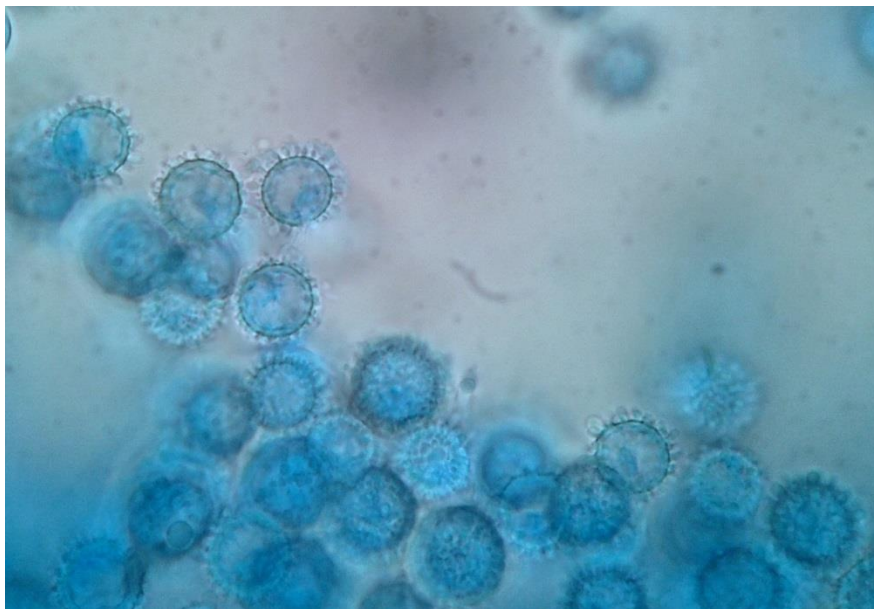


**Caracterización clínica y
epidemiológica de los pacientes con
histoplasmosis del Hospital Perrando
en el período 2008 al 2013.**



Tracogna María Fernanda

Tesis para acceder al Grado de
Magister en Micología
Clínica

Autora

Bioq. María Fernanda Tracogna

Director

Dr. Luis A Merino

Resistencia, Chaco- Argentina

-2014-

DEDICADO A:

mis padres

mi esposo

mis hijos

Mi sincero y profundo agradecimiento

... Al Servicio de Infectología del Hospital Perrando por facilitarme de manera desinteresada las historias clínicas necesarias para realizar esta tesis.

... Al Servicio de HIV/sida del Hospital Perrando, especialmente al Dr. Juan Carlos Quintana, por brindarme los datos epidemiológicos indispensables para realizar estudios estadísticos.

...A mis colegas y compañeros del Servicio de Microbiología del Hospital Perrando por su colaboración y apoyo en todo momento.

... Al Dr. Luis A. Merino por aceptar dirigir esta tesis y por todo el apoyo, la confianza y las enseñanzas que me brindó.

.... a la bqca Ma. Emilia Cattana y a todos aquellos quienes directa o indirectamente contribuyeron a que esta ilusión se haga realidad

ÍNDICE

RESUMEN	6
Introducción	15
<i>Histoplasma capsulatum</i>	15
Patogenia de la infección por <i>H. capsulatum</i>	16
Formas clínicas de la histoplasmosis	18
Epidemiología de la histoplasmosis	22
Diagnóstico de la histoplasmosis	24
Tratamiento de la histoplasmosis	31
Justificación	33
Objetivos	35
Materiales y métodos	36
Resultados	37
Discusión	44
Conclusiones	47
Bibliografía	48
Anexos	54

RESUMEN

Introducción

Histoplasma capsulatum (*H. capsulatum*) es un hongo termodimorfo que presenta dos variedades patógenas para el hombre, *H. capsulatum* var. *capsulatum*, cuya distribución geográfica es universal, con un fuerte predominio en América, e *H. capsulatum* var. *duboisii* que se encuentra sólo en África.

El hongo se presenta en los tejidos infectados en su fase de levadura. En los extendidos microbiológicos son bien observados con las coloraciones de Wright o Giemsa y en los cortes histopatológicos toman color marrón oscuro o negro con la metenamina de plata de Grocott y rojo magenta con la tinción de ácido periódico de schiff (PAS). En agar glucosado de Sabouraud, agar-papa-glucosado o agar lactrimel de Borelli, incubados a 28°C, se presenta la forma micelial. El desarrollo de las colonias es lento y alcanza la madurez en 2 a 4 semanas.

La infección por *H. capsulatum* se produce habitualmente por vía inhalatoria, las microaleuriosporas son los elementos infectantes que pueden llegar al alvéolo pulmonar. Allí son fagocitadas por los macrófagos y se transforman en elementos levaduriformes que comienzan a reproducirse por brotación. Inicialmente la infección progresa por contigüidad y genera una inflamación aguda inusual que es poco eficaz como mecanismo defensivo. Seguidamente invaden los vasos linfáticos, los ganglios del hilio pulmonar y el mediastino y por el conducto torácico se vuelcan al torrente sanguíneo y da origen a una fungemia generalmente asintomática. Infecta de esta forma todos los órganos ricos en sistema monocítico-histiocitario y las estructuras linfáticas del tubo digestivo. Durante las fases tempranas de la infección tanto los macrófagos como los neutrófilos fagocitan las levaduras de *H. capsulatum*, pero no son capaces de lisarlas. Después de 2 o 3 semanas del contacto infectante los linfocitos T CD4⁺, se sensibilizan y comienzan a producir citoquinas pro-inflamatorias, con un ligero predominio de las de tipo Th1 (IL12, IFN- γ y TNF- α) que activan los

macrófagos, éstos lisan las levaduras de *H. capsulatum* y se producen granulomas epitelioides compactos, que focalizan y controlan la infección. Estos cambios coinciden con el viraje de la intradermorreacción con histoplasmina de negativa a positiva y con una tendencia a la curación espontánea de la infección primaria.

Suelen quedar como secuelas de esta infección focos calcificados en los pulmones, los ganglios linfáticos hilio-mediastinales, el hígado y el bazo. Excepcionalmente la infección puede producirse por vía cutánea, lo que origina un síndrome chancriforme similar al de la esporotricosis e involuciona espontáneamente en un mes.

La enfermedad puede producirse por infección primaria, por reinfección o por reactivación de un foco latente

En los pacientes con enfermedad obstructiva pulmonar crónica (EPOC), por lo habitual varones mayores de 50 años, grandes fumadores y de raza blanca, la infección pulmonar primaria no cura espontáneamente y genera focos de neumonitis crónica intersticial, que conduce a un cuadro clínico similar a la tuberculosis crónica excavada.

Las formas progresivas extrapulmonares de histoplasmosis se deben a fallas de la inmunidad mediada por células.

En los casos más graves las pruebas cutáneas con histoplasmina son negativas, el número de órganos afectados es mayor, el curso de la enfermedad es más agudo y la carga fúngica en los tejidos es muy elevada.

La primoinfección puede ser asintomática o presentar manifestaciones clínicas similares a un síndrome gripal que se autolimita; estas ocurren en, aproximadamente, el 95% de los casos, y sólo deja calcificaciones residuales en los pulmones, los ganglios linfáticos y el bazo. Las formas clínicas de la histoplasmosis progresiva pueden ser pulmonar o enfermedad diseminada. La gravedad de la enfermedad depende del inóculo fúngico, del estado inmunitario y de la edad del huésped.

La histoplasmosis fue descrita por primera vez por Darling en Panamá en 1905 en una muestra *post mortem* de un obrero proveniente de La Martinica.

Es una afección de distribución geográfica muy amplia, más de 60 países han registrado casos autóctonos. Predomina en el continente americano, en especial a lo largo de las grandes cuencas fluviales o en la proximidad de los lagos, con humedad relativa entre 67 y 87%, temperaturas medias anuales de 15 a 20 °C y pluviometrías de 800 a 1.200 mm por año.

Los suelos ricos en sustancias orgánicas, con deyecciones de pájaros negros como los estorninos, de aves de corral y de murciélagos, permiten el desarrollo masivo de *H. capsulatum*, generando los llamados “focos epidémicos”, que originan infecciones masivas en humanos y en animales.

Se han registrado zonas endémicas en Estados Unidos de América, en América Central y en el Cono Sur de Sudamérica. También existen microfocos en el Este de los Estados Unidos, Sur de Europa, África y Sur de Asia. En Argentina, el área endémica de la histoplasmosis abarca las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba, Este de La Pampa, Sur de Salta, Norte de Tucumán, Norte de Corrientes, y Este y centro de Chaco.

Los brotes epidémicos de histoplasmosis ocurren por exposición a una fuente común con altas concentraciones de conidios. En general, se asocian a actividades laborales o recreativas, tales como limpieza de parques, demolición de edificios, visitas a cavernas o cuevas, entre otras.

El diagnóstico de la histoplasmosis se basa fundamentalmente en la realización del examen clínico y estudios de laboratorio.

El diagnóstico clínico de esta enfermedad se basa principalmente en los antecedentes epidemiológicos y profesionales, el cuidadoso estudio semiológico, los exámenes radiológicos del tórax, endoscopías de laringe y bronquios y una descripción minuciosa de las lesiones cutáneomucosas. Siempre la sospecha clínica debe ser ratificada por los estudios de laboratorio.

Las muestras de mayor utilidad para el diagnóstico dependen de la forma clínica, la localización de las lesiones y factores del huésped. Entre ellas pueden mencionarse:

escarificaciones y biopsias cutáneo-mucosas, secreciones respiratorias, hemocultivos, mielocultivos, biopsias de ganglios, el material de nódulos subcutáneos, biopsias de laringe, biopsias de mucosa gástrica, orina, etc.

Los métodos diagnósticos utilizados en el laboratorio se pueden dividir en:

- Métodos directos
- Métodos inmunológicos
- Métodos moleculares

Justificación

Hasta el momento no hay estudios que revelen la frecuencia real de la histoplasmosis en nuestra región ni cuáles son las manifestaciones clínicas más comunes en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

Por lo antedicho, conocer la incidencia de histoplasmosis y las manifestaciones más frecuentes contribuiría a mejorar la sospecha de esta enfermedad, su diagnóstico y, por lo tanto, su tratamiento oportuno.

Hipótesis

La histoplasmosis en la Región Nordeste de Argentina se presenta principalmente en pacientes VIH positivos y las manifestaciones clínicas más frecuentes son las lesiones cutáneas.

Objetivos

Objetivos Generales

- 1) Determinar las características clínico-epidemiológicas de los pacientes con histoplasmosis diagnosticada en el Hospital "Julio C. Perrando" de la ciudad de Resistencia.

- 2) Estudiar la incidencia de esta micosis en pacientes VIH positivos en el período 2008-2013.

Objetivos Específicos

- Correlacionar la aparición de esta micosis con datos demográficos en todos los pacientes estudiados.
- Establecer las presentaciones clínicas más frecuentes de la histoplasmosis en todos los pacientes estudiados.
- Determinar la metodología diagnóstica de laboratorio más sensible para diagnosticar esta enfermedad en pacientes VIH positivos.

