

ENCUESTA MEDIANTE INTRADERMOREACCIONES CON PARACOCCIDIOIDINA E HISTOPLASMINA EN CABALLOS

I. A. CONTI-DÍAZ (1), B. J. ALVAREZ (2), E. GEZUELE (1), H. GONZÁLEZ MARINI (3),
J. DUARTE (3) y J. FALCÓN (2)

RESUMEN

Se efectuaron intradermoreacciones con paracoccidioidina e histoplasmina en 195 caballos de diferentes zonas del Uruguay. Los antígenos fueron previamente ensayados en cobayos inoculados con *Paracoccidioides brasiliensis*, *Histoplasma capsulatum* y en animales controles. Se encontró un 23,0% de animales reactivos a la paracoccidioidina y un 8,7% de reactivos a la histoplasmina. Los porcentajes de reactivos a la paracoccidioidina variaron mucho en las diferentes áreas encuestadas; a este respecto se plantean las consideraciones epidemiológicas correspondientes. Sueros procedentes de 51 animales reactivos a uno u otro de los antígenos fueron probados en la técnica de doble difusión en agar de Ouchterlony para histoplasmosis y paracoccidioidomicosis. Uno de ellos perteneciente a un caballo reactivo a la paracoccidioidina, originó nítidas líneas de precipitación con el antígeno homólogo aunque sin observarse reacciones de identidad con las líneas de sueros controles de paracoccidioidomicosis humana.

INTRODUCCIÓN

Las encuestas realizadas en el hombre mediante intradermoreacciones con histoplasmina y coccidioidina han sido fundamentales para delimitar las áreas endémicas de la histoplasmosis y coccidioidomicosis (CHRISTIE & PETERSON¹; PALMER & col.¹³). Similares encuestas en animales domésticos (ovinos, bovinos, equinos) en tales áreas, han demostrado altos índices de reactivos a los respectivos antígenos (FURCOLOW & RÜHE³; MENGES¹⁰; MADDY & col.⁸). En particular, los índices de equinos reactivos a la histoplasmina en ciertas zonas, han sido hallados muy vecinos a los del hombre (FURCOLOW & MENGES⁴). Por otra parte, la existencia de casos clínicos de aquellas micosis profundas y otras como la blastomicosis norteamericana en animales, ha sido bien documentada (MADDY⁷; MENGES¹¹; EMMONS & col.²; FURCOLOW & col.⁵).

Carecemos de toda información respecto a la paracoccidioidomicosis enfermedad o a la paracoccidioidomicosis infección en animales. El presente trabajo refiere los resultados de intradermoreacciones con paracoccidioidina e histoplasmina realizadas en 195 equinos en el Uruguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los antígenos usados fueron: histoplasmina, lote H23 (I.H.M.) consistente en filtrado de cultivos de una cepa de origen humano de *Histoplasma capsulatum* sobre medio Smith a 28°C por un lapso de 3 meses; paracoccidioidina, lote P26 así preparada: el micelio filamentoso de 3 cepas de *Paracoccidioides brasiliensis* obtenido de cultivos en caldo Sabouraud agitados mecánicamente por

(1) Sección Micología, Depto. de Parasitología, Instituto de Higiene.

(2) Servicio Veterinario y de Remonta del Ejército, R.O. del Uruguay.

(3) Sección Veterinaria y Campo Experimental del Instituto de Higiene, Instituto de Higiene de Montevideo.

el lapso de un mes, fué separado del filtrado y totalmente desecado en estufa a 50°C. Se obtuvo así un peso de 6 g. que fué diluido en 60 c.c. de agua destilada y sometido luego a sucesivas congelaciones y descongelaciones. La especificidad y sensibilidad de ambos antígenos sin diluir fué investigada en grupos de cobayos inoculados con *P. brasiliensis*, con *H. capsulatum* y en cobayos controles (Cuadro I).

