UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
República de Guatemala, Centro América.

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA HISTOPLASMOSIS INFANTIL EN GUATEMALA

TESIS

PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA POR

SALVADOR CASTAÑEDA MUÑOZ

Ex-interno de los Hospitales General, San José y Militar Central; Asistente Médico de las Guarderías Nacionales Infantiles y del Sanatorio de Niños Tuberculosos de las Guarderías Nacionales.

EN EL ACTO DE SU INVESTIDURA DE

MEDICO Y CIRUJANO

AGOSTO DE 1949

TIP. SÁNCHEZ & DE GUISE
8ª AVENIDA SUR NÚMERO 30.—TELÉFONO 2707.

INTRODUCCION

A principios del año 1948 el Dr. Carlos M. Monsón Malice, nos insinuó hacer una investigación sobre HISTOPLASMOSIS en los niños de la Capital, por medio de la cuti-reacción a la Histoplasmina y el estudio radiológico del tórax. Como se trataba de una enfermedad prácticamente desconocida entre nosotros, este estudio nos pareció interesante.

Se escogió para hacer esta investigación a las Guarderías Nacionales Infantiles, cuyo Departamento Médico nos ofreció su apoyo, auspiciando este trabajo. Posteriormente extendimos la investigación a las Salas de Niños del Hospital General. No se inició el estudio, sino hasta fines de ese año, por la dificultad de obtener Histoplasmina pura, que aun no se expende en el comercio; por una gentileza de la Casa Eli Lilly, obtuvimos este producto.

Casi simultáneamente y sin tener conocimiento de la investigación que llevábamos a cabo, el Dr. Raúl Fonseca P., inició la misma investigación en adultos, siendo él, el primero en encontrar casos de Histoplasmosis comprobada clínica y bacteriológicamente en Guatemala, publicando un magnífico trabajo de tesis, donde describe de manera amplia esta enfermedad en adultos. Por ello me circunscribiré en forma exclusiva a lo relacionado con la Histoplasmosis infantil y a la descripción de los resultados obtenidos en nuestra investigación.

Aprovecho la oportunidad para agradecer a los Médicos de las Guarderías Nacionales, su cooperación y a los Jefes de Servicio de las Salas de Niños del Hospital General, las facilidades prestadas para llevar a efecto este trabajo.

También agradezco la amplia cooperación que me proporcionaron, el Dr. Moisés Behar A., Jefe de la Sección de Bacteriología de los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Médicas; el Doctor Romeo de León, Jefe del Instituto de Investigaciones Científicas y el Br. Mario Fernández, Laboratorista del Hospital General, quienes con todo entusiasmo y acuciosidad hicieron las investigaciones de Laboratorio necesarias.

PRIMERA PARTE

DEFINICION.—La Histoplasmosis, enfermedad de Darling o Citomicosis retículo-endotelial, es una enfermedad actualmente bien definida, producida por un hongo, el Histoplasma Capsulatum, que ataca de preferencia el sistema retículo-endotelial y que clínicamente se manifiesta por cuadros diversos con enflaquecimiento, fiebre irregular, lesiones pulmonares, esplenomegalia, hepatomegalia, ulceraciones cutáneo-mucosas, anemia hipocrómica y leucopenia. Su evolución puede ser inaparente o manifiesta y su pronóstico variable.

HISTORIA.—Fue Samuel T. Darling en 1905, quien haciendo investigaciones sistemáticas de todos los individuos muertos por enfermedades acompañadas de fiebre y esplenomegalia en el Hospital Ancon de Panamá, tratando de encontrar en América el Kala-azar o Leishmaniosis visceral, descubrió en Diciembre de ese año, en el interior de las células del sistema retículo-endotelial del bazo y médula ósea, un parásito semejante a las Leishmanias aunque con algunas diferencias morfológicas, al cual llamó *Histoplasma Capsulata o Capsulatum,* considerándolo como un protozoo; en 1906 descubrió dos casos más.

Da Rocha Lima, en 1913, estando en Hamburgo, examinó las preparaciones de los casos de Darling, considerando al parásito no como un protozoo sino como un hongo. De Monbreum, en 1934 fue el primero que logró cultivar este hongo, tomándolo de la sangre y bazo de un niño de cinco meses de edad y reprodujo experimentalmente la enfermedad; cinco años más tarde encontró el *Histoplasma Capsulatum* en un perro, logrando reproducir la enfermedad por ingestión en perros jóvenes.

CLASIFICACION.—Strong lo clasifica entre la clase Ascomicetos, familia Coccidioidiacea, género Histoplasma, especie Capsulatum.

MICOLOGIA.—Este germen es fácilmente cultivable, tomándolo de los esputos, médula ósea, vísceras y exudados patológicos, presentando dos formas, según el medio usado. En el medio de Sabouraud a la temperatura del laboratorio, crece lentamente, formando una colonia de aspecto algodonoso, blanca, que se torna después café. Microscópicamente se observa micelio tabicado y algunas esporas sésiles o pediculadas, de 2 a 5 micras, ovaladas y rodeadas de una delgada cápsula; esta forma podría ser confundida con el Blastomyces Dermatitides, sin embargo, la aparición de las clamidosporas tuberculadas grandes, de 7 a 15 micras, redondas o piriformes, de pared delgada y centro vacuolado con algunos glóbulos de grasa, los diferencia de una manera segura; en caldo de buey glucosado crece formando múltiples flóculos pequeños, dispersados en la superficie y en el interior del líquido; microscópicamente hay micelio tabicado con pequeñas y escasas esporas; esta es la forma Miceliana. En gelosa-sangre a 37°C. forma colonias húmedas, opacas, blancas que vistas al microscopio demuestran las clásicas esporas, abundantes, mezcladas con escaso micelio tabicado; esta es la llamada forma Levaduriforme, la cual se puede mantener por resiembras sucesivas en medios frescos. No fermenta ningún azúcar y produce escaso indol en los medios peptonados.

En cualquiera de sus dos formas, la Miceliana o la Levaduriforme, puede ser inoculado con éxito al perro, cobayo, conejo, ratón y hamster, encontrándose las lesiones características semejantes a las del hombre, tanto macroscópica como microscópicamente.

Este hongo es bastante resistente a la desecación y a las bajas temperaturas, es destruído por calentamiento a 62°C. durante 20 minutos.

DISTRIBUCION GEOGRAFICA.—Considerada hasta hace pocos años como una enfermedad tropical rara, actualmente por el interés que ha despertado y la búsqueda sistemática de las formas asintomáticas curadas, se ha demostrado que es más frecuente de lo que se creyó en un principio y cada día son más numerosos los reportes comprobados de esta enfermedad. Se considera como una enfermedad distribuída en todo el globo, parece que hay lugares en los que es endémica, como en las zonas vecinas al río Misisipí en EE. UU. Probablemente debido a que en ese país es donde mejor se ha estudiado, es que de allí se ha reportado el mayor número de casos, pero si se intensificaran las investigaciones en otros países, el alto porcentaje comparativo de los Estados Unidos,

disminuiría sensiblemente. La descripción de la forma benigna y su investigación en masa por medio de la cuti-reacción con Histoplasmina, ha hecho que se conozca aun más su amplia distribución geográfica.

