

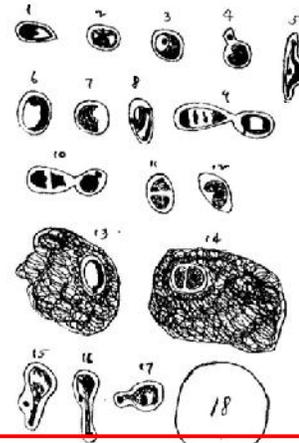
Histoplasmosis

- ▶ Histoplasmosis clásica: Es una micosis sistémica endémica producida por el hongo con dimorfismo termal y nutricional del complejo *Histoplasma capsulatum*
- ▶ **Sinonimia:**
 - Histoplasmosis capsulati
 - Histoplasmosis americana
 - Enfermedad de Darling
 - Citomicosis
 - Reticuloendoteliosis
 - Enfermedad de los murciélagos,
 - Fiebre de las cavernas y minas
 - Enfermedad de los mineros y espeleólogos.

Samuel Taylor Darling



Fue descubierta al efectuar la **autopsia** de 3 pacientes que fallecieron en la zona del canal de Panamá .



Drawing of histoplasma parasites by Darling. J.A.M.A. 1908; 46: 1284.

Encontró en los histiocitos microorganismos intracelulares que consideró un protozooario con cápsula y lo denominó *Histoplasma capsulatum*. En 1906, señaló que se trataba de una nueva enfermedad al diagnosticar dos sujetos con esplenomegalia y los microorganismos intracelulares semejantes a los del leishmaniasis

1913 Henrique da Rocha Lima concluyó que la histoplasmosis es una micosis

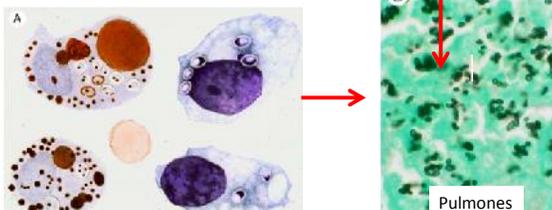
1929 Dodd y Tomkins dx in vivo en caso de 1 bebé de 6 meses

Tos, fiebre palidez, hepatoespleno megalia. Luego ictericia y ↑ de dificultad respiratoria.

1929 William de Monbreau cultivó el hongo y reprodujo la enfermedad en animales

1945/46 Christie y Peterson Pruebas con histoplasmina en personas con calcificaciones. Forma benigna

1948 Emmons suelo



Frotis en sangre periférica

Pulmones

Dimorfismo: medios y temperatura

Autopsia: Histoplasmosis diseminada



1940 Dr. Pablo Negroni. Estudió el 1° caso en Argentina



1958 Wilson Emmons fue el primero en evidenciar la relación entre el hábitat del murciélago y el patógeno

Association of Bats with Histoplasmosis

CHESTER W. EMMONS, Ph.D.



Histoplasma was isolated from soil adjacent to the stone and cement plastered basement wall on all four sides of this house. The hole in the east wall of the house and holes in the cornices were used by bats to gain entrance to the attic.

[Public Health Rep.](#) 1958 Jul; 73(7): 590-595.

Históricamente se reconocían 3 variedades distintas determinados por la distribución geográfica, morfología, y síntomas clínicos

Histoplasma capsulatum
var *capsulatum*

Histoplasma
capsulatum var *duboiisi*

Histoplasma capsulatum
var *farsimosum*

América, Asia, África y Europa

África

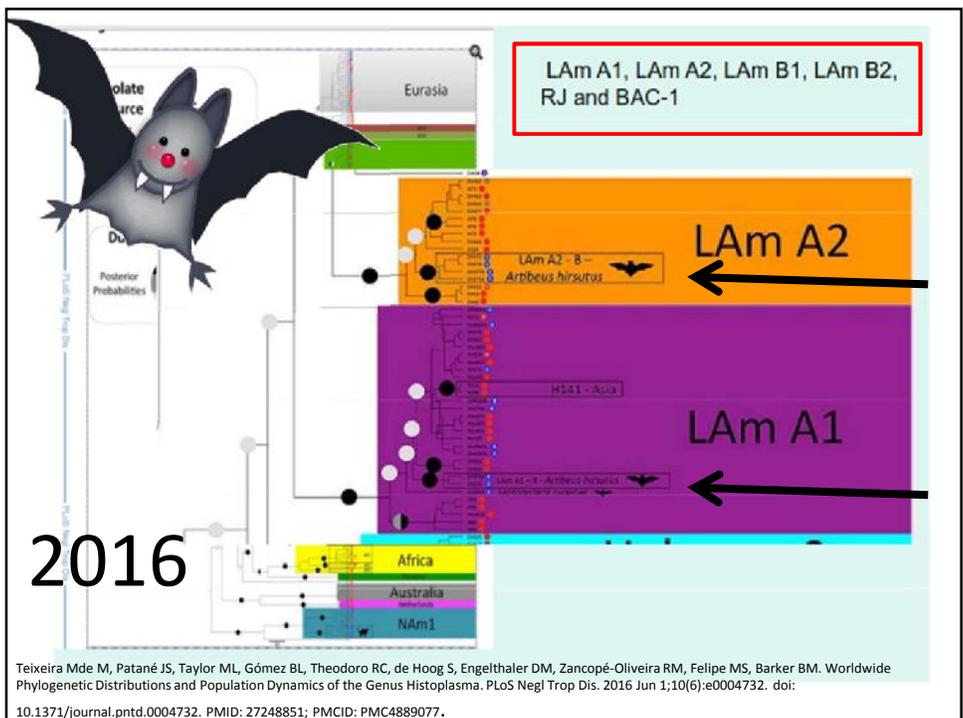
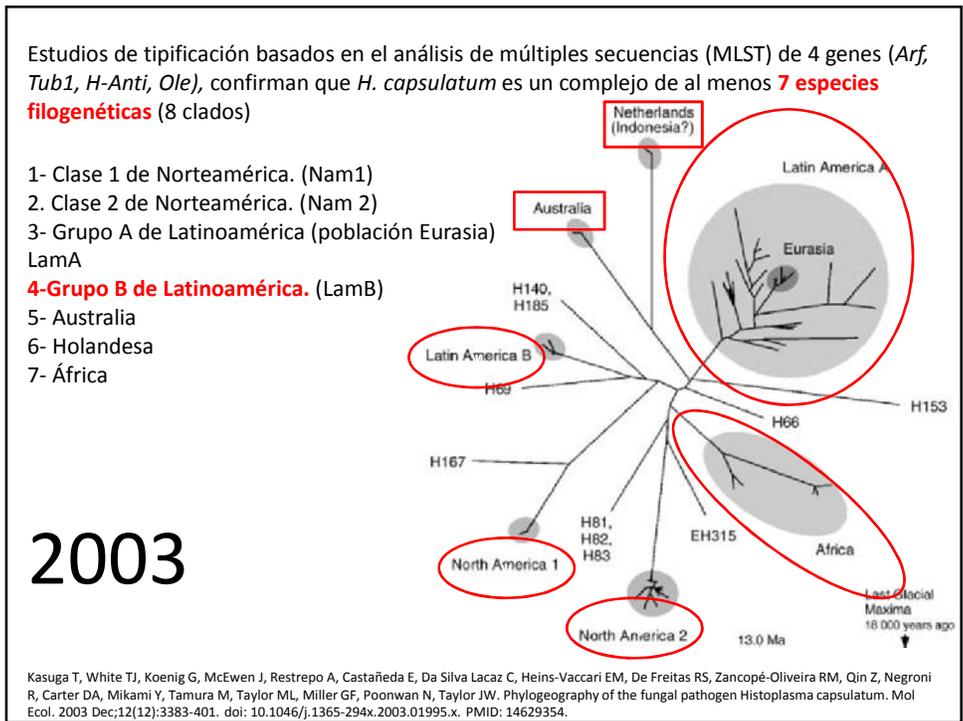
Asia y África

