

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

AISLAMIENTO DEL HISTOPLASMA CAPSULATUM
DEL SUELO EN EL SALVADOR

TESIS DOCTORAL

PRESENTADA POR

LEONOR ISABEL MURILLO DE LINARES

PREVIA OPCION AL TITULO DE

DOCTOR EN MEDICINA

SEPTIEMBRE DE 1967

SAN SALVADOR

EL SALVADOR



CENTRO AMERICA

~~378.7284~~
~~UES-T.M.~~
~~M 979~~
~~1967~~

1
616.409
M 979
11-7
F.M.

EJ. 5- 14147

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

DR. ANGEL GOCHEZ MARIN

SECRETARIO

DR. GUSTAVO ADOLFO NOYOLA

FACULTAD DE MEDICINA

DECANO

DRA. MARIA ISABEL RODRIGUEZ

SECRETARIO

DR. TITO CHANG PEÑA

JURADOS QUE PRACTICARON LOS EXAMENES PRIVADOS DE DOCTORAMIENTO

CLINICA QUIRURGICA:

Presidente: Dr. Carlos González Bonilla
Primer Vocal: Dr. Fernando Alvarado Piza
Segundo Vocal: Dr. Nasif Juan Hasbún

CLINICA MEDICA:

Presidente: Dr. José Benjamín Mancía
Primer Vocal: Dr. José Simón Basagoitia
Segundo Vocal: Dr. Miguel Parada Castro

CLINICA OBSTETRICA:

Presidente: Dr. Jorge Bustamante
Primer Vocal: Dr. Angel Quan
Segundo Vocal: Dr. Carlos Mayora Escobar

JURADO DE TESIS

DOCTOR JOSE LLERENA GAMBOA

DOCTOR GERARDO ANTONIO GODOY

DOCTOR JOSE LUIS GURDIAN DE NUEDA

D E D I C A T O R I A

A MIS PADRES

A MI ESPOSO

A MIS MAESTROS

A MI HIJO

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Gerardo A. Godoy, quien dirigió este trabajo.

Al Personal del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador, que colaboró en el aspecto técnico, en especial a la Sra. Concepción Marín.

I N D I C E

- I INTRODUCCION Y GENERALIDADES
 - a) DEFINICION
 - b) DATOS HISTORICOS
 - c) EPIDEMIOLOGIA
 - d) OBJETO DEL TRABAJO

- II MATERIAL Y METODOS

- III RESULTADOS

- IV DISCUSION

- V RESUMEN

- VI BIBLIOGRAFIA

INTRODUCCION Y GENERALIDADES.

a) Definición.

La histoplasmosis es una micosis localizada o diseminada, producida por el Histoplasma capsulatum, el cual se presenta como pequeñas células ovales de 1 a 5 micras de diámetro en los tejidos, y crece en forma micelial en medios artificiales a temperatura ambiente. (16.25).

La enfermedad se inicia generalmente en el aparato respiratorio, y se difunde por los vasos linfáticos y sanguíneos pulmonares hacia ganglios mediastinales, bazo, hígado, médula ósea, suprarrenales, tubo digestivo, riñones, sistema nervioso central, corazón y otros órganos (7). Puede ser asintomática, presentarse como una enfermedad pulmonar aguda benigna o crónica progresiva, o generalizarse adoptando la forma sistémica grave que puede acabar en la muerte (7).

En los enfermos se puede encontrar el microorganismo en sangre periférica, médula ósea esternal, ganglios linfáticos y bazo (25), como un parásito intracelular de células mononucleadas.

b) Datos Históricos.

La enfermedad fué primeramente descrita por Darling en 1905 (10,33). Estudiando cortes de hígado y bazo de un caso de autopsia en Panamá, observó microorganismo que pensó eran protozoarios semejantes a leishmania. Lo denominó H. capsulatum porque observó al microorganismo rodeado de un halo claro que supuso fuera una cápsula. Posteriormente se pudo demostrar que tal espacio no era más que el resultado de la retracción de las sustancias citoplasmática, que sufre el histiocito parasitado y edematoso bajo la acción de la sustancia fijadora.

Da Rocha Lima, en 1912 (33), observó que el microorganismo visto por Darling tenía mayor similitud por sus características morfológicas y de cultivo, con hongos que con protozoarios, y anotó que las formas flageladas descritas por Darling, posiblemente fueron errores de observación.

En 1926, Riley y Watson (33) de Minnesota, reportaron el primer caso de histoplasmosis en los Estados Unidos. En 1932, Edna Tompkins, con la ayuda de Meleney y DeMombreun, hizo el primer diagnóstico antemorten de histoplasmosis humana, en una muestra de sangre periférica.

En 1933, Hansmann y Schenken, reportaron en la reunión de la Asociación Americana de Patólogos y Bacteriólogos, el aislamiento de un hongo, que ellos consideraron del género Sepedonium. En realidad, ese fué el primer cultivo de H. capsulatum.