EDAD.—Esta enfermedad ataca a personas de todas edades; el caso de menor edad reportado es el de un niño de 7 semanas y el de mayor edad el de una persona de 71 años. Parece que sí hay alguna influencia de la edad, en esta enfermedad, pues en 1946 de 88 casos reportados, según estadísticas de A. Iams, 28 eran niños de los cuales 20 tenían menos de 15 meses de edad; todos estos casos fueron mortales. Los anteriores datos nos muestran una alta incidencia en niños, que llega al 31%, siendo más grave la enfermedad, mientras más pequeño es el niño. Las investigaciones con la intradermo-reacción a la Histoplasmina y las radiografías pulmonares hechas en masa, descubriendo las formas benignas, aumentan aun más la incidencia de la Histoplasmosis en los niños, encontrándose cifras hasta del 62% de casos positivos a la Histoplasmina con calcificaciones pulmonares y negativos a la Tuberculina (A. Christie y J. Peterson). La presencia de calcificaciones pulmonares con reacción positiva a la Histoplasmina en adultos, muestra una incidencia un poco más alta, pero hay que recordar que muchos de estos adultos, probablemente contrajeron la enfermedad en su infancia, sobre todo los que viven en las zonas consideradas como endémicas para la Histoplasmosis.

SEXO.—En el niño aparentemente no hay predilección por uno u otro sexo; en el adulto de acuerdo con las estadísticas de Parsons y Zarafonetis, el hombre es siete veces más atacado que la mujer, probablemente porque está más expuesto por su profesión u oficio.

PROFESION.—Tiene influencia, ya que la mayoría de los afectados son campesinos y agricultores, pero aún no ha sido posible concluir de una manera definitiva, por no conocerse las formas vegetativas de este hongo en la naturaleza.

RAZA.—Se ha reportado mayor número de casos en blancos, que en negros y mulatos o cualquiera otra raza.

MEDIOS Y VIAS DE CONTAMINACION.—Aun no se ha llegado a una conclusión sobre las vías de infección en el hombre. El alto porcentaje de formas pulmonares activas y la frecuencia de calcificaciones también pulmonares con reacción a la Histoplasmina positiva, lógicamente hacen pensar que la forma más frecuente de infección sea la inhalación, probablemente de polvo contaminado, como es para la Coccidioidomicosis; muchos autores, entre ellos Christie, aceptan esta vía como la más probable.

En las formas bucofaríngeas y gastro-intestinales, la puerta de entrada podría ser por el tracto digestivo; en las formas cutáneas, sobre todo localizadas, se ha sugerido la inoculación directa o por picaduras de insectos. Cualquiera que sea la vía de inoculación, la infección puede localizarse o generalizarse.

Acerca de la manera de infectarse los niños, el Dr. Carl W. Laymon, sugiere que los adultos podrían llevar a sus hogares el polvo contaminado y los niños se infectarían al jugar o gatear en el suelo; también se ha sugerido la contaminación al jugar con perros.

El contagio de hombre a hombre no se ha podido demostrar, pero dos casos de Histoplasmosis entre hermanos que dormían en el mismo lecho, hace pensar en esta forma de contaminación.

DURACION.—No es bien conocida la duración de la Histoplasmosis, pero en los casos fatales varía entre una semana y siete meses, teniendo como promedio, tres meses de duración. En los casos benignos subclínicos, aun no se conoce su duración.

MANIFESTACIONES CLINICAS.—La sintomatología de la Histoplasmosis infantil es un poco diferente que la del adulto, es muy variada e irregular y no hay síntomas o signos que pudieran llamarse clásicos o propios para esta enfermedad en el niño. Tampoco existen las formas clínicas más o menos individualizadas que se observan en el adulto; con los conocimientos actuales pueden distinguirse dos formas principales: la asintomática, subclínica, localizada y benigna, y la forma generalizada, grave y mortal.

La primera forma, que también podría llamarse inaparente, por lo general pasa inadvertida, puede confundirse con enfermedades corrientes y cura espontáneamente, dejando como lesión cicatricial pequeñas calcificaciones.

La alta incidencia de calcificaciones pulmonares con reacción positiva a la Histoplasmina y negativa a la Tuberculina, hace pensar que la mayoría de estas formas son pulmonares; también se han encontrado en muy pocos casos, calcificaciones en el bazo e hígado. A esta primera forma, Byron M. Stuart y colaboradores la llaman primitiva, localizada y autolimitada; el conocimiento de estos casos subclínicos es de gran valor epidemiológico y son los que han permitido señalar las zonas en que esta enfermedad es endémica. Probablemente es la forma más común y debe insistirse en su búsqueda sistemática en los conglomerados, como se hace en la actualidad con la Tuberculosis.

La segunda forma, generalizada o secundaria es grave y en la mayoría de los casos fatal; probablemente existe un período de incubación, pero es desconocido.

Su principio es de manera insidiosa y lenta, aunque puede tener a veces una iniciación aparentemente brusca.

Los principales síntomas y signos encontrados, son: gradual desarrollo de fiebre, anorexia, irritabilidad, astenia, detención o pérdida del peso corporal, palidez, tos crónica, disnea, distensión abdominal, diarrea, hepato y esplenomegalia, linfo-adenopatía, púrpura, anemia hipocrómica y leucopenia.

La fiebre es de tipo irregular, constante o remitente, pudiendo ser precedida o acompañada de calofríos y sudores; estos últimos son sobre todo nocturnos. La astenia, anorexia y pérdida de peso son los síntomas más notados.

Alexander M. Iams y colaboradores, resumen la sintomatología y exámenes de laboratorio en la Histoplasmosis infantil, de los datos recogidos en 21 casos reportados, como sigue:

Aparato respiratorio.—Los síntomas respiratorios más frecuentemente encontrados, fueron disnea, tos y cianosis; la tos en algunos casos era paroxística, simulando tos ferina. Seis pacientes presentaban signos físicos en el tórax, consistentes en disminución de los ruidos respiratorios, estertores y submatidez en las bases; de éstos, cuatro no presentaban nada anormal en las radiografías y en más de la mitad de los casos se encontraron lesiones pulmonares en la autopsia.

Tracto gastro-intestinal.—Los síntomas consistían en anorexia, regurgitaciones, vómitos, diarreas y en pocos casos constipación,

siendo la diarrea uno de los síntomas más frecuentes; sin embargo, en varios casos con lesiones intestinales encontradas en la autopsia, no habían síntomas gastro-intestinales.

Bazo.—En más de la mitad de los casos, la esplenomegalia era el síntoma principal, variando el tamaño del órgano, tres a cuatro veces más que lo normal.

Hígado.—La hepatomegalia también es un hallazgo frecuente, rebasando el borde inferior del hígado, de uno a tres traveses de dedo el reborde costal; en dos casos se encontró ictericia.

Piel.—Las lesiones cutáneas son raras en el niño. En los pocos casos observados, éstas consistían en lesiones costrosas, vesiculares, pustulosas, escamosas, gangrenosas o purpúricas; en todos acompañaban a Histoplasmosis generalizada.

Mucosas.—Es sumamente raro que estén interesadas en el niño; en un sólo caso se encontró lesión mucosa localizada en el tabique nasal, el cual perforó, habiéndose encontrado *Histoplasma Capsulatum* en dicha lesión.

Ganglios linfáticos.—La linfoadenopatía discreta generalizada es reportada en nueve casos; los ganglios eran firmes, indoloros y ligeramente aumentados de volumen.

Además de los anteriores hallazgos, se encontró otitis media supurada en tres casos.

EXAMENES COMPLEMENTARIOS. — *Sangre*: se encuentra en la mayoría de los casos anemia normocítica hipocrómica, pudiendo variar el número de eritrocitos entre 1.500,000 y 4.850,000 por mm. cúbico, como promedio 2.500,000 por mm. cúbico; en algunos casos hay signos de regeneración. La tasa de hemoglobina varía entre 4.2 y 8.4 gramos por 100. Los leucocitos pueden ser encontrados en número de 1,500 a 17,000 por mm. cúbico, pero en la mayoría de los casos hay leucopenia con linfocitosis. Puede haber trombocitopenia. La velocidad de eritrosedimentación generalmente está acelerada.

