

ENCUESTA EPIDEMIOLOGICA DE HISTOPLASMOSIS, PARACOCCIDIOIDOMICOSIS Y LEISHMANIASIS MEDIANTE PRUEBAS CUTANEAS¹

*Roberto D. Naiff,² Toby V. Barrett,²
Jorge R. Arias² y Maricleide F. Naiff²*

INTRODUCCION

El complejo hidroeléctrico Tucuruí está ubicado sobre el río Tocantins, en el estado de Pará, Brasil, aproximadamente en los 4° de latitud sur y 50° de longitud oeste. La región es una selva húmeda con temperaturas mensuales medias de 27 °C, una precipitación pluvial anual de 2 200 mm con déficit estacional, y suelos ácidos. Estas características se han descrito con más detalle en otro trabajo (1). La encuesta que se describe en este artículo se llevó a cabo en julio de 1983 en la comunidad aledaña de Vila Repartimento, sobre la carretera transamazónica (BR-230, Marabá-Altamira). En esa época el poblado iba a ser inundado por las aguas del embalse de la presa hidroeléctrica mencionada y

ya estaba en marcha la reubicación de los habitantes en Novo Repartimento, a unos 14 km. Se asignaron parcelas de selva virgen a la población reubicada, que inició la roza para la explotación agrícola de autoabastecimiento. La comunidad se dedica casi por completo a la agricultura y todos los días está en contacto con la selva.

La encuesta mediante pruebas cutáneas se ideó con un doble propósito. El primero consistió en complementar los estudios parasitológicos y entomológicos sobre micosis (paracoccidiodomicosis e histoplasmosis) y leishmaniasis en la zona de la presa hidroeléctrica Tucuruí; en particular, se trató de investigar la relación de los resultados de las pruebas cutáneas con las características específicas de la población estudiada y los antecedentes individuales de infección recogidos mediante un cuestionario. El segundo objetivo fue averiguar si los reactivos usados en las pruebas cutáneas pueden realmente ser útiles en los estudios epidemiológicos.

¹ La investigación en que se basa este artículo se llevó a cabo según el convenio entre Centrales Eléctricas del Norte del Brasil, S. A. (ELETRONORTE), Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq) e Instituto Nacional de Investigaciones de la Amazonia (INPA) (subproyecto "Enfermedades endémicas") del 30 de enero de 1980.

² Instituto Nacional de Investigaciones de la Amazonia, Departamento de Patología Tropical. Dirección postal: Caixa postal 478, 69011 Manaus, Amazonas, Brasil.

MATERIALES Y METODOS

De los 1 589 habitantes que tenía Vila Repartimento en 1983 (2), participaron en el estudio 400 sujetos de 10 años o más (cuadro 1). Cada uno contestó un breve cuestionario con detalles sobre edad, sexo, estado de origen, años de residencia en Vila Repartimento, ocupación, tipo de actividades que lleva a cabo en la selva y antecedentes de enfermedades infecciosas.

Pruebas cutáneas

Las pruebas se llevaron a cabo durante el período comprendido entre el 15 de julio y el 1 de agosto de 1983; en 1984 y 1985 se repitieron las pruebas en varios sujetos seleccionados, usando los mismos antígenos.

CUADRO 1. Composición de la muestra (n = 400)

Edad (años)	Varones		Mujeres	
	No.	%	No.	%
10-14	33	8,3	42	10,5
15-19	24	6,0	29	7,3
20-24	23	5,8	21	5,3
25-29	19	4,8	22	5,5
30-34	26	6,5	21	5,3
35-39	15	3,8	19	4,8
40-44	13	3,3	21	5,3
45-49	14	3,5	9	2,3
50-54	7	1,8	4	1,0
55-59	8	2,0	4	1,0
60-64	8	2,0	2	0,5
65-69	7	1,8	2	0,5
70-74	3	0,8	2	0,5
75-79	0	0	0	0
80-84	2	0,5	0	0
Total	202	50,5	198	49,5

En nuestro laboratorio se elaboró un reactivo, que en lo sucesivo llamaremos leishmanina del INPA, a partir de promastigotes de *Leishmania mexicana amazonensis*, cepa IM-328, cultivados en un medio de agar sangre sobre una membrana de diálisis (3). Se preparó en una solución salina al 8,9% mezclada con tiomersal (Merthiolate, Eli Lilly and Co., Indianápolis, EUA) en proporción de 1:10⁴, para obtener una concentración final de 5 × 10⁶ microorganismos por mililitro. En algunos sujetos se realizaron pruebas paralelas empleando otra leishmanina, proporcionada por Wilson Mayrink (lote C, 40 µg de nitrógeno por mililitro; Fundación de Apoyo a las Investigaciones Parasitológicas e Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte). Este producto, que en adelante denominaremos leishmanina de Belo Horizonte, se preparó con una mezcla de cepas de *Leishmania brasiliensis brasiliensis*, *Leishmania brasiliensis guyanensis*, *Leishmania mexicana mexicana* y *Leishmania mexicana amazonensis* (W. Mayrink, comunicación personal).

El filtrado de histoplasmina al 1:500 obtenido de cultivo miceliano fue proporcionado por Celeste Fava Netto, de la Universidad de São Paulo, quien preparó el antígeno según el método descrito en otra publicación (4). También suministró el antígeno polisacárido de paracoccidioidina al 1:8, preparado con diversas cepas de *Paracoccidioides brasiliensis* (5-7).

Se inoculó por vía intradérmica 0,1 ml de cada reactivo en sitios estandarizados de la cara anterior del antebrazo, utilizando jeringas desechables para pruebas de alergia de 1 cc de capacidad, graduadas en centésimos y con aguja de calibre 27 (Monoject, Sherwood Industries Inc., Deland, Florida, EUA). La interpretación de las reacciones se efectuó a las 24 y 48 horas con ayuda de

un calibrador de cuadrante (Calibrador KWB, tipo 6932, Suiza). Después de 72 horas, se volvió a examinar a los sujetos seleccionados. Se midieron el diámetro máximo del área indurada y el diámetro mayor entre ángulos rectos, redondeando el valor al 0,1 mm más próximo. En las mediciones no se incluyó el área eritematosa circundante. Como la mayoría de las reacciones eran aproximadamente circulares, en el análisis de los resultados solo se tomó en cuenta el diámetro máximo. Después de examinar la distribución de la frecuencia de la magnitud de la reacción, se consideró que una reacción $\geq 4,0$ mm a las 24 ó 48 horas indicaba un resultado positivo en cada prueba.

