



Universidad Nacional del Nordeste

Facultad de Medicina

Maestría en Micología Médica

Histoplasmosis en pacientes con sida sin
manifestaciones tegumentarias

Maestrando

Fernando Antonio Messina

Director

Prof. Dr. Marcelo Corti

Co-Director

Dra. Alicia Arechavala

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, 2014.

Agradecimientos

Al **Dr Marcelo Corti** por su participación como director de la tesis.

Un especial agradecimiento a la **Dra Alicia Arechavala** por los aportes y corrección del manuscrito, pero fundamentalmente por la invaluable contribución como docente en mi formación y la generosidad que demuestra en el día a día.

INDICE

1. Resumen	1
2. Introducción	4
3. Justificación	20
4. Hipótesis	21
5. Objetivos	22
6. Materiales y métodos	23
7. Resultados	25
8. Discusión	36
9. Conclusiones	44
10. Bibliografía	48

Resumen

La histoplasmosis es una micosis sistémica endémica, de gran relevancia en pacientes con sida que viven en el continente americano. Por la cantidad de casos observados en pacientes con sida, desde 1987 se la clasificó como enfermedad marcador. El cuadro clínico puede ser muy variado, en pacientes que no manifiestan lesiones cutáneas suele confundirse con la tuberculosis debido a su similitud clínica y sintomática.

El objetivo de este trabajo fue determinar las características clínicas, microbiológicas y algunos parámetros bioquímicos en pacientes con histoplasmosis asociada al sida sin manifestaciones tegumentarias; para establecer pautas que permitan emplear un tratamiento empírico y precoz en los casos de difícil diagnóstico.

Materiales y métodos

Estudio retrospectivo y observacional. Se analizaron las historias clínicas de 86 pacientes con histoplasmosis diagnosticadas en la Unidad Micología del Hospital F. J. Muñiz en el período comprendido entre enero de 2010 y diciembre de 2012.

Resultados

En el período analizado, de los ochenta y seis pacientes con diagnóstico de histoplasmosis, 80 presentaban co-infección con el HIV (93%). La prevalencia de pacientes con sida e histoplasmosis sin manifestaciones tegumentarias fue de 38,75%. La mediana de edad fue de 36 años (rango 18-60 años).

De los treinta y un pacientes sin manifestaciones tegumentarias, veinticinco enfermos (80,6%), no estaban tomando los antirretrovirales, y veintitrés (74,19%) tenían menos de 100 linfocitos T CD4+/ μ l.

La fiebre fue el síntoma más frecuente, se observó en treinta pacientes (96,7%), veintisiete (87%) acusaron pérdida mayor al 10% de su peso habitual, doce enfermos tuvieron tos y once disnea. El compromiso pulmonar fue observado en 22 enfermos (70,9%), el patrón radiológico más frecuentemente hallado fue el miliar o

miconodulillar bilateral [(12/22), 54,5%]; el patrón reticulo-nodulillar fue observado en seis pacientes y el compromiso intersticial se presentó sólo en cuatro. Nueve enfermos (29%) tenían una radiografía de tórax sin hallazgos patológicos.

En la ecografía abdominal el signo más característico fue la esplenomegalia observada en 19 casos, en diez ocasiones la víscera se visualizó con características homogéneas y en nueve levemente heterogénea con el transductor de alta frecuencia y sin demostrar lesiones focales.

Los hemocultivos por lisis-centrifugación demostraron una sensibilidad del 93,33% (28/30) y la serología fue positiva en el 23,5% de los casos.

Fallecieron ocho pacientes (25,8%) con histoplasmosis y sida, sin manifestaciones cutáneas. Sólo 7 enfermos presentaron LDH mayor a 1000 UI/l y la anemia en cambio se observó en el 90,32% de los casos.

El diagnóstico en el grupo de enfermos sin manifestaciones cutáneas se obtuvo luego de los 14 días del ingreso (70%), en tanto que en el otro grupo el diagnóstico se hizo antes de los 7 días en todos los casos.

Los pacientes con recuento de linfocitos T CD4+ menor a 50 células/ μ l, albúmina menor a 2,5g/dl y pancitopenia presentaron un pronóstico desfavorable.

En el período analizado, en nuestro hospital los casos de tuberculosis miliar asociada al sida se presentaron en cantidad similar a los de histoplasmosis en enfermos con sida y sin manifestaciones tegumentarias.

Conclusiones

No existe un valor o determinación de laboratorio de bioquímica clínica que sea vinculable a histoplasmosis. Los valores muy elevados de LDH se observaron en enfermos que padecían concomitantemente neumocistosis.

Todos los pacientes que consulten por síndrome febril asociado a esplenomegalia y lesiones miconodulillares bilaterales o retículo-nodulillares en la radiografía de tórax, deberían ser sometidos a un *test* rápido para HIV-1 y HIV-2. En segunda instancia si es retrovirus positivo se deben tomar hemocultivos para hongos por lisis centrifugación

así como hemocultivos para micobacterias. Luego de obtenidas estas muestras deben considerarse a los estudios por imágenes de abdomen como prioritarios para evaluar si el enfermo presenta esplenomegalia homogénea y/o adenopatías retroperitoneales. Por el tiempo que demora el diagnóstico definitivo, si el paciente presenta los signos anteriormente mencionados y se manifiestan factores o signos de mal pronóstico como hipoalbuminemia, pancitopenia, o un recuento de linfocitos T CD4+ menor a 50 células/ μ l debe considerarse realizar tratamiento empírico con anfotericina B.

Introducción

La histoplasmosis clásica es una micosis sistémica endémica, producida por el hongo dimorfo *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*. Afecta al ser humano y a diversos animales. Es la micosis que con más frecuencia compromete el aparato respiratorio en todo el mundo. Se estima que existen 40.000.000 de infectados y se calculan 200.000 casos nuevos al año¹. Las áreas endémicas más importantes se sitúan en el continente americano.

La mayoría de las primoinfecciones son asintomáticas o presentan manifestaciones respiratorias leves que curan espontáneamente.

Las formas progresivas diseminadas se observan con mayor frecuencia en niños menores de dos años y en adultos del sexo masculino, de más de 54 años de edad. La histoplasmosis diseminada crónica puede presentarse en estos pacientes aun en ausencia de antecedentes claros de inmunodeficiencias.

Las personas con diversos grados de compromiso de la inmunidad mediada por células, son propensas a presentar las formas graves de histoplasmosis diseminada, cuyo curso es tanto más agudo y grave cuanto mayor sea el deterioro de la inmunidad. Se ha informado que los enfermos con antígenos de histocompatibilidad HLA-B7 y HLA-B22 presentan mayor riesgo, pero este hallazgo no está claramente comprobado. La causa más común de histoplasmosis diseminada progresiva es la enfermedad avanzada debida al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH); le siguen en frecuencia las leucemias linfáticas tratadas con fármacos antitumorales, los linfomas, los pacientes que reciben corticosteroides en altas dosis durante lapsos prolongados, los receptores de trasplantes de órganos sólidos con

rechazo crónico, los que presentan enfermedades autoinmunes, el síndrome de Sweet y los enfermos tratados con anticuerpos monoclonales contra el factor alfa de necrosis tumoral². Desde 1987 se observó que más del 90% de los casos de histoplasmosis diseminada correspondían a enfermos con infección por HIV, lo que llevó a incluir a esta enfermedad como marcadora del sida³.

Historia

La histoplasmosis fue descrita por primera vez como una enfermedad sistémica en 1906, en el hospital D'Ancon de Panamá, por Samuel Taylor Darling en los hallazgos de la autopsia efectuada a un sujeto afroamericano al encontrar microorganismos intracelulares en los histiocitos del mismo. Pensó que tal vez se trataba de un protozoo porque poseía un gran parecido con *Leishmania* sp. Muchos años después, en 1934, De Mombreun cultivó por primera vez el hongo a partir de las lesiones de un paciente⁴.

Fue Emmons el primero en aislar *Histoplasma capsulatum* a partir del suelo⁵, y sus descubrimientos han sido reiteradamente confirmados por Larsh, Furcolow y Ajello, Emmons, inoculó ratones blancos con suspensiones del suelo obtenidas en edificios, gallineros y en silos en granjas de Virginia, Tennessee e Indiana. Más tarde se aisló *H. capsulatum* en cultivos de bazo, hígado y otros órganos del ratón. Esta afección sufrió varios cambios en su denominación: retículoendoteliosis, enfermedad de Darling, fiebre de las cavernas, enfermedad de los espeleólogos o fiebre de los mineros, hasta llegar a su denominación actual de histoplasmosis.

Ecología y reproducción

La histoplasmosis es una micosis sistémica endémica, producida por el hongo geófilo, dimorfo, denominado *Histoplasma capsulatum* que afecta a los seres humanos y a varias especies de animales, entre ellas afecta más frecuentemente a los perros⁶ y a los murciélagos⁷.

Este microorganismo prefiere los suelos ácidos, con un alto contenido de nitrógeno, y húmedo. En las zonas donde las aves descansan en sus posaderos, el hongo se encuentra con más frecuencia donde el guano está en descomposición y mezclado con la tierra⁸. Existe una fuerte asociación entre la presencia de excrementos de aves y de murciélagos y el hallazgo de *H. capsulatum*. De hecho, el primer aislamiento del microorganismo de una fuente ambiental fue en un área adyacente a un corral de pollos. Las aves no se infectan por el hongo, y no se ha logrado aislar *H. capsulatum* de la cloaca de estas especies.

La reproducción asexuada en las especies de esta familia está representada por la fragmentación de las hifas o la producción de conidios que se originan en hifas especializadas o fértiles. No obstante este género fúngico tiene la particularidad de reproducirse sexualmente (estado perfecto), y como consecuencia de la recombinación genética se generan numerosos genotipos nuevos, algunos de los cuales tienen la capacidad de ser más virulentos⁹.