Un total de 195 caballos fueron estudiados en 5 diferentes zonas del país (Fig. 1). Las edades de los animales oscilaron entre 2 y 26 años. La distribución de los mismos por grupos etarios no fué uniforme en las áreas estudiadas; en la ciudad de Artigas p.ej. ningún animal sobrepasaba los 11 años de edad. Veinticuatro animales eran hembras y 171 machos.

Cada animal recibió por vía intradérmica

CUADRO I

Reacciones intradérmicas con paracoccidioidina e histoplasmina en grupos de cobayos inoculados con *P. brasiliensis*, *H. capsulatum* y en animales controles. Diámetro en milímetros.

Antígeno	<i>P. brasiliensis</i>					<i>H. capsulatum</i>					Controles				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Paracoccidioidina (P ²⁰)	6	6	7	5	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Histoplasmina (H ²³)	—	—	5	—	—	7	7	4	6	4	—	—	—	—	—
Suero fisiológico	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

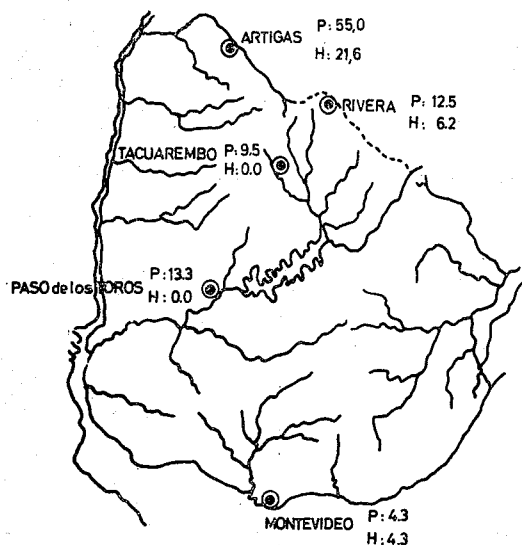


Fig. 1 — Reacciones intradérmicas con Paracoccidioidina (P) e Histoplasmina (H) en caballos del Uruguay. Sitios de encuesta y porcentajes de reactivos.

0,1 c.c. de cada uno de los antígenos puros en una y otra cara lateral del cuello, previo afeitado y desinfección cuidadosa de las áreas correspondientes. La región cervical fué elegida por ser considerada más sensible que la región del pliegue caudal para pruebas cutáneas con antígenos fúngicos (MENGES⁹; MADDY & col.⁸). Se emplearon jeringas de insulina y agujas de uso intradérmico para cada uno de los antígenos. Las lecturas fueron hechas a las 72 horas y se consideraron positivas aquellas reacciones con franca papulación de la zona. Toda reacción dudosa fué tomada como negativa.

La técnica de doble difusión en agar de Ouchterlony fué realizada con 51 sueros de animales reactivos a uno u otro de los antígenos. Como antígenos para esta prueba se usaron la paracoccidioidina preparada por NEGRONI¹² y la histoplasmina H22-H23 (I.H.M.) concentrada 5 veces en sacos de polivinilpirrolidona.

RESULTADOS Y COMENTARIOS

El Cuadro I muestra que los cobayos inoculados con *P. brasiliensis* y con *H. capsulatum* dieron reacciones cutáneas positivas con los antígenos homólogos usados en la encues-

ta y que los animales controles no reaccionaron a ningún de los dos antígenos. Sin embargo uno de los 5 animales infectados con *P. brasiliensis* reaccionó también a la histoplasmina.

CUADRO II

Encuesta con paracoccidioidina e histoplasmina en caballos

Localidad	Número de animales	P+ (*)		H+ (**)		P & H+	
		N.º	%	N.º	%	N.º	%
Paso de los Toros	15	2	13,3	—	0	—	0
Tacuarembó	42	4	9,5	—	0	—	0
Rivera	32	4	12,5	2	6,2	—	0
Artigas	60	33	55,0	13	21,6	12	20,0
Montevideo	46	2	4,3	2	4,3	—	0
Totales	195	45	23,0	17	8,7	12	6,1