RESULTADOS

Los estados de donde provenían los integrantes de la muestra fueron los siguientes: Maranhão (41%), Pará (13%), Goiás (10%), Bahia (9%), Ceará (8%), Piauí (6%), Minas Gerais (4%), Espírito Santo (2%), Pernambuco (2%) y otros (5%); esta última categoría incluyó a Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso, Distrito Federal, Paraíba, Rio Grande do Norte, Sergipe y Paraná. El tiempo de residencia en la zona varió de 1 a 32 años ($\bar{X} = 6,7$; $DE = 4,5$).

La malaria producida por *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* era autóctona y muy endémica. De los 400 sujetos, 73% afirmaron que habían padecido malaria en algún momento y 40% declararon haber sufrido uno o varios episodios de la enfermedad durante 1982 ó 1983.

La paracoccidiodomicosis, causada por *P. brasiliensis*, es endémica en la región. Según los registros del Hospital de Vila Permanente, en Tucuruí, durante el período de 1982 a julio de

1984 se hospitalizaron 13 casos de paracoccidiodomicosis clínica. Por lo menos dos de estos casos eran niños nacidos en la región que habían vivido siempre allí. Se informaron infecciones cutáneas, de mucosas, pulmonares, linfáticas y viscerales. También se aisló *P. brasiliensis* de mamíferos selváticos en la zona del estudio (1).

Hasta el momento del estudio no se había informado de la presencia de histoplasmosis clínica entre los pacientes admitidos en el Hospital de Vila Permanente, pero se ha aislado *Histoplasma capsulatum* de varias especies de mamíferos selváticos en la zona del estudio (8, 9).

Se han aislado *L. m. amazonensis* (10), *L. b. guyanensis*, *L. b. brasiliensis* y *L. brasiliensis* (no descrita) en lesiones cutáneas de sujetos que participaron en el estudio, en otros pacientes de la zona y en animales salvajes y flebotomos (Naiff, R. D. *et al.*, datos inéditos).

Se observaron también cuatro casos de lepra y dos de cromomicosis.

En el cuadro 2 se muestra la prevalencia de reacciones positivas a las tres pruebas en toda la muestra, utilizando diferentes criterios. En relación con los criterios adoptados (reacción positiva = induración de 4,0 mm a las 24 ó 48 horas) en todas las pruebas, la prevalencia es aproximadamente 40% menor si se excluyen los resultados a las 24 horas. La inclusión de reacciones entre 3,0 y 3,9 mm de diámetro modifica muy poco los resultados, pero la exclusión de reacciones con menos de 5,0 mm de diámetro reduce la prevalencia alrededor de 17%. En las pruebas con leishmanina, varios de los sujetos examinados a las 72

CUADRO 2. Reacciones cutáneas positivas a los tres antígenos, según diversos criterios de positividad (n = 400)

Criterio	Reacciones positivas (%)		
	Histoplasmina	Paracoccidioidina	Leishmanina ^a
3,0 mm a las 24 h	36	33	23
4,0 mm a las 24 h	34	31	21
5,0 mm a las 24 h	28	25	16
3,0 mm a las 48 h	25	17	15
4,0 mm a las 48 h	24	17	15
5,0 mm a las 48 h	23	16	15
3,0 mm a las 24 ó 48 h	38	34	25
4,0 mm a las 24 ó 48 h	36	32	24
5,0 mm a las 24 ó 48 h	32	27	20

^a Únicamente leishmanina del INPA (n = 364).

horas presentaron resultados positivos a las 24 y 72 horas, pero negativos a las 48 horas.

En la distribución de la frecuencia de la magnitud de la reacción, medida por el diámetro de la induración (figura 1), se cree que es real la ausencia de reacciones de 1,0 a 2,9 mm por la precisión con que se hicieron las mediciones. Por consiguiente, hubiera sido razonable considerar positivas las reacciones de 3,0 a 3,9 mm, aun cuando esta no es la práctica usual y en este caso influye muy poco en los resultados finales. En las pruebas positivas con paracoccidioidina y leishmanina hubo una desviación considerable de la distribución normal entre las reacciones más intensas, aun cuando esa desviación no fue suficiente para dar origen a curvas bimodales o polimodales convincentes. En las pruebas con paracoccidioidina, 38 sujetos (24 varones y 14 mujeres) presentaron reacciones $\geq 12,0$ mm de diámetro. La mayoría de estos sujetos con reacciones intensas eran adultos; sin embargo, formaban parte del grupo tres niñas y un niño de 11 a 15 años de edad.

En la figura 2 se muestra la distribución de reacciones positivas por edad y sexo. La prevalencia de reacciones positivas fue más alta entre los varones que entre las mujeres en las tres pruebas, y la diferencia fue más notable en el caso de la leishmanina. La prevalencia tendió a aumentar con la edad hasta alrededor de los 40 años. La pendiente de la recta inicial de las curvas corresponde a un incremento anual de 0,9% para la histoplasmina en los varones, 1,1% para la leishmanina en los varones y 0,6% para la leishmanina en las mujeres. A causa de la diversidad en la procedencia y el tiempo de residencia de los sujetos y de las alteraciones ocasionadas por la reubicación, no se puede interpretar que esos índices señalen la incidencia actual en la zona del estudio.

Al tabular la proporción de reacciones positivas en cada una de las pruebas del estudio en relación con el estado de donde provenían los sujetos y con los años de residencia en el lugar, no se observaron tendencias o correlaciones claras.

Puesto que la edad es una variable de confusión, como se señaló anteriormente, la mayor parte del análisis ulterior de los datos se limitó al grupo de

FIGURA 1. Distribución de frecuencia de la induración producida por cada uno de los tres antígenos puestos a prueba