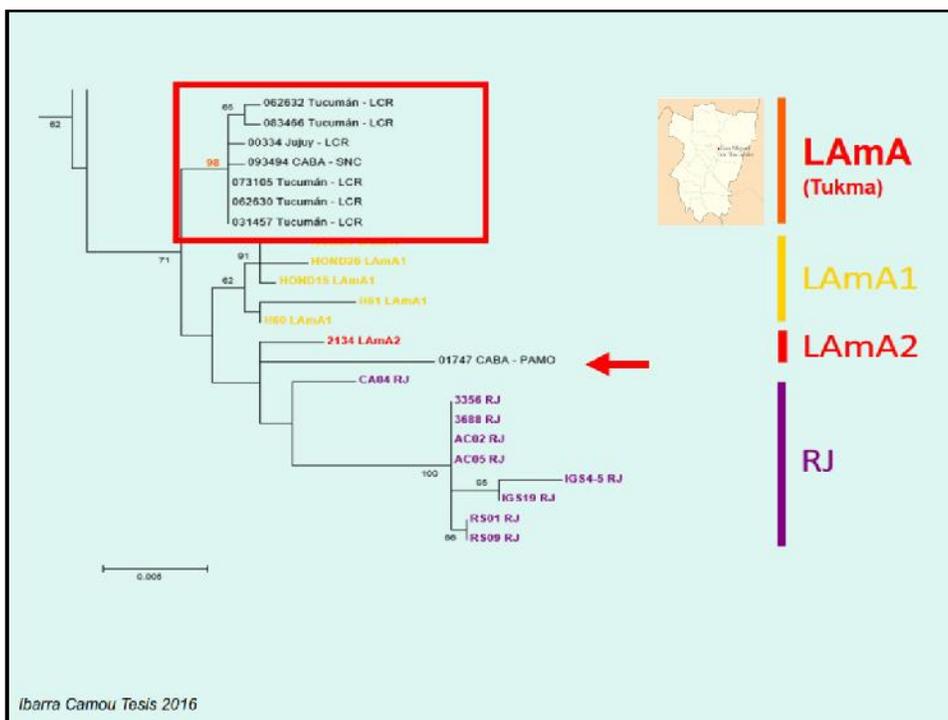
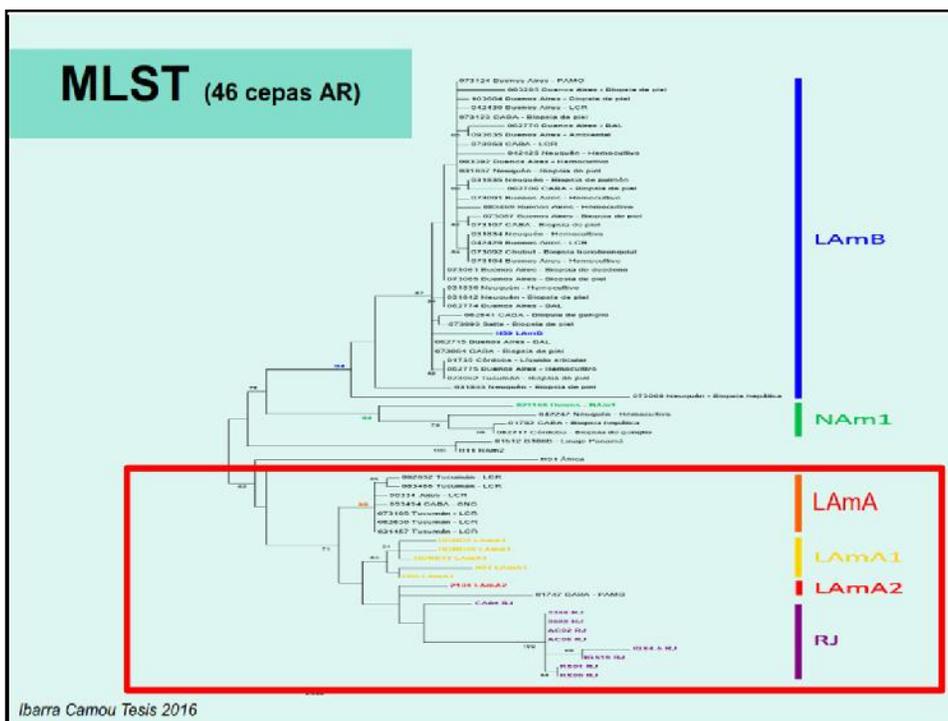
Histoplasmosis clásica
 Humanos y otros mamíferos: perros y gatos.

