

HISTOPLASMOSIS EPIDEMICA

II. HALLAZGOS EN LA CUEVA DEL EDEN (CUNDAY, TOLIMA)

ELIZABETH CASTAÑEDA,* ALBERTO CADENA,** ALVARO AGUILERA,*** LUZ HELENA SANIN,****
LIBERO AJELLO,***** ROBERT T. WEEKS,***** VLADIMIR CORREDOR,*****
MAURICIO RESTREPO.*****

Se informa el estudio realizado en la Cueva del Edén (Cunday, Tolima) para aislar, de las tierras de la cueva y de murciélagos allí capturados, al *Histoplasma capsulatum*, como agente causal de una anterior epidemia de histoplasmosis ocurrida entre visitantes de la cueva. El agente se aisló en 8 de las 27 muestras de tierra y guano de murciélago. Se capturaron 233 ejemplares pertenecientes a 4 géneros de murciélagos y en los cultivos, practicados en hígado, pulmón y bazo de cien de ellos, no fue posible aislar el *H. capsulatum*.

El papel de los murciélagos en la epidemiología de la histoplasmosis fue señalado inicialmente por Emmons en 1958 (1) y confirmado posteriormente en numerosas oportunidades (2-5). Como resultado de excursiones a cuevas habitadas por murciélagos suele desarrollarse la forma clínica aguda (epidémica) de la histoplasmosis, por inhalación de las formas infectantes del *Histoplasma capsulatum* que se desarrollan en el guano de estos quirópteros (6-9).

Una epidemia de histoplasmosis diagnóstica recientemente en nuestro medio, en un grupo de excursionistas que había visitado la cueva del Edén, en Cunday, Tolima (10), promovió la visita a esta cueva para tomar

muestras de guano y tierra y capturar murciélagos, con el objeto de intentar el aislamiento del agente.

MATERIALES Y METODOS

La Cueva:

La cueva del Edén es una formación geológica de la cordillera oriental, localizada en el Municipio de Cunday, Departamento del Tolima 4°04' Lat. N, 74°42' Long. W (11). La región geográfica circunvecina está considerada como bosque húmedo tropical, con un promedio anual de lluvias entre 400 y 4000mm y una temperatura media anual de 26°C (12). La cueva asciende desde su boca

* Microbióloga, M. Sc. Laboratorio de Micología Médica, INS.

** Ph. D., Jefe de la Unidad de Mastozología, Zoología, Instituto de Ciencias Naturales, Museo de Ciencias Naturales, U. Nacional.

*** M.D., MPH., Grupo de Epidemiología, INS.

**** Mycotic Diseases División, Center for Infections Diseases, Centers for Disease Control, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, Georgia 30333, U.S.A.

***** Estudiante de Biología, Universidad Nacional. Grupo de Sueros, INS.

***** M.D., Grupo de Sanidad del Ambiente, INS.

principal, a 740 metros de altura sobre el nivel del mar, hasta su boca secundaria, a 900m, en una longitud de 800m; está formada por numerosos salones que constituyen el habitat natural de varios animales y recorrida de arriba abajo por una corriente de agua que en veces se profundiza y que por trechos aflora a la superficie.

Con el objeto de tomar muestras de tierra y de guano, efectuamos un recorrido hasta la mitad de la cueva (400m), inspeccionando cinco diferentes salones que denominamos primero, segundo y tercer salón de murciélagos, salón de las estalactitas y gran salón (Fig. 1). Como medidas de precaución se emplearon cascos y overoles protectores, guantes y máscaras con filtro para partículas hasta de 2 micras.

Muestras de tierra :

1. *Recolección.* Se tomaron 27 muestras de tierra y guano en los diferentes salones (Tabla 1), empleando cucharas plásticas y bolsas debidamente identificadas.