En 1933, seis meses después del reporte anterior, DeMombreun (9, 23, 27) cultivó el organismo y describió sus características de crecimiento, morfología y requerimientos nutricionales. Demostró los postulados de Koch, inyectando el material del cultivo de animales, los cuales sucumbieron a la enfermedad, obteniendo los organismos de la sangre de estos animales durante su vida y luego cultivándolos de sus órganos después de muertos. Señaló que los medios enriquecidos con proteínas y mantenidos a temperatura de 37°C permiten reproducir las formas de levadura del hongo. Las esporas tuberculadas que han sido siempre consideradas patognomónicas para el diagnóstico del hongo, fueron fotografiadas, estudiadas y descritas por él. DeMombreun concluyó que la forma saprofitica del H. capsulatum posiblemente existía libre en la naturaleza.

En 1934, Smith (33), sugirió que la histoplasmosis podía ser la responsable de las calcificaciones intrapulmonares observadas frecuentemente en personas negativas a la tuberculina y a la coccidioidina.

En 1945, Palmer (30, 31), usó histoplasmina como antígeno para intradermo reacciones, que practicó en estudiantes de enfermería de casi todos los Estados Unidos . Los resultados mostraron enormes diferencias en la prevalencia de intradermore actores a la histoplasmina entre personas de diferentes regiones de los Estados Unidos, y un alto grado de correlación entre la sensibilidad a la histoplasmina y la presencia de calcificaciones pulmonares puestas en evidencia radiológicamente en personas tuberculi no negativas .

Debido a que la mayoría de las personas examinadas por Palmer fueron asintomá ticas, se sospechó la existencia de una forma benigna de histoplasmosis . Posteriormente, Christie en 1947 (33), reportó varios casos demostrativos de esta situación, docu mentados con demostraciones de cultivo o examen microscópico del H. capsulatum en el tejido .

En 1946, por primera vez el H. capsulatum fué cultivado del suelo por Emmons (13), de una muestra de tierra colectada cerca de un gallinero . Las esporas tubercula das del hongo, fueron visualmente demostradas en el suelo . Este descubrimiento se lo gró después de examinar 156 muestras de tierra . En estudios posteriores, Emmons (14) demostró la existencia de histoplasmosis espontánea en 10 especies diferentes de ani males .

Más recientemente, Emmons (33) ha demostrado la presencia de H. capsulatum en un alto porcentaje de perros y gatos, y presenta este hecho como evidencia de la am plia distribución de la infección, sugiriendo que el estudio de la infección animal propo ciona valiosa informacion sobre la prevalencia de la enfermedad en una región dada .

En El Salvador, el interés por el estudio de la histoplasmosis, se remonta a 194 cuando Argliello (3, 39), impresionado por el hallazgo de radiografías que mostraban

múltiples calcificaciones en los campos pulmonares, inició una encuesta para investigar los histoplasminoreactores en la población escolar de San Salvador, encontrando un 18% de histoplasminoreactores.

En 1957, Beltrán Duarte (3), verificó tres encuestas con histoplasmina en un total de 2153 personas, encontrando en 1208 pruebas hechas en niños escolares de la ciudad de Ahuachapán, una positividad de 39.1%. En 701 pruebas hechas en la Dirección General de Sanidad de la ciudad de San Salvador, en personas que llegaron a solicitar radiografía de tórax, una positividad del 68.2%, y en 244 pruebas efectuadas en pacientes de los servicios de Dermatología y Tisiología del Hospital Rosales, una positividad del 25.4%.

En 1959, Valiente, Trejos y Beltrán Duarte (36), reportaron los tres primeros casos de histoplasmosis encontrados en El Salvador, y en 1960, Trejos y Godoy (35) reportaron el aislamiento de las primeras cepas de H. capsulatum en El Salvador, de ganglios peritraqueobrónquicos, en 8 de 33 perros callejeros de la ciudad de San Salvador. Esto demostró la existencia del hongo en El Salvador, y la frecuencia de estos aislamientos (24.4%), indicó la amplia diseminación del hongo en la naturaleza en nuestro país.

En 1964, Trejos (29), aísla el H. capsulatum de una muestra de tierra, tomada de un pozo abandonado situado cerca de San Salvador, que había sido la fuente de infección para dos personas en quienes se demostró la histoplasmosis.

Posteriormente, se han demostrado varios casos de histoplasmosis en autopsia e in vivo, por medio de punción esplénica. En 1966, Mejía (29), reportó un estudio de revisión de 11 casos demostrados de histoplasmosis en el período de 1951-1965, a tando que todos fueron del tipo generalizado y ocurrieron en niños menores de 19 meses de edad.

Recientemente se ha demostrado un caso generalizado en un adulto de 19 años, que murió, encontrándose, como hallazgo de autopsia, H. capsulatum en bazo, ganglios linfáticos, riñón, corazón, etc. En este caso, el microorganismo se logró demostrar en tejido por medio de anticuerpos fluorescentes y por medio de cultivos.

c) Epidemiología.

La histoplasmosis es una enfermedad de distribución casi mundial, como lo han demostrado las pruebas con histoplasmina (4); hay millones de personas infectadas por el hongo, sin embargo, pocas de estas personas llegan a presentar signos clínicos de la enfermedad (33). La frecuencia de las reacciones cutáneas positivas, aumenta rápidamente con la edad. Los dos sexos están afectados por igual en la infancia (6), pero entre adultos predomina en el sexo masculino, probablemente por una mayor exposición a las esporas del hongo en el desarrollo de su trabajo. Los casos más graves, diseminados, se presentan en lactantes y en personas de edad avanzada. No se han encontrado diferencias significantes en cuanto a raza (16). En los estudios efectuados en el país estos datos coinciden (3. 29).