La reproducción sexuada está regulada por un gen que se encuentra en una región especial llamada *MAT1* (mating type). Este *locus* contiene dos regiones idiomórficas *MAT1-1* (factor de transcripción del dominio alfa) y *MAT1-2* (factor de transcripción del dominio grupo de alta movilidad, HMG) y ambos dominios confieren la identidad sexual a las células haploides. El dominio *MAT1-1*(α) determina las cepas (+) en tanto que el dominio HMG (*MAT1-2*) las cepas (-). Aunque en la

naturaleza se produce el apareamiento de cepas con distinta identidad, y hay una relación 1:1 de ambos tipos sexuales. Sin embargo en los aislamientos clínicos la relación es 7:1 (-/+), lo que sugiere que ambos tipos tendrían una capacidad diferente para transformarse de hifas en levaduras⁹.

El estado perfecto o teleomorfo que fuera denominado *Emmonsiaella capsulata* (Kwon-Chung, 1972), fue reclasificado como *Ajellomyces capsulatus* (Mc Ginnis, Katz, 1979), perteneciente a la familia *Arthrodermataceae*, orden Onygenales, de la subdivisión *Ascomycotina*¹.

Taxonomía

Es un hongo genéticamente heterogéneo; se han determinado 13 cariotipos y, según algunos autores, las disparidades genéticas observadas entre las cepas de los EE. UU. y las de América Latina, podrían ser responsables de las diferencias detectadas en las manifestaciones clínicas de esta micosis en ambas regiones endémicas¹⁰.

Hasta hace unos años se describían 3 variedades del hongo, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* e *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*, que se diferenciaban por las manifestaciones clínicas que presentaban los pacientes y por su distribución geográfica. En los últimos años por las diferencias en las secuencias de su ADN se han identificado ocho clados : 1) Norteamericana clase 1 clado 1; 2) Norteamericana clase 2 clado 2; 3) Latinoamericana grupo A clado 3; 4) Latinoamericana grupo B clado 4; 5) Australiana clado 5; 6) Holandesa (Indonesia?) clado 6; 7) Euroasiática clado 7 y 8) Africana clado 8¹¹.

Epidemiología

La histoplasmosis es una afección de distribución geográfica muy amplia, ha sido descrita en los cinco continentes, con áreas de alta y baja endemicidad¹². Se han registrado casos autóctonos en más de 60 países; sin embargo, su incidencia es más alta en América, en especial a lo largo de las grandes cuencas fluviales o en la proximidad de los lagos, con alta humedad de los suelos, temperaturas medias anuales de 15 a 20 °C y pluviometrías de 800 a 1200 mm por año. La mayor cantidad de casos de histoplasmosis se ha diagnosticado en los valles de los ríos Ohio, Mississippi y Missouri en América del Norte, en las cuencas del río Orinoco y del río de la Plata, así como en la Serra do Mar en América del Sur^{13,14}. En África la mayor cantidad de casos se observaron en Nigeria, Niger, Senegal, Congo, Zaire, Uganda y en la isla de Madagascar (*H. capsulatum* var. *duboisii*)¹⁵, los casos vinculados con *H. capsulatum* var. *capsulatum* son esporádicos en el Este de África y raramente se presentan en las zonas antes mencionadas. La incidencia de casos en el resto de los continentes es muy baja, en Australia sólo 39 casos parecen ser autóctonos¹⁶. En Europa y Asia la mayoría de los casos descritos tienen antecedentes de haber vivido en América^{1,2,17,18}. Aunque recientemente en China se describieron varios casos autóctonos en las cercanías del río Yangtze¹⁹.

Patogenia

La infección se produce habitualmente por vía inhalatoria, los elementos infectantes son las microaleuriosporas, que pueden llegar al alvéolo pulmonar. Allí son fagocitadas por los macrófagos, se transforman en elementos levaduriformes que comienzan a reproducirse por brotación. Inicialmente la infección progresa por contigüidad y

genera una inflamación aguda inespecífica 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 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 iniciales de la infección tanto los macrófagos cuanto 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 proinflamatorias, con un ligero predominio de las de tipo Th₁ (IL₁₂, IFN- γ y TNF- α) que activan a los macrófagos, los que lisan las levaduras de *H. capsulatum* y se producen granulomas epitelioides compactos, que focalizan y controlan la infección²⁰.

La transición de la fase de micelio a la de levadura es el determinante fundamental para establecer la infección²¹.

Excepcionalmente la infección puede producirse por vía cutánea; cuando esto ocurre, origina un síndrome chancriforme similar al de la esporotricosis que involuciona espontáneamente en un mes.

Aspectos inmunológicos

H. capsulatum es, de los agentes fúngicos, el que con más frecuencia compromete el parénquima pulmonar a nivel mundial²².

La interacción con el huésped es un complejo y dinámico proceso que requiere un equilibrio permanente. La primera línea de defensa la llevan adelante los neutrófilos y los macrófagos, aunque una vez dentro del fagosoma en algunos casos, este hongo cuenta con mecanismos que permiten alterar el proceso de degradación de la levadura y evitar su destrucción y facilitar el posterior escape al medio extracelular²³. La

resolución del cuadro clínico depende de la inmunidad celular (linfocitos T CD4+ y CD8+) y la liberación de citoquinas IL-12, TNF- e IFN- ²⁴.

Manifestaciones clínicas

Para el desarrollo de la enfermedad, se consideran tres factores: el tamaño del inóculo, la virulencia del hongo y el estado inmune del hospedero²⁵.

El período de incubación es de 5 a 18 días. La forma subclínica que ocurre en el 95% de los infectados no genera síntomas específicos. Las formas sintomáticas se desarrollan dependiendo de los tres factores previamente mencionados y determina diferentes cuadros o formas clínicas a saber^{2,13}:

1. Histoplasmosis en huésped inmunocompetente

1.1 Primoinfección sintomática

- a) Forma respiratoria leve
- b) Forma neumónica en el contexto de brotes.

1.2 Manifestaciones de hipersensibilidad

- a) Pleuresía serofibrinosa.
- b) Pericarditis serosa
- c) Eritema nudoso.
- d) Artritis serosa.
- e) Conjuntivitis flictenular.

1.3 Lesiones residuales de la primoinfección y formas mediadas por la respuesta inmune

- a) Focos de calcificación pulmonar y extrapulmonares.
- b) Histoplasmosomas.
- c) Mediastinitis fibrocásea (con síndrome de vena cava superior).

1.4 Forma pulmonar crónica progresiva

- a) Infiltrados difusos e intersticiales biapicales.
- b) Lesiones cavitarias en los vértices pulmonares.

2. Histoplasmosis en el huésped inmunocomprometido

2.1 Histoplasmosis diseminada crónica.

2.2 Histoplasmosis diseminada subaguda.

2.3 Histoplasmosis diseminada aguda.

1. Histoplasmosis en huésped inmunocompetente

1.1 Primoinfección sintomática

Este cuadro se caracteriza por presentar fiebre y compromiso respiratorio de grado variable vinculado con la carga fúngica infectante; cuanto mayor sea la cantidad de esporas inhaladas, mayor será la sintomatología y la extensión de los infiltrados pulmonares desde cuadros respiratorios de corta duración y autolimitados hasta insuficiencia respiratoria con requerimiento de asistencia respiratoria mecánica.

1.2 Manifestaciones de hipersensibilidad

Se producen por una respuesta exagerada del sistema inmunológico ante el primer contacto con antígenos de *H. capsulatum*; en algunas ocasiones puede producirse al evidenciar una mejoría clínica posterior al tratamiento específico, esto se denomina respuesta paradójica o síndrome paradójico.

1.3 Lesiones residuales de la primoinfección y formas mediadas por la respuesta inmune

Se observan por liberación reiterada de antígenos de *H. capsulatum* desde focos de infección quiescente. Comprende las lesiones numulares de crecimiento lento ubicadas en los pulmones (histoplasmosas), la fibrosis mediastínica y el síndrome ocular, presuntamente vinculado con la histoplasmosis. Los histoplasmosas son asintomáticos y pueden confundirse con los tumores benignos y malignos del pulmón. La fibrosis mediastínica puede determinar la compresión extrínseca de la vena cava superior y del esófago²⁶.

El síndrome ocular es una coriorretinitis crónica que ocasiona desprendimiento de retina, hemorragias y cicatrices blanco amarillentas.

1.4 Forma pulmonar crónica progresiva

Se la observa en sujetos del sexo masculino, de más de 40 años y con antecedente de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, simula la tuberculosis fibrocavitaria crónica, en general con lesiones cavitadas en los vértices. Si no se diagnostica y trata adecuadamente evoluciona hacia la caquexia y la insuficiencia respiratoria.

2. Histoplasmosis en el huésped inmunocomprometido

2.1 Histoplasmosis diseminada crónica

Era la forma más frecuente antes del advenimiento del sida, tiene mayor incidencia en el sexo masculino entre los 40 y los 60 años con antecedente de tabaquismo o alcoholismo, así como también en personas con tratamientos prolongados con dosis bajas de

corticosteroides. Las manifestaciones clínicas suelen ser focales y se localizan fundamentalmente en la mucosa orofaringolaríngea, donde ocasiona úlceras, áreas de infiltración inflamatoria y granulomas de diversa intensidad. Con menor frecuencia se presentan lesiones en la piel. La sintomatología se caracteriza por una marcada astenia, pérdida de peso, sudoración nocturna y en algunos casos fiebre. La radiografía de tórax en general evidencia un patrón intersticial fino parahiliar. Suele comprobarse una leve hepatosplenomegalia con compromiso suprarrenal en un 20% de los casos, que puede originar un síndrome de Addison.

2.2 Histoplasmosis diseminada subaguda

Las manifestaciones clínicas de esta asociación mórbida son: fiebre, pérdida de peso, astenia, anorexia, diarrea, vómitos, hepatosplenomegalia, adenomegalias múltiples con frecuencia retroperitoneales y detectables por ecografía, tos, catarro mucopurulento, disnea y dolor torácico. En América Latina, entre 70 y 80% de estos enfermos presenta lesiones mucocutáneas; las más frecuentes son las pápulas cutáneas ulceradas o de aspecto “moluscoide” y las ulceraciones de la mucosa oral. Este carácter clínico es distintivo de la histoplasmosis asociada al sida en nuestra región, dado que la frecuencia de lesiones cutáneas en los EE. UU. es de sólo 6%. La aparición de meningitis es poco frecuente, y sus características clínicas y del líquido cefalorraquídeo son semejantes a las de la meningitis tuberculosa.

2.3 Histoplasmosis diseminada aguda

Predominan las manifestaciones clínicas generales sobre las focales; se presenta 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 equimosis²⁷.