Histoplasmosis africana

Equinos

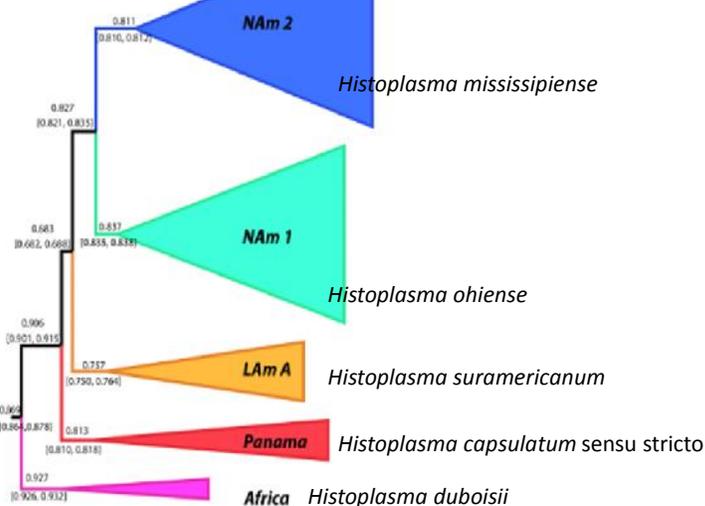
Con los estudios de biología molecular demostraron ser artificiales





2018

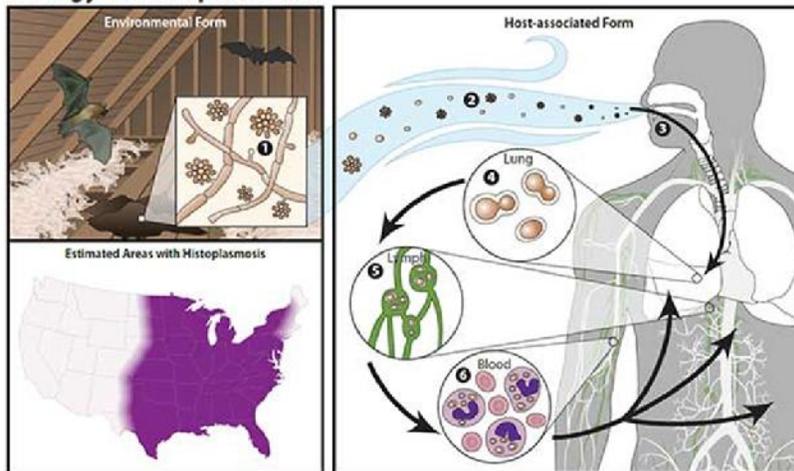
En el análisis basado en la secuenciación del genoma completo de 30 cepas, proponen 5 linajes. Diferencias en patogenicidad y sensibilidad



Sepúlveda VE, Márquez R, Turissini DA, Goldman WE, Matute DR. Genome Sequences Reveal Cryptic Speciation in the Human Pathogen *Histoplasma capsulatum*. mBio. 2017 Dec 5;8(6):e01339-17. doi: 10.1128/mBio.01339-17. PMID: 29208741; PMCID: PMC5717386.

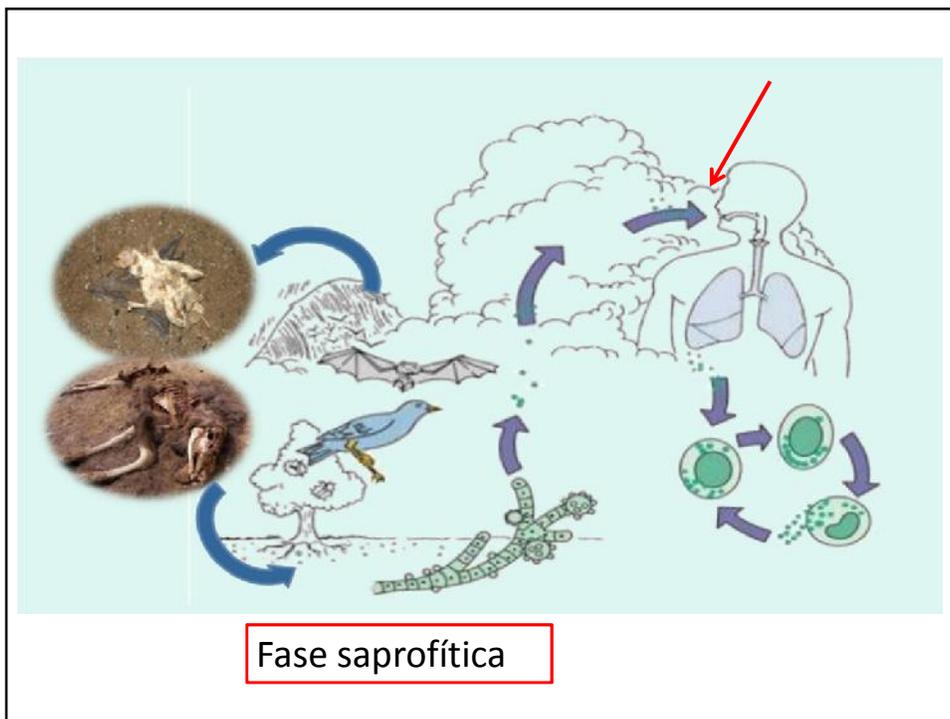
Histoplasma capsulatum

Biology of Histoplasmosis

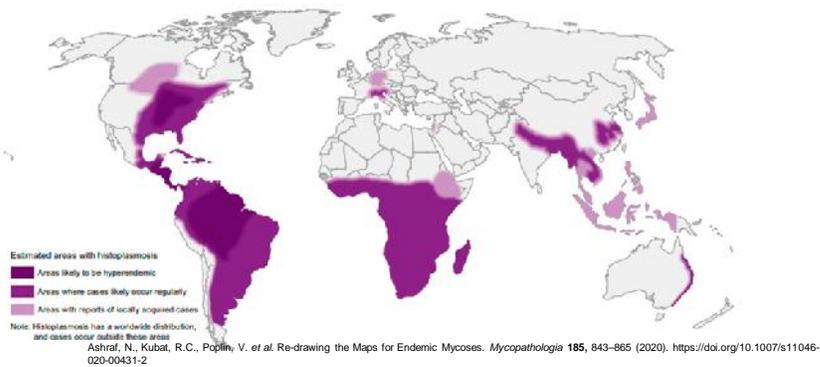


In the environment, *Histoplasma capsulatum* exists as a mold (1) with aerial hyphae. The hyphae produce macroconidia and microconidia (2) spores that are aerosolized and dispersed. Microconidia are inhaled into the lungs by a susceptible host (3). The warmer temperature inside the host signals a transformation to an oval, budding yeast (4). The yeast are phagocytized by immune cells and transported to regional lymph nodes (5). From there they travel in the blood to other parts of the body (6).





2020 Ecología y distribución geográfica



- Más de 60 países han registrado casos autóctonos
- Afecta a seres humanos pero también animales.

