

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

ARIANE GOMES PAIXÃO

**HISTOPLASMOSE NO INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS/FIOCRUZ NO PERÍODO DE 2000 A 2018: FATORES DE RISCO
ASSOCIADOS EM PACIENTES INFECTADOS E NÃO INFECTADOS POR HIV.**

Rio de Janeiro

2020

**HISTOPLASMOSE NO INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS/FIOCRUZ NO PERÍODO DE 2000 A 2018: FATORES DE RISCO
ASSOCIADOS EM PACIENTES INFECTADOS E NÃO INFECTADOS POR HIV.**

ARIANE GOMES PAIXÃO

Dissertação apresentada ao Curso de Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof^a. Dr^a.Cristiane da Cruz Lamas

Co-orientador: Prof. Dr Bodo Wanke.

Rio de Janeiro

2020

DEDICATÓRIA

Ao meu pai e avô paterno, Franciscos, que possibilitaram minha jornada pela medicina e me sustentaram com amor sem medida.

AGRADECIMENTOS

Aos céus e à vida, que sempre foram generosos comigo desde o nascimento.

À minha família: a origem, o suporte e o afeto.

À minha avó paterna, Elza Zanchetta Paixão, um grande exemplo de vida.

À minha tia avó Carlota Pandori (*in memoriam*), onde eu encontrava o abraço sincero, o amor concretizado.

Aos meus orientadores, Cristiane da Cruz Lamas, que me deu a mão, carinho e amizade desde o R1; e ao Dr. Bodo Wanke, que me ensina sobre medicina e me proporciona tão boas conversas sobre a vida. Que possamos caminhar juntos ainda por um longo tempo.

Ao Marcos de Abreu Almeida que, sempre sorrindo, me ajudou, sem medir esforços, desde o primeiro dia em que pisei no laboratório de micologia.

Às residentes Beatriz Brittes Kamiensky e Roberta Espirito Santo Correia, parceiras de “sofrência” com o REDCap. Meu sincero obrigada pelo compromisso, maturidade e pela parceria que depositaram neste projeto. Que a vida sempre nos mantenha enlaçadas.

Ao amigo Manoel Olavo, que amortece as tempestades com sua amizade, música e bom humor.

Inúmeras foram as pessoas não citadas, mas as carrego com gratidão dentro do meu santuário.

“E aprendi que se depende sempre

De tanta, muita, diferente gente

Toda pessoa sempre é as marcas

Das lições diárias de outras tantas pessoas

E é tão bonito quando a gente entende

Que a gente é tanta gente onde quer que a gente vá

E é tão bonito quando a gente sente

Que nunca está sozinho por mais que pense estar”

(Gonzaguinha)

EPÍGRAFE

“Vamos al mar
vamos a dar guerra con cuatro guitarras

Vamos pedaleando
contra el tiempo, soltando amarras

Brindo por las veces
que perdimos las mismas batallas”

Jorge Drexler

RESUMO

Histoplasmose (Hc) é uma micose sistêmica cosmopolita; sua evolução clínica depende do estado imunitário do hospedeiro, do tamanho do inóculo e da virulência da cepa. O objetivo geral do estudo foi descrever os casos de Hc no INI, de 2000 a 2018 e traçar o perfil de risco associado em pacientes infectados (HIV+) e não infectados por HIV (HIV-). Este é um estudo descritivo, retrospectivo, a partir de prontuários de pacientes com diagnóstico clínico-laboratorial de Hc, confirmado através de cultura, sorologia ou histopatológico. Os dados foram alimentados no programa REDCap. Estatística foi feita com o programa R versão 3.5.1 Foram incluídos 99 registros; 65 eram HIV+ e 34 HIV-. A idade média foi $39,1 \pm 11$ anos nos HIV+ e $39,4 \pm 16,1$ anos nos HIV-. Dentre os HIV- houve dois casos de transplante de órgãos sólidos e 2 portadores de reação hansênica em uso crônico de altas doses de corticoterapia. Pacientes HIV- apresentaram com maior frequência fatores de exposição para aquisição de histoplasma (contato com morcegos, 17,6% vs 0, e contato com poeira/solo 14,7% vs 1,5% respectivamente). A mediana de tempo entre o início da clínica até o diagnóstico foi de 8 semanas nos HIV- e 22 nos HIV+. Predominou a forma disseminada nos HIV+, 79,4% vs 36,4% nos HIV-. Nos HIV -, predominou a forma pulmonar crônica 15(45,5%). Nos HIV+ em relação aos HIV- foram encontrados, respectivamente, hepatomegalia em 21,5% vs 5,9%; esplenomegalia 18,5% vs 2,9%; anemia 35,4% vs 11,8%; leucopenia 21,5% vs 5,9%. Nos HIV+, a mediana de CD4 foi de 70; abandono de terapia antirretroviral (TARV) foi encontrada em 18,5% e não uso anterior de TARV em 41,5%. Foi observado significância estatística nos HIV+ vs HIV- quanto a hipoxemia 25,4% vs 6,1%; hemoglobina sérica 9,5 vs 12,5 mg/dl; transaminase glutâmico oxalacética (TGO) 22 vs 78 UI; lactato desidrogenase 186 vs. 618 UI; gama glutamil transferase 161 vs 48. Tuberculose associada foi encontrada em 20% dos HIV+. Foi necessária a internação hospitalar em 71,4% dos HIV+ vs 12,1% dos HIV-; evoluíram a óbito 46% dos HIV+ vs 8,8% dos HIV-. Anemia, leucopenia, ser internado no CTI, receber aminas e ventilação mecânica foram associados a óbito por Hc em análise univariada. Todos os óbitos ocorreram em pacientes com a forma disseminada de Hc. Mediana de tempo para diagnóstico por cultivo nos HIV + foi 13,5 dias vs 12,5 nos HIV-. Hemocultivo nos HIV+ foi positivo em 32,3% vs HIV- 11,8%, $p= 0.025$ e cultivo de medula óssea em 36,9% vs 8,8%, $p=0.003$. Realizaram histopatológico 25 HIV+, e 18 (72%) apresentaram laudo compatível com histoplasmose, sendo os maiores ganhos em gânglios :11/18 (61,1%) e medula óssea :12/18 (66,6%). O Western blot foi positivo em 90% dos HIV+ e em 90,6% dos HIV-; imunodifusão dupla foi reagente em 65% nos HIV+ e 83,8% nos HIV-. Nessa série de casos de Hc 2/3 eram HIV+, com doença avançada e não uso ou abandono de TARV. Dados epidemiológicos clássicos para Hc foram pouco frequentes nos HIV+. Diagnóstico foi tardio, com confusão diagnóstica com tuberculose, que esteve associada em 1/5 dos casos. Pacientes HIV+ tiveram com mais frequência a forma disseminada, com necessidade de internação e maior mortalidade que os HIV-. É fundamental o rastreamento precoce para Histoplasmose para pacientes HIV positivos assim como para pacientes em uso de imunossupressores.

Palavras-chave: Histoplasmose, Epidemiologia, Cultivo, Sorologia, HIV positivo, Imunossupressor, Mortalidade.

ABSTRACT

Histoplasmosis (Hc) is a systemic mycosis, present globally. The host's immune status, inoculum size and the virulence of the infectious strain determine the clinical course of the disease. The main goal of this study was to describe the cases of Hc registered at the National Infectology Institute, between 2000 and 2018 and to establish a risk profile associated to patients infected by HIV (HIV+). This was a retrospective study based on patient medical records with a clinical and laboratory diagnosis of Hc, confirmed by culture, serology and histopathological exams. The data obtained was fed into the REDCap program and statistical analysis was done with the R program, version 3.5.1. The study included 99 records, 65 from HIV+ and 34 from HIV- patients. The average age for HIV+ patients was 39.1 ± 11 years; it was 39.4 ± 16.1 for the HIV-. There were two patients with solid organ transplantation and two cases with hanseniasis reaction on chronic high dose steroid use in the HIVgroup. The HIV- patients more frequently presented possible exposure to histoplasma (contact with bats: 17.6% vs 0; and contact with soil/dirt: 14.7% vs 1.5%). The median time between disease onset and diagnosis was 8 weeks in HIVand 22 weeks in HIV+ patients. HIV+ presented the disseminated form of the disease in 79.4%, in comparison to 36.4% in HIV-. HIV- patients more often presented the chronic pulmonary form (45.5%). HIV+ patients, compared to HIV-, presented, respectively, hepatomegaly: 21.5% vs 5.9%; splenomegaly: 18.5% vs 2.9%; anemia: 35.4% vs 11.8%; leukopenia: 21.5% vs 5.9%. Among the HIV+ patients, median CD4 count was 70; 18.5% had abandoned antiviral therapy while 41.5% had never used ART. Associated tuberculosis was encountered in 20% of HIV+ cases. HIV+ patients, when compared to HIV-, presented statistically significant hypoxemia 25.4% vs 6.1%, hemoglobin levels 9.5 vs 12.5 mg/dL, oxalacetic glutamic transaminase 22 vs 78 IU, lactate dehydrogenase 186 vs 618 IU, gamma glutamyl transferase 161 vs 48. The median time necessary for culture positivity was 13.5 days in HIV+, compared to 12.5 days in HIV- patients. Hospitalization was necessary for 45 HIV+ cases (71.4%) and for 4 HIV- cases (12.1%). Anemia, leucopenia, intensive care, use of vasopressor and mechanical ventilation were associated with death in Hc on univariate analysis. All deaths occurred in patients with the disseminated form of Hc. Blood cultures were positive in 32.3% of HIV+ vs 11.8% of HIV- patients ($p=0.025$), while bone marrow culture presented 36.9% vs 8.8% positive results in HIV+ and HIV- patients, respectively ($p=0.003$). Histopathological exams performed in 25 HIV+ patients provided 72% reports positive for Hc, mostly in lymph nodes (61.1%) and bone marrow (66.6%). Western Blot was positive in 90% of HIV+ and 90.6% of HIVpatients; immunodiffusion was reactive in 65% of HIV+ and 83.8% of HIV-. In this Hc case series, 2/3 of the patients were HIV+, presenting advanced AIDS, after abandoning or never having used ART. Classic epidemiological data for Hc were uncommon in HIV+ patients. Correct diagnosis was late as symptoms were sometimes mistakenly diagnosed as tuberculosis, which was present in 1/5 of cases. HIV+ patients frequently presented the disseminated form of Hc, required hospitalization and demonstrated higher mortality rates than HIV-patients. Early screening for Hc in HIV+ and drug induced immunosuppressed patients is crucial.

Keywords: Histoplasmosis, Epidemiology, Culture, Serology, HIV positive, Immunosuppressor, Mortality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - <i>Histoplasma capsulatum</i> (Fase filamentosa)	17
Figura 2 - <i>Histoplasma capsulatum</i> (Fase leveduriforme).....	17
Figura 3 - Locais no território brasileiro onde houve detecção nos animais e no ambiente de <i>Histoplasma capsulatum</i> até 2018.....	18
Figura 4 - Distribuição geográfica de casos publicados de <i>H capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> e de <i>H capsulatum</i> var. <i>duboisii</i> autóctones associada a aids.....	20
Figura 5 - Distribuição geográfica do número de casos de histoplasmose publicados no Brasil (1939–2018).....	22
Figura 6 - O número de publicações e número de casos relacionados ao diagnóstico de histoplasmose no Brasil, 1939–2018.....	24
Figura 7 - Comparação de resultados com significância estatística ($p < 0.05$) em análise multivariada comparando histoplasmose e tuberculose.....	44
Figura 8 - História natural da infecção pelo HIV.....	49
Figura 9 - Dados de HIV segundo a OMS.....	50
Figura 10 - Fluxograma de busca de casos de histoplasmose no INI de 2000-2018.....	63
Figura 11 - Número de casos anual de pacientes com histoplasmose diagnosticados no INI no período de 2000 a 2018.....	63
Figura 12 - Comparação entre o número total de óbitos e os óbitos por histoplasmose ocorridos durante a internação, no INI, 2000-2018.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Testes diagnósticos disponíveis em diferentes continentes.....	41
Tabela 2 - Esquema de TARV inicial preferencial para adultos.....	52
Tabela 3 - Dados sócio-demográficos referentes aos casos de histoplasmose no INI no período de 2000 a 2018.....	64
Tabela 4 - Achados clínicos apresentados por pacientes com diagnóstico de histoplasmose, INI 2000-2018.....	67
Tabela 5 - Informações relacionadas à infecção por HIV nos 65 pacientes soropositivos com histoplasmose, INI 2000-2018.....	68
Tabela 6 - Infecções oportunistas concomitantes e prévias em pacientes com histoplasmose, INI 2000-2018.....	69
Tabela 7 - Tuberculose diagnosticada concomitantemente à histoplasmose nos pacientes HIV positivos.....	71
Tabela 8 - Resultado de exames laboratoriais gerais em 99 pacientes com histoplasmose, INI 2000-2018.....	72
Tabela 9 - Relação de hipoxemia na histoplasmose.....	73
Tabela 10 - Relação do aumento dos valores de LDH na histoplasmose.....	74
Tabela 11 - Exames de imagem realizados em pacientes com histoplasmose de acordo com sorostatus para HIV, INI 2000-2018.....	75
Tabela 12 - Principais alterações descritas nos laudos de exames de imagem de pacientes com histoplasmose, INI 2000-2018.....	75
Tabela 13 - Métodos utilizados para outros diagnósticos de outras infecções fúngicas nos pacientes HIV positivos com histoplasmose.....	76
Tabela 14 - Materiais clínicos coletados para cultivo de histoplasmose em pacientes diagnosticados com histoplasmose, INI 2000-2018.....	77
Tabela 15 - Sensibilidade dos testes diagnósticos para histoplasmose em pacientes HIV reagentes e não reagentes, INI 2000-2018.....	79
Tabela 16 - Forma clínica da histoplasmose.....	80
Tabela 17 - Tratamento preferencialmente utilizado durante a internação de pacientes com histoplasmose de acordo com sorostatus para HIV, INI 2000-2018.....	81
Tabela 18 - Dados sobre internação, gravidade e desfecho.....	82

Tabela 19 - Comparação temporal entre obtenção do resultado do cultivo e da data de internação até o óbito..... 82

Tabela 20 - análise univariada e multivariada realizada para avaliação de fatores associados a óbito na histoplasmose..... 84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDC - *Center Disease Control*

CrAg - Antígeno Criptocócico

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EIA - Imunoensaio enzimático

GMS - Gomori-Grocott

HE - Hematoxilina-eosina

H&E - Hematoxilina & Eosina

HIV – Human immunodeficiency virus

IB - *Imunoblot*

IBR - *Imunoblot Rápido*

ID - Imunodifusão dupla de Ouchterlony

IP/r - Inibidores de protease

INI/g.- inibidores de integrase (INI/g).

INI - Instituto Nacional de infectologia Evandro Chagas/Fiocruz.

IST – Infecções sexualmente transmissíveis

ITRN - Inibidores da transcriptase reversa análogo ao nucleosídeo

ITRNN - Inibidores da transcriptase reversa não análogo aos nucleosídeos

ITRNt - Inibidores da transcriptase reversa análogo ao nucleotídeo (ITRNt)

LFA – Lateral Flow Assay (Ensaio de Fluxo Lateral)

OMS - Organização mundial de saúde

PCDT - protocolo clínico e diretrizes terapêuticas

PCR - Reação da Cadeia Polimerase

PVHIV - Pessoas que vivem com HIV

WB - *Western Blot*

REDCap - *Research Electronic Data Capture*

RNA – ácido ribonucleico

RFC - Reação de fixação do complemento

SK - sarcoma de Kaposi

SNC - Sistema nervoso central

TARV – Terapia antiretroviral

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

TR- Teste rápido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 HISTÓRICO.....	15
1.2 HISTOPLASMA CAPSULATUM.....	16
1.3 FATORES AMBIENTAIS.....	17
1.4 EPIDEMIOLOGIA.....	19
1.4.1 Histoplasmose no Mundo.....	19
1.4.2 Histoplasmose no Brasil.....	22
1.5 FISIOPATOGENIA DA HISTOPLASMOSE.....	26
1.6 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA HISTOPLASMOSE.....	27
1.6.1 Forma pulmonar aguda.....	28
1.6.2 Forma pulmonar crônica.....	28
1.6.3 Forma neurológica.....	29
1.6.4 Mediastinite granulomatosa e fibrose mediastinal.....	30
1.6.5 Histoplasmose disseminada.....	31
1.6.6 Formas atípicas de transmissão de histoplasmose.....	33
1.7 DIAGNÓSTICO.....	35
1.7.1 Diagnóstico Micológico e Histopatológico.....	36
1.7.2 Diagnóstico imunológico.....	37
1.7.2.1 Detecção de anticorpos.....	37
1.7.2.2 Detecção de antígenos.....	39
1.7.3 Detecção de ácido nucleico.....	40
1.7.4 Teste intradérmico.....	40
1.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL: A LINHA TÊNUE ENTRE HISTOPLASMOSE E TUBERCULOSE.....	42
1.9 ESFORÇOS MUNDIAIS NA LUTA CONTRA A HISTOPLASMOSE.....	45
1.10 TRATAMENTO DE HISTOPLASMOSE.....	46
1.11 SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA.....	47
1.11.1 Breve histórico da origem do vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV)	47
1.11.2 Ciclo de Vida de HIV-1.....	47
1.11.3 Epidemiologia do HIV.....	48
1.11.4 Diagnóstico laboratorial do HIV.....	50
1.11.5 Tratamento de HIV.....	51
1.11.6 HIV e histoplasmose.....	53
1.12 OUTROS TIPOS DE IMUNOSSUPRESSÃO.....	54
1.12.1 Glicocorticóides.....	54
1.12.2 Ciclosporinas e Tacrolimus.....	55
1.12.3 Talidomida.....	56
1.12.4 Imunossupressão no transplante de órgãos e nas doenças reumatológicas.....	56

2. JUSTIFICATIVA.....	58
3. OBJETIVO.....	59
3.1 OBJETIVO GERAL.....	59
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	59
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	60
4.1 DESENHO DO ESTUDO.....	60
4.2 CASUÍSTICA.....	60
4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	60
5. RESULTADOS.....	62
6. DISCUSSÃO.....	85
7. CONCLUSÕES.....	92
REFERÊNCIAS.....	94
APÊNDICE A - Questionário do Redcap.....	104

1. INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO

Entre 1905 e 1906 a histoplasmose foi descrita pela primeira vez por Samuel Taylor Darling, ao observar em exame microscópico a presença de numerosos corpos arredondados e ovais no interior de macrófagos em materiais de necropsia de casos suspeitos de uma doença similar à Leishmaniose visceral. Os três primeiros casos observados pelo patologista americano procediam da região do Canal do Panamá com quadro de leucopenia, febre irregular e hepatoesplenomegalia (LACAZ et al., 2009). O novo microrganismo foi classificado como protozoário e recebeu o nome de *Histoplasma capsulatum* por estar presente no interior de histiócitos (DARLING, 1906).

Nova análise do agente etiológico foi realizada pelo pesquisador brasileiro Henrique Rocha Lima em 1912, o qual concluiu tratar-se de um fungo (ROCHA-LIMA, 1912). Passados 22 anos, realizou-se o primeiro cultivo de *Histoplasma capsulatum* reconhecendo seu caráter dimórfico. Em 1934, De Monbreun foi o pioneiro em conseguir obter o crescimento do fungo na forma filamentosa e produzir infecção em animais de laboratório a fim de verificar a transição para a fase leveduriforme, comprovando assim, o dimorfismo do fungo (DE MONBREUN, 1934).

Emmons (1949) foi o primeiro a obter o isolamento do fungo em solo, relacionando o habitat de galinhas como a fonte de infecção mais importante para o homem e animais. Zeidberg (1952) estudou o caso de uma família que se mudou para uma casa em área rural, no entorno de Clarskburg (MaryLand, USA), cujo sótão era habitado por morcegos. A quantidade de excretas no sótão e nas áreas adjacentes à casa e o isolamento de *H. capsulatum* de vários lugares ao redor da residência sugeriram que esta era a fonte de infecção da doença. Quarenta e cinco de 66 (68%) amostras de solo foram positivas para *H. capsulatum*. O autor concluiu que a presença de morcegos era o fator responsável pela infestação do solo (ZEIDBERG et al., 1952).

No Brasil, o primeiro caso de histoplasmose foi relatado por Almeida e Lacaz em 1939, ao isolarem *H. capsulatum* a partir de um fragmento de biópsia de uma lesão de cromomicose (ALMEIDA; LACAZ, 1939).

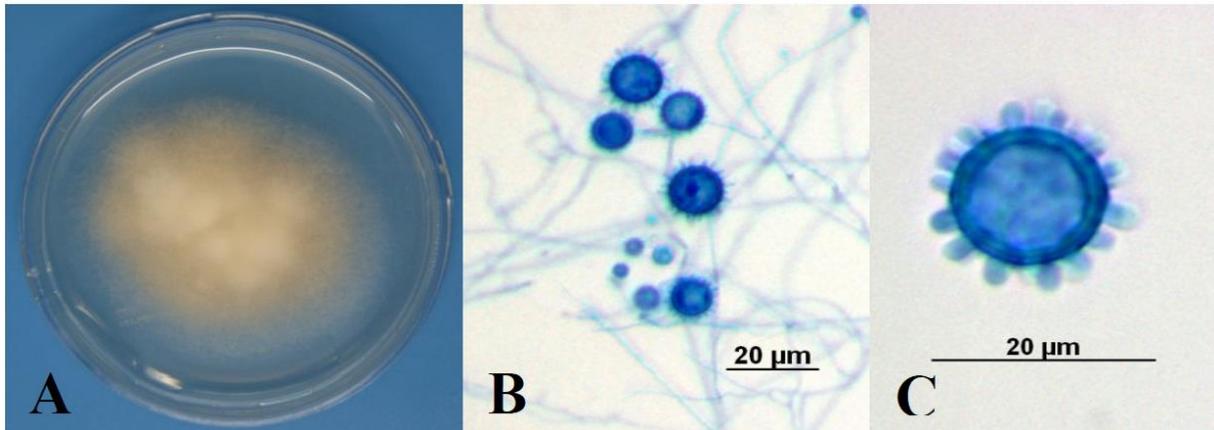
1.2 HISTOPLASMA CAPSULATUM

Histoplasma capsulatum é um fungo termodimórfico e geofílico, eucarioto pertencente ao Reino Fungi, encontra-se no filo Ascomycota, classe Eurotiomycetes, ordem Onygenales, família Onygenacea, gênero *Histoplasma* (*Ajellomyces*), espécie *Histoplasma capsulatum*, englobando três variedades distintas: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, responsável por histoplasmose clássica ou cosmopolita (NEGRONI, 2005); *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, cujo termo mais utilizado é “histoplasmose africana”, assim chamada por ser restrita a esse continente e a variedade *farciminosum*, que não infecta humanos, sendo de interesse da medicina veterinária, pois é causador da linfangite epizoótica em cavalos e mulas do sudeste e centro da Europa, sudeste da Ásia, meio-leste do Japão e nordeste da África (KWON-CHUNG; BENNETT, 1992).

Histoplasma capsulatum variedade *capsulatum* é a de maior importância no continente americano. No ambiente encontra-se sob forma filamentosa a uma temperatura menor que 35°C (saprofitismo) e nos tecidos de mamíferos infectados (a 37°C) assume a morfologia de levedura (parasitismo) (ZANCOPÉ-OLIVEIRA; MUNIZ; WANKE, 2013).

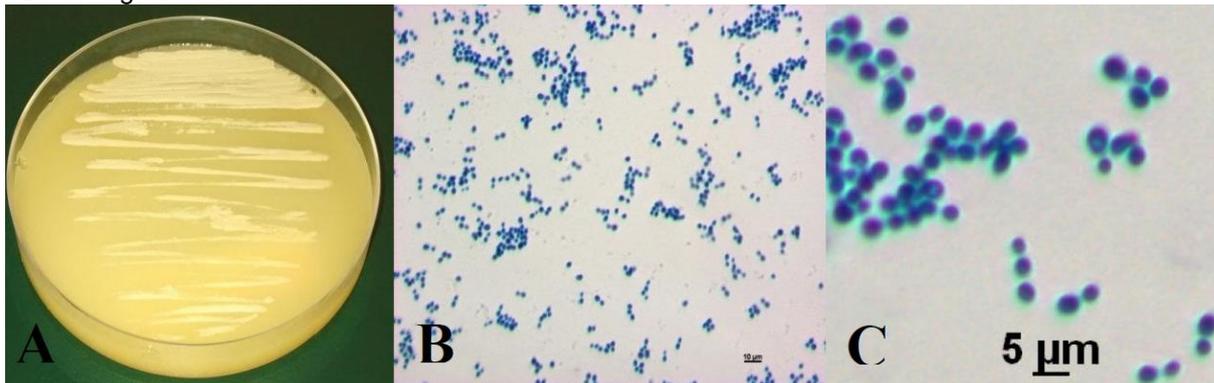
Quando cultivado em Agar Sabouraud na temperatura entre 25°C e 30°C, forma colônias filamentosas com a tonalidade variando entre o branco e o bege. Ao exame microscópico destas colônias podem ser observados macroconídios e microconídios. Os macroconídios são tuberculados, medem em torno de 8µm a 15µm e possuem parede espessa. Os microconídios possuem paredes lisas, de proporções variáveis entre 2µm a 4µm, como observado na **figura 1**. A levedura não é encapsulada, embora no tecido corado pela hematoxilina-eosina pareça ser envolta por uma zona clara podendo ser verificada na **figura 2** (KAUFFMAN, 2009).

Figura 1 - *Histoplasma capsulatum* (Fase filamentosa). (A) Cultivo da fase filamentosa. (B) e (C) Aspectos microscópicos da fase filamentosa com micro e macroconídios característicos. Corados por lactofenol azul de algodão. 40 e 100X



Fonte: ALMEIDA (2014)

Figura 2 - *Histoplasma capsulatum* (Fase leveduriforme). (A) Cultivo da fase leveduriforme. (B) e (C) Aspectos microscópicos da fase leveduriforme com leveduras unibrotantes. Corados por lactofenol azul de algodão. 10 e 40X.



Fonte: ALMEIDA (2014)

1.3 FATORES AMBIENTAIS

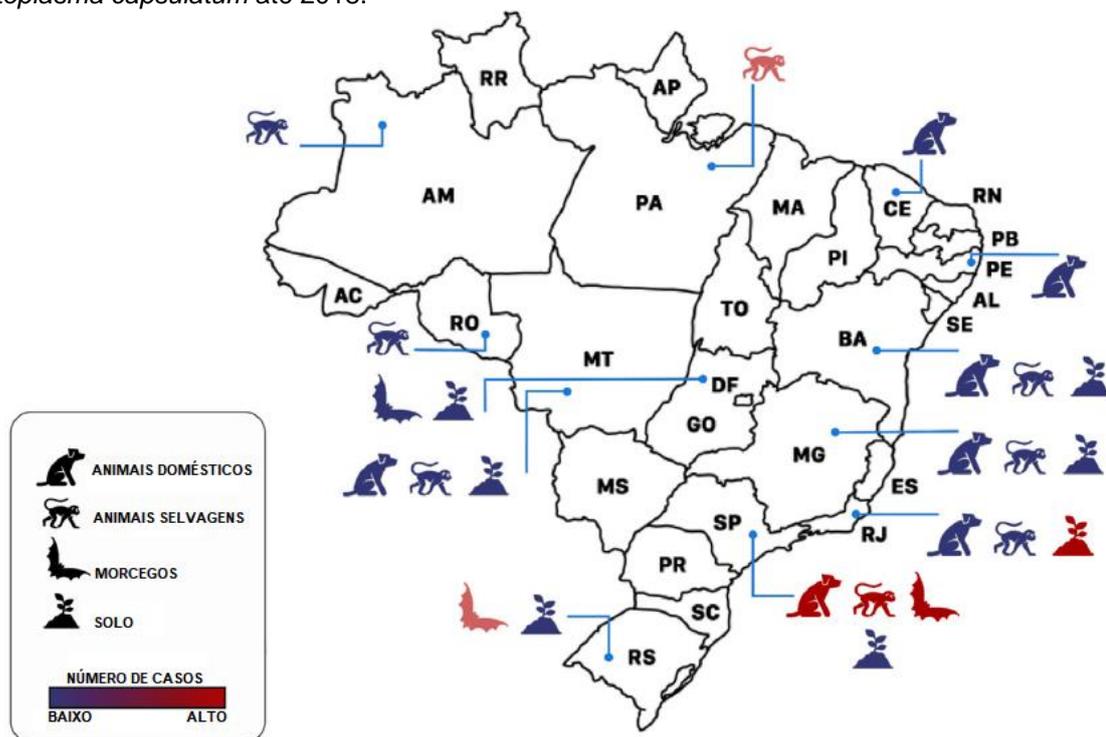
Histoplasma capsulatum é um fungo que possui estreita relação com certos fatores ambientais, como umidade, temperatura e tipo de solo. As características ambientais propícias para o fungo são de temperatura média anual de 22°C a 29°C, como nas regiões tropicais e subtropicais; umidade relativa do ar entre 60-80%, e elevado índice pluviométrico de 800 a 1200 mm/ano; porém a cada dia há mais relatos de casos autóctones de histoplasmose em regiões com condições climáticas divergentes (CORREIA, 2012; KAUFFMAN, 2007).

