA LITERATURA.

Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do Título de Especialista em Microbiologia Aplicada.

Orientador: Dr. Fabio Luís Bondezan da Costa

Belo Horizonte

2015

RESUMO

Os microrganismos ocupam todos os nichos da biosfera, incluindo os habitats subterrâneos. As cavernas são ambientes distintos caracterizados por uma estabilidade ambiental. Esses organismos fazem parte da biodiversidade da caverna e desempenham um importante papel ecológico, podendo ser utilizados como alimento, controlar a população de animais e estar envolvidos na ciclagem de nutrientes. Os fungos são componentes críticos dos ecossistemas, funcionando como decompositores, mutualistas e patógenos. Ocorrem em vários substratos em cavernas, tais como sedimentos, vermiculações, fezes de morcego ou guano, material orgânico em decomposição, espeleotemas, ar, água etc. *Histoplasma capsulatum* é um fungo dimórfico e é o agente etiológico da histoplasmose, uma doença potencialmente fatal de mamíferos adquirida pela inalação de conídios. É amplamente distribuída no continente americano e caracteriza-se pela presença de infecção pulmonar aguda, além da forma infecção pulmonar crônica. *H. capsulatum* além de ser um importante componente do ciclo ecológico de ambientes cavernícolas é também um agente patogênico de grande ocorrência no mundo e acomete principalmente espeleólogos. O estudo sobre a diversidade e abundância de patógenos em cavernas é importante para definir medidas preventivas para as populações expostas e para populações de risco em geral.

Palavras-chave: Cavernas, fungos patogênicos, *Histoplasma capsulatum*.

ABSTRACT

Microrganisms occupy all niches of the biosphere, including the subterranean habitats. The caves are distinct environments characterized by environmental stability. These bodies are part of the biodiversity of the cave and play an important ecological role, and may be used as food, control the population of animals and be involved in the cycling of nutrients. Fungi are critical components of ecosystems, functioning as decomposers, mutualists and pathogens. Occur on various substrates in caves, such as sediments, vermiculações, bat droppings or guano, decaying organic material, speleothems, air, water etc. *Histoplasma capsulatum* is a dimorphic and is the Etiologic Agent of histoplasmosis, a potentially fatal disease of mammals acquired by inhalation of conidia. It is widely distributed in the American continent and is characterized by the presence of acute pulmonary infection, in addition to the chronic lung infection form. *H. capsulatum* in addition to being an important component of the ecological cycle of cavernícolas environments is also a pathogen of wide occurrence in the world and affects mainly cavers. The study on the diversity and abundance of pathogens in caves it is important to set preventive measures for exposed populations and populations at risk.

Keywords: Caves, pathogen fungi, *Histoplasma capsulatum*.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. a) Fungo atuando como decompositor, Gruta Túneis- Lagoa Santa- Minas Gerais. Figura b) : Fungo se desenvolvendo em substrato em caverna, Gruta da Piedade- Caeté- Minas Gerais- Foto: Luciano Emerich Faria.....11
- FIGURA 2. A distribuição de 225 estudos sobre fungos, leveduras e bolores de lodo encontrado em cavernas ou minas. Cada local foi categorizado em: nenhum estudo, um estudo, 2-3 estudos, 4-8 estudos, ou ≥ 9 estudos. Um estudo pode representar a documentação de uma ou várias espécies (VANDERWOLF et al., 2013).....12
- FIGURA 3. Número da taxa de fungos encontrados em vários substratos de cavernas (VANDERWOLF et al., 2013).....14
- FIGURA 4. *Mycelia sterilia* no guano de morcego em Cueva La Catedral Porto Rico (NIERVES, RIVERA 2009).....15
- FIGURA 5. Culturas de *Histoplasma capsulatum*. a) em forma miceliana, b) forma leveduriforme (GUIMARÃES et al., 2006).....18
- FIGURA 6. Forma leveduriforme do *Histoplasma capsulatum* (coloração prata metenamina de Grocott). (FERREIRA, BORGES, 2009).....18
- FIGURA 7. Distribuição de Histoplasmose na América do Sul. (GUIMARÃES et al., 2006).....19
- FIGURA 8. Distribuição de histoplasmose no Brasil. (GUIMARÃES et al., 2006).....20

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS- Síndrome da Imunodeficiência adquirida

BHI- Brain Heart Infusion

PAS- Ácido Periódico Schiff

PETAR- Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	6
2. OBJETIVO.....	7
2.1 Objetivo Geral.....	7
2.2 Objetivos específicos.....	7
3. METODOLOGIA.....	7
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	8
4.1 O Ambiente cavernícola.....	8
4.2 Microrganismos e Cavernas.....	8
4.2.1 Microrganismos associados a cavernas.....	8
4.2.2 Fungos e Cavernas.....	9
4.2.3 Fungos patogênicos associados a cavernas.....	13
4.3 <i>Histoplasma capsulatum</i>	14
4.3.1 Etiologia.....	15
4.3.2 Epidemiologia.....	16
4.3.3 Transmissão e patogênese.....	18
4.3.4 Principais formas de diagnóstico.....	20
4.3.5 Tratamento.....	21
4.3.6 Casos de histoplasmose relacionados à espeleologia.....	21
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	24
REFERÊNCIAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

O meio cavernícola é um ambiente estável e favorável para o desenvolvimento de microrganismos (TAYLOR, STOIANOFF, FERREIRA, 2013). Comunidades cavernícolas são constituídas principalmente por espécies decompositoras. O tipo de recurso energético ou alimentar presente no meio vem quase todo do meio externo, sendo um determinante para a composição da fauna presente no local (FERREIRA, NONAKA, ROSA, 2000). Cavernas abrigam uma grande diversidade de fungos que podem incluir espécies patogênicas e oportunistas (TAYLOR, STOIANOFF, FERREIRA, 2013). Infecções fúngicas oportunistas tornaram-se mais freqüentes nas últimas décadas. A maioria das espécies isoladas em cavernas são saprófitas do solo, mas podem ser encontradas em vários tipos de substratos e sua distribuição é variada no ambiente (SHAPIRO, PRINGLE, 2010). O fungo *Histoplasma capsulatum* é encontrado em sua forma filamentosa no ambiente, cresce em locais rico em nitrogênio, como em solos e guano de morcegos ou de aves. A infecção causada pelo fungo se inicia da inalação de microconídeos uma vez que a visitação em cavernas pode causar suspensão dos esporos, expondo os visitantes a uma possível infecção (TAYLOR et al., 2009; CURY et al., 2001). A histoplasmose é uma infecção sistêmica causada pelo fungo *H. capsulatum* e o risco de infecção está relacionado com o tipo de atividade desenvolvida pelo indivíduo, o tempo, a freqüência da exposição a ambientes contaminados, a carga fúngica, a virulência e ao estado imunológico do indivíduo (VICENTINI et al., 2012). O estudo microbiológico em ambientes cavernícolas é limitado no país. O levantamento, caracterização e identificação de espécies fúngicas podem fornecer detalhes sobre o funcionamento do ambiente subterrâneo. Principalmente no que diz respeito a fungos patogênicos, através de estudos podemos identificar qual o papel desses microrganismos no ambiente cavernícola, a fim de minimizar a contaminação de espeleólogos e visitantes e propagação de doenças. Estudos sobre a distribuição de fungos, as comunidades de fungos e sua relação com o meio ambiente são de grande importância.

2. OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a ocorrência do fungo *Histoplasma capsulatum* em cavernas.

2.1 Objetivos Específicos

Fazer o levantamento através de revisão bibliográfica sobre a ocorrência do fungo patogênico *Histoplasma capsulatum* em cavernas:

- principais locais onde é encontrado,
- sua morfologia, fisiologia
- incidência em ambiente subterrâneo,
- mecanismos de infecção,
- principais hospedeiros,
- doença causada, sintomas, distribuição epidemiológica, tratamento,
- importância deste organismo no ambiente subterrâneo.

3. METODOLOGIA

Nesta revisão bibliográfica foram realizados levantamentos de artigos científicos em bases de coleta de dados no Portal Capes, Scielo, Pub Med e Google Acadêmico.

A busca foi realizada utilizando os descritores: fungos patogênicos, cavernas, histoplasmose, *Histoplasma capsulatum*.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 O Ambiente Cavernícola

O ambiente cavernícola é caracterizado por um sistema de canais interconectados, preenchidos por ar e/ou água e que apresentam temperaturas constantes que assemelham-se a média da região onde são encontradas (HOWARTH, 1983; POULSON,WHITE, 1969). O clima no interior das cavernas é constante e pouco variável quando comparado com o do ambiente superficial. Possui atmosfera úmida, independente de sua altitude e latitude, pouca carga de nutrientes orgânicos e extensa área de superfícies minerais (POULSON, 1969; JURADO et al., 2010).

4.2 Microrganismos e Cavernas

4.2.1 Os microrganismos associados a cavernas

Os microrganismos ocupam todos os nichos da biosfera, incluindo os habitats subterrâneos. Há pouca informação na literatura sobre as comunidades microbianas presentes em cavernas e algumas informações restringem-se a algumas regiões (JURADO et al., 2010).

No ambiente subterrâneo geralmente pode-se encontrar uma microbiota distinta e os microrganismos fazem parte da biodiversidade da caverna e desempenham um importante papel ecológico. Os microrganismos podem servir como alimento, controlar a população de animais e estar envolvidos na ciclagem de nutrientes (TAYLOR, STOIANOFF, FERREIRA 2013; JURADO et al., 2010). Além disso, podem estar associados a diversos processos no ambiente onde estão inseridos, dentre eles pode ser destacado o processo de espeleogênese.

Podemos encontrar microrganismos oportunistas e patogênicos, desde bactérias, vírus, protozoários, grande variedade de fungos e interações entre os mesmos no ambiente subterrâneo (TAYLOR et al., 2009). A maioria das espécies isoladas de cavernas são saprófitas do solo, geralmente encontrados próximos da entrada. Provavelmente muitas espécies são transportadas para dentro das cavernas por animais ou pelo vento, ou porque podem crescer em detritos orgânicos encontrados em regiões de entrada (SHAPIRO, PRINGLE, 2010).

O conhecimento sobre a dinâmica das cavernas se torna uma ferramenta de grande importância para a preservação das mesmas. O isolamento, caracterização de biodiversidade e conservação da microbiota cavernícola pode levar a identificação de novas espécies e a obtenção de linhagens de interesse biotecnológico (TAYLOR et al., 2009).

4.2.2 Fungos e cavernas

Os fungos são componentes críticos dos ecossistemas, funcionando como decompositores (Figura 1a), mutualistas e patógenos (SHAPIRO, PRINGLE, 2010). Segundo Nováková (2009), os fungos ocorrem em vários substratos em cavernas (Figura 1b), tais como sedimentos, vermiculações, fezes de morcego e/ou guano, material orgânico em decomposição, espeleotemas, ar, água etc. A distribuição generalizada contribui para um importante papel nas estratégias de alimentação da fauna cavernícola.



Figura 1a): Fungo atuando como decompositor, Gruta Túneis- Lagoa Santa- Minas Gerais. b) : Fungo se desenvolvendo em substrato em caverna, Gruta da Piedade- Caeté- Minas Gerais- Foto: Luciano Emerich Faria.

Em um estudo sobre revisão e distribuição das principais espécies de fungos em cavernas no mundo, foram encontradas 1.029 espécies pertencentes a 518 gêneros de fungos, limo, bolores e leveduras. Alguns trabalhos decorrem apenas de em uma visita enquanto outros abrangem vários anos de estudo, sendo que foram revisados 225 estudos distribuídos em vários países (VANDERWOLF et al., 2013) (Figura 2). Dos gêneros de fungos relatados foram encontrados 69,1% pertencentes ao Filo Ascomycota, 20% ao Filo Basidiomycota, 6,6% ao Filo Zygomycota, 2,6% ao Filo Mycetozoa, 1% ao Filo Oomycota, e 0,8% outros

(Amoebozoa, Chytridiomycota, Microsporidiomycota e Percolozoa) (VANDERWOLF et al., 2013).