Diagnóstico

Los hemocultivos son un método de diagnóstico muy importante en la histoplasmosis subaguda, especialmente en los casos asociados con el sida.^{28,29,30}

El diagnóstico de la histoplasmosis asociada al sida se ve facilitado por la presencia de lesiones cutáneas y mucosas, que permiten utilizar el citodiagnóstico de Tzanck para detectar la presencia de elementos típicos de la fase levaduriforme de *H. capsulatum*, con la tinción de Giemsa. Los hemocultivos son positivos en el 60-80% de los casos cuando se recurre a técnicas de lisis y centrifugación. Otros procedimientos de diagnóstico, que no son utilizados en forma rutinaria por ser agresivos, pero que tienen una alta eficacia, son: el lavado broncoalveolar y la punción y aspiración de la médula ósea.

Se utilizan muestras de piel, esputo, médula ósea, tejido pulmonar, hepático o de ganglios linfáticos, líquido de lavado broncoalveolar, líquido cefalorraquídeo, sangre y orina. Es importante destacar que la recolección del material que será procesado debe realizarse en un recipiente con solución fisiológica estéril. También es conveniente que las biopsias se dividan en dos partes una para estudio micológico y la

otra que se coloca en un envase con formol al 10% para el estudio histopatológico.

Examen directo. Debido a que *H. capsulatum* es un microorganismo intracelular, su visualización en exámenes directos en fresco es difícil; sin embargo, el uso de blanco de calcoflúor y la identificación del hongo dentro de las células mediante el microscopio de fluorescencia, resulta muy útil para el diagnóstico.

Frotis. Como *H. capsulatum* es una levadura intracelular de pequeño tamaño, se recomienda que los extendidos e improntas, sean teñidas por la técnica de Giemsa para la búsqueda de macrófagos o monocitos con levaduras ovoides de unos 3-5 μm de tamaño, con gemación polar y una típica tinción en casquete. Alrededor de la levadura se observa un halo claro que corresponde a la retracción del citoplasma, alteración de donde deriva el nombre de *capsulatum*. El citoplasma de la levadura se observa de color azul celeste y el núcleo rojo difuso. Las tinciones argénticas y el PAS, son muy recomendadas.

Cultivos. El aislamiento del hongo en los medios de cultivo certifica el diagnóstico. *H. capsulatum* se desarrolla en forma filamentosa a 28 °C, con morfología microscópica característica por la presencia de microconidios piriformes que nacen en hifas no diferenciadas y macroconidios terminales y tuberculados, pero a 37 °C, lo hace en forma de levadura.

Para el diagnóstico etiológico se realizan cultivos en distintos medios (agar Sabouraud, Mycobiotic®, agar infusión cerebro-corazón, etc.), tanto a 28 °C como a 37 °C, para confirmar el dimorfismo, a esta última temperatura desarrolla la forma de levadura. Los cultivos se controlan

al menos 2 veces por semana pero deben incubarse 3-4 semanas antes de descartarlos.

El manejo de los cultivos de la forma micelial de *H. capsulatum*, conlleva un riesgo importante de infección masiva y debe ser realizado en cámaras con flujo laminar (BSL 3), bajo estrictas condiciones de bioseguridad³¹.

Histopatología. La imagen histológica inicial muestra una reacción inflamatoria con numerosos polimorfonucleares, macrófagos y células dendríticas que contienen gran cantidad de levaduras de *H. capsulatum*; posteriormente, se pueden observar granulomas compuestos por células gigantes multinucleadas, con zonas de necrosis caseosa. 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.

Se recomienda realizar tinciones específicas como Giemsa, PAS o Grocott, aunque la tinción tradicional de hematoxilina-eosina también puede poner en evidencia las estructuras fúngicas³².

Las levaduras de *H. capsulatum* en gemación son típicas, pero en regiones de Asia, deben ser diferenciadas del hongo dimorfo intracelular *Penicillium marneffe*, cuyas células levaduriformes se dividen por fisión y no por gemación.

Serología

Las pruebas serológicas con antígenos de *H. capsulatum* constituyen un recurso diagnóstico útil, en especial para las formas crónicas progresivas tanto pulmonares como diseminadas.

La prueba serológica más empleada es la inmunodifusión en gel de agar, que es la más específica. La contrainmunolectroforesis es casi tan específica como la inmunodifusión, e incluso algo más sensible. La reacción de fijación de complemento es más difícil de realizar, pero es la que mejor cuantifica el tenor de anticuerpos. En algunos países, se comercializan equipos para detectar anticuerpos por ELISA. En los enfermos con sida estas pruebas brindan resultados positivos en menos del 50% de los casos.

Intradermorreacción

Las pruebas cutáneas con histoplasmina 1/100 son utilizadas para delimitar áreas endémicas y determinar la tasa de infección. En casos excepcionales es utilizada como una prueba diagnóstica. No suele ser útil en enfermos con deterioro de la inmunidad celular.

Detección de antígenos

La detección de antígenos en suero y especialmente en orina mediante pruebas de ELISA es ya de uso rutinario en EE.UU³³; existen al menos 3 equipos comerciales de primera y segunda generación, aunque todavía no se ha logrado la especificidad deseada y hay reacciones cruzadas con paracoccidiodomicosis y blastomicosis. La sensibilidad mejora cuando se tratan las muestras con EDTA y calor para romper los complejos inmunes. El uso de anticuerpos monoclonales que reconocen epítopes especie-específicos en un ELISA de inhibición ha demostrado una sensibilidad de 71% y especificidad de 98% y permite detectar antígeno en LCR y lavado broncoalveolar^{33,34}.

Diagnóstico molecular

Las técnicas de PCR convencional han demostrado una sensibilidad y especificidad variable, así como un alto costo y son difíciles de reproducir por la mayoría de los laboratorios³⁵. Por ello, se han

elaborado técnicas de PCR cuantitativa, como la PCR-RT (en tiempo real), que permiten automatizar la extracción, utilizar protocolos normatizados y quizás, su implementación en laboratorios asistenciales³⁶. Aún así, la sensibilidad en suero suele ser cercana al 70%³⁶.

Tratamiento

La introducción de los azoles permitió que muchos enfermos pudieran ser tratados en forma ambulatoria. Pero en la actualidad, el inmunocompromiso grave que presentan muchos pacientes determina no sólo su internación sino también que la anfotericina B sea muy utilizada. Las equinocandinas no parecen tener la suficiente actividad contra *H. capsulatum*.

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.

En el caso de la histoplasmosis asociada con el 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 de duración, 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 T CD₄ + superiores a 150 cél/µl, separados por 3 meses de intervalo. Si el paciente no puede recibir este tratamiento, se le indica anfotericina B desoxicolato a la dosis de 50 mg 2 veces por semana^{14,20}.

Las razones para indicar anfotericina B en lugar de itraconazol son: evolución aguda, gravedad extrema, compromiso del sistema nervioso central, presencia de vómitos y/o diarrea y tuberculosis activa, que requiera rifampicina para su tratamiento.

Aunque el posaconazol parece ser una droga muy activa, tanto en la histoplasmosis experimental como en la humana, la experiencia clínica con este fármaco es aún escasa.

Profilaxis

No existe la posibilidad de evitar completamente la infección por *H. capsulatum* y no se cuenta hasta ahora con una vacuna eficaz para uso en humanos.

Se recomienda no exponerse innecesariamente a fuentes masivas de infección, como la exploración de grutas habitadas por murciélagos, limpieza de gallineros o silos, penetración en ambientes poco ventilados con abundantes heces de aves, etc. Cuando la exposición no puede evitarse, debe rociarse la zona 24 horas antes con una solución de formol al 3% y usar máscaras protectoras de aerosoles. Las personas con déficit de la inmunidad mediada por células no deben realizar estas tareas, ni trabajar en un laboratorio de Micología^{14,20,37}.

La frecuencia de la histoplasmosis asociada al sida no justifica, en general, la indicación de profilaxis primaria, salvo en zonas del centro-oeste de los EE.UU. donde el 27% de las personas VIH-positivas con menos de 100 células T CD₄ +/μl presenta esta micosis.

Justificación

La histoplasmosis posee en América Latina ciertos rasgos particulares: entre ellos, elevada frecuencia de manifestaciones cutáneo-mucosas, acompañadas o no de otras localizaciones de la enfermedad. Las manifestaciones cutáneas posibilitan realizar un diagnóstico rápido a través de exámenes directos. En los casos que estas manifestaciones no se presentan, el diagnóstico se obtiene por cultivo de secreciones respiratorias, mielocultivos o hemocultivos, en estos casos el hongo puede tardar en desarrollar hasta 3 a 4 semanas con lo cual el diagnóstico puede ser tardío. Además en estos casos la similitud del cuadro clínico con la tuberculosis y la frecuencia de esta patología en nuestro medio, hace que la mayoría de los médicos piense en esta enfermedad e involuntariamente subvalore a la histoplasmosis dentro de los posibles diagnósticos diferenciales.

Hipótesis

- Los enfermos HIV positivos con histoplasmosis aguda y subaguda sin manifestaciones cutáneas presentan con frecuencia bicitopenia y, en algunos casos, pancitopenia asociada con fiebre, infiltrados pulmonares micronodulillares bilaterales y aumento de los niveles de LDH en suero.

- Los pacientes con diagnóstico de histoplasmosis asociada al sida que no realizan tratamiento antirretroviral y tienen menos de 50 linfocitos T CD4 + / μ l en sangre periférica tienen mal pronóstico. Asimismo la plaquetopenia es otro hallazgo vinculado con la mala evolución de estos enfermos.

- En base a los postulados previos, existen características clínicas y de laboratorio que permiten sospechar una histoplasmosis aguda o subaguda para poder indicar un tratamiento empírico y precoz en los pacientes que no presentan lesiones cutáneomucosas.

Objetivos

Los objetivos generales de este trabajo son los siguientes:

- 1) Determinar las características clínicas y algunos parámetros bioquímicos en pacientes con histoplasmosis aguda o subaguda sin manifestaciones tegumentarias;
- 2) Establecer pautas que permitan emplear un tratamiento empírico y precoz que posibilite disminuir la mortalidad en los casos de difícil diagnóstico;
- 3) Investigar la incidencia de la histoplasmosis aguda en pacientes con sida e insuficiencia respiratoria con requerimiento de asistencia respiratoria mecánica en nuestro hospital.