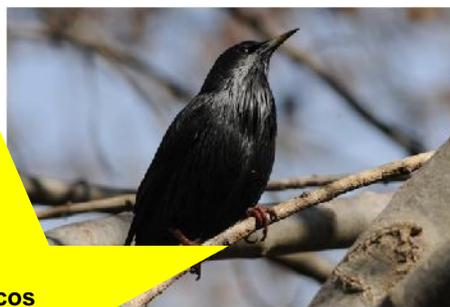


Ecología y distribución geográfica

- Predomina en el continente americano
- Grandes cuencas fluviales o proximidad de los lagos
- Alta humedad del suelo
- Temperaturas medias anuales de 15 a 20 °C
- Lluvias de 800 a 1200 mm por año



Habitad Natural



“Focos epidémicos”



Suelos

- Gran capacidad de retener H₂O
- Ricos en fosfatos, nitratos

Valles de los Ríos Ohio, Mississippi y Missouri



Cuenca del río Orinoco



Cuenca del Río de la Plata



Serra do Mar, Brasil





DESCRIPCIÓN DE ÁREAS ENDÉMICAS

✓ Pruebas de inmunidad celular

AUTOR	área estudiada	% de infección
<u>1979/</u> Rodriguez Z <i>et al.</i> Rev. Arg. Micología, 2: 5-10	Salta	22 % (2,6 - 40,5 %)
<u>1987/</u> Masih D <i>et al.</i> Rev Med Trop Sao Paulo, 29:59-62	Centro Córdoba	15 % - 73 %
<u>1991/</u> Marticorena BE <i>et al.</i> Rev Arg Micol, 14: 20-23	NE y N Córdoba	32 %
<u>1992/</u> van Gelderen de Komaid A <i>et al.</i> Eur J Epidemiol, 8:206-10	Norte de Tucumán	54 %
<u>1996/</u> Mangiaterra M <i>et al.</i> Rev. Med. Trop. Paulo, 38: 349-353	Sao N Corrientes, E y centro del Chaco	9,2 %
<u>1999/</u> van Gelderen de Komaid A <i>et al.</i> Eur J Epidemiol, 15:383-8	Norte de Tucumán	Mas 30 %

<p>Aislamiento de <i>Histoplasma</i> de muestras de tierra.</p>	<p>Diagnóstico de la infección en animales domésticos o silvestres</p>
	
<p>¿Cómo definimos un área endémica?</p>	
	
<p>Pruebas cutáneas con histoplasmina, % de reacciones positivas en pobladores del área</p>	<p>Reconocimiento de casos clínicos humanos.</p>

Eur. J. Epidemiol. 0392-2990
 March 1992, p. 206-210

**EUROPEAN
 JOURNAL
 OF
 EPIDEMIOLOGY**

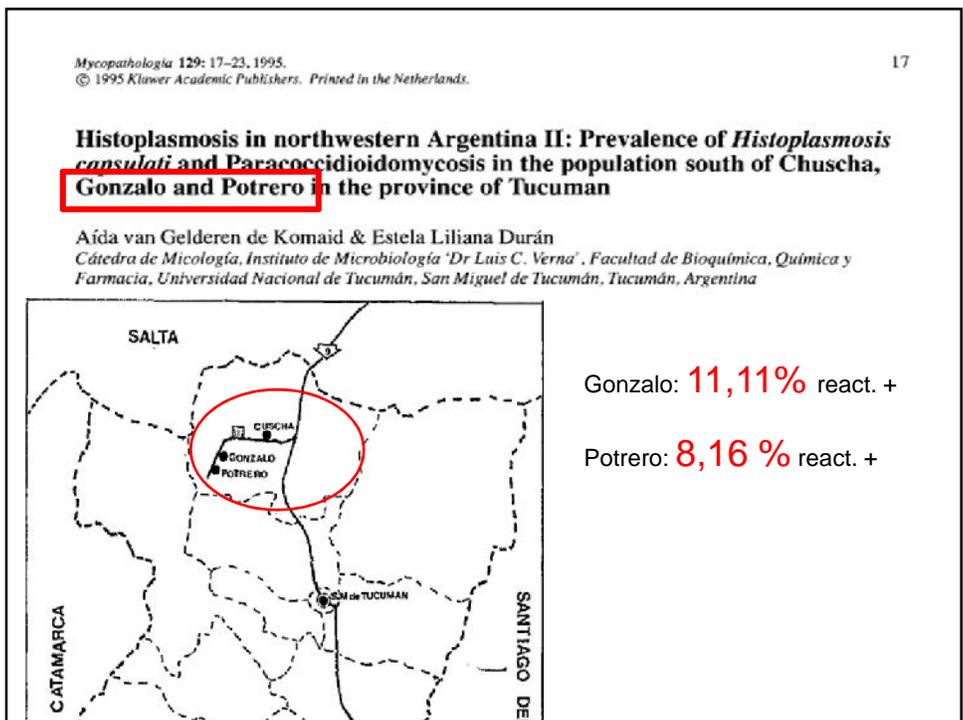
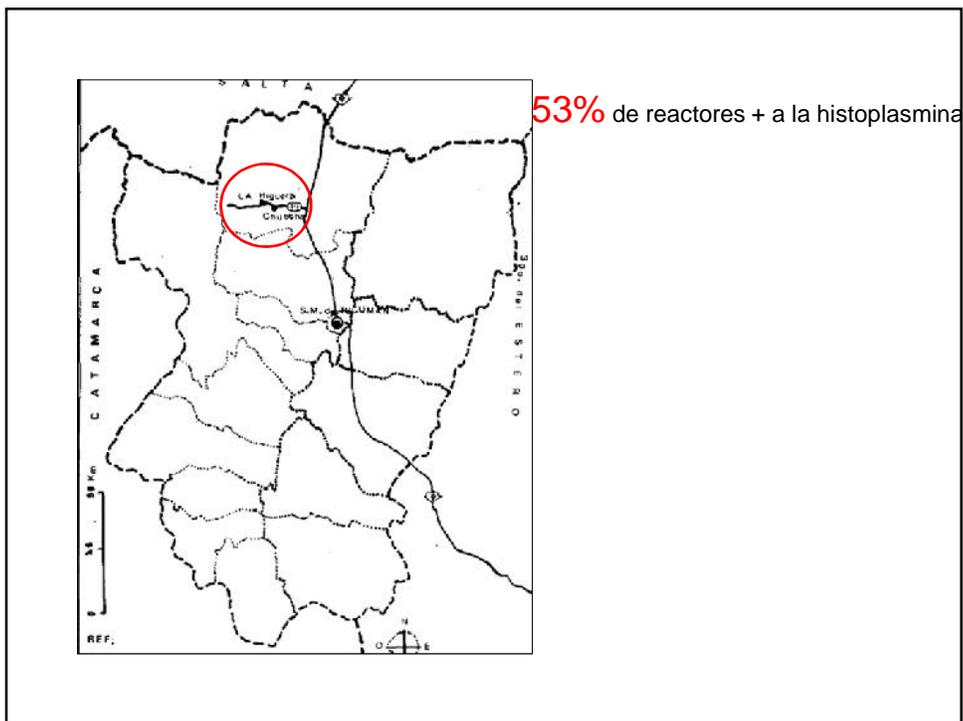
Vol. 8, No. 2