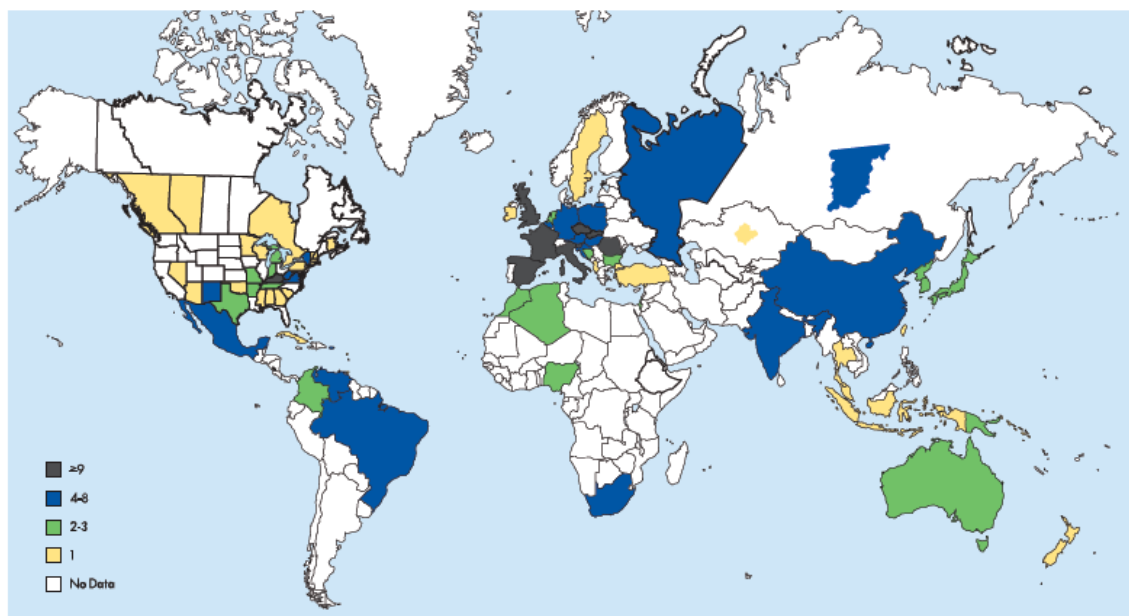


Figura 2. Distribuição de 225 estudos sobre fungos, leveduras e bolores de lodo encontrados em cavernas ou minas. Cada local foi categorizado em: nenhum estudo, um estudo, 2-3 estudos, 4-8 estudos, ou ≥ 9 estudos. Um estudo pode representar a documentação de uma ou varias espécies (VANDERWOLF et al.,2013).

O solo enriquecido com guano é um dos substratos mais importantes para fungos em cavernas, junto com resíduos vegetais, carcaças e outros detritos orgânicos (NIEVES-RIVERA et al., 2009). A atividade microbiana em cavernas vai desde a gosma viscosa à deposição mais sutil de calcita ou alteração da rocha de superfície (BARTON, 2006).

Em alguns estudos foram documentados micorrizas, embora não identificadas, a partir das raízes das plantas que penetram em cavernas rasas (LAMONT, LANGE, 1976; JASINSKA, KNOTT, MCCOMB,1996).

Algumas espécies de fungo podem parasitar insetos e além disso, muitos contribuem para formação de espeleotemas. Em um estudo realizado por Vaughan et al. (2011) foram isoladas 53 especies de fungos em espeleotemas, sendo que a maioria pertence aos gêneros *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Phialophora* e *Aspergillus*. Os fungos que crescem em minerais desempenham papéis importantes na superfície das rochasn como desagregação biológica de substrato mineral através da separação física de partículas e atividade excretora secundária de metabólitos e ácidos orgânicos. Esses metabólitos alteram o pH do microambiente, podendo

mudar a energia de íons na matriz da superfície. Nos processo de dissolução da rocha, os fungos, além de oferecer um ambiente físico adequado, mobilizam nutrientes para os microrganismos que habitam os substratos minerais (VAUGHAN, MAIER, PRYOR, 2011).

A fauna do local também pode ser considerada um recurso importante de nutrientes e algumas espécies são específicas para um determinado hospedeiro ou substrato no interior da caverna. Existem trabalhos não publicados sobre fungos encontrados em peixes, anfíbios, répteis e aves (VANDERWOLF et al., 2013; SHAPIRO, PRINGLE, 2010).

A microbiota cavernicola é sensível a mudanças. Com a entrada de fontes orgânicas várias espécies de fungos encontrados nas cavernas vão proliferar de forma oportunista quando apresentados a uma fonte de alimento (vegetação, carcaças, químicos) (CUBBON, 1976). A maioria dos fungos encontrados em cavernas não se origina do ambiente subterrâneo e advém muitas vezes de fontes externas, como correntes de ar, que entram e circulam, podendo distribuir esporos do ambiente epígeo (VANDERWOLF et al., 2013).

Alguns fungos encontrados em cavernas, que não são cultivados, podem não crescer nelas, mas estar presentes em forma de esporos carreados pela água, ar e alguns animais (VANDERWOLF et al., 2013).

Os fungos não são distribuídos de forma uniforme pela caverna. Sua distribuição é influenciada pela susceptibilidade dos hospedeiros e pelas condições do ambiente como, pH, umidade, temperatura, disponibilidade de água e de nutrientes. Alguns estudos mostraram que muitos fungos e bactérias são encontrados com mais frequência no solo da caverna do que nas paredes, por causa do grande acúmulo de matéria orgânica no local (VANDERWOLF et al., 2013).

A diversidade de fungos pode ser influenciada pela atividade antrópica. Um estudo realizado por Shapiro e Pringle (2010) demonstrou que locais com baixa perturbação podem ter pouca ou nenhuma presença de fungos. Já quando há grande perturbação humana ocorre baixa riqueza de espécies, ou seja, parece que se pesado o tráfego humano presente em algumas partes de um sistema de cavernas, a diversidade persistirá em outras partes da caverna. Uma grande variedade de substratos em cavernas foi determinada para fungos. O substrato que rendeu o maior número de isolados é sedimento/solo (Fig.3). O ar também tem sido muito estudado, tendo em vista a preocupação da qualidade do mesmo nas cavernas (VANDERWOLF et al., 2013).

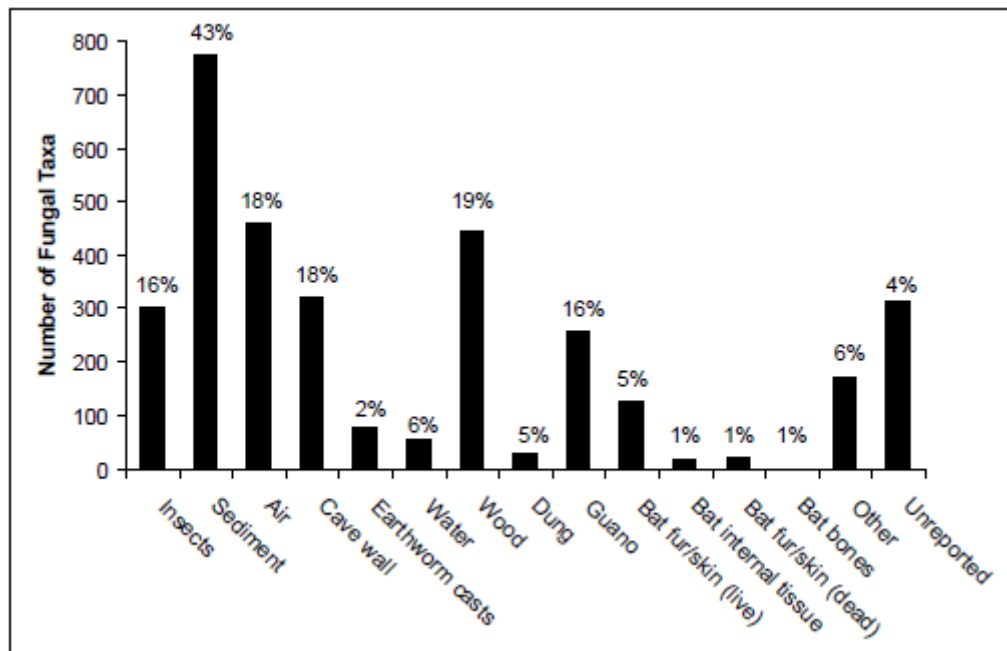


Figura 3: Número da taxa de fungos encontrados em vários substratos de cavernas (VANDERWOLF et al., 2013).