Materiales y métodos

Estudio retrospectivo y observacional. Se analizaron las historias clínicas de 86 pacientes con histoplasmosis diagnosticados en la Unidad Micología del Hospital F. J. Muñiz en el período comprendido entre enero de 2010 y diciembre de 2012.

Se identificaron a los pacientes con histoplasmosis confirmada por cultivo o por visualización de la fase levaduriforme en muestras clínicas observadas en tinciones especiales con microscopía óptica.

Se observaron las variables demográficas, clínicas, de laboratorio, comorbilidades, tratamientos recibidos y mortalidad.

Se analizaron las historias clínicas de los pacientes con *distress* respiratorio de la unidad de terapia intensiva respiratoria de nuestro hospital en ese período.

Se utilizó el programa Infostat 2011 para el análisis de los datos obtenidos. La bibliografía fue analizada a través de la base de datos electrónica PUBMED.

Criterios de inclusión

Enfermos con infección por el HIV e histoplasmosis cuyo diagnóstico fuera realizado por medio de exámenes directos y cultivos de muestras de líquido cefalorraquídeo, esputo, lavado broncoalveolar o por hemocultivo, mielocultivo o urocultivo.

Criterios de exclusión

1. Enfermos con diagnóstico de histoplasmosis obtenido por exámenes directos o cultivos de muestras de piel o mucosas, ya sea mediante biopsias o por escarificación.

2. Pacientes con serología negativa para el virus de la inmunodeficiencia humana.
3. Enfermos diagnosticados en otras instituciones y que consultaron en nuestro hospital para seguimiento evolutivo.

Resultados

En el período analizado, ochenta y seis pacientes presentaron diagnóstico de histoplasmosis. Setenta y uno eran del sexo masculino (82,5%) y quince del sexo femenino (17,4%). Fueron identificados 80 pacientes co-infectados por el HIV e histoplasmosis (93%). Cuarenta y nueve (61,25%) tenían manifestaciones en piel o mucosas.

Cumplieron con los criterios de inclusión 31 pacientes, por lo cual surge una prevalencia de pacientes con sida e histoplasmosis sin manifestaciones tegumentarias igual al 38,75%.

La mediana de edad fue de 36 años (rango 18-60 años).

Once (35,4%) enfermos conocieron su condición serológica frente al retrovirus al momento del diagnóstico de la histoplasmosis, diez conocían su enfermedad desde más de cinco años antes y siete entre uno y dos años previos. Tres casos se diagnosticaron en el último año.

Veinticinco pacientes (80,6%) no recibían tratamiento con fármacos antirretrovirales, tres lo hacían en forma irregular y tres habían iniciado la terapia antirretroviral en los sesenta días previos al diagnóstico de la micosis.

La mediana de linfocitos T CD4+ fue de 36 células/ μ l (rango 3-264 células/ μ l). Veintitrés enfermos (74,19%) tenían menos de 100 células T CD4+/ μ l y sólo un paciente tenía 264 células T CD4+/ μ l al momento del diagnóstico de la histoplasmosis.

Veinte pacientes admitieron consumir drogas, la marihuana era utilizada por quince pacientes, doce consumían cocaína por vía inhalatoria, dos fumaban paco y cuatro utilizaban la vía intravenosa, tres con cocaína y uno con heroína.

Dieciocho eran adictos al tabaco y seis tenían antecedentes de alcoholismo.

La fiebre fue el síntoma más frecuente y se constató en treinta casos (96,7%), veintisiete (87%) acusaron pérdida de peso mayor al 10% de su peso habitual, doce (38,7%) enfermos tuvieron tos y once (35,4%) disnea. Seis refirieron sudoración nocturna, cinco presentaron diarrea, cuatro adenopatías cervicales, tres disfagia y un paciente presentó ictericia, equimosis, artralgias y cefalea.

El compromiso pulmonar se comprobó en 22 enfermos (70,9%), el patrón radiológico más frecuente fue el miliar o micronodulillar bilateral [(12/22 enfermos), 54,5%] (foto 1); el patrón reticulo-nodulillar fue observado en seis pacientes y el compromiso intersticial se presentó sólo en cuatro. En nueve pacientes (29%) la radiografía de tórax fue normal.

Foto 1 – Radiografía de tórax frente que muestra un patrón micronodulillar bilateral.



Los datos epidemiológicos se pueden observar en las tablas 1, 2 y 3.

Tabla 1 – Lugar de nacimiento de los pacientes con histoplasmosis asociada al sida sin lesiones tegumentarias.

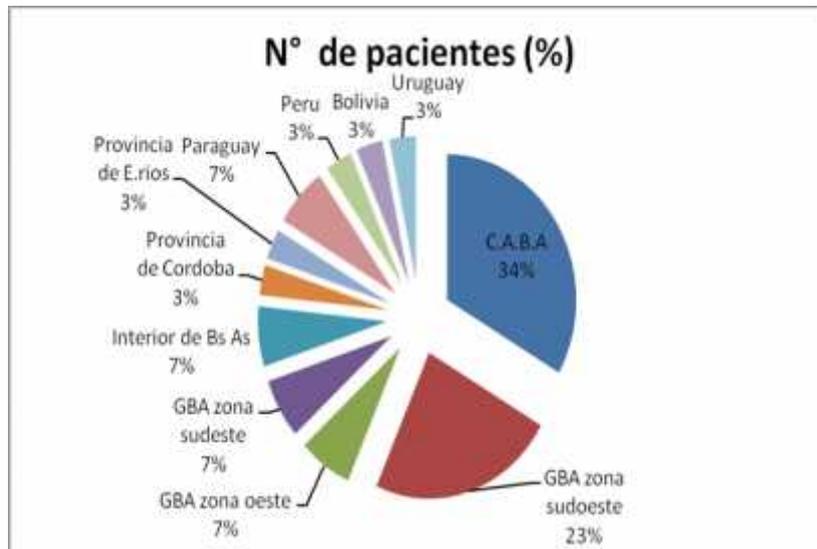
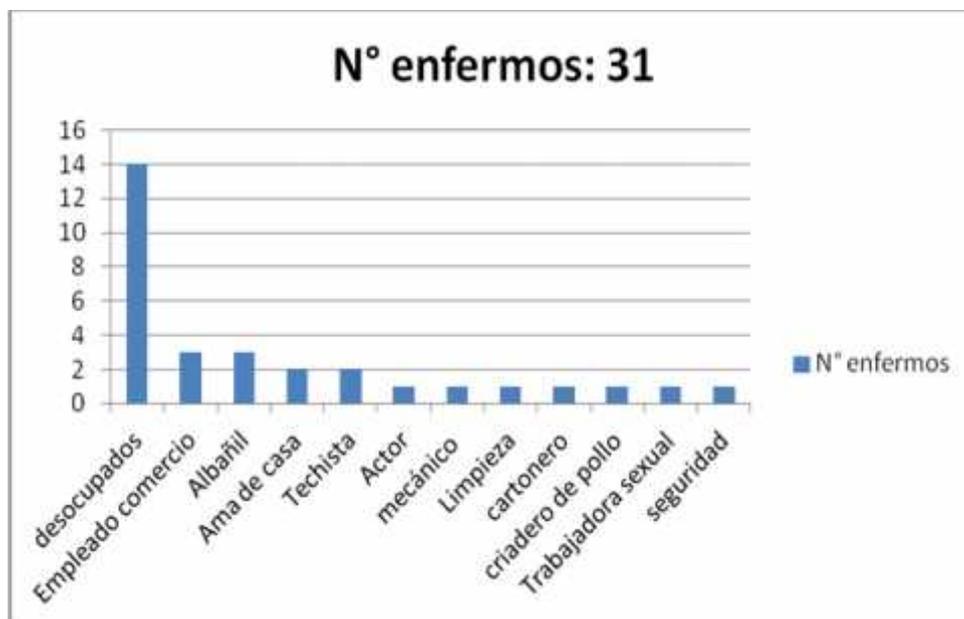


Tabla 2 – Domicilio actual de los pacientes con histoplasmosis asociada al sida sin lesiones tegumentarias.



Tabla 3 – Ocupación actual de los enfermos con histoplasmosis asociada al sida sin lesiones cutáneo-mucosas.



Los hemocultivos por lisis-centrifugación demostraron una sensibilidad del 93,33% (28/30) en enfermos sin lesiones cutáneo-mucosas, sólo en un caso no se obtuvieron muestras y el diagnóstico se obtuvo por cultivo del lavado broncoalveolar. En los dos casos restantes el hemocultivo fue negativo y el diagnóstico se obtuvo por cultivos de esputo en un caso y de médula ósea en el otro.

Se examinaron dieciocho muestras de esputo, en dos desarrolló *H. capsulatum* en los medios de cultivo habituales y en uno de estos dos se visualizaron las levaduras en el examen directo mediante la coloración de Giemsa; en el examen en fresco de esta misma muestra no se observaron elementos compatibles con hongos.