**HISTOPLASMOSIS IN NORTHWESTERN ARGENTINA
 EPIDEMIOLOGICAL SURVEY OF CHUSCHA AND LA HIGUERA IN
 THE PROVINCE OF TUCUMAN**

**A. VAN GELDEREN DE KOMAID[†], E.L. DURAN^{*},
 A.M. MADERO^{**} and V. CARIZO^{**}**

^{*}Catedra de Micología, Instituto de Microbiología "Dr. Luis C. Verna", Facultad de Bioquímica
 Química y Farmacia, Universidad Nacional de Tucumán, Ayacucho 491, (4000) San Miguel de
 Tucumán, Tucumán, República Argentina.

^{**}Proyecto Universitario de Promoción Comunitaria. Universidad Nacional de Tucumán.



European Journal of Epidemiology 15: 383-388, 1999.
© 1999 Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

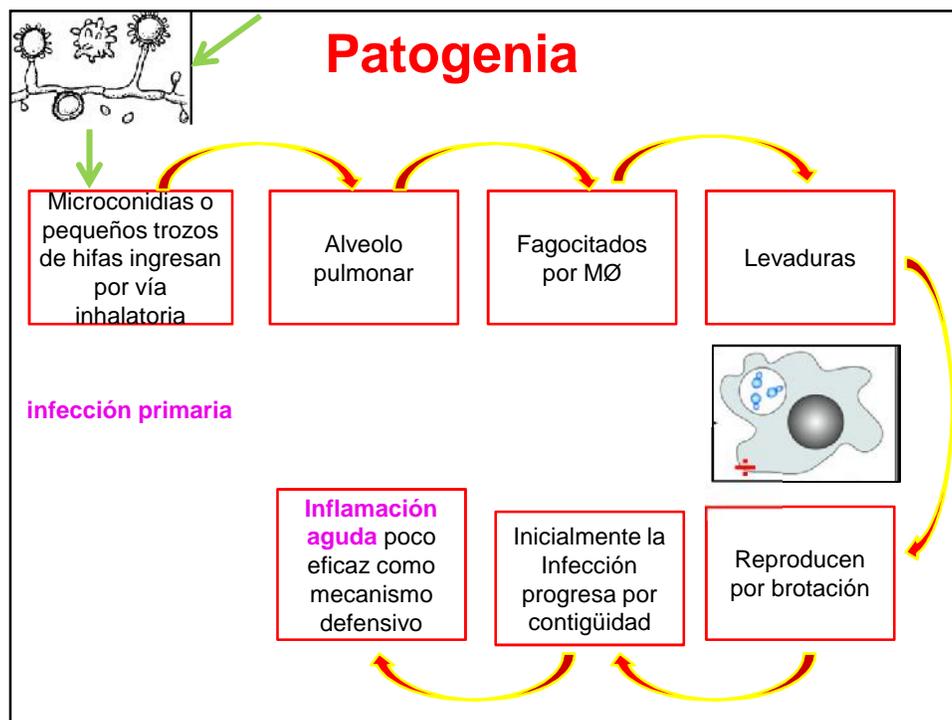
Histoplasmosis and Paracoccidioidomycosis in northwestern Argentina III. Epidemiological survey in **Vipos, La Toma, and Choromoro** - Trancas, Tucumán, Argentina

Aida van Gelderen de Komaid, Estela Durán & Isabel Borges de Kestelman
*Cátedra de Micología, Instituto de Microbiología 'Dr. Luis C. Verna', Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia,
Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Tucumán Argentina*

Vipos: **20 %**

La Toma: **8,33 %**

Choromoro: **8,57 %**



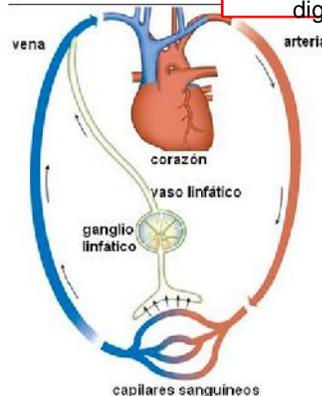
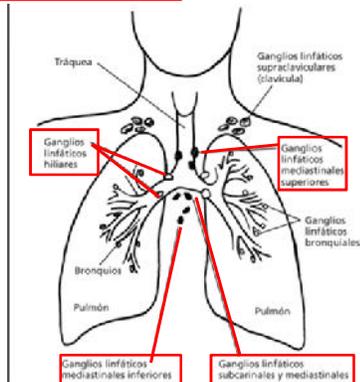
Patogenia

Invade los vasos linfáticos, ganglios del hilio pulmonar y mediastino

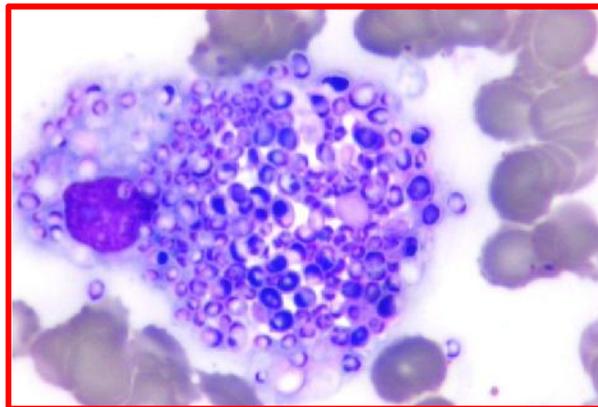
Torrente sanguíneo por el conducto torácico