2. *Procesamiento.* Las muestras se enviaron por correo aéreo, a la División de Enfermedades Micóticas, del Centro para Control de Enfermedades de Atlanta, Georgia, EE.UU., para ser procesadas según su metodología

(13). Allí se hizo, de cada muestra, una suspensión en solución salina fisiológica, añadiendo 1000 unidades de penicilina y 1 mgr. de estreptomycin por ml. en proporción de 1 cucharadita de muestra por 30 ml. de la solución antibiótica; la solución se agitó vigorosamente y luego de dejarse sedimentar por media hora, se tomaron con pipeta 5 ml del sobrenadante, los que fueron colocados en un tubo con tapa de caucho. Este sobrenadante se inyectó por vía intraperitoneal, en ratones a razón de 1 ml por animal. Los ratones se sacrificaron seis semanas después de haber sido inyectados y de cada uno se tomaron dos fragmentos de hígado y dos de bazo para ser sembrados en tubos con agar glucosado de Sabouraud, que contenía 0,05 mgr/ml de cloranfenicol. Los tubos se incubaron a 25°C y se examinaron periódicamente para detectar el crecimiento de *H. capsulatum*.

La confirmación diagnóstica en las colonias de aislamiento, sospechosas de ser de *H. capsulatum* se hizo por la presencia de macroconidias de pared gruesa, esféricas o piriformes (8-14 micras), de microconidias esféricas delgadas (2-4 micras) y por medio de la prueba de inmunodifusión con exoantígeno específico del género, desarrollada por Standard y Kaufman (14).

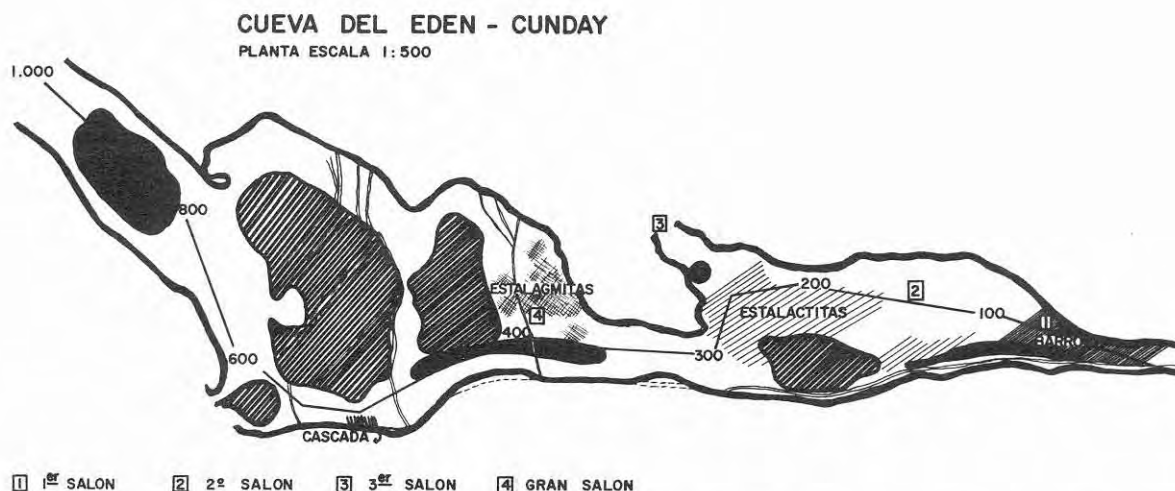


Fig. 1. Plano de la Cueva del Edén (Cunday, Tolima), planta escala 1: 500, elaborada por Campo Abierto, División de Espeleología.

TABLA 1

LOCALIZACION DE LAS MUESTRAS DE GUANO Y TIERRA TOMADAS EN
LA CUEVA DEL EDEN

Muestras		Localización
B1	1	Entrada
B2, B3	2	1o. salón de murciélagos
B4 a B7	4	2o. salón de murciélagos
B8 a B11	4	3o. salón de murciélagos
B12, B22	2	Salón de las estalactitas
B13 a B21	9	Gran Salón
B24 a B28	5	Quebrada
TOTAL =		27

Los Murciélagos

1. *Captura.* Empleando una trampa de Tuttle (15) (Figura 2), se capturaron 233 murciélagos de los cuales se guardaron 100 en bolsas plásticas individuales, en una caja con hielo seco, hasta el momento de su procesamiento, ocho días después.