Orina.—Albuminuria, piuria y ocasionales cilindros fueron reportados, pero en ningún caso fueron de importancia clínica.

En los casos con lesión hepática puede encontrarse la reacción de van den Berg inmediata directa, índice ictérico alto y marcado descenso de las proteínas del suero sanguíneo.

Rayos X.—En las radiografías pulmonares se observan cuadros muy variables, semejantes a los de la Tuberculosis y no hay hasta ahora, descritos cuadros radiológicos que pudieran ser considerados como típicos de la Histoplasmosis.

ANATOMIA PATOLOGICA.—No hay diferencia en la anatomía patológica, tanto macro como microscópica en la Histoplasmosis del niño y del adulto, así como en la de los animales de experimentación.

Los mismos autores dividen los órganos afectados, por orden de frecuencia e importancia, en dos grupos:

Grupo A.	Grupo B.
Pulmones.	Médula ósea.
Gánglios linfáticos.	Glándulas suprarrenales.
Hígado.	Timo.
Bazo.	Piel, páncreas, miocardio, etc.
Tracto intestinal.	

Macroscópicamente se observan las siguientes lesiones: nódulos o tubérculos blanco-grisáceos pequeños, con o sin zonas caseificadas en el hígado, bazo, pulmones, pleuras, riñones y ulceraciones en el tubo gastro-intestinal. Además se pueden encontrar exudados serosos o serosanguinolentos en las cavidades pleurales, pericárdica y peritoneal; éstas serosas pueden presentar granulaciones pequeñas blanco-grisáceas.

Acerca del aspecto microscópico de la Histoplasmosis, Parsons y Zarafonetis, dicen: "La Histoplasmosis es una micosis única, la forma Levaduriforme característica del hongo ataca o es atacada por los grandes macrófagos o por las células del sistema retículo-endotelial. Puesto que las células de este grupo están normalmente presentes en todos los tejidos del cuerpo, a excepción de los cartílagos y la corteza de los huesos, no nos debe sorprender encontrar macrófagos parasitados en cualquier tejido."

A. Humphrey divide las lesiones en tres fases o estados definidos:

Primera fase.—Areas con células fagocitarias aisladas, llenas de parásitos o agrupación de estas células, formando pequeñas masas. Esta es la fase precoz de un área determinada.

Segunda fase.—Lesiones de un tipo algo diferente, producidos por la obstrucción persistente, continua y progresiva de un vaso, que originalmente condujo el fagocito al área en cuestión, de la cual resulta la necrosis, que es más marcada en el centro de la lesión; los fagocitos que emigran al tejido circunvecino, forman un anillo más o menos intacto en torno de este centro caseificado.

Tercera fase.—No es más que el resultado de la necrosis, tejido fibroso y masas hialinas, substituyen a la lesión y raros fagocitos se encuentran con parásitos en estado de degeneración. Algunas células plasmáticas, linfocitos o células gigantes han sido encontradas, así como células semejantes a las de Reed o Sternberg.

Cualquiera de estas tres fases puede coexistir en un mismo sitio de un órgano afecto.

La lesión producida por el *Histoplasma Capsulatum* puede ser considerada como un granuloma semejante al tuberculoso, pero en el cual siempre están presentes los corpúsculos levaduriformes intracelulares. Este parásito se presenta en las lesiones, únicamente bajo la forma Levaduriforme, en el interior de los macrófagos o de las células del sistema retículo-endotelial y muy raras veces se le encuentra libre; es ésta una característica de gran valor para el diagnóstico anatomopatológico.

Aparecen como pequeñas masas redondas u ovales de 2 a 5 micras rodeadas de escaso citoplasma y de una delgada membrana o cápsula hialina; la masa nuclear puede ser central o excéntrica, pero siempre única, carácter que la diferencia claramente de las Leishmanias y es coloreada por los colorantes basófilos.

Los frotes de médula ósea, la revelan invadida por mononucleares parasitados, pero nunca se ha observado granulomas o destrucción masiva.

En la sangre circulante pueden encontrarse macrófagos parasitados y por lo tanto, lograrse cultivos o inoculaciones a animales de laboratorio.

DIAGNOSTICO.—Teniendo la Histoplasmosis infantil una sintomatología no bien definida e irregular, se comprenderá la dificultad del diagnóstico, que la mayoría de veces se hace sin haberlo sospechado, por los exámenes de laboratorio.

A. Iams y col. estudiando los casos de Histoplasmosis infantil reportados en la literatura médica, con fin diagnóstico, clasifican según su importancia y orden de frecuencia, los principales síntomas y signos observados, en dos grupos:

Grupo A.	Grupo B.
Fiebre y pérdida de peso.	Leucopenia o glóbulos blancos en número normal.
Anemia normocítica hipocrómica.	Infección respiratoria inferior.
Esplenomegalia.	Gastroenteritis.
Hepatomegalia.	Linfoadenopatía.
	Dermatitis.
	Infección respiratoria superior.

Y dicen lo siguiente: "En el niño como en el adulto son muchas las enfermedades con las que la Histoplasmosis puede ser confundida; éstas enfermedades pueden presentar todos los hallazgos clínicos del grupo A y algunos del grupo B y de esta manera satisfacen los requerimientos para sospechar clínicamente la Histoplasmosis." En el caso particular de la Tuberculosis, con la que pueden coexistir y que también presenta sintomatología y radiografías torácicas semejantes, el diagnóstico deberá hacerse por los medios habituales para la Tuberculosis y además biopsias de la médula ósea u otros órganos. En los casos acompañados de desnutrición, hepato y esplenomegalia, deberá hacerse el diagnóstico con todas las enfermedades que presenten estos signos, como el Kala-azar, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Nieman Pick, enfermedad de Hodgkin, paludismo, enfermedad de Banti, leucemias y otras.

Desde luego, el diagnóstico seguro siempre lo hará el laboratorio por el examen microscópico de biopsia, frotes de sangre u otras secreciones y su posible cultivo e inoculación a animales de laboratorio. La intradermo-reacción positiva a la Histoplasmina, completará aún más este diagnóstico.

En las formas asintomáticas, la mayoría de las veces el diagnóstico es retrospectivo por medio de la reacción a la Histoplasmina y las radiografías pulmonares. Ocasionalmente puede hacerse el diagnóstico de estas formas, cuando se hacen investigaciones en masa con reacción de Histoplasmina y catastros radiológicos, pudiéndose seguir su evolución.

INTRADERMO-REACCION A LA HISTOPLASMINA.—En 1941 van Pernis y col. prepararon un antígeno obtenido de filtrados de cultivos de *Histoplasma Capsulatum* en caldo dextrosado, observando una reacción local cuando se inyectaba intradérmica-

mente en los pacientes y animales con Histoplasmosis. Zarafonetis y Lindbergh llamaron a este antígeno Histoplasmina. Otros autores han preparado diferentes antígenos con suspensiones de cultivo del hongo.

Actualmente se usan sólo los filtrados estériles de cultivos de varias cepas de *Histoplasma Capsulatum* en caldos sintéticos, adicionados de una pequeña cantidad de antiséptico como preservativo. Con el producto así obtenido se efectúan pruebas bacteriológicas y biológicas en animales de laboratorio para determinar su pureza, potencia y toxicidad.

La intradermo-reacción se hace con diluciones de este filtrado que se podría llamar Histoplasmina bruta. Las diluciones se hacen a los siguientes títulos: 1 × 1000, 1 × 100 y 1 × 10 en solución salina isotónica, con todas las precauciones de asepsia.