Funguemia asintomática generalmente

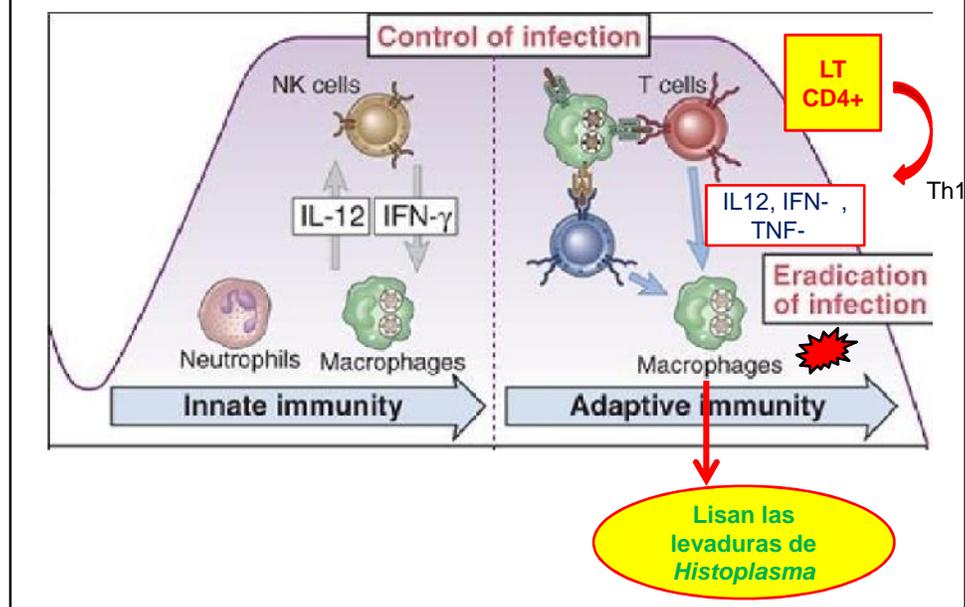
Infecta todos los órganos ricos en sistema monocito histiocitario y las estructuras linfáticas del tubo digestivo



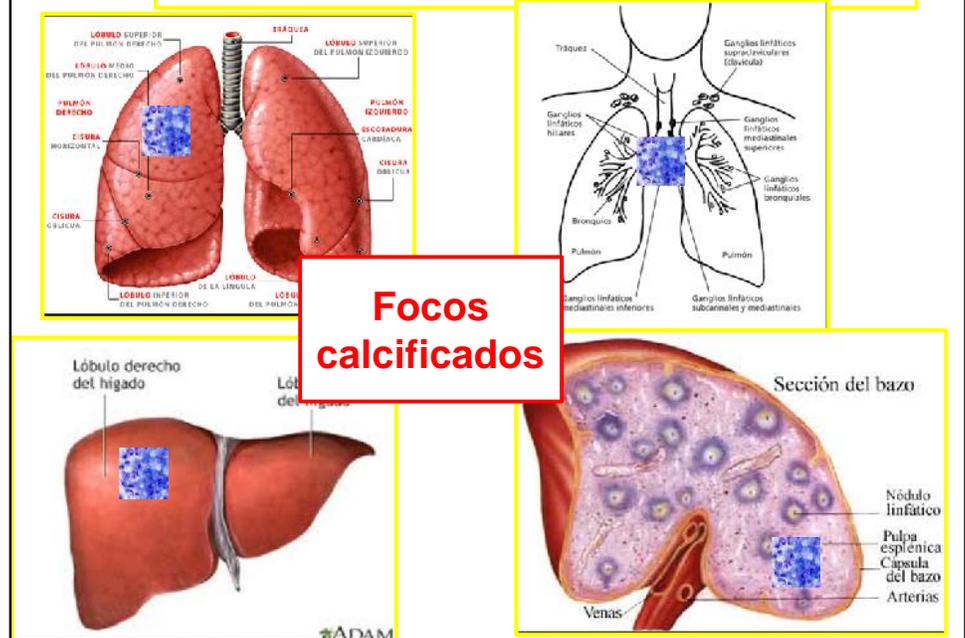
Durante las fases iniciales de la infección tanto los macrófagos como los neutrófilos **fagocitan** las levaduras pero **no son capaces de lisarlas**

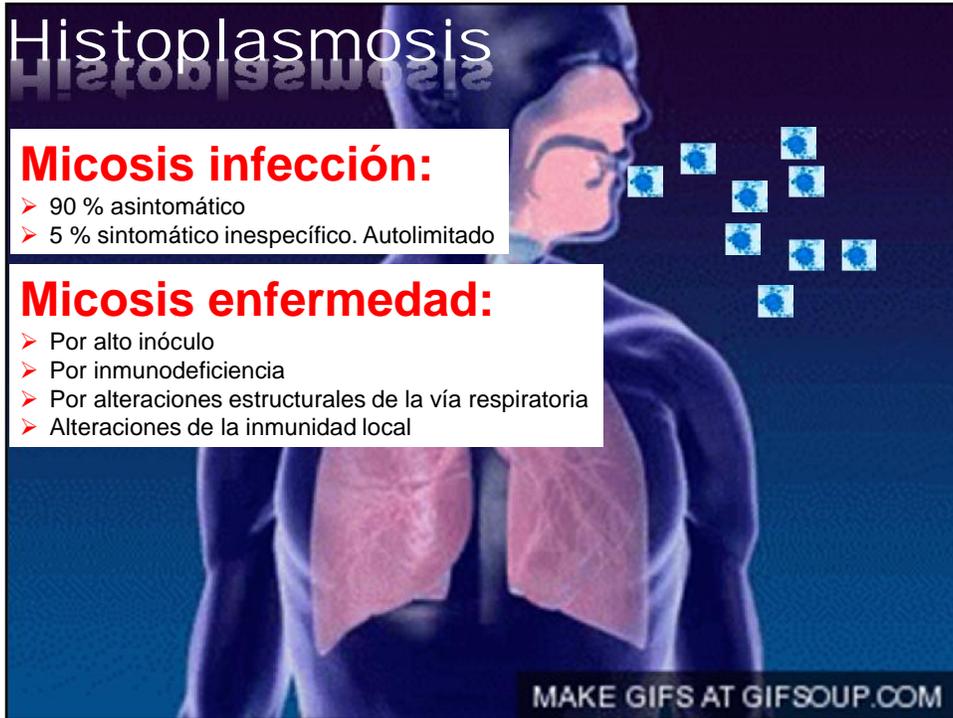


Después de las 2 o 3 semanas del contacto infectante



Secuelas de esta infección 1°





Histoplasmosis

Micosis infección:

- 90 % asintomático
- 5 % sintomático inespecífico. Autolimitado

Micosis enfermedad:

- Por alto inóculo
- Por inmunodeficiencia
- Por alteraciones estructurales de la vía respiratoria
- Alteraciones de la inmunidad local

MAKE GIFS AT GIFSOUP.COM

¿Qué trabajos y actividades tienen riesgo de exposición a *H. capsulatum*?

