

AISLAMIENTO DE HISTOPLASMA CAPSULATUM DEL GUANO
 DE MURCIELAGO EN CUEVAS DEL NORESTE DE MEXICO*

DR. EDUARDO AGUIRRE PEQUEÑO

EN 1906, DARLING¹ encontró por primera vez el organismo al que llamó *Histoplasma capsulatum*. Darling estaba tratando de buscar el Kala-azar y probablemente influido por la mira de sus investigaciones, interpretó aquel organismo como un protozoario semejante a *Leishmania*, para el cual propuso el nombre de *Histoplasma capsulata* que después corrigió como *H. capsulatum*.²

Da Rocha-Lima³ en 1912 al examinar el material de Darling, reconoció que el organismo en cuestión es un hongo y no un protozoario.

DeMonbreun en 1934⁴ demostró la naturaleza del germen y por primera vez cultivó esta nueva especie de hongo, a partir del diagnosticado en vida y al reproducir la enfermedad experimental en monos, mediante la inoculación del cultivo. Como un resultado de sus observaciones y experimentos, DeMonbreun llegó a la conclusión de que el agente patógeno de la histoplasmosis es un hongo dimorfo. Propuso el cambio de nombre de la enfermedad por el de "Citomicosis de Darling" la señaló como infección generalizada del sistema retículoendotelial, con proliferación de la forma parasítica del hongo dentro de las células. Posteriores investigaciones vinieron a dilucidar las condiciones de conversión de la fase micelial a la de levadura y de ésta a la micelial.

Desde el año de 1906 al de 1934 sólo siete casos humanos de histoplasmosis, todos mortales, fueron registrados, con variada distribución geográfica.

El pronóstico de la afección, hasta entonces era invariablemente mortal, y se admitía, con Darling, que la enfermedad era muy poco frecuente, ya que de 33,000 pacientes, sólo en 3 casos no mortales se la había encontrado.

Desde 1938, varias epidemias de histoplasmosis se registraron entre campesinos,

* Leído en la sesión del 6 de agosto de 1958.

que manejaban estiércol animal de palomas o de gallinas, de acuerdo con Campbell, ⁵ Nauen y Orns ⁶ y White y Hill, ⁷ Taylor y Smith ⁸ y Woodward.⁹

Particularmente interesantes, por los datos que permitieron hallar, fueron los brotes epidémicos del Campo Gruber, y el de Foreman, Arkansas, ocurrida en un grupo de 25 trabajadores mineros que contrajeron la enfermedad, con manifestaciones pulmonares, después de efectuar trabajos de excavación en la mencionada mina. También adquirieron la enfermedad visitantes que estaban muy cerca del lugar en que se efectuaban los trabajos.

Entre las conquistas realizadas para el conocimiento de la patología de la Histoplasmosis, debemos recordar los trabajos de Christie y Peterson (1945) ¹⁰ quienes con reacciones negativas a la tuberculina y positivas a la histoplasmina, encontraron la prevalencia de una forma benigna y asintomática de histoplasmosis, con amplia distribución geográfica, y echaron por tierra los viejos conceptos que consideraban a la histoplasmosis de pronóstico invariablemente fatal, poco frecuente. ^{11 y 12}

“Uno de los hechos de mayor trascendencia en la Epidemiología de la histoplasmosis, tuvo lugar en 1949, cuando Emmons aisló del suelo *Histoplasma capsulatum* ¹³ y demostró, que este hongo se desarrolla activamente en la tierra como un saprofito”. (Lazarus y Ajello). ¹⁴

El aislamiento de *Histoplasma capsulatum* de la fuente inicial (suelo, guano, agua y atmósfera), constituyen hoy uno de los más importantes factores en la investigación de los brotes epidémicos de histoplasmosis. Los pacientes con las “hoys” clásicas neumonitis, originadas en las cuevas, minas, etcétera, nos indican el foco de contaminación.

Entre nosotros la histoplasmosis ha sido estudiada desde hace algunos años, como se dijo en el simposio sobre ese tema que esta Academia efectuó el año próximo anterior. ^{15 a 19}

Más recientemente (1957), los médicos de La Laguna, J. del Valle, S. Pedroza, K. Alcántara y R. Weber, hicieron magnífica aportación con el título de “Histoplasmosis pulmonar en La Laguna” en la cual se refirieron al brote de la “Cueva del Indio” mencionada anteriormente por González Ochoa (loc. cit.).

Hay entre otros aspectos del trabajo algunos datos de carácter histórico que merecen especial atención como el señalado por Pedroza, al referirse a epidemias de la mina abandonada del Refugio de Lampazos, N. L. (1948) cuando dice: “Nuestro diagnóstico es discutible ya que no fue posible el aislamiento del *Histoplasma capsulatum* en productos biológicos, ni en el suelo de los sitios de contagio, así como tampoco hacer pruebas de laboratorio más elocuentes como la fijación del complemento; sin embargo, a nuestro juicio han bastado otros requisitos de diagnósticos para pensar en la afección citada”. (Se refieren a la histoplasmosis epidémica). En otra página expresan: “En cuanto a los casos que ahora presentamos, sabemos que carecen de los valiosos exámenes de laboratorio que aún no practicamos como son las pruebas serológicas y el cultivo del hongo en los esputos,

por otra parte, tenemos el ofrecimiento del Dr. González Ochoa, de intentar el aislamiento del hongo de la tierra de las cuevas en las que se han originado estos casos; no obstante la carencia de los exámenes mencionados, en estos enfermos —continúan diciendo— se han cumplido tres de los requisitos que el micólogo antes mencionado, establece para aceptar el diagnóstico”.