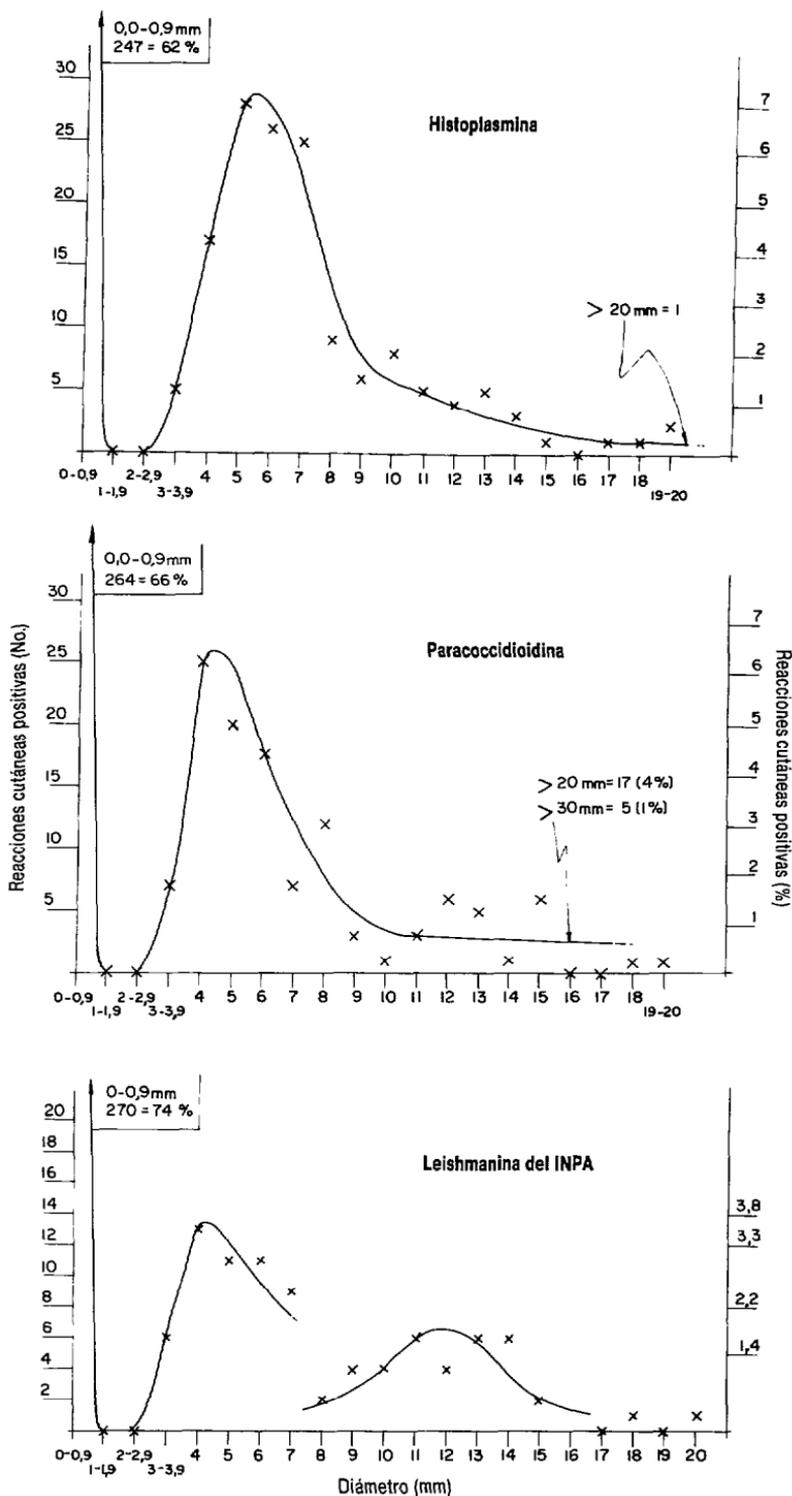
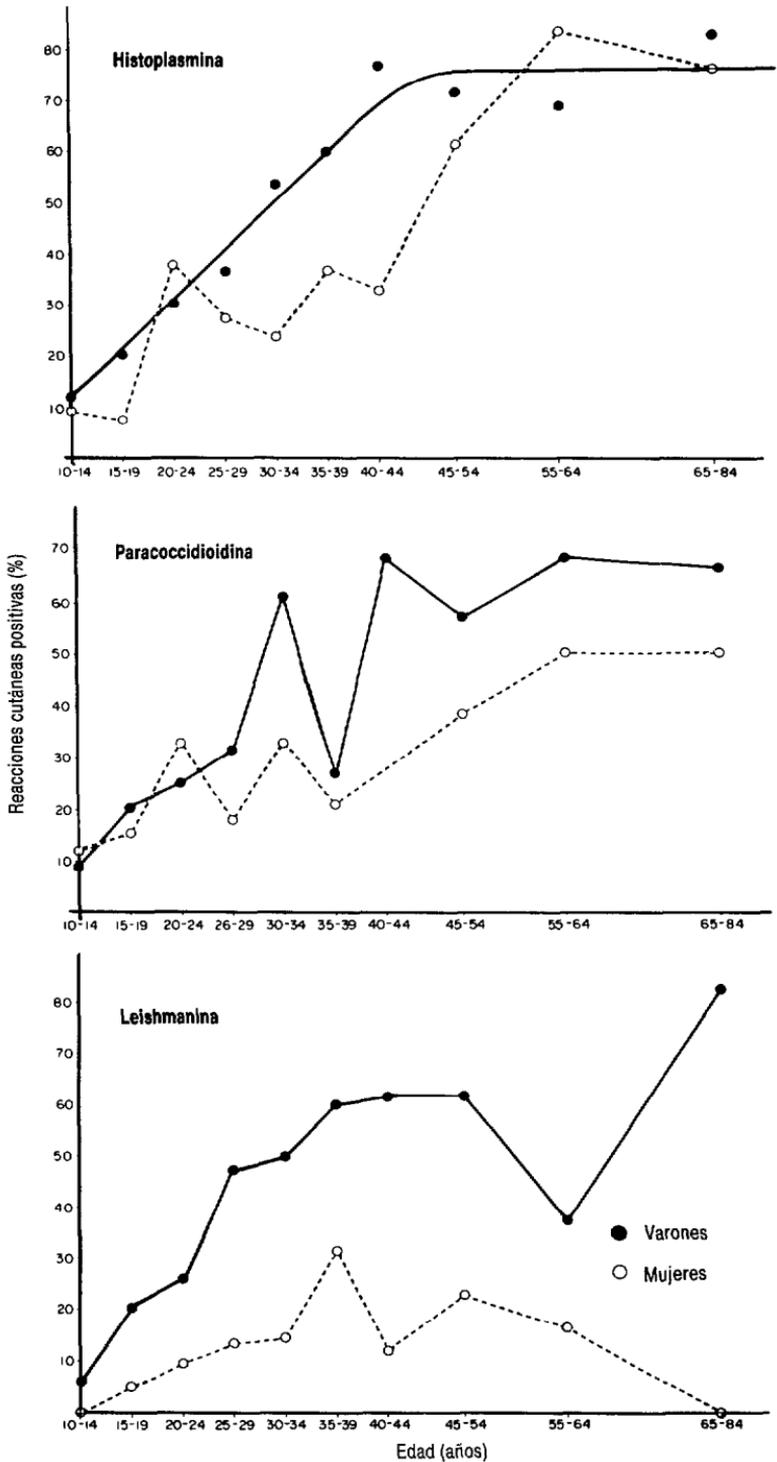


FIGURA 2. Distribución de las reacciones cutáneas positivas a cada uno de los tres antígenos puestos a prueba, según edad y sexo



40 años o más, en el que la prevalencia parece ser independiente de la edad (véase la figura 2), al menos entre los varones.