La Histoplasmina bruta o concentrada es bastante estable y puede mantenerse por varios meses sin ninguna alteración, sobre todo a baja temperatura; las diluciones pierden su potencia al conservarse por largo tiempo, por lo que deberán usarse recientemente preparadas. Sin embargo, nosotros conservamos durante 3 meses una muestra diluída al 1 × 1,000 a la temperatura ambiente, que después de este lapso, fue probada en un niño que había dado reacción positiva con una solución fresca a la misma dilución y aun conservaba su potencia.

Todo el instrumental usado para esta intradermo-reacción deberá ser esterilizado y exclusivo; no deberá hacerse con éste ninguna otra intradermo-reacción para evitar errores, sobre todo con la Tuberculina. La técnica es la de una intradermo-reacción corriente, inyectando un décimo de la solución a usar intradérmicamente; el sitio más usado es la cara anterior del antebrazo y siempre se principiará por las diluciones más débiles.

Hay dos clases de reacción: la inmediata y la tardía. La inmediata únicamente se observa cuando se usa Histoplasmina no diluída y consiste en una pápula de uno a uno y medio centímetros de diámetro, rodeada de un halo eritematoso de un centímetro que aparece a los 30 ó 50 minutos después de practicada y tarda poco tiempo. Su interpretación carece de interés práctico.

La reacción que se utiliza con fines diagnósticos, es la tardía, que consiste en una zona de induración y edema con o sin eritema en el sitio de la inyección, que aparece de 18 a 24 horas después de efectuada, alcanza su máximo a las 48 horas, persistiendo de 6 a

12 días. Para considerar positiva una reacción, la pápula de infiltración debe tener 5 mm. de diámetro o más. El eritema por sí solo no debe considerarse como reacción positiva. Las reacciones deberán leerse a las 48 ó 72 horas para eliminar así las falsas positivas, que desaparecen generalmente a las 24 horas.

Al igual que la Tuberculina, puede dar reacciones locales intensas, con flictenas, necrosis y ulceración. En la investigación llevada a cabo por nosotros, observamos que las reacciones positivas eran menos intensas que las de la Tuberculina con una dilución semejante y únicamente en un caso se observó necrosis.

No deberá considerarse a un sujeto como no sensible a la Histoplasmina, sino hasta cuando reaccione negativamente con las soluciones más concentradas y en algunos casos aun a la Histoplasmina no diluída.

La Histoplasmina es atóxica y no se observan reacciones generales aún con el antígeno puro.

El mecanismo de la reacción parece ser un fenómeno puramente alérgico y la reacción positiva únicamente nos muestra que un individuo fue o está contaminado con esta enfermedad.

Se han presentado casos de Histoplasmosis comprobada bacteriológicamente, en los cuales la reacción con Histoplasmina fue negativa; esto se podría explicar por trastornos desconocidos del mecanismo alérgico o como sucede con la Tuberculina, por un estado de anergia debido a la severidad de la infección o mal estado general del paciente.

Existe un período ante-alérgico entre la iniciación de la infección y la aparición de la positividad de las reacciones; este período aun no está bien determinado y experimentalmente parece variar entre 2 y 6 semanas.

La especificidad de la Histoplasmina fue puesta en duda por los trabajos de Emmons y col. al encontrar reacciones cruzadas en cobayos infectados experimentalmente con Histoplasmosis, Blastomicosis, Coccidioidomicosis y Haplomicosis. Howel en 1947 vino a demostrar que sí podían ser considerados como específicos los antígenos micósicos, si se tomaba en cuenta su concentración y el grado de sensibilidad del animal infectado.

LA HISTOPLASMINA Y LAS CALCIFICACIONES PULMONARES.—Desde hacía mucho tiempo se había notado que gran número de individuos con calcificaciones pulmonares, reaccionaban

negativamente a la Tuberculina. A pesar de ello, se seguían considerando estas calcificaciones como de origen tuberculoso, explicándose que las reacciones negativas a la Tuberculina eran debidas a una curación biológica o a un trastorno del mecanismo alérgico. Estos hechos tienen valor real sólo si anteriormente el individuo ha reaccionado positivamente a la Tuberculina.

Olsen sugirió que estas calcificaciones podrían deberse a lesiones producidas por la ascaridiosis; posteriormente se demostró que algunas calcificaciones son debidas a la Coccidioidomicosis (Smith y Aronson), pero la distribución geográfica de esta última enfermedad no explicaba la alta incidencia de calcificaciones en ciertas zonas.

C. Palmer, A. Christie y Peterson haciendo estudios sobre la incidencia de la reacción positiva a la Histoplasmina, observaron la estrecha relación entre ésta y la presencia de calcificaciones pulmonares en personas Tuberculino-negativas; notaron además, que aquéllos predominaban en ciertas zonas y llegaron a la conclusión de que dichas calcificaciones podrían deberse a Histoplasmosis. Emitieron asimismo la opinión de que la Histoplasmosis no era necesariamente una enfermedad mortal, como se había creído hasta entonces.

El hallazgo de *Histoplasma Capsulatum* en un ganglio hiliar de un niño con calcificaciones, que murió por otra enfermedad, ha venido a dar mayor apoyo para considerar estas calcificaciones como debidas a Histoplasmosis curada. Además se observaron dos niños con lesiones pulmonares diseminadas, con reacción negativa a la Tuberculina y positiva a la Histoplasmina, que en radiografías sucesivas calcificaron.

Acerca de la distribución y forma de las calcificaciones en los campos pulmonares, no hay cuadros específicos; radiológicamente no se puede hacer diagnóstico entre las calcificaciones debidas a la Tuberculosis y las calcificaciones por Histoplasmosis. Los cuadros radiológicos de calcificaciones pulmonares bilaterales, diseminadas o en gran número, son más frecuentes (90%) en individuos que reaccionaron positivamente a la Histoplasmina y negativamente a la Tuberculina.

PRONOSTICO.—Como en la Tuberculosis, el pronóstico deberá ser siempre reservado, sobre todo para las formas generalizadas. El descubrimiento de las formas asintomáticas o subclínicas que curan espontáneamente ha venido a hacer el pronóstico menos sombrío.

TRATAMIENTO.—Actualmente no existe ninguno específico para esta enfermedad; diferentes autores han usado medicamentos muy variados, obteniendo éxitos relativos con algunos de ellos. Los que más se han usado son los derivados tri y pentavalentes del antimonio, los yoduros y la Sulfadiazina, todos con resultados variables y poco concluyentes. La Estreptomicina parece tener cierta acción sobre la Histoplasmosis, pero aun no se han reportado resultados definitivos. En algunos casos de lesiones cutáneas o mucosas localizadas, se ha usado el Radium y la radioterapia, obteniéndose mejorías sobre todo para el síntoma dolor. Deberá darse además como tratamiento coadyuvante, transfusiones, inyección de soluciones salinas y glucosadas, ácidos aminados, suplementos vitamínicos y dietas adecuadas.

SEGUNDA PARTE

En el trabajo hecho por nosotros, utilizamos Histoplasmina pura de la casa Elli Lilly, la cual diluímos en solución clorurada isotónica estéril, haciéndola a los siguientes títulos volumétricos: 1 × 1,000, 1 × 100 y 1 × 10. Las jeringas graduadas al décimo, agujas cortas calibre 26 y los frascos utilizados, se usaron exclusivamente para esta reacción y cuando se necesitó hacer reacciones con Tuberculina se utilizó material completamente diferente, todo esto para evitar hasta donde fuera posible cualquier causa de error. Siempre se emplearon soluciones recientemente preparadas.

La intradermo-reacción la practicamos sistemáticamente en la cara anterior del antebrazo izquierdo, con un décimo de la solución al 1 × 1,000, reservando el antebrazo derecho para la intradermo-reacción con Tuberculina. Los resultados fueron leídos a las 48 horas, anotando como positivas únicamente las reacciones francas de más de medio centímetro de diámetro; en los casos dudosos se repitió la prueba con solución al 1 × 100. Unicamente en aquéllos en que se sospechó Histoplasmosis activa y que no reaccionaron a las soluciones débiles, se repitió la prueba con soluciones muy concentradas y hasta con Histoplasmina no diluída.