O fungo é encontrado principalmente em solos ácidos (com pH entre 5 e 10) com altos teores de compostos nitrogenados de baixo peso molecular e fosfatos devido ao acúmulo principalmente de excretas de aves e morcegos (KAUFFMAN,

2009). Locais como cavernas, construções antigas ou abandonadas, forros, sótãos ou porões de casas, galinheiros, árvores ocas e campos cultiváveis são importantes fontes de infecção. Um grama de solo contaminado pode conter até seis mil propágulos fúngicos infectantes, além disso, a própria movimentação do solo proporciona a dispersão dos microconídios pelo ar (LONDERO; WANKE, 1988).

A infecção por *H. capsulatum* já foi detectada em várias espécies de animais, dentre eles, cães, felinos, roedores, primatas, quirópteros, marsupiais, equinos (LARSH, 1975; ZANCOPÉ-OLIVEIRA; WANKE, 1986; TAYLOR et al., 1996; REYES-MONTES et al., 2009; CANTEROS et al., 2010) (**Figura 3**). As aves não são infectadas nem portadoras do fungo devido à sua elevada temperatura corporal, contudo suas excretas favorecem o crescimento do fungo no ambiente (KAUFFMAN, 2009).

Figura 3 - Locais no território brasileiro onde houve detecção nos animais e no ambiente de *Histoplasma capsulatum* até 2018.



Fonte: Adaptado de ALMEIDA et al. (2019)

Dos vários animais suscetíveis à infecção, o morcego exerce também o papel de disseminador do fungo na natureza, devido ao intenso parasitismo das células de sua mucosa intestinal, que apresentando lesões, acabam por eliminar o fungo nas suas excretas, desempenhando um importante papel no ciclo biológico do

H. capsulatum na natureza (TAYLOR et al., 2000; DIAS et al., 2011). Os morcegos são os únicos mamíferos com capacidade de voar, representam cerca de um quarto de toda a fauna de mamíferos do mundo constituindo o segundo maior grupo de mamíferos. Podemos encontrá-los em grandes metrópoles nos mais diversos ambientes; em lajes e forros de construções urbanas, bem como também em parques e áreas de vegetação (HOFF; BIGLER, 1981). Os morcegos insetívoros ocorrem em quase todo o mundo e compreendem cerca de 70% das espécies. São frequentemente encontrados nas áreas urbanas, atraídos pela população de insetos, que por sua vez são atraídos pela iluminação pública. Os morcegos insetívoros exercem importante papel ecológico nos centros urbanos controlando a população de insetos; os que se alimentam de néctar, pólen ou frutos têm um papel significativo na polinização de uma grande variedade de espécies de plantas (GOULD, 1955).

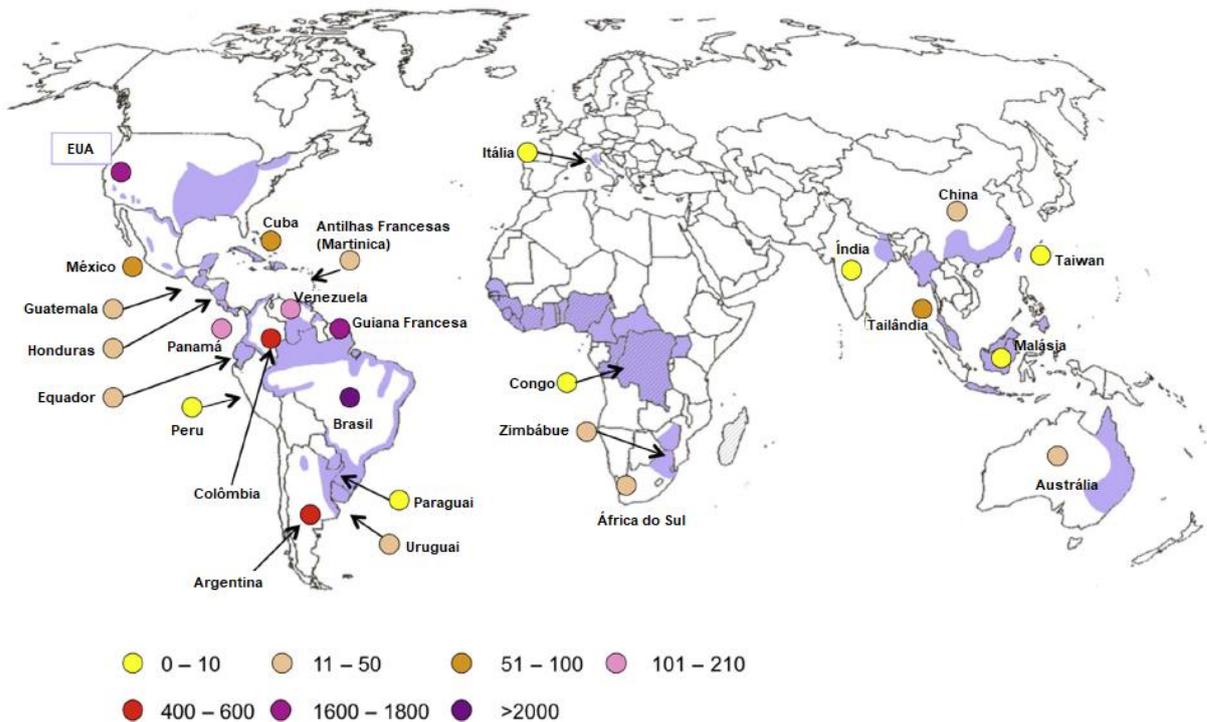
Estão distribuídos por todo o mundo com exceção das regiões polares e de ilhas muito afastadas dos continentes. No Brasil, habitam todo o território nacional ocorrendo na Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal, no árido Nordeste, nos pampas gaúchos e áreas urbanas (REIS et al., 2007).

1.4 EPIDEMIOLOGIA

1.4.1 Histoplasrose no Mundo

A histoplasrose tem uma ampla distribuição geográfica, detectando-se casos autóctones em mais de 60 países (NEGRONI, 2005). No entanto, apresenta nítido predomínio nas Américas, leste da Ásia, Oceania e na África Subsaariana (FARINA et al., 2005). Nas Américas, estende-se desde o sul do Canadá até as regiões centrais da Argentina. As zonas endêmicas mais importantes se situam nos vales do Rio Mississipi, Missouri e Ohio na América do Norte; na Bacia do Rio da Prata e na Serra do Mar na América do Sul (NEGRONI, 2005). Poucos casos autóctones foram descritos na Europa (NEGRONI, 2005). Na **figura 4** é possível ver a distribuição geográfica de *H capsulatum var. capsulatum* (em círculos) e *H capsulatum var. duboisii* (área de sombra). Os círculos indicam o número de casos publicados de histoplasrose autóctone associada à aids.

Figura 4 - Distribuição geográfica de casos publicados de *H capsulatum* var. *capsulatum* e de *H capsulatum* var. *duboisii* autóctones associada a aids.



A histoplasmose é a micose endêmica de maior importância nos Estados Unidos da América e dentre as micoses sistêmicas, ela é a causa do maior número de hospitalizações e mortes (WHEAT, 2016).

Grande parte do conhecimento sobre histoplasmose veio de relatos de epidemias resultantes da exposição de indivíduos a uma mesma fonte de infecção, sendo mais facilmente reconhecidas por afetarem um grupo de pessoas ao mesmo tempo (WHEAT et al., 1982). Em Indianápolis, EUA, cidade com mais de um milhão de habitantes, ocorreu uma das maiores epidemias de histoplasmose, logo após desmatamento de um bosque. O vento levou a poeira a prédios vizinhos resultando em 120.000 pessoas presumivelmente infectadas, 488 casos da doença e 60 casos fatais ou com histoplasmose muito grave (WHEAT et al., 1982). Perto de Nashville, EUA, em 1977, o proprietário de uma área que continha um carvalho centenário convidou 42 amigos para transformá-lo em toras. Quatorze dias depois, 48% dos participantes tiveram a forma pulmonar aguda da doença, três tiveram que ser hospitalizados e dois cachorros adoeceram apresentando quadro de lesões pulmonares (WARD et al., 1979). Estima-se que em Indianápolis, até 30% dos

pacientes com aids manifestam a doença, enquanto que em Dallas, Texas, este número é de quatro a 5% (ANDREU et al., 1996).

Uma coorte estudada entre 1990 a 1993, 304 pacientes HIV positivos, na cidade de Kansas (EUA), revelou uma incidência para histoplasmose de 4,7%. Dos 304 pacientes estudados, 20 desenvolveram histoplasmose disseminada (MCKINSEY et al., 1997). A partir dos relatos de casos de histoplasmose, têm sido realizados inquéritos com antígenos do fungo em diversos locais, no intuito de mapear a presença desse fungo, além de quantificar o risco da exposição ao mesmo (ANDREU et al., 1996).

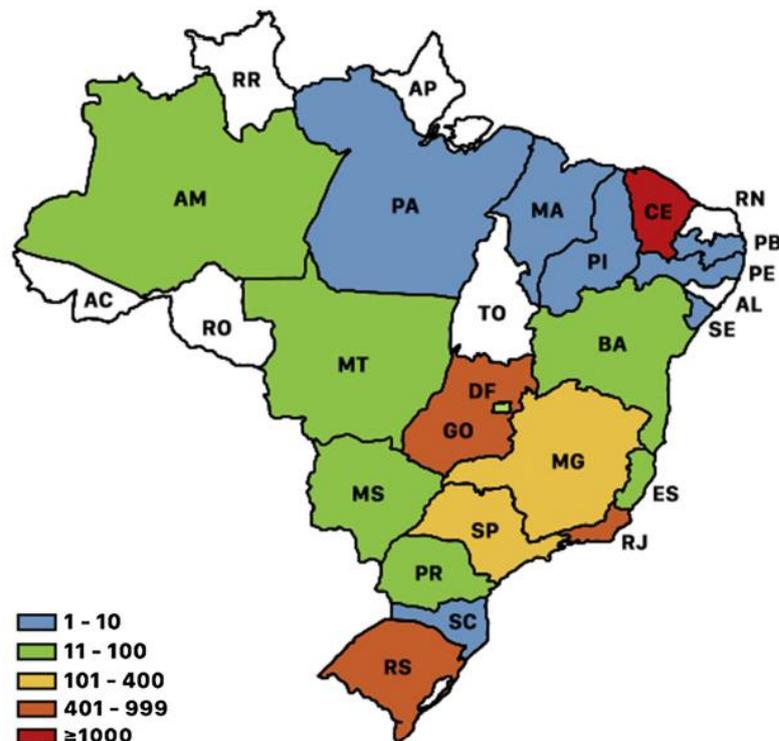
Em pesquisa de reatividade à histoplasmina, realizada em uma província de Cuba com 392 trabalhadores de granjas avícolas, Hernandez et al. (1992) encontraram uma positividade de 28,8% (113 trabalhadores). Em uma região do Panamá, um estudo realizado por Gutierrez et al. (2005) de 1997 a 2003, dos 2.379 pacientes admitidos na enfermaria de aids do hospital em estudo, 182 pacientes com HIV ou aids apresentaram cultura positiva para *Histoplasma capsulatum*.

Em 2013 foi relatado um surto multinacional de histoplasmose. Vinte e quatro estudantes de biologia viajaram para Uganda, em 2011, onde permaneceram um mês realizando trabalho de campo em florestas locais. Doze dias após o fim da viagem, treze dos 24 estudantes apresentaram histoplasmose aguda expressando os seguintes sinais e sintomas: 77% dispneia, 61% febre, 53% tosse, 30% dor torácica, 25% fadiga, 15% cefaleia, 15% suor noturno, 7% perda ponderal. Do grupo que adoeceu, dois eram naturais dos Países Baixos, três do Reino Unido, um da Suíça, um da Irlanda, um da Suécia, um da Áustria, um da Polônia, um do Quênia, um de Madagascar e um da África do Sul. Já de volta aos seus respectivos países de origem; seis dos pacientes adoecidos tiveram o diagnóstico errôneo de tuberculose, cinco foram diagnosticados com histoplasmose pelos métodos de reação de fixação do complemento (RFC) e imunodifusão (ID); dois necessitaram de hospitalização, um deles necessitou de cuidados intensivos e todos os 13 foram curados e sobreviveram (COTTLE, et al., 2013).

1.4.2 Histoplasmose no Brasil

Há descrições de casos de histoplasmose em todo o território nacional, particularmente nas regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste do Brasil (GUIMARÃES; NOSANCHUK; ZANCOPÉ-OLIVEIRA 2006; DASMACENO et al., 2013). No entanto, a real dimensão do problema é subestimada já que a notificação desta micose é compulsória apenas em Goiás (ALMEIDA et al.; 2019). A **figura 5** mostra a distribuição geográfica dos casos de histoplasmose notificados no Brasil no período de 1939 a 2018.

Figura 5 - Distribuição geográfica do número de casos de histoplasmose publicados no Brasil (1939–2018).



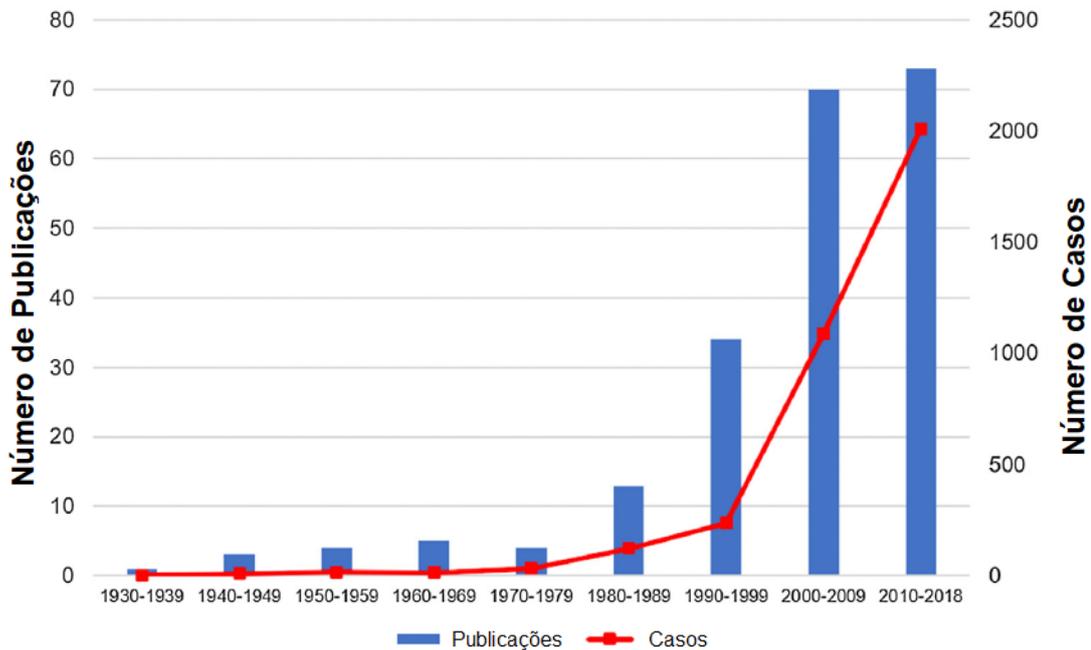
Fonte: ALMEIDA et al. (2019)

O isolamento de *H. capsulatum* no Brasil já foi feito tanto em amostras ambientais, tais como solo e excreta de morcegos, quanto em amostras provenientes de animais silvestres, domésticos e do próprio homem (ZANCOPÉ-OLIVEIRA; WANKE 1986; NAIFF et al. 1996). Numerosos inquéritos epidemiológicos realizados no Brasil, através da reação intradérmica à histoplasmina, demonstraram expressivos índices de positividade da infecção nas diferentes regiões do país (GUIMARÃES; NOSANCHUK; ZANCOPÉ-OLIVEIRA 2006).

Almeida e colaboradores (2019), realizaram uma revisão sistemática buscando descrições de casos de histoplasmoze no Brasil na literatura científica, de 1939 a dezembro de 2018, definindo os casos de histoplasmoze de acordo com o *European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group – EORTC/MSG* (DE PAUW et al., 2008), que considera caso confirmado o paciente com manifestações clínicas e achados radiológicos compatíveis com esta micose em cuja secreção, fluido corporal ou material de lesão foi observada a presença de *H. capsulatum*, por exame micológico direto, cultura ou exame histopatológico; caso provável o paciente com manifestações clínicas e achados radiológicos compatíveis com a micose e títulos de anticorpos séricos anti-*H. capsulatum* realizado por imunodifusão dupla de Ouchterlony (ID) (no consenso não tínhamos ainda o *Western Blot* [WB] validado); caso possível o paciente com manifestações clínicas e achados radiológicos compatíveis com a micose.

Ao todo foram incluídos 207 artigos publicados, totalizando 3530 pacientes com diagnóstico de histoplasmoze no Brasil no período descrito acima. Observou-se forte predomínio da doença no sexo masculino (78,3%), a idade dos pacientes variou de 3 dias a 88 anos, com maior incidência entre pessoas na faixa etária de 40 a 50 anos de idade. De acordo com os critérios diagnósticos do consenso europeu, 85,3% dos casos foram considerados comprovados, 11% prováveis e 2,6% possíveis. Clinicamente, houve predomínio da forma de histoplasmoze disseminada progressiva (n = 2882, 81.65%), seguida de histoplasmoze pulmonar aguda (n = 529, 14.99%), histoplasmoze pulmonar crônica (n = 103, 2.92%) e histoplasmoze mediastinal (n = 16, 0.44%). A **figura 6** mostra a descrição cronológica dos casos de histoplasmoze publicados no Brasil, bem como o número de publicações no período de 1939-2018.

Figura 6 - O número de publicações e número de casos relacionados ao diagnóstico de histoplasmose no Brasil, 1939–2018.



Fonte: adaptado de ALMEIDA et al. (2019)

Os achados diagnósticos foram: 570 casos (16.1%) por cultivo positivo para *H. capsulatum*; testes histológicos em 523 casos (14.8%) e exame direto em 142 casos (4%). Métodos sorológicos com detecção de anticorpos por ID e WB foram utilizados como o principal indicador de histoplasmose em 408 casos. Pela estreita relação clínica entre tuberculose e histoplasmose, 1167 pacientes foram testados para ambas as infecções, sendo observado 10,37% de coinfeção. Dois mil cento e quarenta e um pacientes (56.6%) apresentavam história de imunossupressão, sendo 97,2% HIV reagentes, 1,2% transplantados receptores de órgãos sólidos, 0,5% de pacientes com histórico de uso prolongado de corticoterapia e 0,2% de pacientes em extremos de idade.

Além dos fatores de risco para histoplasmose relacionados à imunossupressão, descrições de riscos comportamentais foram relatados por 465 (13.1%) pacientes: 313 destes pacientes (67,31%) tinham exposição conhecida a galinheiros, pássaros ou morcegos; 88 (18,92%) estavam envolvidos em trabalhos agrícolas ou residiam em uma área rural, onde a exposição ao solo contaminado teria sido uma possibilidade; e 64 (13,76%) apresentavam exposição a cavernas.

Os dados de desfecho estavam disponíveis para 2421 (68.5%) casos. Um terço dos pacientes morreu e dois terços relataram melhora ou cura. Em 149 casos (18,60% de casos fatais), o diagnóstico de histoplasmose foi realizada apenas *post-mortem* por exame histopatológico (ALMEIDA et al., 2019).

Apesar do conhecimento de que a histoplasmose é uma doença endêmica no território nacional, faltam dados numéricos concretos para se estimar sua real incidência (PRADO et al., 2009). Os dados são estimados através do número de hospitalizações de casos de histoplasmose registrados pelo Ministério da Saúde e publicações em revistas científicas (GIACOMAZZI et al., 2016).

Através desta revisão sistemática realizada por Almeida e colaboradores 2019, pode-se observar semelhanças com dados mundiais, como a forma disseminada ser mais comumente relacionada a pacientes HIV positivos (WHEAT et al., 2016). O mesmo foi observado na China e Colômbia (ARANGO et al., 2011; PAN et al., 2013).

Um estudo brasileiro prospectivo multicêntrico, envolvendo 14 centros médicos terciários nas regiões Sul (Porto Alegre, Rio Grande, Santa Maria e Curitiba), sudeste (São Paulo), centro-oeste (Goiânia), nordeste (Salvador, Natal e Fortaleza) e norte (Manaus e Macapá), foi realizado no período de outubro de 2016 à fevereiro de 2018. Foram incluídos 570 pacientes maiores de 18 anos, com HIV documentado, febre e pelo menos um destes achados clínicos: perda ponderal (> 10% do peso habitual), diarreia, infiltrado miliar em imagem de tórax, pancitopenia, linfadenomegalia, esplenomegalia ou hepatomegalia. Histoplasmose foi identificada em 123 (21.6%) pacientes. No mesmo estudo, a taxa de mortalidade geral foi de 22,1% em 30 dias, e de 14.3% em pacientes que tiveram o diagnóstico de histoplasmose por teste antigênico galactomanana (FALCI et al., 2019).

O teste cutâneo de histoplasmina e busca ativa de *H. capsulatum* no ambiente e em animais podem ser considerados ferramentas úteis para um melhor entendimento da ecoepidemiologia da histoplasmose no Brasil. Devido ao aumento do turismo nacional e internacional e atividades ao ar livre, a histoplasmose torna-se uma doença de interesse não apenas em áreas endêmicas, mas também para médicos em qualquer lugar do mundo que recebam pacientes procedentes de áreas endêmicas, como no Brasil (ALMEIDA et al., 2019).

1.5 FISIOPATOGENIA DA HISTOPLASMOSE

Usualmente a infecção dos hospedeiros se dá através das vias respiratórias ao inalar os microconídios da fase filamentosa do fungo. Adentram pelas vias aéreas superiores e se depositam nos alvéolos onde rapidamente são convertidos em leveduras nos tecidos (KAUFFMAN, 2009). A infecção por *H. capsulatum* e a expressão clínica da doença dependem de uma complexa interação do patógeno com o hospedeiro e, pelo menos três condições podem ser observadas na patogenia desta micose: o estado de competência imunológica do hospedeiro, a virulência da cepa infectante e a carga parasitária adquirida (GOODWIN; LLOYD; DES PREZ, 1981).

A infecção desenvolve-se quando *H. capsulatum* chega aos alvéolos, invade o parênquima pulmonar provocando a migração de macrófagos alveolares, bem como de polimorfonucleares, determinando pneumonia intersticial, a qual pode surgir dentro de algumas horas a alguns dias após a exposição. Durante a infecção primária, as células leveduriformes são fagocitadas, levando à ativação do sistema fagocítico mononuclear e liberação de mediadores químicos participantes do mecanismo oxidativo. Fagócitos repletos de *H. capsulatum* migram então para os linfonodos adjacentes, onde novo foco inflamatório é formado, constituindo complexo primário pulmonar. Posteriormente há ocorrência de disseminação hematogênica para órgãos como fígado, baço, medula óssea entre outros. Cerca de duas a três semanas após o início da infecção, há ativação da imunidade celular específica e linfócitos T sensibilizados que acionam macrófagos para fagocitarem e lisarem leveduras intracelulares (WHEAT; KAUFFMAN, 2003), além de promoverem a formação de granulomas, delimitando o processo tanto nos focos primários como nos secundários. Esta reação granulomatosa é seguida de necrose de caseificação, encapsulamento fibroso e frequente depósito de sais de cálcio nas lesões residuais. O controle da infecção parece estar associado com a ativação da imunidade celular, e a resolução da infecção é coincidente com a ativação e proliferação de linfócitos T, que ainda induzem os macrófagos a secretarem Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) para auxiliarem na destruição do fungo (WHEAT; KAUFFMAN, 2003).

Após a infecção primária, *H. capsulatum* pode persistir viável no interior dos granulomas durante anos (NOSANCHUK; GACSER 2008). Assim, reativação

endógena pode explicar casos de histoplasmose disseminada em indivíduos imunocomprometidos residentes em áreas de baixa endemicidade, mas que anteriormente viveram em áreas endêmicas ou viajaram para tais áreas.

Algumas características de virulência de *H. capsulatum* que atuam como facilitadores da patogênese da histoplasmose são o dimorfismo regulado pela temperatura, a sobrevivência dentro de fagolisossomos em macrófagos, a capacidade de causar infecção persistente, a modulação do pH, diferenças na expressão de genes, a capacidade de utilização de ferro e cálcio e de formar seu próprio ambiente no hospedeiro e a produção de melanina (NEMECEK; WUTHRICH; KLEIN, 2006; HILTY; SMULIAN; NEWMAN, 2011).

A necessidade de imunidade celular íntegra para a resolução da infecção justifica a elevada incidência de casos em pacientes com imunidade celular comprometida, como ocorre em pacientes com aids, ou que fazem terapia imunossupressora. Novas condições de imunossupressão acompanham os avanços da medicina e predispõem à histoplasmose. Os marcadores celulares para linfócitos B, T e macrófagos confirmam que a resposta imunológica ao *H. capsulatum* é predominantemente do tipo celular e terapias que alterem essa resposta interferem na defesa contra a invasão do fungo. Os efeitos de imunossupressores, como os inibidores TNF- α e corticoterapia, usados em doenças inflamatórias podem contribuir para o desenvolvimento de infecções granulomatosas e oportunistas, entre elas a histoplasmose (VAN DE BURG; GENNERY, 2011).

Em doses farmacológicas, os glicocorticóides podem reduzir a atividade do fator de transcrição STAT4 e, conseqüentemente, a liberação de citocinas Th1, incluindo interleucina (IL)-2 e interferon (INF)- γ , além de citocinas Th2, incluindo IL-4, IL-5 e IL-13, e reduzem a atividade do fator de transcrição GATA-3 (MANEECHOTESUWAN et al., 2009).

1.6 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA HISTOPLASMOSE

A maioria das infecções primárias (>90%) é assintomática. Alguns indivíduos apresentam formas semelhantes ao estado gripal, não requerendo assistência médica (GOODWIN; LLOYD; DES PREZ, 1981; MELHEM, 2010). Em geral o fungo parasita todos os tecidos do sistema monocítico-histiocitário, a exemplo de pulmões, fígado, baço, linfonodos e estruturas linfáticas do tubo digestivo. A partir daí, a

resposta tissular do hospedeiro contra a infecção vai determinar a extensão da doença (WU-HSIEH; HOWARD, 1993).

O estado do sistema imunitário (por exemplo, presença de imunodeficiência adquirida, genética, induzida e neoplasias), nutricional, a idade do hospedeiro e a carga fúngica infectante inalada determinam a evolução clínica da doença (GOODWIN; LLOYD; DES PREZ, 1981).

1.6.1 Forma pulmonar aguda

Infecções autolimitadas do trato respiratório são a forma clínica mais comum em indivíduos imunocompetentes. A forma pulmonar aguda ocorre após duas ou três semanas da inalação abundante de conídios de *H. capsulatum*. Os sintomas são inespecíficos e podem ocorrer com intensidade variada, como febre, cefaleia, anorexia, tosse seca, dor torácica com desconforto respiratório. A radiografia de tórax pode apresentar infiltrado lobar uni ou bilateral com linfadenopatia hilar (SEVERO et al., 2001; ROSSINI; GOULART, 2006). Na maioria dos casos, esta forma clínica tende a regredir sem tratamento específico em duas a quatro semanas (FERREIRA et al., 2009).

Outras manifestações podem ocorrer em 5% dos pacientes, como o eritema nodoso e o eritema multiforme, manifestações cutâneas de caráter autoimune secundárias a reação de hipersensibilidade causada por *H. capsulatum*, que ocorrem principalmente em mulheres jovens; também mialgias e artralguas, seguidas de artrite autolimitada poliarticular e simétrica (KAUFFMAN, 2007). No diagnóstico diferencial deve-se incluir blastomicose pulmonar e pneumonias comunitárias por germes atípicos (*Mycoplasma*, *Clamidia*, *Legionella*). Uma anamnese cuidadosa pode auxiliar bastante no diagnóstico, com ênfase em atividades laborais e/ou recreativas que envolvam áreas de risco ou viagens para áreas endêmicas. (KAUFFMAN, 2007).

A histoplasnose pulmonar aguda é observada em casos isolados ou sob a forma de surtos epidêmicos (KAUFFMAN, 2007).

1.6.2 Forma pulmonar crônica

A forma pulmonar crônica ocorre principalmente em adultos acima dos quarenta anos de idade que apresentam doença estrutural pulmonar preexistente.

As lesões fúngicas tendem a ocorrer nos ápices pulmonares adjacentes a bolhas enfisematosas, causando lenta e progressivamente a formação de fibrocavitações (FERREIRA et al., 2009). Os sintomas mais comumente encontrados são: fadiga, anorexia, febre, sudorese noturna, perda de peso, tosse produtiva e dispneia. As manifestações pulmonares são semelhantes às de outras doenças que acometem o aparelho respiratório, especialmente a tuberculose pulmonar crônica, entre outras micobactérias não tuberculosas (Complexo *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium kansasii*), micoses endêmicas como coccidioidomicose, blastomicose, esporotricose e também sarcoidose (FERREIRA et al., 2009; KAUFFMAN, 2007). Quando não diagnosticada e tratada adequadamente a doença pode evoluir para insuficiência respiratória aguda grave. Entretanto, não há tendência de disseminação hematogênica (FERREIRA et al., 2009).