(*) Paracoccidioidina

(**) Histoplasmina

CUADRO III

Resultados de intradermoreacciones en caballos por grupos etarios

Grupos etarios	Número de animales	Positivos		Positivos %
2 — 6	36	P	12	33,3
		H	4	11,1
7 — 11	98	P	23	23,5
		H	11	11,2
12 — 16	32	P	4	12,5
		H	2	6,25
17 — 21	17	P	3	17,6
		H	0	0,0
22 — 26	12	P	3	25,0
		H	0	0,0
Totales	195	P	45	23,0
		H	17	8,7

P = Paracoccidioidina
H = Histoplasmina

La Fig. 1 y los Cuadros II y III resumen los resultados de la encuesta. Veintitrés por ciento del total de los animales reaccionaron a la paracoccidioidina y 8,7% a la histoplasmina. Los porcentajes de reactivos a la paracoccidioidina variaron marcadamente con el área encuestada. Se destaca el alto número de positivos en la ciudad de Artigas donde ninguno de los animales estudiados sobrepasaba los 11 años de edad. Importa destacar esto para interpretar los resultados expuestos en el Cuadro III en el que se analizan los datos obtenidos por grupos etarios: los porcentajes de reactivos anotados para los dos primeros grupos etarios están naturalmente influenciados por el alto número de positivos registrados en aquella ciudad. En Montevideo, por el contrario, hubo sólo 2 animales reactivos a la paracoccidioidina que procedían del Departamento de Colonia situado, como el de Artigas, sobre la cuenca del río Uruguay. En las otras regiones estudiadas los porcentajes de reactivos a aquel antígeno fueron 13,3; 9,5 y 12,5 para Paso de los Toros, Tacuarembó y Rivera respectivamente.

Estos resultados aparentemente concuerdan con datos clínico-epidemiológicos de la paracoccidioidomicosis humana en nuestro país. En efecto, 78% de nuestros 40 casos clínicos de la enfermedad proceden de la zona del río Uruguay y sus afluentes, tratándose en su gran mayoría de monteadores de árboles, indígenas de la región. Por otra parte, HOUNIE & ARTAGAVEYTIÁ-ALLENDE⁶ observaron 0% de personas reactivas a la paracoccidioidina en la ciudad de Montevideo y un 41,6% de reactivos al mismo antígeno entre monteadores del Departamento de Soriano ubicado también sobre la cuenca del río Uruguay. Todo ello ha llevado a suponer una relación entre nichos ecológicos naturales de *P. brasiliensis* y la vegetación arbórea indígena en nuestro territorio. Pensamos que tanto el hombre como quizá los animales (caballos en este caso) resultarían infectados como consecuencia de la exposición a similares reservorios del hongo.

Creemos necesario considerar en la interpretación de nuestros resultados, la posibilidad de reacciones cutáneas inespecíficas es decir de reacciones cruzadas. La complejidad en estructura de los antígenos de hongos pa-

tógenos y la comunidad de fracciones antigénicas entre agentes de micosis profundas, ha sido bien documentada (YARZÁBAL¹⁴). Es posible que existan otros procesos fúngicos u otras etiologías capaces de despertar en los caballos inyectados con paracoccidioidina, una respuesta positiva que ahora interpretamos como probable reveladora de una infección por *P. brasiliensis*.

Los porcentajes de caballos reactivos a la histoplasmina fueron bajos en general o nulos, con excepción de aquellos estudiados en Artigas. Curiosamente, 12 de los 13 reactivos en esta zona reaccionaron también a la paracoccidioidina.

En lo que respecta al sexo de los animales, 26,3% de los machos y 20,8 de las hembras reaccionaron a uno u otro de los antígenos usados.

Sólo uno de los 51 sueros provenientes de animales reactivos originó nítidas líneas de precipitación en la técnica de doble difusión en agar. Las líneas no evidenciaron sin embargo, reacciones de identidad con las líneas de sueros controles de paracoccidioidomicosis humana. El suero reactivo pertenecía a un caballo con prueba cutánea positiva a la paracoccidioidina.