A todos los niños que reaccionaron positivamente a la Histoplasmina, se les practicó reacción de Mantoux y radiografías del tórax para investigar la presencia de calcificaciones pulmonares.

Además, en los laboratorios del Hospital General se nos informó cuando ocasionalmente en los exámenes de esputo, lavado gástrico o de cualquier otro material procedente de las Salas de Niños, se encontraron corpúsculos intracelulares semejantes a *Histoplasma Capsulatum;* a estos casos se les practicó también la reacción de Histoplasmina, radiografías, cultivos e inoculaciones a cobayos.

Esta investigación fue llevada a cabo en las tres Guarderías Nacionales Infantiles de la capital a las que asisten niños sanos, en el Sanatorio para niños tuberculosos pertenecciente a las Guarderías

Nacionales, en la Sala de Medicina de Niños, en la Sala de Medicina de Niñas y en la Primera Sala Cuna, las tres últimas del Hospital General de Guatemala.

Desgraciadamente, debido a la asistencia irregular de algunos niños a las Guarderías Nacionales, muchas de las reacciones no fueron leídas y algunos de los casos que reaccionaron positivamente a la Histoplasmina, no fue posible hacerles control radiológico. Las reacciones no leídas, no fueron tomadas en consideración en los recuentos parciales y generales.

Los resultados obtenidos se describen a continuación, por grupos según los lugares donde fue practicada esta investigación. Al final se presentan los resultados globales y conclusiones.

GUARDERIA "CENTRAL"

Les fue practicada intradermo-reacción con Histoplasmina a 294 niños aparentemente sanos. Reaccionaron positivamente 9 de ellos, 6 hombres y 3 mujeres. De los 9 niños que reaccionaron positivamente a la Histoplasmina, 5 reaccionaron también en forma positiva a la Tuberculina. Los porcentajes más altos se obtuvieron en niños de 6 y 7 años.

En las radiografías pulmonares, de los 4 que reaccionaron positivamente a la Histoplasmina, 2 presentaron calcificaciones hiliares y los otros 2 únicamente hilios un poco ensanchados.

Entre los que reaccionaron positivamente a la Histoplasmina y a la Tuberculina, únicamente fue posible hacer control radiológico a 3 niños y todos presentaron escasas calcificaciones hiliares.

GUARDERIA "LA PALMITA"

Les fue practicada intradermo-reacción con Histoplasmina a 235 niños aparentemente sanos; 11 presentaron reacciones positivas, 5 hombres y 6 mujeres. De ellos, 6 fueron positivos también a la Tuberculina.

El mayor porcentaje de los que reaccionaron a la Histoplasmina fueron niños de 4 años.

De los 5 positivos únicamente a la Histoplasmina, sólo fue posible practicar estudios radiográficos del tórax a 3 y todos presentaron calcificaciones hiliares; de los 6 que reaccionaron positivamente a ambos antígenos, se controló radiológicamente a 4, presentando calcificaciones 2 de ellos y los otros 2 nada anormal.

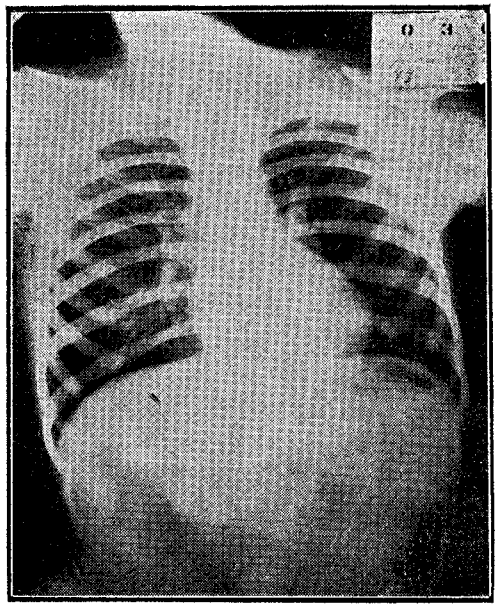

Figura Número 1.
Y. A. Histoplasmino-positivo
Tuberculino-negativo.

GUARDERIA "GUARDA VIEJO"

Se les practicó intradermo-reacción con Histoplasmina a 194 niños, todos aparentemente sanos, obteniéndose los siguientes resultados: 10 fueron positivos, 3 hombres y 7 mujeres; 6 reaccionaron también a la Tuberculina. El mayor porcentaje de positivos a la Histoplasmina se obtuvo en niños de 6 a 8 años.

En las radiografías de tórax presentaron escasas calcificaciones únicamente dos niños, de los 4 que reaccionaron positivamente sólo a la Histoplasmina y los otros 2 un hilio ligeramente ensanchado; entre los 6 que presentaron reacciones positivas también a la Tuberculina, sólo se pudo controlar a 4 de ellos, de los cuales 3 presentaron calcificaciones.

SANATORIO DE NIÑOS TUBERCULOSOS "LA AURORA"

En este Sanatorio se encuentran hospitalizados niños con Tuberculosis pulmonar de primo-infección, en diferentes etapas evolutivas y por lo tanto todos presentan reacción de Mantoux positiva.

Les fue practicada intradermo-reacción con Histoplasmina a 94 niños, dando reacciones positivas únicamente 5, siendo mayores de 8 años. Todos presentaron calcificaciones hiliares.

SALA DE MEDICINA DE NIÑOS, HOSPITAL GENERAL

Se efectuó la intradermo-reacción con Histoplasmina a 187 niños, 7 presentaron reacciones positivas, siendo la mayoría entre 6 y 8 años de edad; ninguno se encontraba hospitalizado por alguna enfermedad que hiciera sospechar Histoplasmosis; 4 de ellos fueron también Tuberculino-positivos.

Los 3 niños que reaccionaron únicamente a la Histoplasmina, presentaron calcificaciones; uno de ellos en regular cantidad y diseminadas bilateralmente en las regiones parahiliares; de los que reaccionaron a ambos antígenos, 7 presentaron calcificaciones hiliares en escaso número.

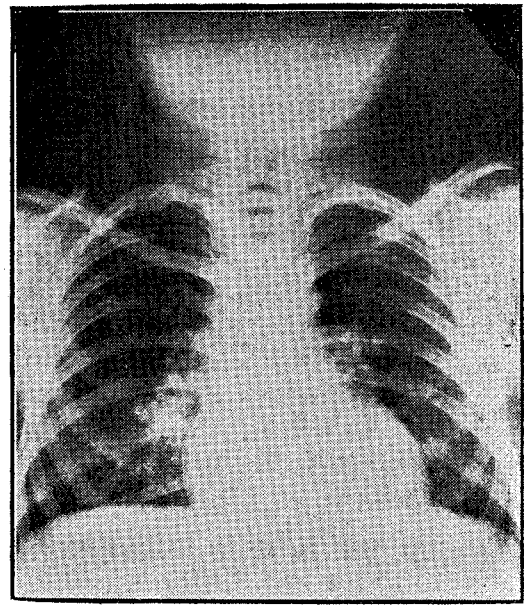

Figura Número 2.

E. V. Histoplasmino-positivo
Tuberculino-negativo.

SALA DE MEDICINA DE NIÑAS, HOSPITAL GENERAL

Se practicó la intradermo-reacción con Histoplasmina a 45 niñas, dando reacciones positivas 3, todas mayores de 7 años y a la radiografía presentaron calcificaciones hiliares. De ellas, una con reacción positiva también a la Tuberculina.