1.6.3 Forma neurológica

Infecção do sistema nervoso central (SNC) por *H. capsulatum* ocorre em 5 a 10% dos casos de histoplasmose disseminada. O reconhecimento clínico, diagnóstico e tratamento da histoplasmose em SNC não são muito bem caracterizados. Achados clínicos, testes diagnósticos, tratamento e condução dos casos são baseados em relatos de casos e pequenas séries de casos descritos na literatura. Estes estudos demonstram que os achados clínicos mais comuns na forma neurológica da histoplasmose são meningite crônica, lesão focal em SNC, encefalites e hidrocefalia (WHEAT et al., 2018).

Um estudo multicêntrico retrospectivo avaliou relatos de casos publicados de histoplasmose em SNC no período de 1997 à 2010. Os pesquisadores recrutaram os sobreviventes que foram previamente diagnosticados com histoplasmose no SNC assim constando 77 casos de uma amostra de conveniência. O diagnóstico confirmatório dos casos foi feito através do isolamento de *Histoplasma capsulatum* por meio de cultivo e/ou achado histopatológico compatível com *Histoplasma capsulatum* no SNC. Diagnóstico provável foi traçado a partir de achado imunológico por antígeno ou anticorpo anti-*Histoplasma* no líquido e possível diagnóstico apenas por achados clínicos. Antígeno *Histoplasma* ou anticorpos anti-*Histoplasma* foram detectados em 75% dos líquido cefalorraquidianos avaliados (WHEAT et al., 2018).

Dos 77 casos descritos, 71% eram imunocomprometidos, 13% com idade superior a 54 anos e 16% de indivíduos saudáveis previamente com idade inferior a

55 anos. Manifestações no SNC foram os primeiros sinais e sintomas clínicos em 84% dos pacientes com histoplasmosse disseminada: cefaleia 60%, confusão mental 37%, rigidez de nuca 17%, ataxia 8%, fraqueza 6%, alterações visuais 12%, alteração do estado mental 42%, déficit neurológico focal 30%. A temporalidade das manifestações clínicas foi de: menos de uma semana em 26%; entre 1 e 2 semanas em 8%; entre 2 e 4 semanas em 24%; entre 5 e 26 semanas em 29% e mais de 26 semanas em 12%. O tempo entre as manifestações clínicas e diagnóstico foi de: menos de 1 semana em 11%; entre 1 e 2 semanas em 17%; entre 2 e 4 semanas em 14%; entre 5 e 26 semanas em 31%; mais de 26 semanas em 27% (WHEAT et al., 2018).

Este é o maior estudo de histoplasmosse em SNC. A sobrevida em um ano foi de 75% entre os pacientes tratados inicialmente com anfotericina B, principalmente os que receberam anfotericina B desoxicolato ou lipossomal. A mortalidade foi maior entre os imunocomprometidos e imunocompetentes com mais de 54 anos (WHEAT et al., 2018).

A terapêutica ideal não é bem estabelecida e há altas taxas de falhas terapêuticas (~20%) e recidiva da doença (~40%). A anfotericina B lipossomal é o antifúngico de escolha, pois atinge maiores concentrações no SNC que a anfotericina B desoxicolato e anfotericina complexo lipídico. O tratamento deve ser por tempo prolongado, a posologia recomendada é 3–5 mg/kg/dia com uma dose total de 100 a 150 mg/kg por 6 a 12 semanas. E o tratamento de manutenção indicado pode ser feito com fluconazol ou itraconazol por no mínimo 1 ano ou no caso de paciente HIV, até que a contagem de CD4+ esteja acima de 150 céls/mm³ (WHEAT; MUSIAL; JENNY-AVITAL, 2005).

1.6.4 Mediastinite granulomatosa e fibrose mediastinal

O acometimento linfonodal na histoplasmosse pulmonar pode causar complicações no mediastino gerando mediastinite granulomatosa, caracterizada pelo aumento importante e necrose caseosa dos linfonodos mediastinais, processo que pode ocorrer de meses a anos após a forma pulmonar aguda (KAUFFMAN, 2007).

A maioria dos pacientes é assintomática, e a suspeita clínica se dá pela visualização de alargamento de mediastino em radiografia de tórax, com confirmação por biópsia ou aspiração do conteúdo caseoso do linfonodo. Na maioria dos casos é um processo benigno com resolução espontânea, através da

calcificação dos linfonodos acometidos, não necessitando de tratamento específico (KAUFFMAN, 2007). A fibrose mediastinal pode ser uma evolução rara da mediastinite granulomatosa, que pode ser fatal em alguns casos, pois leva a fibrose e compressão importante das estruturas nobres mediastinais, condição que pode ocasionar o óbito (KAUFFMAN, 2007).

1.6.5 Histoplasmose disseminada

A histoplasmose disseminada manifesta-se quando ocorre a disseminação linfohematogênica extrapulmonar do fungo pelo organismo do hospedeiro acometendo principalmente os órgãos hematolinfopoiéticos (MELHEM, 2010).

Pacientes com resposta ineficaz de células T falham em reagir contra a infecção por *H. capsulatum* e manifestam a fase aguda de disseminação fúngica. Postula-se que alguns histiócitos poderiam ser ineficazes em eliminar o agente fúngico, mantendo sua viabilidade e proliferação dentro de macrófagos com subsequente disseminação.

Crianças de baixa idade sem história de exposição ao fungo e provavelmente pela imaturidade imunológica celular, pacientes portadores de HIV com imunodeficiência avançada, transplantados, diabéticos, doenças hematológicas, doença de *Whipple*, imunodeficiências congênitas e aqueles sob terapia com corticoides ou agentes quimioterápicos, fazem parte do grupo de risco para histoplasmose disseminada. Os modos de aquisição da infecção neste grupo acima descrito incluem tanto a exposição exógena quanto a reativação de uma infecção latente (PARVANEH et al., 2013; WU-HSIEH; HOWARD, 2013).

Os sintomas mais prevalentes de histoplasmose disseminada incluem febre, astenia, anorexia e perda ponderal. Ao exame físico nota-se hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia, anemia, petéquias em caso de pancitopenia, ulcerações de membrana mucosa e manifestações dermatológicas variadas, como úlceras, nódulos, pápulas, lesões verrucosas e pontos necróticos. As formas graves da histoplasmose disseminada, em casos de aids e crianças, podem apresentar-se como sepse, com disfunção orgânica manifesta por hipotensão, coagulação intravascular generalizada, insuficiência renal e desconforto respiratório agudo (KAUFFMAN, 2007).

Os resultados laboratoriais revelam aumento de diversos parâmetros, ainda que inespecíficos: fosfatase alcalina, velocidade de hemossedimentação, expressão

de ferritina, proteína C-reativa, desidrogenase láctica e pancitopenia. Hipercalcemia, apesar de menos frequente, pode ser observada, assim como ocorre para outras doenças granulomatosas. Síndrome hemofagocítica reativa pode ocorrer na histoplasmose disseminada em casos de aids (JABR et al., 2019; KAUFFMAN, 2007). Na doença disseminada pode não haver comprometimento pulmonar em cerca de 10 a 30% dos casos, o que ressalta a importância de se considerar o diagnóstico de histoplasmose mesmo na ausência de sintomas, ou evidências radiográficas, de acometimento desse sítio. Na radiografia pulmonar apresenta infiltrados difusos, unilateral ou bilateral, com aspecto micronodular com opacidades, que é a imagem mais frequente; o envolvimento de linfonodos do mediastino é variável (WHEAT et al., 2016). A disseminação hepática e gastrointestinal da histoplasmose ocorre via sistema reticulo-endotelial, incluindo células de Kupffer do fígado e macrófagos teciduais do trato gastrointestinal. A proeminência de macrófagos, lotados de células de *H. capsulatum*, dentro de sinusoides distendidos e hiperplasia com células sinusoidais de Kupffer foi também observado. Muitos casos permanecem assintomáticos, ou apresentam sintomas abdominais leves, sendo revelados apenas em exames de necropsia. Os sinais e sintomas observados são: febre, diarreia, hemorragia, dor abdominal, disfagia, náusea, vômitos, obstrução intestinal, hepatoesplenomegalia e icterícia; elevação de transaminases séricas é uma regra nesses casos (WHEAT et al., 2016; ENGELMANN et al., 2019).

Os achados anatomopatológicos incluem: úlceras (50%) em geral no íleo, mas também, em jejuno, cólon, esôfago e estômago; nódulos de mucosa (21%), hemorragia ou petéquias (13%), hiperplasia linfoide (15%) e grandes massas obstrutivas-histoplasmomas (6%) são descritas. O diagnóstico diferencial para as lesões inflamatórias da histoplasmose gastrointestinal inclui a doença intestinal inflamatória idiopática (colite ulcerativa e doença de Crohn), sarcoidose e infecções intestinais bacterianas (MELHEM, 2010).

As lesões de mucosa em casos de histoplasmose disseminada são mais comuns do que as relatadas em outras micoses sistêmicas, com exceção da paracoccidiodomicose. A disseminação de foco pulmonar para cavidade oral, sem nenhuma outra localização da doença, pode também ocorrer. Apesar da clínica de histoplasmose, essa forma deve ser considerada um sinal de doença disseminada (MELHEM, 2010).

Histoplasma capsulatum tem capacidade de invasão em qualquer órgão na forma disseminada da doença, mas ao contrário de outras micoses sistêmicas pode se localizar em topografia isolada, apresentando-se em única manifestação clínica, como, por exemplo, Doença de Addison, decorrente da destruição extensa de ambas as glândulas adrenais. A sintomatologia comum nestes casos inclui: febre, astenia, hipotensão ortostática, náusea e vômitos. Laboratorialmente revelam hipercalcemia, hiponatremia e eosinofilia (ROBINSON et al., 2019).

O diagnóstico rápido é essencial nos casos suspeitos de histoplasmose disseminada, para a instauração imediata de terapia antifúngica, dada a gravidade dessa forma da doença (MELHEM, 2010).

1.6.6 Formas atípicas de transmissão de histoplasmose

Sabe-se que a forma clássica de transmissão da histoplasmose ocorre pela inalação de microconídios produzidos durante a proliferação filamentosa saprofítica de *H. capsulatum* (KAUFFMAN, 2009). Contudo, há relatos de casos que mostraram formas atípicas e mesmo raras de transmissão que devem ser lembradas e divulgadas para as equipes de saúde.

Em 1988 foram relatados três casos de histoplasmose disseminada fatal em dois lactentes no primeiro trimestre de vida e em um caso em neonato de três dias, este último considerado um caso de histoplasmose congênita. Nos três casos, as crianças eram procedentes da cidade do Rio de Janeiro. O primeiro caso tratou-se de um menino, branco e com idade de dois meses e oito dias, cuja mãe tinha história gestacional sem intercorrências. Havia descrição de cansaço desde o nascimento, porém familiares procuraram serviço de emergência devido a vômitos pós-prandiais e diarreia. Internado aos dois meses e oito dias, grave, com distensão abdominal, hepatomegalia e circulação colateral. Foi a óbito no segundo dia de internação hospitalar por enterocolite com perfuração e hemorragia digestiva (FERREIRA; BORGES, 1988).

O segundo caso era de uma criança do sexo masculino, branca que nasceu com critérios de gravidade devido à distensão abdominal importante e pneumoperitônio. Foi a óbito em 72 horas após o nascimento. O terceiro caso trata-se de uma criança do sexo feminino, com 2 meses de idade. Não há detalhes clínicos descritos no relato. As três crianças foram submetidas a necropsia e as alterações microscópicas encontradas eram muito semelhantes nestes três

pacientes. Em todos os casos havia comprometimento dos pulmões, fígado, baço e gânglios linfáticos, com reação inflamatória e necrose. Nos cortes histológicos o fungo encontrado em focos de necrose foi identificado morfológicamente como *H. capsulatum* (FERREIRA; BORGES, 1988).

O diagnóstico etiológico, no entanto, poderia ser questionado porque não foi complementado pelo isolamento do fungo em cultivo. Os cortes histológicos de diversos órgãos foram enviados para o *Centers for Disease Control* (CCD) que pela técnica de imunofluorescência direta confirmou tratar-se de *H. capsulatum* nos três casos relatados.

No caso dois, a transmissão congênita não deixa dúvida, porque a criança já nascera com as manifestações da doença, indo a óbito no terceiro dia de vida extrauterina, tempo insuficiente para o período de incubação caso o contágio fosse exógeno. Assim foi descrito o primeiro caso de transmissão vertical de histoplasmose (FERREIRA; BORGES, 1988).

Outra interessante descrição de infecção atípica é a histoplasmose cutânea primária. As lesões cutâneas ocorrem em 4 a 11% dos pacientes e resultam de invasão secundária da pele em formas disseminadas da infecção (STUDDARD, 1976). A histoplasmose cutânea primária constitui uma entidade clínica extremamente incomum na literatura. Na maioria dos casos relatados, a lesão ocorreu, provavelmente, por implantação traumática do agente etiológico na pele (ALVARADO, AVENDANO, SALFELDER, 1976; GIESSEL, RAU, 1980; TESH, SCHNEIDAU, 1966).

Em 2003, um homem de 45 anos que deu entrada pelo ambulatório de Leishmaniose tegumentar no INI. Branco, militar, natural do Rio Grande do Sul e residente do Rio de Janeiro-RJ. Quinze dias após ter frequentado um túnel infestado de morcegos onde rastejou em treinamento militar, observou lesão única em dorso da mão direita. Foi realizada biópsia do bordo da lesão eritemato-pápulo-tuberosa medindo 1,5 x 1,0 cm com vértice ulcerado e recoberto com crostas com linfadenomegalia regional associada. O estudo de cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina e pelo Grocott demonstrou um processo inflamatório crônico, com diferenciação epitelióide granulomatosa focal, associado a foco de necrobiose, sem evidenciação de fungos ou parasitos. A presença de *H. capsulatum* foi evidenciada após cinco semanas de observação dos cultivos do fragmento de lesão em meio Ágar-Sabouraud incubados a 25°C. O estudo sorológico por imunodifusão

dupla para histoplasmose foi negativo. Não foi encontrada evidência de envolvimento sistêmico ou imunossupressão. Houve remissão completa da lesão ao final de 6 semanas de uso de 400mg diários de itraconazol. O tratamento foi mantido por 6 meses e posterior acompanhamento do paciente por um ano, com resolução completa do caso (SAHEKI et al., 2008).

Foi realizada uma extensa revisão da literatura, sendo encontrados apenas dezoito casos de histoplasmose cutânea primária. Desde o primeiro caso, de 1947, descrito por Curtis e Cawley até 1975, foram relatados seis casos em indivíduos imunocompetentes: dois associados a acidente laboratorial (TESH, SCHNEIDAU, 1966; TOSH et al., 1964), dois sem antecedentes de trauma (SYMMERS, 1956), um associado a trauma no pé (ALVARADO, AVENDANO, SALFELDER, 1976) e uma suposta transmissão venérea (SILLS, SCHWARTZ, WEG, 1973).

As manifestações clínicas foram variáveis e, de modo algum, diagnósticas. Apesar da descrição clássica da histoplasmose como uma lesão única de aspecto cancriforme (TESH, SCHNEIDAU, 1966; TOSH et al., 1964) o diagnóstico clínico torna-se difícil por sua natureza polimórfica e inespecífica (COUPPIE et al., 2002; COHEN et al., 1990), confundindo-se com uma variedade de doenças infecciosas e não infecciosas, sobretudo em indivíduos imunocomprometidos ou após franca exposição ao fungo (SOO-HOO, ADAM, YUSOF 1980). Em indivíduos imunocompetentes, a infecção costuma ser autolimitada e regredir sem tratamento específico (TESH, SCHNEIDAU, 1966; TOSH et al., 1964). Nestes pacientes, os cultivos podem estar negativos em 90% dos casos. Devido seu curso benigno, a lesão cutânea poderia passar despercebida ou não ser diagnosticada corretamente, o que poderia explicar o pequeno número de casos relatados na literatura (GIESSEL, RAU, 1980).

1.7 DIAGNÓSTICO

É de suma importância iniciar a abordagem do tema “diagnóstico” salientando suas dificuldades. Trata-se de uma doença pleomórfica de expressão clínica inespecífica, sendo considerada uma grande mimetizadora de inúmeras outras doenças; além disso, é pouco conhecida entre os médicos clínicos e outros profissionais da saúde; há poucas informações e divulgação limitada sobre regiões

endêmicas desta micose, e a histoplasmose não está incluída na lista de doenças de notificação compulsória no Brasil, sendo a sua real incidência desconhecida (NACHER et al., 2016). Além dos impasses clínicos e epidemiológicos, há a falta de acessibilidade ao diagnóstico laboratorial em grande parte das regiões endêmicas (SCHEEL, GÓMEZ, 2014).

1.7.1 Diagnóstico Micológico e Histopatológico

Pela identificação de *H. capsulatum* em materiais biológicos através do exame microscópico direto e principalmente através do cultivo chega-se ao diagnóstico definitivo. No exame microscópico direto, a observação da presença de pequenas células leveduriformes, arredondadas ou ovoides, unibrotantes, medindo de 2 a 4 µm de diâmetro, indica fortemente tratar-se de *H. capsulatum*, em preparações de esfregaços corados ao Giemsa, com hematoxilina-eosina ou por prata de Gomori-Grocott (GMS). *Histoplasma capsulatum* é visto como elementos ovalados ou arredondados dentro de macrófagos. A sensibilidade do exame microscópico direto em geral é baixa, mesmo com colorações específicas e está relacionada à forma clínica: 10% na histoplasmose pulmonar aguda, 40% na pulmonar crônica e menor que 25% na forma disseminada (WHEAT, 2003; GUIMARÃES; NOSANCHUK; ZANCOPÉ-OLIVEIRA 2006).

É através do cultivo de tecido e/ou fluidos corporais em meios especiais para isolamento, como Agar Sabouraud e Mycosel, incubados a 25°C durante seis a doze semanas, que se chega à confirmação do diagnóstico. Nestas condições, incubado a 25°C, *H. capsulatum* inicialmente aparece como colônias glabras, que com o tempo tornam-se filamentosas, aéreas, algodoadas, de coloração branca, compostas microscopicamente por uma trama miceliana, caracterizada por hifas hialinas septadas e ramificadas, microconídios de 2 a 4 µm de diâmetro e macroconídios tuberculados de 8 a 10 µm de diâmetro em vários estágios evolutivos.

A conversão desta fase para a forma leveduriforme é observável após repiques da fase filamentosa da colônia suspeita em meios enriquecidos, tais como Agar sangue, Agar infusão cérebro-coração, ambos acrescidos de cisteína, e ML Gema com incubação a 35-37°C. Quando convertidos, observam-se colônias lisas, branco-amareladas, úmidas, apresentando à microscopia, leveduras ovais,

unibrotantes, de morfologia uniforme. No entanto, *H. capsulatum* não converte facilmente, dependendo da exigência de nutrientes, condições de temperatura e ainda, das características fisiológicas de cada cepa (LACAZ et al. 2009).

O isolamento e identificação do fungo em cultivo, considerado método de referência ou padrão-ouro do diagnóstico, apresentam limitações uma vez que é um processo muito lento, fastidioso, que dura de 6 a 12 semanas e ainda as culturas podem ser negativas em muitos pacientes com formas brandas de histoplasmose, limitando sua utilização nestes casos. Pacientes com histoplasmose disseminada e crônica apresentam cultivos positivos provenientes de seus espécimes clínicos, no entanto, mesmo nestes casos a cultura pode ser falso-negativa em 20% dos casos disseminados e 50% dos casos crônicos (WHEAT et al., 1997).

O diagnóstico histopatológico da histoplasmose é baseado na observação de macrófagos parasitados com células leveduriformes em cortes corados pela hematoxilina-eosina. As leveduras aparecerão como um corpúsculo ligeiramente basofílico, esférico ou ovalado, medindo de dois a quatro micrômetros de diâmetro, rodeado por um halo claro delimitado por uma parede celular muito fina e hialina, podendo apresentar um brotamento estreito variável (CUNHA et al. 2007).

Outras colorações utilizadas são a impregnação argêntea de Gomori-Grocott (GMS) e ácido periódico de Shiff (PAS), nas quais, a parede celular do fungo é fortemente corada, permitindo a visualização de leveduras unibrotantes, pequenas, ovais ou arredondadas. No entanto, a positividade deste método gira em torno de 50,0%, ocorrendo ainda resultados falso-positivos com outros fungos como *Candida glabrata*, *Penicillium marneffeii*, *Pneumocystis jirovecii* ou artefatos de coloração (WHEAT et al. 2002).

1.7.2 Diagnóstico imunológico

1.7.2.1 Detecção de anticorpos

Na ausência de métodos micológicos, a sorologia apresenta-se como um importante instrumento para o diagnóstico presuntivo da histoplasmose, pois avalia indiretamente a presença do patógeno no hospedeiro, pela detecção de anticorpos e/ou antígenos específicos. Segundo Guimarães, Nosanchuk e Zancopé-Oliveira (2006), as técnicas de ID de Ouchterlony (OUCHTERLONY, 1962) e reação de

fixação do complemento (RFC) (KAUFMAN, 1992) são as duas principais técnicas utilizadas na rotina laboratorial devido a sua conveniência, disponibilidade e precisão. Entretanto, a ID, técnica altamente específica, com valores próximos a 100%, apresenta limitações quanto à sensibilidade (70-100%), na qual os anticorpos específicos podem não ser detectáveis até quatro a seis semanas após o aparecimento dos sintomas, fornecendo resultados falso-negativos (PIZZINI et al., 1999; GUIMARÃES; NOSANCHUK; ZANCOPÉ-OLIVEIRA 2006). A RFC, embora muitas vezes seja mais sensível (72,8-94,3%) que a ID, pode apresentar reatividade cruzada com soro de pacientes infectados com *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* e *Coccidioides posadasii*, *Paracoccidioides brasiliensis* e *Candida sp* (WHEAT et al., 1986).

A ID detecta a presença de anticorpos por meio da reação com precipitinas específicas H e M, sendo uma análise qualitativa em que se reconhece como positiva a detecção de uma ou duas linhas de precipitação, as linhas H e M. A linha H usualmente coexiste com a linha M, no entanto, frequentemente a linha M se apresenta como única. A linha H geralmente aparece depois da linha M e está presente no soro de pacientes com histoplasmose ativa e, em alguns pacientes, persiste por um a dois anos após a recuperação clínica, porém desaparece antes que a linha M e está presente em apenas 7% dos soros de pacientes com histoplasmose aguda na sua fase inicial (WHEAT, 2001). Anticorpos anti-antígeno M são desencadeados na histoplasmose aguda ou crônica e em parte dos indivíduos sensibilizados após o teste cutâneo com histoplasmina (ROSSINI; GOULART 2006; KAUFFMAN, 2007). O tempo necessário para desenvolvimento de anticorpos anti-*Histoplasma capsulatum* é de duas a seis semanas. A presença de ambas as precipitinas (H e M) é considerada conclusiva para o diagnóstico da histoplasmose, embora a condição de doença exija a avaliação clínica do paciente (GUIMARÃES; NOSANCHUK; ZANCOPÉ-OLIVEIRA 2006).

Western Blot é um imunodiagnóstico promissor capaz de detectar anticorpos anti-*Histoplasma capsulatum*. É um método qualitativo; o aparecimento de uma banda (anti-H e/ou anti-M) em um WB indica a presença de anticorpos na amostra testada (PIZZINI et al., 1999).

Houve um estudo unicêntrico de validação deste método diagnóstico no INI, verificando-se que o *WB* é uma excelente ferramenta para auxiliar o diagnóstico da histoplasmose (sensibilidade de 95%, especificidade de 94% e acurácia de 94%)

podendo acelerar o diagnóstico e reduzir mortalidade (ALMEIDA, 2016). As vantagens do *WB* quando comparado aos exames sorológicos de rotina foram: a identificação da infecção antes da soroconversão detectada pelos métodos de ID e RFC, mostrando maior sensibilidade e especificidade; além disso, é um teste mais rápido do que os outros métodos sorológicos como também mais fácil de ser aplicado (GUIMARÃES et al., 2004; PIZZINI et al., 1999).

1.7.2.2 Detecção de antígenos

A detecção de antígenos no diagnóstico da histoplasmose pode ser influenciada pela forma clínica da doença. Atualmente a detecção de antígeno para o polissacarídeo de *H. capsulatum* na urina e no soro é utilizado, e é realizado através de imunoenensaio enzimático (EIA), teste que permite não só qualificar, mas quantificar o antígeno presente. Em pacientes com aids e histoplasmose disseminada progressiva a sensibilidade do exame é de 95-100% dos casos para urina e 92-100% para amostras de soro (ADENIS; AZNAR; COUPPIÉ, 2014; HAGE et al., 2011; KAUFFMAN, 2007). A antigenúria para histoplasmose pode ser usada para acompanhar a resposta ao tratamento e seus níveis estão relacionados com a gravidade da doença. Os resultados mais expressivos são para os casos de aids com histoplasmose disseminada progressiva, mas o exame também pode ser usado para auxílio diagnóstico e seguimento de pacientes imunocompetentes ou com histoplasmose pulmonar, porém com uma menor positividade, em torno de 50-60% para os quadros pulmonares. Há que se ressaltar ainda a possibilidade de reação cruzada em pacientes com a blastomicose, paracoccidiodomicose, talaromicose e aspergilose. Além disso, pacientes com quadros crônicos ou formas mediastinais da doença podem não apresentar resultados positivos do exame (ADENIS; AZNAR; COUPPIÉ, 2014; HAGE et al., 2011).

Uma nova ferramenta diagnóstica aplicável é o exame imunocromatográfico-LFA, o qual revelou sensibilidade de 96% e especificidade de 90% quando aplicado a leitura visual. Um fator limitante é reação cruzada com outras micoses, particularmente com paracoccidiodomicose (CACERES, 2020).

1.7.3 Detecção de Ácido Nucleico

Os testes de reação em cadeia da polimerase (PCR) permitem resultados rápidos, com boa sensibilidade e especificidade, porém não há testes comerciais disponíveis para uso de rotina na prática clínica (KAUFFMAN, 2007; SCHEEL; GOMEZ, 2014). Um estudo multicêntrico, realizado por cinco laboratórios, teve por objetivo avaliar três diferentes protocolos de PCR para detecção de *H. capsulatum* (PCR convencional, aninhada e em tempo real), no qual a sensibilidade geral destes protocolos foi de 86,0% e a especificidade de 100%. Todas as metodologias foram capazes de amplificar DNA de *H. capsulatum*, e sugerem que a PCR em tempo real seja uma ferramenta promissora para a detecção eficiente deste patógeno em amostras clínicas (BUIRAGO et al. 2013).

1.7.4 Teste intradérmico

Os testes cutâneos com histoplasmina têm amplo uso em inquéritos epidemiológicos nas áreas endêmicas e indicam exposição ao agente, porém não revelam a micose em atividade. Além disso, não é utilizado como teste diagnóstico porque apresenta reação cruzada com outros fungos, e não tem boa sensibilidade para pacientes com infecção ativa, não sendo mais utilizados na rotina clínica (KAUFFMAN, 2007).

Esta técnica permite avaliar a resposta de hipersensibilidade tipo IV mediada por células onde o aparecimento de uma induração com mais de cinco milímetros de diâmetro no local da inoculação após 24 a 48 horas, indica um contato prévio com este fungo (KAUFFMAN, 2007).

A reação negativa não significa somente ausência de infecção, mas também pode significar infecção recente ou fase terminal da doença. Resultados falso-positivos podem acontecer em virtude de reações cruzadas com outros fungos (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* e *C. posadasii*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Aspergillus spp.* e *Sporothrix spp.*) e falsos negativos em pacientes imunodeprimidos (BULMER; BULMER, 2001; ZHAO et al. 2001).

Tabela 1 - Testes diagnósticos disponíveis em diferentes continentes.

Região	País	Cultura	CF	ID	Ab ELISA	Ag ELISA	Outros
América do Norte	México	E	—	L para E	[51]	—	Precipitação em tubo capilar (CTP)
	Estados Unidos	E	CA	E, CA	CA	CA	CA; AccuProbe® e outros
América Central	El Salvador	L	—	—	—	—	—
	Guatemala	E	—	—	—	—	—
	Honduras	L	—	—	—	—	—
	Panamá	L para E	—	U	—	—	—
Caribe	Cuba	E	—	E	[57,58]	—	—
	Jamaica	E	—	—	—	—	CA; kit de identificação de leveduras
América do Sul	Porto Rico*	E	CA	CA	CA	CA	—
	Argentina	E	E	E	—	—	Immunoblot
	Brasil	E	E	E	—	—	Western Blot
	Colômbia	E	E	E	—	[26]	—
	Equador	L para E	U	L para E	—	—	Exame de fezes
	Guiana Francesa	E	—	L para E	—	[26]	—
	Suriname	E	—	—	—	[26]	—
	Venezuela	E	E	U	U	—	—
África	Camarões	—	—	—	—	—	—
	Chade	—	—	—	—	—	—
	Quênia	—	—	—	—	—	—
Ásia	China	L para E	—	—	—	—	—
	Índia	L para E	—	—	—	—	—
	Tailândia	L para E	L para E	—	—	—	—

* Porto Rico é um estado livre associado aos EUA

Abreviações: L = disponibilidade limitada; E = disponibilidade extensiva; CA = disponível comercialmente; U = desconhecido.