Podemos ainda associar certos tipos de microrganismo ao guano de morcegos. Estes assumem uma grande importância no que diz a sua ecologia, já que participam da teia alimentar e se associam a outras comunidades contribuindo para a ciclagem de matéria orgânica. Os fungos, além de fazer parte dessa interação ecológica, podem ser consumidos por invertebrados cavernícolas (FERREIRA, NONAKA, ROSA, 2000).

Muitas vezes, quando as condições são apropriadas, os microrganismos podem crescer como uma colônia grande o suficiente para ser observados a olho nu. Às vezes, essas colônias podem ser mais aparentes através da deposição simultânea de minerais (como calcita), criando um contraste contra a base de acolhimento. Essas colônias microbianas são particularmente evidentes em áreas onde escorrem água. Quando o microrganismo cresce em superfícies, eles podem acabar alterando a composição química da rocha e conseqüentemente a sua coloração (BARTON, 2006).

O Trabalho realizado por Taylor et al. (2009) sobre levantamento de fungos filamentosos em cavernas da caatinga, amostrou espécies relevantes para o ambiente. As espécies *Emericella rugulosa* considerada importante pela disponibilização de fósforo no solo, *Aspergillus flavus* considerada entomopatogênica, acometendo coleópteros e hemípteros (ASSAF, HALEEM, ABDULLAH, 2011), *Paecilomyces lilacinus*, utilizado no controle biológico de nematóides (SANTIAGO et al., 2006) e as espécies *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus sclerotiorum* e

Aspergillus flavus, que são produtoras de toxinas (afatoxinas e ocratoxinas) que podem ser toxigênicas ao ser humano e animais.

A maioria dos fungos encontrados em cavernas são guanofílicos, ou seja, crescem nas fezes ou no solo enriquecido com guano de morcego. Em um estudo realizado por Riviera et al. (2009) em cavernas de Puerto Rico, foram isoladas 23 espécies de fungos guanofílicos, entre elas a espécie *Mycelia sterilia* (fig 4) que tem caráter endofítico e pela sua morfologia pode ser confundida com espeleotema helictites de aragonita.



Figura 4: *Mycelia sterilia* no guano de morcego em Cueva La Catedral Porto Rico (NIEVES-RIVERA et al., 2009).

Em um estudo realizado na Gruta da Lavoura em Minas Gerais, avaliou-se a relação de abundância e riqueza de fungos encontrados em depósitos de guano de morcegos hematófagos. Foi encontrado 53 morfotipos de fungos, sendo 10 leveduriformes e 43 filamentosos. As três leveduras identificadas foram *Candida blankii*, *Candida rugosa* e *Candida krusei* (FERREIRA, NONAKA, ROSA et al., 2000).

4.2.3 Fungos patogênicos associados a cavernas

A maioria das doenças infecciosas adquirida em cavernas é causada por agentes ligados a fauna deste ambiente. As características do ambiente podem levar ao aumento de acidentes como quedas, contusões, escoriações, cortes e fraturas facilitando o acometimento, principalmente dos espeleólogos por agentes causadores de doença

(IGREJA, 2011). Os morcegos que podem ser considerados animais troglóxenos e estão ligados a transmissão de várias doenças em cavernas, como leptospirose, febre hemorrágica de Marburg e a Histoplasmose (IGREJA, 2011).

Muitos fungos patogênicos podem estar associados ao ambiente cavernícola. O nível de virulência destes microrganismos pode variar entre as espécies, levando em consideração as características do nicho ecológico e pressões seletivas do meio podem levar a adquirir ou desenvolver fatores de patogenicidade (JURADO et al., 2010).

Um estudo sobre o levantamento de fungos patogênicos e oportunistas encontrados em cavernas, realizado por Jurado et al. (2010), demonstrou que alguns fungos dermatófitos como *Microsporium gypseum* e *Trichophyton mentagrophytes* foram isolados de solos de cavernas habitadas por morcegos. Em alguns casos foram descritos o fungo *Geomyces destructans* acometendo principalmente morcegos com a “síndrome do nariz branco” uma doença que se espalhou em cavernas dos Estados Unidos (JURADO et al., 2010). Em um estudo realizado por Taylor, Stoianoff e Ferreira (2013) na Gruta Lapa Nova em Minas Gerais, Brasil, foram isolados fungos do ar ou presentes no guano de morcegos consideradas possíveis espécies patogênicas: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus ustus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Mucor* sp., *Purpureocillium lilacinum*, *Rhizopus* sp., e *Thricoderma viride*. Essas espécies já foram associadas com várias infecções fúngicas oportunistas em seres humanos (LACAZ et al., 2002), sendo a espécie *Cladosporium cladosporioides* conhecida por produzir toxinas e por ser uma espécie de alergênico forte.

Entre os verdadeiros fungos patogênicos (fungos capazes de causar doença em organismos imunocompetentes) em especial, está o *Histoplasma capsulatum*. Esta espécie pode causar histoplasmose, uma infecção respiratória sistêmica (TAYLOR, STOIANOFF, FERREIRA, 2013).

4.3 *Histoplasma capsulatum*

No Brasil, até a presente data não se tem estudos publicados que relatam sucesso no isolamento de *H. capsulatum* em ambientes subterrâneos. Zamora, (1997) relatou o isolamento do fungo em solo da caverna de Águas Buenas em Puerto Rico. Foram coletadas amostras do solo em diferentes estações e medidas de pH e temperatura foram mensuradas a cada amostra. Também foi levado em consideração a presença de colônias de morcegos no local e a profundidade em que o solo era amostrado. *Histoplasma capsulatum* foi isolado de

apenas um local entre os 19 escolhidos para esta finalidade. Isto significa que o fungo tem uma distribuição altamente localizada nos solos e que as amostras mais profundas deram melhores resultados para o seu isolamento. O trabalho ressaltou que a presença de nutrientes, umidade do solo e ar, pH ideal, textura do solo, ação de insetos, ausência de argila mineral e presença de morcego, são fatores ecológicos que fazem de uma caverna, um local habitável para *H. capsulatum* (ZAMORA, 1977).

4.3.1 Etiologia

Duas variedades do *Histoplasma capsulatum* são hoje conhecidas: a var *capsulatum* e a var *duboisii*. Ambas são heterotáticas e indistinguíveis em sua forma miceliana (Fig 5a), porém diferem na forma leveduriforme (Fig 5b); na variedade *duboisii*, as células são maiores e têm paredes mais espessas que na variedade *capsulatum* (FERREIRA, BORGES, 2009). As variedades são patogênicas: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* é o agente causador da histoplasmose clássica e *H. capsulatum* var. *duboisii* é a causa etiológica para histoplasmose Africana (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006).