PRIMERA SALA CUNA, HOSPITAL GENERAL

Se practicó intradermo-reacción con Histoplasmina a 28 niños cuyas edades oscilaban entre 1 mes y 3 años. Ninguno de ellos fue positivo a dicha reacción con diluciones hasta el 1 × 100.

RESUMEN.—En total se practicó a 1,085 niños, intradermo-reacción con Histoplasmina, 45 de los cuales fueron positivos para dicha reacción o sea el 4.14% de los niños examinados. El mayor porcentaje de frecuencia se observó entre niños de 6 y 9 años de edad.

Edad años	Nº de niños	Histoplasmino-positivos	Porcentajes
0	13	0	0
1	16	0	0
2	70	1	1.42
3	134	5	3.73
4	172	8	4.65
5	184	4	2.17
6	164	8	4.87
7	120	7	5.83
8	89	7	7.86
9	41	3	7.31
10	34	0	0
11	17	0	0
12	18	1	5.55
13	11	1	9.09
14	2	0	0
Totales	1,085	45	4.14%

Según el sexo, 24 eran hombres y 21 mujeres, es decir, prácticamente la mitad, lo que está de acuerdo con lo expuesto acerca del sexo en la Histoplasmosis infantil.

De los 45 niños Histoplasmino-positivos, 27 también presentaron reacción de Mantoux positiva, lo que arroja el 60%.

En los estudios radiológicos del tórax, se encontró que 28 de los 45 Histoplasmino-positivos presentaban calcificaciones o sea el 62.22%, la mayoría de ellas en las regiones hiliares. Se dividen como sigue:

Histoplasmino-positivos con calcificaciones hiliares. . .	12
Histoplasmino y Tuberculino-positivos con calcificaciones hiliares.	16
Total.	28

Es decir, que de los 28 niños con calcificaciones, 42.85% de ellos reaccionaron sólo a la Histoplasmina y 57.14% reaccionaron a la Histoplasmina y a la Tuberculina.

Comparando la incidencia de positividad a la Histoplasmina que obtuvimos, de 4.14% y las encontradas en Estados Unidos, notamos que las nuestras son bastante bajas, pues en aquel país los porcentajes de niños sensibles a la Histoplasmina varían, según las localidades, del 10 al 68% o más.

En México, el Doctor González Ochoa, encontró que ningún niño menor de diez años reaccionaba a la Histoplasmina.

El Doctor Raúl Fonseca P., en Guatemala, encontró que el 12% de adultos eran sensibles a la Histoplasmina. Comparando esos resultados con los obtenidos por nosotros, notamos que en los niños es tres veces más bajo el porcentaje de positivos a la Histoplasmina. Hay que hacer notar que la diferencia tan marcada de porcentajes, probablemente se deba a que el número de reacciones practicadas en adultos fue tres veces menor que las que nosotros hicimos en niños.

En nuestra investigación, sólo un caso de Histoplasmosis activa fue posible encontrar, en la Sala de Medicina de Niñas del Hospital General, cuya observación clínica es la siguiente:

M. A. M., de sexo femenino. Edad, 6 años. Originaria y residente en Guatemala, hija de padres palúdicos, sin antecedentes colaterales de importancia.

Antecedentes patológicos.—Sarampión, tos ferina, varicela, parasitismo intestinal, diarreas frecuentes, paludismo, catarro y tos frecuentes.

Alimentación muy deficiente, sobre todo en proteínas.

Historia.—En Agosto de 1948, fue hospitalizada por diarreas, edemas de los miembros inferiores, enflaquecimiento, anorexia y dolor abdominal, siendo tratada con transfusiones, ácidos aminados, vitaminas y régimen dietético, saliendo mejorada a los pocos días.

Reingresó el 7 de Mayo de 1949, con la siguiente historia: tres meses antes, es decir, en Febrero, principió con anorexia, enflaquecimiento, fiebre irregular, evacuaciones diarreicas amarillentas en número de dos a tres diarias, edema de pies y piernas.

Al examen, se encontró una niña muy desnutrida, facies normal, postrada, con temperatura rectal de 38.5° C. y 11 kilos de peso. La piel seca, con descamación en pequeños colgajos en pies y tercio inferior de las piernas; ambos pies y mitad inferior de las piernas con edema suave, indoloro, sin signos inflamatorios; tórax muy enflaquecido; corazón: punta late en el cuarto espacio intercostal izquierdo sobre la línea medioclavicular, taquicardia 130 por minuto; abdomen globuloso, timpánico, poco depresible, no doloroso; el borde inferior del hígado rebasa cuatro traveses de dedo el reborde costal derecho y no es sensible a la palpación; bazo no es percutible ni palpable.

Exámenes complementarios.—Sangre: glóbulos rojos, 2.400,000 por mm. c., 1 normoblasto por 100, hemoglobina 8.5 gramos, 53%; glóbulos blancos, 16,850; fórmula leucocitaria: 26 linfocitos, 1 monocito, 73 filamentados; eritrosedimentación: 104 mm. por hora; no se encontró hematozoario en la sangre. Orina: normal. Urocultivo: negativo. Heces: no hay parásitos. Coprocultivo: colibacilo.

Le fue practicada reacción de Mantoux, siendo negativo al 1 × 1,000 y positiva al 1 × 100, por lo que se ordenó una radiografía, la que mostró el hilio derecho ensanchado y en la base y campo medio del pulmón izquierdo, una sombra no homogénea de bordes difusos, que se confunde con el hilio izquierdo, que también está ensanchado (figura número 3).

En vista de estos exámenes, se pensó en tuberculosis pulmonar de primoinfección y le fueron practicados tres lavados gástricos, que fueron negativos para bacilo de Koch, pero en todos se encon-

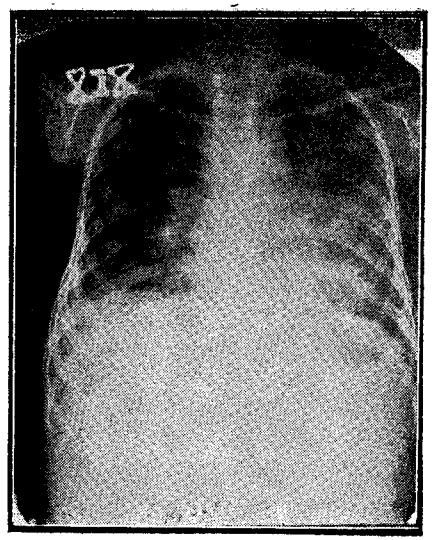

Figura Número 3.

traron cuerpos intracelulares sospechosos de *Histoplasma Capsulatum,* por lo que se le practicó intradermo-reacción con Histoplasmina, con diluciones al 1 × 1,000, 1 × 100 y 1 × 10, siendo todas negativas.

Se inoculó intraperitonealmente un cobayo, con el producto de un lavado gástrico, al cual le fue practicada previamente intradermo-reacción con Histoplasmina al 1 × 10, que dió resultado negativo; a los 12 días se le volvió a practicar dicha reacción, que entonces se comprobó *francamente positiva.* Al mes el cobayo enflaqueció, perdió el brillo de su pelo y se le veía sucio en comparación con los demás cobayos sanos; fue sacrificado a los 45 días de inoculado, observándose lo siguiente: bazo y glándulas suprarrenales: de aspecto normal; hígado: presenta máculas y escasos nódulos blanco-grisáceos; peritoneo: normal; pulmones: con múltiples lesiones muy semejantes a las del hígado, siendo más marcadas en el lado izquierdo. Al corte de estos dos últimos órganos, se observó que los nódulos tenían aspecto caseificado.