Fonte: Adaptado de SCHEEL; GÓMEZ (2014)

1.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL: A LINHA TÊNUE ENTRE HISTOPLASMOSE E TUBERCULOSE

Um frequente dilema acompanha os profissionais da saúde: distinguir clínica e laboratorialmente a histoplasmose da tuberculose e a possibilidade de existência da coinfeção tuberculose/histoplasmose especialmente em pacientes com imunossupressão avançada consequente ao HIV. A problemática torna-se ainda maior em países onde ambas as doenças são endêmicas (DEEP, 2015).

A tuberculose é uma das principais doenças oportunistas em todo o mundo, estimada em 1,3 milhões de casos novos ao ano e 300.000 mortes ao ano em pessoas vivendo com HIV (WHO, 2019). A histoplasmose vem sendo reportada em todo o mundo, mas é nas Américas que ganha destaque (DEEP, 2015). Não há estimativa global de casos de histoplasmose nas pessoas vivendo com HIV, e em muitos países endêmicos a estimativa desta micose é subdimensionada pela falta de dados (MACEDO-VINAS; DENNING, 2018; MEDINA et al., 2017; MANDENGUE; NGANDJIO; ATANGANA, 2015).

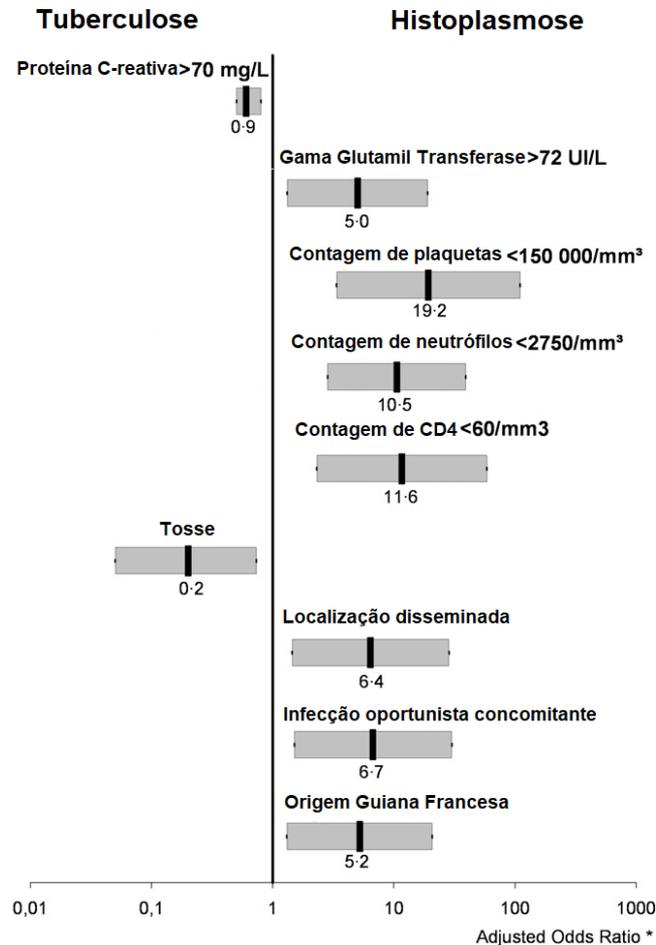
A necropsia é uma ferramenta importante para elucidar diagnósticos difíceis pela observação clínica como também laboratorialmente em doenças graves e com desfechos não raro fatais. Esta possibilita o diagnóstico das doenças que não foram suspeitadas ou elucidadas antes do óbito. Um estudo realizado na Fundação de Medicina tropical do Amazonas, no período de 1996 a 2003, verificou causas de óbito em 129 pacientes com aids observando o grau de concordância entre os diagnósticos necroscópicos com os diagnósticos clínicos. A causa mais frequente de óbito foi a tuberculose 28%, seguida de pneumonia bacteriana 17%, histoplasmose 13%, toxoplasmose 10%, pneumocistose 8%, criptococose 5%, sepse bacteriana 4% e 15% outras causas. A concordância entre o diagnóstico clínico *antemortem* e a necropsia foi de 51,9%. As doenças que não foram diagnosticadas *antemortem*: pneumonia bacteriana 23%, histoplasmose 20%, tuberculose 19%, toxoplasmose 10%, pneumocistose pulmonar 6%, criptococose 5%, meningoencefalite viral 3%, sepse bacteriana, meningite bacteriana, sarcoma de Kaposi, cirrose hepática, acidente vascular cerebral, hepatite medicamentosa e linfoma (2%) cada. Observa-se que junto com a tuberculose, a histoplasmose foi uma das doenças menos diagnosticadas na avaliação clínica *antemortem* (SOUZA et al., 2008). Os autores não definiram a proporção de coinfeção, mas afirmam que as principais

associações na *causa mortis* foram tuberculose e pneumonia bacteriana, pneumonia bacteriana e pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*, histoplasmose e tuberculose, histoplasmose e toxoplasmose.

Em 2004, foram descritos os aspectos epidemiológicos e clínico-laboratoriais de 111 casos de histoplasmose disseminada provenientes do Rio Grande do Sul, no período de 25 anos (1977-2002). Características da doença foram analisadas em pacientes com e sem aids. Nos HIV positivos foi encontrado um predomínio de adulto jovem (21 a 57 anos); foi instituída terapêutica empírica para tuberculose em 25,7% dos casos e o tempo decorrido dos primeiros sintomas até o diagnóstico correto foi maior que 1 mês em 55,7% dos pacientes. O retardo diagnóstico foi decorrente da confusão com outras doenças granulomatosas, especialmente tuberculose, contribuindo para uma evolução desfavorável mesmo depois de instituída terapêutica antifúngica específica (UNIS, 2004).

Um estudo retrospectivo realizado na Guiana Francesa, verificou dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais de 205 pacientes infectados por HIV, no período de 1997 a dezembro de 2008. Foram excluídos pacientes co-infectados com tuberculose e histoplasmose. Noventa e nove pacientes (48,3%) apresentavam diagnóstico de tuberculose (por cultivo e identificação de *Mycobacterium tuberculosis*) ou histoplasmose (por exame direto e/ou cultivo de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*). Resultados similares em ambos os grupos foram: tuberculose e histoplasmose apresentaram-se como doenças definidoras de aids; baixa proporção de pacientes usando terapia antirretroviral e profilaxia com sulfametoxazol-trimetoprima; febre e perda ponderal foram os sinais mais comumente encontrados (ADENIS et al., 2014). Manifestações clínicas e laboratoriais do artigo citado podem ser visualizadas na **Figura 7**.

Figura 7 - Comparação de resultados com significância estatística ($p < 0.05$) em análise multivariada comparando histoplasmose e tuberculose.



Fonte: Adaptado de ADENIS et al. (2014)

No exame físico inicial, sintomas pulmonares foram mais frequentes nos diagnosticados com tuberculose (78%) do que os com histoplasmose (49%), $p < 0.001$. Tosse e dor torácica foram os achados mais frequentes em pacientes diagnosticados com tuberculose. Já manifestações abdominais foram mais frequentes em pacientes diagnosticados com histoplasmose (70%) do que com tuberculose (48%), $p < 0.001$. Hepatomegalia e/ou esplenomegalia foram significativamente mais frequentes nos casos de histoplasmose. A contagem de CD4 foi baixa em ambos os grupos, porém menor na histoplasmose (mediana de $37/\text{mm}^3$, IQR= 15-84) do que na tuberculose (mediana de $111/\text{mm}^3$, IQR= 48-259) (ADENIS et al., 2014). Pode-se notar na figura 7 que dados laboratoriais de rotina, como níveis de gama glutamil transferase, foram mais elevados na histoplasmose, e

plaquetopenia e neutropenia muito mais frequentes nesses pacientes; por outro lado, proteína C reativa foi mais elevada nos pacientes com tuberculose.

1.9 ESFORÇOS MUNDIAIS NA LUTA CONTRA A HISTOPLASMOSE

A Organização Mundial da Saúde (OMS) e o *Center Disease Control* (CDC) reconheceram a histoplasmose disseminada progressiva como infecção oportunista definidora de aids em 1987, ressaltando-a como uma doença potencialmente fatal. Nas últimas décadas houve um avanço significativo dos conhecimentos na epidemiologia, diagnóstico e tratamento da histoplasmose disseminada associada ao HIV. Em 2017, a OMS reconheceu a histoplasmose como uma infecção oportunista significativa e uma das principais causas de morte em pacientes com doença avançada por HIV, especialmente nas áreas hiperendêmicas (WHO, 2017). Além disso, em 2017 a OMS adicionou o itraconazol à “Lista de Medicamentos Essenciais” para adultos no tratamento de infecções fúngicas selecionadas, incluindo este medicamento no tratamento da histoplasmose (WHO, 2017). Esta ação beneficiou nações com recursos limitados assim permitindo o acesso ao itraconazol.

Em abril de 2018, o “*Global Action Fund for Fungal Infections*” organizou uma conferência em colaboração com vários parceiros para reunir especialistas e revisar as evidências dos diagnósticos *in vitro* disponíveis para infecções oportunistas, incluindo a histoplasmose. Recomendou-se fortemente o método de detecção de antígenos de *Histoplasma* como diagnóstico essencial tanto em áreas endêmicas quanto em áreas não endêmicas como teste de referência para casos de histoplasmose (BONGOMIN et al., 2019). No mesmo ano a OMS acatou este método diagnóstico (WHO, 2019)

Em março de 2019, a Declaração de Manaus sobre histoplasmose nas Américas e no Caribe lançou a meta “100 até 2025”, estabelecendo que até 2025 todos os países deveriam ter acesso ao teste rápido para histoplasmose (detecção de antígeno ou reação em cadeia da polimerase / molecular), disponibilidade de itraconazol, formulações convencionais (desoxicolato) e lipídicas de anfotericina B no setor público. Apesar da implantação global da terapia antirretroviral, a histoplasmose permanece um importante desafio clínico e de saúde pública em países subdesenvolvidos e emergentes, devido ao seu elevado potencial de letalidade.

A histoplasmose disseminada progressiva deve ser sempre considerada na avaliação de um paciente com aids. A instrução das equipes de saúde reduzirá o subdiagnóstico e diagnóstico errôneo de histoplasmose, e o acesso a ferramentas diagnósticas e terapêuticas antifúngicas impactará positivamente na sobrevivência (INPA, 2019).

1.10 TRATAMENTO DE HISTOPLASMOSE

Norteia-se o tratamento para histoplasmose de acordo com a manifestação clínica da doença. Na infecção primária em hospedeiros imunocompetentes a maioria dos casos é leve e autolimitado, não sendo necessária terapia específica. Casos onde o paciente foi exposto à elevada carga fúngica, cepas virulentas ou o hospedeiro apresenta o seu *status* imunológico comprometido, há manifestações clínicas graves, progressivas e, conseqüentemente, há necessidade de terapia antifúngica variável conforme cada caso (WHEAT, 2007).

Os medicamentos itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol, isavuconazol e anfotericina B *in vitro* mostraram-se ativos contra *H. capsulatum*. Na prática médica, os antifúngicos de escolha são itraconazol e anfotericina B.

Anfotericina B é um antibiótico poliênico, com ação fungicida para histoplasma, que se apresenta em formulação convencional ou lipídicas. É a droga de escolha para tratamento inicial de formas graves e disseminadas e pode ser usada como monoterapia (WHEAT, 2007). Anfotericina B desoxicolato se decompõe lentamente, em solução, e sob a ação da temperatura e da luz; mas apresenta elevada toxicidade renal. Como estratégia para reduzir os efeitos colaterais, surgiram as apresentações lipídicas. Todas as formulações têm características organodepositárias, permanecendo na circulação em níveis terapêuticos por 48 horas, com meia vida sérica de 15 dias. São excretadas principalmente pela via renal (JOHNSON et al., 2002).

O itraconazol é um derivado triazólico fungistático disponibilizado comercialmente em 1983. Exerce função específica sobre o citocromo P450 dos fungos, causando alteração e rompimento da membrana citoplasmática destes microrganismos. A biodisponibilidade do itraconazol apresentado em cápsulas após administração por via oral em jejum é de 40% e junto com os alimentos pode chegar a 100%. Interação medicamentosa é um fator limitante para o uso de itraconazol

(DISMUKES et al., 1992). Tem baixa biodisponibilidade, e é dependente da acidez gástrica para boa absorção. Não é indicado para tratamento inicial em pacientes com doença grave, mas como continuação do tratamento após o uso de anfotericina B. Entretanto, para formas leves é indicado como tratamento de primeira linha, e apresenta boas respostas em 85% dos casos (ADENIS; AZNAR; COUPPIÉ, 2014).

Em pacientes com histoplasmose disseminada progressiva e coinfeção com o HIV, recomenda-se tratamento inicial por pelo menos duas semanas com anfotericina B, seguida de terapia de manutenção com itraconazol, por doze meses após o início do tratamento ou até a melhora dos níveis de CD4⁺ (WHEAT, 2007).

1.11 SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

1.11.1 Breve histórico da origem do vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV)

No início de 1981, a publicação de duas pequenas séries de casos clínicos, relatando o aparecimento de doenças oportunistas, até então raras, em indivíduos jovens previamente saudáveis, é considerada um marco na história do conhecimento da aids (CDC, 1981; HYMES et al., 1981). O vírus HIV-1 foi isolado em 1983 por Luc Montaigner, na França e, em 1984, por Robert Gallo, nos EUA, recebendo os nomes de LAV (Lymphadenopathy Associated Vírus ou Vírus Associado à Linfadenopatia) e HTLV-III (Human T-Lymphotropic Vírus ou Vírus T-Linfotrópico Humano tipo III) respectivamente nos dois países. Em 1986 foi identificado um segundo agente etiológico, também um retrovírus, com características semelhantes a HIV-1, porém menos agressivo, denominado HIV-2 (CDC, 1986; BARRE-SINOUSI, 1996). Em 1986, o Comitê Internacional de Taxonomia, de acordo com as normas internacionais, reconheceu que HIV pertencia à família Retroviridae e ao gênero Lentivírus (CDC, 1986).

1.11.2 Ciclo de Vida de HIV-1

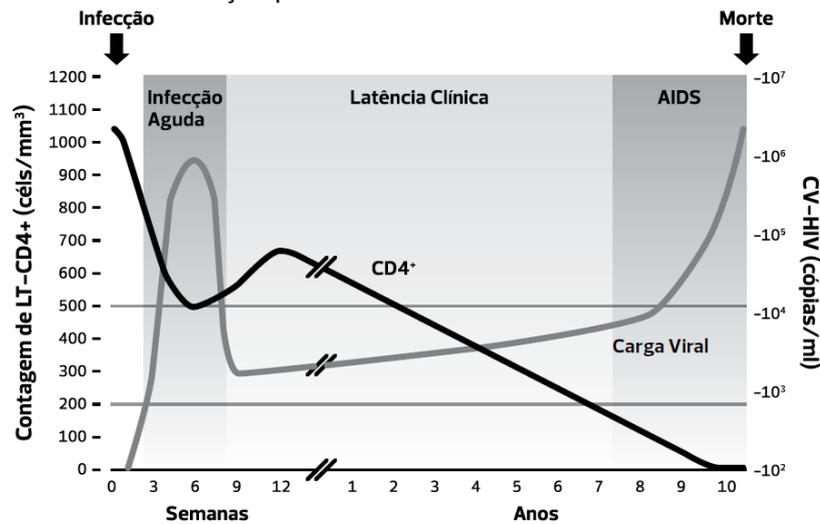
A entrada de HIV na célula inicia com a interação da glicoproteína gp120 do vírus com a superfície dos receptores CD4⁺ das células do hospedeiro encontrados nos linfócitos T e macrófagos. Esta interação ocasiona mudanças na forma da gp120 que favorece a participação de correceptores, principalmente CCR5 e CXCR4. A ligação do HIV aos correceptores é necessária para ativar a glicoproteína

gp41 que facilita a fusão das membranas viral e celular. Uma vez ocorrida a fusão, a parte interna do vírus, no capsídeo, composta pelo RNA e enzimas necessárias para a replicação é absorvida pela célula humana. Em seguida, a enzima viral denominada transcriptase reversa recodifica o material genético do HIV, convertendo-o de RNA para DNA complementar (cDNA) ou DNA pró-viral. O cDNA é transportado para dentro do núcleo celular, onde sofre clivagens específicas e é integrado ao DNA da célula do hospedeiro pela ação da enzima integrase. Somente quando houver ativação da célula hospedeira será iniciada a transcrição do DNA em RNA mensageiro que será traduzido em proteínas virais. A enzima protease do HIV é importante na fase final da replicação para clivar a proteína viral precursora em proteínas individuais maduras. O RNA e as proteínas virais agrupam-se na superfície celular como um novo vírion e são assim liberados para infectar outra célula (CUNICO et al. 2008; KLIMAS; KONERU; FLETCHER, 2008).

1.11.3 Epidemiologia do HIV

O fator de maior relevância para a transmissão sexual do vírus HIV é o número de cópias por ml plasmático de HIV. A cada acréscimo de 1 \log_{10} na carga viral, há um aumento de 2.4 vezes no risco de transmissão sexual do HIV. A infecção aguda pelo HIV é uma forma relevante para a cadeia de transmissão devido à sua elevada carga viral plasmática. A queda de 0.7 \log_{10} na carga viral plasmática, reduz em 50% o risco de transmissibilidade. Infecções sexualmente transmissíveis (especialmente as que geram lesões genitais ulceradas), gestação, sexo anal receptivo, e diversos parceiros sexuais também são fatores que colaboram para o aumento no risco de transmissão do HIV (MAARTENS; CELUM; LEWIN, 2014). Nas **figura 8** é possível verificar a cronologia da infecção pelo HIV na infecção aguda, latência clínica e AIDS e seus impactos no valor de CD4 e carga viral.

Figura 8 - História natural da infecção pelo HIV.



Fonte: BRASIL, 2018.

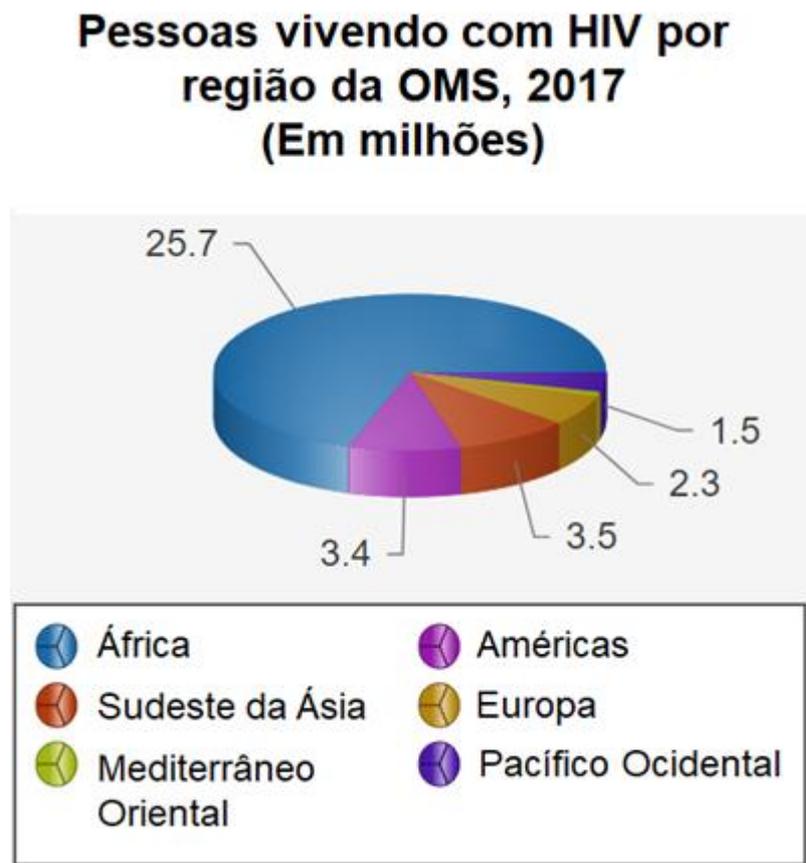
De acordo com dados lançados pela UNAIDS, até o final de 2018:

- 37.9 milhões (32.7 – 44.0 milhões) de pessoas estavam vivendo com HIV, sendo 36.2 milhões de adultos e 1.7 milhões de crianças (idade < 15 anos). Dentre esta população, 79% conhecem seu status de infecção pelo HIV e em torno de 8.1 milhões de pessoas desconhecem seu status infeccioso;
- 1.7 milhões (1.4 – 2.3 milhões) de pessoas infectaram-se recentemente com HIV;
- 770.000 (570.000 – 1.1 milhões) pessoas foram a óbito por doenças relacionadas ao HIV;
- 74.9 milhões (58.3 – 98.1 milhões) de pessoas infectadas pelo HIV desde o início da epidemia até o final de 2018;
- 32 milhões (23.6 – 43.8 milhões) de pessoas morreram de doenças relacionadas ao HIV desde o início da epidemia até o final de 2018;
- Até o final de junho de 2019, 24.5 milhões (21.6 – 25.5 milhões) pessoas vivendo com HIV tiveram acesso à terapia antirretroviral.
- Em relação a novas infecções, houve uma redução de 40% desde o pico ocorrido em 1997. Em 2018, ocorreram em torno de 1.7 milhões (1.4 – 2.3 milhões) de novas infecções pelo vírus do HIV. No ano de 1997, registraram-se 2.9 milhões (2.3 – 3.8 milhões) de casos novos de HIV.
- Mulheres:
 - * semanalmente, 6.000 mulheres na idade de 15 – 24 anos são infectadas pelo HIV. Na África Sub-Saariana, 4 a cada 5 novos casos de infecção em adolescentes com a idade entre 15 – 19 anos, ocorrem no sexo feminino;

* mais de 1/3 (35%) de mulheres em todo o mundo passaram por experiência de violência física ou sexual por seus parceiros, e assim têm 1.5 maior probabilidade de adquirir HIV do que mulheres que não passaram por tais situações (UNAIDS, 2019).

A **figura 9** representa a distribuição mundial de pessoas vivendo com HIV.

Figura 9 - Dados de HIV segundo a OMS.



Fonte: Adaptado de WHO (2019)

1.11.4 Diagnóstico laboratorial do HIV

Nos últimos anos, diversas ações buscando a ampliação do acesso ao diagnóstico do vírus foram realizadas, em especial a disponibilização de testes rápidos para HIV em serviços de saúde não especializados. Infelizmente, uma parcela considerável das pessoas que vivem com HIV (PVHIV) ainda realiza o diagnóstico do HIV em estágios avançados da doença, em que o risco de adoecimento grave e morte é consideravelmente maior. As PVHIV sem

conhecimento da sua condição sorológica e, portanto, sem terapia antirretroviral, além de não usufruírem dos inúmeros benefícios do tratamento, perpetuam a cadeia de transmissão do vírus, contribuindo para a manutenção da epidemia (BRASIL, 2018).

É fundamental que os profissionais de saúde ofereçam a testagem para o HIV e outras infecções sexualmente transmissíveis (IST) a todos os pacientes sexualmente ativos, independentemente de sintomas ou queixas. As estratégias para testagem têm o objetivo de melhorar a qualidade do diagnóstico da infecção pelo HIV e, ao mesmo tempo, assegurar que o diagnóstico seja realizado o mais precocemente possível, de forma segura e com rápida conclusão. Em 17 de dezembro de 2013, foi publicada a Portaria nº 29, que aprova o Manual Técnico para o Diagnóstico da Infecção pelo HIV e normatiza a testagem para o HIV em território nacional. Dentre os algoritmos recomendados, existem aqueles baseados na utilização de testes rápidos (TR), que são imunoenaios simples e podem ser realizados em até 30 minutos. Como consequência do desenvolvimento e da disponibilidade de TR, o diagnóstico do HIV foi ampliado, podendo ser realizado em ambientes laboratoriais e não laboratoriais (BRASIL, 2018).

O diagnóstico definitivo é feito utilizando pelo menos dois testes laboratoriais, sendo que o primeiro teste deve ser mais sensível e o segundo mais específico. Se houver resultados sorodiscordantes uma nova amostra deverá ser colhida e analisada para confirmar ou descartar a infecção. Os exames utilizados nos fluxogramas do Ministério da Saúde são os imunoenaios, *Western Blot* (WB), *Imunoblot* (IB) e *Imunoblot Rápido* (IBR) (BRASIL, 2013).

1.11.5 Tratamento de HIV

A terapia inicial e preferencial de pessoas diagnosticadas com HIV, independentemente da contagem de CD4, inclui a combinação de três antirretrovirais, sendo dois inibidores da transcriptase reversa análogo ao nucleosídeo (ITRN) ou inibidores da transcriptase reversa análogo ao nucleotídeo (ITRNt) associados a uma outra classe de antirretrovirais, que pode ser de inibidores da transcriptase reversa não análogo aos nucleosídeos (ITRNN), inibidores de protease (IP/r) e inibidores de integrase (INI/g).

Listando os antirretrovirais, temos os ITRN: abacavir, didanosina, entricitabina, lamivudina, estavudina, tenofovir, zidovudina; ITRNt :delavirdina,

doravirina, efavirenz, etravirina, nevirapina, rilpivirina; IP/r :atazanavir, darunavir, fosemprenavir, indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir, tipranavir; INI: dolutegravir, raltegravir, elvitegravir.

Além destes mais usados na prática clínica, podemos citar também as classes de: inibidor de fusão (enfuvirtida); antagonista CCR-5 (maraviroque); inibidor CYP450 (cobicistat).

O esquema inicial preferencial deve seguir o esquema descrito na **tabela 2**:

Tabela 2 - Esquema de TARV inicial preferencial para adultos.

SITUAÇÃO	TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	DOSE DIÁRIA	OBSERVAÇÃO
Adultos em início de tratamento	TDF/3TC + DTG	300mg/300mg) "2 x 1"+ 50mg 1x/dia	
Coinfecção TB-HIV sem critérios de gravidade (conforme critérios elencados abaixo)	TDF/3TC/EFV	300mg/300mg/600mg) 1x/dia	Concluído o tratamento completo para TB, poderá ser feita a mudança (switch) do EFV para DTG
Coinfecção TB-HIV com um ou mais dos critérios de gravidade abaixo^(d): LT-CD4+ <100 céls/mm³ Presença de outra infecção oportunista Necessidade de internação hospitalar/ doença grave Tuberculose disseminada	TDF/3TC + RAL	(300mg/300mg) "2 x 1" 1x/dia + 400mg 12/12h	Concluído o tratamento completo de TB, deverá ser feita a mudança (switch) do RAL para DTG em até 3 meses

Fonte: BRASIL, 2018

TDF: tenofovir; 3TC: lamivudina; DTG: dolutegravir; EFV: efavirenz; RAL: raltegravir; TB: tuberculose.

1.11.6 HIV e histoplasmose

O aparecimento de infecções oportunistas e neoplasias em paciente portador de HIV é definidor da aids. Entre as infecções oportunistas destacam-se: pneumocistose, neurotoxoplasmose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada, meningite criptocócica e retinite por citomegalovírus. As neoplasias mais comuns são sarcoma de Kaposi (SK), linfoma não Hodgkin e câncer de colo uterino em mulheres jovens. Nessas situações, a contagem de CD4+ situa-se abaixo de 200 céls/mm³, na maioria das vezes” (PCDT Brasil, 2018). No Brasil, o próprio protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo HIV em adultos não cita a histoplasmose como infecção oportunística de destaque. O HIV 2015/2016 também deixa a histoplasmose no anonimato (ROCKSTROH; HOFFMANN, 2015).

Em setembro de 2019, foi lançado um comunicado no *Journal of Fungi*: “*Getting Histoplasmosis on the Map of International Recommendations for Patients with Advanced HIV Disease*” (Colocando a histoplasmose no mapa internacional de pacientes com doença por HIV avançada). Neste material, lembrou-se que a histoplasmose é uma infecção oportunista ameaçadora e definidora de aids. Continua sendo negligenciada, preocupantemente subdiagnosticada e frequentemente diagnosticada erroneamente como câncer e/ou tuberculose (BONGOMIN; KWIZERA; DENNING, 2019).

Através dos esforços vigorosos do Fundo de Ação Global para Infecções Fúngicas (GAFFI) e parceiros, em 2019, o teste do antígeno para *Histoplasma* foi incluído na 2ª edição da Lista de Ferramentas Diagnósticas Essenciais da Organização Mundial da Saúde (OMS). Os fármacos utilizados no tratamento da histoplasmose (anfotericina B e itraconazol) estão na lista de medicamentos essenciais da OMS (BONGOMIN; KWIZERA; DENNING, 2019). Na Declaração de Manaus sobre histoplasmose nas Américas e no Caribe, realizada no período de 22 à 24 de março de 2019, revelou-se que a histoplasmose causa mais óbitos em pessoas com HIV do que a coinfeção HIV/tuberculose; defendeu-se acesso universal a testes rápidos para histoplasmose e disponibilidade de medicamentos essenciais para o tratamento da histoplasmose em todos os países até 2025 (INPA, 2019).