Materiales y métodos

Lugar de trabajo: Hospital “Julio C Ferrando” de la ciudad de Resistencia, Chaco-Argentina.

Diseño metodológico: observacional, descriptivo con recolección retrospectiva de datos.

Período de trabajo: el comprendido entre enero de 2008 y diciembre de 2013.

Fuente de datos: historias clínicas de pacientes internados con diagnóstico de histoplasmosis, comprobada con pruebas micológicas, y cuyo tratamiento se realizó en la institución.

Variables: Se registraron los siguientes parámetros: edad, sexo, antecedentes epidemiológicos, signos y síntomas en el momento del diagnóstico, enfermedades previas y subyacentes, recuento de linfocitos T CD4⁺ al momento del diagnóstico y el tratamiento instaurado.

Se consideraron, además, los hallazgos de laboratorio (tipo de muestra y resultados de los métodos diagnósticos utilizados), las radiografías del tórax y ecografías abdominales.

Resultados

Pacientes: Durante el período comprendido entre 2008 y 2013 se registraron 26 pacientes con diagnóstico de histoplasmosis. De ellos 20 correspondían al sexo masculino y 6 al femenino. Todos procedían de la provincia del Chaco, 11 eran de la ciudad de Resistencia.

La edad media del total de pacientes fue de 55 años. La edad media de los pacientes VIH+ fue de 35 años (27-49) y la de los VIH- de 57 años (47-72). Se encontraron diferencias significativas entre los valores promedios (valor de $p=0,006$).

Enfermedades concomitantes: De los 26 pacientes, 20 estaban infectados con el VIH y los restantes presentaban alguna de las siguientes entidades nosológicas: EPOC (tres), enfermedad oncohematológica (uno), enfermedad autoinmune (uno), desnutrición grave calórico proteica (uno).

Formas de presentación de la enfermedad: Del total, 8 pacientes presentaron la forma pulmonar crónica de la histoplasmosis (5 con VIH y 3 con EPOC) y los 18 restantes, la forma diseminada del hospedero inmunosuprimido. De estos últimos, 6 pacientes presentaron imágenes pulmonares patológicas en las radiografías de tórax además de las manifestaciones sistémicas, los 12 restantes no se acompañaron de manifestaciones respiratorias.

Las manifestaciones sistémicas más frecuentes en los 26 pacientes estudiados fueron: fiebre prolongada, astenia, anorexia, pérdida de peso, lesiones cutáneomucosas, hepatoesplenomegalia.

Diagnóstico de laboratorio: El examen directo con coloración de Giemsa de la escarificación de lesiones mucocutáneas permitió la observación del hongo en 13 casos (50%), y en 10 muestras (38,5%), 9 de ellas provenientes de pacientes VIH+, fue el único método que permitió confirmar el diagnóstico.

El examen directo de las muestras de esputo y lavado bronqueoalveolar revelaron la presencia del hongo en 42 % de los casos (9 pacientes VIH+ Y 2 VIH-).

Otras muestras que fueron útiles para su detección fueron: biopsia de hueso en un caso VIH- y punción de ganglio cervical (2), biopsia hepática (1) y biopsia laríngea (1), las 4 obtenidas de pacientes VIH +.

No se obtuvo desarrollo en los cultivos de las muestras de los pacientes VIH negativo.

Por otro lado se logró aislar el hongo en su fase filamentosa

en el 35% de las muestras de pacientes con VIH, con la siguiente frecuencia: esputo (3), lavado broncoalveolar (2), biopsia hepática (1), punción de ganglio cervical (1).

La serología para histoplasmosis reveló una banda de precipitación en 9 muestras, correspondientes a 3 pacientes VIH+ y a 6 con otra enfermedad de base (en 1 ellos fue el único método con el cual se llegó al diagnóstico).

El nivel de linfocitos T CD4+ en pacientes VIH+, fue inferior a 80 cél/μL, con una media al momento del diagnóstico de 33 cél/μL

Manifestaciones clínicas: Las lesiones cutáneas solo se presentaron en pacientes VIH+ y las predominantes fueron pápulas, pústulas y máculas pruriginosas; solamente en un caso se presentó en forma de úlcera. Las regiones más frecuentes en donde se presentaron las lesiones fueron la cara, el cuello y el tronco.

Las imágenes radiológicas y tomográficas de los pacientes con histoplasmosis pulmonar mostraron predominio de cuadro cavitario en los pacientes VIH- y de infiltrados bilaterales reticulonodulillares en los VIH+.

El hallazgo más frecuentemente encontrado en las ecografías abdominales de los pacientes VIH+ y VIH-, fue la hepatoesplenomegalia en 10 casos (38,4%).

En 9 de los 20 pacientes con VIH, la histoplasmosis se presentó como una enfermedad marcadora de sida; el resto de los pacientes conocía su enfermedad de base con anterioridad aunque ninguno recibía esquema de TARGA antes del desarrollo de la infección oportunista.

Tratamiento: De los 26 pacientes incluidos en esta evaluación, 17 (65,4%) recibieron tratamiento con anfotericina B y 9 (34,6%) con itraconazol. La anfotericina B se administró en dosis de 50 mg/día por vía intravenosa, y el itraconazol a razón de 400 mg/día por vía oral, independientemente de su enfermedad de base.

Conclusiones

- La incidencia de histoplasmosis en el Hospital “Julio C Perrando” en el período estudiado fue menor a la reportada por otros autores.
- La infección con VIH fue la patología inmunosupresora subyacente más frecuente en los pacientes con diagnóstico de histoplasmosis.
- Las manifestaciones cutáneas fueron las localizaciones más frecuentes en los pacientes con esta micosis.
- Es importante realizar escarificaciones de las lesiones en piel por tratarse de una técnica que aporta resultados inmediatos y por ser un procedimiento no invasor.
- La identificación del agente causal en el examen microscópico directo posee gran importancia y brinda un alto rendimiento para el diagnóstico.
- La detección de anticuerpos específicos por pruebas de inmunodifusión arrojan resultados negativos en más del 80% de los pacientes VIH positivos que padecen esta micosis, volviendo a esta técnica poco eficaz para el diagnóstico de histoplasmosis en este tipo de pacientes.

- La sospecha clínica adquiere especial relevancia para realizar el diagnóstico de infección por *Histoplasma capsulatum*, y debe basarse en los hábitos del paciente y la patología de base.

Introducción

Histoplasma capsulatum

Histoplasma capsulatum es un hongo termodimorfo que presenta dos variedades patógenas para el hombre, *H. capsulatum* var. *capsulatum*, cuya distribución geográfica es universal, con un fuerte predominio en América, e *H. capsulatum* var. *duboisii* que se encuentra sólo en África [1][2].

El hongo se presenta en los tejidos infectados en su fase de levadura como un elemento oval de 3 a 5 µm de diámetro, con un solo brote, su pared celular es relativamente gruesa, no toma los colorantes de anilina y simula una cápsula, posee un núcleo único que se sitúa cerca de la pared celular. Habitualmente estas levaduras se observan en el interior de macrófagos, leucocitos polimorfonucleares neutrófilos o células gigantes de los granulomas epitelioides. En los extendidos microbiológicos son bien observados con las coloraciones de Wright o Giemsa (Figura 1) y los cortes histopatológicos toman color marrón oscuro o negro con la metenamina de plata de Grocott y rojo magenta con la tinción de ácido periódico de Schiff (PAS) [3].

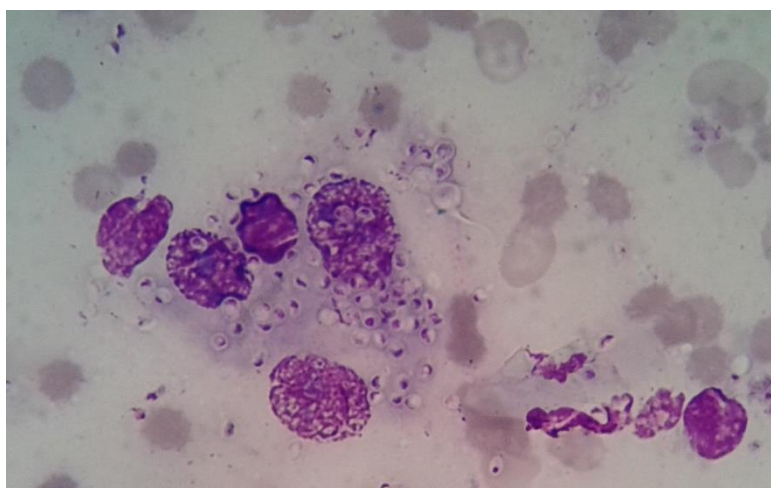


Fig. 1. Levaduras de *H. capsulatum* intracelulares y extracelulares en tejido teñido con coloración de Giemsa.

En agar glucosado de Sabouraud, agar-papa-glucosado o agar lactrimel de Borelli, incubados a 28°C, se presenta la forma micelial. El desarrollo de las colonias es lento y alcanza la madurez en 2 a 4 semanas. El micelio aéreo es algodonoso o velloso, blanco grisáceo o color canela. El micelio vegetativo es ramificado, tabicado, hialino y mide 2 a 4 µm de diámetro, las microaleuriosporas son piriformes, la pared celular es lisa o ligeramente rugosa, miden 2 a 5 µm. Las macroaleuriosporas son esféricas y poseen una pared celular gruesa con apéndices digitiformes, su diámetro varía de 15 a 20 µm (Figura 2) [4][5].

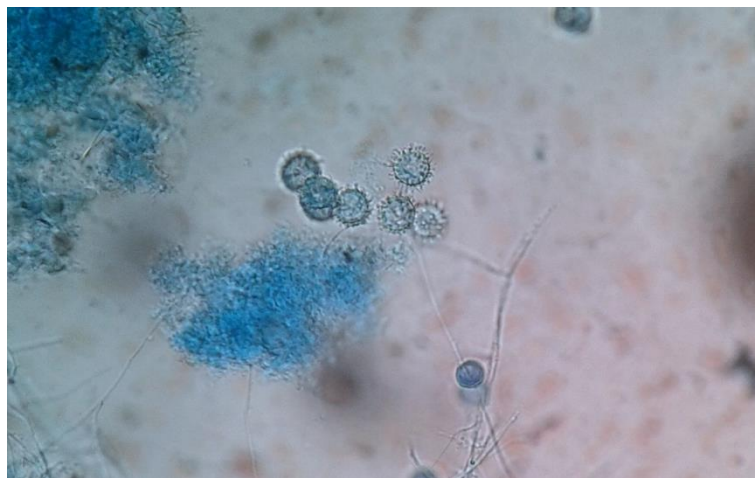


Fig. 2. Macroaleuroconidias de *H. capsulatum* em microcultivo a 28°C

La fase sexuada consiste en cleistotecios esféricos de 100 a 150 µm de diámetro, con pared peridial plectenquimatosa laxa e hifas peridiales gruesas y espiraladas. Los ascos están irregularmente dispuestos en su interior, son globulosos y tiene 8 ascosporas elípticas. La fase teleomorfa (sexuada) recibe el nombre de *Ajellomyces capsulatus*, pertenece a la familia *Onygenaceae* de la subdivisión *Ascomycotina* [4].