Para verificar la especificidad de los reactivos, el número de varones de 40 años o más dedicados a la agricultura que presentaron reacciones positivas en cada uno de los tres posibles pares de pruebas se tabuló y comparó con el número de reacciones positivas que se podía esperar si los resultados de cada prueba fueran independientes de los obtenidos en las demás (cuadro 3). De los 52 sujetos de este grupo, 11 (21%) presentaron resultados negativos a la histoplasmina, 17 (32,7%) a la paracoccidioidina y 18 (34,6%) a la leishmanina. Por lo tanto, el número esperado de reacciones negativas triples es aproximadamente 1 en las pruebas independientes ($11 \times 0,327 \times 0,346 = 1,24$), en tanto que el número observado de resultados negativos triples fue de 7. Como puede verse, el resultado positivo o negativo en cualquiera de las pruebas aumenta la probabilidad de obtener el mismo resultado en las otras pruebas con el mismo sujeto. Como la diferencia entre los valores observados y los previstos fue similar en los tres pares de pruebas, esta agrupación de resultados probablemente obedeció a la presencia de cinco o seis sujetos anérgicos más bien que a la falta de especificidad o a factores ambientales. Los resultados obtenidos con los 21 suje-

tos que presentaron reacciones intensas (10 a 32 mm) a la histoplasmina o la paracoccidioidina y reacciones completamente negativas (0 mm) en la otra prueba demuestran la ausencia de reactividad cruzada de los antígenos micóticos. Diez de estos sujetos con reacciones intensas presentaron resultados positivos solo a la histoplasmina y 11 solo a la paracoccidioidina. Si del grupo de varones agricultores de 40 años o más se excluye a seis sujetos con resultados negativos triples, por considerarse que probablemente eran anérgicos, la prevalencia de reacciones positivas en este grupo aumenta a 89% para la histoplasmina, 76% para la paracoccidioidina y 74% para la leishmanina.

Los resultados de las pruebas cutáneas en sujetos de 40 años o más se compararon con las respuestas dadas en el cuestionario en relación con la ocupación y el tipo de actividad en la selva (cuadro 4). En este grupo había 62 varones, 52 de los cuales se dedicaban a la agricultura, 50 cazaban, 46 pescaban y 47 juntaban leña. De las 44 mujeres, 16 cazaban, 28 pescaban y 24 juntaban leña. Se puede observar que los resultados de las pruebas con los antígenos micóticos no están estrechamente relaciona-

CUADRO 3. Comparación de las reacciones cutáneas positivas a los tres antígenos en 52 agricultores varones de 40 años o más

Antígeno	Reacción positiva							
	Histoplasmina		Paracoccidioidina		Leishmanina		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Histoplasmina	41	100	33	94,3	32	94,1	41	78,8
Paracoccidioidina	33	80,5	35	100	26	76,6	35	67,3
Leishmanina	32	78,0	26	74,3	34	100	34	65,4

CUADRO 4. Reacciones cutáneas positivas a los tres antígenos y su relación con la ocupación o actividad en la selva de 62 varones y 44 mujeres de 40 años o más

Ocupación o actividad en la selva	Reacción positiva (%)					
	Histoplasmina		Paracoccidioidina		Leishmanina	
	Varones	Mujeres	Varones	Mujeres	Varones	Mujeres
Agricultura	79		67		65	
Otras	50		50		30	
Riesgo relativo	1,6		1,3		2,2	
Caza	78	63	68	38	70	19
Otras	58	46	50	32	17	21
Riesgo relativo	1,3	1,4	1,4	1,2	4,1	0,9
Pesca	78	57	67	32	72	25
Otras	63	44	56	38	25	13
Riesgo relativo	1,2	1,3	1,2	0,8	2,9	1,9
Recolección de leña	79	54	68	29	70	33
Otras	60	50	53	45	20	5
Riesgo relativo	1,3	1,1	1,3	0,6	3,5	6,6

dos con ninguna de las actividades investigadas en cada sexo. En los varones, las reacciones positivas a la leishmanina se relacionan con cada una de estas actividades, en particular con la caza y la recolección de leña. En las mujeres, las reacciones positivas a la leishmanina no se vinculan con la caza, es muy débil su relación con la pesca y las reacciones positivas son casi siete veces más frecuentes en las que juntaban leña que en las demás.

De los 400 sujetos de la muestra, 132 pertenecían a uno de los 22 hogares o grupos familiares con cinco o más miembros sometidos a las pruebas. En estos sujetos, la prevalencia de reacciones positivas fue de 33% para la histoplasmina, 27% para la paracoccidioidina y 23% para la leishmanina. El número de familias en las que ninguno de los miembros sometidos a las pruebas presentó re-

sultados positivos fue de cinco para la histoplasmina, seis para la paracoccidioidina y seis para la leishmanina. En una familia de seis agricultores y cazadores, que habían llegado del estado de Maranhão entre dos y cuatro años antes, todas las reacciones fueron positivas tanto a la histoplasmina como a la leishmanina, en tanto que cinco miembros de la familia presentaron reacciones positivas a la paracoccidioidina. En el cuadro 5 se muestra la distribución de reacciones positivas entre los 22 hogares y se puede observar que existe cierta agrupación de los resultados de la prueba de la paracoccidioidina en las familias, pues son relativamente pocas las que tienen un número de miembros con reacciones positivas cercano al promedio de 27%. Sin embargo, cuando se consideran los tres antígenos no son concluyentes las pruebas de que exista ese efecto.

Treinta y dos de los sujetos entrevistados respondieron afirmativamente a la pregunta "¿Tuvo alguna vez una lesión en la piel que tardó en curar y que se presumía que era leishmaniasis?".

CUADRO 5. Reacciones cutáneas positivas a los tres antígenos en 22 familias con cinco o más miembros sometidos a prueba^a

Miembros de la familia con resultados positivos (%)	Familias (No.)		
	Histoplasmina	Paracoccidioidina	Leishmanina
0-20	8	13	15
21-40	10	4	5
41-60	2	4	1
61-80	1	0	0
81-100	1	1	1

^a En total se estudiaron 132 sujetos; hubo 33% de reacciones positivas a la histoplasmina, 27% a la paracoccidioidina y 23% a la leishmanina.