Se ha encontrado con frecuencia, asociación de histoplasmosis diseminada, con linfomas, leucemias, tuberculosis, diabetes y otras enfermedades en las que hay disminución de las defensas del organismo (16).

Afecta a los hombres y a algunos animales; y el microorganismo se ha aislado del suelo, aire y agua. No hay transmisión de hombre a hombre, ni de animal a hombre o viceversa.

En varias de las epidemias y casos aislados que se han reportado, se ha podido encontrar la fuente de infección cultivando el hongo del suelo (18, 19, 21, 23), de tal manera que al presente las evidencias obtenidas indican que la enfermedad es adquirida por inhalación de esporas contenidas en el polvo (1, 8).

Hasta 1953, según Furcolow (19), se habrían presentado 30 epidemias de histoplasmosis en los Estados Unidos, cuyos cuadros clínicos variaron de leves a graves, y cuyo diagnóstico se basó en la histoplasminoreacción, exámenes serológicos positivos, desarrollo de calcificaciones miliares en los pulmones y aislamiento del H. capsulatum del suelo en el sitio en que ocurrió la epidemia.

Se demostró notable relación entre la magnitud de la exposición y la severidad del cuadro clínico.

La frecuente asociación del hongo con excrementos de gallinas, pájaros y murciélagos y la alta humedad de los sitios de infección, haría creer que esta enfermedad tiene predominio en el medio rural. En efecto en muchos casos se ha relacionado con las ocupaciones rurales (17, 18, 19); sin embargo en muchas circunstancias se ha demostrado una mayor prevalencia de reactores a la histoplasmina en medios urbanos que en medios rurales (11, 12), lo que se atribuye a que los residentes de las ciudades se pueden infectar, al abonar sus jardines con fertilizantes preparados a base de guano de aves. La contaminación también puede ocurrir al visitar el campo o al aspirar esporas que flotan en el aire. Además, se han demostrado fuentes importantes de infección en las ciudades, en el suelo colectado bajo árboles o sitios frecuentados por los pájaros (11, 16).

En México se han descrito varias epidemias en individuos que penetraron en cuevas, minas o cavernas cuyo suelo estaba abonado por grandes cantidades de guano de murciélago (21), y en el cual posteriormente se ha aislado el H. capsulatum. La mayor parte de casos ocurridos se presentó en los individuos histoplasmino negativos, lo que hace pensar que la infección previa confiere al individuo cierta inmunidad a la reinfección.

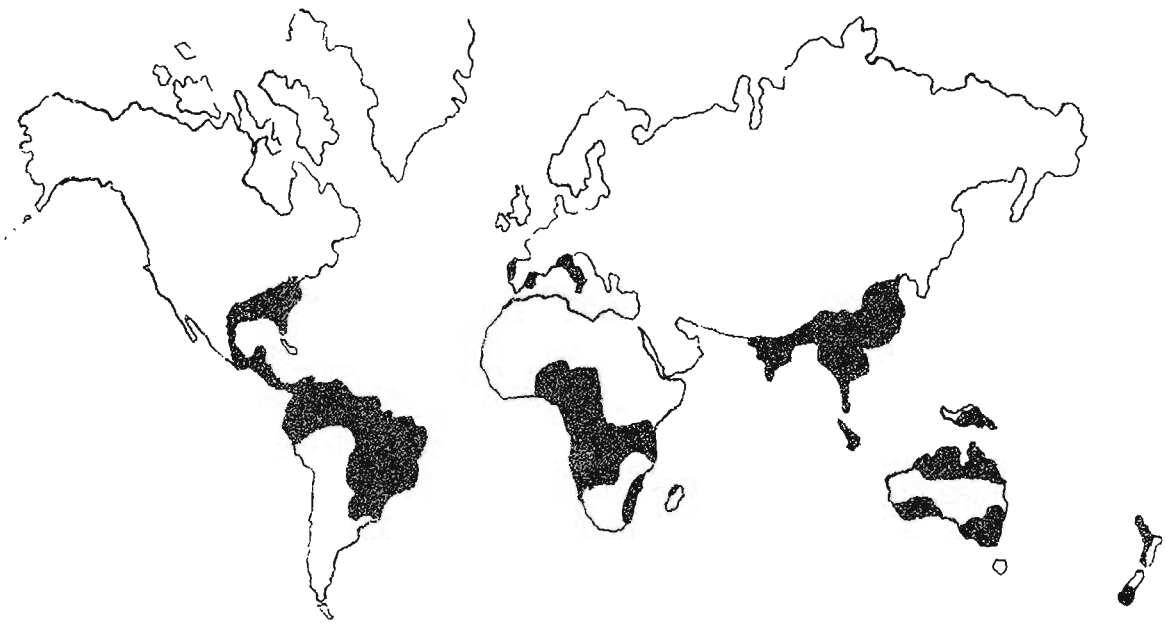
También se ha aislado el H. capsulatum con alguna frecuencia de muestras de tierra colectadas de gallineros y sus alrededores, aunque no se han demostrado gallinas infectadas, ni se ha tenido éxito al tratar de infectarlas. Otras especies de

aves asociadas con el habitar del hongo son Quiscalus quiscula, Steatornis caripensis, Columba livia, y Sturnus vulgaris (11, 12)

Posiblemente, los excrementos de estos animales, por poseer un alto contenido de materiales orgánicos, acondicionen el suelo favoreciendo la presencia y proliferación del H. capsulatum (1,2,17,18,20). Además en el murciélagó, sí se ha demostrado la infección en los tejidos y contenido fecal, lo que constituiría un medio directo de contaminación del suelo (26, 27, 28, 32).