Patogenia de la infección por *H. capsulatum*

La infección por *H. capsulatum* se produce habitualmente por vía inhalatoria, las microaleuriosporas son los elementos infectantes que llegan al alvéolo pulmonar. Allí son fagocitadas por los macrófagos y se transforman en elementos levaduriformes que

se reproducen por brotación. Inicialmente la infección progresa por contigüidad y genera una inflamación aguda inusual que es poco eficaz como mecanismo defensivo. Seguidamente invade los vasos linfáticos, los ganglios del hilio pulmonar y el mediastino y, por el conducto torácico se vuelca al torrente sanguíneo dando origen a una fungemia generalmente asintomática. Infecta de esta forma todos los órganos ricos en sistema monocítico-histiocitario y las estructuras linfáticas del tubo digestivo. Durante las fases tempranas de la infección, tanto los macrófagos como los neutrófilos fagocitan las levaduras de *H. capsulatum*, pero no son capaces de lissarlas. Después de 2 o 3 semanas del contacto infectante, los linfocitos T CD4⁺, se sensibilizan y comienzan a producir citoquinas pro-inflamatorias, con un ligero predominio de las de tipo Th1 (IL12, IFN- γ y TNF- α) que activan los macrófagos. Éstos lisan las levaduras de *H. capsulatum* y se producen granulomas epitelioides compactos, que focalizan y controlan la infección. Estos cambios coinciden con el viraje de la intradermorreacción con histoplasmina de negativa a positiva y con una tendencia a la curación espontánea de la infección primaria. Suelen quedar como secuela de esta infección focos calcificados en los pulmones, los ganglios linfáticos hilio-mediastinales, el hígado y el bazo [6].

Excepcionalmente la infección puede producirse por vía cutánea, lo que origina un síndrome chancriforme similar al de la esporotricosis que involuciona espontáneamente en un mes [7].

La enfermedad puede producirse por infección primaria, por reinfección o por reactivación de un foco latente [8][9].

En los pacientes con enfermedad obstructiva pulmonar crónica (EPOC), por lo habitual varones mayores de 50 años, grandes fumadores y de raza blanca, la infección pulmonar primaria no cura espontáneamente y genera focos de neumonitis crónica intersticial, que conduce a un cuadro clínico similar a la tuberculosis crónica excavada [7].

Las formas progresivas extrapulmonares de histoplasmosis se deben a fallas de la inmunidad mediada por células [6][10].

En los casos más graves las pruebas cutáneas con histoplasmina son negativas, el número de órganos afectados es mayor, el curso de la enfermedad es más agudo y la carga fúngica en los tejidos es muy elevada [3].

Formas clínicas de la histoplasmosis

La primoinfección puede ser asintomática o presentar manifestaciones clínicas similares a un síndrome gripal que se autolimita; estas ocurren en aproximadamente el 95% de los casos, y solo deja calcificaciones residuales en los pulmones, los ganglios linfáticos y el bazo [11].

Las formas clínicas de la histoplasmosis progresiva pueden ser pulmonares o enfermedad diseminada. La gravedad depende del inóculo fúngico, del estado inmunitario y de la edad del huésped [11].

Histoplasmosis pulmonar

La histoplasmosis pulmonar puede ser aguda o crónica.

Histoplasmosis pulmonar aguda: es una enfermedad autolimitada que ocurre sobre todo en los niños expuestos al organismo por primera vez. Los síntomas incluyen fiebre, malestar general, dolor de cabeza y debilidad; malestar torácico subesternal y tos seca [12]. Las radiografías de tórax muestran una marcada linfadenopatía hilar y mediastinal [13]. La histoplasmosis pulmonar aguda autolimitada se acompaña de manifestaciones reumatológicas y/o dermatológicas en aproximadamente 5% de los pacientes. El eritema nudoso y eritema multiforme son las manifestaciones más comunes de la piel; ocurren con mayor frecuencia en mujeres jóvenes y se piensa que están asociada con una respuesta de hipersensibilidad a los antígenos de *H. capsulatum* [14][15][16].

La Infección pulmonar grave aguda puede ocurrir cuando una persona fue expuesta a un elevado inóculo de *H. capsulatum* [12]. El inicio de la enfermedad es abrupto, y el paciente presenta fiebre, escalofríos, malestar general, disnea, tos y dolor torácico. Las radiografías de tórax muestran infiltrados pulmonares difuso reticulonodulillar; el síndrome de dificultad respiratoria aguda puede ocurrir luego de unos días [11].

Histoplasmosis cavitaria pulmonar crónica: Esta presentación clínica es observada principalmente en personas mayores con enfisema pulmonar. Goodwin y cols observaron que la inflamación intersticial causada por la infección por *H. capsulatum* era posterior a bullas enfisematosa y con frecuencia afectaba los segmentos apical y apical posterior de los pulmones [17]. El engrosamiento de las paredes de las bullas con necrosis posterior y el aumento de la fibrosis es común y en última instancia origina la formación de grandes cavidades persistentes [11].

La diseminación de la histoplasmosis a otros órganos es muy poco frecuente [17].

Las manifestaciones sistémicas de la histoplasmosis pulmonar cavitaria crónica incluyen astenia, fiebre, sudores nocturnos, anorexia, y pérdida de peso. Los síntomas pulmonares específicos incluyen tos, la producción de esputo, hemoptisis y disnea, que son similares a los síntomas de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica [17].

Se debe realizar diagnóstico diferencial de esta presentación clínica principalmente con la tuberculosis, infecciones por micobacterias atípicas, especialmente el complejo *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium kansasii*, otras infecciones fúngicas endémicas (incluyendo blastomicosis, esporotricosis y coccidioidomicosis) y la sarcoidosis [11][17].

Histoplasmosis diseminada

La evolución y gravedad de las manifestaciones clínicas de esta presentación dependen de la inmunidad del huésped. El grupo de pacientes con factores de riesgos para adquirir histoplasmosis diseminada son aquellos que presentan alteraciones en la inmunidad mediada por células, pacientes con sida, trasplantados, enfermedad

oncohematológica, pacientes con tratamiento prolongado con corticoides [3][11][18] y otras enfermedades como deficiencia congénita de células T, deficiencia de receptor de interferón γ , síndrome de hiperinmunoglobulina M, entre otras [19][20].

La histoplasmosis diseminada puede ser crónica, aguda o subaguda [21][22].

Las alteraciones más graves de la inmunidad generan las formas agudas, como las que se observa en pacientes VIH-positivos con muy bajo recuento de linfocitos T CD4+ o en enfermos con afecciones oncohematológicas. Estas representan alrededor del 10% de los casos de histoplasmosis diseminadas progresivas y tienen un curso fulminante. Predominan las manifestaciones clínicas generales sobre las focales; se presentan como un cuadro séptico grave, con fallo multiorgánico, shock y coagulación intravascular diseminada o como una insuficiencia respiratoria aguda del adulto. Las manifestaciones cutáneas suelen ser similares a las observadas en otras vasculitis infecciosas, como petequias y equimosis [21][23].

El sida constituye el factor de riesgo más importante para la presentación de las formas diseminadas subagudas en América del Sur, representa el 90% de los casos. Al principio de la pandemia del VIH, el 5% de los pacientes seropositivos que requerían internación presentaban esta afección, después de la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA) se redujo al 2,5% [22]. Las manifestaciones clínicas generales, observadas con mayor frecuencia son: fiebre, pérdida de peso, astenia, anorexia, diarrea, vómitos, hepatosplenomegalia, adenomegalias múltiples (con frecuencia retroperitoneales, detectables por ecografía), tos, catarro mucopurulento, disnea y dolor torácico. El hemograma muestra anemia, bi o tricitemia, aceleración de la eritrosedimentación y, a veces, ascenso de los niveles de las enzimas hepáticas. Sólo el 5% de los casos manifiesta meningoencefalitis con líquido cefalorraquídeo claro, semejante al de la tuberculosis [22]. En América Latina el compromiso cutáneomucoso se observa en el 70-80% de los pacientes mientras que en los Estados Unidos sólo en 6% al 10%. Las lesiones más frecuentes son pápulas de 3 a 4 mm de diámetro, rojizas, de consistencia firme, que se ulceran en el

vértice y se cubren por una costra serohemática. Estas lesiones, antes de presentar una úlcera franca, poseen un aspecto muy semejante al molusco contagioso. Los casos más graves muestran máculas rojo-vinosas, múltiples de 5 a 10 mm de diámetro, que no se elevan sobre la piel. También se observan nódulos cubiertos por piel rojo violácea, y fría, algunos evolucionan a gomas y se ulceran. Los bordes de las úlceras son bien limitados y el fondo es rojo y granulomatoso. Con menor frecuencia se ve hipodermatitis infiltrativa difusa, usualmente acompañada de nódulos y gomas o lesiones lupoides [24].

La terapéutica antirretroviral de gran actividad produce, en los pacientes con sida, una recuperación parcial de su inmunidad mediada por células, que puede inducir a la presentación de manifestaciones clínicas inesperadas, tales como la aparición de nuevas lesiones cutáneas papulosas y adenopatías supuradas con escasos hongos o con microorganismos no viables. Este proceso es conocido como síndrome de reconstitución inmune inflamatorio [25].

La histoplasmosis diseminada crónica se presenta con mayor frecuencia en varones mayores de 56 años, la relación hombre/mujer es de 10:1, otros factores predisponentes son la diabetes de tipo II, el alcoholismo, el tabaquismo intenso y el uso de pequeñas dosis de corticosteroides durante lapsos prolongados [26]. Los síntomas generales son poco llamativos, se produce pérdida de peso y empeoramiento del estado general en forma muy lenta, se presenta anemia leve, hepatoesplenomegalia moderada e insuficiencia suprarrenal y evoluciona a través de varios meses o algunos años [11][24]. La enfermedad en estos pacientes es fatal si no se trata [27][28]. En esta forma clínica, las lesiones mucosas son más frecuentes que las cutáneas. La localización laríngea se observa entre el 30% y el 50% de los casos. Produce tos, disfonía, disnea obstructiva y odinofagia. En el examen laringoscópico se observa infiltrado difuso de la mucosa, nódulos o úlceras de fondo granulomatoso parcialmente cubiertas por secreciones. Las lesiones orofaríngeas, presentes en el 40% de los enfermos, se asocian a dolor bucal, odinofagia, sialorrea, macroglosia y

mal estado dentario. Las lesiones más frecuentes son las úlceras de bordes nítidos y de fondo granulomatoso, con menor frecuencia se ven procesos chancriformes, aftoides y erosiones de fondo granulomatoso similares a la estomatitis moriforme. Una manifestación muy característica, presente en el 10% de los enfermos, es la úlcera fisurada mediolingual situada en el centro de la lengua, en la unión de los dos tercios anteriores con el tercio posterior. Raras veces la mucosa orofaríngea presenta nódulos que se ulceran y cuyo fondo puede tornarse vegetante [29][30].