El lavado broncoalveolar se realizó en doce pacientes; se obtuvo desarrollo del hongo en diez muestras y en tres casos, además, se

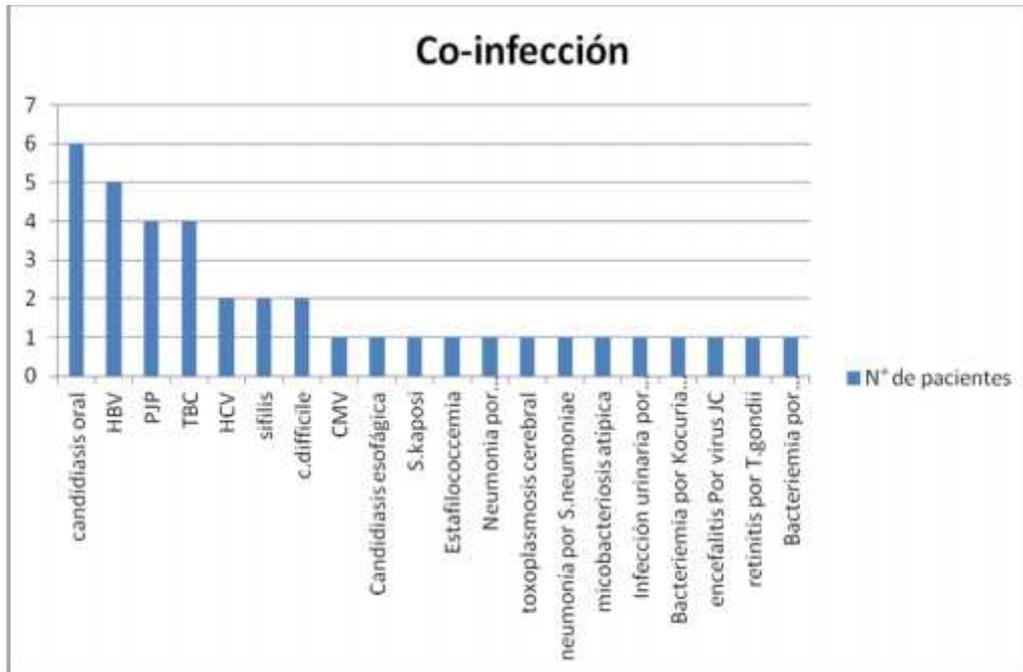
observó en el examen directo. Se efectuó punción aspiración con aguja fina de médula ósea en nueve casos, obteniéndose desarrollo en los cultivos en 8 de ellos; sin embargo, sólo se observaron levaduras en el examen directo en dos de estas muestras. A un paciente se le realizó biopsia de médula ósea resultando ambos estudios positivos (directo y cultivo).

Se obtuvo material de cuatro punciones ganglionares, un examen directo presentó levaduras compatibles con *H. capsulatum* y desarrolló en el cultivo de tres de las mismas. Un enfermo presentó cultivos positivos para *H.capsulatum* en el LCR, por el contrario el examen directo y la serología de este líquido resultó ser negativa.

Se analizaron diecisiete muestras de suero para estudios serológicos para *H.capsulatum* por técnica de inmunodifusión y conrainmunolectroforesis. La inmunodifusión fue positiva en dos casos y la conrainmunolectroforesis en cuatro (23,5%).

Las coinfecciones o comorbilidades asociadas a la histoplasmosis se describen en la tabla 4. Es importante destacar o aclarar, que varios enfermos padecieron más de una coinfección.

Tabla 4 – Coinfecciones en pacientes con histoplasmosis asociada al sida sin lesiones tegumentarias.



Se utilizó la ecografía abdominal para evaluar el compromiso gastrointestinal y del sistema retículo-endotelial, este estudio por imágenes no pudo realizarse por diferentes motivos en 4 enfermos. No se observó ninguna alteración estructural en cinco enfermos. El hallazgo más característico fue la esplenomegalia observada en 19 pacientes (70,4%), en diez ocasiones la víscera se visualizó de características homogéneas y en nueve levemente heterogénea con el transductor de alta frecuencia y sin demostrar lesiones focales. El tamaño promedio del bazo fue de 148 mm de longitud (rango 130-184 mm). Se observaron adenomegalias retroperitoneales y mesentéricas en catorce enfermos (51,8%). Se comprobó hepatomegalia en 13 casos (48%) y fue siempre levemente heterogénea. Sólo tres enfermos

presentaron ascitis, uno ileítis terminal y otro un evidente aumento del espesor de la pared del colon derecho y del mesocolon.

Los hallazgos de laboratorio más importantes se resumen en las tablas 5 y 6. Para los valores de lactodeshidrogenasa (LDH) se confeccionó una tabla separada (tabla 7).

Tabla 5 – Parámetros de laboratorio y sus alteraciones más frecuentes.

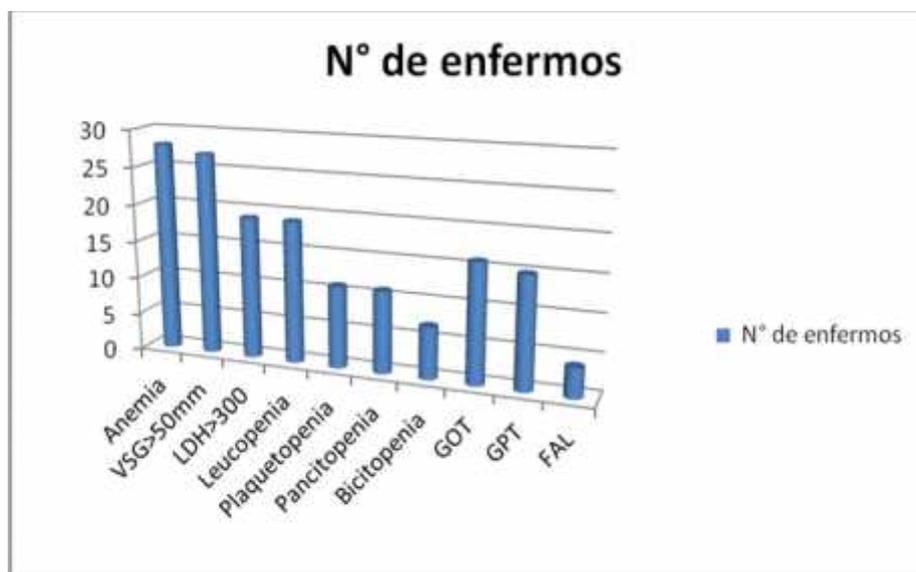


Tabla 6 – Valores de albúmina en sangre por debajo de los niveles normales.

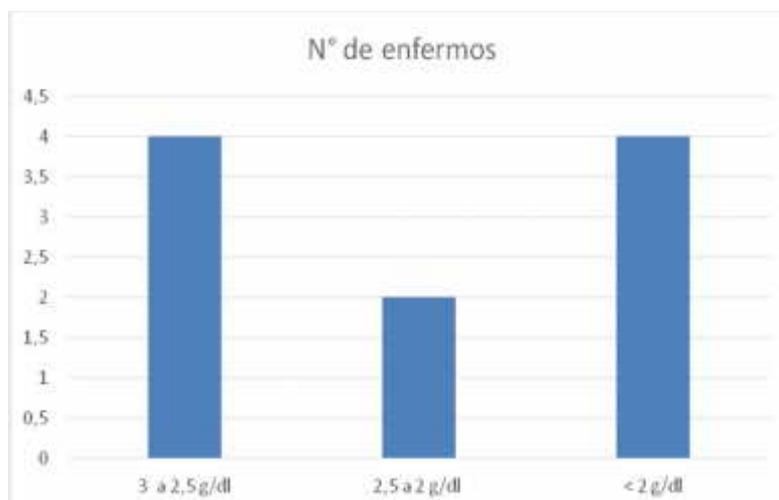


Tabla 7 - Valores obtenidos de lactodeshidrogenasa (LDH)



Veinte pacientes (64,5%) recibieron tratamiento inicial con anfotericina B desoxicolato a una dosis de 0,7 mg/kg/día; seis enfermos (19,3%) iniciaron el tratamiento con itraconazol 600 mg/día durante las primeras 48 h y luego continuaron con el mismo fármaco pero a dosis de 400 mg/día en dos veces diarias, luego de las comidas principales. Cuatro pacientes habían fallecido al momento de obtenerse el diagnóstico y un paciente no realizó tratamiento porque se encontraba de alta cuando se llegó al diagnóstico de histoplasmosis y el servicio social no pudo localizarlo.

Fallecieron ocho pacientes (25,8%) con histoplasmosis y sida, sin manifestaciones cutáneas. De los pacientes con manifestaciones cutáneas fallecieron igual cantidad, pero de un total de cuarenta y nueve casos [(8/49); 16,32%].

Veinte pacientes fueron dados de alta y se pactaron controles a las 48 h posteriores al egreso hospitalario. Tres se retiraron del nosocomio sin

alta médica. Nueve volvieron al control por consultorio externo y uno aseguró que continuaría con el seguimiento en su localidad.

Ocho pacientes iniciaron el tratamiento antirretroviral con dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogo de los nucleósidos más un inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido, (tres utilizaron lamivudina / estavudina / efavirenz, dos lo hicieron con lamivudina / zidovudina / efavirenz, uno con lamivudina / zidovudina / nevirapina, otro con lamivudina / abacavir / efavirenz y el restante lo hizo con emtricitabina / tenofovir / efavirenz. Sólo un paciente utilizó inhibidores de la proteasa (lamivudina / zidovudina / lopinavir / ritonavir). Todos lograron reducir la carga viral del virus HIV hasta llegar a <50 copias/ml en los primeros seis meses y además llegaron a suprimir la profilaxis secundaria entre 12 y 18 meses después de iniciado el tratamiento antirretroviral.

Las principales diferencias entre el grupo de pacientes sin lesiones cutáneo-mucosas y el grupo que presentó este tipo de lesiones se observan en la tabla 8 y 9.

Tabla 8. Características clínicas y parámetros de laboratorio diferenciales entre los pacientes con y sin lesiones cutáneo-mucosas.

	Pacientes sin lesiones de piel y/o mucosas N° (%)	Pacientes con lesiones de piel y/o mucosas N° (%)	P Pearson
Número de pacientes	31	49	
Sin tratamiento antirretroviral	25 (80,64)	41 (83,67)	0.9142
LT CD4: > 100 células/ml	8 (25,80)	6 (12,24)	0.1975
LT CD4: 50 - 100 células/ml	6 (19,35)	13 (26,53)	0.5614
LT CD4 < 50 células/ml	17 (54,83)	30 (61,22)	0.7722
Fiebre	30 (96,77)	45 (91,83)	0.8735
Lesiones de piel ex directo positivo	0	31 (63,26)	0
Lesiones en mucosas ex directo positivo	0	26 (53,06)	0
Diarrea	5 (16,12)	4 (8,16)	0.3301
Oclusión intestinal	0	1 (2,04)	0.4282
Anemia	28 (90,32)	38 (77,55)	0.6525
Leucopenia	19 (61,29)	16 (32,65)	0.1220
Plaquetopenia	11 (35,48)	6 (12,24)	0.0498
Aumento de LDH	19 (61,29)	21 (42,85)	0.3594
Aumento de transaminasas	15 (48,38)	11 (22,44)	0.0905
VSG > 50mm en 1° hora	27 (87,09)	28 (57,14)	0.2330
Radiografía de tórax normal	9 (29,03)	16 (32,65)	0.8048
Rx Tórax patrón micronodulillar (miliar)	12 (38,7)	11 (22,44)	0.2499
Rx Tórax patrón intersticial	4 (12,9)	16 (32,65)	0.1159
Rx Tórax patrón reticulonodulillar	6 (19,35)	6 (12,24)	0.4586
Ecografía abdominal normal	5 (18,51)	9 (23,68)	0.6872
Esplenomegalia homogénea o ligeramente heterogénea	19 (70,37)	20 (52,63)	0.4754
Adenopatías mesentéricas o precava	14 (51,85)	20 (52,63)	0.9723
Pared colónica engrosada	1 (3,7)	2 (5,26)	0.7777
Ascitis	3 (11,11)	1 (2,63)	0.1901
Hepatomegalia	13 (48,14)	13 (34,21)	0.4625
No se realizó ecografía abdominal	4 (12,9)	11 (22,44)	

Diferencia estadísticamente significativa con $p < 0,05$

Tabla 9 – Características microbiológicas de los enfermos con y sin lesiones cutáneo-mucosas.