Estas nuevas aportaciones que vienen a señalar a Nuevo León como el foco del pasado y en el presente de varias probables epidemias de histoplasmosis, con la recientemente presentada en enero del presente año (1958), me alentaron a continuar las visitas a esas cuevas: “La Envenenada” y la “Del Diablo”, hoy con las precauciones que exigen las circunstancias y no como ayer (1957) cuando invitado por las autoridades locales, quienes sostenían que los trabajadores que penetraban a la “Cueva Envenenada” para explotar el guano, morían de cuando en cuando en grupos, con “manifestaciones pulmonares consistentes en fiebre, expectoración sanguínea, dificultad para respirar, con aspecto morado en la cara (cianosis) etcétera, y que por fin morían como envenenados después de unas cuantas semanas”.

Recuerdo que al penetrar con uno de los trabajadores supervivientes, aún se encontraba en la entrada de la cueva, la costalera un tanto abandonada, ya que nadie se atrevía a continuar las labores después del tan lamentable suceso. En posteriores trabajos habremos de ocuparnos, previos estudios ecológicos de las cuevas, de por qué en ciertas circunstancias parecen presentarse en éstas mayores posibilidades de contaminación humana.

Tan seguros estaban los deudos al correlacionar la enfermedad de sus víctimas con la forma de trabajo que desempeñaban, que se dieron algunos casos de exhumaciones propuestas por los familiares, a fin de probar que el “Envenenamiento” originado en las minas, según suponían, era la causa de la muerte y por tanto el comprobarlo, poder reclamar la indemnización que la ley dictamina.

La “enfermedad de las cuevas”, histoplasmosis pulmonar primaria, grave, epidémica, de evolución progresiva aguda y fatal, era ignorada en aquellos tiempos, como se la sigue ignorando, desgraciadamente, a pesar de las conquistas de la ciencia.

No son pocas las viudas con numerosos hijos que las circunstancias me han obligado a conocer y que, mientras tanto, a pesar de nuestros actuales conocimientos, aún continúan esperando la protección de nuestras leyes a que tienen derecho.

Ya J. B. Skinner desde 1950 ha señalado el camino, al publicar en el *New England J. Med.* su original trabajo intitulado: “Newer occupational diseases.”²⁰ En México, Martínez Báez, al comentar el trabajo de González Ochoa, expresa: “En esta parte de la nota que comentamos y que nos interesa particularmente, se describen en resumen ocho brotes epidémicos de histoplasmosis, ocurridos en nuestro país en varios lugares, dentro de los últimos años, que siempre han tenido como víctimas a personas que penetraron en minas abandonadas o en cavernas, con fines de explotación o bien para extraer guano”. “Este último aspecto --continúa di-

ciendo Martínez Báez— reviste especial importancia, ya que hace de la histoplasmosis una enfermedad ocupacional y obliga a buscar el procedimiento que permita explotar yacimientos de guano, existentes en cavernas, eliminando el peligro de la infección histoplasmosica que, como la nota que comentamos relata, ha costado ya buen número de vidas humanas”.

Los médicos de La Laguna también demuestran interés por la protección del trabajador cuando dicen: “Por último, no deseamos dejar pasar un aspecto que consideramos muy importante; en casos como los relatados por nosotros en los cuales es innegable que la infección se adquirió en el sitio en que labora el individuo y como resultado evidente de su trabajo, la enfermedad deberá ser considerada como profesional y el trabajador tendrá que ser protegido de acuerdo con estas circunstancias.”

Estos antecedentes me alentaron para llegar a cabo un programa de actividades con miras de aislar *Histoplasmosis capsulatum* del guano de murciélago en cuevas del noroeste de México, objeto de esta comunicación eligiendo para el estudio el guano de cuevas con antecedentes probables de haber dado origen a casos de histoplasmosis.

En esta forma uno de los cuatro criterios establecidos por Crayston y Furcolow, aislamiento de *H. capsulatum* del suelo — guano— del lugar de origen de la epidemia, vendría a sumarse a los anteriores, ya mencionados y tan ampliamente expuestos por González Ochoa para que las epidemias en México, clasificadas hasta ahora con el carácter de “probables”, sean reconocidos como Epidemias de histoplasmosis al poner en evidencia, como es mi propósito, el agente etiológico *Histoplasma capsulatum*, en su forma libre o saprofita de esporas (clamidosporas), en el guano de murciélago de las cuevas con los antecedentes de los brotes probables ya mencionados.