Partindo para a análise clínica e laboratorial da coinfeção HIV e histoplasmose, podemos citar um estudo prospectivo conduzido no Hospital São

José no estado do Ceará, no período de 2006 e 2007 (RAMOS et al 2018), que usou como critério de elegibilidade: idade superior a 18 anos, febre (temperatura acima de 37.8°C), valor elevado de LDH ou leucopenia, plaquetopenia ou uma das seguintes condições: quadro respiratório, diarreia, hepatomegalia, esplenomegalia, linfonodomegalias ou manifestações mucocutâneas. Diante de sinais e sintomas inespecíficos, foram incluídos um total de 117 pacientes. Todos foram sistematicamente rastreados para diagnóstico fúngico. *Histoplasma capsulatum* foi identificado por cultivo e histopatológico em 48 (41%) dos 117 casos, e destes, foi considerada doença definidora de aids em 26 (54.1%).

Este estudo revelou que hepatomegalia, contagem de CD4 < 75 células/ μ L, LDH > 5x o valor de referência, *rash* maculopapular e lesões papulares foram achados significativamente associados à histoplasmose disseminada progressiva. Chama a atenção a elevada incidência de histoplasmose quando rastreada inicialmente em pacientes com HIV e sinais e sintomas inespecíficos, em região endêmica (RAMOS et al., 2018).

1.12 OUTROS TIPOS DE IMUNOSSUPRESSÃO

1.12.1 Glicocorticóides

Os corticosteróides são hormônios secretados pela região cortical das glândulas suprarrenais e estão entre os fármacos mais utilizados no mundo pela sua eficácia no tratamento de várias doenças inflamatórias e imunológicas (DE BOSSCHER et al., 2010).

Os linfócitos T possuem um papel chave em orquestrar a resposta inflamatória e os glicocorticóides são eficazes em inibir a ativação, proliferação e sobrevivência destas células. Além disso, os glicocorticóides são capazes de inibir a transcrição de muitas citocinas derivadas de linfócitos T e podem causar uma mudança no perfil de resposta imune de Th1 para Th2 (FRANCHIMONT et al., 2000). Os linfócitos B possuem um papel fundamental na resposta imune humoral, devido a sua capacidade de apresentar antígenos e, de quando ativados, diferenciar-se em plasmócitos, que são as células produtoras de anticorpos (WU et al., 2010). O tratamento com glicocorticóides basicamente leva a redução no número de células B por indução de apoptose de seus progenitores (LILL-ELGHANIAN et al., 2002; ANDERSON et al., 2010).

Glicocorticóides inibem a liberação de citocinas e mediadores inflamatórios, incluindo mediadores lipídicos e espécies reativas de oxigênio por macrófagos em pacientes asmáticos (YANG et al., 2009). Além disso, de forma interessante, monócitos humanos são capazes de se diferenciar em um fenótipo de macrófagos alternativo, com elevada atividade anti-inflamatória, na presença de glicocorticóides. Esses macrófagos expressam altos níveis do receptor *scavenger* CD163 na sua superfície, além de liberarem grande quantidade da citocina antiinflamatória IL-10 (EHRCHEN et al., 2007).

Mastócitos são células efetoras chaves principalmente em respostas imunes associadas à IgE. O tratamento com glicocorticóides é capaz de reduzir o número de mastócitos teciduais através da indução de apoptose dos mesmos gerando uma marcada redução na produção de fator de célula tronco e/ou IL-3 local, que são fatores de diferenciação e sobrevivência de mastócitos (EHRCHEN et al., 2007).

Neutrófilos são leucócitos polimorfonucleares circulantes que, ao migrarem para o tecido inflamado, possuem como principais funções a fagocitose e eliminação de patógenos. O tratamento com glicocorticóides é capaz de suprimir a migração de neutrófilos durante a resposta inflamatória através da redução na expressão de moléculas de adesão, incluindo L-selectina, VLA4, LFA-1 e Mac1, na superfície dos mesmos (EHRCHEN et al., 2007).

1.12.2 Ciclosporinas e Tacrolimus

A ciclosporina e o tacrolimus, com base no sítio de ação imunorregulatório, são classificados como inibidores da transcrição do primeiro sinal para ativação do linfócito T. Possuem estrutura química diferente, porém mecanismos de ação similares. A ciclosporina circula associada às lipoproteínas, sendo metabolizada via citocromo P450 em pelo menos 25 metabólitos. Não é uma droga citotóxica, exerce seu efeito numa população restrita de células linfóides e poupa as outras células de linhagem mielóide, conferindo-lhes certa seletividade (THOMSON; BONHAM; ZEEVI, 1995).

Tacrolimus, embora não relacionado estruturalmente com a ciclosporina, apresenta efeito farmacodinâmico similar. Entretanto, mostra-se de 50 a 100 vezes mais potente em diferentes ensaios de células *in vitro*. Também inibe a atividade da calcineurina após se ligar a uma diferente imunofilina, interferindo nessa via de

transdução no sinal de imunoativação das células T (THOMSON; BONHAM; ZEEVI, 1995).

1.12.3 Talidomida

O interesse por este fármaco é devido às suas propriedades antiinflamatórias, imunossupressoras, antiangiogênicas e até mesmo antivirais. Embora o seu mecanismo de ação seja desconhecido, resultados demonstram o sucesso com o emprego deste fármaco no eritema nodoso hansênico, mieloma múltiplo, doença enxerto-versus-hospedeiro. As hipóteses do mecanismo de ação incluem uma diminuição dos níveis do fator de necrose tumoral, a inibição da interleucina 12 e produção e co-estimulação de linfócitos CD8. Relatos sugerem também que a talidomida tem um papel na regulação dos linfócitos auxiliares (Th2). Esta aumentaria a produção de Th2, das citocinas IL4 e IL5 e inibiria a produção dos linfócitos inflamatórios (Th1) e da citocina IFN gama em células periféricas de sangue, estimuladas por antígenos e mitógenos (MARRIOT; MULLER; DALGLEISH, 1999).

1.12.4 Imunossupressão no transplante de órgãos e nas doenças reumatológicas

Os imunossupressores são usados para suprimir rejeição em receptores de transplante de órgãos e para tratar uma variedade de doenças inflamatórias e imunopatias. Pacientes submetidos a transplante de órgãos sólidos são geralmente mantidos em tratamento com corticosteroide combinado com um inibidor da calcineurina (ciclosporina ou tacrolimus), ou com fármacos antiproliferativos (azatioprina ou micofenolato de mofetila), ou com ambos (BRASIL, 2010).

Prednisona e prednisolona são a base da profilaxia pós-operatória e tratamento de rejeição de transplantes de córnea, e no tratamento de outras condições como vasculites associadas a estímulos antigênicos, púrpura trombocitopênica idiopática, doenças inflamatórias intestinais (doença de Cröhn e colite ulcerativa), artrite juvenil idiopática, lúpus eritematoso sistêmico, e associados a outros imunossupressores no transplante de órgãos e tecidos (BRASIL, 2010).

Azatioprina é útil como complemento na prevenção da rejeição de transplante renal. Geralmente é usado com outros agentes imunossupressores (corticosteroides, ciclosporina, e citotóxicos). Embora a azatioprina tenha atividade

na artrite reumatoide, em razão de sua elevada toxicidade deve ser reservada para uso em pacientes com doença grave, ativa, erosiva e não respondente ao ácido acetilsalicílico, aos anti-inflamatórios não-esteroides e às terapias modificadoras da doença. (BRASIL, 2010).

Ciclofosfamida pode ser utilizada, de modo opcional, na artrite reumatoide grave com manifestações sistêmicas, geralmente em pacientes com doença grave que não responde a outros fármacos. Sua toxicidade limita sua utilidade. É de maior valor no controle de complicações sistêmicas, mediadas por anticorpos, de doenças tais como vasculites, por meio da inibição da função das células B (BRASIL, 2010).

Metotrexato é amplamente utilizado como fármaco modificador da doença na artrite reumatoide como também pode ser usado para prevenir a doença do enxerto-versus-hospedeiro após transplante de medula óssea e como agente citotóxico imunossupressor, poupando o uso de corticosteroides nas doenças não malignas (BRASIL, 2010).

Ciclosporina é usada com sucesso para prevenir a rejeição de transplantes de coração, fígado e rim e mostra-se superior ao metotrexato na sua capacidade de reduzir a gravidade da doença do enxerto-versus-hospedeiro no transplante de medula óssea. Há provas de que a ciclosporina pode ser útil no tratamento de rejeições de transplante renal resistentes a corticosteroides. Nas doenças autoimunes, como doença de Cröhn e colite ulcerativa, a ciclosporina deve ter seu uso restrito aos casos mais graves, que são resistentes aos corticosteroides e outras terapias. Na artrite reumatoide, há algumas provas de que a ciclosporina pode retardar a progressão erosiva e melhorar o controle dos sintomas em pacientes que respondem apenas parcialmente ao metotrexato (BRASIL, 2010).

As drogas mais usadas no pós transplante de células-tronco hematopoéticas são o tacrolimus (anteriormente citado) e os inibidores da rapamicina, sirolimus. Ele é o derivado hidroxietil da rapamicina. Existe um derivado sintético do sirolimus, o everolimo, que ainda não foi estudado e utilizado em TCTH. A rapamicina e derivados produzem efeitos de imunossupressão e antiproliferação, com ação sobre as células T via o receptor-alvo da rapamicina nos mamíferos, bloqueando o ciclo celular na fase G1 (BRASIL, 2016).

2. JUSTIFICATIVA

Há uma lacuna quando se trata do tema histoplasrose no território brasileiro, como também no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – INI/Fiocruz. Há carência de dados epidemiológicos, coinfeções e desfechos referentes à histoplasrose. “Conheça o inimigo (histoplasrose), conheça a si mesmo (médicos e pacientes atendidos no INI) e assim caminhará para a vitória”, já dizia Sun Tzu na “Arte da Guerra”.

O estudo é justificado pela importância clínica e epidemiológica da histoplasrose em todas suas formas de apresentação, doença mimetizadora particularmente da tuberculose, e associada a alta morbidade e mortalidade, particularmente nos pacientes imunocomprometidos com diagnóstico micológico tardio.

Achados epidemiológicos, clínicos e laboratoriais referentes aos casos de histoplasrose no INI possivelmente permitirão a criação de um perfil de risco e verificação de pontos falhos na conduta destes pacientes. Estratégias de aperfeiçoamento poderão ser estabelecidas, especialmente focando no diagnóstico precoce com rastreamento via imunodiagnóstico (*Western Blot*) e possível tratamento preemptivo ou profilático direcionado por faixas críticas de CD4 em pacientes HIV positivos sem evidência clínica e laboratorial de histoplasrose, à semelhança do que é proposto para a criptococose (GILBERT et al., 2019).

Acredita-se que os frutos deste estudo alertarão os profissionais da saúde para uma busca ativa e precoce de histoplasrose como também ampliará o leque de diagnósticos diferenciais de quadros respiratórios além da tuberculose e pneumocistose, particularmente nos imunossuprimidos.

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Descrever os casos de histoplasmose no INI-Fiocuz, de 2000 a 2018 e traçar o perfil de risco associado em pacientes infectados e não infectados por HIV.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Estimar a incidência da infecção de histoplasmose ao longo do tempo nos pacientes infectados e não infectados pelo HIV atendidos no INI;
- II. Descrever os métodos diagnósticos utilizados nos casos de histoplasmose;
- III. Identificar os principais diagnósticos associados e o tempo para estabelecer o diagnóstico laboratorial de histoplasmose;
- IV. Comparar aspectos clínicos e laboratoriais entre pacientes HIV positivos e HIV negativos com diagnóstico de histoplasmose;
- V. Identificar fatores associados à doença disseminada e ao óbito.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo descritivo, de caráter retrospectivo, realizado pela coleta de dados provenientes dos prontuários médicos, no período de 2000 a 2018.

4.2 CASUÍSTICA

Foram analisados os prontuários de papel e eletrônicos de pacientes com matrícula regular no INI-Fiocruz, internados ou atendidos ambulatorialmente, observando os seguintes critérios: diagnóstico clínico e evidência laboratorial de histoplasmose, ou seja, cultivo positivo para *H. capsulatum*, achado histopatológico demonstrando elementos fúngicos consistentes com *H. capsulatum* ou presença de bandas H e/ou M por imunodifusão e/ou WB.

Em relação aos pacientes HIV reagentes, foi possível analisar variáveis específicas desse grupo. Foram excluídas gestantes, indivíduos menores de 18 anos, casos suspeitos de histoplasmose sem diagnóstico laboratorial por meio de cultivo, histopatológico ou imunodiagnóstico como também casos confirmados ou prováveis com poucas informações, assim incompatíveis com o preenchimento do questionário no REDCap (questionário do REDCap em anexo).

4.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Após a busca de dados epidemiológicos, sociodemográficos, clínicos e laboratoriais as informações foram armazenadas no programa REDCap (*Research Electronic Data Capture*), uma sofisticada plataforma para coleta, gerenciamento e disseminação de dados de pesquisa.

A análise exploratória dos dados utilizou frequências absolutas e relativas para variáveis qualitativas e medidas-resumo (média, mediana, primeiro e terceiro quartis) para as variáveis quantitativas. A comparação entre as variáveis qualitativas segundo o desfecho diagnóstico de HIV foi realizado pelo teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher (quando necessário). Já a comparação entre as variáveis quantitativas segundo o desfecho diagnóstico de HIV foi realizada por

meio do teste de Mann-Whitney ou Teste t (quando possível). Os testes utilizaram o nível de significância de 5% como referência ($p < 0.05$). Foi feita análise uni e multivariada para o desfecho óbito por histoplasmosose com modelo binomial (logit) sendo as variáveis controles no modelo multivariado idade, sexo, tempo de evolução da doença e diagnóstico de HIV; variáveis retiradas por *missings* foram hipoxemia, albumina, hemoglobina, TGO, TGP e LDH.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do INI; CAAE: 98094718.4.0000.5262, na data de 10 de dezembro de 2018.

5. RESULTADOS

Efetou-se a busca ativa de casos de histoplasmose no INI, nos registros dos laboratórios de micologia e anatomia patológica, no período de 2000 a 2018. No total, foram encontrados 204 registros de pacientes com diagnóstico de histoplasmose em ambos os laboratórios, porém 105 foram excluídos. Destes, 14 apresentavam numeração duplicada; 28 registros tinham apenas o nome do paciente constando resultado micológico positivo (sendo 24 do sexo masculino e 4 do sexo feminino), possivelmente amostras recebidas de outros hospitais; 63 foram registros com poucas informações no sistema informatizado e/ou prontuários físicos do INI incompatíveis com o questionário de RECap. Destes 63 excluídos por ausência de informações suficientes para preencher o questionário do REDCap, 13 eram HIV reagentes (3 do sexo feminino e 10 masculinos; com idade média de 44.75 ± 5.12 anos; 10 haviam sido diagnosticados por WB e ID reagentes, 1 por biópsia de medula óssea, 1 biópsia cutânea e 1 cultivo de secreção de lesão cutânea). Ainda descrevendo os excluídos, 50 eram HIV não reagentes, sendo 19 do sexo feminino e 31 masculinos; idade média 45.6 ± 11.8 anos; 50 diagnosticados por WB e ID reagentes e 1 por biópsia de lesão mucosa oral).

Foram então incluídos 99 registros com informações clínicas e laboratoriais que foram registradas no programa REDCap. Destes, 65 eram infectados por HIV e 34 não infectados por HIV. O fluxograma de busca de casos de histoplasmose no INI no período de 2000 a 2018 pode ser visto na **figura 10** como também a distribuição de casos anuais na **figura 11**.

Figura 10 - Fluxograma de busca de casos de histoplasmose no INI de 2000-2018.

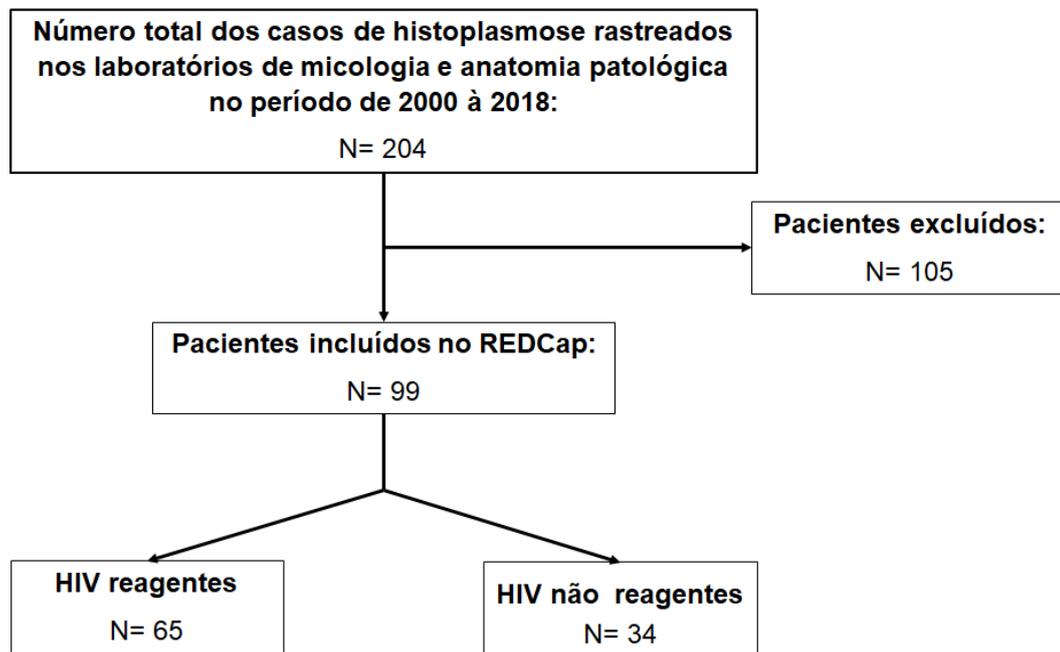
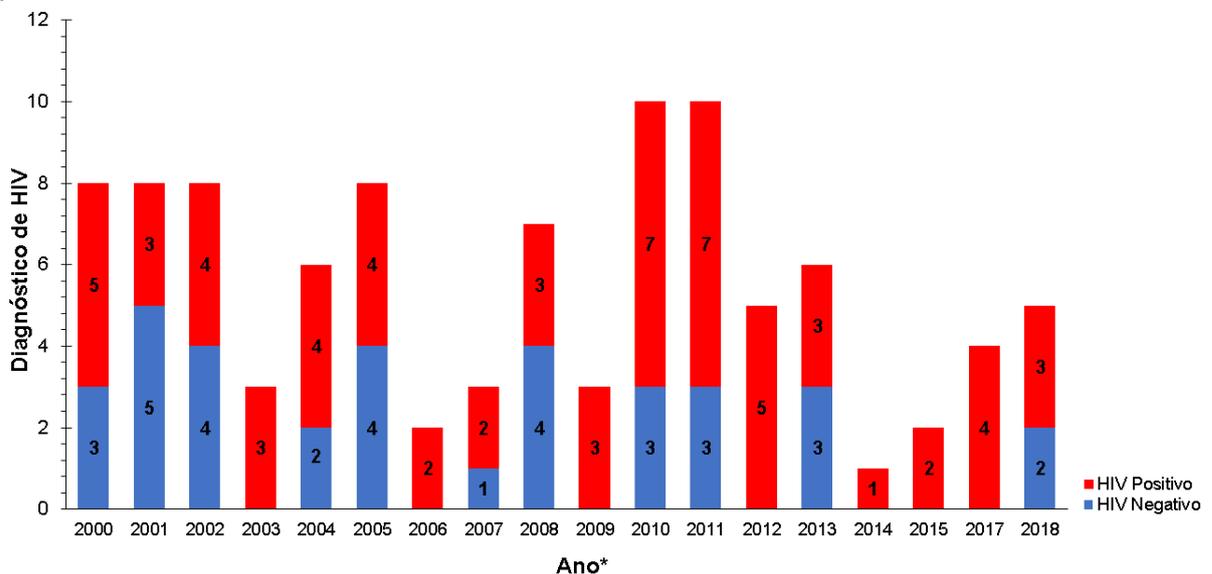


Figura 11 - Número de casos anual de pacientes com histoplasmose diagnosticados no INI no período de 2000 a 2018.



*Ano em que o paciente fez o diagnóstico micológico, histopatológico e /ou sorológico.

Houve predomínio de homens de raça branca em ambos os grupos; a idade média foi de $39,1 \pm 11$ anos nos HIV positivos e $39,4 \pm 16,1$ anos nos HIV negativos. Em relação à profissão, metade ou menos encontrava-se empregada no momento do diagnóstico de histoplasmose (HIV positivos $n=29/64$; 44,6% e HIV negativos

n=17/34; 50%), embora em cerca de um terço dos prontuários esse dado não foi obtido. A renda familiar foi um dado predominantemente não registrado em ambos os grupos. Pouco mais de um terço dos pacientes tinha ensino fundamental, ou seja, até 8 anos de estudos (HIV positivos n=26/64; 40% e HIV negativos n=12/34; 35.3%). A proporção mais expressiva em ambos os grupos foi procedente do município do Rio de Janeiro-RJ (HIV positivos n=36/64; 55.4% e HIV negativos n=18/34; 52.9%). Os dados sociodemográficos encontram-se detalhados na **tabela 3**.

Tabela 3 - Dados sóciodemográficos referentes aos casos de histoplasmosose no INI no período de 2000 a 2018.

Variáveis		Diagnóstico de HIV		P-valor
		Negativos	Positivos	
Sexo	Feminino	8 (23.5)	12 (18.5)	0.551
	Masculino	26 (76.5)	53 (81.5)	
Etnia	Branca	18 (52.9)	24 (37.5)	0.017
	Negra	3 (8.8)	18 (28.1)	
	Amarela	1 (2.9)	2 (3.1)	
	Parda	7 (20.6)	18 (28.1)	
	Indígena	0 (0)	1 (1.6)	
	Dado não encontrado	5 (14.7)	1 (1.6)	
Idade	Média (DP)*	39.4 (16.1)	39.5 (10.9)	0.978
Município	Belford Roxo	1 (2.9)	5 (7.7)	-
	Duque de Caxias	2 (5.9)	8 (12.3)	
	Mesquita	1 (2.9)	4 (6.2)	
	Nilópolis	0 (0)	2 (3.1)	
	Niterói	5 (14.7)	1 (1.5)	
	Nova Iguaçu	2 (5.9)	3 (4.6)	
	Rio de Janeiro	18 (52.9)	36 (55.4)	
	São Gonçalo	0 (0)	4 (6.2)	
	Outros	5 (14)	2 (0)	
Profissão	Empregado	17 (50)	29 (44.6)	0.112
	Desempregado	1 (2.9)	11 (16.9)	
	Aposentado	1 (2.9)	4 (6.2)	
	Estudante	3 (8.8)	1 (1.5)	
	Dado não encontrado	12 (35.3)	20 (30.8)	

(Continuação)

Variáveis	Diagnóstico de HIV		P-valor	
	Negativos	Positivos		
Escolaridade	Analfabeto	1 (2.9)	5 (7.7)	0.343
	Fundamental (até 8 anos)	12 (35.3)	26 (40)	
	Ensino Médio (até 11 anos)	8 (23.5)	19 (29.2)	
	Superior completo/ incompleto	3 (8.8)	7 (10.8)	
	Dado não encontrado	10 (29.4)	8 (12.3)	
Renda Familiar	entre 1 e 3 salários mínimos	0 (0)	3 (4.6)	0.648
	entre 3 e 5 salários mínimos	1 (2.9)	1 (1.5)	
	> 5 salários mínimos	1 (2.9)	1 (1.5)	
	Dado não encontrado	32 (94.1)	60 (92.3)	
Total	34	65		

*DP = desvio padrão

Elevada proporção de dados não encontrados referentes aos hábitos, em ambos os grupos (HIV reagentes 23/35.4% vs HIV não reagentes 10/29.4%, $p=0.549$), dificultaram uma avaliação detalhada em relação à tabagismo, etilismo e uso de drogas ilícitas.

As comorbidades encontradas nos pacientes HIV positivos foram diabetes mellitus 2 (3,1%); insuficiência cardíaca 1 (1,5%); hepatopatia 1 (1,5%); nefropatia 0; neoplasia 2 (3%); hipertensão arterial sistêmica 4 (6,2%); nada descrito no prontuário 18 (27.7%); ausência de comorbidades 38 (58,5%); uso de imunossupressores quimioterápicos 2 (3,1%). Nenhum HIV positivo teve história prévia de transplante. Apenas 5 (14.5%) pacientes HIV negativos apresentavam hipertensão arterial sistêmica, sem outras comorbidades. Devido à falta de descrição sobre comorbidades na maioria dos prontuários dos pacientes HIV negativos, a análise comparativa com o grupo de pacientes HIV positivos não foi possível estatisticamente.

Uso de quimioterápicos foram relatados em 2 pacientes HIV positivos, sendo 1 portador de Linfoma não Hodgkin e 1 de Sarcoma de Kaposi; dentre os HIV negativos houve dois casos de transplante de órgãos sólidos em uso de prednisona e micofenolato (posologias não registradas nos prontuários) e 2 portadores de

hanseníase, um em uso de prednisona e o outro com internações para pulsoterapia com metilprednisolona associada à talidomida.

Quanto à história epidemiológica observou-se que os pacientes não infectados por HIV apresentaram, na maioria das vezes, fatores de exposição para adquirirem histoplasmose, enquanto esses fatores foram ausentes ou pouco frequentes nos HIV positivos. É importante notar que nenhum achado sobre história epidemiológica no prontuário foi o encontrado em 59 (90,8%) dos HIV positivos vs 19 (55,9%) dos HIV negativos, $p < 0,001$. Os achados epidemiológicos significativos encontrados em prontuários de pacientes HIV positivos e HIV negativos, respectivamente, foram: contato com galinhas 1 (1,5%) vs 2 (5,9%), $p = 0,271$; contato com morcegos 0 vs 6 (17,6%, $p = 0,001$); limpeza de construções abandonados nos 6 últimos meses 1 (1,5%) vs 2 (5,9%), $p = 0,271$; contato com poeira/solo nos últimos meses 1 (1,5%) vs 5 (14,7%), $p = 0,017$; negavam história epidemiológica compatível para a transmissão de histoplasmose 3 (4,6%) vs 2 (5,9%), $p = 1$

A mediana de tempo entre o início da sintomatologia até o diagnóstico foi significativamente mais longa para os pacientes HIV positivos, sendo de 8 semanas nos pacientes HIV negativos e 22 semanas nos HIV positivos ($p = 0,047$). A maioria dos pacientes apresentou febre, perda ponderal e alterações respiratórias. Houve significância estatística quanto à frequência dos achados clínicos, respectivamente, nos HIV positivos em relação aos HIV negativos referentes à hepatomegalia 21.5% vs 5.9%, $p = 0,044$; esplenomegalia 18.5% vs 2.9%, $p = 0,032$; anemia 35.4% vs 11.8%, $p = 0,012$. Sinais e sintomas encontram-se detalhados na **tabela 4**.

Tabela 4 - Achados clínicos apresentados por pacientes com diagnóstico de histoplasmose, INI 2000-2018.

Variáveis		Diagnóstico de HIV			
		Negativos	Positivos	P-valor	
Sinais e sintomas apresentados	Início dos sinais/sintomas até o diagnóstico: (em semanas)	Mediana (IQR)	8 (6,18)	22 (8,44)	0.047
	Febre	Não	12 (35.3)	12 (18.5)	0.063
		Sim	22 (64.7)	53 (81.5)	
	Perda ponderal	Não	16 (47.1)	20 (30.8)	0.11
		Sim	18 (52.9)	45 (69.2)	
	Adenomegalia	Não	29 (85.3)	44 (67.7)	0.059
		Sim	5 (14.7)	21 (32.3)	
	Hepatomegalia	Não	32 (94.1)	51 (78.5)	0.044
		Sim	2 (5.9)	14 (21.5)	
	Esplenomegalia	Não	33 (97.1)	53 (81.5)	0.032
		Sim	1 (2.9)	12 (18.5)	
	Anemia	Não	30 (88.2)	42 (64.6)	0.012
		Sim	4 (11.8)	23 (35.4)	
	Icterícia	Não	34 (100)	60 (92.3)	0.162
		Sim	0 (0)	5 (7.7)	
	Diarreia	Não	32 (94.1)	57 (87.7)	0.487
		Sim	2 (5.9)	8 (12.3)	
	Vômitos	Não	33 (97.1)	54 (83.1)	0.053
		Sim	1 (2.9)	11 (16.9)	
	Dor abdominal	Não	32 (94.1)	58 (89.2)	0.714
Sim		2 (5.9)	7 (10.8)		
Quadro respiratório	Não	15 (44.1)	33 (50.8)	0.529	
	Sim	19 (55.9)	32 (49.2)		
Lesões Cutâneas	Não	29 (85.3)	55 (84.6)	0.929	
	Sim	5 (14.7)	10 (15.4)		
Lesões orais	Não	31 (91.2)	62 (95.4)	0.41	
	Sim	3 (8.8)	3 (4.6)		
Problemas gastrointestinais	Não	34 (100)	62 (95.4)	0.549	
	Sim	0 (0)	3 (4.6)		
Nenhum sintoma descrito	Não	34 (100)	61 (93.8)	0.296	
	Sim	0 (0)	4 (6.2)		
Total			34	65	

* IQR = *interquartile range* (intervalo interquartilico)

Buscou-se nos prontuários, queixas paralelas às incluídas no questionário do REDCap. No grupo dos HIV positivos, os achados neurológicos foram: cefaleia 4 (6.1%); vertigem 1(1.5%); fraqueza em membros inferiores 3(4.6%); hemiparesia (com tomografia de crânio normal) 2(3%); afasia 2(3%); alteração de comportamento 1(1,5%); disfagia 2(3%). Dois pacientes HIV positivos tiveram relato de histoplasmose em sistema nervoso central, sendo que um deles apresentou episódio de intensa cefaléia, tendo procurado atendimento de urgência em outro hospital em que foi constatada ventriculomegalia em tomografia de crânio, sendo necessária derivação ventrículo peritoneal.