La prueba de la leishmanina fue positiva en 26 y negativa en seis, frente a 16 testigos en ambos casos. La diferencia relativa se calculó mediante la fórmula:

$$\frac{\text{(Sujetos con antecedentes positivos y prueba positiva} \times \text{Sujetos con antecedentes negativos y prueba negativa)}}{\text{(Sujetos con antecedentes negativos y prueba positiva} \times \text{Sujetos con antecedentes positivos y prueba negativa)}}$$

El resultado fue de 4,3, lo cual indica una clara asociación entre los antecedentes de presunta leishmaniasis y una reacción positiva posterior a la leishmanina.

El cuadro 6 indica la magnitud de la reacción a la leishmanina en los

casos confirmados mediante estudio parasitológico, en relación con las especies del parásito, y una estimación del tiempo transcurrido desde la infección. Se aisló *L. m. amazonensis* en cuatro casos, lo que da una prevalencia momentánea de 1% entre los sujetos con leishmaniasis clínica causada por este parásito. En dos casos se confirmó la infección con *L. b. brasiliensis*, pero no se detectó *L. b. guyanensis*, la cual se sabe que afecta al hombre en esta zona.

En 52 ocasiones se efectuaron en los sujetos pruebas simultáneas con la leishmanina del INPA (de *L. m. ama-*

CUADRO 6. Induración producida por la leishmanina del INPA en los seis sujetos con antecedente de leishmaniasis comprobada mediante estudio parasitológico

Lesión observada por primera vez (meses antes de julio de 1983)	Agente causal	Induración (mm)		
		1983	1984	1985
3	<i>Leishmania mexicana amazonensis</i>	0	5,4	6,5
4	<i>L. m. amazonensis</i>	0	6,6	...
3	<i>L. m. amazonensis</i>	...	5,0	5,6
6	<i>L. m. amazonensis</i>	7,0	8,3	8,0
72	<i>Leishmania brasiliensis brasiliensis</i> ^a	19,0
24	<i>L. b. brasiliensis</i> ^b	20,5	...	20,0

^a Leishmaniasis cutánea.

^b Leishmaniasis de mucosas, diagnosticada y curada en 1982.

zonensis) y la de Belo Horizonte. En 25 pruebas se produjo una reacción mensurable a la leishmanina de Belo Horizonte y en cada uno de estos casos la prueba con leishmanina del INPA también dio resultados positivos. En tres ocasiones, la prueba con leishmanina de Belo Horizonte no produjo reacción alguna a las 48 horas en los sujetos con reacción positiva a la leishmanina del INPA. En la mayoría de los sujetos que reaccionaron a los dos antígenos la magnitud de la reacción a la leishmanina de Belo Horizonte fue mayor (por un factor de 0,7 a 1,7; promedio, 1,3); solo tres de los 25 sujetos presentaron una reacción más intensa a la leishmanina del INPA. Entre los 75 sujetos de la muestra que reaccionaron a la leishmanina del INPA, la reacción más grande observada midió 20,5 mm de diámetro, mientras que en siete de las 42 pruebas positivas a la leishmanina de Belo Horizonte se produjeron reacciones mayores y en un caso la induración midió 45 mm. Algunas de las reacciones más intensas a este último antígeno se ulцерaron posteriormente.

En nueve sujetos con reacciones positivas a la leishmanina del INPA en 1983 se repitió la prueba en 1985 con el mismo lote de antígeno, que había sido almacenado a 4 °C. Todos los resultados siguieron siendo positivos (diámetro medio de la induración en 1983 = 11,5 mm; en 1985 = 10,5 mm). De 11 sujetos con reacciones cutáneas negativas a esta leishmanina en 1983 y sometidos después a nuevas pruebas, cuatro presentaron reacciones positivas en 1984 ó 1985. Se aisló *L. m. amazonensis* en dos de estos sujetos, otro tenía una lesión compatible con leishmaniasis y uno más carecía de antecedentes de leishmaniasis clínica.

DISCUSION

Debe señalarse que, como resultado del programa de reubicación, en un principio los investigadores fueron acogidos con gran recelo y la encuesta solo pudo efectuarse con la ayuda de un habitante muy conocido y que gozaba de la confianza de la comunidad. Por este motivo, la muestra no fue idealmente aleatoria. Por otra parte, participó una gran parte de la población adulta y no hay motivos para sospechar que exista un sesgo en la muestra en cuanto a la exposición a los agentes patógenos investigados.

Las pruebas cutáneas tienen valor como instrumento epidemiológico sólo en la medida en que se pueden justificar las hipótesis relacionadas con su sensibilidad y especificidad. Los resultados de esta encuesta apoyan la hipótesis de que los reactivos de Fava Netto (histoplasmina y paracoccidioidina) no reaccionan en forma cruzada en las pruebas cutáneas con sujetos asintomáticos, e indican que probablemente son independientes las fuentes de exposición a los respectivos agentes patógenos. El análisis de los resultados se complicó por la presencia de algunos sujetos con probable anergia cutánea; por tal motivo, en encuestas futuras podría ser útil incluir pruebas cutáneas con un antígeno universal para detectar esos casos. Aun cuando no se puede excluir la posibilidad de que se produzcan reacciones falsas causadas por exposición previa a microorganismos estrechamente relacionados, el patrón de los resultados obtenidos con histoplasmina y esporotriquina en una encuesta efectuada en distintas comunidades indica que estos dos antígenos no presentan reacción cruzada en sujetos sanos (11). Mok y Fava Netto (12) realizaron un estudio con histoplasmina y paracoccidioidina en el estado de Amazonas,

utilizando reactivos similares a los que se emplearon en la presente investigación. Por razones que no son del todo claras, dieron a entender que existe cierto grado de reactividad cruzada no recíproca entre los dos antígenos. En pacientes con histoplasmosis sintomática se han observado reacciones positivas falsas de carácter pasajero a la paracoccidioidina (4); por lo tanto, cabe prever que se produzca este tipo de reacciones en sujetos con infecciones recientes no diagnosticadas. Sin embargo, nuestros datos muestran que fue insignificante la reactividad cruzada en esta investigación, efectuada sobre el terreno y con sujetos normales.