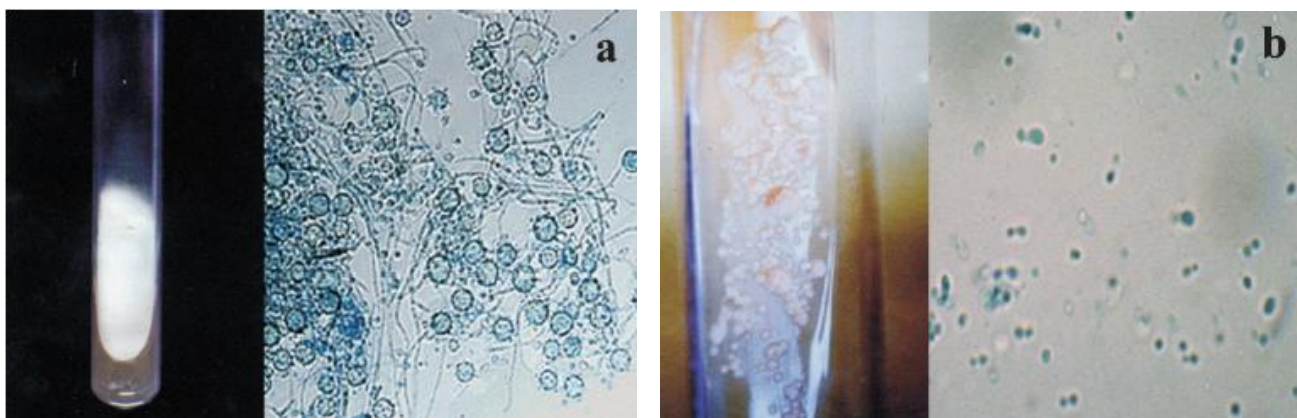


Figura 5. Culturas de *Histoplasma capsulatum*. a) forma miceliana, b) forma leveduriforme (GUIMARÃES, NISANCHUK, OLIVEIRA, 2006).

O fungo *H. capsulatum* é comumente encontrado em sua forma filamentosa no ambiente. Ele cresce em locais ricos em nitrogênio (guano e solo) e pH maior do que 5, produz macro e micro conídios (TAYLOR, STOIANOFF, FERREIRA, 2013). In vitro o fungo pode crescer bem em vários meios de cultura, como Agar Sabouraud, ágar batata-glicosado, lactrimel de Borelli ou no ágar extrato de terra (FERREIRA, BORGES, 2009). As colônias são

inicialmente lisas, mas tornam-se filamentosas, felpudas, e acastanhadas com a idade. Microscopicamente, eles são compostos de hifas hialinas septadas e ramificadas com micro e macroconídios em vários estádios de desenvolvimento. As leveduras são pequenas, ovaladas e geralmente com gemulação única (Fig. 6) (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006; FERREIRA, BORGES, 2009).

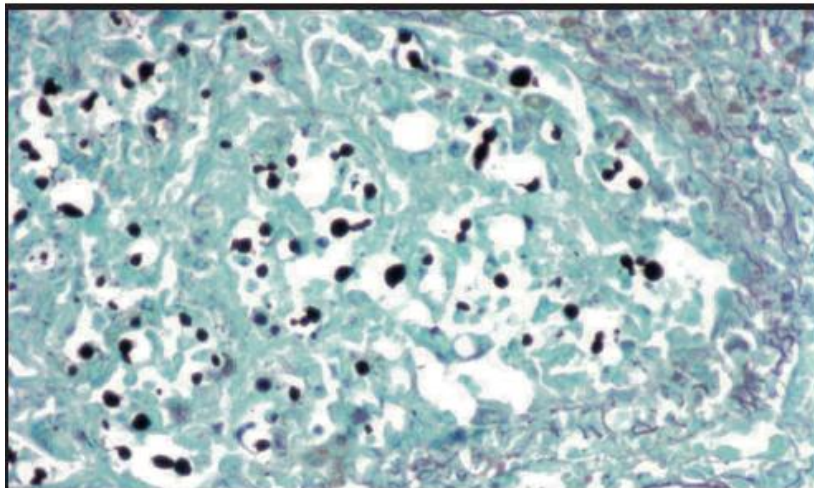


Figura 6: Forma leveduriforme do *Histoplasma capsulatum* (coloração prata metenamina de Grocott) (FERREIRA, BORGES, 2009).

4.3.2 Epidemiologia

A Histoplasmose é amplamente distribuída no continente americano. É uma micose cosmopolita com áreas de alto endemismo (Fig.7). Na América Latina é encontrado principalmente na Venezuela, Equador, Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006). A variedade *duboisii* é encontrada apenas áreas em tropicais da África.



Figura 7: Distribuição de histoplasmose na America do sul. (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006).

No Brasil a doença começou a ter mais importância nos anos 80 e 90, associada a pacientes imunossuprimidos. Epidemias de histoplasmose aguda têm ocorrido em áreas endêmicas após a exposição a ambientes contaminados, principalmente em cavernas habitadas por morcegos (FERREIRA, BORGES, 2009).

No Brasil as áreas endêmicas estão localizadas nas Porções do Centro-Oeste e Sudeste do país, onde a prevalência varia de 4,4-63,1% e 3,0-93,2%, respectivamente (Fig. 8).

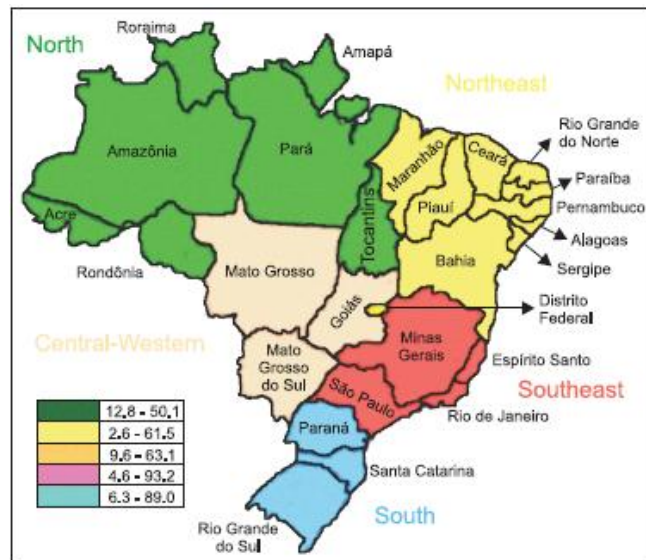


Figura 8: Distribuição de histoplasmosse no Brasil. (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006).

Geralmente o clima moderado e taxas de umidade constantes propiciam o desenvolvimento do agente (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006).

4.3.3 Transmissão e Patogênese

O ar úmido das cavernas uma vez contaminado por *H. capsulatum* também pode ser considerado um fator de risco, podendo estar associado ao guano de morcegos, sendo sua principal fonte de transmissão (JULG et al., 2008).