Pero hay que considerar que hay sitios frecuentados por aves y murciélagos donde nunca se ha aislado H. capsulatum y existen casos en los que no hay una asociación clara con aves ni murciélagos (1). Debemos considerar que influyen también las propiedades biológicas y químicas de los distintos tipos de suelo, el clima y la actividad bioquímica de microorganismos del suelo. La humedad y la oscuridad favorecen también el desarrollo del hongo y su persistencia por períodos excepcionalmente largos (31). La mayor acidez observada en suelos positivos para H. capsulatum, sugieren que el pH puede ser un importante factor en determinar cuando éste puede ser un buen o mal habitat para el hongo. En el laboratorio es posible obtener crecimiento abundante del hongo, cultivándolo en medios preparados a diferentes pH. Bajo condiciones naturales, sin embargo, cuando el hongo está compitiendo por sobrevivir con miríadas de otros microorganismos en el suelo, el nivel de pH puede ser vital. Es posible que el suelo ácido pueda actuar por inhibición de ciertos gérmenes competidores, más que facilitando directamente el crecimiento del hongo (17, 23, 37).

El suelo llamado Red Yellow Podzolic, reúne varias de las características mencionadas para la proliferación del H. capsulatum. Es una capa de suelo relativamente superficial, ácido, que tiene una porción superior blanco grisácea y ceniza, desprovista de coloides. compuestos férricos y aluminio. y una inferior de color pardo en



MAPA DEL RED YELLOW PODZOLIC

En las zonas que presentan este suelo se ha encontrado que la población reacciona positivamente a la histoplasmina en un porcentaje apreciable.

la cual estos compuestos se han depositado. Es un suelo infértil, difícil de cultivar, encontrado en regiones cálidas, donde la humedad es alta y donde la cantidad anual de precipitación pluvial varía de 40 a 80 pulgadas. (Ver mapa en página No. 8)

d) Objeto del Trabajo.

Este trabajo tiene por objeto el estudio de muestras de suelo de diferentes regiones de la república, con el propósito de aislar y estudiar la distribución geográfica del H. capsulatum en nuestro país.

Exploramos especialmente la zona central de la República, y con mayor interés los departamentos de San Salvador y La Libertad, por ser estos departamentos los que han mostrado al momento actual mayor incidencia de casos de histoplasmosis en El Salvador (29), y por ser las cuevas de La Libertad, el sitio donde se han obtenido murciélagos en cuyas vísceras se ha demostrado el H. capsulatum (26).

La demostración de un alto porcentaje de histoplasminoreactores en El Salvador en 1957 (3), y el reporte de los primeros casos de esta enfermedad en nuestro país en 1959 (36), casos que han ido aumentando en número a partir de esa fecha (29) son hechos evidentes que hablan por sí solos de la importancia de la histoplasmosis para nuestra población.

Creemos que la histoplasmosis como muchas enfermedades, parecen aumentar su incidencia con el interés que se presta a la posibilidad de su presencia en cualquier región geográfica y con la educación de los médicos para diagnosticarla.

Es por ésto que nosotros enfocamos nuevamente este problema con el deseo de contribuir al conocimiento de la epidemiología de la histoplasmosis en el país y estimular el interés de los médicos y estudiantes en la investigación de esta enfermedad, para establecer su verdadera incidencia y su importancia como problema nacional.

Material y Métodos.

Durante los primeros siete meses del corriente año, se colectaron muestras de tierra de 100 sitios diferentes, que nos parecieron reunían las condiciones necesarias para favorecer el crecimiento y proliferación del hongo H. capsulatum.

Las muestras se tomaron principalmente de cuevas, iglesias, bodegas abandonadas, todas frecuentadas por gran cantidad de murciélagos cuyas excretas cubrían el suelo y que mantenían un ambiente húmedo, oscuro y caliente. También se tomaron algunas muestras del suelo de gallineros, de ranchos oscuros sin iluminación ni ventilación y con piso de tierra, y del suelo de las casas de dos niños en quienes se había demostrado histoplasmosis.

Cada una de las muestras se colectó en una bolsa plástica, la cual fué inmediatamente etiquetada y guardada a temperatura ambiente, por tiempo variable hasta el momento de procesarla.