Se hicieron frotes con sangre proveniente del hígado y pulmones, los que se tiñeron con Giemsa y examinados al microscopio demostraron algunas células con *corpúsculos semejantes a Histoplasma,* en su interior (figuras números 4 y 5).

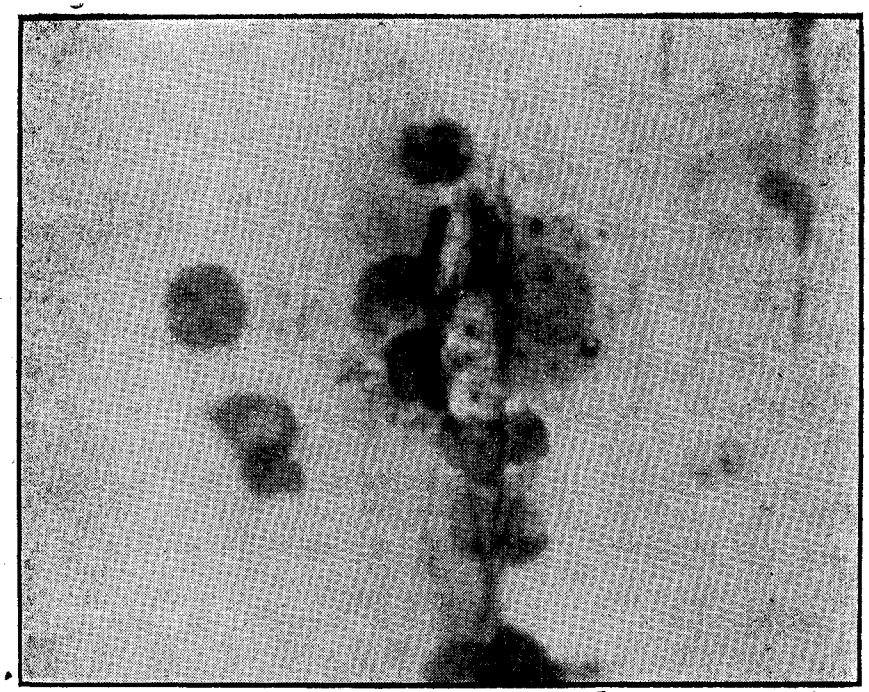

Figura Número 4.

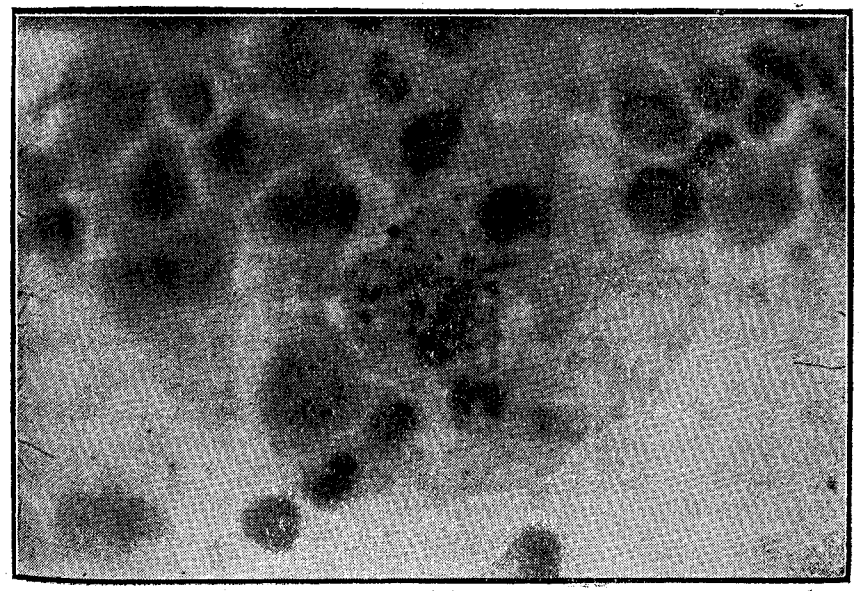

Figura Número 5.

Fueron practicados estudios Histopatológicos en el laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital General, por el Doctor Carlos Martínez Durán, quien informó lo siguiente:

Hígado: hepatitis crónica y degeneración grasienta intensa y total. Pulmón: bronco-pneumonía sub-aguda. Corazón: miocarditis crónica intersticial. En los focos inflamatorios los macrófagos presentan en su citoplasma, inclusiones de cuerpos ovoides, encapsulados con la apariencia de Histoplasmas.

(f.) Dr. Carlos Martínez Durán.

Se practicaron cultivos en medio de Sabouraud, cultivándose un hongo de aspecto macroscópico semejante a *Histoplasma Capsulatum,* pero que resembrado a otros medios y al examen microscópico, no presentó las características de este hongo, por lo que se pensó que probablemente se trataba de una contaminación.

Evolución.—Desde su ingreso el 7 de Mayo, la niña se mantuvo postrada, con fiebre irregular entre 38° y 39° C. y algunas veces hasta 40° C., con evacuaciones acuosas 3 a 4 diarias. Se le trató con Penicilina, Sulfaguanidina, transfusiones, ácidos aminados, dieta rica en proteínas y suplemento vitamínico, con lo que desaparecieron los edemas y disminuyó el número de evacuaciones, pero su estado general continuó igual y perdió 2 kilos de peso.

El 25 de Junio se inició tratamiento con Estreptomicina 0.25 gramos diariamente, inyectándole como dosis total en 33 días 7.25 gramos. Desde el segundo día de este último tratamiento, la temperatura descendió a la normal, manteniéndose así durante cuatro días, teniendo una ligera alza los tres días siguientes, descendiendo nuevamente y se mantuvo en los límites normales en los días sucesivos. Desde que la temperatura descendió, el estado general de la niña empezó a mejorar, sus evacuaciones se normalizaron, despertándosele el apetito y mostró sensible aumento de peso.

En vista de la hepatomegalia con reacción de Cefalina-colesterol fuertemente positiva, se le hizo tratamiento con 1.50 gramos de Metionina diariamente, con lo que disminuyó notablemente la hepatomegalia.

Una nueva radiografía practicada un mes después de la primera, mostró una aparente disminución de la lesión pulmonar (figura número 6).

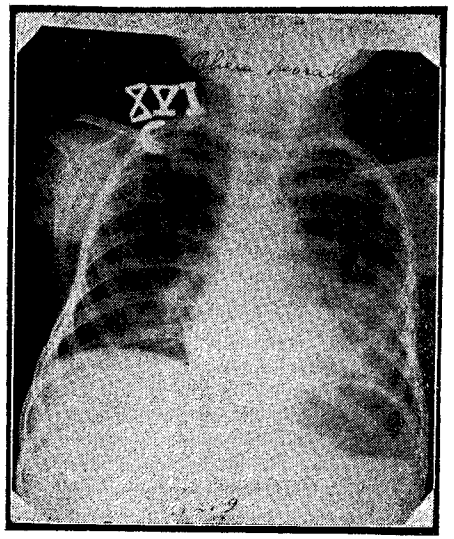

Figura Número 6.

La niña salió de esa Sala muy mejorada, pesando 16 kilos, el 18 de Julio e ingresó al Sanatorio de las Guarderías Nacionales, donde continuará en observación y tratamiento.

COMENTARIO.—El cuadro clínico presentado por la niña así como los exámenes complementarios, sobre todo el hallazgo de cuerpos intra-celulares semejantes al *Histoplasma Capsulatum* y la falta de pruebas bacteriológicas e histopatológicas de Tuberculosis, nos hace considerar el presente caso como debido a Histoplasmosis, a pesar de haber dado reacciones negativas a la Histoplasmina. También es de notar la aparente mejoría obtenida con Estreptomicina.