Morcegos, ao contrário dos pássaros, podem tornar-se infectados com *H. capsulatum* a gravidade da doença. As manifestações, após exposição por inalação primária variam, dependendo da intensidade de exposição e a imunidade do hospedeiro (IGREJA, 2011). O tipo de infecção causada esta relacionada com a ocupação e atividade desenvolvida pelo indivíduo, alguns fatores como frequência da exposição em ambiente contaminado, a carga fúngica, a virulência do fungo e o estado imunológico do indivíduo pode contribuir para a gravidade da infecção. Algumas atividades estão propicias a esse tipo de contato com o agente infeccioso: construção, demolição, turismo ecológico, atividades ligadas à avicultura e principalmente a espeleologia (VICENTINI et al., 2012).

Oliveira e Wanke (1986) isolaram *H. capsulatum* de animais silvestres no município de Rio de Janeiro. Foram estudados 103 animais, incluindo 77 roedores, 24 marsupiais e 18 cuícas. O fungo foi isolado de uma espécie de roedor (*Rattus rattus*) e 2 cuícas (*Metachirus opossum*).

As três cepas isoladas iniciaram seu crescimento entre 7 e 15 dias sobre fragmentos de fígado e baço, apresentando-se sob forma de colônia filamentosa. Todos os animais capturados apresentavam aspecto saudável, sem lesões macroscópicas que chamassem atenção. Os resultados do estudo confirmaram o papel dos animais como marcadores geográficos da histoplasmose, sugerindo que áreas que apresentam animais infectados sejam endêmicas da doença. No mesmo ano os autores do trabalho anterior, Oliveira e Wanke (1986) demonstraram um índice de contaminação do solo por *H. capsulatum* no município de Rio da Prata. Foram analisadas 111 amostras de solos de diferentes locais como: cachoeiras e currais, grutas naturais e artificiais, galinheiros e ocos de árvores. Das 78 amostras coletadas em galinheiros, 8 estavam contaminadas com o fungo. O solo realiza um importante papel epidemiológico nesta micose sistêmica.

A histoplasmose é transmitida através da inalação de poeira e aerossóis contendo conídios de *H. capsulatum*. A maioria dos conídios chegam intactos aos alvéolos pulmonares, estimulando uma resposta inflamatória no hospedeiro. O fungo, que no organismo está presente em sua forma leveduriforme se multiplica no interior das células do sistema macrofágico-linfóide e a partir dos pulmões se dissemina para circulação sistêmica, podendo produzir focos inflamatórios em outros órgãos (FERREIRA, BORGES, 2009).

O dimorfismo de *H. capsulatum* é o principal fator de virulência, para os quais diferentes genes são expressos durante a transformação da fase micelial a leveduriforme (ALEMAN, 2009). O *Histoplasma capsulatum* pode ser considerado um dos patógenos oportunistas mais importantes do homem. O quadro clínico da doença pode apresentar alguns tipos de infecções como a pulmonar aguda, que geralmente é assintomática e manifesta-se normalmente no trato respiratório com sintomas comuns de febre, calafrios, cefaléia, mialgias, hiporexia, tosse, dispnéia e dor torácica. A aspiração de um número considerável de conídios pode levar a um quadro de infecção aguda pulmonar com nódulos calcificados disseminados nos pulmões (FERREIRA, BORGES, 2009).

A doença, em sua forma crônica é mais comum acometer indivíduos com histórico de tabagismo ou com doenças respiratórias. A histoplasmose pulmonar crônica pode progredir lentamente para uma forma mais grave acometendo os pulmões. Nesse tipo de infecção observa-se a presença de febre baixa, perda de peso, sudorese noturna, dor torácica, tosse hemoptóica, ou seja, um quadro semelhante à tuberculose pulmonar (FERREIRA, BORGES, 2009).

Pacientes imunocomprometidos, com linfomas, transplantados renais, cardíacos e hepáticos, em uso de altas doses de corticosteróides e, particularmente, doentes com AIDS podem desenvolver quadros graves de histoplasmose disseminada. A forma clínica, portanto, apresentada pelos indivíduos que se infectam, está na dependência da resposta imune, embora o tamanho do inóculo inalado também tenha sua importância (ALEMAN, 2009)

4.3.4 Principais formas de diagnóstico

A escolha de cada teste a ser aplicado para diagnóstico depende principalmente das manifestações da doença. Os métodos são usados em conjunto com a cultura para melhorar a capacidade de diagnóstico de infecção por *H. capsulatum* e também poder orientar uma melhor terapia para histoplasmose (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006).

A cultura baseia-se no isolamento e identificação de espécies de *H. capsulatum*. O isolamento do fungo pode ser feito em ágar Sabouraud, após incubação a 25°C de 6 a 12 semanas. A conversão da fase filamentosa para a fase de levedura é necessário para um diagnóstico preciso. É utilizado um meio enriquecido como o ágar sangue ou ágar de infusão de cérebro-coração (BHI) com cisteína incubados a 35-37°C. No entanto, *H. capsulatum* não converte facilmente, dependendo da exigência de nutrientes e condições de temperatura (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006).

A histopatologia é uma forma segura para se realizar o diagnóstico e pode ser obtida de material de biopsias de pele ou mucosas, pulmão, medula óssea e fígado. Os microrganismos podem ser observados no interior das células fagocíticas sendo necessária coloração especial como Gomori-Grocott e PAS (Ácido Periódico Schiff) (FERREIRA, BORGES, 2009).

Testes de detecção de antígeno é um método muito útil. Durante a infecção com *H. capsulatum*, o antígeno pode ser liberado pelas células fúngicas e detectado em fluidos corporais como soro, líquido pleural, líquido de lavagem bronco alveolar, líquido cefalorraquidiano e urina. A técnica empregada é o radioimunoensaio (GUIMARÃES, NOSANCHUK, OLIVEIRA, 2006; FERREIRA, BORGES, 2009).

4.3.5 Tratamento

A terapêutica da histoplasmose pode variar de acordo com o quadro clínico, diagnóstico e estado imunológico do paciente. O *Histoplasma capsulatum* é sensível a vários antifúngicos, tais como anfotericina B, cetoconazol, itraconazol e fluconazol (FERREIRA, BORGES, 2009).

Em casos de Histoplasmose pulmonar aguda e suas complicações, a maioria dos pacientes acometidos por esta forma clínica mostra resolução espontânea do quadro clínico, laboratorial e radiológico, sem necessidade de tratamento específico; este estaria indicado nos indivíduos cujos sintomas não melhoram após duas a três semanas de duração, ou se apresentam desde o início com sinais de grave envolvimento pulmonar ou sistêmico. A droga de escolha é o itraconazol, por via oral (FERREIRA, BORGES, 2009)

Na terapia primária da histoplasmose disseminada, particularmente nos pacientes com AIDS, a anfotericina B é a droga de escolha. Cerca de 75-80% dos pacientes mostram remissão completa das manifestações clínicas, mas as recidivas são comuns quando a droga é suspensa. Há necessidade de manutenção da terapêutica a longo prazo pois é necessária para evitar a remissão clínica nestes pacientes (FERREIRA, BORGES, 2009).