Con cada una de estas muestras se preparó una suspensión al 20% en solución salina estéril, al 0.85%, conteniendo 20 u. por ml. de Penicilina sódica y 0.25 mg por ml. de Estreptomicina. Después de agitar vigorosamente con una espátula de madera, para formar una suspensión homogénea, ésta se dejó reposar por 90 minutos a temperatura ambiente, después de lo cual se removieron 0.6 ml. del sobrenadante, los cuales se usaron para inocular intraperitonealmente, con 0.2 ml., a cada uno de tres ratones. Los animales se colocaron en jaulas numeradas en igual forma que las muestras, y se observaron durante un período de cuatro semanas. Al final del período de observación todos los animales fueron sacrificados, tomando el bazo, el cual fué macerado y sembrado en agar de Mycosel (2 tubos por cada muestra), los cuales fueron identificados con el número correspondiente. En igual forma se estudiaron todos aquellos ratones que murieron después de 3 semanas de observación. Los

tubos se mantuvieron en observación a temperatura ambiente, por un período de 4 semanas, lapso durante el cual se examinaron por el método directo todas las colonias filamentosas que crecieron en los tubos con Agar de Mycosel* practicando subcultivos de las colonias sospechosas en tubos con medio de Sabouraud.**

El diagnóstico micológico de H. capsulatum, se hizo por la demostración de las características morfológicas del hongo en su fase miceliana (25).

Al concluir el período de observación, todos los cultivos que no habían mostrado crecimiento o que eran negativos a H. capsulatum, fueron descartados.

* Agar de Mycosel: Medio selectivo para el aislamiento de hongos patógenos de piel, pelo, esputo y otros materiales contaminados con flora mixta. Composición: Phytone 10, Dextrosa 10, Agar 15.5, Ciclohexamide 0.4, Cloranphenicol 0.05.

** Agar Glucosado de Sabouraud: Medio para propagación de formas miceliales y levadura. Composición: Neopeptones 10 g. Bactodextrosa 40 g. Bacto agar 15 g.

RESULTADOS

Se estudiaron un total de 100 muestras de tierra, de las cuales 46 fueron co-lectadas en el Departamento de La Libertad, 31 en el Departamento de San Salvador, 13 en el Departamento de Cuscatlán y 10 en el Departamento de Ahuachapán (Cuadro No. 1). Todas las muestras se tomaron de sitios cubiertos, protegidos de la luz solar.

C U A D R O No. 1

Distribución del número de muestras y su positividad a H. capsulatum según el Departamento en que fueron tomadas

Departamento	número	%	Positividad	%
La Libertad	46	46	0	0
San Salvador	31	31	1	3.2
Cuscatlán	13	13	0	0
Ahuachapán	10	10	0	0
Total	100	100	1	1

El 82% de las muestras se tomaron en sitios habitados por murciélagos, el 3% de sitios habitados por gallinas y el 15% de sitios que no tenían relación con excretas de animales (Cuadro No. 2).

C U A D R O No.2				
Distribución del número de muestras y su positividad a <u>H. capsulatum</u> según la presencia de excrementos de gallina o murciélagos en los sitios en que se colectaron				
Sitios	Número	%	Positividad	%
Sitios con excremento de Murciélago	82	82	1	1.2
Sitios con excremento de gallinas	3	3	0	0
Otros	15	15	0	0
Total	100	100	1	1

Algunos tubos presentaron, a los pocos días de haber sido inoculados, colonias de hongos contaminantes; los contaminantes más frecuentemente aislados fueron *Escapulariopsis* spp. y *Penicillium* spp. Se aislaron también algunos dermatofitos, los cuales no fueron identificados.

Dos de los tubos mostraron crecimiento de colonias que se identificaron como *H. capsulatum*, de acuerdo a las características de cultivo y morfología de la fase miceliana. La muestra de tierra de la cual se aisló *H. capsulatum*, fué colectada en una bodega de la Hacienda Mapilapa, jurisdicción de Nejapa, Departamento de San Salvador. Este local había sido utilizado hacía muchos años para el almacenamiento de añil y luego había sido cerrado y abandonado. Al examinar el lugar, se pudo constatar que estaba habitado por numerosos murciélagos, los cuales depositan sus excretas en el suelo.

Los tubos inoculados con esta muestra de tierra, mostraron a los seis días de incubación, crecimiento de pequeñas colonias blancas, polvosas, aisladas, que luego se hicieron confluentes, para tomar luego un color café y aspecto polvoso en unas partes, conservando el color blanco y aspecto algodonoso en otras.

El estudio de las dos porciones de diferente aspecto y coloración mostró la presencia de numerosas hifas delgadas y clamidosporas tuberculadas, las cuales fueron más abundantes en la zona del cultivo que presentaba color café. Los subcultivos hechos a partir de las zonas de diferente coloración, fueron también uno café polvoso y el otro blanco algodonoso, mostrando el primero una mayor cantidad de clamidosporas.