MATERIALES Y MÉTODOS

A principios del presente año, inicié personalmente la recolección de muestras siguientes de los guanos de algunas cuevas y minas del noroeste de México, en particular de las de Nuevo León, con antecedentes de haber originado epidemias de histoplasmosis. Las cuevas “Envenenada” y “Del Diablo”, de Sabinas, N. L.; la mina “El Refugio” de Lampazos, N. L.; la “Cueva del Guano de Tamaulipas” cerca de Jiménez, y la llamada “Mina del Indio”, del ejido de Picardías, cerca de Torreón.

Un buen equipo de explorador fue usado, así como una buena mascarilla y dos lámparas eléctricas, una mediana y otra chica de repuesto. Conviene recalcar la importancia que tiene el que el colector se eduque para respirar con la mascarilla bien ajustada.

Los especímenes, debidamente registrados, se colectaron en tubos de vidrio de 25 por 150 mm., con tapones de algodón, rasando la superficie del guano, para

que en esta forma las porciones superficiales penetraran en el tubo. Las muestras se llevaron al laboratorio y por lo general se examinaron inmediatamente; a veces algunas de ellas fueron guardadas a una temperatura de 2 a 5°C, para su investigación posterior.

Diversos métodos fueron ensayados, desde el original de flotación de Stewart y Meyer, (1932) empleado por su autor para el aislamiento de *Coccidioides immitis*, y posteriormente modificado por Emmons (1949) (loc. cit) 1954; ²¹ Ajello y Zeidberg (1951) Ajello y Zeidberg (1951) shrdlusrhrlshrdlusrhrlshrdshdl y Zeidberg (1951); ²² Zeidberg, Ajello, Dillon y Runyon 1952; ²³ Lazarus y Ajello 1955 (loc. cit.); hasta los métodos de concentración, que hemos preferido y que se practican en el Communicable Disease Center, Public Health Service, de Kansas City, Kansas, según Larsh, Hinton y Furcolow, 1952. ²⁴

A continuación se anotan los métodos empleados.

Método intermedio.—Se colocan 10 c. c. de tierra en un cilindro graduado y se agrega solución salina hasta completar 100 c. c. Agítese por 5 minutos y déjese reposar durante 60 minutos, decantando luego el líquido sobrenadante y posteriormente se centrifuga. El sedimento se mezcla con 7 c. c. del líquido y se le agregan estreptomycinina y penicilina, para obtener una concentración de 8,000 unidades de cada una de estas sustancias por c. c. Un centímetro cúbico de líquido centrifugado sobrenadante, se inyectó posteriormente a cada ratón de un grupo de 7.

Método actual.—Puesto que las esporas se encuentran íntimamente mezcladas con el suelo, el método que actualmente usan los mencionados autores en su laboratorio, consiste en inyectar ratones con la mayor cantidad de suspensión de tierra que puedan tolerar, sin una excesiva mortalidad. Aún cuando unas cuantas suspensiones de tierra, contienen organismos o materiales tóxicos que matan a los ratones, se encontró que un c. c. de una suspensión al 1 por 10 de la mayor parte de las tierras, podía ser inyectada intraperitonealmente en ratones suizos, con una mortalidad de menos de un 20% durante la primera semana.

Es raro que mueran más de dos ratones durante la primera semana. No se da ningún otro antibiótico. Los ratones autopsiados después de tres a cuatro semanas y los hígados y bazo se muelen en un mortero; se añade solución salina fisiológica para hacer una suspensión que puede extenderse uniformemente sobre una caja de Petri que contenga agar-sangre y dos cajas de Petri que contengan medio de Sabouraud y se incuban a la temperatura de Laboratorio.

Los medios de cultivo utilizados, son los que a continuación se anotan: el de Loosli y col., ²⁵ consiste en Agar-sangre de borrego al 5%, enriquecido glucosa y cisteína al que se añadieron penicilina (20 unidades por c. c.) y estreptomycinina (40 unidades por c.c.), el medio de Sabouraud y el de harina de maíz. El material se inoculó en los tres medios de cultivo y se incubó a la temperatura del laboratorio. Además se incubaron a 37°C algunas placas adicionales de agar-sangre. Los cultivos no se consideraron negativos, sino hasta dos meses

después de haber sido inoculados. Las colonias que desarrollaron elementos que se suponían podrían ser *H. capsulatum* en agar-sangre, se trasladaron al medio de agar-harina de maíz y fueron posteriormente observadas para tratar de encontrar el característico crecimiento micelial, con las clamidosporas tuberculadas.

Otro medio de cultivo utilizado para el desarrollo de *H. capsulatum* desde la fase levaduriforme hasta la micelial, fue el empleado por Lazarus y Ajello (loc. cit.) es el siguiente:

Neopeptona (Difco.)	1.0 g.
Dextrosa	1.0 g.
Agar	2.0 g.
Agua destilada c.s.p.	100.0 ml.

Se ajusta a pH 7, antes de esterilizar en autoclave a 120°C, durante 10 minutos. Después de enfriar se agregan 40 unidades de penicilina y 20 unidades de estreptomocina por c.c.