Entre os HIV negativos outras queixas foram: abscesso amigdaliano 1(2.9%); mialgia 1(2.9%); artralgia 2(5.8%); astenia 2(5.8%); disfagia 2(5.8%); cefaleia 1(2.9%); dor retro-orbitária 1(2.9%); náuseas 1(2.9%); dor torácica 1(2.9%); rouquidão 1(2.9%).

As variáveis relacionadas aos pacientes infectados pelo HIV foram avaliadas separadamente em um grupo usando terapia com antirretrovirais e outro sem uso de antirretrovirais (por abandono ou virgens de terapia). Não foi observado significância estatística quanto ao tempo do início de sintomas e diagnóstico, forma clínica, valor de CD4⁺ e desfecho. Estes dados podem ser verificados na **tabela 5**.

Tabela 5 - Informações relacionadas à infecção por HIV nos 65 pacientes soropositivos com histoplasmose, INI 2000-2018.

Variáveis	Uso prévio de antirretrovirais			Pvalor
		Sim	Outros*	
Forma Clínica				0,945
	Pulmonar aguda	1 (3.8)	1 (2.7)	
	Pulmonar crônica	1 (3.8)	3 (8.1)	
	Disseminada	21 (80.8)	29 (78.4)	
	Outras	3 (11.5)	4 (10.8)	
Houve internação do paciente no INI?				0,373
	Sim	17 (65.4)	28 (75.7)	
	Não	9 (34.6)	9 (24.3)	
Internação no CTI				-
	Sim	5 (29.4)	11 (39.3)	
	Não	12 (70.6)	16 (57.1)	

(Continuação)

Variáveis	Uso prévio de antirretrovirais			
		Sim	Outros*	Pvalor
Óbito	Não	12 (46.2)	23 (59)	0,31
	Sim	14 (53.8)	16 (41)	
CD4		42	76	0,908
	mediana (IQR)	(37,167)	(27,104)	
Início dos sintomas até o diagnóstico: (em semanas)		8 (8,18)	8 (5,16)	0,642
	mediana (IQR)			
Total		26	39	

Outros: abandono ou virgens de terapia antirretroviral.

A **tabela 6** mostra as infecções oportunistas concomitantes ao diagnóstico de histoplasmose como também descritas seis meses antes do diagnóstico de histoplasmose, em pacientes HIV positivos e negativos. Importante notar que um quinto dos pacientes soropositivos para HIV apresentaram tuberculose concomitante a histoplasmose, e essa mesma proporção teve diagnóstico de tuberculose anteriormente ao diagnóstico de histoplasmose.

Tabela 6 - Infecções oportunistas concomitantes e prévias em pacientes com histoplasmose, INI 2000-2018.

Variáveis	Diagnóstico de HIV			
		Negativos	Positivos	Pvalor
Infecções oportunistas concomitantes				
Tuberculose				
	Nao	33 (97.1)	52 (80)	0.03
	Sim	1 (2.9)	13 (20)	
Pneumonia				
	Nao	33 (97.1)	61 (93.8)	0.657
	Sim	1 (2.9)	4 (6.2)	
Neurotoxoplasmose				
	Nao	34 (100)	62 (95.4)	0.549
	Sim	0 (0)	3 (4.6)	
Sarcoma de Kaposi				
	Nao	34 (100)	64 (98.5)	1
	Sim	0 (0)	1 (1.5)	

(Continuação)

Variáveis		Diagnóstico de HIV		Pvalor
		Negativos	Positivos	
Criptococose	Nao	34 (100)	63 (96.9)	0.544
	Sim	0 (0)	2 (3.1)	
Citomegalovirus	Nao	34 (100)	63 (96.9)	0.544
	Sim	0 (0)	2 (3.1)	
Pneumonia Bacteriana	Nao	34 (100)	64 (98.5)	1
	Sim	0 (0)	1 (1.5)	
Herpes Zoster	Nao	34 (100)	64 (98.5)	1
	Sim	0 (0)	1 (1.5)	
Pneumocistose	Nao	34 (100)	56 (86.2)	0.026
	Sim	0 (0)	9 (13.8)	
Linfoma não Hodgkin	Nao	34 (100)	63 (98.5)	1
	Sim	0(0)	1(1.5)	
Outros	Nao	34 (100)	63 (96.9)	0.544
	Sim	0 (0)	2 (3.1)	
Nenhuma IO descrita	Nao	2 (5.9)	31 (47.7)	< 0.001
	Sim	32 (94.1)	34 (52.3)	
Infecções oportunistas (IO) anteriormente				
Tuberculose	Nao	34 (100)	52 (80)	0.004
	Sim	0 (0)	13 (20)	
Pneumonia	Nao	34 (100)	59 (90.8)	0.091
	Sim	0 (0)	6 (9.2)	
Neurotoxoplasmose	Nao	34 (100)	60 (92.3)	0.162
	Sim	0 (0)	5 (7.7)	
Sarcoma de Kaposi	Nao	34 (100)	64 (98.5)	1
	Sim	0 (0)	1 (1.5)	
Criptococose	Nao	34 (100)	65 (100)	0.002
	Sim			

(Continuação)

Variáveis	Diagnóstico de HIV			Pvalor
		Negativos	Positivos	
Citomegalovirus	Nao	34 (100)	63 (96.9)	0.544
	Sim	0 (0)	2 (3.1)	
Herpes Zoster	Nao	34 (100)	61 (93.8)	0.296
	Sim	0 (0)	4 (6.2)	
Linfoma não Hodgkin	Nao	34 (100)	64 (98.5)	1
	Sim	0 (0)	1 (1.5)	
Outros	Nao	34 (100)	64 (98.5)	1
	Sim	0 (0)	1 (1.5)	
Nenhuma IO descrita	Nao	0 (0)	25 (38.5)	< 0.001
	Sim	34 (100)	40 (61.5)	
Total		34	65	

Segue abaixo, na **tabela 7**, a descrição detalhada dos 13/65 (20%) casos de tuberculose diagnosticados concomitantemente à infecção por histoplasmose nos pacientes HIV positivos, assim relembrando a elevada incidência de coinfeção destas patologias.

Tabela 7 - Tuberculose diagnosticada concomitantemente à histoplasmose nos pacientes HIV positivos.

Tuberculose concomitante	Nº Casos
Medula óssea (método diagnóstico: cultivo)	2
Pulmonar (método diagnóstico: cultivo)	7
Sangue (método diagnóstico: cultivo)	1
Lavado broncoalveolar (método diagnóstico: cultivo)	1
Tuberculose laríngea (método diagnóstico: histopatológico)	1
Tuberculose disseminada (método diagnóstico antígeno para tuberculose positivo na urina)	1
Total	13

A **tabela 8** mostra as variáveis laboratoriais gerais nos pacientes com histoplasmoze. Deve ser notado que percentual expressivo dos pacientes HIV negativos não tinham o dado disponível, o que limita a análise da diferença entre os grupos. Foi observada significância estatística referentes à: hipoxemia HIV positivos 24.6% vs HIV negativos 5.8%, $p=0.041$; anemia HIV positivos com média de hemoglobina 9.5 (DP 2.1) vs 12,5 (DP 2.5%), $p<0.01$; transaminase glutâmico oxalacética (TGO) HIV positivos 22 (IQR 29 – 39) vs HIV negativos 78 (IQR 39 – 167) , $p< 0.01$; lactato desidrogenase (*Lactic Dehydrogenase*, LDH) HIV positivos mediana 186 (IQR 132.8 – 616.2) vs HIV negativos 618 (IQR 309 – 1304), $p=0.048$; como também a gama glutamil transferase (GGT), mediana de 161 (IQR 81 – 402.5) vs 48 (IQR 36 – 4894.8), $p=0.002$.

Tabela 8 - Resultado de exames laboratoriais gerais em 99 pacientes com histoplasmoze, INI 2000-2018.

Variáveis		Diagnóstico de HIV		
		Não reagentes	Reagentes	P-valor
Hipoxemia	Não	23 (67.6)	39 (60)	0.041
	Nenhum dado encontrado	9 (26.4)	9 (13.8)	
	Sim	2 (5.8)	16 (24.6)	
Acidose metabólica	Não	21 (63.6)	41 (65.1)	0.359
	Nenhum dado encontrado	9 (27.3)	11 (17.5)	
	Sim	3 (9.1)	11 (17.5)	
Creatinina	Mediana (IQR)	0.8 (0.6,1.2)	1 (0.8,1.3)	0.091
Ureia	Mediana (IQR)	28.5 (17.5,31.8)	32 (26,54)	0.165
Hemoglobina	Média (DP)	12.6 (2.5)	9.5 (2.1)	< 0.001
Leucócitos totais	Mediana (IQR)	4800 (12.4,5810)	3410 (10.3,5647.5)	0.593
Neutrófilos absolutos	Mediana (IQR)	1297 (6.6,4031)	2223 (66.6,4001.2)	0.887
Plaquetas	Mediana (IQR)	251000 (123877.5)	227000 (117358.5)	0.473
VHS	Média (DP)	21.5 (16.3)	71.3 (36.9)	-

(Continuação)

Variáveis		Diagnóstico de HIV		
		Não reagentes	Reagentes	P-valor
PCRT	Mediana (IQR)	8.9 (4,15.4)	9 (6.1,14.1)	0.912
Lactato	Mediana (IQR)	-	1.95 (1.2,4.25)	-
AST (TGO)	Mediana (IQR)	22 (19,39)	78 (39,167)	< 0.001
ALT (TGP)	Mediana (IQR)	34 (23,51)	41 (25,74)	0.244
Fosfatase alcalina	Mediana (IQR)	196.5 (99.8,219.8)	197 (150,496)	0.215
LDH	Mediana (IQR)	186 (132.8,616.2)	618 (309,1304)	0.048
GGT	Mediana (IQR)	48 (36,94.8)	161 (81,402.5)	0.002
Albumina	Mediana (IQR)	3.7 (2.2,4)	2.5 (2,2.9)	0.17
INR	Mediana (IQR)	-	1.345 (1.14,1.54)	-
Bb total	Mediana (IQR)	0.6 (0.4,1.1)	0.6 (0.3,1.2)	0.936
Bb direta	Mediana (IQR)	0.1 (0.1,0.5)	0.2 (0.1,0.7)	0.066
Bb indireta	Mediana (IQR)	0.4 (0.3,0.5)	0.4 (0.2,0.6)	0.899
Total		34	65	

IQR = interquartile range (intervalo interquartilico); DP = desvio padrão; VHS = velocidade de hemossedimentação; PCRT = proteína C reativa; AST (TGO) = aspartato aminotransferase; ALT (TGP) = alanina aminotransferase; LDH = lactato desidrogenase; GGT = gama glutamil transferase; INR = razão normalizada internacional; Bb = bilirrubina.

Cabe ressaltar que a pneumocistose geralmente desencadeia hipoxemia grave em pacientes com aids. Por este motivo buscou-se avaliar os casos de histoplasmosose com hipoxemia e coinfeção com pneumocistose. Dez pacientes HIV positivos (15.3%) apresentaram hipoxemia e não estavam coinfectados por pneumocistose; 6 (9.2%) estavam coinfectados e tinham hipoxemia e havia 2 (5.8%) HIV negativos com hipoxemia e não coinfectados por pneumocistose como podemos ver na **tabela 9**.

Tabela 9 - Relação de hipoxemia na histoplasmosose.

Infecção pelo HIV e/ou Pneumocistose	Hipoxemia
HIV positivos com pneumocistose	10/65 (15.3%)
HIV positivos sem pneumocistose	6/65 (9.2%)
HIV negativos sem pneumocistose	3/34 (8.8%)

Na **Tabela 10** é possível verificar os valores de LDH nos casos de histoplasmose associados ou não com pneumocistose.

Tabela 10 - Relação do aumento dos valores de LDH na histoplasmose.

Infecção pelo HIV e/ou Pneumocistose	*LDH acima dos valores de referência
HIV positivos com pneumocistose	8/65 (12.5%)
HIV positivos sem pneumocistose	23/65 (35.3%)
HIV negativos sem pneumocistose	2/34 (5.8%)

*Valor de referência de LDH (lactato desidrogenase) pelo laboratório de bioquímica do INI 85-277 U/L homens; 81-234 U/L mulheres

Quanto à avaliação oftalmológica, trinta pacientes HIV positivos (46%) realizaram fundoscopia, sendo que destes apenas 1 teve descrição de lesão ocular resultante da infecção por histoplasmose (laudo constando coroidite em sacabocado, atrofia peripapilar e neovascularização de coroide). Outros resultados mostraram 19 fundoscopias sem alterações; 4 retinopatias consequentes à infecção pelo HIV; 2 lesões cicatriciais compatíveis com tuberculose ocular, 3 retinites por citomegalovírus e 1 exame descreveu palidez do nervo óptico bilateral não relacionado à infecção. Nenhum dos pacientes HIV negativos realizou fundoscopia.

Quanto à avaliação otorrinolaringológica, apenas 1 paciente HIV positivo realizou nasofibrosopia, sendo visualizada lesão granulomatosa em laringe.

O número absoluto de exames de imagem realizados podem ser vistos na **tabela 11**.

Tabela 11 - Exames de imagem realizados em pacientes com histoplasmoze de acordo com sorostatus para HIV, INI 2000-2018

Variáveis			Diagnóstico de HIV			
			Não reagente	Reagentes	P-valor	
Alterações em imagem	RX de tórax	Não	27 (79.4)	48 (73.8)	0.539	
		Sim	7 (20.6)	17 (26.2)		
	US abdome	Não	33 (97.1)	50(76.9)	<0.001	
		Sim	1(2.9)	15(23.1)		
	TC de tórax	Não	25 (73.5)	49 (75.4)	0.84	
		Sim	9 (26.5)	16 (24.6)		
	TC de abdome	Não	33 (97.1)	56 (86.2)	0.157	
		Sim	1 (2.9)	9 (13.8)		
	Fundoscopia	Não	34 (100)	35(53.8)	< 0.001	
		Sim	0 (0)	30(46.1)		
	Total			34	65	

RX = radiografia simples de tórax; US = ultrassonografia; TC = tomografia computadorizada.

A **tabela 12** descreve as alterações relatadas nos laudos de exames de imagens:

Tabela 12 - Principais alterações descritas nos laudos de exames de imagem de pacientes com histoplasmoze, INI 2000-2018

Variáveis		Diagnóstico de HIV	
		Não reagentes	Reagentes
RX torax	Cavitações	2	0
	Adenomegalias	3	0
	Infiltrado difuso	1	13
	Bolhas enfisematosas	1	0
	Opacidade	0	3
	Sem alterações	0	1
TC torax	Linfonomegalia	2	7
	Cavitações	2	0
	Bolhas	1	0
	Vidro fosco	4	3
	Lesões nodulares	2	9
	Bronquiectasias	1	1
	Espessamento pleural	1	0
	infiltrado intersticial	0	3
	Derrame pericárdico	0	2
	Derrame pleural	0	2
	Enfisema septal	0	1
	Broncograma aéreo	0	1

(Continuação)

Variáveis		Diagnóstico de HIV	
		Não reagentes	Reagentes
TC abdome	Linfonomegalia abdominal	1	3
	Hepatomegalia	0	4
	Esplenomegalia	0	2
	Lesões nodulares	0	2
	Sem alterações	0	1
US abdomen	Linfonomegalia	1	7
	Hepatomegalia	0	5
	Esplenomegalia	0	2
	Ascite	0	1

Além da histoplasmose, outros diagnósticos micológicos foram rastreados tais como: criptococose, aspergilose, paracoccidiodomicose, esporotricose e coccidiodomicose. Apenas no grupo dos HIV positivos foram identificados dois exames imunocromatográficos (Crag) positivos para criptococose no soro e 1 Crag positivo no líquido, diagnosticados concomitantemente à histoplasmose. Nenhum achado foi feito no grupo de HIV negativos. A descrição detalhada dos exames encontra-se na **tabela 13**.

Tabela 13 - Métodos utilizados para outros diagnósticos de outras infecções fúngicas nos pacientes HIV positivos com histoplasmose

Métodos utilizados para outros diagnósticos micológicos nos pacientes HIV positivos	Número
Crag sangue não reagente	14
Crag líquido não reagente	1
Crag reagente sangue	2
Crag reagente no líquido	1
Látex criptococose não reagente	12
Coccidiodomicose ID não reagente	4
Paracoccidiodomicose ID não reagente	26
<i>Aspergillus</i> ID não reagente	12
Esporotricose ELISA não reagente	7
Total	79

Decidiu-se quantificar o tempo entre coleta do material clínico e resultado final apenas do cultivo, por ser o método diagnóstico mais demorado para a finalização do resultado e por ser o diagnóstico padrão ouro. Os grupos tiveram mediana semelhante em relação ao tempo em dias para a obtenção do diagnóstico micológico por cultivo, sendo observado nos HIV positivos 13.5 dias (IQR= 8.8 - 27) vs HIV negativos 12.5 dias (IQR= 7 - 19.5).

Dentre o grupo de HIV positivos, 39/65 (60%) pacientes coletaram materiais para cultivo sendo verificado resultado positivo para *Hc* em 28 (71.7%). Já no grupo dos HIV negativos, 20/34 (58.8%) deles coletaram materiais para cultivo sendo verificado resultado positivo em 5 pacientes (25%). As duas únicas variáveis com significância estatística foram hemocultivo (HIV positivos 21 / 32.3% vs HIV negativos 4 / 11.8%, $p= 0.025$) e cultivo de medula óssea (HIV positivos 24 / 36.9% vs HIV negativos 3 / 8.8%, $p=0.003$).

Tabela 14 - Materiais clínicos coletados para cultivo de histoplasmose em pacientes diagnosticados com histoplasmose, INI 2000-2018

Variáveis		Diagnóstico de HIV			
		Não Reagente	Reagente	P-valor	
Cultivo (materiais):	Gânglio Linfático	Não	34 (100)	58 (89.2)	0.092
		Sim	0 (0)	7 (10.8)	
	Sangue	Não	30 (88.2)	44 (67.7)	0.025
		Sim	4 (11.8)	21 (32.3)	
	Medula óssea	Não	31 (91.2)	41 (63.1)	0.003
		Sim	3 (8.8)	24 (36.9)	
	Biópsia de pele	Não	31 (91.2)	61 (93.8)	0.689
		Sim	3 (8.8)	4 (6.2)	
	Lavado broncoalveolar	Não	29 (85.3)	61 (93.8)	0.268
		Sim	5 (14.7)	4 (6.2)	
	Escarro	Não	31 (91.2)	60 (92.3)	1
		Sim	3 (8.8)	5 (7.7)	
	Urina	Não	34 (100)	64 (98.5)	1
		Sim	0 (0)	1 (1.5)	
	Cultivo negativo	Não	27 (79.4)	54 (83.1)	0.653
		Sim	7 (20.6)	11 (16.9)	
	Total		34	65	

Vinte e cinco pacientes HIV reagentes realizaram exame histopatológico, sendo que 18 (72%) apresentaram laudo compatível com histoplasmose. Materiais abordados foram gânglio linfático 11/18 (61.1%); medula óssea 12/18 (66.6%); biópsia de pele 4/18 (22.2%); mucosa oral 7/18 (38.8%); lavado broncoalveolar 3/18 (16.6%). No grupo de HIV não reagentes, 12 pacientes realizaram exame histopatológico, sendo que 7 (58,3%) apresentaram laudo compatível com histoplasmose. Materiais abordados foram: gânglio linfático 2/7 (28.5%); medula óssea 2/7 (28.5%); biópsia de pele 0/7; mucosa oral 1/7 (14.2%); lavado broncoalveolar 2/7 (28.5%).

Os laudos histopatológicos dos pacientes HIV reagentes e HIV n, respectivamente, tiveram descrições semelhantes: infiltrado inflamatório crônico granulomatoso 14 (21,5%) vs 5 (14,7%), $p=0,412$; linfadenite crônica granulomatosa 4 (6,2%) vs 1 (2,9%), $p=0,657$; necrose caseosa 2 (3,1%) vs 0, $p=0,544$; células gigantes multinucleadas do tipo Langhans 3 (4,6%) vs 1 (2,9%), $p=1$; impregnação pela Prata de Grocott 11 (16,9%) vs 3 (8,8%), $p=0,369$; outros 4 (6,2%) vs 1 (2,9%), $p=0,657$.

Pelo método diagnóstico de exame microscópico direto, observou-se significância estatística apenas referente ao material tipo sangue, apresentando resultado positivo em maior frequência nos HIV não reagentes 4 (11,8%) do que nos HIV reagentes 1 (1,5%), $p=0,046$. Os demais materiais clínicos não expressaram significância estatística em ambos os grupos, respectivamente: medula óssea 3 (4,6%) vs 1 (2,9%), $p=1$; lavado broncoalveolar 1 (1,5%) vs 0, $p=1$; não utilizou este método diagnóstico 57 (87,7%) vs 28 (82,4%), $p=0,547$.

No grupo dos HIV reagentes, o *WB* foi positivo em 54/60 (90%), e não foram coletados ou encontrados em 5/65 pacientes. Entre os HIV não reagentes, o *WB* não foi encontrado ou não coletado em 3/34 pacientes; dentre os 31 testes realizados, 29 (90,6%) tiveram resultados positivos.

A ID foi realizada em 60/65 pacientes HIV reagentes, e 39/60 (65%) foram reagentes. No grupo de HIV não reagentes, a ID foi realizada em 32 pacientes, sendo 26/31 (83,8%) reagentes. Na **tabela 15** pode ser visto a sensibilidade dos testes utilizados para o diagnóstico de histoplasmose.

Tabela 15 - Sensibilidade dos testes diagnósticos para histoplasmose em pacientes HIV reagentes e não reagentes, INI 2000-2018.

	HIV reagentes N= 65	HIV não reagentes N= 34	Total	P-valor
Cultivo	28/39, 71.7%	5/20, 25%	33/59, 55.9%	<0.01
Histopatológico	18/28, 72%	7/12, 58.3%	25/40, 65.5%	1
WB	54/60, 90%	29/32, 90.6%	83/92, 90.2%	0.6095
ID	39/60, 65%	26/32, 83.8%	65/94, 69.1%	0.8924

ID = Imunodifusão dupla; WB = Western blot

Ao cruzar dados de pacientes que tiveram cultivo positivo e realizaram testes sorológicos, observou-se 7 imunodiagnósticos falso negativos (WB não reagentes e ID não reagentes). Todos eles apresentavam a forma disseminada da doença e necessitaram de hospitalização, eram de raça branca e procedentes do Rio de Janeiro-RJ; 4 homens (66%) e idade média de 42.5 ± 11.98 anos. Nenhum deles relatou história epidemiológica relevante para histoplasmose. Febre, perda ponderal e hepatoesplenomegalia estiveram presentes em 5/7 casos, vômitos 4/7 e lesões orais em 3/7. Seis dos sete pacientes eram HIV positivos, com mediana de CD4 médio de 39 cels/ μ l, mediana de carga viral média de 461,941 cópias/ml, todos em abandono de tratamento com antirretrovirais. Infecções oportunistas concomitantes foram descritas em 5/6 pacientes, predominando tuberculose pulmonar 3/6, seguida de pneumocistose 2/6 e neurotoxoplasmose 1/6. Um dos pacientes HIV positivos fazia uso de quimioterapia para Linfoma não Hodgkin agravando ainda mais seu *status* imunológico. O paciente HIV negativo era imunossuprimido por uso crônico de corticoide e recentes pulsoterapias para controle de reação hansênica. O tempo médio para obtenção das culturas de *Hc* foi de 15.5 ± 9.4 dias e tempo de internação até o óbito de 5 pacientes foi de 18 dias (4 aids, 1 hanseníase). Anfotericina B desoxicolato foi usada em 5/6 pacientes, tendo como dose acumulada média 850 ± 150 mg mg; o portador de hanseníase não chegou a receber terapia antifúngica devido à finalização do cultivo positivo com identificação de *Hc* pós *mortem* e ausência de suspeita clínica de micose sistêmica durante o período de internação.

Os dois pacientes com imunodiagnóstico falso negativos sobreviventes continuam sendo acompanhados no INI nos ambulatórios de HIV, e na visita de maio/2019 ambos se encontravam bem. Um deles recebeu itraconazol 200 mg/dia

por 24 semanas após a alta hospitalar e considerável reconstituição imunológica, CD4⁺ 14 cells/ μ l durante a hospitalização para 386 cells/ μ l, 20,4%; com carga viral indetectável. No momento em uso regular de Tenofovir 300mg, lamivudina 300mg, atazanavir 300mg e ritonavir 100mg. Dislipidemia presente como comorbidade. O Segundo sobrevivente fez uso de itraconazol 200 mg por 16 meses e também apresentou significativa reconstituição imune verificada por aumento de CD4⁺ 65 cells/ μ l durante a hospitalização para 460 cells/ μ l, 15,6%, e carga viral indetectável. Apresenta hipertensão arterial sistêmica, diabetes tipo 2, dislipidemia e esquizofrenia como comorbidades. Novo teste sorológico foi realizado em ambos os pacientes em maio/2019, mantendo até este momento *WB* e *ID* negativos mesmo após recuperação imunológica com aumento significativo de CD4⁺.

As formas clínicas de histoplasmose estão detalhados na **tabela 16**, onde fica evidente a maior incidência da forma disseminada no grupo HIV positivos 50/65 (76.9%) vs HIV negativos 12/34 (35.2%), $p < 0.001$. As outras formas de histoplasmose no grupo de HIV positivos foram: cutânea disseminada 3, laríngea 1, mediastinite crônica 1, histoplasmose no SNC 2. Já no grupo dos HIV negativos, houve 1 caso de forma cutânea isolada e 1 de histoplasmose no SNC.

Tabela 16 - Forma clínica da histoplasmose.

Variáveis	Diagnóstico de HIV		P-valor	
	Negativos N=34	Positivos N=65		
Forma Clínica da Doença (Histoplasmose)	Pulmonar aguda (até 4 semanas)	4 (11.7)	2 (3)	0.2019
	Pulmonar crônica	15 (44.1)	4 (6.1)	<0.01
	Disseminada	13 (38.2)	52 (80)	<0.01
	Outros	2 (5.8)	7 (10.7)	0.6616

Quanto ao tratamento, a anfotericina B desoxicolato foi amplamente usada no grupo de HIV positivos 32/65 (49.2%) vs HIV negativos 0, $p < 0.01$; anfotericina B complexo lipídico no grupo de HIV positivos 10/65 (15.4%) vs HIV negativos 0, $p = 0.014$. Não houve significância estatística quanto ao uso de anfotericina B lipossomal: HIV positivos 4/65 (6.2%) vs 4/34 (11.8%), $p = 0.441$. Os dados sobre tratamento podem ser resumidamente verificados na **tabela 17**.

Tabela 17 - Tratamento preferencialmente utilizado durante a internação de pacientes com histoplasmose de acordo com sorostatus para HIV, INI 2000-2018.

Variáveis	Diagnóstico de HIV				
		Negativos	Positivos	P-valor	
Tratamento preferencialmente utilizado (Histoplasmose)	Anfotericina B convencional	Não	34 (100)	33 (50.8)	< 0.001
		Sim	0 (0)	32 (49.2)	
	Anfotericina B lipídica	Não	34 (100)	55 (84.6)	0.014
		Sim	0 (0)	10 (15.4)	
	Anfotericina B lipossomal	Não	30 (88.2)	61 (93.8)	0.441
		Sim	4 (11.8)	4 (6.2)	

Efeitos colaterais relacionados ao uso de anfotericina B foram mais frequentes no grupo de HIV positivos do que nos HIV negativos respectivamente: insuficiência renal aguda 33.8% vs 2.8%, $p < 0.001$ e hipocalcemia 13.8% vs 0, $p = 0.026$. Não foi possível o cálculo de dose acumulada de anfotericinas devido à dificuldade em achar a descrição desta variável na maioria dos prontuários.

O tempo em meses de uso de azólicos (itraconazol 200mg/dia) foi semelhante em ambos os grupos: HIV positivos 16 semanas (IQR 8 – 34.5) vs HIV negativos 13.5 semanas (IQR 8.5 – 24), $p = 0.372$.

Mais de 70% dos pacientes HIV positivos com diagnóstico de histoplasmose necessitaram de internação: dentre os internados 35.5% necessitaram ser direcionados para o centro de terapia intensiva (CTI), e 40% foram a óbito em aproximadamente 6 dias. Já no grupo dos HIV negativos, somente 4/34 (11.7%) foram internados, mas dos 4 internados, 3 necessitaram ser direcionados para o CTI, 3/4 necessitou de aminas e ventilação mecânica e 2/4 de hemodiálise. Tamanha foi a gravidade dos casos HIV negativos internados, que 3 dos 4 pacientes foram a óbito em aproximadamente 12 dias de internação hospitalar.

Tabela 18 - Dados sobre internação, gravidade e desfecho nos casos de histoplasmose disseminada.