- Inspector o pintor de puentes
- Aseador de chimeneas
- Trabajador de la construcción
- Trabajador de demolición
- Granjero, trabajador agrícola
- Jardinero
- Instalador o agente de servicio de sistemas de aire acondicionado y calefacción
- Trabajador de laboratorio microbiológico
- Trabajador de control de plagas
- Restaurador de edificios históricos o abandonados
- Trabajador de techos
- Explorador de cuevas

FORMAS CLÍNICAS

Histoplasmosis infección**95 %**

Forma respiratoria asintomática o subclínica

- ▶ Pasa desapercibida: fiebre, tos, fatiga
- ▶ Puede dar una forma respiratoria leve
- ▶ Se dx. retrospectivamente por la PC + o la presencia de focos pulmonares calcificados en radiografías (aparecen luego de 2 años)

**Histoplasmosis pulmonar aguda**

Inóculo

Brotos

P. I. 5 a 21 días

SÍNTOMAS**BENIGNA**

Síntomas que simulan un resfrío de 3 a 4 días de curación

MODERADA

Cuadros pseudogripales de 7 a 15 días de duración.

- Dolor torácico
- Tos c/ expectoración mucopurulenta
- Fiebre
- Astenia
- Anorexia

GRAVE

Neumonía atípica 1° (brotos epidémicos)

RX: infiltrados neumónicos múltiples y ↑ del tamaño de los ganglios linfáticos

Histoplasmosis pulmonar aguda



- Después de la 3ª semana hay remisión espontánea de los síntomas.
- Pueden quedar nódulos fibróticos/calcificaciones
- En los pacientes inmunocomprometidos la remisión espontánea de la primoinfección puede no producirse y dar lugar a una **forma diseminada aguda progresiva**.

Histoplasmosis pulmonar crónica



- ≈ a la tuberculosis
- Individuos mayores de 50 años de raza blanca
- EPOC
- Grandes fumadores
- La infección primaria no cura debido a las alteraciones de la arquitectura pulmonar.

- ✓ Tos con expectoración mucopurulenta o hemoptisis
- ✓ Sudores nocturno
- ✓ Astenia
- ✓ Pérdida de peso
- ✓ Disnea de esfuerzo
- ✓ RX: infiltrados heterogeneos en ambos vértices, cavidades y fibrosis.

Evolución crónica. NO tiende a la curación espontánea

Histoplasmosis en huésped inmunocompetentes	Histoplasmosis en huésped inmunocomprometidos
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Infección asintomática ❖ Primoinfección pulmonar aguda ❖ Histoplasmosis pulmonar crónica ❖ Manifestaciones de hipersensibilidad: eritema nudoso ❖ Lesiones residuales de la primoinfección y formas mediadas por la respuesta inmune: histoplasmosomas 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Histoplasmosis diseminada aguda ❖ Histoplasmosis diseminada subaguda ❖ Histoplasmosis diseminada crónica

Histoplasmosis en huésped inmunocomprometidos	
Histoplasmosis diseminada aguda	
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Paciente VIH positivos con bajos recuentos de CD4 + (<50) ❖ Enfermos con afecciones hemato-oncológicas ❖ Tienen un curso fulminante 	
<p>Cuadro séptico grave- fallo multiorgánico- shock y coagulación intravascular diseminada- Insuficiencia respiratoria aguda</p>	

Diseminada aguda

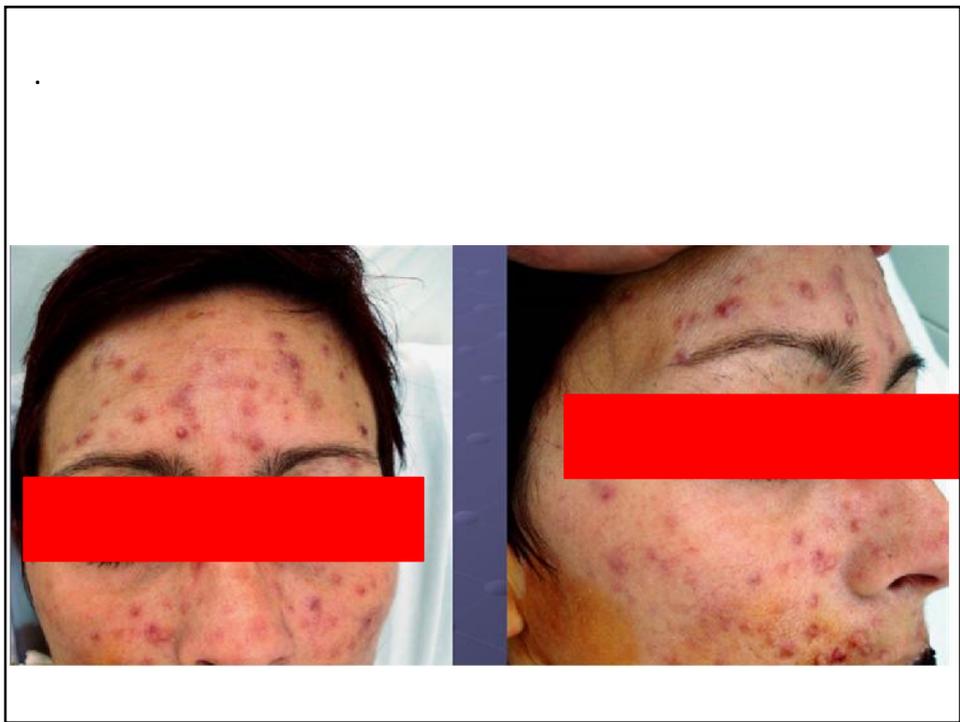


Histoplasmosis en huésped inmunocomprometidos

Histoplasmosis diseminada subaguda



- ❖ SIDA. 90% de los casos en América del Sur. Linfomas
- ❖ Enfermos con afecciones hemato- oncológicas
- ❖ Sin tratamiento la mortalidad 100% a las 4-6 semanas del comienzo del cuadro
- ❖ Fiebre, pérdida de peso, astenia, anorexia, diarrea o vómitos, hepato esplenomegalia, adenomegalias múltiples, disnea, dolor torácico.
- ❖ Hemograma: anemia, ↑ VSG. ↑ de enzimas hepáticas
- ❖ 5 % meningitis con LCR claro ≈TBC
- ❖ América latina: 80 % posee manifestaciones cutáneas: acneiforme, papuloulceradas o papulovesiculares
- ❖ Factores de riesgo: CD4 < 200 cels/um. Exposición ambiental. Serología histoplasmosis previa +.