También fue utilizado el medio de cultivo y la técnica de Howel²⁶ consistentes en la siembra de porciones de bazo de los animales inoculados en medios de agar-sangre y papa dextrosa-agar.

Medios de conversión.—Se anotan los que están siendo utilizados:

En agar-sangre con los tubos inclinados y cerrados; ²⁷ y ²⁸ en harina de papa y huevo ²⁹ compuesto de:

Harina de papa	1 g.
Agua destilada	100 cm. ³
Mixtura de huevo	150 g.

La harina de papa se calienta en agua de fuego directo hasta que la mixtura se coagule y luego se lleva al autoclave por 15 minutos a una presión de 15 libras. La mixtura de de huevo, que consiste en 100 g. de yema y 50 g. de huevo total se mezcla bien y se agrega a la harina de papa estéril. El medio es colocado en tubos de ensaye y se deja reposar en una posición inclinada, por una hora a 90°C. La titulación no es necesaria; el pH del medio será de 6.6 a 6.8. El uso de tubos con tapón de rosca es recomendable, aún cuando son satisfactorios los tubos con tapón de corcho.

También fue utilizado el medio recomendado por Lazarus y Ajello (loc. cit.) consistente en agar infusión de cerebro-corazón incubado a 37°C compuesto de:

Infusión de cerebro-corazón (Difco.)	3.7%
Agar	2.0%
Agua destilada, cantidad suficiente para	100 c.c.

Se esteriliza el medio en el autoclave a 120°C. durante 10 minutos.

El medio de Littman (1955) ³⁰ compuesto de hígado, bazo, glucosa, sangre y

agar es el que ha sido empleado preferentemente por el suscrito, para el desarrollo del *H. capsulatum*.

Por su aplicación práctica considero oportuno el transcribirlo como un verdadero factor auxiliar para el diagnóstico diferencial con la tuberculosis y otras micosis pulmonares.

Composición del medio:

Infusión de hígado de buey, conteniendo 5 g. de thiotone	500 c.c.
Infusión de bazo de buey, conteniendo 5 g. de thiotone	500 c.c.
Dextrosa q. p.	10 g.
Agar deshidratado	20 g.
Penicilina acuosa cristalina	20,000 U.
Dicloruro de estreptomina	50,000 U.
Sangre humana estéril vencida	100 cm. ³

Infusión de hígado de res.—Se añaden dos litros de agua destilada fría a 1,000 g. de hígado de buey fresco, desgrasado, cortado y molido. La mezcla fue calentada por una hora a una temperatura de 50°C., agitando ocasionalmente, y luego se lleva a 80°C. por 5 minutos para coagular las proteínas que se precipitan por el calor. Cuando todavía está caliente, se filtra la infusión a través de tres capas de material consistente en una toalla, cuatro capas de papel filtro ordinario que esté húmedo y envueltos en gasa, y algodón absorbente que esté bien seco. El filtrado se enfrió a una temperatura de 10 a 15°C., con el fin de que endurezca cualquier resto de grasa y en seguida vuelto a filtrar a través de papel filtro 10 g. de Thiotone (BBL) (obtenible de los laboratorios biológicos de Baltimore, Maryland) se disuelven en cada litro de infusión, ajustando el pH a 7.7 con NaCl 1 normal y la solución fue esterilizada en el autoclave a 15 libras por 15 minutos y almacenada para usos futuros.

Infusión de bazo de buey.—Bazos frescos de buey fueron liberados de sus cápsulas y posteriormente desgrasado y molido. A 1,000 g. de bazo molido se añadieron 2,000 c. c. de agua destilada fría. El método de preparación es el mismo que el empleado en la infusión de hígado de buey.

Preparación del medio.—500 c.c. de cada una de las infusiones de bazo e hígado de buey, conteniendo thiotone fueron mezcladas y se ajustó su pH a 7.7. En seguida se esterilizaron en autoclave a 15 libras de presión por 15 minutos y se filtraron a través de papel filtro, reajustándose su pH a 7.7. Se disolvieron 10 gramos de dextrosa en esta mezcla, se añadieron 20 g. de agar deshidratado y la mezcla fue llevada a punto de fusión y estrellada en el autoclave a 10 libras de presión por 10 minutos. La base de agar estéril fundido, fue luego enfriada a 50°C.; con precauciones de asepsia se añadieron soluciones acuosas de estreptomina y penicilina y 100 c.c. de sangre humana estéril. La solución se mezcló y se

colocó en cajas de Petri y tubos de ensayo estériles y posteriormente almacenados en el refrigerador después de su solidificación.

Después de la inoculación con el espécimen tanto los tubos como las cajas fueron sellados para evitar la desecación.

De las muestras de guano de cada cueva o mina se procedió a la aplicación de los métodos actual e intermedio de Larsh, Hinton y Furcolow (loc. cit.) empleando 7 ratones para la experimentación de las pruebas de cada cueva o mina.