4.3.6 Casos de histoplasmose relacionados à espeleologia

A Histoplasmose há muito tempo tem sido conhecida como uma doença comum entre espeleólogos. Surtos de histoplasmose são relatados entre viajantes após viagens e visitas em cavernas infestadas de morcegos, mas podem ser relatadas em outras formas de turismo de aventura e ecoturismo e atividades recreativas (ALEMAN, 2009).

No Brasil foram descritos alguns casos clínicos de infecção por *Histoplasma capsulatum* em profissionais, pesquisadores ou turistas em cavernas.

Um estudo realizado por Anjos et al. (2007) em um Encontro de Espeleologia no Parque Estadual Turístico Alto Ribeira (PETAR), foi feito o levantamento da incidência de histoplasmose em espeleólogos e monitores ambientais do local. Neste estudo voluntários preencheram um questionário com informações epidemiológicas relacionadas a doença e doaram amostras de sangue. Os questionários continham informações relevantes como:

- Sexo;
- Idade;
- Tempo de permanência e frequência com que visitam cavernas;
- Visita a salões secos ou com presença de água;
- Contato com guano de morcegos;
- Lavagem das mãos após deixar a caverna;
- Ingestão de água encontrada no interior da caverna;
- Uso de equipamentos de proteção individual;
- Possuem comorbidades;
- Atividade ocupacional.

Foram feitos testes imunológicos para detecção do agente patogênico. Os resultados parciais mostraram que das 37 amostras de sangue analisadas através da técnica de imunodifusão, 33 apresentaram resultado negativo e 4 amostras resultados positivo. O trabalho ainda ressalta que através dos resultados obtidos é possível que os voluntários possam ter entrado em contato com o fungo, mas que no momento da amostragem os 33 indivíduos apresentaram quantidades de anticorpos detectáveis, possivelmente podendo ser portadores assintomáticos da doença. Já as 4 amostras positivas não significam que os voluntários estejam com a doença, mas que possuem quantidades expressivas de anticorpos, pois entraram em contato com o agente infeccioso.

Vicentini et al. (2012), realizaram um estudo relacionando a atividade profissional praticada em cavernas com o risco de contaminação por *H. capsulatum*. O grupo foi composto por 15 biólogos que atuam na área de zoologia e que realizam coletas de amostras de animais, rochas, plantas e solo em cavernas. Foram aplicados questionários com as seguintes questões:

- Sexo, idade, origem étnica;
- Características do local de residência (arborização, presença de aves);
- Características das cavernas visitadas;
- Tempo de permanência na caverna, local de coleta (água, sedimento, guano);
- Equipamentos de proteção (luva, máscara);
- Tipo de material coletado;

- Atividades de lazer (visitas a lugares como parques, fazendas e chácaras; práticas com terra, não relacionadas às atividades profissionais;
- Atividades e comportamento dos indivíduos no interior das cavernas (realizar ou não coleta, executar ou não escavações).

Amostras de sangue foram coletas e submetidas a testes sorológicos para análise da presença ou ausência de *H. capsulatum*. Os resultados mostraram que das 15 amostras analisadas 94,1% dos biólogos tiveram contato com o agente e que além disso, as informações do questionário ajudaram a traçar o perfil dos profissionais e as atividades relacionadas a fatores de infecções.

Alguns casos foram descritos na cidade de Pedro Leopoldo em Minas Gerais nos anos de 1997 e 1998. Quatro indivíduos que tinham a espeleologia como hobby haviam visitado uma gruta não explorada e habitada por grande quantidade de morcegos. Posteriormente apresentaram sintomas e foram diagnosticados com histoplasmose pulmonar aguda. Os indivíduos com idade entre 18 e 24 anos, todos do sexo masculino, apresentaram sintomas semelhantes como: febre cefaléia, inapetência, dores na coluna e lombar, tosse seca, etc.. O Teste de escarro realizado em um dos pacientes, demonstrou estruturas sugestivas de *Histoplasma* sp. e o exame sorológico por imunodifusão foi positivo para três indivíduos, sendo que aquele com resultado negativo apresentou quadro de uveíte. Todos iniciaram o tratamento e apresentaram uma boa evolução (CURY et al., 2001).

Alguns casos foram descritos em 2006 quando três pesquisadores visitaram a entrada da caverna Tamana, situada na face norte da Montanha de Tamana a uma altitude de cerca de 240 m acima do nível do mar sobre o grupo da ilha de Trinidad. Os pesquisadores estudavam a ecolocação dos morcegos, que foram observados enquanto deixavam a caverna durante a noite. Na coleta, os indivíduos usaram luvas para evitar infecções. O solo em torno da entrada da gruta estava molhado e chovia esporadicamente no local. Os três pesquisadores eram do sexo masculino com idade entre 38 -42 anos. Dois deles apresentaram quadro pulmonar agudo e foram realizados exames radiológicos e microbiológicos que comprovaram a infecção por *H. capsulatum*. O terceiro pesquisador mostrou leve quadro da doença, todos foram tratados e tiveram melhora progressiva (JULG et al., 2008).

Um surto de histoplasmose grave foi relatado em 2001 por Weinberg et al. (2003) em pessoas que visitaram grutas na Nicarágua. A infecção foi diagnosticada em 14 viajantes que entraram em cavernas habitadas por morcegos. Dos viajantes, 86% dos indivíduos apresentaram sintomas e 12% dos turistas doentes tinham anormalidades pulmonares radiológicas. Todos foram hospitalizados e receberam tratamento.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O fungo *Histoplasma capsulatum* é um importante microrganismos encontrado principalmente em cavernas, um local que, por suas condições de clima, temperatura, deposição de matéria orgânica, entre outros fatores favorece o seu desenvolvimento, podendo ser encontrado em diferentes substratos e locais dentro do ambiente subterrâneo. Possui uma fácil dispersão, aumentando a chance de contaminação principalmente de profissionais da área. É considerado um agente oportunista por acometer principalmente indivíduos comprometidos imunologicamente. Por ser um fungo dimórfico, tem mais chances de se espalhar rapidamente no organismo na forma de levedura, podendo causar quadros graves de infecção, principalmente nos pulmões, alvo primário do microrganismo. A doença causada por esse agente é descrita na literatura como a doença do espeleólogo. Casos descritos de espeleólogos ou turistas que manifestaram sintomas da doença são relatados, sugerindo a relação com a ocupação dos indivíduos acometidos.

Faz se necessárias técnicas de coleta ou amostragem para um isolamento com sucesso de *H. capsulatum* em meio cavernícola a fim de se estudar melhor o microrganismo em seu ambiente natural e prevenir sua contaminação.