	Pacientes sin lesiones de piel y/o mucosas N° (%)	Pacientes con lesiones de piel y/o mucosas N° (%)	P Pearson
Número de pacientes	31	49	
Hemocultivos N°	30	41	
Positivos	28 (93,33)	25 (60,97)	0.2429
Espustos N°	18	18	
Directo positivo	1 (5,55)	5 (27,77)	0.1288
Cultivo positivo	2 (11,11)	3 (16,66)	0.6751
Lavado broncoalveolar N°	14	16	
Directo positivo	3 (21,42)	2 (12,5)	0.0466
Cultivo positivo	10 (71,42)	8 (50)	0.5510
Serologías N°	17	28	
Contrainmunolectroforesis positiva	4 (23,52)	7 (25)	0.9308
Inmunodifusión positiva	2 (11,76)	2 (7,14)	0.6307
Punción aspiración de médula ósea N°	10	9	
Directo positivo	2 (20)	1 (11,11)	0.5714
Cultivo positivo	8 (80)	6 (66,66)	0.7970
Punción ganglionar N°	6	2	
Directo positivo	1 (16,66)	1 (50)	
Cultivo positivo	3 (50)	1 (50)	
Diagnóstico dentro 48 h del ingreso	1 (3,22)	46 (93,87)	0.0000
Diagnóstico entre 2 y 7 días del ingreso	3 (9,67)	3 (6,12)	0.5867
Diagnóstico entre 7 y 14 días del ingreso	5 (16,12)	0	0.0072
Diagnóstico entre 14 y 21 días del ingreso	11 (35,48)	0	0.0001
Diagnóstico entre 21 y 28 días del ingreso	11 (35,48)	0	0.0001
Mortalidad	8 (25,8%)	8 (16,32)	0.4029

Diferencia estadísticamente significativa con $p < 0,05$

Discusión

La incidencia real de la histoplasmosis es desconocida por tratarse de una enfermedad cuya notificación no es obligatoria; la mayor parte de los datos provienen de publicaciones de expertos, los cuales demuestran que la morbimortalidad de los enfermos con alteraciones de la inmunidad celular es un verdadero problema de salud pública debido al incremento de este grupo de pacientes en los países de América del Sur³⁸.

El pronóstico de los enfermos con sida e histoplasmosis diseminada sin lesiones tegumentarias, mejora si se cuenta en la institución con métodos rápidos de diagnóstico no basados en cultivos, como antigenuria y métodos de diagnóstico por imágenes de alta resolución asociados a tratamientos de primera línea, como formulaciones lipídicas de anfotericina B y buena adherencia a los tratamientos antifúngico y antirretroviral³⁹.

En Sudamérica es una enfermedad subdiagnosticada, a pesar de ser endémica y con alta prevalencia en pacientes inmunocomprometidos con síndrome febril⁴⁰. En cierta forma este problema se debe a que muchos de los síntomas son inespecíficos y se asemejan a los de la tuberculosis diseminada³⁹, y a los de otras enfermedades que plantearían diagnósticos diferenciales alternativos, con lo cual muchos enfermos reciben erróneamente tratamientos empíricos para estas última patologías.

Las nuevas herramientas diagnósticas como la búsqueda de antígeno galactomanano de *H. capsulatum* por técnica de ELISA en sangre y orina existen desde hace algunos años⁴¹, pero lamentablemente en la mayoría de los países subdesarrollados no están disponibles.

Las manifestaciones cutáneas o mucosas, posibilitan realizar un diagnóstico rápido mediante exámenes directos; en el período analizado las lesiones cutáneomucosas fueron detectadas en el 61,25% de los enfermos con sida e histoplasmosis, similar a lo encontrado en otros países de Latinoamérica (38-85%) y mayor a lo observado en EE.UU (10%)⁴².

En los enfermos que no presentan estas manifestaciones, el diagnóstico se obtiene por cultivo de secreciones respiratorias, mielocultivos, hemocultivos o en menor medida por cultivo de líquido cefalorraquídeo. En todos estos casos el hongo puede tardar en desarrollar hasta 3 o 4 semanas^{35,36}, con lo cual el diagnóstico puede ser tardío. Por esta razón es muy importante conocer las características clínicas, los posibles resultados de los estudios por imágenes y los parámetros bioquímicos, para establecer un consenso basado en esas manifestaciones de la enfermedad y así pautar un tratamiento empírico en pacientes en los cuales la evolución del cuadro no permite esperar el diagnóstico de certeza. Vale aclarar que antes de iniciar el tratamiento empírico deben tomarse todas las muestras necesarias para que en algún momento el tratamiento empírico pase a ser de certeza.

Entre los diagnósticos diferenciales que deben realizarse se encuentra principalmente la tuberculosis diseminada, los linfomas y la leishmaniasis visceral, esta última patología es menos frecuente entre nuestros enfermos, pero hay que tenerla en cuenta en pacientes que viajaron o vivieron en zona endémica.

En la tuberculosis diseminada, la ultrasonografía o ecografía es el método por imágenes de elección para sospechar el diagnóstico debido a que el 95% de los enfermos presentan lesiones focales en el bazo⁴³ y en un porcentaje similar se evidencian adenopatías retroperitoneales.

Otras publicaciones aseguran que el 87% de las ecografías realizadas a pacientes con tuberculosis diseminada presentaban lesiones hipoecoicas en el bazo o ascitis^{44,45}.

Después del sarcoma de Kaposi, los linfomas representan la neoplasia más frecuente en los pacientes con sida. En este caso, el diagnóstico diferencial se plantea principalmente por la sintomatología sistémica, fiebre, sudores nocturnos, y pérdida de peso (síntomas B)⁴⁶. La localización más frecuente de estos tumores es extranodal, principalmente el sistema nervioso central y, en segundo lugar, se encuentra el tubo digestivo, en el cual pueden observarse por ecografía, múltiples imágenes hipoecogénicas en el hígado, el bazo o ambos, las lesiones son en general grandes, de varios centímetros de diámetro. Cuando se observan este tipo de alteraciones es difícil establecer la naturaleza infecciosa o neoplásica sólo con la imagen ecográfica, pero teniendo en cuenta la experiencia del servicio de ecografía del Hospital F J Muñoz, las lesiones grandes, de varios centímetros de diámetro, son provocadas por linfomas, mientras que los nódulos hiperecogénicos y múltiples corresponden a microabscesos tuberculosos. Una limitación que presenta este trabajo, es no contar con un grupo control de pacientes con tuberculosis diseminada y enfermos con linfomas asociados al sida.

Según un estudio de autopsias de histoplasmosis diseminadas en pacientes HIV+, el compromiso histológico del tracto gastrointestinal se observó en el 75% de los casos, aunque las manifestaciones clínicas se presentan en una proporción mucho menor⁴⁷. Los métodos de diagnóstico por imágenes, estudios contrastados con bario o tomografía computarizada permiten observar la afectación segmentaria del colon, con estructuras rígidas, engrosamiento circunferencial de la pared del

ciego y del colon ascendente y el estrechamiento de la luz, evidenciando, en algunos casos, el signo radiológico de “corazón de manzana” o de “manzana mordida”, lo cual obliga a realizar una biopsia de colon, porque esta imagen también se observa en el cáncer de colon⁴⁸. Es importante incluir a la infección por citomegalovirus dentro de los diagnósticos diferenciales de patología colónica en pacientes HIV positivos. En este caso se observa engrosamiento concéntrico de la pared del colon, pero en muy pocos casos presenta adenomegalias a ese nivel⁴⁸.

En los enfermos con sida el hallazgo ecográfico de esplenomegalia obliga a descartar hipertensión portal por hepatopatía crónica, muchas veces asociada a la infección por el HIV⁴⁹. Descartada la hipertensión portal, esta visceromegalia hace pensar en histoplasmosis cuando se manifiesta ecográficamente como homogénea o levemente heterogénea (sin lesiones focales) con los transductores de alta frecuencia⁴⁸.

En este grupo de enfermos que estudiamos, hay que destacar que todos los pacientes que presentaron serología positiva para *H. capsulatum* tuvieron buena evolución y la contrainmuno-electroforesis demostró ser la técnica más sensible (23,52%), sin embargo, al igual que en la mayoría de los estudios clínicos desarrollados en otros países, el rendimiento diagnóstico de estas técnicas en pacientes con sida es bajo (23,5%)⁵⁰.

Los hemocultivos demostraron ser la metodología diagnóstica más sensible en este grupo. Cabe destacar que habitualmente se envía sólo una muestra al ingreso a la sala de internación, con lo cual si se obtuvieran tres muestras para hemocultivos al ingreso, mejoraría el rendimiento de esta prueba. Los hemocultivos por lisis centrifugación han demostrado ser más sensibles que los hemocultivos por métodos

automatizados³¹. Está demostrado que la sensibilidad de los hemocultivos está relacionada al volumen de sangre cultivada, éste no debe ser menor de 20 ml⁵¹.

El descenso en los recuentos de plaquetas se asoció a anemia y a leucopenia. Estos casos con pancitopenia presentaron una evolución desfavorable, 6/11 enfermos fallecieron (54,5%).