Epidemiología de la histoplasmosis

La histoplasmosis fue descrita por primera vez por Darling en Panamá en el año 1905, en una muestra *post mortem de un obrero* proveniente de La Martinica [31].

Es una afección de distribución geográfica muy amplia, más de 60 países han registrado casos autóctonos. Predomina en el continente americano, en especial a lo largo de las grandes cuencas fluviales o en la proximidad de los lagos, con humedad relativa entre 67 y 87%, temperaturas medias anuales de 15 a 20°C y pluviometrías de 800 a 1.200 mm por año.

Los suelos ricos en sustancias orgánicas, con deyecciones de pájaros negros como los estorninos, de aves de corral y de murciélagos, permiten el desarrollo masivo de *H. capsulatum* y se generan los llamados “focos epidémicos”, que originan infecciones masivas en humanos y en animales [24][32][33].

Se han registrado zonas endémicas en Estados Unidos de América (Valles de los Ríos Ohio y Mississippi), en Islas del Caribe y América Central (Costa Rica, Honduras, Nicaragua, Panamá) y en Sudamérica (Venezuela, Guayana Francesa, Ecuador, Serra do Mar en el Sur de Brasil, Uruguay, la Pampa húmeda y la cuenca del río Paraná ambas en la República Argentina). También existen microfocos en el Este de los Estados Unidos, Sur de Europa, África y Sur de Asia (Figura 3)[32][34].



Fig.3. Mapa de distribución geográfica mundial de la histoplasmosis.

En Argentina, el área endémica de la histoplasmosis abarca las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba, Este de La Pampa, Sur de Salta, Norte de Tucumán, Norte de Corrientes, y Este y centro de Chaco. (Figura 4)

Por el momento, los únicos casos autóctonos registrados por fuera del área endémica mencionada, corresponden a un brote en la provincia de Neuquén.[33]

En Argentina, el 9,2 % de los niños y entre el 30% y el 40% de los habitantes adultos aparentemente sanos de las áreas endémicas, ha sufrido la infección por este hongo, es la tercera micosis sistémica en frecuencia diagnosticada anualmente, después de las fungemias por *Candida* y *Criptococcus* [35][36][37].



Fig. 4. Mapa de distribución geográfica de la histoplasmosis en la República Argentina

Si bien la histoplasmosis ha sido considerada una enfermedad predominantemente rural, los habitantes de las áreas urbanas no están libres de adquirirla. Como fuente de infección en estas zonas se pueden destacar los jardines tratados con fertilizantes que contienen materia fecal de aves, la tierra debajo de los árboles donde los pájaros dejan caer sus deyecciones y las construcciones viejas o galpones habitados por murciélagos o palomas [8].

Los brotes epidémicos de histoplasmosis ocurren por exposición a una fuente común con altas concentraciones de conidios. En general, se asocian a actividades laborales o recreativas, tales como limpieza de parques, demolición de edificios, visitas a cavernas o cuevas, entre otras. Estas epidemias ocurren principalmente en el Sureste de Estados Unidos, México, Venezuela, Brasil, países de Centroamérica y en viajeros que visitan estas áreas geográficas [34][38].

Diagnóstico de la histoplasmosis

El diagnóstico de la histoplasmosis se basa fundamentalmente en la realización del examen clínico y estudios de laboratorio.

Examen clínico

El diagnóstico clínico de esta enfermedad se basa principalmente en los antecedentes epidemiológicos y profesionales, el cuidadoso estudio semiológico, los exámenes radiológicos del tórax, endoscopías de laringe y bronquios y una descripción minuciosa de las lesiones cutáneomucosas. Siempre la sospecha clínica debe ser ratificada por los estudios de laboratorio.

Diagnóstico mediante el laboratorio

Las muestras de mayor utilidad para el diagnóstico dependen de la forma clínica, la localización de las lesiones y factores del huésped [39][40][41].

Escarificaciones y biopsias cutáneo-mucosas: Dada la elevada frecuencia de lesiones cutáneas y mucosas en Latinoamérica [40], su escarificación o las biopsias cutáneas son de gran utilidad para el diagnóstico rápido de esta afección. El citodiagnóstico de Tzanck es una técnica rápida y eficaz, la toma de muestra se realiza luego de la asepsia de la piel, se levanta la costra que cubre la lesión y se toma material del fondo de la misma con una hoja de bisturí, se preparan extendidos que se tiñen con Giemsa. Las biopsias remitidas en solución salina estéril, permiten realizar cultivos [21][22][29].

Secreciones respiratorias: El esputo y el lavado bronco alveolar son materiales útiles para el aislamiento del hongo cuando hay compromiso respiratorio. Sin embargo, la visualización de las levaduras en la coloración de Giemsa no tiene tan alto rendimiento en estas muestras y requieren mayor experiencia del observador. Además en muchos casos suelen también encontrarse levaduras de *Cándida* que dificultan la tarea y crecen más rápidamente, por lo que impiden el desarrollo de *Histoplasma* en los cultivos. Las muestras seriadas de esputo aumentan el rendimiento de este material. Se recomienda incubar tubos a 28°C para obtener la fase filamentosa del hongo y evitar el desarrollo de bacterias contaminantes y a 37°C en medios enriquecidos para el crecimiento de la fase de levadura y acortar el tiempo de incubación. En muestras muy contaminadas también pueden agregarse tubos con medio adicionados de cicloheximida [41].

Hemocultivos: La detección de *H. capsulatum* también es posible a partir de muestras de sangre. Se han descrito algunas metodologías para mejorar la recuperación del hongo. Se puede utilizar el método de lisis centrifugación o métodos automatizados

tipo BACTEC [42][43]. Los pacientes que presentan hemocultivos positivos suelen tener peor evolución [44]. Los hemocultivos con la técnica de lisis-centrifugación dan resultados positivos en más del 75% de los casos y constituyen el único elemento de diagnóstico en alrededor del 20% de los pacientes con histoplasmosis asociada al sida [21][24].

Mielocultivos: La punción-aspiración de médula ósea, en los extendidos teñidos con Giemsa, puede mostrar las levaduras características y permite el aislamiento de *H. capsulatum* con igual sensibilidad que los hemocultivos, su realización no es sistemática por ser dolorosa para el paciente [3].

Otros materiales: Entre las muestras útiles para el diagnóstico encontramos las biopsias de ganglios, el material de nódulos subcutáneos, biopsias de laringe, biopsias de mucosa gástrica, orina, etc [40][44]. En casos de compromiso del sistema nervioso central se recomienda la recolección de varios mililitros de líquido cefalorraquídeo para mejorar el rendimiento de los cultivos en esta muestra [45].

Métodos de laboratorio

Los métodos diagnósticos utilizados en el laboratorio se pueden dividir en:[42][46][47][48]

- Métodos directos: permiten la visualización de las levaduras en las lesiones mediante coloraciones y el cultivo de las dos fases de *H. capsulatum*, además existen estudios histopatológicos que permiten certificar la invasión tisular.
- Métodos inmunológicos: incluyen la detección de anticuerpos mediante pruebas serológicas y las técnicas para evidenciar antígeno polisacárido de *H. capsulatum* en orina, suero y líquido cefalorraquídeo.
- Métodos moleculares: detectan ADN fúngico en distintas muestras clínicas a través de técnicas de PCR.

Exámenes directos de las muestras: Las preparaciones al estado fresco no tienen buen rendimiento ya que únicamente cuando la carga fúngica es muy elevada, se observan levaduras intracelulares. En las preparaciones teñidas con Giemsa se visualizan claramente las estructuras levaduriformes que se colorean en forma característica en un polo y que presentan un halo claro debido a que no se tiñe su pared celular, habitualmente se encuentran dentro de macrófagos en gran cantidad, además en los casos graves suelen observarse también fuera de las células [3][8].

El examen directo tiene sensibilidad variable de acuerdo con las formas clínicas; 9% para la primo-infección sintomática, 43% para la diseminada y 17% para la pulmonar crónica [49][50].

Cultivo: El cultivo es el *gold standard* para el diagnóstico. La sensibilidad de los cultivos es baja en la primo-infección sintomática (10 al 15%) pero aumenta en la pulmonar crónica (67 al 85%) y alcanza su máximo en la diseminada (84 al 90%) [49][50][51].

Las muestras extraídas se siembran en agar glucosado de Sabouraud y caldo cerebro-corazón (BHI) con o sin sangre ovina, incubados a 28°C y 37°C permiten el desarrollo de la fase micelial y levaduriforme, respectivamente, entre los 10-15 días aunque, a veces, es necesario mantener los cultivos hasta 30 días. La identificación de la fase micelial se basa en las características micromorfológicas de los cultivos y debe confirmarse a través de la prueba de exoantígenos con antisuero específico y en el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas “Dr Carlos Malbran” se cuenta con sondas de ADN aptas para la identificación de este microorganismo. Es muy importante que los cultivos sean manipulados en cámaras de bioseguridad BS3 [3].

Histopatología: *H. capsulatum* produce en los tejidos tres tipos de respuesta: inflamación, necrosis y reparación. Las características estructurales de esta reacción

están notablemente influidas por la respuesta inmune. En los pacientes gravemente inmunocomprometidos predominan los fenómenos necróticos y una respuesta inflamatoria constituida por infiltrados difusos de macrófagos y polimorfonucleares neutrófilos, no se observan granulomas epitelioides compactos, ni necrosis caseosa, y se ven gran cantidad de elementos levaduriformes del agente causal, tanto dentro como fuera de los macrófagos. La liberación de estos elementos levaduriformes se produce por estallido de los macrófagos cuando están repletos de hongos [6][22]. En los huéspedes con menor compromiso de la inmunidad se produce la formación de granulomas epitelioides compactos, con células gigantes, por fuera presentan un extenso manto linfoplasmocitario y, cuando evoluciona hacia la cronicidad, suele formar una capa periférica de fibrosis colágena. Es frecuente en estos pacientes que la parte central del granuloma presente necrosis caseosa [5][30].

La visualización de la levadura con la coloración de Hematoxilina-eosina suele ser dificultosa, por eso para mejor visualizaciones conveniente realizar la coloración con plata de Gomori-Grocot o PAS [8][11].

Prueba cutánea: Las reacciones cutáneas se efectúan con la histoplasmina que es un antígeno obtenido por filtración del desarrollo de *H. capsulatum* en medio líquido sintético de asparagina y sales de Smith, seleccionado por carecer de proteínas o polipéptidos que determinen reacciones inespecíficas. A fin de establecer la dilución óptima para su empleo se determina la potencia antigénica en cobayos experimentalmente infectados y en reactores humanos conocidos.

Las reacciones se practican mediante la inoculación intradérmica de 0,1 ml de solución de histoplasmina en la región lateral del antebrazo, y la lectura se efectúa a las 48 hs [52]. La intensidad de la prueba se mide en milímetros de infiltrado, considerándose positiva toda reacción que presente eritema y más de 5 mm de infiltración.