De acuerdo a las características del sitio en que se tomaron las muestras, hay que hacer notar que éstas procedieron de cuevas en el 48% de los casos, el 14% fueron tomadas en bodegas abandonadas, 12% en pozos abandonados, 12% en casas situadas en ciudades, 8% en iglesias, 3% en casas en medio rural y 3% en gallineros (Cuadro No. 3)

CUADRO No.3				
Distribución del número de las muestras y su positividad a <u>H. capsulatum</u> de acuerdo a la clase de sitio donde se tomaron				
Sitio	Número	%	Positividad	%
Cuevas	48	48	0	0
Bodegas abandonadas	14	14	1	7
Pozos abandonados	12	12	0	0
Casas medio urbano	12	12	0	0
Iglesias	8	8	0	0
Casas medio rural	3	3	0	0
Gallineros	3	3	0	0
Total	100	100	1	1



Foto 1



Foto 2

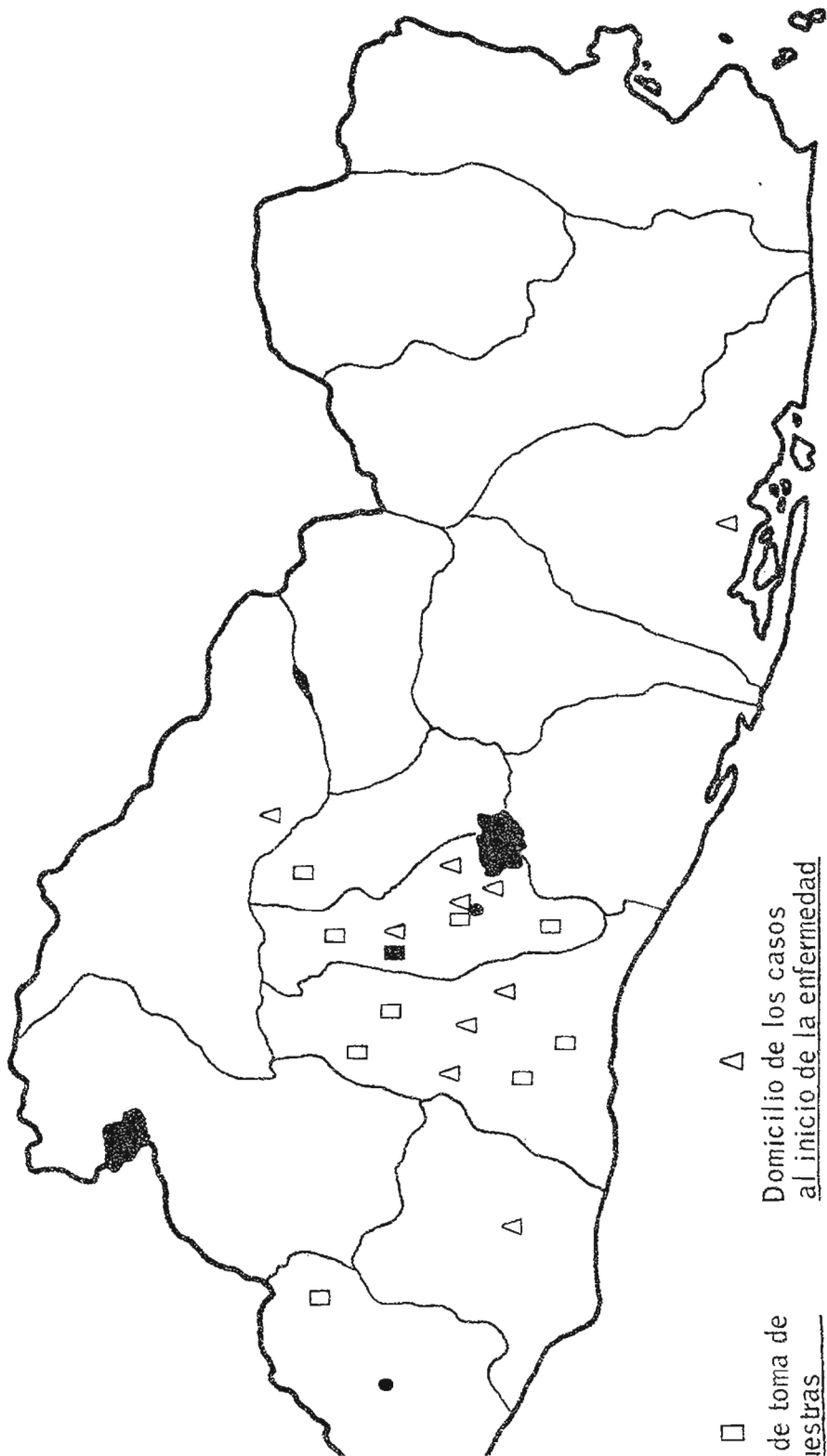
Bodega abandonada de la Hacienda Mapilapa, jurisdicción de Nejapa, Departamento de San Salvador, de cuyo suelo se aisló H. capsulatum

Foto 3

Cultivos de bazo de ratones inoculados con tierra, mostrando colonias que fueron identificadas como H. capsulatum

Foto 4

Microfotografía mostrando las clamidosporas tuberculadas características de H. capsulatum del cultivo de la Foto 3.



□ de toma de muestras

- zaya
- bertad
- agua
- itepeque
- a
- ares
- alvador
- 'lanes
- toto

△ Domicilio de los casos al inicio de la enfermedad

- San Salvador
- Tomacatepeque
- Soyapango
- Nejapa
- Ateos
- Colón
- Santa Tecla
- Usulután
- Chalatenango

■ Sitio con Muestras Positivas.