	HIV negativos (n=34)	HIV positivos (n=65)	P valor
Necessitou de internação no INI	4 (12.1%)	45(71.4%)	<0.001
Direcionamento para o CTI	3(8.8%)	16(24.6%)	0.104
Uso de aminas	3(8.8%)	14(21.5%)	0.189
Hemodiálise	2(5.9%)	5(7.6%)	1
Ventilação mecânica	3(8.8%)	15(23%)	0.081
Total de óbitos	3(8.8%)	30(46.2%)	<0.001
Total de óbitos durante a internação	3(8.8%)	18(27.7%)	
Tempo de internação resultante em óbito, em dias (DP)	12 (10-14)	6 (5-18.5)	<0.001

CTI= centro de terapia intensiva; DP = desvio padrão; INI = Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

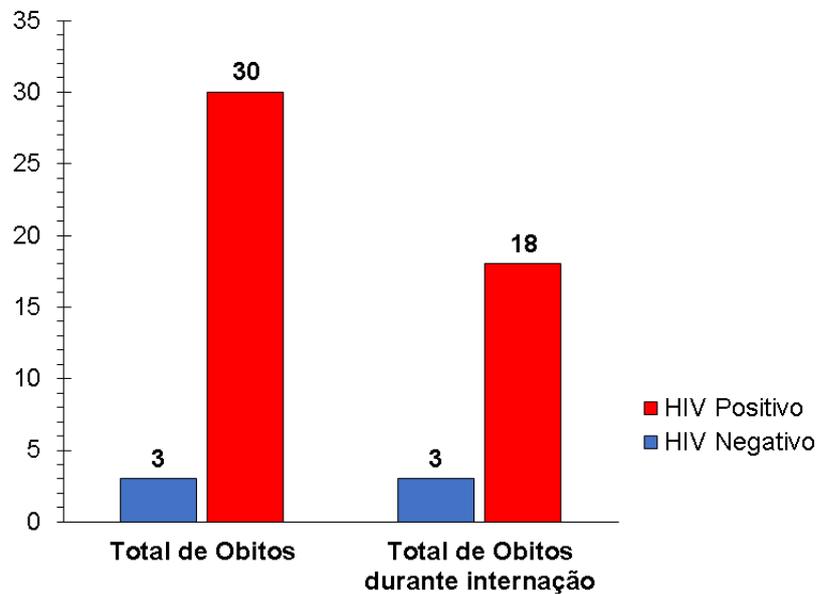
O tempo para a finalização dos resultados de cultivos foi muito próxima ao tempo de entrada da hospitalização até o óbito entre os pacientes HIV negativos. Infelizmente foi possível observar óbito precoce ocorrido em praticamente metade do tempo necessário para a finalização do cultivo. Esta relação temporal fica evidente na **tabela 19**.

Tabela 19 - Comparação temporal entre obtenção do resultado do cultivo e da data de internação até o óbito.

		Diagnóstico de HIV		P-valor
		Negativos	Positivos	
Tempo para receber resultado do cultivo (em dias)	Mediana (IQR)	12.5 (7,19.5)	13.5 (8.8,27)	0.292
Tempo de Internação resultante em óbito	Média (DP)	12 (10,14)	6 (5,18.5)	< 0.001

A **figura 12** demonstra o número total de óbitos e destes quantos ocorreram durante a internação nos pacientes com diagnóstico de histoplasmose.

Figura 12 - Comparação entre o número total de óbitos e os óbitos por histoplasmose ocorridos durante a internação, no INI, 2000-2018.



A **tabela 20** mostra a análise univariada e multivariada realizada para avaliação de fatores associados a óbito na histoplasmose. Possivelmente pelo n relativamente pequeno da amostra, não foi possível demonstrar significância estatística na análise multivariada, embora na univariada ser do sexo masculino tenha sido protetor para óbito, enquanto anemia, leucopenia, ser internado no CTI, receber aminas e ventilação mecânica tenham sido relacionados a óbito. É importante observar que todos os 13 óbitos se deram em pacientes com a forma disseminada da doença, sendo 1 óbito entre os não soropositivos para HIV com essa forma (1/11, 9%), e 12 óbitos dentre os 38 pacientes que tinham HIV e a forma disseminada (12/38, 32%). Dada a totalidade de óbitos na forma disseminada, essa variável, forma clínica, não pode ser analisada estatisticamente.

Tabela 20 - análise univariada e multivariada realizada para avaliação de fatores associados a óbito na histoplasmoze.

Variáveis	Modelo Univar.		Modelo Multiv.	
	OR[95%IC]*	Pvalor	AOR[95%IC]**	Pvalor
Idade	1.02 (0.98-1.07)	0,35	1.03 (0.97-1.1)	0,32
Sexo	Feminino	1	1	-
	Masculino	0.15 (0.04-0.53)	<0.01	0.08 (0.01-0.4)
Tempo Evolucao Doenca	1 (0.97-1.02)	0,74	1 (0.96-1.04)	0,92
Diagnóstico de HIV	Negativo	1	1	-
	Positivo	7.47 (0.93-60.16)	0,06	8.09 (0.87-75.55)
Perda ponderal	Não	1	1	-
	Sim	1.33 (0.38-4.68)	0,65	1.47 (0.25-8.59)
Esplenomegalia	Não	1	1	-
	Sim	1.24 (0.24-6.35)	0,8	1.67 (0.19-14.87)
Anemia	Não	1	1	-
	Sim	5.64 (1.65-19.26)	0,01	4.03 (0.81-20.08)
Leucopenia	Não	1	1	-
	Sim	6.51 (1.82-23.3)	<0.01	3.65 (0.7-19.11)
Plaquetopenia	Não	1	1	-
	Sim	2.57 (0.59-11.09)	0,21	6.92 (0.97-49.56)
Internação no CTI	Não	1	1	-
	Sim	19.25 (3.52-105.29)	<0.01	-
Uso de aminas	Não	1	1	-
	Sim	73.33 (13.13-409.52)	<0.01	-
Hemodialise	Não	1	1	-
	Sim	2.95 (0.51-17.06)	0,23	5.44 (0.43-68.86)
Ventilação	Não	1	1	-
	Sim	62.07 (11.42-337.52)	<0.01	-

*Odds Ratio

**Adjusted Odds Ratio

Modelo binomial (logit)

Desfecho: obito por histoplasmoze

Variáveis controles no modelo multivariado : Idade, Sexo, Tempo Evolução da Doença e Diagnóstico de HIV

Variáveis retiradas por missings: Forma Clínica, Hipoxemia, albumina, hemoglobina, TGO, TGP, LDH

6. DISCUSSÃO

Este estudo descreve 18 anos de experiência com casos de histoplasmose no INI Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro. De 204 casos de histoplasmose diagnosticados no período de 2000 a 2018, 99 foram incluídos nesse estudo, por apresentarem dados clínicos e laboratoriais consistentes para subsidiar as discussões. Destes, aproximadamente 2/3 era de indivíduos HIV positivos; o maior público atendido neste serviço desde a década de 80, é de pacientes portadores de HIV, o que justifica, ainda que parcialmente, ser o grupo de HIV positivos quase o dobro do de HIV negativos.

Características sócio-demográficas foram semelhantes nos grupos de HIV positivos e HIV negativos, possivelmente revelando que a vulnerabilidade à doença está nos poucos anos de escolaridade, além de acesso limitado a saúde.

O perfil mais encontrado em ambos os grupos foi de homens adultos, brancos e residentes na cidade do Rio de Janeiro. Estes achados provavelmente se justificam pela maioria do público de HIV positivos do INI ser de homens que fazem sexo com homens (HSH) e no grupo de HIV negativos provavelmente por fatores de exposição ocupacional envolvendo risco de infecção para histoplasmose. UNIS e colaboradores (2004) também encontrou o mesmo perfil nos 111 casos estudados de histoplasmose disseminada no Rio Grande do Sul no período de 1977-2002, verificando predomínio de homens brancos sem história de contato conhecido com microfocos contaminados com *Histoplasma capsulatum var capsulatum*.

As principais tendências que puderam ser observadas a começar com a epidemiologia é que não se pode esperar fatores de exposição para aventar a hipótese de histoplasmose nos pacientes HIV positivos, já que a maioria não relatou história epidemiológica positiva, diferentemente dos HIV negativos, que em proporção expressiva, e diferente estatisticamente, apresentou exposição a morcegos e poeira/solo. Esta informação relembra que vivemos em uma região endêmica (ALMEIDA et al., 2019) sendo assim, de menor peso a presença de informação epidemiológica clássica (como exposição a galinheiros, a morcegos, a construções antigas) para aventar a hipótese de histoplasmose. A ausência de história epidemiológica relevante no grupo de HIV positivos pode ser considerada por si só como um “fator de risco” para que a hipótese de histoplasmose não seja aventada e assim haja retardo diagnóstico ou mesmo que a doença não seja

diagnosticada, como vimos no estudo sobre autópsia em Manaus (INPA, 2019). Notamos em nossa série que o retardo diagnóstico foi maior nos HIV positivos, com tempo para o diagnóstico de 22 semanas vs 8 semanas nos HIV negativos, o que impacta na mortalidade.

O maior número de casos/ano verificados em 2010 e 2011 não tem um fator causal claro. Do Valle e colaboradores (2017) descreveu um surto de paracoccidioomicose aguda/subaguda ocorrido em 2015 em meio urbano relacionado com o impacto ambiental de desflorestamento e remoção de terra consequentes à construção da rodovia expressa Arco Metropolitano do Rio de Janeiro-RJ, a qual foi concluída 1 ano antes deste surto. A residência dos pacientes localizava-se entre 0,1 e 16,6 km das áreas de construção. O aumento do número de casos agudos/subagudos de paracoccidioomicose, com relações temporais e geográficas com essa construção, sugeriu um possível risco para surtos de paracoccidioomicose (DO VALLE, 2017). A construção do Arco Metropolitano durou de 2008 a 2014. Vale lembrar que, assim como a paracoccidioomicose, a infecção pelo *Histoplasma capsulatum* também é adquirida pelas vias aéreas superiores, porém necessita-se de estudos específicos de georreferenciamento de casos de histoplasmose para chegarmos a conclusões.

Através deste estudo realizado no INI detectou-se o tempo excessivamente longo de sintomatologia nos pacientes HIV positivos (22 semanas) quando comparado com os HIV negativos (8 semanas). As forma clínica disseminada no grupo HIV positivo foi significativamente mais frequente que nos HIV negativos (76.9% vs 35.2%). Temporalidade de sintomatologia até o diagnóstico foi semelhante no estudo de histoplasmose disseminada no Rio Grande do Sul, onde mais de 50% dos 111 casos, tanto HIV positivos quanto HIV negativos, variou de 1 a 11 meses (UNIS, 2004). Falta de suspeita clínica direcionada à histoplasmose por desconhecimento das equipes de saúde, dificuldade de acesso a laboratórios de micologia e manifestações clínicas confundidoras com a tuberculose provavelmente foram os principais entraves que acabaram por gerar sintomatologia arrastada na maioria dos pacientes HIV positivos, muitas vezes oriundos de serviços externos. A tuberculose miliar também é uma forma clínica frequente em SIDA avançada (BRASIL, 2018). Respectivamente nos pacientes HIV positivos e HIV negativos, pode-se observar que febre (81.5% vs 64.7%), perda ponderal (69.2% vs 52.9%) e queixas respiratórias (49.2% vs 55.9%) foram os achados clínicos mais comumente

apontados em ambos os grupos. De acordo com as descrições clínicas no estudo do grupo do Rio Grande do Sul, as manifestações de caráter sistêmico como febre e emagrecimento foram percentualmente mais expressivas do que os achados dos pacientes do INI, sendo observadas em 92.7%, enquanto as manifestações respiratórias (tosse, expectoração, dispnéia) em 34,1% (UNIS, 2004). Mesmo sem atingir níveis de significância estatística, observou-se em nosso estudo maior expressão clínica quanto aos sintomas de diarreia e vômito no grupo de HIV positivos, assim como maiores achados de hepatoesplenomegalia no exame físico deste grupo, sinalizando sinais e sintomas gastrointestinais como marcadores clínicos para se pesquisar histoplasmose. Hepatoesplenomegalia, esplenomegalia, anemia e leucopenia foram significativamente mais encontrados nos HIV positivos, que em mais de $\frac{3}{4}$ das vezes apresentaram a forma disseminada), assim servindo como sinalizadores para se pensar em histoplasmose, especialmente no serviço de emergência do INI.

Diferentemente da maioria de estudos prévios que correlacionam HIV e histoplasmose, não foi observada diferença significativa relacionada à plaquetopenia em ambos os grupos. Dentre as queixas paralelas às determinadas no questionário do REDCap, foram encontrados descrições de quadros neurológicos como cefaleia 4 (6.1%); vertigem 1(1.5%); fraqueza em membros inferiores 3(4.6%); hemiparesia (com tomografia de crânio normal) 2(3%); afasia 2(3%); alteração de comportamento 1(1,5%); disfagia 2(3%). Dos 65 pacientes HIV positivos, apenas 2 pacientes foram investigados quanto à infecção fúngica no SNC, impulsionados pelo CRAg positivo no sangue. Desta maneira é possível perceber que queixas neurológicas foram subestimadas em nosso serviço quando a hipótese de neurocriptococose foi descartada. Um estudo demonstrando 21 anos de experiência com casos de histoplasmose no Rio Grande do Sul, revelou que entre os 137 casos analisados, 92 (63.1%) eram da forma disseminada, sendo verificada infecção no SNC em 4 pacientes HIV positivos e 9 em pacientes HIV negativos sem predisposição relatada para o acometimento sistêmico. Destes 9 pacientes, 5 apresentaram sinais de meningite crônica e hidrocefalia (SEVERO, 2001). Uma observação importante feita a partir das queixas neurológicas descritas, é de que a equipe médica no INI segue a tendência em buscar diagnósticos de neurocriptococose e neurotoxoplasmose, não sendo usualmente aventada a hipótese de histoplasmose no sistema nervoso central. O maior estudo retrospectivo multicêntrico sobre histoplasmose em sistema

nervoso central, avaliou 77 casos onde o líquido foi coletado e verificada 75% de positividade em exames sorológicos de pesquisa de antígenos e de anticorpos anti-*Histoplasma* (WHEAT, 2018). Embora a ferramenta esteja disponível (*Western blot* para histoplasma), falta uma rotina de investigação sorológica em SNC para histoplasmose nos pacientes HIV positivos com queixas neurológicas. Contudo, há uma sólida rotina estabelecida quanto à busca ativa de criptococose no serviço do INI, realizando-se com frequência o teste rápido CrAg LFA no soro dos pacientes HIV positivos expressando $CD4^+ < 100 \text{ cels/mm}^3$ e, quando positivo, segue-se para a investigação do CrAg no líquido. Talvez este seja um bom modelo de raciocínio a seguir quanto à investigação de histoplasmose no SNC.

Especificamente relacionado à infecção pelo HIV, é possível observar grande avanço mundial na era pós antirretrovirais com esquemas simplificados, porém esse benefício não é visto quando se trata de adesão e diagnóstico tardio de infecção por HIV. A grande maioria dos infectados pelo HIV com histoplasmose no INI encontrava-se em abandono de tratamento (18.5%) ou eram virgens de terapia antirretroviral (41.5%) e a mediana de $CD4^+ 70 \text{ cels/mm}^3$ era baixa, sinalizando grave comprometimento imunológico. De modo semelhante, em Medellín-Colômbia, foi realizado um estudo prospectivo envolvendo casos de histoplasmose em HIV positivos, no período de 2008 a 2011. Foram identificados 89 casos de histoplasmose disseminada, constando mediana de $CD4^+ 30 \text{ cels/mm}^3$ (CACERES et al., 2016). De modo interessante, em estudo de Ferreira (2016), verificou-se que a média de $CD4^+$ em pacientes com criptococose e HIV foi de 28.7 céls/mm³. Como já mencionado, há uma rotina estabelecida para a triagem de criptococose, mas não de histoplasmose, em HIV positivos. Está bem estabelecido que a histoplasmose é uma doença oportunista e avassaladora na maioria dos casos quando acomete pacientes com $CD4^+ < 100 \text{ céls/mm}^3$, desse modo, julgamos necessário e desejável o rastreio sorológico em pacientes imunossuprimidos, particularmente com essa faixa de $CD4^+$, para ambas as micoses sistêmicas. Sugerimos que esse rastreio seja feito com o *Western blot*, cuja sensibilidade é de 90%, e não com a imunodifusão dupla, dada a menor sensibilidade dessa, de 65%, nos HIV positivos.

É válido lembrar e talvez justificar essa baixa suspeição diagnóstica para histoplasmose no HIV, colocando novamente em pauta que este problema surge desde a literatura, já que o próprio PCDT brasileiro e *Aids book 2015/2016* não listaram a histoplasmose como doença oportunista também falhando para o alerta

de uma doença potencialmente fatal. É importante notar que a coinfeção com tuberculose ocorreu em 1/5 dos pacientes HIV positivos, o que significa que não se deve deixar de pesquisar tuberculose em pacientes com Histoplasmose, e vice-versa, especialmente naqueles com grave imunodeficiência.

Observar uma taxa de mortalidade de 46.1% nos coinfectados com HIV e histoplasmose em um serviço especializado em infectologia como o INI, revela um problema de saúde pública provavelmente ainda maior em serviços não especializados, já que estamos em um país endêmico para esta micose. As variáveis relacionadas a óbito em análise univariada foram leucopenia e anemia, que refletem provavelmente forma disseminada da doença em imunossupressão avançada, uma vez que todos os óbitos em nosso estudo se deram em pacientes com a forma disseminada. Espera-se uma taxa de mortalidade de 39% em coinfeção HIV e histoplasmose em áreas endêmicas acreditando-se que nestas regiões a doença seja mais conhecida e divulgada pelos profissionais da saúde com consequentes diagnósticos mais precoces, impactando em menor mortalidade (COUPPIE, 2006). Em áreas não endêmicas, a taxa de mortalidade é de 58% nos coinfectados, onde supostamente a doença é pouco conhecida pelos profissionais da saúde resultando em baixo índice diagnóstico e maior letalidade (COUPPIE, 2006). Nossa taxa de mortalidade é também alarmante na região nordeste do Brasil, a qual tem uma das maiores prevalências de HIV / AIDS na América Latina; o Estado do Ceará tem uma das maiores taxas de mortalidade por histoplasmose no mundo, que varia entre 33-42% (DAMASCENO et al., 2019).

Como verificado no grupo dos HIV positivos, outras doenças oportunistas particularmente a pneumocistose e a tuberculose, continuam a caminhar lado a lado com a histoplasmose. Pode-se considerar como fator de risco a coinfeção Hc/pneumocistose/tuberculose devido ao retardo no diagnóstico de histoplasmose pelo mimetismo da sintomatologia e maior divulgação e conhecimento da tuberculose e pneumocistose em relação à histoplasmose entre os profissionais da saúde. Hipoxemia e elevado valor de LDH foram observados sem significância estatística no grupo de HIV positivos com pneumocistose 6/65 (9.2%) e nos HIV negativos sem pneumocistose 3/34 (8.8%). Já nos HIV positivos com pneumocistose, a porcentagem de hipoxemia foi de 15.3%, deixando dúvidas qual agente infeccioso foi o causador desta alteração laboratorial.

Sabe-se que a infecção por *Pneumocystis jirovecii* acarreta um aumento significativo dos valores de LDH. Uma revisão sistemática avaliou a acurácia do lactato desidrogenase (LDH) nos diagnósticos de pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*, concluindo que a sensibilidade da LDH no diagnóstico da pneumocistose é 80%, principalmente no grupo com aids, porém com baixa especificidade (DENG; LI 2018). Futuros estudos comparando histoplasmose e pneumocistose podem esclarecer a correlação específica entre hipoxemia e aumento de LDH nestas doenças.

No diagnóstico específico de histoplasmose, observou-se significância estatística com maior frequência de hemocultivo positivo (HIV positivos 32.3% vs HIV negativos 11.8%, $p= 0.025$) e cultivo de medula óssea positiva (HIV positivos 36.9% vs HIV negativos 8.8%) para *H. capsulatum*, assim servindo de incentivo para pesquisas mais agressivas em pacientes com suspeita de histoplasmose nas futuras abordagens dos pacientes do INI.

Uma séria problemática envolvendo o tema diagnóstico é o tempo prolongado necessário para a finalização de cultivos com identificação do *H. capsulatum*, o que resulta como fator de risco de maior mortalidade para ambos os grupos. O tempo para a finalização dos resultados de cultivo foi de aproximadamente 13 dias, impactando diretamente no desfecho por consequente atraso no tratamento com antifúngico específico. Um estudo brasileiro, prospectivo realizado no período de 2016 a 2018, envolvendo 14 centros terciários de saúde incluíram 570 pacientes infectados por HIV internados com febre entre outras achados clínicos. Destes 570 pacientes, 123 (21.6%) apresentaram diagnóstico de histoplasmose através de métodos clássicos como cultivo e detecção de antígeno urinário. A mortalidade geral em 30 dias foi de 22,1%, diminuindo para 14,3% em pacientes com diagnóstico baseado em antígenos (FALCI et al., 2019)

Assim, faz-se necessário buscar urgentemente outras técnicas que proporcionem resultados mais rápidos, sensíveis e específicos, lembrando que em nosso serviço temos o *WB* com validação interna (ALMEIDA, 2016).

WB é uma excelente ferramenta que resulta em diagnóstico altamente provável da histoplasmose. Neste estudo, observou-se uma sensibilidade de 90% nos HIV positivos e 93.5% nos HIV negativos com o teste de *WB*. Buscou-se detalhes dos casos onde o *WB* apontou resultado falso negativo, ou seja, cultivo positivo para *Hc* e *WB* negativo. Foram 7 casos no total, sendo 6 HIV positivos e 1

HIV negativo. Este grupo de pacientes nos alerta sobre a gravidade da imunossupressão em pacientes HIV negativos, especialmente em paciente com reação hansênica em uso de doses elevadas de corticoterapia como também de HIV positivos que podem não expressar anticorpos específicos anti-*Histoplasma*. É válido destacar que na prática clínica, especialmente o médico, diante de um caso que expresse elementos clínicos e laboratoriais inespecíficos de histoplasmose, não pode deixar de agir diante de um resultado negativo de *WB*. Mesmo diante de um número pequeno de pacientes, foi possível extrair a lição da existência induzida ou inata de falha de expressão de anticorpos específicos anti-*Histoplasma*, assim sendo indispensável o raciocínio epidemiológico, clínico e laboratorial inespecíficos para aventar a hipótese de histoplasmose. Infelizmente o paciente HIV negativo deste grupo foi a óbito sem a suspeita clínica de histoplasmose e sem terapêutica específica.

Achados alarmantes foram encontrados quando foram correlacionados dados sobre internação, gravidade dos casos apontado pelo direcionamento ao CTI, óbito e tempo de internação resultante em óbito. Deparar-se com uma taxa de internação superior a 70% nos casos de HIV e histoplasmose, aproximadamente um quarto necessitando de cuidados intensivos/aminas/ventilação mecânica e próximo à metade dos coinfectados com desfechos fatais revelaram um cenário desastroso dentro de um serviço especializado em infectologia. Tal observação de gravidade também foi encontrada no grupo de HIV negativos, onde a taxa de internação foi expressivamente menor. Porém dos poucos pacientes que internaram, 3/4 (75%) foram a óbito, sendo que em um deles a suspeita de histoplasmose não ocorreu, e o paciente não teve prescrito antifúngico específico.

As principais limitações encontradas em nosso estudo foram: análise retrospectiva dos dados, resultando em muitas perdas de informações, o não acompanhamento de alguns pacientes no INI após o diagnóstico e a não realização de necropsia em nosso serviço, o que possivelmente resultou em não realização de diagnósticos *pós morte*.

7. CONCLUSÕES

- O perfil de gravidade dos pacientes diagnosticados com histoplasmose atendidos no INI no período de 2000 a 2018, foi observado nos HIV positivos por mediana de CD4⁺ 70 céls/mm³ e por imunossupressão induzida por medicamentos imunossupressores nos pacientes HIV negativos. Com estes dados, recomendamos o rastreio precoce de histoplasmose com *WB* em todo paciente com CD4⁺ abaixo de 100 céls/mm³ e nos pacientes em uso de elevadas doses de imunossupressores. Caso seja positivo, recomendamos proceder com tratamento preemptivo para histoplasmose.
- Epidemiologia clássica para histoplasmose foi encontrada infreqüentemente dentre os pacientes HIV positivos, indicando que não se deve esperar por esse dado para se cogitar a hipótese de histoplasmose, sendo recomendável basear-se a conduta na clínica e em dados sugestivos de imunossupressão avançada para iniciar investigação e tratamento empírico.
- A forma clínica disseminada foi a mais freqüente dentre os HIV positivos, enquanto a forma pulmonar o foi dentre os HIV negativos.
- Leucopenia e anemia foram relacionados a óbito, mais freqüentes dentre a forma disseminada e devem alertar o clínico para a gravidade desses achados.
- Todos os óbitos se deram na forma disseminada da doença.
- A tuberculose foi o principal diagnóstico diferencial de histoplasmose no estudo, sendo encontrada em um quinto dos pacientes soropositivos para HIV, assim fazendo-se necessário a busca conjunta precoce destas doenças.
- Tempo longo de sintomatologia, imunossupressão avançada, demora para a obtenção de resultados diagnósticos, ignorância epidemiológica e de conteúdo clínico sobre histoplasmose entre os profissionais da saúde implicam fatores de risco para o desfecho em doença na forma disseminada e conseqüente aumento nas taxas de mortalidade.

- A elevada taxa de mortalidade verificada neste estudo reflete não apenas uma realidade interna, como possivelmente nacional de uma doença que ainda persiste beirando o anonimato.
- Estimou-se inicialmente a capacidade de avaliar a incidência de histoplasrose anual nos pacientes infectados e não infectados pelo HIV no período de 2000 a 2018, porém não foi possível cumprir este objetivo específico, já que não foram incluídos todos os casos de histoplasrose/ano e não foi viável quantificar os casos de HIV positivos, quanto menos de HIV negativos atendidos no INI no período citado acima para estimar incidência.
- A observação comparativa entre tempo de finalização do cultivo e tempo de internação hospitalar até o óbito nos alarmou sobre a necessidade de utilizar-se métodos diagnósticos confiáveis e de resultado mais rápido. O *WB* pode ser um caminho para suprir esta deficiência.
- Idealiza-se que as observações deste estudo sirvam como sinalizadores de potenciais oportunidades de prevenir a histoplasrose no INI mudando estatísticas trágicas de uma infecção curável.

REFERÊNCIAS

- ADENIS, A. A.; AZNAR, C.; COUPPIÉ, P. Histoplasmosis in HIV-Infected Patients: A Review of New Developments and Remaining Gaps. **Curr Trop Med Rep**, v. 1, p. 119-128, 2014.
- ADENIS, A.A. et al. Tuberculosis and Histoplasmosis among Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients: A comparative study. **Am J Trop Med Hyg**, v. 90, p. 216-223, 2014
- ALMEIDA, F.; LACAZ, C.S. Cogumelos do gênero *Histoplasma* isolados de lesões de cromomicose. Associação de fungos nas lesões. **Folia Clin Biol**. v. 11, p. 59-65, 1939.
- ALMEIDA, M.A. et al. Validation of western blot for *Histoplasma capsulatum* antibody detection assay. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, 2016.
- ALMEIDA, M.A. **Validação de ensaio imunoenzimático (Western blot) para o diagnóstico da histoplasmose**. 2014. 97f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, RJ, 2014.
- ALMEIDA, M.A.; et al., The occurrence of histoplasmosis in Brazil: A systematic review. **Int J Infect Dis**, v. 86, p. 147-156, 2019.
- ALVARADO, R.; AVENDANO, R.; SALFELDER K. Primary cutaneous histoplasmosis. **Mykosen**, v. 19: p. 259-264, 1976.
- ANDERSON, R. et al. Liposomal encapsulation enhances and prolongs the anti-inflammatory effects of water-soluble dexamethasone phosphate in experimental adjuvant arthritis. **Arthritis Res Ther**, v. 12, n. 4, 2010.
- ANDREU, C.M.F. et al. Histoplasmosis diseminada progresiva en pacientes con SIDA. **Rev Cubana Med Trop**, v. 48, n. 3, p. 163-164, 1996.
- ARANGO, M, al. Histoplasmosis: results of the Colombian national survey, 1992–2008. **Biomedica**, v. 31, p. 344-356, 2011.
- BARRE-SINOUSSE, F. HIV as the cause of AIDS. **Lancet**, v. 348, p. 31-35, 1996.
- BONGOMIN, F. et al. Essential in vitro diagnostics for advanced HIV and serious fungal diseases: International experts' consensus recommendations. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 38, p. 1581-1584, 2019.
- BONGOMIN, F.; KWIZERA, R.; DENNING, D.W. Getting Histoplasmosis on the Map of International Recommendations for Patients with Advanced HIV Disease. **J Fungi**, v. 5, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Formulário Terapêutico Nacional**. Brasília, DF, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Técnico para o Diagnóstico da infecção pelo HIV**. Brasília, DF, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Imunossupressores pós transplante de medula óssea**. Brasília, DF, 2016

BRASIL. Ministério da Saúde. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**. Brasília, DF, 2018.

BUITRAGO, M.J. et al. Comparison of PCR protocols for detecting *Histoplasma capsulatum* DNA through a multicenter study. **Rev Iberoam Micol**. v. 30, p. 256-260, 2013.