En un análisis de la situación de la histoplasmosis en el Brasil se informa que son relativamente pocos los casos de enfermedad sintomática comunicados, pero se han observado calcificaciones pulmonares hasta en 44% de los sujetos con reacción positiva a la histoplasmina y negativa a la tuberculina (13). Investigaciones efectuadas en la región amazónica muestran los índices más altos de sensibilidad a la histoplasmina (14), resultado que concuerda con el de nuestro estudio. Se ha aislado *Histoplasma capsulatum* de algunos mamíferos selváticos de la zona del estudio (9) y se ha indicado que los árboles huecos de la selva constituyen focos naturales de infección (15). Sin embargo, como ninguna de las actividades relacionadas con la selva e investigadas en este estudio tuvo gran relación con la sensibilidad a la histoplasmina, los gallineros domésticos siguen siendo los focos más probables de exposición humana en esta zona (16-18). En el cuestionario no se incluyeron preguntas sobre las gallinas, pero la mayoría de las familias rurales crían estas aves, que abundan aun en las zonas más urbanizadas.

No se conoce la fuente de exposición a *P. brasiliensis*. Ninguna de las actividades incluidas en el cuestionario

constituye un factor de riesgo y la existencia de cierta agrupación por familias requiere confirmación. La exposición al parásito, como lo indican los resultados de las pruebas cutáneas, es solo moderadamente mayor en los varones que en las mujeres, incluso entre los sujetos con reacciones más intensas; ello contrasta con el claro predominio de varones entre los casos clínicos (19). Se ha comprobado que los armadillos de la selva son huéspedes naturales del parásito (1), pero la caza no se relaciona con la sensibilidad a la paracoccidioidina y quizá en esta zona el hombre y los mamíferos selváticos adquieran la infección de focos diferentes, como parece suceder en el caso de *H. capsulatum*. En este sentido, cabe señalar que dos casos autóctonos de paracoccidioidomycosis clínica informados por el Hospital de Vila Permanente eran niños residentes de la zona urbana de Tucuruí. Cualquiera que sea el hábitat de la forma infectante de *P. brasiliensis*, el alto índice de pruebas cutáneas positivas en esta y otras encuestas indica que la infección por este parásito es frecuente y está muy difundida.

En un estudio sobre la dinámica de la infección causada por *P. brasiliensis* se observó que la paracoccidioidomycosis subclínica es una de las formas de la enfermedad identificadas en el hombre (20). La infección puede permanecer latente o manifestarse después de muchos años (21), especialmente en pacientes sujetos a tratamiento inmunosupresor (22). El diámetro de la induración en la prueba cutánea difiere según las distintas formas clínicas de la enfermedad: las reacciones negativas predominan en los testigos sanos y en los pacientes gravemente aquejados de la

forma progresiva aguda, mientras que los pacientes con infecciones crónicas presentan las reacciones mayores (23). En un paciente asintomático la prueba cutánea produjo una reacción positiva con un diámetro de 20 mm (20). En 4% de los sujetos de nuestra muestra se observaron reacciones más grandes. Sumados a la distribución insólita de la frecuencia de la magnitud de la reacción a la paracoccidioidina (véase la figura 1), estos resultados indican que un número considerable de sujetos de nuestra muestra pueden ser portadores de infección crónica con *P. brasiliensis* no diagnosticada, de manera semejante a los casos descritos en otro informe (24). Esta hipótesis se podría tratar de comprobar de diversas maneras: mediante estudios clínicos longitudinales de grupos con reacciones de diferente magnitud, con la ayuda de exámenes radiológicos y parasitológicos o por medio de métodos serológicos que permitan detectar infecciones activas.

Los antecedentes de presunta leishmaniasis se vincularon con reacciones positivas a la leishmanina, como se podía esperar con un reactivo sensible. Los seis casos con las pruebas cutáneas negativas se pueden explicar como diagnósticos erróneos de úlceras de causa diferente. Resultan más interesantes las reacciones cutáneas positivas en 50% de los testigos sin antecedentes de lesiones causadas por *Leishmania*. Es poco probable que las úlceras persistentes que requieren un tratamiento prolongado y costoso con antimonio hayan sido olvidadas por los afectados. Junto con la abundancia de flebotomos vectores de *Leishmania* que infectan al hombre en esta zona (Naiff, R. D. *et al.*, datos inéditos), esto señala que, por analogía con

la histoplasmosis, la infección con *Leishmania* es frecuente en esta población, pero las manifestaciones clínicas persistentes son relativamente raras.

Como en las pruebas con la paracoccidioidina, la distribución de la frecuencia de la magnitud de las reacciones positivas a la leishmanina se inclina mucho hacia la derecha y se desvía de la distribución normal en un grado que indica heterogeneidad (véase la figura 1). Se sabe que la respuesta inmunitaria varía en las infecciones con especies distintas de *Leishmania* (25) y que estas diferencias se reflejan en las reacciones de hipersensibilidad celular retardada que se miden en las pruebas cutáneas con leishmanina de *L. m. amazonensis*, lo cual se puede comprobar comparando la magnitud de las reacciones posteriores a las infecciones con *L. b. brasiliensis* y *L. m. amazonensis* (véase el cuadro 5). Probablemente la heterogeneidad sea también consecuencia de infecciones con otras especies de *Leishmania* y de que persistan o no infecciones subclínicas viables. Los progresos en la tecnología de anticuerpos monoclonales ofrecen la posibilidad de obtener reactivos muy específicos para pruebas cutáneas, con los cuales se podrían investigar con más detalle estos aspectos.

En una investigación que utilizó leishmanina de *L. brasiliensis*, la magnitud de la reacción a la prueba cutánea aumentó en forma paralela a la concentración (26). Los autores recomendaron emplear el reactivo más fuerte para eliminar las reacciones dudosas y aumentar así la posibilidad de comparar los resultados de las diferentes investigaciones. En nuestro estudio, la leishmanina de Belo Horizonte produjo sistemáticamente reacciones hasta 70% mayores que las de la leishmanina del INPA, más diluida. Si bien la magnitud más frecuente de la reacción fue relativamente pequeña en el grupo estudiado, las reac-

ciones más grandes fueron suficientemente intensas para causar molestias. Una reacción de 45 mm al antígeno de Belo Horizonte estaba rodeada de un área eritematosa grande y se ulceró al cabo de 48 horas. Por consiguiente, es preciso ser cautos al seleccionar la concentración de reactivo que se emplea en las encuestas sobre el terreno, en especial en regiones donde es posible que exista infección por *L. b. brasiliensis* o cuando se piensa efectuar estudios de seguimiento.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que, a pesar de las limitaciones de la técnica, ya que nunca se puede determinar con absoluta certeza su sensibilidad y especificidad, las pruebas cutáneas pueden proporcionar información sobre el patrón de exposición a ciertos agentes patógenos que no puede obtenerse con facilidad por otros medios, además de que permiten postular hipótesis epidemiológicas viables y comprobables.