2. *Proceso.* Los murciélagos se descongelaron y a cada uno de ellos se le extrajeron el hígado, los pulmones y el bazo. Estos órganos se homogeneizaron con solución salina estéril y el homogeneizado se sembró en tubos con medio de agar infusión cerebro-corazón (BBL), adicionado de cloranfenicol (0,05 mgr/ml). Los tubos se incubaron a 28°C durante dos meses, con observación semanal.

3. Todos los murciélagos se clasificaron taxonómicamente por géneros y especies.



Fig. 2. Trampa de Tuttle (15) tal como fue colocada a la entrada de la Cueva del Edén para capturar los murciélagos.

RESULTADOS

En ocho de las 27 muestras de tierra y guano (29.6%) se aisló el *H. capsulatum*; estas muestras estaban identificadas con los números B3, B5, B12, B15, B16, B17, B19 y B22.

Los murciélagos capturados correspondieron a cuatro géneros: *Carollia*, *Mormoops*, *Lonchophylla* y *Glossophaga* y su distribución por especies y número está anotada en la Tabla 2. La localización de tres géneros dentro de la cueva fue la siguiente: género *Carollia*, en el 1°. y 3er. salón; género *Mormoops*, en el gran salón y género *Lonchophylla*, a lo largo de la quebrada (ver Figura 1).

Una de las muestras recogidas correspondía a guano de unseudovampiro, *Desmodus rotundus*, especie que no fue capturada ni observada durante la visita.

Los resultados de los cultivos del hígado, pulmones y bazo de los 100 animales procesados (77 *Carollia*, 21 *Mormoops*, 1 *Lonchophylla* y 1 *Glossophaga*) fueron negativos para el hongo investigado.

HISTOPLASMOSIS EPIDEMICA

TABLA 2

CANTIDAD DE MURCIELAGOS CAPTURADOS EN LA
CUEVA DEL EDEN, POR GENERO Y ESPECIE

Género	Número
<i>Carollia perspicillata</i>	128
<i>Mormoops megalophylla</i>	98
<i>Glossophaga soricina</i>	6
<i>Lonchophylla robusta</i>	1
TOTAL	233

DISCUSION

El aislamiento del hongo a partir de las muestras de tierra y guano, se correlaciona con la evidencia serológica de infección por *H. capsulatum* y el grupo de excursionistas que había visitado la cueva y cuyos datos fueron presentados anteriormente (10).

Las muestras de las cuales se aisló el hongo provenían de sitios en toda la extensión del recorrido; sin embargo, son de gran interés las correspondientes al gran salón dado el alto porcentaje de recuperación del *H. capsulatum* en tal lugar (44%) y que debido a su amplitud, este es el sitio escogido por los excursionistas para acampar. Es de anotar que la cueva ha sido visitada desde hace varios años y que cada vez adquiere más atractivo como centro de estudio y turístico. El primer informe escrito sobre una visita a la cueva por un grupo de excursionistas data de 1954 (16); existe además un informe técnico de Cabrera en 1970 (17).

Es importante destacar el peligro de infección que representan las visitas turísticas a cuevas como la descrita, por parte de personas que ignoran por completo este tipo de riesgo y por tanto la necesidad de diseñar medidas preventivas de tipo informativo y de control sobre los aerosoles portadores del hongo en estos sitios.

La trampa utilizada, por su sencillo manejo, permitió la captura de una gran cantidad de murciélagos, que fueron fácilmente manipulados marcados y obtenidos del interior de la cueva, en donde permanecen durante todo el año. Grose y Marinkelle han registrado otros géneros de murciélagos en este mismo lugar (18), aunque es posible que se trate de murciélagos capturados en los alrededores de la cueva y no dentro de ella. Es necesario un estudio más riguroso para determinar las asociaciones de murciélagos y su dinámica.