Esta reacción de hipersensibilidad retardada se torna positiva entre los 15 días y las 6 semanas siguientes a la infección; su positividad persiste durante muchos años y aún

toda la vida. La reacción cutánea positiva indica, por lo tanto, la existencia de una infección actual o pasada. Es de gran utilidad para delimitar las áreas endémicas durante las campañas sanitarias. Su valor diagnóstico de enfermedad actual se limita a los siguientes casos: cuando se comprueba en lactantes, cuando se asiste al viraje de la reacción de negativa a positiva o cuando se comprueba en una persona que no hubiera habitado hasta ese momento en zona endémica y que no presenta reacciones fuertemente positivas con otros antígenos fúngicos. Pueden observarse falsas reacciones positivas debidas a la existencia de antígenos comunes con otros hongos como *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis* y *Paracoccidioides brasiliensis*. Sin embargo, la frecuencia de las reacciones cruzadas disminuye utilizando los antígenos adecuadamente diluidos.

Los resultados de las pruebas cutáneas poseen además valor pronóstico en los pacientes con diagnóstico de histoplasmosis confirmada mediante métodos directos, pues su negatividad, indica gravedad del proceso. La prueba cutánea negativa no descarta el diagnóstico de histoplasmosis y afirma el valor pronóstico de esta reacción, ya que el viraje a la positividad coincide con la mejoría o curación clínica [8].

Pruebas inmunológicas: Las técnicas serológicas estandarizadas para la detección de anticuerpos anti-*Histoplasma* son la inmunodifusión y la fijación de complemento. También puede utilizarse la contrainmunolectroforesis con muy buenos resultados y, en algunos países, se comercializan equipos para detectar anticuerpos por métodos de enzimoimmunoensayo (ELISA). El diagnóstico serológico se basa en la identificación de anticuerpos anti-H y anti-M. Estos anticuerpos pueden ser detectados usando histoplasmina [42].

En los enfermos con sida estas pruebas sólo brindan resultados positivos en menos del 50% de los casos, excepto el ELISA donde la proporción de resultados positivos es mayor. En los pacientes trasplantados también su utilidad es limitada ya que los títulos suelen ser bajos [53]. También se han utilizado otros métodos de detección de

anticuerpos como el Western blot, que ha demostrado una sensibilidad del 90% en las formas pulmonares agudas, con 100% de especificidad, cuando se utiliza un antígeno deglucosilado [53][54]. La detección de antígenos en suero y especialmente en orina mediante pruebas de ELISA es ya rutinaria en E.E.U.U. Existen al menos 3 equipos comerciales de primera y segunda generación [55][56], aunque todavía no se ha logrado la especificidad deseada y hay reacciones cruzadas con paracoccidiodomicosis y blastomicosis [57]. La sensibilidad mejora cuando se tratan las muestras con EDTA y calor para romper los complejos inmunes. El uso de anticuerpos monoclonales que reconocen epitopes especie-específicos en un ELISA de inhibición ha demostrado 71% de sensibilidad y 98% de especificidad, permitiendo detectar antígeno en LCR y lavado broncoalveolar [54][55][56]. Las técnicas para detectar 1-3- β -D-glucano son frecuentemente utilizadas en pacientes inmunocomprometidos graves, para el diagnóstico indirecto de varias micosis oportunistas, especialmente aspergilosis y candidiasis, pero puede dar resultados positivos en pacientes con histoplasmosis diseminada [58].

Métodos moleculares: debido a factores inherentes al diagnóstico clásico de la histoplasmosis, como tiempo de cultivo (media de 20 días), el hallazgo cada vez más frecuente de aislamientos aberrantes que no presentan macro y/o micromorfología característica [48][59][60], la falla en la termoconversión [61][62] o la existencia de hongos miceliales de los géneros *Scepedonium*, *Chrysosporium*, *Corynascus* y *Renispora* que pueden producir macroconidios tuberculados recordando la micromorfología de *H. capsulatum* en su fase micelial [11][63][64] se desarrollaron técnicas moleculares para complementar el diagnóstico de laboratorio.

Desde el año 2011 el Departamento de Micología del INEI-ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán ha comenzado a desarrollar técnicas utilizando diferentes variantes de la técnica de PCR. Existen métodos basados en los perfiles de amplificación de secuencias repetitivas del ADN cromosómico [65] y del antígeno M (proteína con

actividad catalasa) [37][64] cuya utilización se fundamenta en el uso de un termociclador convencional y consecuente reducción de los tiempos de identificación (5-7 horas) [37].

Existen otros métodos rápidos de identificación como el *AccuProbe Histoplasma* (Gen-Probe, Inc., San Diego, CA) [66] y secuenciación de ITS [67] que requieren instrumental específico a lo que se le suma el alto costo de los reactivos.

Tratamiento de la histoplasmosis

La elección del antifúngico, así como la dosis y su forma de administración, dependen de las manifestaciones clínicas del paciente y de las patologías asociadas o sus tratamientos [3].

Las infecciones primarias sintomáticas generalmente no requieren tratamiento antifúngico, el tratamiento de estas infecciones sólo es necesario cuando la remisión espontánea no ocurre dentro de cuatro a seis semanas o en los pacientes con compromiso inmunológico [7][68].

Los casos graves con una marcada insuficiencia respiratoria requieren asistencia respiratoria mecánica y la administración de anfotericina B y corticosteroides (dosis 60 a 80 mg/día de prednisona) [69].

La histoplasmosis cavitaria crónica, es tratada con éxito en el 90% de los pacientes con el uso de antifúngicos. La resección quirúrgica de la cavidad se aconseja en casos excepcionales, debido al alto riesgo de desarrollar insuficiencia respiratoria crónica y fístula bronco-pleural [69][70].

En el caso de la histoplasmosis asociada al sida, la dosis diaria de itraconazol se eleva a 600 mg los dos primeros días para acelerar el plazo requerido para la estabilización del área bajo la curva, y luego se sigue con 400 mg por día. Después del tratamiento inicial de 2 a 3 meses y cuando el paciente ha mejorado, se inicia el tratamiento supresivo o profilaxis secundaria, que se realiza con itraconazol a razón de 200 mg/día hasta que el enfermo presente dos recuentos de células CD4⁺ superiores a los 150/ μ l,

separados por 3 meses de intervalo. Si el paciente no puede recibir este tratamiento, se le indica anfotericina B, 50 mg 2 veces por semana. En los otros casos de inmunodepresión prolongada no relacionada al sida, no hay una norma de profilaxis secundaria establecida, pero se tiende a prolongar el tratamiento supresivo durante un año [24].

Justificación

Hasta el momento en la región nordeste argentina no hay estudios que revelen la frecuencia real de la histoplasmosis ni cuáles son las manifestaciones clínicas más comunes en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

Por lo antedicho, conocer la incidencia de histoplasmosis y las manifestaciones más frecuentes contribuiría a mejorar la sospecha de esta enfermedad, su diagnóstico y, por lo tanto, su tratamiento oportuno.

Hipótesis

La histoplasmosis en la Región Nordeste de Argentina se presenta principalmente en pacientes VIH positivos y las manifestaciones clínicas más frecuentes son las lesiones cutáneas.

Objetivos

Objetivos Generales

- Determinar las características clínico-epidemiológicas de los pacientes con histoplasmosis diagnosticada en el Hospital “Julio C. Perrando” de la ciudad de Resistencia.
- Estudiar la incidencia de esta micosis en pacientes VIH positivos en el período 2008-2013.

Objetivos Específicos

- Correlacionar la aparición de esta micosis con datos demográficos en todos los pacientes estudiados.
- Establecer las presentaciones clínicas más frecuentes de la histoplasmosis en todos los pacientes estudiados.
- Determinar la metodología diagnóstica de laboratorio más sensible para diagnosticar esta enfermedad en pacientes VIH positivos.

Materiales y métodos

Lugar de trabajo: Hospital “Julio C Perrando” de la ciudad de Resistencia, Chaco-Argentina.

Diseño metodológico: observacional, descriptivo con recolección retrospectiva de datos.

Período de trabajo: el comprendido entre enero de 2008 y diciembre de 2013.

Fuente de datos: historias clínicas de pacientes internados con diagnóstico de histoplasmosis, comprobada con pruebas micológicas y cuyo tratamiento se realizó en la institución.

Variables: se registraron los siguientes parámetros: edad, sexo, antecedentes epidemiológicos, signos y síntomas en el momento del diagnóstico, enfermedades previas y subyacentes, recuento de linfocitos T CD4⁺ al momento del diagnóstico y tratamiento instaurado.

Se consideraron, además, los hallazgos de laboratorio (tipo de muestra y resultados de los métodos diagnósticos utilizados), las radiografías del tórax y ecografías abdominales.

Resultados

Pacientes: Durante el período comprendido entre 2008 y 2013 se registraron 26 pacientes con diagnóstico de histoplasmosis. De ellos 20 correspondían al sexo masculino y 6 al femenino. Todos procedían de la provincia del Chaco, 11 eran de la ciudad de Resistencia.

La edad media del total de pacientes fue de 40 años. La edad media de los pacientes VIH positivos fue de 35 años (27-49) y la de los VIH negativos de 57 años (47-72). Se encontraron diferencias significativas entre los valores promedios (valor de $p=0,006$).

En anexos- tabla 4 se presentan los datos de sexo, edades, muestras procesadas y resultados de serología y cultivos de pacientes con VIH.

En anexos- tabla 5 se presentan los datos de sexo, edades, enfermedades de base, muestras procesadas y resultados de serología y cultivos de pacientes con serología para VIH negativa.

Enfermedades concomitantes: De los 26 pacientes, 20 estaban infectados con el VIH y los restantes presentaban alguna de las siguientes entidades nosológicas: EPOC (3), enfermedad oncohematológica (1), enfermedad autoinmune (1), desnutrición grave calórico proteica (1).

En la Tabla 1 se presentan los valores de incidencia de histoplasmosis en pacientes internados con VIH en el período estudiado.

TABLA 1. Incidencia de histoplasmosis en pacientes internados con VIH en el período comprendido entre 2008 al 2013

Año	Total de pacientes internados con VIH	Pacientes con histoplasmosis	Incidencia cada 100 pacientes
2008	301	3	1
2009	326	3	1
2010	361	4	1,1
2011	381	2	0,5
2012	411	4	1
2013	451	4	0,9
TOTAL	2231	20	0,9

Formas de presentación de la enfermedad: en la tabla 2 puede observarse la distribución de las presentaciones clínicas de la histoplasmosis en relación a la infección por VIH en los pacientes estudiados.

El nivel de linfocitos T CD4+ en pacientes VIH positivo que tuvieron histoplasmosis, fue inferior a 80 cél/μL, con una media al momento del diagnóstico de 33 cél/μL.

Las manifestaciones sistémicas más frecuentes en los 26 pacientes estudiados fueron: fiebre prolongada, astenia, anorexia, pérdida de peso, lesiones cutáneomucosas, hepatoesplenomegalia.