Por otra parte, la distribución insólita de la frecuencia de la magnitud de la reacción en las pruebas con paracoccidiodina plantea un interrogante práctico de importancia médica, y es necesario confirmar o refutar la explicación provisional. Aunque nuestros resultados no pudieron relacionar la sensibilidad a la paracoccidiodina con ningún factor que pudiera proporcionar un indicio acerca de la fuente de infección, hemos demostrado que es razonable la hipótesis de que la sensibilidad cutánea a la paracoccidiodina indica una exposición previa a *P. brasiliensis*. Se comprobó que el método de comparar los resultados de las pruebas cutáneas con las respuestas a un cuestionario es fructífero en el caso de la leishmaniasis; a propósito, no se es-

peraba que en las mujeres existiera una relación tan intensa entre la sensibilidad a la leishmanina y la recolección de leña, relación que justifica una investigación entomológica. Otros estudios que empleen este método, pero con un cuestionario mucho más detallado y amplio, podrían contribuir a identificar los factores de riesgo de infección y, en definitiva, a detectar los focos naturales de *P. brasiliensis*. Aunque aún faltan por analizarse muchos datos entomológicos y parasitológicos sobre la leishmaniasis en esta región, los resultados de la encuesta con pruebas cutáneas concuerdan con la hipótesis de que, al menos en esta zona, las infecciones benignas con *L. m. amazonensis* son más frecuentes de lo que comúnmente se cree (25).

RESUMEN

En una aldea de la selva amazónica brasileña se efectuaron pruebas cutáneas con histoplasmina, paracoccidiodina y leishmanina en un grupo de 400 sujetos de 10 años o mayores y de ambos sexos, que además respondieron un cuestionario sobre antecedentes de enfermedades infecciosas. Hubo una alta prevalencia de resultados positivos en las tres pruebas. El patrón de los resultados apoya la hipótesis de que dos pruebas con antígenos micóticos no producen reacciones cruzadas en sujetos asintomáticos y de que las fuentes de exposición a los hongos probablemente son independientes. Las reacciones positivas a la leishmanina en los varones se relacionaron con actividades agrícolas, caza, pesca y recolección de leña; en las mujeres fue escasa la relación con la pesca y,

en cambio, muy notable con la recolección de leña. Las reacciones positivas a los antígenos micóticos no se relacionaron con ninguna de estas actividades. Fue grande la concordancia de los resultados obtenidos con una leishmanina de *Leishmania mexicana amazonensis* y otra combinada de *Leishmania mexicana* y *Leishmania brasiliensis*. El diámetro de induración fue generalmente mayor con el último de estos antígenos, que provocó algunas respuestas muy intensas. La distribución de la frecuencia de la magnitud de la reacción reveló heterogeneidad en sujetos con reacciones positivas a la leishmanina y la paracoccidioidina; se presentan y analizan pruebas de que esto obedece a la infección con distintas especies de *Leishmania* y a infecciones subclínicas crónicas con *Paracoccidioides brasiliensis*. □

A GRADECIMIENTO

Los autores expresan su gratitud a Celeste Fava Netto y Wilson Mayrink, por haber suministrado los reactivos para las pruebas cutáneas y por sus comentarios críticos a una versión preliminar de este artículo. También expresan su reconocimiento a Geraldo F. L. R. Coutinho, director del Departamento Nacional de Vialidad y Vehículos (DNER) en Marabá, por haberles proporcionado hospedaje. Fue inapreciable la ayuda de Antonio Martins dos Santos, del DNER, en Vila Repartimento. Antonio Elias Arbex y José Luiz R. Cunha, del Hospital de Vila Permanente, suministraron los datos sobre los pacientes con paracoccidioidomycosis clínica.

REFERENCIAS

- 1 Naiff, R. D., Ferreira, L. C. L., Barrett, T. V., Naiff, M. F. y Arias, J. R. Paracoccidioidomycose enzootica em tatus (*Dasybus novemcinctus*) no Estado do Pará. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 28(1):19-27, 1986.
- 2 Centrais Elétricas do Norte do Brasil S.A. (ELETRONORTE). Reservatório de Tucuruí: Programas de Relocação. Brasil, 1983. Documento mimeografiado TUC-10-26800.
- 3 Fife, E. H. y Kent, J. F. Protein and carbohydrate complement fixing antigens of *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 9(5):512-517, 1960.
- 4 Fava Netto, C., Guerra, M. A. G. y da Costa, E. O. Contribuição ao estudo imunológico da paracoccidioidomycose. Reações intradérmicas em pacientes com dois antígenos homólogos e dois heterólogos. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 18(3):186-190, 1976.
- 5 Fava Netto, C., Vegas, V. S., Sciannaméa, I. M. y Guarnieri, D. B. Antígeno polisacárido do *Paracoccidioides brasiliensis*. Estudo do tempo de cultivo do *P. brasiliensis*, necessário ao preparo do antígeno. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 11(3):177-181, 1969.
- 6 Fava Netto, C. y Raphael, A. A reação intradérmica com polisacárido do *Paracoccidioides brasiliensis* na blastomycose sul-americana. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 3(4):161-165, 1961.
- 7 Fava Netto, C., Schalch, A. L. O. y Arruda, C. Durabilidade do antígeno do polisacárido de *Paracoccidioides brasiliensis*. *Rev Microbiol (São Paulo)* 15(1):27-32, 1984.
- 8 Arias, J. R., Naiff, R. D., Naiff, M. F., Mok, W. Y. y Almeida, M. M. R. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from an armadillo (*Dasybus novemcinctus*) in the eastern Amazon of Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 76(5):705-706, 1982.
- 9 Naiff, R. D., Mok, W. Y. y Naiff, M. F. Distribution of *Histoplasma capsulatum* in Amazonian wildlife. *Mycopathologia* 89(3):165-168, 1985.
- 10 Naiff, R. D., Barrett, T. V., Naiff, M. F. y Arias, J. R. Resolução espontânea num indivíduo com indícios de anergia cutânea, infectado con *Leishmania mexicana amazonensis*. In: Programa e resumos dos temas livres. X