Los pacientes que presentaron valores de albúmina sérica inferiores a 2,5 g/dl en general tuvieron mal pronóstico. De este subgrupo, fallecieron 5/6 (83,33%), este dato es análogo a lo descrito en la mayoría de las publicaciones que demuestran que enfermos con hipoalbuminemia tienen peor evolución y pronóstico⁵².

Otro marcador de mala evolución fue el bajo recuento de linfocitos T CD4+, en este aspecto, siete de los ocho enfermos fallecidos tenían un recuento menor a 50 células/ μ l. El paciente que falleció con 140 linfocitos T CD4+/ μ l, desarrolló un síndrome hemofagocítico, vinculado a desórdenes inmunológicos disparados por un gran aumento de las interleuquinas.

La lactodeshidrogenasa (LDH) no parece ser un parámetro de laboratorio fiable para sospechar esta patología, ya que su aumento fue en general moderado y sólo se observaron valores muy altos cuando el enfermo presentaba concomitantemente neumonía por *Pneumocystis jirovecii*. En contraposición con otros trabajos⁵³, los niveles de LDH dos veces por encima del valor considerado normal, no se relacionaron en este grupo de enfermos con un peor pronóstico, ya que sólo dos de los ocho pacientes fallecidos tenían niveles altos de LDH en sangre periférica.

Es importante destacar que un paciente con diagnóstico de histoplasmosis por hemocultivo y con un recuento de linfocitos T CD4+

de 264 células/ μ l no fue tratado con ningún antifúngico porque ya estaba de alta con tratamiento para sífilis secundaria y el servicio social no pudo localizarlo, ocho meses después este enfermo consultó por otro problema y se encontraba en perfecto estado de salud. Probablemente la funguemia que se observó meses antes, fue controlada por la rápida recuperación de su sistema inmunológico, debida a el tratamiento antirretroviral.

Habitualmente cuando un paciente HIV positivo ingresa al hospital con insuficiencia respiratoria, fiebre y un patrón radiológico pulmonar micronodulillar se lo interpreta en principio como neumocistosis y/o tuberculosis. En la mayoría de los casos, se le indica tratamiento para dichas patologías. Por esta razón, doce de los pacientes estudiados que tenían histoplasmosis, recibieron estos tratamientos empíricos y sólo cuatro de ellos tenían dos enfermedades. Es importante destacar que, según consta en los registros epidemiológicos de la ciudad de Buenos Aires, nuestro hospital tiene un promedio de quince pacientes por año (teniendo en cuenta los años 2010 a 2012), con tuberculosis miliar asociada al HIV⁵⁴ .

La base de datos de las terapias intensivas (salas 1 y 2), que albergan a la mayoría de los pacientes con cuadros respiratorios agudos en nuestro hospital confirma que, en los últimos tres años, los pacientes HIV positivos con tuberculosis e insuficiencia respiratoria aguda, fueron veintiocho (datos no publicados). Aparentemente, en nuestro medio, los casos de tuberculosis asociados al HIV con predominio de síntomas de insuficiencia respiratoria son similares en cantidad, a los casos de histoplasmosis respiratoria aguda.

Las formas clínicas graves de histoplasmosis se vinculan a infecciones masivas o con déficit de los mecanismos locales o generales de la

respuesta inmune. En la actualidad se asocian al sida, a los linfomas, a las leucemias linfáticas y a los trasplantes de órganos.

Clínicamente se presenta como un cuadro séptico o un síndrome de insuficiencia respiratoria aguda del adulto. La ausencia de lesiones focales y lo poco característico de las manifestaciones clínicas, hacen muy difícil el diagnóstico de este tipo de histoplasmosis. El retraso en el diagnóstico y la rápida evolución de esta forma clínica explican su elevada tasa de mortalidad, en especial cuando se asocia al síndrome hemofagocítico⁵⁵. Este cuadro clínico parecería tener una grave alteración en los mecanismos de defensa del huésped produciendo un incremento importante de Interferón gamma y factor de necrosis tumoral alfa, con la consecuente estimulación de macrófagos activados, que terminan accionando contra las plaquetas, eritrocitos, leucocitos y precursores de médula ósea del huésped. Clínicamente se manifiesta con anemia grave, hepatosplenomegalia, linfadenopatias, *rash* maculopapular, hipertrigliceridemia, hiperbilirrubinemia y descenso de los niveles de fibrinógeno.

Los mayores problemas de esta micosis son: la escasa información que tienen las instituciones de salud pública sobre la histoplasmosis, el desconocimiento de la incidencia real de esta infección y la enfermedad (casos progresivos), las manifestaciones clínicas poco características y muy variables, y la pobre formación de los médicos en temas de micología médica. En el caso de la histoplasmosis asociada al sida, debemos agregar la baja condición socio-económica y cultural de la mayor parte de los pacientes.

Es necesario contar con métodos de detección rápida de antígenos de *H. capsulatum*, con tratamientos de primera línea pero sobre todo con

algoritmos diagnósticos confiables, como ocurre por ejemplo con los pacientes febriles en zonas endémicas de malaria en África⁵⁶.

Conclusiones

Las múltiples manifestaciones clínicas que desarrollan los pacientes con histoplasmosis se relacionan con la diversidad genética de este hongo, la carga infectante y los mecanismos inmunitarios del hospedero.

Las cepas de *H. capsulatum* de ciertas regiones específicas de Sudamérica, suelen producir lesiones cutáneas y mucosas, las cuales no suelen manifestarse en otras regiones. Éstas facilitan el diagnóstico, mediante la observación del agente causal en los materiales obtenidos por biopsias o el citodiagnóstico.

En los pacientes con histoplasmosis y sida sin lesiones tegumentarias, las manifestaciones más frecuentes son fiebre, malestar general con pérdida de peso, seguidas por tos y disnea.

En el examen semiológico, los signos más frecuentemente observados son la hepatosplenomegalia, la taquisfigmia y en menor medida la palpación de adenomegalias, generalmente cervicales. La auscultación respiratoria suele ser normal o presentar hipoventilación generalizada. En contraposición la radiografía de tórax suele ser patológica en la mayoría de los casos, el patrón radiológico más frecuente es el miliar o micronodulillar bilateral, seguido por el retículo-nodulillar y por último el intersticial.

Las alteraciones hematológicas son frecuentes. La anemia se presenta en casi todos los enfermos, la leucopenia y la trombocitopenia se detectan con menos frecuencia, pero cuando se observan las tres suelen ser un signo de mala evolución.

Las transaminasas hepáticas se observan elevadas en menos de la mitad de los casos, cuando ocurre, generalmente la que se presenta con valores más altos es la transaminasa glutámico-oxalacética (GOT).

El método de diagnóstico más sensible para estos pacientes es el hemocultivo por lisis centrifugación, pero este resultado puede demorar hasta 28 días (con un promedio de 11 días). Las intradermorreacciones y la serología suelen ser poco sensibles en los pacientes con inmunocompromiso grave. Los exámenes micológicos de esputo, lavado broncoalveolar y punción aspiración de médula ósea tienen escaso rendimiento en el examen directo y los cultivos demoran el mismo tiempo que el hemocultivo.

Los métodos moleculares dan resultados muy variables y no están estandarizados. Sólo la detección de antígeno de *H. capsulatum* en orina ha demostrado ser un método eficaz, pero se encuentra disponible en pocos centros de atención y aún no se comercializa en nuestro país.

El conocimiento de las manifestaciones clínicas es muy importante para comenzar la cadena de acciones que el médico debe realizar para llegar a un diagnóstico de certeza lo antes posible. Por lo cual, todos los pacientes que consulten por síndrome febril asociado a esplenomegalia y lesiones micronodulillares bilaterales o retículo-nodulillares en la radiografía de tórax, deben ser sometidos a un *test* rápido para HIV-1 y HIV-2 si desconocen su estado inmunológico. En segunda instancia si el paciente es HIV-seropositivo se deben tomar hemocultivos para hongos por lisis centrifugación así como hemocultivos para micobacterias. Luego de obtenidas estas muestras debe considerarse a los estudios por imágenes de abdomen como prioritarios. En instituciones donde se cuenta con experiencia en esta clase de pacientes inmunocomprometidos puede realizarse ecografía de abdomen, y de no contar con esta pericia, la tomografía computarizada de alta resolución de abdomen es fundamental para indicar un tratamiento empírico, cuando se comprueba una esplenomegalia

homogénea o ligeramente heterogénea con o sin adenomegalias retroperitoneales o mesentéricas. Una vez completados estos estudios debe considerarse la realización de un lavado broncoalveolar.

No existe un valor o determinación de laboratorio de bioquímica clínica que sea vinculable a histoplasmosis. Los valores muy elevados de LDH se observaron en enfermos que padecían concomitantemente neumocistosis.

La bicitopenia y la pancitopenia se observaron en pocos pacientes, no obstante siempre que se presente esta alteración en el hemograma en enfermos con inmunodeficiencias es recomendable realizar biopsia de médula ósea.

Por el tiempo que demora el diagnóstico definitivo, si el paciente presenta los signos anteriormente mencionados y se manifiestan factores o signos de mal pronóstico como hipoalbuminemia, pancitopenia o un recuento de linfocitos T CD4+ menor a 50 células/ μ l debe considerarse realizar tratamiento empírico con anfotericina B.

No obstante para tomar decisiones en cuanto a tratamientos empíricos es necesario conocer bien los diagnósticos diferenciales de las diferentes patologías y la epidemiología del medio en el cual el médico desempeña sus funciones.

En el Hospital F J Muñiz, el número de casos de histoplasmosis se encuentra en franco aumento por la escasa adherencia al tratamiento antirretroviral y lamentablemente esta es una de las pocas acciones que uno puede implementar para combatir esta enfermedad puesto que el reservorio de *H. capsulatum* (el suelo) nunca desaparecerá.

A pesar de la mala adherencia que muestran los pacientes al TARGA y a la profilaxis secundaria, no se observaron enfermos que consulten por

presentar manifestaciones clínicas que hicieran sospechar una recaída, en este período estudiado.