CONCLUSIONES

1ª—La Histoplasmosis es una enfermedad descrita recientemente entre nosotros. La evidencia obtenida por las investigaciones realizadas, demuestran que es una enfermedad que puede presentarse en la práctica corriente. Las formas benignas son más frecuentes de lo que se creyó hasta hace pocos años.

2ª—En el estudio sobre 1,085 niños en Guatemala, se encontró que el 4.14% fueron sensibles a la Histoplasmina.

3ª—El 62% de los que fueron sensibles a la Histoplasmina, presentaron calcificaciones pulmonares.

4ª—En nuestro estudio comprobamos la rareza de las formas activas en los niños. En más de mil examinados sólo un caso con manifestaciones clínicas fue posible encontrar.

5ª—Consideramos importante que en todos los conglomerados de niños, se hagan investigaciones sistemáticas y rutinarias para descubrir las formas que puedan presentarse.

6ª—Del resultado de las investigaciones que se realicen en la forma expuesta, se podrá delimitar la incidencia por zonas en nuestro país.

SALVADOR CASTAÑEDA M.

Imprímase,

DR. C. M. GUZMÁN,

Decano.

BIBLIOGRAFIA

Anderson, W. A. D., Michelson, I. D. and Dunn, T. M.—Histoplasmosis in Infancy. Report of a Case, A. J. of C. P., 11: 344 (Abril) 1941.

Andrade Castañeda, Minor.—Investigación de la Coccidioidomicosis en la capital de Guatemala por medio de la intradermoreacción a la Coccidioidina. Tesis profesional, Guatemala, C. A., (Octubre) 1945.

Beamer, Parker R., Smith, Edward B. and Barnett, Henry L.—Histoplasmosis. Report of a Case an Infant and Experimental Observations, Journal of Pediatrics, 24: 270 (March) 1944.

Brown, A. E., Havens, F. Z., and Magath, T. B.—Histoplasmosis: Report of Cases, proceedings of the Staff Meetings of Mayo Clinic, 15:812 (December 18) 1940.

Biggs, Alfred D. and Rigby, Ralph G.—Nontuberculous Pulmonary Calcification, Journal of Pediatrics, 32:393 (April) 1948.

Broders, Albert C., Dochat, R. George, Herrell, Wallace E. and Vaughn, Louis D.—Histoplasmosis Producing Vegetative Endocarditis: Review of Literature, with report of a Case, Collected Papers of The Mayo Clinic and The Mayo Foundation, 34:536, 1942.

Curtis, Arthur C. and Grekin John N.—Histoplasmosis. A Review of the Cutaneos and Adjacent Mucous Membrane Manifestations with a Report of Three Cases, J. A. M. A., 135: 1217 (August) 1947.

Clemens, Harry H. and Barnes, M. L.—Histoplasmosis of Darling: Report of a Case, Southern Medical Journal, 33: 11 (January) 1940.

Conant, Norman F. et Al.—Histoplasmosis: Manual of Clinical Mycology, 151, 1944.

Charr, Robert.—Some Nontuberculous Diseases of the Lungs: Medical Clinics of North America, 1475, (November) 1947.

Christie, Amos and Peterson, J. C.—Pulmonary Calcification and Sensitivity to Histoplasmin, Tuberculin and Haplosporangin, J. A. M. A., 131:658, (June) 1946.

Christie, Amos and Peterson, J. C.—Benign Histoplasmosis and Pulmonary Calcification: American Journal of Diseases of Children, 72:460 (October) 1946.

Davis, Herbert V. and Neff, Frank C.—Histoplasmosis in Infancy, American Journal of Diseases of Children, 71: 171 (February) 1946.

Duarte, Eitel.—Histoplasmosis. Memorias del Instituto Oswaldo Cruz. 43:457 (Diciembre) 1945.

Emmons, C. W., Olson, B. J. and Elbridge, W. W.—Studies of the Role of Fungi in Pulmonary Disease. I. Cross Reactions of Histoplasmin: Public Health Reports, 60: 1383 (November) 1945.

Fonseca P., Raúl.—Investigaciones sobre la existencia de Histoplasmosis Pulmonar en Guatemala. Tesis profesional, Guatemala, C. A., (Junio) 1949.

Grassi, Osmar.—Calcificaciones Pulmonares e Histoplasmosis. Medicina, Buenos Aires. 8:315 (Agosto) 1948.

Humphrey, Arthur A.—Retículo-endothelial Cytomycosis (Histoplasmosis of Darling), Archives of Internal Medicine, 65:902 May) 1940.

Histoplasmosis Benigna.—Boletín Médico Científico, Elli Lilly, 6: 63 (Julio) 1948.

Iams, Alexander M., Tenen, Max M. and Flanagan, Harold F.—Histoplasmosis in Children: Review of the Literature with Report of a Case: Collected Papers of The Mayo Clinic and The Mayo Foundation, 37: 387. 1945.

Iams, Alexander M. and Keith Haddow M.—Histoplasmosis in Infancy: Report of a Case an infant, with a Brief Clinicopathologic Review, Collected Papers of The Mayo Clinic and The Mayo Foundation, 38: 814-1946.

Jordan, E. O. and Burrows W.—Textbook of Bacteriology.

Mc Leod, John H., Emmons, Chester W., Ross, Sidney and Burke, Frederic G.—Histoplasmosis, J. of Ped., 28: 275 (March) 1946.

McCarthy, Lee.—Tropical Mycosis, J. A. M. A., 123:449 (October) 1943.

Montgomery, Royal M.—Histoplasmosis (Retículo-endotelial Cytomycosis): Pediatric Progress. Therapeutics of Infancy and Childhood, Litchfield and Dembo, 506, 1948.

Martin, Donald C.—Histoplasmosis. Textbook of Pediatrics, Mitchell and Nelson, 509, 1947.

Mantz, Herbert L.—Histoplasmosis Skin Sensitivity and Pulmonary Calcifications, Journal Lancet, 66:100 (April) 1946.

González Ochoa, Antonio.—Problemas de Histoplasmosis, Lab. de Micología del Inst. de Sal. y Enf. Trop. México.

Pulmonary Calcifications.—(Editorial) J. A. M. A., 135:716 (November) 1947.

Parsons, Robert J. and Zarafonetis, C. J. D.—Histoplasmosis in Man: Report of Seven Cases and a Review of Seventy one Cases, Archives of Internal Medicine, 75:1 (January) 1945.

Rhodes, P. H., Conant, N. F. and Glesner, L. R. B.—Histoplasmosis. Report of Case in an Infant Three Months of Age, J. of Ped. 18:235 (February) 1941.

Reid, J. D., Scherer, J. H., Herbut, P. A. and Irving, H.—Systemic Histoplasmosis, Journal of Laboratory and Clinical Medicine, 27:419 (January) 1942.

Strong, R. P.—Diagnosis, Prevention and Treatment of Tropical Deseases. 7ª Ed. 1948.

Smith, David T.—Pulmonary Mycoses, Clinics, 4:994 (December) 1945.

Van Pernis, Paul A., Benson, Miriam E. and Holinger, Paul H.—Specific Cutaneous Reactions with Histoplasmosis. Preliminary Report of Another Case, J. A. M. A., 117:436 (August) 1941.

Welch, Stewart H. and Berrey, Ruth.—Histoplasmin Sensitivity. Results of Studies of Children in Alabama. American Journal of Diseases of Children, 75:607 (November) 1947.

Waring, J. I. and Gregg, D. B.—Pulmonary Calcifications and Sensitivity to Histoplasmin in Charleston, S. C. American Journal of Diseases of Children, 73: 139 (February) 1947.

Zwerling, Henry B. and Palmer Carroll E.—Pulmonary Calcification in relation to Sensitivity to Histoplasmin. J. A. M. A. 134:691 (June) 1947.