Nejapa

● Encuestas con Histoplasmina

Ahuachapán
San Salvador

DISCUSION

De Mombreun, en 1939 (9), sospechó la existencia en la naturaleza de la forma saprofítica del H. capsulatum, sospecha que fué confirmada en 1946 por Emmons (13), con el aislamiento del hongo del suelo.

Estudios posteriores (1, 2, 11, 20, 27), han demostrado relación entre la presencia de excretas de aves y/o murciélagos y la concurrencia de ciertas características físicas y químicas del suelo (15, 17, 24, 37), situación que determina la distribución del hongo en la naturaleza. La información recabada sobre el particular ha permitido estudiar mejor la epidemiología de la enfermedad y orientado el estudio de numerosas epidemias así como también la investigación de zonas endémicas (4, 11, 17, 19, 21).

El análisis del ciclo biológico que sigue la enfermedad en casos clínicos aislados y en epidemias, nos lleva a concluir que la infección se inicia con la inhalación de esporas del hongo contenidas en el polvo, cosa que ha sido demostrada también experimentalmente (8, 11, 18, 19).

Nuestras muestras fueron seleccionadas en base a los datos expuestos, permitiéndonos aislar el H. capsulatum en un sitio abandonado, cerrado, no ventilado y habitado por numerosos murciélagos.

El aislamiento de una sola muestra en un total de cien, nos puede parecer poco significativo, sin embargo hay que recordar que el aislamiento original de Emmons en 1946 (13), se logró después de examinar 156 muestras de tierra. En un estudio posterior del mismo autor (15), en el que se analizaron 1750 especímenes de tierra, sólo pudo demostrar la presencia del hongo en el 5% de los casos. En ciudades con alta prevalencia de histoplasmino reacción positiva se ha encontrado también un porcentaje muy bajo de aislamientos del hongo de la naturaleza (11, 12, 24), lo que ha sido considera-

do como debido a deficiencias del método usado, o a que existen otras fuentes de infección que no han sido demostradas al presente.

En relación con el presente trabajo es obvio admitir que se hace necesario estudiar un número mayor de muestras para obtener datos estadísticamente más representativos y exactos, que nos permitan determinar la verdadera distribución del hongo en la naturaleza y ubicar las principales fuentes de contaminación humana.

RESUMEN

El presente trabajo comprende un estudio micológico de 100 muestras de tierra, colectadas en sitios abrigados de la luz solar, como pozos abandonados, cuevas y cavernas, ubicadas en diferentes áreas del país. Con cada muestra de tierra se preparó una suspensión al 20% en solución salina con antibióticos, la cual fué inoculada intraperitonealmente en ratones (0.2 ml. por animal). Los animales se sacrificaron cuatro semanas después de inoculados, investigando la presencia del hongo en tejido esplénico, por medio de cultivos de fragmentos de ese órgano en Mycosel. El examen de los cultivos permitió identificar H. capsulatum en dos de los tubos inoculados con bazo de ratones que recibieron una dosis intraperitoneal de una suspensión de tierra, de las muestras comprendidas en este estudio. La recuperación de H. capsulatum demostrada en este trabajo, es una evidencia más sobre la existencia, habitat y distribución del hongo en el país.

BIBLIOGRAFIA

- 1 AJELLO, L. 1964. Relación del *Histoplasma capsulatum* con las gallinas y otras aves. Bol. Ofic. Sanit. Panamer. 56: 232-35.
- 2 AJELLO, L., BRICANO MAEX, P., CAMPINS, H. AND MOORE J.C. 1960. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from an oil bird (*Stenternis caripensis*) cave in Venezuela. Mycopathologia. 12: 199-206.
- 3 BELTRAN DUARTE, L. 1957. Frecuencia de histoplasmino reactivos positivos en dos localidades de El Salvador. Tesis doctoral. Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador, 30 p. San Salvador, El Salvador, C.A.
- 4 CAMPBELL, C.C. 1961. Histoplasmosis. A review of some epidemiologic and historical aspects. Rev. Lat. Amer. Microbiol. 4: 7-17.
- 5 CLAYTON, G.L. 1955. Histoplasmosis, some clinical, epidemiological and laboratory aspects. Med. Clin. N. Amer. 39: 171.
- 6 CONNANT, N.F., TILLERSON SMITH, C., BAKER, R.D., CALLAWAY J.L., AND MARTIN, D.S. 1954. Manual of Clinical Micology. 3rd. Ed. Philadelphia, W.B. Saunders.
- 7 CECIL AND LOEB. 1962. Textbook of Medicine. 11th. Ed. Philadelphia, W.B. Saunders.
- 8 DE MELLO, M.T., PAREDES, A.R. 1964. Early in vivo infection of rabbit alveolar histiocytes with aerosols of *Histoplasma capsulatum*
- 9 DE MOMBREUN, W.A. 1934. Cultivation and cultural characteristics of "Darling's *Histoplasma capsulatum*" Am. J. Trop. Med. 14: 93-125.
- 10 DARLING, S.T. 1908. Histoplasmosis. A fatal infectious disease resembling Kala azar found among the natives of Tropical America. Arch. Int. Med. 2: 107.
- 11 DODGE, H.S., AJELLO, L. AND ENGELKE, O.K. 1965. The association of a bird roosting site with infection of school children by *Histoplasma capsulatum*. Amer. J. Public. Health. 55: 1203-11.
- 12 EDWARDS, P.Q., AJELLO, L., MOORE, J., JACOBS, C. AND ARONSON, D. 1960. Soil samplings in an urban focus of Histoplasmin sensitivity. Amer. Rev. Resp. Dis. 81: 747-51