REFERÊNCIAS

- ALEMAN, M.A.S. Histoplasmosis, lamicosis Del viajero. Enfermedades Infecciosas y Microbiología. v. 29, n.3, 2009.
- ANJOS, D.T; NUNES, E; SOUZA, R; MOREIRA, A.V; SOUZA, M.C. Incidência de Histoplasmosse em espeleólogos e monitores ambientais do Parque Estadual Turístico Alto Ribeira (PETAR). Congresso Brasileiro de Espeleologia. Ouro Preto, MG, 2007.
- BARTON, H.A. Introduction to cave microbiology: A review for the non-specialist. Journal of cave and Karst Studies.v.68, n.2, p.43-54, 2006.
- ASSAF, L.H; HALEEM, R.A; ABDULLAH, S.K. Association of Entomopathogenic and Other Opportunistic Fungi with Insects in Dormant Locations. Jordan Journal of Biological Sciences.v.4, n.2, 2011.
- CUBBON, B.D. Cave flora. The science of speleology. London, p.423-452, 1076.
- CURY, G.C; FILHO, A.D; CRUZ, A.G; HOBAIKA, A.B.S. Surto de histoplasmosse em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v.34, n.5, p.483-486, 2001.
- FERREIRA, R.L; NONAKA, E; ROSA, C.A. Riqueza e abundancia de fungos associados ao guano de morcegos hematófagos na Gruta da Lavoura (Matozinhos, Minas Gerais). O Carste. v.12, n.1, 2000.
- FERREIRA, M.S; BORGES, A.C. Histoplasmosse. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v.42, n.2, p. 192-198, 2009.
- GUIMARAES, A.J; NOSANCHUK, J.D; OLIVEIRA, R.M.Z. Diagnosis of Histoplasmosis. Brazilian Journal of Microbiology. v.37, n.1, 2006.
- HOWARTH, F. G. Ecology of cave arthropods. Annual review of Entomology. v. 20, p.365-369,1983.
- IGREJA, R.P. Infectious Diseases associated with caves. Wilderness e Environmental medicine.v.22, p.115-121, 2011.
- JASINSKA, E.J; KNOTT, B; MCCOMB, A.J. Root mats in groudns water: a fauna-rich cave habitat. Journal of the North American Benthological Society. v. 15, n. 4, p. 508-519, 1996.
- JURADO, V; LAIZ, L; NAVA, V.R; BOIRON, P; HERMOSIN, B; MORAL, S.S; JIMENEZ, C.S. Pathogenic and opportunistic microorganisms in caves. International journal of speleology. Italy, v.39, n.1, p.15-24, 2010.
- JULG, B; ELIAS, J; ZAHN, A; KOPPEN, S; GAAB, C.B; BOGNER, J.R. Bat Associated Histoplasmosis Can Be Transmitted at Entrances of Bat Caves and Not Only Inside the Caves. Journal of Travel Medicine.v.15, n.2, p.133-136, 2008.

LACAZ, C.S; PORTO, E; MARTINS, J.E.C; VACCARI, E.V; MELO, N.T. Tratado de Micologia Médica. 9 ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LAMONT, B.B; LANGE, B.J. Stalagmiform roots in limestone caves. *New phytologist*.v.76, n. 2, p. 353-360, 1976.

NOVÁKOVÁ, A. Microscopic fungi isolated from de Dominica Cave system (Slovak Krarst National Park, Slovakia). A review.*International journal of speleology*.v.38, n.1, p.71-82, Italy, 2009.

OLIVEIRA, R.M.Z; WANKE, B. Isolamento do *Histoplasma capsulatum* de animais silvestres no município do Rio de Janeiro. Instituto Oswaldo Cruz. Departamento de Micologia. *Cadernos de saúde pública*. v.2, n.1, p. 42-52, 1986.

OLIVEIRA, R.M.Z; WANKE, B. Distribuição das fontes de infecção do *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* em Rio da Prata município- de Rio de Janeiro. *Revista do instituto de medicina tropical de São Paulo*.v. 29, n.4, p. 243.250, 1987.

POULSON, T.L; WHITE, W.B. The cave environment.*Science*.v.165, n. 3867, p.971-980, 1965.

RIVIERA, A.M.N; FLORES, C.J.S; DUGAN, F.M; MILLER, T.E. Guanophilic fungi in three caves of southwestern Puerto Rico. *International journal of speleology*. v. 38, n.1, p.61-70, Italy, 2009.

SANTIAGO, D.C; HOMECHIN, M; SILVA, J.F.V; RIBEIRO, E.R; GOMES, B.C; SANTORO, P.H. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. *Revista Rural*. v.36, n.4, 2006.

SHAPIRO, J; PRINGLE,A. Anthropogenic influences on the diversity of fungi isolated from caves in Kentuchy and Tennessee. *The American midlandnaturalist*. v.163, n.1, p.76-86, 2010.

TAYLOR, E.L.S; FERREIRA, R.L; SILVA, D; CANESTRI, G.B; BATISTA, L.R. Levantamento e distribuição mínima de fungos filamentosos em cavernas da caatinga brasileira. *Anais do III Congresso Latino Americano de ecologia*. Minas Gerais, 2009.

TAYLOR, E.L.S; STOIANOFF, M.A.R; FERREIRA, R.L. Mycological study for a management plan of a neotropical show cave (Brazil). *International journal of speleology*. v. 43, n.3, p.267-277, 2013.

VANDERWOLF, K.J; MALLOCH, D; MCALPINE, D.F; FORBES, J.G.A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves. *International journal of speleology*. USA, v.42, n.1, p.77-96, 2013.

VAUGHAN, M.J; MAIER, R.M; PRYOR, B.M. Fungal communities on speleothem surfaces in Kartchner Caverns, Arizona, USA. International journal of speleology. USA, v.40, n.1, p. 65-77, 2011.

VICENTINI, A.P; PASSOS, A.N; SILVA, D.F; BARRETO, L.C; ASSIS, C.M; FREITAS, R.S. Histoplasmosose: um risco ocupacional entre pesquisadores que realizam trabalho de campo? Revista Instituto Adolfo Lutz. v.71, n.4, p. 747-752, 2012.

WEINBERG, M; WEEKS, J; PARKER, S.L; TRAEGER, M; WIERSMA, S; PHAN, Q; DENNISSON, D; MACDONALD, P; LINDSLEY, M; GUARNER, J; CONNOLLY, P; CETRON, M; HAJJEH, R. Severe Histoplasmosis in Travelers to Nicaragua. Emerg. Infect. Diseases.v.9, n.10, p. 1322-1325, 2003.

ZAMORA, J.R.C. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil in the Aguas Buenos caves, Aguas Buenos, Puerto Rico.I. an Approach. Mycopathologia.v.60, n.3, p. 157-161, 1977.