Bibliografía

1. Arenas R. Micología Médica Ilustrada. Tercera Edición. México. McGraw-Hill; 2008. 190-9.
2. Negroni R. Histoplasmosis en América latina. Revista biomédica. 2011; 31:1-4.
3. Centers for Disease Control (CDC). Revision of the CDC surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. MMWR. 1987; 36:1S–15S.
4. Rocha Posada H, Martin F, Mendez Lemaitre A. Systemic histoplasmosis. Presentation of 2 cases and review of national literature. Mycopathologia et mycologia applicata, 1968; 36: 55-74.
5. Conant N, Smith D, Baker R, *et al.* Micología, 3ª edición, 1972, Interamericana, cap. VIII, p. 170-212.
6. Canteros C, Madariaga MJ, Lee W, *et al.* Agentes de micosis endémicas en un área rural de Argentina: estudio seroepidemiológico en perros. Rev Iberoam Micol. 2010; 27: 14-9.
7. Chávez-Tapia C, Peña-Sandoval G, Rodríguez-Arellanes G, *et al.* Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* en los murciélagos *Desmodus rotundus* y *Tadarida brasiliensis*: primeros registros en México. Rev Mex Micol. 2005; 20: 61-70.
8. Emmons CW. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. Public Health Rep. 1949; 64: 892-6.
9. Medeiros Muniz M, Nascimento Sousa C, Marques Evangelista Oliveira M, *et al.* Sexual variability in *Histoplasma capsulatum* and its possible distribution: What is going on?. Rev Iberoam Micol. 2014; 31: 7-10.
10. Canteros CE, Zuiami MS, Perrotta DE, *et al.* Electrophoresis karyotype and chromosome-length polymorphism of *Histoplasma capsulatum* clinical isolates from Latin America. FEMS Immunol Med Microbiol. 2005; 45: 423-8.

11. Kasuga T, White TJ, Koenig G, *et al.* Phylogeography of the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Mol Ecol.* 2003; 12: 3383-401.
12. Adenis A, Aznar C, Couppié P. Histoplasmosis in HIV-infected patients: a review of new developments and remaining gaps. *Curr Trop Med Rep* 2014; 1: 119-28.
13. Negroni R. Clinical spectrum and treatment of classic histoplasmosis. *Rev Iberoam Micol.* 2000; 17: 159-67.
14. Negroni R. Histoplasmosis. En: Cimerman S, Cimerman B. *Conduitas em Infectologia.* Atheneu, Sao Paulo. 2004; p. 376-83.
15. Harish C, Muotoe-Okafor G, Muotoe-Okafor F. African histoplasmosis: a review. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14: 155-9.
16. McLeod DS, Mortimer RH, Perry-Keene DA, *et al.* Histoplasmosis in Australia: report of 16 cases and literature review. *Medicine (Baltimore).* 2011; 90: 61-8.
17. Navascues A, Rodriguez I, Reparaz J, *et al.* Descripción de cuatro casos de histoplasmosis importada en Navarra. *Rev Iberoam Micol.* 2011; 28:194-97.
18. Wang TL, Cheah JS, Holmberg K. Case report and review of disseminated histoplasmosis in South-East Asia: clinical and epidemiological implications. *Trop Med Int Health.* 1996; 1: 35-42.
19. Pan B, Chen M, Liao W. Histoplasmosis a new endemic fungal infection in China? Review and analysis of cases. *Mycoses.* 2013; 56:212-21.
20. Negroni R. Histoplasmosis. En: Cecchini E, González Ayala SE. *Infectología y Enfermedades Infecciosas.* Ediciones Journal. Buenos Aires. 2008; p. 472-6.
21. Medoff G, Kobayashi G, Painter A, *et al.* Morphogenesis and pathogenicity of *Histoplasma capsulatum*. *Infect Immun.* 1987;55: 1355-8.
22. Nosanchuk J, Gacser A. *Histoplasma capsulatum* at the host-pathogen interface. *Microbes infect.*2008: 10: 973-7.

23. Seider K, Heyken A, Lüttich A, *et al.* Interaction of pathogenic yeasts with phagocytes: survival, persistence and escape. *Curr Opin Microbiol.* 2010; 13: 392–400.
24. Lázár-Molnár E, Gácsér A, Freeman G, *et al.* The PD-1/PD-L costimulatory pathway critically affects host resistance to the pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum*. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105: 2658-63.
25. Bonifaz A, Vázquez-González D, Perusquía-Ortiz AM. Endemic systemic mycoses: coccidioidomycosis, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and blastomycosis. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011; 9:705-15.
26. Negroni R. En: Bogliolo L. *Patología de las Enfermedades Regionales Latinoamericanas.* 2006; 13: 128-31.
27. Wheat LJ. *Histoplasma capsulatum*. En: Yu V, Weber R, Raoult D (eds.). *Antimicrobial Therapy and Vaccine.* Apple Tree Productions L.L.C. New York. 2nd Edition. 2002; p. 1069-79.
28. Arechavala A, Robles A.M, Negroni R, *et al.* Valor de los métodos directos e indirectos de diagnósticos en las micosis sistémicas asociadas al sida. *Rev.Inst.Med. trop S.Paulo.*1993; 35: 163-9.
29. Bianchi M, Negroni R. Estudio comparativo de dos sistemas de hemocultivos en micosis sistémicas asociadas al sida. *Rev. Argent. Derm;* 1993; 74:1-4.
30. Negroni R, Robles A.M, Arechavala A, *et al.* Histoplasmosis en pacientes con sida, su evolución y tratamiento. *Rev Argent Micol.* 1991; 14: 5-12.
31. Kauffman C. Histoplasmosis. En: Dismukes W, Pappas PC, Sobel JD. *Medical Mycology.* Oxford University Press. 2003; p. 285-98.
32. Kauffman C. Histoplasmosis a clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 115-32.
33. Kauffman CA. Diagnosis of histoplasmosis in immunosuppressed patients. *Curr Opin Infect Dis.* 2008; 21: 421-5.

34. Wheat LJ, Witt J, Dirkin M, *et al.* Reduction in false antigenemia in the second generation *Histoplasma* antigen assay. *Med Mycol.* 2007; 45: 169-71.
35. Frias de Leon MG, Arenas Lopez G, Taylor ML, *et al.* Development of specific sequence-characterized amplified region markers for detecting *Histoplasma capsulatum* in clinical and environmental samples. *J ClinMicrobiol.* 2013; 673-9.
36. Buitrago M J, Gómez-López A, Monzón A, *et al.* Evaluación de una técnica de PCR cuantitativa para el diagnóstico clínico de la histoplasmosis importada. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007; 25:16-22.
37. Negroni R. Manifestaciones cutáneas mucosas de la histoplasmosis diseminada (histoplasmosis clásica o histoplasmosis capsulati). *Dermatol. Argent.* 2008; 14: 104-10.
38. Colombo AL, Tobon A, Restrepo A, *et al.* Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. *Med Mycol.* 2011; 49:785–98.
39. Nacher M, Adenis A, Aznar C, *et al.* How many have died from undiagnosed human immunodeficiency virus-associated histoplasmosis, A treatable disease? Time to act. *Am J Trop Med Hyg.* 2014; 90:193-4.
40. Nacher M, Adenis A, Mc Donald S, *et al.* Disseminated histoplasmosis in HIV-infected patients in South America: A neglected killer continues on its rampage. *PLOS Negl Trop Dis.* 2013; 7(11) e2319.
41. Wheat L, Kohler R, Tewari R. Diagnosis of disseminated histoplasmosis by detection of *Histoplasma capsulatum* antigen in serum and urine specimen. *N England J Med* 1986; 314: 83-8.

42. Chang P, Rodas C. Skin lesions in histoplasmosis. *Clinics in Dermatol.* 2012; 30, 592-8.
43. Giordani MT, Brunetti E, Brinazzi R, *et al.* Extrapulmonary mycobacterial infections in a cohort of HIV-positive patients: ultrasound experience from Vicenza, Italy. *Infection.* 2013; 41: 409-14.
44. Heller T, Wallrauch C, Goblirsch, *et al.* Focused assessment with sonography for HIV-associated tuberculosis (FASH): a short protocol and a pictorial review. *Crit Ultrasound J.* 2012, 4: 21.
45. Wainstein C, Metta H, Corti M. En: Sancineto A. *Tuberculosis diagnóstico y tratamiento.* 2009; p. 217-22.
46. Corti M, Villafañe Fioti MF, Lewi D, *et al.* Linfoma del tubo digestivo y glándulas anexas en pacientes con SIDA. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2006; 36:190-6.
47. Lamps L, Molina C, West B, *et al.* The pathologic spectrum of gastrointestinal and hepatic histoplasmosis. *Am J Pathol* 2000; 113:64-72.
48. Méndez N. Aporte de la ecografía en el diagnóstico de la patología del tracto gastrointestinal en el paciente con sida. *Rev Argent Infect Dr Francisco J Muñiz.* 2013; 16:14-22.
49. Escribano J, González J, Álvarez M, *et al.* La ecografía abdominal en los pacientes con sida. *Radiología* 1998; 40: 85-91.
50. Quinet Leimann B, Vera Pizzini V, Medeiros Muniz M, *et al.* Histoplasmosis in a Brazilian center: clinical forms and laboratory tests. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 141-6.
51. Murray P, Witebsky F. The clinician and the microbiology laboratory. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R. *Principles and practice of Infectious Diseases.* 2010. 7° Ed. p. 233-65.

52. Peigne V, Dromer F, Elie C, *et al.* Imported acquired immunodeficiency syndrome-related histoplasmosis in metropolitan France: a comparison of pre-highly active anti-retroviral therapy and highly active anti-retroviral therapy eras. *Am J Trop Med Hyg.* 2011; 85: 934–41.
53. Daher E de F, Barros F de S, da Silva (J) G, *et al.* Risk factors for death in acquired immunodeficiency syndrome-associated disseminated histoplasmosis. *Am J. Trop Med. Hyg.* 2006; 74:600-3.
54. www.buenosaires.gob.ar/areas/salud/estadisticas/.../17muniz.pdf
55. Dufourcq-Lagelouse R, Pastural E, Barrat F, *et al.* Genetic basis of hemophagocytic lymphohistiocytosis syndrome. *Int J Mol Med* 1999; 4:127-33.
56. Adenis A, Nacher M, Hanf M, *et al.* HIV-associated Histoplasmosis early mortality and incidence trends: from neglect to priority. *PLOS Negl Trop Dis* . 2014; 8: e3100.