7 c.c. del inóculo fueron aplicados por inyección intraperitoneal a igual número de ratones suizos de 3 a 4 semanas de edad, los cuales fueron sacrificados después de un mes para luego continuar con el cultivo de bazo e hígado en los medios ya mencionados. Los cultivos fueron considerados como negativos después de mes y medio de la siembra. En suma, de dos a dos meses y medio fue el tiempo transcurrido entre la inoculación hasta la interpretación de las pruebas.

También fueron utilizadas muestras de guano en las que por los métodos de concentración revelaron buen número de clamidosporas al campo microscópico (objeto de posterior comunicación será un trabajo relacionado con las técnicas comunes usadas en coproparasitoscopia y su aplicación a la búsqueda del *H. capsulatum* del suelo).

Claro está que la aplicación de estas técnicas, cuyas soluciones generalmente matan las clamidosporas, sólo tienen por objeto clarificar las clásicas estructuras y darnos en esta forma una idea de su concentración.

Como dice Emmons hay mucha más variación en el aspecto de las macroconidias del suelo que en las de los cultivos; mientras en estas últimas los apéndices son característicos, las macroconidias del suelo por el contrario son de paredes gruesas, ya rugosas, ligeramente tuberculadas y más raramente con apéndices romos y escasos, cuyo desarrollo no llega al de los apéndices en los cultivos. Son tan abundantes en algunas muestras, que pronto pueden identificarse de acuerdo con Emmons, las nueve formas cuyos caracteres estructurales fueron objeto de especial estudio e ilustración de su original contribución 1949 (loc. cit.).

RESULTADOS

Los cultivos (2 por ratón) resultantes de la siembra de hígado y bazo de los 7 ratones previamente inoculados de acuerdo con las técnicas mencionadas, fueron positivos para todas las cuevas o minas.

Varios de ellos contaminados y con respuestas negativas resultando en esta forma que de los 14 cultivos correspondientes a cada cueva o mina sólo respondieron en forma positiva de 1 a 3.

Muchos han sido los cultivos contaminados, así como las respuestas negativas correspondientes a ratones adultos. Por no disponer de hamsters, lamentamos no haber hecho pruebas en tan sensible animal de laboratorio de acuerdo con González Ochoa (loc. cit.).

DISCUSIÓN

Emmons (1949) (loc. cit.) fue el primero en aislar el *H. capsulatum* del suelo en lugares donde la infección era conocida; Ajello y Zeidberg (1951) (loc. cit.) aislaron con éxito el hongo *H. capsulatum* del suelo de lugares donde había una alta prevalencia a las pruebas de sensibilidad cutánea en la población humana.

Recientemente Gordon y Cupp 1953 (loc. cit.) y Gordon, Ajello y Zeidberg 1952 (loc. cit.) han aislado *H. capsulatum* y otras esporas del suelo y del agua por medio de filtros de membrana. Furcolow y Larsh 1952 (loc. cit.) han reportado recientemente el aislamiento directo de *H. capsulatum* del suelo.

Furcolow y Grayston 1953 (loc. cit.) y Grayston y Furcolow 1953 (loc. cit.) fueron los primeros en llevar a cabo observaciones epidemiológicas y etiológicas de trece epidemias.

Antes de esta lista cronológica, seis brotes de enfermedades respiratorias fueron previamente reportadas por otros autores como afecciones de etiología indeterminada y bajo un sinnúmero de nombres que nos brindan la oportunidad de conocer la sinonimia antes del descubrimiento etiológico (*H. capsulatum* del suelo) de las epidemias.

Los nombres con que los diversos autores denominaron a la enfermedad, variaron desde "neumonitis miliar aguda" 1954 (Nauen y Kornis loc. cit.); "neumonía atípica primaria" 1944 (Idstrom y Rosenberg loc. cit.); "Una enfermedad pulmonar poco común" 1947 (Cain, Davins, Downing y Mickle loc. cit.); "neumonitis de etiología desconocida" 1948 (Feldman y Sabin); "Enfermedad de las cuevas: una nueva entidad morbosa" 1948 (Washburn, Tuohy y Davis loc. cit.); "un tipo poco común de enfermedad pulmonar" 1950 (Rutledge loc. cit.).

Campins y colaboradores (1955) ³² reportan el primer brote de histoplasmosis en Venezuela (1954), manifiesta que de 13 individuos que penetraron a la cueva, 11 fueron afectados: 2 en forma grave, 3 en forma moderada y 6 en forma benigna. Todos se recuperaron.

Lazarus y Ajello (1955) (loc. cit.) informan acerca del aislamiento de *H. capsulatum* en tierra obtenida en la "Cueva de las Lechuzas" en donde abunda el guano de una ave nocturna y discuten la importancia de la presencia de *H. capsulatum* en la tierra y su relación con la "Fiebre de Tingo María".

De Bellard y colaboradores (1956) ³³ describen un caso, adquirido en un individuo que penetró a la cueva de Ocumare del Tuy, Venezuela, así también mencionan un probable brote de histoplasmosis ocurrido en Barquisimeto en 1952, seguido a la exploración a la cueva en Sarare por un grupo de estudiantes.