- Congreso da Sociedade Brasileira de Parasitologia*. Salvador, Bahia, Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1987.
- 11 Fonseca, O. J. M., Lacaz, C. S. y Machado, P. A. Inquérito imuno-alérgico na Amazônia. Resultados preliminares. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 15(6):409-416, 1973.
 - 12 Mok, W. Y. y Fava Netto, C. Paracoccidiodin and histoplasmin sensitivity in Coari (State of Amazonas), Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 27(4):808-814, 1978.
 - 13 Londero, A. T. y Ramos, C. D. The status of histoplasmosis in Brazil. *Mycopathologia* 64(3):153-156, 1978.
 - 14 Tesh, R. B. y Marques, R. J. Histoplasmin sensitivity in Brazil. Report of recent skin test survey in Recife (Pernambuco) and Belém (Pará) and review of other surveys in various areas of the country. *Am J Trop Med Hyg* 15(3):359-363, 1966.
 - 15 Castañeda, E., de Coppiano, C. I., Raad, J., Ajello, L., Weeks, R., Marín, H., Coppiano, T. y Jiménez, H. Brote epidémico de histoplasmosis asociado con exposición a un árbol hucco. *Acta Med Colomb* 8(1):17-22, 1983.
 - 16 Araujo, F. G. Primeiro isolamento de *Histoplasma capsulatum* do solo em Minas Gerais. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 12(3):185-191, 1970.
 - 17 Moraes, M. A. P. y Almeida, M. M. R. Isolamento de *Histoplasma capsulatum* do solo de Humboldt (Estado de Mato Grosso, Brasil). *Acta Amazonica* 6(4, Supl):43-47, 1976.
 - 18 Silva, M. E. Isolamento de *Histoplasma capsulatum* do solo da zona endêmica de calazar na Bahia. *Bol Fund Gonçalo Moniz* 10(1):1-15, 1956.
 - 19 Marques, S. A., Franco, M. F., Mendes, R. P., Silva, N. C. A., Baccili, C., Curcelli, E. D., Feracin, A. C. M., Oliveira, C. S., Tagliarini, J. V. y Dillon, N. L. Aspectos epidemiológicos da paracoccidiodomicose na área endêmica da Botucatu (São Paulo, Brasil). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 25(2):87-92, 1983.
 - 20 Wanke, B., de Andrade, E. M., de Lima Neto, J. A. y da Cruz, M. F. F. Paracoccidiodomicose pulmonar assintomática e regressiva, com posterior disseminação. Relato de um caso. *Rev Soc Bras Med Trop* 16(3):162-167, 1983.
 - 21 Chikamori, T., Saka, S., Nagano, H., Saeki, S., Lacaz, C. S., Rodrigues, M. C., Cassaguerra, C. M. y Braccialli, M. L. Paracoccidiodomycosis in Japan. Report of a case. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 26(5):267-271, 1984.
 - 22 Severo, L. C., Palombini, B. C., Utz, E. y Braun, S. N. Paracoccidiodomicose pulmonar resultante de lesão quiescente em paciente imunossuprimido. *J Pneumol* 6(1):21-22, 1980.
 - 23 Mota, N. G. S., Rezkallah-Iwasso, M. T., Peirão, M. T. S., Audi, R. C., Mendes, R. P., Marcondes, J., Marques, S. A., Dillon, N. L. y Franco, M. F. Correlation between cell-mediated immunity and clinical forms of paracoccidiodomycosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 79(6):765-772, 1985.
 - 24 Lacaz, C. S., Passos, M. C. R., Fava Netto, C. y Macarron, B. Contribuição para o estudo da "blastomicose infecção". Inquérito com a paracoccidiodina. Estudo sorológico e clínico-radiológico dos paracoccidiodino-positivos. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1(4):245-259, 1959.
 - 25 Organización Mundial de la Salud. *Las leishmaniasis. Informe de un Comité de Expertos de la OMS*. Ginebra, 1984. Serie de Informes Técnicos 701.
 - 26 Melo, M. N., Mayrink, W., da Costa, C. A., Magalhães, P. A., Dias, M., Williams, P., Araujo, F. G., Coelho, M. V. y Batista, S. M. Padronização do antígeno de Montenegro. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 19(3):161-164, 1977.

SUMMARY

EPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF HISTOPLASMOSIS, PARACOCIDIOIDOMYCOSIS, AND LEISHMANIASIS BASED ON SKIN TESTS

In a village in Brazil's Amazonian jungle, skin tests with histoplasmin, paracoccidiodin, and leishmanin were given to a group of 400 subjects aged 10 and older, of both sexes, who also responded to a questionnaire on their history of infectious diseases. There was a high prevalence of positive results in the three tests. The pattern of the results supports the hypothesis that testing with two mycotic antigens does not produce cross-reactions in asymptomatic subjects and that the sources of exposure to the fungi are probably independent.

The positive reaction to leishmanin in males was related to farming activities, hunting, fishing, and the collection of

firewood; the reactions in females showed a limited correlation with fishing and a much stronger one with the collection of firewood. With the mycotic antigens, the positive reactions were not associated with any of these activities. There was a high correlation of results using a leishmanin obtained from *Leishmania mexicana amazonensis* and a combined leishmanin obtained from *Leishmania mexicana* and *Leishmania brasiliensis*. The diameter of induration was generally larger for the latter of these antigens, which induced some very intense responses. The frequency distribution of the magnitude of reaction was heterogeneous in subjects with positive reactions to both leishmanin and paracoccidiodin. Evidence that these findings are consistent with infection by different species of *Leishmania* and with chronic subclinical infections by *Paracoccidiodides brasiliensis* is presented and analyzed.

Cursos internacionales en salud ocupacional

El Instituto de Medicina del Trabajo de La Habana, Cuba, centro de referencia de la OPS/OMS en América Latina y el Caribe, ofrece un programa académico de maestría en salud ocupacional de un año de duración y varios cursos cortos de posgrado en este campo dirigidos a profesionales universitarios extranjeros de habla española. El temario consta de los siete módulos siguientes: fisiología del trabajo; higiene del trabajo; contaminación ambiental y saneamiento en la industria; enfermedades profesionales; protección del trabajo y ergonomía; psicología ocupacional, y seguridad social y rehabilitación. Asimismo, el Instituto imparte pasantías para el adiestramiento de posgrado en diversos aspectos de la salud ocupacional. Para solicitar información sobre el importe de las matrículas, alojamiento y fechas de inicio de los cursos, dirigirse a: Dr. Jorge Mugica Cantelar, Subdirector de Docencia y Relaciones Internacionales, Instituto de Medicina del Trabajo, Apartado de correos 9064, Zona postal No. 9, La Habana, Cuba.