En relación con la negatividad de los cultivos, intentados a partir de los órganos de los murciélagos, conviene anotar que la proporción de los animales naturalmente infectados es muy variable, puesto que se han informado rangos entre 0,9 y 76% de positividad (4). Tesh y colaboradores (4) encontraron 0,3% de positividad en murciélagos capturados en Colombia y Fonseca (19) informó resultados negativos.

SUMMARY

The findings of the study of the Eden cave (Cunday, Tolima) are reported, in relation to the isolation of *Histoplasma capsulatum* as agent of a former outbreak of histoplasmosis among visitors to the cave. The agent was isolated from 8 out of 27 samples of soil and bat's droppings obtained inside the cave. The cultures of liver, lung and spleen from 100 out of 233 cave's bats dwellers, belonging to 4 genera, were negative for *H. capsulatum*.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de Espeleólogos de Campo Abierto por su gran colaboración, especialmente a Ricardo Medrano, Santiago Jiménez y Carlos Onofre.

A la Bióloga Nelly Ordóñez y a los doctores Ariel Arias, María Teresa Nova y Edgar Arias por su gran ayuda en el procesamiento del material.

BIBLIOGRAFIA

1. Emmons CW Association of bats with histoplasmosis. *Publ. Hlth. Rep.* 1958; 73: 590.
2. Jackson D. Histoplasmosis. A spelunker's risk. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1961; 83: 261.
3. Marinkelle CJ, Grose E. Histoplasma capsulatum from the liver of a bat in Colombia. *Science* 1965; 147: 1039.
4. Tesh RB, Arafa AA, et al. Histoplasmosis in colombian bats. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1968; 17: 102.
5. Marinkelle CJ, Grose E. Importancia de los murciélagos para la salud pública. *Antioquia Med.* 1966; 16: 179.
6. González-Ochoa A. Histoplasmosis primaria pulmonar aguda. *Mycopathol. et Mycol. Applicata.* 1961; 15: 300.
7. Quiñones F, Koplán JP, Pike L, Staine F, Ajello L. Histoplasmosis in Belize, Central America. *Am. J. Trop. Med. and Hyg.* 1978; 27: 558.
8. Lottenberg R, Waldman RH, Ajello L, Hoff GL, Bigler W, Zellner SR. Pulmonary histoplasmosis associated with exploration of a bat cave. *Am. J. Epidemiol.* 1979; 110: 156.
9. Grose E, Marinkelle CJ, Biospeleology of the Macaregua cave (Colombia) *Mitt. Inst. Colombo-Aleman Invest. Cient.* 1970; 4: 11.
10. Castañeda E, Ordóñez N, Gamarra G, Guzmán M. Histoplasmosis epidémica. 1. Aspectos Clínicos y serológicos. *BIOMEDICA* 1981; 1: 16.
11. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. *DICCIONARIO GEOGRAFICO DE COLOMBIA*, 2ª. Edición, Bogotá 1980; pp. 495.
12. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Zonas de Vida o Formaciones Vegetales de Colombia. Memoria Explicativa sobre el Mapa Ecológico. Bogotá, 1977 Vol. XIII, No. 11.
13. Ajello L, Hosty TS, Palmer J. Bat histoplasmosis in Alabama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1967; 16: 329.
14. Standard PG, Kaufman L. Specific immunological test for the identification of members of the genus Histoplasma. *J. Clin. Microbiol.* 1976; 3: 191.
15. Tuttle MD. An improved trap for bats. *J. Mamm.* 1974; 55: 475.
16. Arciniegas de Giraldo J. Expedición a las cuevas de Cunday. *BOLETIN DE LA SOCIEDAD GEOGRAFICA DE COLOMBIA.* 1954; 12: 67.
17. Cabrera W. La Cueva de Cunday. *BOLETIN DE LA SOCIEDAD GEOGRAFICA DE COLOMBIA.* 1970; 27: 17.
18. Grose E. Comunicación personal.
19. Fonseca JC, Cadavid MV. Búsqueda de Histoplasma capsulatum en la caverna de Nus. *Antioquia Med.* 1971; 21: 23.