Tomando como básica la investigación de González Ochoa, expongo en un cuadro sinóptico un intento de recopilación cronológica de las epidemias de histoplasmosis acaecidas en América, anotando las ya mencionadas por su autor, en Estados Unidos y continuando luego con las de México y Sudamérica, con la aportación de algunos datos que nos obligan a rectificar conceptos anteriores,

como la copia fotostática del Libro de Actas de Salubridad Pública del Estado de Nuevo León de 1895. 34 y 35

CONCLUSIONES

- 1º *H. capsulatum* ha sido encontrado en cuevas o minas del noroeste de México, con antecedentes de epidemias probables de haber dado origen a casos de histoplasmosis.
- 2º El aislamiento de *H. capsulatum* del guano del murciélago de las cuevas o minas mencionadas, sumadas a los otros criterios o factores de Grayston y Furcolow (loc. cit.) y González Ochoa (loc. cit.) viene a hacer patente el factor etiológico de las epidemias.
- 3º La comprobación de la presencia de *H. capsulatum* por los medios ya conocidos en cuevas o minas sin ninguna relación con epidemias, indica el grave peligro de continuar penetrando en las cuevas sin las precauciones que las circunstancias exigen.
- 4º El guano de murciélago con determinadas variantes de calor y humedad constituye un medio extremadamente favorable para el desarrollo natural de *H. capsulatum* en su forma libre o saprofita.
- 5º Conocidas la composición química y los caracteres físicos (calor, humedad y demás factores ambientales observados) se desprende la conveniencia de buscar a estos factores, como son: Excremento de gallina o de paloma; tierras ricas en substancias orgánicas, próximas a gallineros, corrales, troncos podridos de árboles, silos, casas abandonadas, trojes viejos, túneles, sótanos, techos viejos en donde se albergan murciélagos y escuelas abandonadas.
- 6º El pronóstico de la histoplasmosis pulmonar aguda primaria adquirida en cuevas o minas, debe considerarse generalmente como grave.
- 7º La histoplasmosis epidémica y aún la esporádica adquirida en cuevas, grutas, o minas, en donde algunas personas se ven obligadas a trabajar, debe ser considerada como enfermedad profesional.

RESUMEN

Se hace breve relación histórica del *H. capsulatum* desde su descubrimiento en la forma parasítica, Darling 1905 (loc. cit.), hasta la forma libre o saprofita de esporas (macroconidias). Emmons 1949 (loc. cit.)

Se intenta una revisión de las epidemias de histoplasmosis en América, aparecidas exclusivamente en cuevas o minas; (la epidemia del Campo Gruber, por su importancia, ha sido incluida en este grupo), tanto probables como identificadas por aislamiento de *H. capsulatum* del suelo o del guano de murciélago habiendo tomado como principal fuente de información el trabajo de González Ochoa, 1957. (loc. cit.). Se ratifican algunos datos correspondientes a las Cuevas de Nuevo

León y se da a conocer un documento, tomado de las actas del Consejo de Salubridad Pública de 1895.

En suma, las epidemias ocurridas en México, pueden clasificarse en cuatro grupos:

- a) Las epidemias probables en las que únicamente se tienen como datos la sintomatología y el carácter epidémico relacionado a un foco común de infección, cavernas o minas abandonadas con la presencia de guano de murciélago.
 - b) Un segundo grupo de epidemias en que además de los datos anteriores existe la radiografía pulmonar característica.
 - c) Un tercer grupo al que se añaden las reacciones serológicas positivas.
 - d) Un cuarto grupo que consiste en agregar a los postulados anteriores, la presencia u aislamiento de *H. capsulatum* bajo dos aspectos.
- 1º La presencia e identificación de *H. capsulatum* en su forma parasítica por González Ochoa a partir de material obtenido de dos de los enfermos de las epidemias por él mencionadas.
 - 2º El aislamiento de *H. capsulatum* a partir del guano de murciélago por el suscrito, objeto de esta comunicación.

AGRADECIMIENTO

No podría dar por terminada esta comunicación sin hacer patente mi agradecimiento a las siguientes personas: al Dr. Chester W. Emmons del National Microbiological Institute, U. S. Public Health Service, de Bethesda; al Dr. M. Martínez Báez, Director del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales y al Dr. A. González Ochoa, Jefe del Laboratorio de Micología del mismo Instituto.

AISLAMIENTO DE HISTOPLASMA CAPSULATUM DEL GUANO
DE MURCIELAGO EN CUEVAS DEL NORESTE DE MEXICO*

COMENTARIO AL TRABAJO DEL DR. AGUIRRE PEQUEÑO

DR. ANTONIO GONZÁLEZ OCHOA

ES DOBLEMENTE satisfactorio el que se me haya encomendado el comentario a la comunicación del Dr. Aguirre Pequeño; por una parte el contenido de su trabajo: micológico, tema no frecuentemente favorecido en esta Corporación; y por la otra, el saber de antemano que se trataría de observaciones acuciosas y de gran laboriosidad, como las que han caracterizado los estudios del incansable espíritu de investigador que lleva Aguirre Pequeño demostrando en sus trabajos sobre Mal del Pinto, me han hecho sumamente grata esta tarea.