Tabla 2. Distribución de las presentaciones clínicas de la histoplasmosis en relación a la infección por VIH en los pacientes estudiados

Presentación clínica	VIH positivos	VIH negativos
Histoplasmosis pulmonar crónica	5	3 *
Histoplasmosis sistémica diseminada sin compromiso respiratorio	9	3 **
Histoplasmosis sistémica diseminada con compromiso respiratorio	6	0
total	20	6

(*) Pacientes con EPOC

(**) 1 con desnutrición, otro con enfermedad oncohematológica, y otro con enfermedad autorinmune.

Diagnóstico de laboratorio: El examen directo con coloración de Giemsa de la escarificación de lesiones mucocutáneas permitió la observación del hongo en 13 casos (50%). En 9 (38.5%) pacientes VIH positivo, la escarificación de estas lesiones fue el único método que permitió confirmar el diagnóstico de histoplasmosis.

El examen directo de las muestras de esputo y lavado bronquioalveolar revelaron la presencia del hongo en 38.5 % de los casos (8 pacientes HIV+ y 2 HIV-).

Otras muestras en las cuales se detectó el hongo fueron: biopsia de hueso y biopsia laríngea, ambas en pacientes VIH- y punción de ganglio cervical (2), biopsia hepática (1), las 3 obtenidas de pacientes VIH +.

Con respecto al cultivo de las muestras de los pacientes no VIH (2 muestras de esputo, una biopsia de lesión en paladar, una biopsia de lesión laríngea y una biopsia de hueso) no se obtuvo desarrollo de *Histoplasma capsulatum*. En el 35% de las

muestras de pacientes con VIH+, se logró aislar el hongo en su fase filamentosa, con la siguiente frecuencia esputo (3), lavado broncoalveolar (2), biopsia hepática (1), punción de ganglio cervical (1).

La serología para histoplasmosis reveló una banda de precipitación en 9 muestras de las 16 realizadas, correspondientes a 3 pacientes VIH positivo (30%) y a 6 (100%) con otra enfermedad de base (en 1 ellos fue el único método con el cual se llegó al diagnóstico).

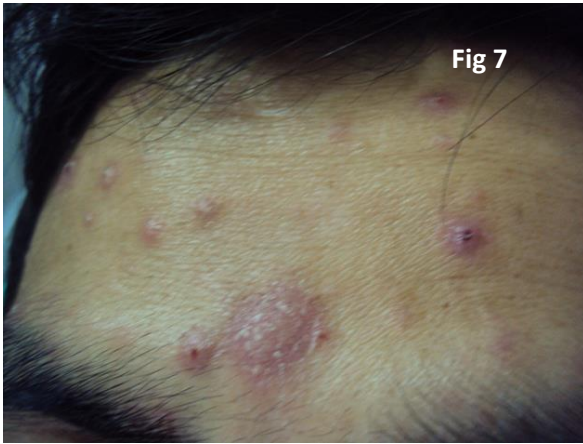
Manifestaciones clínicas:

En la presentación de histoplasmosis diseminada, las manifestaciones cutáneomucosas estuvieron presentes en el 78% de los pacientes.

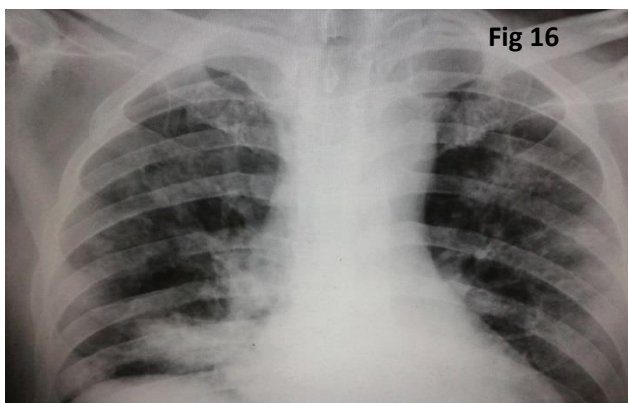
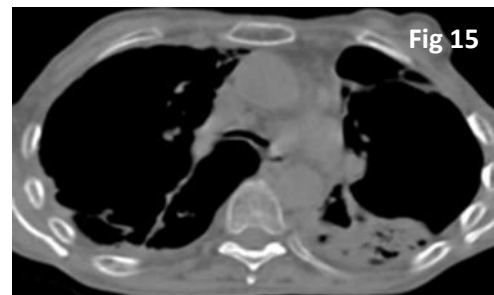
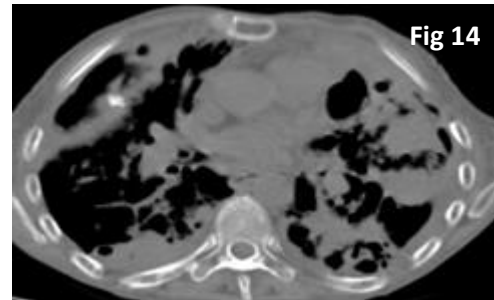
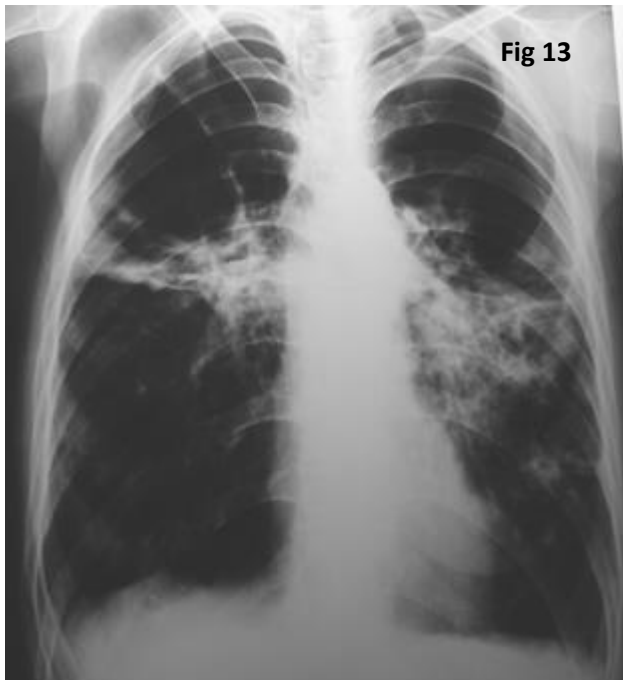
En pacientes VIH- se observaron únicamente lesiones mucosas; lesión en paladar en un paciente con enfermedad autoinmune y lesión laríngea en un paciente con desnutrición.

Entre los paciente VIH+ con histoplasmosis diseminada las lesiones mucocutáneas estuvieron presentes en el 80%. Predominaron pápulas, pústulas y máculas pruriginosas (Figuras 5, 6, 8, 10, 11 y 12); solamente en un caso se presentó en forma de úlcera (Figura 10). Las regiones más frecuentes fueron cara, el cuello y el tronco. Se presentaron además, lesiones en la mucosa oral (figura 8).





Las imágenes radiológicas y tomográficas de tórax de los pacientes con histoplasmosis pulmonar mostraron predominio de cuadro cavitario en los pacientes VIH negativos y de infiltrados bilaterales reticulonodulillares en los VIH positivos (Figuras 13,14,15 y 16).



Los hallazgos más frecuentes en la ecografía abdominal fue hepatoesplenomegalia en 10 casos (38,4%), entre pacientes VIH positivo y VIH negativo.

En 9 pacientes la histoplasmosis fue la enfermedad marcadora de sida, el resto de los pacientes conocía su enfermedad de base con anterioridad aunque ninguno recibía esquema de TARGA antes del desarrollo de la infección oportunista.

La evolución de los pacientes con sida y diagnóstico de histoplasmosis se presenta en la Tabla 3.

Tratamiento: de los 26 pacientes incluidos en esta evaluación, 17 (65,4%) recibieron tratamiento con anfotericina B desoxicolato y 9 (34,6%) con itraconazol. La anfotericina B se administró en dosis de 50 mg/día por vía intravenosa, y el itraconazol a razón de 400 mg/día por vía oral, independientemente de su enfermedad de base.

TABLA 3. Evolución de pacientes con sida y diagnóstico de histoplasmosis

Evolución	Nº de pacientes	%
Óbito en internación	2	10
Mortalidad a los 2 años	1	5
Mortalidad > a 2 años	1	5
Control y TARGA	10	50
Sin datos	6	30
Total	20	100

Discusión

La histoplasmosis ha sido reconocida como una infección oportunista en pacientes con sida desde los primeros años de la epidemia [21]. La forma clínica que se observa en estos sujetos es la diseminada subaguda y se incluye entre las patologías marcadoras del síndrome. No resulta claro si la patogenia de la histoplasmosis diseminada en pacientes con sida responde a una infección aguda o a la reactivación de una infección latente, pero se considera que ambos mecanismos pueden estar presentes. En áreas endémicas, los episodios de histoplasmosis diseminada podrían responder a primoinfecciones, reinfecciones o reactivaciones [9].

Según un estudio realizado en el Hospital Muñiz de Buenos Aires entre los años 1983 y 1992, aproximadamente el 4% de los pacientes con sida presentó histoplasmosis [72], luego la incidencia disminuyó a un valor de 2,2% entre los años 1997 y 2001 [9]. Esta disminución de la incidencia puede atribuirse a la introducción del TARGA en el año 1996 [9]. En la serie analizada la incidencia de la histoplasmosis en pacientes con sida que debieron ser hospitalizados fue cercana al 1% y no se observó aumento de la misma con el transcurso de los años.

Cabe destacar que no se registraron casos de histoplasmosis en pacientes sin enfermedad de base, por lo que en el periodo estudiado esta micosis se comportó como una enfermedad oportunista, sin registros de brotes epidémicos a diferencia a los descritos en las Provincia de Neuquén y en la Base Aérea de Morón, donde los casos estuvieron relacionados con la exposición de individuos sanos a una fuente común con alta concentración de conidios [32][33].

Las manifestaciones clínicas de los pacientes VIH negativos de este estudio concuerdan con las descritas en la bibliografía: en los pacientes con alteraciones de la inmunidad celular se presentan las formas diseminadas y en los que sólo tienen alteraciones en la funcionalidad pulmonar la presentación clínica es la pulmonar crónica, ya que ellos no tienen inmunodeficiencias que justifiquen la diseminación del microorganismo [11][73][74][75].

Los resultados de manifestaciones clínicas, imágenes radiológicas y el recuento de linfocitos T CD4+ coinciden con estudios publicados, que demuestran que los bajos recuentos de células T CD4+ en pacientes con sida, constituyen el factor de riesgo más importante para la presentación de la forma diseminada subaguda en América del Sur [22]

El 10% de los pacientes infectados con el VIH presentó un curso fulminante, presentaron un cuadro séptico grave con fallo multiorgánico y coagulación intravascular diseminada. Estos pacientes tuvieron valores de linfocitos T CD4+ inferiores a 20, esto coincide con lo descrito en la bibliografía [21][23].

Entre las enfermedades concomitantes marcadoras de sida está la tuberculosis [9]. En 3 (15%) pacientes con sida de la serie estudiada, la histoplasmosis estuvo asociada a tuberculosis pulmonar.

En la presentación de histoplasmosis diseminada, las manifestaciones mucocutáneas estuvieron presentes en el 72% de los pacientes.