SUMMARY

Skin-test survey with paracoccidioidin and histoplasmin in horses

Simultaneous skin-tests with paracoccidioidin and histoplasmin were made in 195 horses from different geographical areas in Uruguay.

The antigens used were previously essayed in groups of guinea-pigs inoculated with *P. brasiliensis*, *H. capsulatum* and in control animals.

We found 23.0% of horses reacting to paracoccidioidin and 8.7% to histoplasmin.

Epidemiological considerations are made in regard to the different percentages of reactors to paracoccidioidin observed in the studied areas.

Sera from 51 horses reactors to paracoccidioidin or to histoplasmin were tested in the double diffusion technique of Ouchterlony for paracoccidioidomycosis and histoplasmosis. A serum belonging to an animal reactor

to paracoccidioidin gave origin to precipitin lines with the homologous antigen. However, no identity reactions were observed with precipitin lines from human paracoccidioidomycosis sera.

AGRADECIMIENTOS

Los Autores expresan su agradecimiento a las autoridades del Servicio Veterinario y de Remonta del Ejército por habernos facilitado los animales utilizados en la encuesta y al Prof. J. E. Mackinnon por su asistencia en la elaboración del trabajo.

REFERENCIAS

1. CHRISTIE, A. & PETERSON, J. C. — Pulmonary calcification in negative reactors to tuberculin. *Amer. J. Pub. Health* 35:1131-1147, 1945.
2. EMMONS, Ch. W.; BINFORD, Ch. H. & UTZ, J. P. — *Medical Mycology*. 2ª ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1970, p. 305.
3. FURCOLOW, M. L. & RUHE, J. S. — Histoplasmin sensitivity among cattle. *Amer. J. Pub. Health* 39:719-721, 1949.
4. FURCOLOW, M. L. & MENGES, R. W. — Comparison of histoplasmin sensitivity rates among human beings and animals in Boone County, Missouri. *Amer. J. Pub. Health* 42:926-929, 1952.
5. FURCOLOW, M. L.; CHICK, E. W.; BUSEY, J. F. & MENGES, R. W. — Prevalence and incidence studies of human and canine blastomycosis. *Am. Rev. Resp. Dis.* 102:60-67, 1970.
6. HOUNIE, P. & ARTAGAVEYTIA-ALLENDE, R. C. — Encuesta sobre la sensibilidad al agente de la blastomycosis sudamericana. *An. Fac. Med. Montevideo* 42:27-32, 1957.
7. MADDY, K. T. — Coccidioidomycosis of cattle in the Southwestern United States. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 124:456-464, 1954.
8. MADDY, K. T.; CRECELIUS, H. G. & CORNELL, R. G. — Where can coccidioidomycosis be acquired in Arizona ?. *Arizona Med.* 18:184-194, 1961.
9. MENGES, R. W. — The histoplasmin skin test in animals. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 119:69-71, 1951.
10. MENGES, R. W. — Histoplasmin sensitivity in animals. Proceedings of the Conference on Histoplasmosis, 1952. *Public Health Monogr.* 39:210-216, 1956.
11. MENGES, R. W. — Blastomycosis in animals. A review of an analysis of 116 canine cases. *Vet. Med.* 55:45-54, 1960.
12. NEGRONI, R. & NEGRONI, P. — Aspectos clínicos e inmunológicos de la blastomycosis sudamericana en la Argentina. *Tórax* (Montevideo) 17:63-66, 1968.
13. PALMER, C. E.; EDWARDS, P. Q. & ALLFATHER, W. E. — Characteristics of skin reactions to coccidioidin and histoplasmin, with evidence of an unidentified source of sensitivity in some geographic areas. *Proceedings of Symposium on Coccidioidomycosis. Public Health Service Publication No. 575*, 171-180, 1957.
14. YARZABAL, L. A. — Anticuerpos precipitantes específicos de la blastomycosis sudamericana revelados por inmunoelectroforesis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 13:320-327, 1971.

Recebido para publicação em 10/3/1972.