La histoplasmosis ha despertado la inquietud del Dr. Aguirre Pequeño, y con razón, ya que tal vez no exista otra entidad clínica en la que el conocimiento haya avanzado tanto en los últimos años y en tan corto tiempo como en esta afección, interesante en multitud de sus aspectos, algunos de ellos rayanos en lo novelesco; baste considerarse que en el lapso tan solo de diez años han cambiado radicalmente los conceptos, al grado de que en la revisión de la casuística mundial de histoplasmosis presentada por Bunnell y Furcolow desde 1905, fecha de su descubrimiento, hasta 1948, fecha de la publicación de ese trabajo, el número de las observaciones apenas llegaba a 100, y en la actualidad se sabe que la cifra de infectados asciende a varios millones.

El Dr. Aguirre Pequeño nos ha presentado sus observaciones de trabajos tanto de campo como de laboratorio, y entre los primeros nos parece encomiable su entusiasmo para hacer personalmente la recolección del guano supuestamente contaminado, ya que eligió particularmente cavernas donde se habían presentado epidemias de histoplasmosis, arriesgándose por lo tanto a contraer una infección

* Leído en la Sesión ordinaria del 6 de agosto de 1958.

grave, como ya existen antecedentes de investigadores que al llevar a cabo exploraciones semejantes adquirieron el padecimiento a pesar del empleo de mascarillas protectores (Campins y cols. 1956).

En dos notas presentadas a esta H. Academia sobre histoplasmosis primaria epidémica, una por el Dr. Donato Alarcón y otra por el que habla, en la sesión del 17 de julio del año pasado, el rimero refiriéndose fundamentalmente al aspecto clínico y nosotros al epidemiológico, ambos hacíamos hincapié en la frecuencia y gravedad de las epidemias mexicanas así como en la constante significación del guano de murciélago en las grutas donde se habían originado las epidemias analizadas, contrastando en estos dos aspectos: gravedad de la infección y guano de murciélago como foco de infección, con las epidemias acaecidas en los EE. UU.

En el análisis de las 14 epidemias referidas en nuestra nota considerábamos, siguiendo hasta cierto punto el criterio de Grayston y Furcolow (1956) al que el Dr. Aguirre Pequeño ha hecho alusión, cuatro grupos o categorías: a) epidemias probables en las que únicamente se tenían como datos la sintomatología y el carácter epidémico relacionado a un foco común de infección: grutas o minas abandonadas con presencia de guano de murciélago; b) epidemias, también probables, en que además de los datos anteriores existía la radiografía pulmonar característica y la positividad a la reacción histoplasmínica; c) epidemias comprobadas puesto que a los datos anteriores se añadía la serología positiva de los enfermos; y e) un cuarto grupo, también de epidemias comprobadas, en que a los postulados anteriores se sumaba la evidencia del aislamiento de *H. capsulatum* a partir de los enfermos. Grayston y Furcolow dan como dato para sustentar el diagnóstico de histoplasmosis en una epidemia el aislamiento del hongo a partir del foco de infección, y es sobre este aspecto que Aguirre Pequeño nos presenta su aportación.

De los cinco sitios explorados por Aguirre Pequeño en los que obtuvo guano de murciélago y en el que según le hemos escuchado pudo observar al microscopio las clamidosporas ornamentadas o macroconidias características de *H. capsulatum*, siguiendo los procedimientos preconizados por diversos autores norteamericanos, y más aún, le fue posible aislar el hongo por el procedimiento ordinario de la inyección intraperitoneal del guano al ratón, en dos de esos cinco sitios, "La Cueva del Diablo" y la mina "El Refugio", nosotros habíamos mencionado epidemias con el calificativo de probables, por lo tanto al aportar el Dr. Aguirre Pequeño el dato del halazgo de *H. capsulatum* en el guano de esos lugares, añade un dato más a la probabilidad de que esas epidemias hayan correspondido a histoplasmosis, puesto que la evidencia solo es dada por el aislamiento del hongo o por la serología.

En nuestra nota, ya aludida, comentábamos que aunque no nos había sido posible encontrar mención escrita acerca de el padecimiento que en el lenguaje popular de las regiones mineras del centro y norte del país se conocía desde épocas muy antiguas con el nombre de "fiebre de las minas abandonadas" o fiebre de las cavernas", existía en el dominio del público el conocimiento de esa enfermedad,

que probablemente correspondía a la histoplasmosis epidémica. A este respecto la curiosidad de historiador que también anima a Aguirre Pequeño le hizo dar con el valioso documento que nos ha presentado, y cuya importancia es tan grande que viene a demostrar el espíritu de observación mexicana, ya que la primera mención de esta enfermedad en los EE. UU. apenas si se hace en el año de 1938 (White y Hill), por supuesto sin que se llegase a identificar con la histoplasmosis sino hasta años posteriores.