Entre los paciente VIH+ con histoplasmosis diseminada éstas lesiones estuvieron presentes en el 80 %. Estos datos coinciden con publicaciones realizadas en Argentina y en otros países de América del Sur, marcando la diferencia con estudios realizados en Panamá y Estados Unidos donde la frecuencia de aparición de estas lesiones son menos comunes [9][76][77].

En pacientes con alteración de la inmunidad distinta al VIH se observó la presentación de la histoplasmosis diseminada crónica, con lesión laríngea en un paciente con desnutrición y lesión orofaríngea en un paciente con enfermedad autoinmune. Estos datos coinciden con lo publicado en trabajos de otros autores que marcan a estas dos localizaciones como las más frecuentemente observadas en esta forma de presentación [29]

Las manifestaciones de las lesiones cutáneas son útiles para llevar a cabo un citodiagnóstico de Tzanck y el cultivo del hongo [75].

La observación de la levadura en secreciones respiratorias en las presentaciones sistémicas fue sólo del 22%, cifra más baja que lo observado en otros trabajos previamente publicados (50 al 75%) [9][50].

La detección de anticuerpos específicos por pruebas de fijación del complemento, inmunodifusión doble en gel de agarosa y contraelectroforesis, que son habitualmente positivas en las histoplasmosis diseminadas no asociadas con el sida, dan resultados negativos en el 40% de los pacientes VIH positivos que padecen esta micosis [78][79]. En la serie analizada pudimos comprobar la importancia diagnóstica de la técnica de inmunodifusión en gel de agarosa para los pacientes VIH negativos ya que se obtuvieron resultados positivos en todos ellos. Solamente en el 30 % de los pacientes VIH+ la serología fue positiva, se observaron mayor número de falsos negativos que los descritos en la bibliografía; esto confirma su escaso valor diagnóstico en este tipo de pacientes.

Conclusiones

- La incidencia de histoplasmosis en el Hospital “Julio C Perrando” en el período estudiado fue menor a la reportada por otros autores.
- La infección con VIH fue la patología inmunosupresora subyacente más frecuente en los pacientes con diagnóstico de histoplasmosis.
- Las manifestaciones cutáneas fueron las localizaciones más frecuentes en los pacientes con esta micosis.
- Es importante realizar escarificaciones de las lesiones en piel por tratarse de una técnica que aporta resultados inmediatos y por tratarse de un procedimiento no invasor.
- La identificación del agente causal en el examen microscópico directo posee gran importancia y brinda un alto rendimiento para el diagnóstico.
- La detección de anticuerpos específicos por pruebas de inmunodifusión arrojan resultados negativos en el 70% de los pacientes VIH positivos que padecen esta micosis, volviendo a esta técnica poco eficaz para el diagnóstico de histoplasmosis en este tipo de pacientes.
- La sospecha clínica adquiere especial relevancia para realizar el diagnóstico de infección por *Histoplasma capsulatum*, y debe basarse en los hábitos del paciente y la patología de base.
- La real incidencia de la histoplasmosis asociada al sida puede ser mayor, porque en este estudio no se efectuó sistemáticamente hemocultivos por lisis-centrifugación, ni la detección de antígeno específico en orina o sangre.

Bibliografía

1. Deepe G. *Histoplasma capsulatum*. En: Mandell GI, Douglas y Bennet. Enfermedades infecciosas. Principios y Practicas. Quinta edicion 2002. Editorial Medica Panamericana. p. 3289-307
2. Negroni R, Helou S, López Daneri G, Robles A, Arechavala A. Interrupción de la profilaxis secundaria antifúngica en la histoplasmosis asociada al sida. Rev Iberoam Micol. 2004;21:75–8.
3. Negroni R, Arechavala AI, Maiolo EI. Histoplasmosis clásica en pacientes inmunocomprometidos. Med Cutan Iber Lat Am 2010;38(2):59–69.
4. Lacaz C da S, Porto E, Costa Martins E, Heins-Vaccari E, Takashio de Melo N. Histoplasmosis Clásica. Tratado de Micología Médica. Editorial Sarvier Sao Paulo 2002. Pp. 594–617.
5. Rippon J. Histoplasmosis. En: Rippon JW. Tratado de Micología Médica. Editorial Interamericana Mc Graw Hill. Mexico 1988. p. 410-66
6. Negroni R. Histoplasmosis. En: Cecchini E, Gonzalez Ayala S, editores. Infectología y Enfermedades Infecciosas. Ediciones Journal; 2008. Pp. 472–6.
7. Alsip S, Dismukes W. Approach to the patient with suspected histoplasmosis. En: Remington J.S. SMN, editor. Current Clinical topics in infectious diseases. New York: Mc Graw Hill.; 1986. Pp. 254–96.
8. Facultad de Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional de Rosario. Histoplasmosis [Internet]. 2013 [cited 2014 Dec 18]. Pp. 1–22. Available from: http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/MATERIALES_2013/TEORICO_S_2013/Histoplasmosis.pdf
9. Corti M, Negroni R, Esquivel P, Villafañe M. Histoplasmosis diseminada en pacientes con SIDA: análisis epidemiológico, clínico, microbiológico e inmunológico de 26 pacientes. Enferm Emerg. 2004;6(1):8–15.
10. Kauffman C. Endemic mycoses: blastomycosis, histoplasmosis, and sporotrichosis. Infect Dis Clin North Am. 2006;20(3):645–62, vii.
11. Kauffman C. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. Clin Microbiol Rev. 2007;20(1):115–32.
12. Goodwin R, Loyd J, des Prez R. Histoplasmosis in normal hosts. Med. 1981;60:231–66.
13. Gurney J, Conces D. Pulmonary histoplasmosis. Radiology. 1996;199:297–306.
14. Medeiros A, Marty S, Tosh F, Chin T. Erythema nodosum and erythema multiforme as clinical manifestations of histoplasmosis in a community outbreak. N Engl J Med. 1966;274:415–20.

15. Ozols I, Wheat L. Erythema nodosum in an epidemic of histoplasmosis in Indianapolis, Indiana. *Arch Dermatol.* 1981;177:709–12.
16. Ricketts V, Bialek R, Tintlenot K, Jacobi V, Just-Nubling G. Rapid PCR-based diagnosis of disseminated histoplasmosis in an AIDS patient. . 21:821–823. *Eur J Clin Microbiol.* 2002;21:821–3.
17. Goodwin R, Owens F, Snell J, Hubbard W, Buchanan R, Terry T, et al. Chronic pulmonary histoplasmosis. *Med.* 1976;55:413–52.
18. Negroni R, Robles A, Arechavala A. Histoplasmosis progresiva. Estudio en un lapso de 10 años. *Rev Argentina Micol.* 1994;17(1):14–21.
19. Zerbe C, Holland S. Disseminated histoplasmosis in persons with interferon-gamma receptor 1 deficiency. *Clin Infect Dis.* 2005;41(4):e38–41.
20. Hofstoffer RW, Berger M, Clark HT. Disseminated *Histoplasma capsulatum* in a patient with hyper IgM immunodeficiency. *Pediatrics.* 1994;94:234–6.
21. Negroni R. Micosis asociadas al SIDA. En: Benetucci J, editor. *SIDA y enfermedades asociadas.* 3º ed. Buenos Aires.: FUNDAI; 2008. Pp. 325–51.
22. Corti M, Cendoya C, Soto I, Esquivel P, Trione N, Villafañe M, et al. Disseminated histoplasmosis and AIDS: clinical aspects and diagnostic methods for early detection. *AIDS Patient Care STDS.* 2000;14:149–54.
23. Wheat L. *Histoplasma capsulatum.* In: Yu V, Weber R, Raoult D, editors. *Antimicrobial Therapy and Vaccine.* 2ª ed. New York: Apple Tree Productions L.L.C.; 2002. Pp. 1069–79.
24. Negroni R. Clinical spectrum and treatment of classic histoplasmosis. *Rev Iberoam Micol.* 2000;17:159–67.
25. Nacher M, Sarazin F, El Guedj M, Vaz T, Alvarez F, Nasser V, et al. Increased incidence of disseminated histoplasmosis following highly active antiretroviral therapy initiation. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006 Apr;41:468–70.
26. Negroni R, Arechavala A, Robles A. Histoplasmosis diseminada crónica como afección oportunista. *Med Cutan Ibero Lat Am.* 1987;15:377–83.
27. Johnson P, Khardori N, Najjar A, Butt F, Mansell P, Sarosi G. Progressive disseminated histoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med.* 1988;85:152–8.
28. Odio C, Navarrete N, Carrillo J, Mora L, Carranza A. Disseminated histoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18:1065–8.
29. Negroni R. Manifestaciones cutáneo-mucosas de la histoplasmosis diseminada (histoplasmosis clásica o histoplasmosis capsulati). *Dermatologia Argentina.* 2008;14:104–10.

30. Negroni R. Histoplasmosis. En: Cimerman S, Cimerman B, editors. *Conductas em infectologia*. 1° ed. Rio de Janeiro, Sao Paulo, Belo Horizonte: Atheneu; 2004. Pp. 376–83.
31. Houston S. Histoplasmosis and pulmonary involvement in the tropics. *Trop Respir Med*. 1994;49:598–601.
32. Negroni R, Duré R, Nareto Á, Arechavala AI, Maiolo I, Santiso M. Brote de histoplasmosis en la Escuela de Cadetes de la Base Aérea de Morón , Provincia de Buenos Aires , República Argentina. *Rev Argentina Microbiol*. 2010;42:254–60.
33. Calanni L, Pérez R, Brasili S, Schmidt N, Iovannitti C, Zuiani M, et al. Brote de histoplasmosis en la provincia de Neuquén, Patagonia Argentina. *Rev Iberoam Micol*. 2013;30(3):193–9.
34. Caro L, Kauffman M. Histoplasmosis. *Clin Chest Med*. 2009;30:217–25.
35. Mangiaterra M, Alonso J, Galvan M, Giusiano G, Gorodner J. Histoplasmin and paracoccidioidin skin reactivity in infantile population of northern Argentina. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1996;38(5):349–53.
36. Rubinstein P, Negroni R. Histoplasmosis. En: Rubinstein P, Negroni R, editores. *Micosis Broncopulmonares del Adulto y del Niño*. 2° edición. Buenos Aires: Editorial Beta; 1981. Pp. 248–90.
37. Ibarra-Camou B, Toranzo A, Lee W, Davel G, Canteros C. Rapid identification of *Histoplasma capsulatum* in culture lysates. *Rev Iberoam Micol*. 2011;28(1):26–31.
38. Arenas R. Micosis sistemicas. Histoplasmosis. En: Mexico, editor. *Micologia Medica Ilustrada*. 3ª ed. 2008. Pp. 190–9.
39. Leimann B, Quinet Pizzini C, Vera Muniz M, Medeiros Albuquerque P, Carvalho Monteiro P, Fialho Reis R, et al. Histoplasmosis in a Brazilian center: clinical forms and laboratory tests. *Rev Iberoam Micol*. 2005;22:141–6.
40. Arechavala A, Robles A, Negroni R, Bianchi M, Taborda A. Valor de los métodos directos e indirectos de diagnóstico en las micosis sistémicas asociadas al SIDA. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1993;35:163–9.
41. Restrepo A. Histoplasmosis. En: Restrepo A, Robledo J, Leiderman E, Restrepo M, Botero D, Vedoya V, editores. *Enfermedades Infecciosas*. 6° ed. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia.; 2003. Pp. 316–26.
42. Jefferson-Guimarães A, Nosanchuk J, Zancopé-Oliveira R. Diagnosis of histoplasmosis. *Brazilian J Microbiol*. 2006;37(1):1–13.
43. Bianchi M, Robles A, Vitale R, Helou S, Arechavala A, Negroni R. The usefulness of blood culture in diagnosing HIV-related systemic mycoses: evaluation of a manual lysis centrifugation method. *Med Mycol*. 2000;38:77–80.