- 13 EMMONS, C.W. 1949. Isolation of *H. capsulatum* from soil. Pub. Health. Rep. 64: 892-96.
- 14 EMMONS, C.W. 1950. Histoplasmosis. Animal reservoirs and other sources in nature of the pathogenic fungus. *Histoplasma*. Amer. J. Pub. Health. 40: 436.
- 15 EMMONS, C.W. 1954. The significance of saprophytism in the epidemiology of the mycosis. *Trans. N.Y. Acad. Sci.* 17: 157.
- 16 EMMONS, C.W., BINFORD, AND UTZ. 1963. *Medical Mycology*. Philadelphia Lea & Febiger.
- 17 FURCOLOW, M.L. 1965. Environmental aspects of histoplasmosis *Arch. Environ. Health.* 10 - 4 - 10
- 18 GRAYSTON, J.T., LOOSLI, C.G. AND ALEXANDER, E.R. 1951. The isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil in an unused silo. *Science.* 114: 323-24.
- 19 GRAYSTON, J.T. and FURCOLOW, M. 1953. The occurrence of histoplasmosis in epidemics. *Epidemiological studies.* Amer. J. Public Health. 43: 665.
- 20 GONZALEZ OCHOA, A. 1963. Relaciones entre el habitat del murciélago y el *Histoplasma capsulatum*. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.* 23:81-86.
- 21 GONZALEZ OCHOA, A. 1963. Epidemiología de la histoplasmosis primaria en México. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.* 23: 65-80.
- 22 GONZALEZ OCHOA, A. Y NAVARRETE, F. 1956. Susceptibilidad comparada entre el hamster yeel ratón a la infección por *H. capsulatum*. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.* 16: 9-15.
- 23 GONZALEZ OCHOA, A. Y CERVANTES OCHOA, A. 1960. Histoplasmosis epidémica y su prevención. *Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop.* 20: 129-45.
- 24 GOOS, R.D. 1965. Growth and survival of *Histoplasma capsulatum* in soil. *Canad. J. Microbiol.* 11: 979-85.
- 25 HAZEN, E., CURTIS REED, F. 1960. *Laboratory identifications of pathogenic fungi simplified.* 2nd. Ed. Springfield Illinois. Charles C. Thomas.
- 26 KLITE, P.D. 1965. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from bats of El Salvador. *Amer. J. Trop. Med.* 14: 787-88.

- 27 KLITE, P.D. AND YOUNG, R.V. 1965. Bats and histoplasmosis. A clinico epidemiologic study of two human cases. *Ann. Intern. Med.* 62: 1263.
- 28 KLITE, P.D. AND DIERCKS, F.H. 1965. *Histoplasma capsulatum* in fecal contents and organs of bats in the canal zone. *Amer. J. Trop. Med.* 14: 433-39.
- 29 MEJIA, H. 1966. Histoplasmosis. Tesis doctoral. Facultad de Medicina. Universidad de El Salvador. 93 p. San Salvador, El Salvador C.A.
- 30 PALMER, C.E. 1945. Non tuberculous pulmonary calcifications and sensivity to histoplasmin. *Pub. Health Rep.* 60: 513.
- 31 PALMER, C.E. AND PETERSON, O.S. 1950. Studies of pulmonary findings and antigen sensivity among student nurses. *Publ Health Rep.* 65: 1.
- 32 SHACKELLETE, M.H., DIERCKS, F.H. AND FALE, N.B. 1962. *Histoplasma capsulatum* recovered from bat tissues. *Science.* 133:1135.
- 33 SCHWARZ, J. AND BAUM, G.L. 1957. The history of histoplasmosis 1906-1956. *New Eng. J. Med.* 256: 253-58.
- 34 SOTGIU, G., MAZZONI, A., MANTOVANI, A., AJELLO, L. AND PALMER, J. 1965. *Histoplasma capsulatum*: ocurrence in soil from the Emilia Romagna region of Italy. *Science.* 147: 624.
- 35 TREJOS, A. y GODOY, G.A. 1966. Aislamiento de las primeras cepas de *Histoplasma capsulatum* en El Salvador. *Arch. Col. Med. El Salvador.* 19: 126-27.
- 36 VALIENTE, J.F., TREJOS, A. y BELTRAN DUARTE, L. 1959. Histoplasmosis en El Salvador. Presentado al VIII Congreso de Tuberculosis y Silicosis en México.
- 37 ZIEDBERG, L.D., AJELLO, L. AND WEBSTER, R.H. 1955. Phisical and chemical factors in relation of *Hi stoplasma capsulatum* in soil. *Science.* 122: 33-34.
- 38 ZIEDBERG, L.D. 1954. Soil studies. *Amer. J. Trop. Med.* 3: 1057-61