BULMER, A.C.; BULMER, G.S. Incidence of histoplasmin hypersensitivity in the Philippines. **Mycopathologia**.; v. 149, p. 69-71, 2001.

CACERES, D.H. et al. Clinical and laboratory profile of persons living with human immunodeficiency virus/acquired immune deficiency syndrome and histoplasmosis from a Colombian hospital. **Am J Trop Med Hyg**, v. 5, n. 95 p. 918-924, 2016.

CACERES, DH. et al. Evaluation of a Histoplasma antigen lateral flow assay for the rapid diagnosis of progressive disseminated histoplasmosis in Colombian patients with AIDS. **Mycoses**. 2020 Feb;63(2):139-144.

CANTEROS, C.E. et al. Endemic fungal pathogens in a rural setting of Argentina: seroepidemiological study in dogs. **Rev Iberoam Micol**, v. 27, p. 14-19, 2010.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Current Trends Update on Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) - United States. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 35, 757-760,765-756. 1986.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men-New York City and California. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 30, p. 305-308, 1981.

COHEN, P.R. et al. Cutaneous lesions of disseminated histoplasmosis in human immunodeficiency virus-infected patients. **J Am Acad Dermatol**, v. 23, p. 422-428, 1990.

CORREIA, F.G.S. **Análise espacial dos casos de histoplasmose disseminada associada a AIDS no município de Fortaleza**. 2012. 106 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2012.

COTTLE, L.E. et al. A multinational outbreak of histoplasmosis following a biology field trip in the Ugandan rainforest. **J Travel Med**. v. 20, p. 83-87, 2013.

COUPPIE, P. et al. Acquired immunodeficiency syndrome-related oral and/or cutaneous histoplasmosis: a descriptive and comparative study of 21 cases in French Guiana. **Int J Dermatol**, v. 41, p. 571-576, 2002.

COUPPIE, P. et al. American histoplasmosis in developing countries with a special focus on patients with HIV: diagnosis, treatment, and prognosis. **Curr Opin Infect Dis**, v. 19, p. 443-449, 2006.

CUNHA VS, ZAMPESE MS. et al. Mucocutaneous manifestations of disseminated histoplasmosis in patients with acquired immunodeficiency syndrome: particular aspects in a Latin-American population. **Clin Exp Dermatol**. 2007 May; 32(3):250-5.

CUNICO, W. et al. T. HIV – Highlights In Drug Research. **Quim. Nova**, v.31, p. 2111-2117, 2008.

CURTIS, A.C.; CAWLEY, E.P. Genital histoplasmosis. **J Urol**, v. 57, p. 781-787, 1947.

DAMASCENO, L.S. et al. Novel clinical and dual infection by *Histoplasma capsulatum* genotypes in HIV patients from Northeastern, Brazil. **Sci Rep**, v. n. 13, p. 11789, 2019.

DARLING, S.T. A protozoan general infection producing pseudotubercles in the lungs and focal necrosis in the liver, spleen and lymph nodes. **JAMA**, 46, p. 1283-1285, 1906.

DE BOSSCHER, K.; BECK, I.M.; HAEGEMAN, G. Classic glucocorticoids versus non-steroidal glucocorticoid receptor modulators: Survival of the fittest regulator of the immune system? **Brain Behav Immun**, v. 24, n. 7, p. 1035-1042, 2010.

DE MONBREUN, W.A. The cultivation and cultural characteristics of Darling's *Histoplasma capsulatum*. **Am J Trop Med**. 1934; v. 14, p. 93-125, 1934.

DE PAUW, B. et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. **Clin Infect Dis**, v. 6, 1813–1821, 2008.

DEEPE, G.S. *Histoplasma capsulatum* (histoplasmosis). In Principles and Practice of Infectious Diseases, 8th ed.; BENNETT, J.E., DOLIN, R., BLASER, M.J., EDS.; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2015; pp. 2949–2962.

DENG, C.; LI, Y. Systemic review: the accuracy of lactic dehydrogenase in the diagnosis of pneumocystis pneumonia. **Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue**. v. 30, p. 322-326, 2018.

DIAS, M.A. et al. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from bats in the urban area of Sao Paulo State, Brazil. **Epidemiol Infect**, v. 139, p. 1642-164, 2011.

DISMUKES, W.E. et al. Itraconazole therapy for blastomycosis and histoplasmosis. **Am J Med**. v. 93, p. 489, 1992

DO VALLE, A.C.F. et al.; Paracoccidioidomycosis after Highway Construction, Rio de Janeiro, Brazil. Research letters. **Emerg Infect Dis**, v. 23, n. 11, 2017.

EHRCHEN, J. et al. Glucocorticoids induce differentiation of a specifically activated, anti-inflammatory subtype of human monocytes. **Blood**, v. 109, n. 3, p. 1265-1274, 2007.

EMMONS, C.W. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. **Public Health Rep.** v. 64, p. 892-896, 1949.

ENGELMANN, E.W.M. et al. Gastrointestinal histoplasmosis mimicking peritonitis carcinomatosa: a rare case of an emergent surgical presentation of HIV. **J Surg Case Rep**, v. 10, 2019.

FALCI, D.R. et al. Histoplasmosis, an underdiagnosed disease affecting people living with HIV/ AIDS in Brazil: results of a multicenter prospective cohort study using both classical mycology tests and histoplasma urine antigen detection. **Open Forum Infect Dis**, 2019.

FARINA, C. et al. A. Imported and autochthonous. Histoplasmosis in Italy: new cases and old problems. **Rev Iberoam Micol**, v. 22, n. 1, p. 169-171, 2005.

FERREIRA, C.S. et al. Histoplasmose disseminada fatal. Relato de 3 casos em lactentes no primeiro trimestre de vida, sendo um em neonato de três dias (Histoplasmose congênita). **J Pediatria**, v. 64, p34-40, 2009.

FERREIRA, M. F. **Prevalência de antigenemia criptocócica em pacientes HIV positivos com imunossupressão avançada no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas**. 2016. 84 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas)-Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

FERREIRA, M.S; BORGES, A.S. Histoplasmosis. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 42, 192-198,1998.

FRANCHIMONT, D. et al. Inhibition of Th1 immune response by glucocorticoids: dexamethasone selectively inhibits IL12-induced Stat4 phosphorylation in T lymphocytes. **J Immunol**, v. 164, n. 4, p. 1768-1774, 2000.

GIACOMAZZI, J. et al. The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses**, v. 59, p. 145-150, 2016.

GIESSEL, M.; RAU, J.M. Primary cutaneous histoplasmosis: a new presentation. **Cutis**, v. 25, p. 152-154, 1980.

GILBERT, D.N. et al. **The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy 2019**. 1st ed. Sperryville, VA: Antimicrobial Therapy, Inc; 2019.

GOODWIN, R.A.; LLOYD, J.E.; DES PREZ, R.M. Histoplasmosis in normal hosts. **Medicine**, v. 60, n. 4, p 231-266, 1981.

GOULD, E. The feeding efficiency of insectivorous bats. **J Mammol.**, v. 6, n.3, p. 399-407, 1955.

GUIMARÃES, A.J. et al. ELISA for early diagnosis of histoplasmosis. **J Med Microbiol**, v. 53, p. 509-514, 2004.

GUIMARÃES, A.J.; NOSANCHUK, J.D.; ZANCOPE-OLIVEIRA R.M. Diagnosis of Histoplasmosis. **Braz J Microbiol**, v. 37, n. 1, p. 1-13, 2006.

GUTIERREZ, M.E. et al. Disseminated Histoplasmosis in Patients with AIDS in Panama: A Review of 104 Cases. **Clin Infect Dis**, v. 40, p. 1199-2202, 2005.

HAGE, C. A. et al. A multicenter evaluation of tests for diagnosis of histoplasmosis. **Clin Infect Dis**, v. 53, n. 5, p. 448-454, 2011.

HERNANDEZ, M.S. et al. Reactividad a la histoplasmina em trabajadores de granjas avícolas em la Provincia de Ciego de Avila, Cuba. **Rev Inst Med Trop**, v. 34, n. 4, p. 329-333, 1992.

HILTY, J.; SMULIAN, A.G.; NEWMAN S.L. Histoplasma capsulatum utilizes siderophores for intracellular iron acquisition in macrophages. **Med Mycol**, v. 49, p. 633-642, 2011.

HOFF, G.L.; BIGLER, W.J. The role of bats in the propagation and spread of histoplasmosis: a review. **J Wildl Dis**, v. 17, n. 2, p. 191–196, 1981.

HYMES, K. B., et al. Kaposi's sarcoma in homosexual men-a report of eight cases. **Lancet**, v. 2, p. 598-600, 1981.

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). **Manaus sedia neste fim de semana o II Encontro Regional de Histoplasnose nas Américas. 2019.** Disponível em: <http://portal.inpa.gov.br/index.php/ultimas-noticias/3431-manau-sedia-neste-fim-de-semana-o-ii-encontro-regional-de-histoplasnose-nas-americas>. Acesso em: 14 de julho 2019.

JABR, R. et al. Histoplasmosis-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: A Review of the Literature. **Can J Infect Dis Med Microbiol**. v. 1, 2019.

JOHNSON, P.C. et al. Safety and efficacy of liposomal amphotericin B compared with conventional amphotericin B for induction therapy of histoplasmosis in patients with AIDS. **Ann Intern Med**. v. 137, 105-109, 2002.

KAUFFMAN, C. A. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. **Clin Microbiol Rev**, v. 20, n. 1, p. 115–132, 2007.

KAUFFMAN, C.A. Histoplasmosis. **Clin Chest Med**. v. 30, p. 217-225, 2009.

KAUFMAN, L. Laboratory methods for the diagnosis and confirmation of systemic mycoses. **Clin Infect Dis**. v. 14, p. 23-29, 1992.

KLIMAS, N.; KONERU A. O.; FLETCHER, M.A. Overview of HIV. **Psychosom Med**, v. 70, p. 523-530, 2008.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. Histoplasmosis. In: KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. **Medical mycology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. p. 248-279.

LACAZ, C.S. et al. **Tratado de micologia médica Lacaz**. 9.ed. São Paulo: Sarvier; 2009. p. 594-617.

LARSH, H.W. The epidemiology of histoplasmosis. In: AL-DOORY Y. (editor). **The Epidemiology of Human Mycotic Diseases**. Illinois: Springfield; 1975. p. 52-73.

LILL-ELGHANIAN, D. et al. Glucocorticoid-induced apoptosis in early B cells from human bone marrow. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 227, n. 9, p. 763-770, 2002.

LONDERO, A.T.; WANKE B. Histoplasmosis capsulata. **J Bras Méd**. v. 55, p. 94-109, 1988.

MAARTENS, G.; CELUM, C.; LEWIN, S.R. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment and prevention. **Lancet**, v. 384: p. 258-271, 2014.

MACEDO-VINAS, M.; DENNING, D.W. Estimating the Burden of Serious Fungal Infections in Uruguay. **J. Fungi**, v. 4, 2018.

MANDENGUE, C.E.; NGANDJIO, A.; ATANGANA, P.J. Histoplasmosis in HIV-Infected Persons, Yaounde, Cameroon. **Emerg Infect Dis**, v. 21, p. 2094-2096, 2015.

MANEECHOTESUWAN, K. et al. Suppression of GATA-3 nuclear import and phosphorylation: a novel mechanism of corticosteroid action in allergic disease. **PLoS Medicine**, v. 6, n. 5, 2009.

MARRIOT, J.B.; MULLER, G.; DALGLEISH, A.G. Thalidomide as an emerging immunotherapeutic agent. **Immunol Today**, v. 20, p. 538-540, 1999.

MEDINA, N. et al. Burden of serious fungal infections in Guatemala. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 36, p. 965–969, 2017.

MELHEM, M.D.S.C. Histoplasmosis. In: FOCACCIA R. (Ed.). **Tratado de Infectologia**. Rio de Janeiro: Atheneu, v.2, 2010. Histoplasmosis, p.1563-1576.

NACHER, M. et al. Disseminated histoplasmosis in Central and South America, the invisible elephant: the lethal blind spot of international health organizations. **AIDS**. V. 30, p. 167-170, 2016.

NAIFF, R.D. et al. New records of *Histoplasma capsulatum* from wild animals in the Brazilian Amazon. **Rev Inst Med Trop**, v. 38, 273–277, 1996.

NEGRONI, R. Histoplasmosis. In: FOCACCIA, R. (Ed.). **Tratado de Infectologia Veronesi**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 1415-1426.

NEMECEK, J.C.; WUTHRICH, M.; KLEIN, B.S. Global control of dimorphism and virulence in fungi. **Science**, v. 312, n. 5773, p. 583-588, 2006.

NOSANCHUK, J.D.; GACSER, A. *Histoplasma capsulatum* at the host-pathogen interface. **Microbes Infect**, v. 10, p. 973-977, 2008.

OUCHTERLONY, O. Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. **Prog Allergy**, v. 6, p. 30-154, 1962.

PAN, B. et al. Histoplasmosis: a new endemic fungal infection in China? Review and analysis of cases. **Mycoses**, v. 56, p. 212–221, 2013

PARVANEH, N. et al. Primary Immunodeficiencies: a rapidly evolving story. **J Allergy Clin Immunol**, v. 131, p. 314-323, 2013.

PIZZINI, C.V. et al. Evaluation of a Western blot test in an outbreak of acute pulmonary histoplasmosis. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 6, p. 20-23, 1999.

PRADO, M., et al. Mortality due to systemic mycoses as a primary cause of death or in association with AIDS in Brazil: a review from 1996 to 2006. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 513-521, 2009.

RAMOS, I.C. et al. Predictive factors for disseminated histoplasmosis in aids patients with fever admitted to a reference hospital in Brazil. **Rev Soc Med Trop**, v. 51, p. 479-484, 2018.

REIS, N. R.; et al. Sobre os morcegos brasileiros. In: REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Edt) **Morcegos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007. p. 17-14.

REYES-MONTES, M.R. et al. Identification of the source of histoplasmosis infection in two captive maras (*Dolichotis patagonum*) from the same colony by using molecular and immunologic assays. **Rev Argent Microbiol**. v. 41, p. 102-104, 2009.

ROBINSON, L.J. et al. Bilateral adrenal histoplasmosis manifesting as primary adrenal insufficiency. **CMAJ**, v. 4, p. E1217-E1221, 2019.

ROCHA-LIMA, H. Beitrag zur kenntnis der Blastomykoses. Lymphangitis epizootica und Histoplasmosia. **Zentralbl Bakteriol**, v. 67, p. 233-249, 1912.

ROCKSTROH, J. K.; HOFFMANN, C. (2015). **Hiv 2015/2016**. Medizin Fokus Verlag. Disponível em: <https://www.hivbook.com/wp-content/uploads/2016/04/hiv-2015-16-complete-1.pdf>. Acesso em: 14 de julho 2019.

ROSSINI, T.F.; GOULART, L.S. Histoplasmosse clássica: revisão. **Rev Bras Anal Clin**, v. 38, p. 275-279, 2006.

SAHEKI, M.N. et al. Histoplasmosse cutânea primária: relato de caso em paciente imunocompetente e revisão de literatura. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, p. 680-682, 2008.

SCHEEL, C.M.; GÓMEZ, B.L. Diagnostic methods for histoplasmosis: focus on endemic countries with variable infrastructure levels. **Curr Trop Rep**, v. 1, p. 129-137, 2014.

SEVERO, L.C. et al. Histoplasmosis in Rio Grande do Sul, Brazil: a 21-year experience. **Rev Inst Med Trop**, p. 43, p. 183-187, 2001

SILLS, M.; SCHWARTZ, A.; WEG, J.G. Conjugal histoplasmosis. A consequence of progressive dissemination in the index case after steroid therapy. **Ann Intern Med**, v. 79, p. 221-224, 1973.

SOO-HOO, T.S.; ADAM, B.A.; YUSOF, D. Disseminated primary cutaneous histoplasmosis. **Australas J Dermatol**, v.21, p. 105-107, 1980.

SOUZA, S.L.; et al. Causes of death among patients with acquired immunodeficiency syndrome autopsied at the Tropical Medicine Foundation of Amazonas. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 41, p. 247-251, 2008.

STUDDARD, J. et al. Cutaneous histoplasmosis. **Am J Respir Crit Care Med**, v. 113, p. 689-693, 1976.

SYMMERS, W.S. Localized cutaneous histoplasmosis. **BMJ**, v. 2, p. 790-792, 1956.

TAYLOR, M.L. et al. Biological and sociocultural approaches of histoplasmosis in the State of Guerrero, Mexico. **Mycoses**, v. 39 n. 9-10, p. 375-379, 1996.

TAYLOR, M.L. et al. Molecular typing of *Histoplasma capsulatum* isolated from infected bats, captured in Mexico. **Fungal Genet Biol**, v. 30, p. 207-212, 2000.

TESH, R.B.; SCHNEIDAU, JR J.D. Primary cutaneous histoplasmosis. **N Engl J Med**, v. 275, p. 597-599, 1966.

THOMSON, A. W.; BONHAM, C. A.; ZEEVI, A. Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. **The Drug Monit**, v. 17, n. 6, p. 584-91, 1995.

TOSH, F.E. et al. Primary Cutaneous Histoplasmosis. Report of a Case. **Arch Intern Med**, v. 114, p. 118-119, 1964.

TZU, S. **A arte da Guerra**. São Paulo: Record, 2006.

UNAIDS. **Estatísticas Globais Sobre HIV 2019**. Disponível em: <https://unaids.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 14 de julho 2019.

UNIS, G. OLIVEIRA, F.M. SEVERO, L.C. Histoplasmoze disseminada no Rio Grande do Sul. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 37, p. 483-468, 2004.

VAN DE BURG, M.; GENNERY, A.R. Educational paper: The expanding clinical and immunological spectrum of severe combined immunodeficiency. **Eur J Pediatr**, v. 170, p. 561-571, 2011.

WARD, J.I., et al. Acute histoplasmosis: clinical, epidemiologic and serologic findings of an outbreak associated with exposure to a fallen tree. **Am J Med**, v. 66, p. 587-795, 1979.

WHEAT LJ. Et al. Diagnosis of histoplasmosis by antigen detection based upon experience at the histoplasmosis reference laboratory. **Diagn Microbiol Infect Dis**. 2002 May; 43(1):29-37.

WHEAT, J.I. et al. Central nervous system histoplasmosis: Multicenter retrospective study on clinical features, diagnostic approach and outcome of treatment. **Medicine** 2018, 97, e0245.

WHEAT, L.J, MUSIAL, C.E. JENNY-AVITAL, E. Diagnosis and management of central nervous system histoplasmosis. **Clin Infect Dis**, v. 40, p. 844–852, 2005.

WHEAT, L.J. Current diagnosis of histoplasmosis. **Trends Microbiol**, v. 11, p. 488-494, 2003

WHEAT, L.J. et al. Clinical practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clin Infect Dis**, v. 45, 2007.

WHEAT, L.J. et al. Evaluation of cross-reactions in *Histoplasma capsulatum* serologic tests. **J Clin Microbiol**, v. 23, p. 493-499, 1986.

WHEAT, L.J. et al. Histoplasmosis. **Infect Dis Clin N Am**, v. 30 p. 207-227, 2016.

WHEAT, L.J. et al. Practice guidelines for the management of patients with histoplasmosis. **Clin Infect Dis**, v. 30, n. 4, p. 688-695, 2000.

WHEAT, L.J. et al. Risk factors for disseminated or fatal histoplasmosis: analysis of a large urban outbreak. **Ann Intern Med**, v. 96, n. 1, p. 159-163, 1982.

WHEAT, L.J. Laboratory diagnosis of histoplasmosis: update 2000. **Semin Respir Infect**, v. 16, n. 2, p. 131-40, 2001.

WHEAT, L.J.; KAUFFMAN, C.A. Histoplasmosis. **Infect Dis Clin North Am**. v. 17, p. 1-19. 2003.

World Health Organization (WHO). **2 nd Edition of the EDL**. 2019. Disponível em: https://www.who.int/medical_devices/diagnostics/selection_in-vitro/selection_in-vitro-meetings/sage-ivd-2nd-meeting/190318-2ndEditionofEDL-open-session.pdf?ua=1. Acesso em: 14 de julho 2019.

World Health Organization (WHO). **20th Essential Medicine List**. 2017. Disponível em: https://www.who.int/medicines/news/2017/20th_essential_med-list/en/. Acesso em: 14 de julho 2019.

World Health Organization (WHO). **Global Tuberculosis Report**. 2018. Disponível em: https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/. Acesso em: 14 de julho 2019.

World Health Organization (WHO). **Guidelines for managing advanced HIV disease and rapid initiation of antiretroviral therapy**. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/hiv/pub/toolkits/advanced-HIV-disease-policy/en/>. Acesso em: 14 de julho 2019.

World Health Organization (WHO). **HIV data**. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/hiv/en/>. Acesso em: 14 de julho 2019.

WU, C. et al. Soluble CD40 ligand-activated human peripheral B cells as surrogated antigen presenting cells: a preliminary approach for anti-HBV immunotherapy. **Virology Journal**, v. 7, n. 1, p. 370-377, 2010.

WU-HSIEH, B.; HOWARD, D.H. Histoplasmosis. In: MURPHY, J.W.; FRIEDMAN, H.; BENDINELLI, M. (Eds). **Fungal Infections and Immune Responses**. Plenum Publishing, New York, 1993. p.213.

YANG, Y. H. et al. Annexin-1 regulates macrophage IL-6 and TNF via glucocorticoidinduced leucine zipper. **J Immunol**, v. 183, n. 2, p. 1435-1445, 2009.

ZANCOPÉ-OLIVEIRA R.M.; MUNIZ, M.M.; WANKE, B. Histoplasmoze. In: COURA JR, (ed). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013. p. 1238-49.

ZANCOPÉ-OLIVEIRA, R.; WANKE, B. Isolamento do *Histoplasma capsulatum* de animais silvestres no Município do Rio de Janeiro. **Cad Saude Publica**, v. 2, 42–52. 1986.

ZEIDBERG, L.D, et al. Isolation of *Histoplasma capsulatum* from soil. **Am J Public Health**, v. 42, p. 930-935, 1952.

ZHAO, B. et al. Epidemiological investigation of *Histoplasma capsulatum* infection in China. **Chin Med J**, v. 114, p. 743-746, 2001.

APÊNDICE A - Questionário do Redcap

Histoplasmosose INI 2000 a 2018

Questionário para coletar informações sobre paciente com Histoplasmosose no Instituto Nacional de Infectologia da Fiocruz, no período de 2000 à 2018: fatores de risco associados em pacientes infectados e não infectados por HIV.

Identificação do paciente (número do prontuário)	[*DATA REMOVED*]
DADOS DEMOGRÁFICOS	
Sexo ao nascimento:	<input checked="" type="checkbox"/> Masculino
Etnia:	<input checked="" type="checkbox"/> Branca
Data de nascimento:	[*DATA REMOVED*]
Qual a nacionalidade do paciente? (País)	<input checked="" type="checkbox"/> Brasil
Qual a naturalidade do paciente? (Estado)	<input checked="" type="checkbox"/> Ceará
Endereço: (Rua)	[*DATA REMOVED*]
Endereço: (número)	0
Endereço (Bairro):	[*DATA REMOVED*]
Qual município o paciente mora? (Estado+Munic para evitar nomes repetidos)	<input checked="" type="checkbox"/> RJRio de Janeiro
Em qual estado o paciente mora?	<input checked="" type="checkbox"/> Rio de Janeiro
Ocupação:	<input checked="" type="checkbox"/> Empregado
Escolaridade em anos:	<input checked="" type="checkbox"/> Fundamental (até 8 anos)
Renda Familiar em salários mínimos :	<input checked="" type="checkbox"/> DADO NÃO ENCONTRADO
SINTOMAS	
Início dos sintomas até o diagnóstico: (em semanas)	3
Quais os sintomas apresentados?	<input checked="" type="checkbox"/> Febre <input checked="" type="checkbox"/> Adenomegalia <input checked="" type="checkbox"/> Hepatomegalia <input checked="" type="checkbox"/> Esplenomegalia <input checked="" type="checkbox"/> Vômitos <input checked="" type="checkbox"/> Dor abdominal <input checked="" type="checkbox"/> Quadro respiratório
Teve outros problemas?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim
Descreva outros problemas:	[*DATA REMOVED*]

Fundoscopia? Não

REFERENTES AO HIV

HIV: positivo

Data de diagnóstico de HIV/AIDS: [*DATA REMOVED*]

Uso prévio de antirretrovirais? Não

CD4 (valor absoluto) nos últimos 6 meses antes do diagnóstico de histoplasrose: 18

CD4 nadir? 14

CD8 (valor absoluto) nos últimos 6 meses antes do diagnóstico de histoplasrose: 559

Carga viral nos últimos 6 meses anteriores ao diagnóstico de histoplasrose: 461941

Infecções oportunistas concomitantes (IO) ao diagnóstico de Histoplasrose? Tuberculose
 Pneumocistose

Infecções oportunistas (IO) anteriormente ao diagnóstico de Histoplasrose? (no último ano). Nenhuma IO descrita

O paciente é portador de : Nada descrito no prontuário

O paciente faz uso de Imunossupressores: Não

O paciente passou por transplante? Não

HÁBITOS ASSOCIADOS

Hábitos associados: nada descrito no prontuário

HISTÓRIA EPIDEMIOLÓGICA RELEVANTE

Teve contato com: Nenhum achado sobre história epidemiológica no prontuário

Exames de Imagem

Alterações em imagem: Outros (sem sim, descrever)

Outros exames de imagem (descrição): [*DATA REMOVED*]

Exames laboratoriais coletados nas primeiras 72 horas após a entrada no INI (seja pela internação ou consultório ou apenas amostras laboratoriais).

Hipoxemia?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim
Acidose metabólica?	<input checked="" type="checkbox"/> Nenhum dado encontrado
Valor de Creatinina:	1.18
Valor de Ureia	[*DATA REMOVED*]
Valor de hemoglobina:	12.2
Leucócitos totais:	5190
Neutrófilos absolutos (soma de bastões e segmentados):	4203
Plaquetas:	215000
PCRT:	[*DATA REMOVED*]
Lactato:	1.5
AST (TGO):	[*DATA REMOVED*]
ALT (TGP):	[*DATA REMOVED*]
Fosfatase alcalina:	[*DATA REMOVED*]
LDH:	[*DATA REMOVED*]
GGT:	[*DATA REMOVED*]
Albumina:	[*DATA REMOVED*]
Bb Total:	[*DATA REMOVED*]
Bb direta:	[*DATA REMOVED*]
Bb indireta:	[*DATA REMOVED*]

Diagnóstico Micológico Específico:	
Data da coleta de materiais micológicos:	[*DATA REMOVED*]
Data do resultado de materiais micológicos:	[*DATA REMOVED*]
Material utilizado para diagnóstico histopatológico?	<input checked="" type="checkbox"/> Outros
Material do exame direto positivo	<input checked="" type="checkbox"/> Não utilizou este método diagnóstico
Cultivo (materiais):	<input checked="" type="checkbox"/> Sangue <input checked="" type="checkbox"/> Medula óssea
Material do PCR	<input checked="" type="checkbox"/> Não utilizou este método diagnóstico
Imunodifusão:	<input checked="" type="checkbox"/> Não reagente
W. Blot:	<input checked="" type="checkbox"/> Negativo
Fixação de complemento:	<input checked="" type="checkbox"/> Nenhum dado encontrado
Métodos utilizados para outros diagnósticos micológicos?	<input checked="" type="checkbox"/> Látex para cripto
Se coletado algum outro método diagnóstico micológico ou de micobacteria, marcar resultado:	[*DATA REMOVED*]
Diagnóstico concomitante confirmado de Tuberculose:	[*DATA REMOVED*]
Se diagnóstico concomitante de Tuberculose, descrever material coletado:	[*DATA REMOVED*]
Forma Clínica da Doença (Histoplasmose):	<input checked="" type="checkbox"/> Disseminada
Tratamento preferencialmente utilizado (Histoplasmose):	<input checked="" type="checkbox"/> Anfotericina B convencional
Dose acumulada de Anfotericina B:	700
Usou Itraconazol ou outros azólicos?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim
Número de meses de tratamento com azólicos:	24
Eventos adversos relacionados a terapia com Anfotericina	<input checked="" type="checkbox"/> Não apresentou eventos adversos
Terapia empírica para TB entre 6 e 12 meses antes?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim
Terapia empírica para TB concomitante ao diagnóstico ou suspeita de Histoplasmose?	<input checked="" type="checkbox"/> Não
Houve internação do paciente no INI?	<input checked="" type="checkbox"/> Sim

T. Data da internação:	[*DATA REMOVED*]
Data da alta hospitalar:	[*DATA REMOVED*]
Internação no CTI	<input type="radio"/> Sim
CTI, se sim:	<input checked="" type="checkbox"/> Amins
Data da primeira consulta ambulatorial devido à suspeita de Histoplasrose:	[*DATA REMOVED*]
Data da alta do acompanhamento ambulatorial dos casos de Histoplasrose:	[*DATA REMOVED*]
Abandono de tratamento e/ou acompanhamento ambulatorial devido à Histoplasrose, no INI:	<input type="radio"/> Não
Última consulta no INI (para saber se o paciente está vivo até o momento)	[*DATA REMOVED*]