El autor nos promete estudios subsecuentes, del orden de los ecológicos, para tratar de aclarar el "porqué en ciertas circunstancias parecen presentarse mayores probabilidades potenciales a la infección". Sin que para esta incógnita tengamos la contestación definitiva, nos parece que pudiera explicarse, en parte, por la variación de la magnitud del inoculum inspirado, y que en relación con este mismo aspecto estriba el llamativo contraste entre la benignidad de las epidemias norteamericanas y la gravedad de las mexicanas, ya que las primeras se han verificado en espacios más o menos abiertos, o poco confinados (patios, jardines, silos), a diferencia de las nuestras ocurridas en minas o grutas donde la misma dificultad para respirar, por el enrarecimiento del aire, obliga a hacer profundas inspiraciones que favorecen la introducción de grandes cantidades de clamidosporas; por otra parte, la mayor riqueza en nutrientes del guano de murciélago que coincide con las epidemias mexicanas, en relación con la menor riqueza nutritiva del guano de gallina o de paloma de las epidemias norteamericanas, probablemente contribuyan a una mayor o menor pululación, respectivamente, del hongo en esos substrata.

Por último, desde el comentario a los trabajos del Dr. Alarcón y nuestro, el Dr. Martínez Báez (1937) dio una llamada de atención para considerar a este tipo de histoplasmosis epidémica como una enfermedad ocupacional, y expuso la necesidad de emplear procedimientos que permitieran explotar los yacimientos de guano eliminando el peligro de la infección histoplasmósica, en el trabajo de los Drs. del Valle, Pedroza, Alcántara y Weber (1957) se clama porque esta enfermedad sea considerada como profesional, así como también por la protección del trabajador expuesto; y otro tanto propone el Dr. Aguirre Pequeño; pero, ¿cuáles serían las medidas de protección? Sin que siquiera ameriten consideración el absurdo recurso propuesto por alguno de tratar previamente el guano con un fungicida, o el no menos absurdo empleo de la mascarilla protectora, incompatible con el esfuerzo físico que requiere el trabajo de la explotación del guano o de los minerales en los recintos confinados donde se encuentran, nosotros nos atrevemos a sugerir, como medida fácilmente realizable, el que sólo sea permitida la contratación de trabajadores que ya hubieran sufrido la infección por *H. capsulatum*, lo que es tan sencillo poner de manifiesto con una prueba cutánea a la histoplasmina. Dos hechos presentamos como base a esta sugerencia: 1º que el marcado contraste que existe entre los millares de personas infectadas por *Histoplasma* y los pocos casos de muerte por histoplasmosis, es indicativo de la habilidad del organismo

humano para formar defensas contra esa infección, por lo tanto un sujeto en que ya existan esas defensas inmunológicas por una infección previa, acusada por la reacción positiva a la histoplasmina, estará en condiciones de resistir a una reinfección, inclusive masiva; y 2º el antecedente mencionado en el trabajo de Campins, Zubillaga y Gómez (1956) quienes, al estudiar una epidemia de histoplasmosis acaecida en Venezuela, penetraron al recinto donde tuvo lugar la infección provistos de mascarillas (Wilson N° 1), y de ellos tres, el único que adquirió el padecimiento, a pesar de la mascarilla, fue precisamente el que no había reaccionado a la prueba histoplasmínica. Quizás valiera la pena averiguar la utilidad de esta medida haciendo observaciones sistemáticas a este respecto con los correspondientes grupos testigos, ya que no vemos otra posibilidad de protección para este tipo de trabajadores.

Permítaseme como final de este comentario felicitar al Dr. Aguirre Pequeño por el trabajo que nos ha presentado, y hacer el augurio de que las contribuciones sobre histoplasmosis que en el futuro nos traerá, abonarán al conocimiento de este capítulo, no solamente por lo que se refiere al problema mexicano, sino al de la histoplasmosis en general.

REFERENCIAS

- Alarcón D. G., 1957. *Histoplasmosis pulmonar epidémica*. Gaceta Méd. de México, 87: 745-750.
- Bunnell, I. L. y M. L. Furcolow, 1948. *A report on ten proved cases of histoplasmosis*. Pub. Health Rep., 63:299-316.
- Campins, H., Zubillaga, C. and L. Gómez López, 1956. *An epidemic of histoplasmosis in Venezuela*. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 5:690-695.
- González Ochoa, A., 1957. *Histoplasmosis pulmonar aguda primaria*. Gaceta Méd. de México, 87:733-744.
- Grayston, J. T. and M. L. Furcolow, 1953. *Epidemics of Histoplasmosis*. A. J. Pub. Health, 43:665-676.
- Martínez Báez, M., 1957. *Histoplasmosis pulmonar aguda primaria*. Gaceta Méd. de México, 87:751-753.
- White, F. C. and E. E. Hill, 1950. *Disseminated pulmonary calcification. A report of 114 cases with observation of an antecedent pulmonary disease in 15 individuals*. Am. Rev. Tuberc., 62:1-16.
- Valle del, J., Pedroza, S., Alcántara, R. y R. Weber 1957. *Histoplasmosis pulmonar en la Laguna*. Rev. Mex. Tuberc., 18:521-532.