44. Baddley J, Sankara I, Rodríguez J, Pappas P, Many WJ. Histoplasmosis in HIV-infected patients in a Southern regional medical center: poor prognosis in the era of highly active antiretroviral therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008;62:151–6.
45. Negroni R, Robles A, Arechavala A, Iovannitti C, Helou S, Kaufman L. Chronic meningoencephalitis due to *Histoplasma capsulatum*. Usefulness of serodiagnostic procedures in diagnosis. *Serodiagn Immunother Infect Dis*. 1995;7:84–8.
46. LaRocco M, Burgert S. Fungal infections in the transplant recipient and laboratory methods for diagnosis. *Rev Iberoam Micol*. 1997 Dec;14:143–6.
47. Bracca A, Tosello M, Girardini J, Amigot S, Gomez C, Serra E. Molecular detection of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* in human clinical Samples. *J Clin Microbiol*. 2003;41:1753–5.
48. Toranzo A, Canteros C. Detección de *Histoplasma capsulatum* en muestras clínicas mediante PCR anidada. En: Merino L, Giusiano G, editors. *Manual de Métodos Moleculares para Estudios Microbiológicos*. Asociación Argentina de Microbiología; CABA. 2011. Pp. 140–2.
49. Wheat L. Histoplasmosis: recognition and treatment. *Clin Infect Dis*. 1994;19(1):19–27.
50. Wheat L. Histoplasmosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Curr Top Med Mycol*. 1996;7(1):7–18.
51. Peching G, Galarza C. Histoplasmosis diseminada aguda: enfoque de manifestaciones cutáneas. *Folia Dermatol Peru*. 2004;15(3):172–5.
52. Torres-Rodríguez J, Ribas-Forcadell E, Gascón J, López-Jodra O, Espasa M. Utilidad diagnóstica de la prueba intradérmica con histoplasmina, en áreas no endémicas de histoplasmosis. *Rev Iberoam Micol*. 2000;17:97–101.
53. Pizzini C, Zancopé-Oliveira R, Reiss E, Hajjeh R, Kaufman L, Peralta J. Evaluation of a Western blot test in an outbreak of acute pulmonary histoplasmosis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999;6:20–3.
54. Wheat L, Witt J, Dirkin M, Connolly P. Reduction in false antigenemia in the second generation *Histoplasma* antigen assay. *Micol Médica*. 2007;45:169–71.
55. Kauffman C. Diagnosis of histoplasmosis in immunosuppressed patients. *Curr Opin Infect Dis*. 2008;21:421–5.
56. Lindsley M, Holland H, Bragg S, Hurst S, Wannemuehler K, Morrison C. Production and evaluation of reagents for detection of *Histoplasma capsulatum* antigenuria by enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol*. 2007;14(6):700–9.
57. Gómez B, Figueroa J, Hamilton A, Diez S, Rojas M, Tobón A, et al. Detection of the 70-Kilodalton *Histoplasma capsulatum* antigen in serum of histoplasmosis patients: Correlation between antigenemia and therapy during follow-up. *J Clin Microbiol*. 1999;37(3):675–80.

58. Egan L, Connolly P, Wheat L, Fuller D, Dais T, Knox K, et al. Histoplasmosis as a cause for a positive Fungitell™ (1→3)-β-D-glucan test. *Med Mycol.* 2008;46(1):93–5.
59. Zuiani M, Rivas M, Lee W, Guelfand L, Davel G, Canteros C. Aislamientos de *Histoplasma capsulatum* con morfología aberrante obtenidos en la República Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2006;38:79–83.
60. Morris P, Terreni A, Disalvo A. Red-pigmented *Histoplasma capsulatum* - an unusual variant. *J Med Vet Mycol.* 1986;24:231–3.
61. Lacaz C, del Negro G, Vidal M, Heins-Vaccari E, Santos R, Martins M, et al. Atypical disseminated cutaneous histoplasmosis in an immunocompetent child, caused by an “aberrant” variant of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1999;41:195–202.
62. Sandin R, Isada C, Hall G, Tomford J, Rutherford I, Rogers A, et al. Aberrant *Histoplasma capsulatum*. Confirmation of identity by a chemiluminescence-labeled DNA probe. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1993;17:235–8.
63. Beguin H, Larcher G, Nolard N, Chabasse D. *Chrysosporium chiropterorum* sp. nov., isolated in France, resembling *Chrysosporium* state of *Ajellomyces capsulatus* (*Histoplasma capsulatum*). *Med Mycol.* 2005;43:161–9.
64. Guedes H, Guimaraes A, Muniz M, Pizzini C, Hamilton A, Peralta J, et al. PCR assay for identification of *Histoplasma capsulatum* based on the nucleotide sequence of the M antigen. *J Clin Microbiol.* 2003;41:535–9.
65. Pounder J, Hansen D, Woods G. Identification of *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, and *Coccidioides* species by repetitive-sequence-based PCR. *J Clin Microbiol.* 2006;44:2977–82.
66. Hall G, Pratt-Rippin K, Washington J. Evaluation of a chemiluminescent probe assay for identification of *Histoplasma capsulatum* isolates. *J Clin Microbiol.* 1992;30:3003–4.
67. Martagon-Villamil J, Shrestha N, Sholtis M, Isada C, Hall G, Bryne T, et al. Identification of *Histoplasma capsulatum* from culture extracts by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2003;41:1295–8.
68. Negroni R. Classical histoplasmosis. En: DeVroy C, Gatti F, editors. *Human mycoses in tropical countries.* 8^o ed. Health Cooperation Papers, Associazione Italiana Amici de R. Follearau; 1990. Pp. 203–10.
69. Bullock W. *Histoplasma capsulatum*. En: Mandell, Douglas B, editor. *Principles and practice of infectious diseases.* 4ta ed. New York, Churchill Livingstone; 1995. Pp. 2340–53.
70. George R, Penn R. Histoplasmosis. En: Sraosi G D, editor. *Fungal Diseases of the Lung.* Raven Press. New York; 1993. Pp. 39–50.
71. Negroni R, Guelfand L. Manual de procedimientos para laboratorios de micología médica. *Acta Bioq Clin Latinoam.* 1999;Supl. 1:1–57.

72. Negroni R, Robles A, Arechavala A, Taborda A. Histoplasmosis diseminada en pacientes con sida, su evolución y tratamiento. *Rev Argentina Micol.* 1991;14:5–12.
73. Sarosi G, Jonshon P. Disseminated histoplasmosis in patients with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis.* 1992;14(1):60–7.
74. Mouce Pico G, Pedraza Krausz J, Miyagi H, Frugoni R. Histoplasmosis en paciente inmunocompetente. *Medicina (Buenos Aires).* 2005;65:522.
75. Tobón A, Franco L, Correa A, Bedoya F, Ortega J, Soto M, *et al.* La histoplasmosis en el adulto. *Acta Médica Colomb.* 1997;22(6):277–84.
76. Pietrobon D, Negro-Marquínez L, Kilstein J, Galíndez J, Greca A, Battagliotti C. Disseminated histoplasmosis and AIDS in an Argentine hospital: clinical manifestations, diagnosis and treatment. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004;22(3):156–9.
77. Gutierrez M, Canton A, Sosa N, Puga E, Talavera L. Disseminated histoplasmosis in patients with AIDS in Panama: a review of 104 cases. *Clin Infect Dis.* 2005;40(8):1199–202.
78. Negroni R, Iovannitti C, Arechavala A, Carnevale S, Euguchi K. Preparación y estudio de un exoantígeno de la fase levaduriforme de *Histoplasma capsulatum* para reacciones serológicas. *Rev Iberoam Micol.* 1998;15:282–5.
79. Buechner A, Seabury J, Campbell C, George L, Kaufman L. The diagnosis of pulmonary mycosis. Report of the Committee on Fungus Diseases and Subcommittee on Criteria for Clinical Diagnosis. *Am Coll Chest Physicians.* 1973;63:259–70.

Anexos

Tabla 4. Datos de sexo, edad, muestras procesadas y resultados de serología y cultivos de pacientes con VIH.

PACIENTE	SEXO	EDAD (años)	MUESTRAS	SEROLOGIA	CULTIVO
1	M	32	Piel	NR	NR
2	F	33	Espuito	NR	NEG
3	M	44	Piel	NEG	NR
4	M	50	Piel Mucosas oral	NR	NEG NEG
5	M	28	Piel	NR	NEG
6	M	S/D	Mucosa oral	NR	NEG
7	M	S/D	Mucosa oral	NR	NEG
8	M	25	Biopsia hepática Espuito	NEG	POS NEG
9	F	29	Ganglio cervical	POS (1/32)	POS
10	M	38	Piel	NR	NR
11	M	27	Piel Espuito	NEG	NEG POS
12	M	36	Piel	POS (1/16)	NEG
13	F	33	Piel Espuito	NR	NEG POS
14	F	31	BAL	POS (1/2)	POS
15	M	S/D	BAL	NEG	POS
16	M	S/D	Espuito	NEG	POS
17	M	49	BAL	NR	NEG
18	M	37	Piel	NR	NEG
19	M	33	Ganglio cervical	NEG	NEG
20	M	29	Piel	NEG	NR

M: masculino, F: femenino, S/D: sin datos, NR: no realizado, NEG: negativo, POS: positivo.

Tabla 5. Datos de sexo, edad, enfermedades de base, muestras procesadas y resultados de serología y cultivos de pacientes con serología para VIH negativa

Paciente	Sexo	Edad	Enfermedad de base	Muestras	Serología	Cultivo
1	M	72	EPOC	Suero	POS (1/4)	NEG
2	M	47	EPOC	Esputo Suero	POS (1/32)	NEG
3	M	48	Desnutrición grave calórica proteica	Biopsia de lesión laríngea Suero	POS (1/32)	NEG
4	F	55	EPOC	Esputo Suero	POS (1/4)	NEG
5	M	S/D	Enfermedad oncohematológica	Biopsia de hueso Suero	POS (1/32)	NEG
6	F	62	Enfermedad autoinmune	Biopsia de lesión en paladar Suero	POS (1/16)	NEG

M: masculino, F: femenino, S/D: sin datos, NR: no realizado, NEG: negativo, POS: positivo.