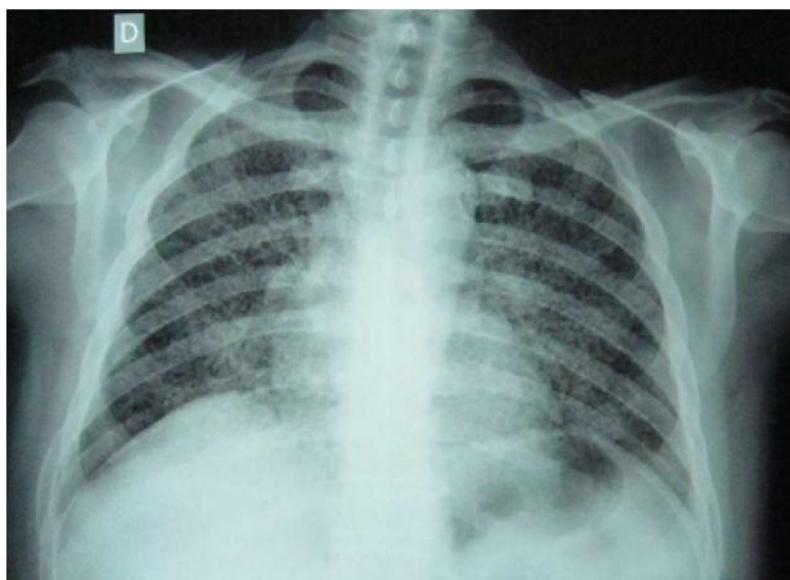






Cortesía Ruth Valdez

Rx tórax: infiltrados micronodulillares bilaterales



Histoplasmosis en huésped inmunocomprometidos

Histoplasmosis diseminada crónica



- ❖ Varones mayores de 56 años, la relación hombre/mujer es de 10:1
- ❖ Diabetes de tipo II, el alcoholismo, el tabaquismo intenso y el uso de pequeñas dosis de corticosteroides durante lapsos prolongados
- ❖ Síntomas poco llamativos: pérdida de peso, empeoramiento del estado general de forma lenta, e presenta anemia leve, hepatosplenomegalia moderada, e insuficiencia suprarrenal, evoluciona a través de varios meses o algunos años.



Video Mostajo.mp4

Histoplasmosis en huésped inmunocomprometidos

Histoplasmosis diseminada crónica



- ❖ durante lapsos prolongados
- ❖ Síntomas poco llamativos: pérdida de peso, empeoramiento del estado general de forma lenta, e presenta anemia leve, hepatosplenomegalia moderada, e insuficiencia suprarrenal, evoluciona a través de varios meses o algunos años.



Video Mostajo.mp4

Histoplasmosis en huésped inmunocomprometidos

Histoplasmosis diseminada crónica

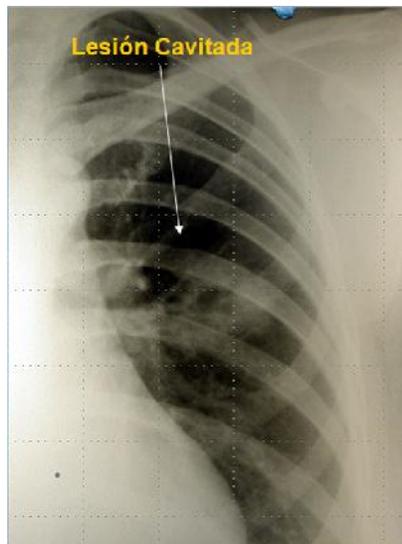
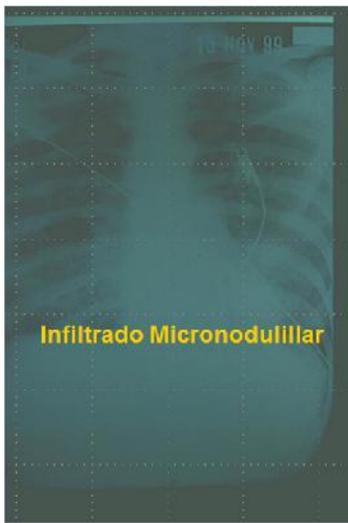


- ❖ La localización laríngea se observa entre el 30% y el 50% de los casos. Produce tos, disfonía, disnea obstructiva y odinofagia. **Video**  Video Mostajo.mp4
- ❖ Las lesiones orofaríngeas, presentes en el 40% de los enfermos, se asocian a dolor bucal, odinofagia, sialorrea, macroglosia y mal estado dentario.
- ❖ Las lesiones más frecuentes son las úlceras de bordes nítidos y de fondo granulomatoso, con menor frecuencia se ven procesos chancriformes, aftoides.
- ❖ Úlcera fisurada medio lingual situada en el centro de la lengua, en la unión de los dos tercios anteriores con el tercio posterior

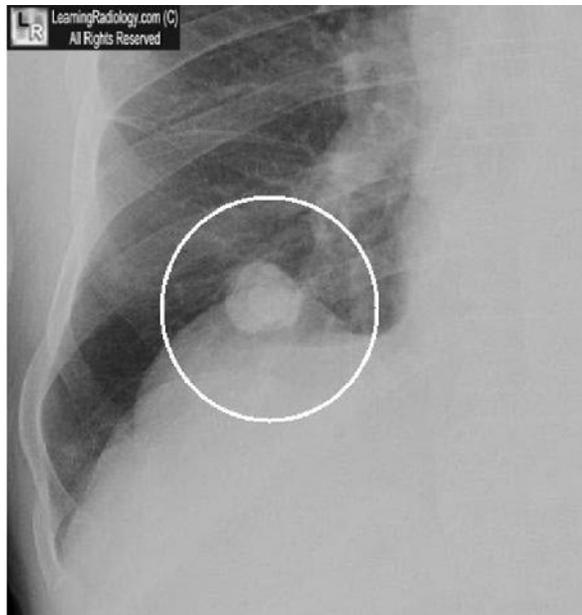




FORMAS PULMONARES



Histoplasmosis



El histoplasmosis, es una masa fibrosa creciente que se desarrolla alrededor de un foco curado de infección primaria pulmonar. Durante su fase activa, la lesión original tiene un tamaño de 2 a 4 mm; después se cura por una encapsulación fibrosa y calcificación.

La evolución e intensidad de las manifestaciones clínicas dependen de la gravedad del defecto inmunitario



DIAGNÓSTICO MICOLÓGICO



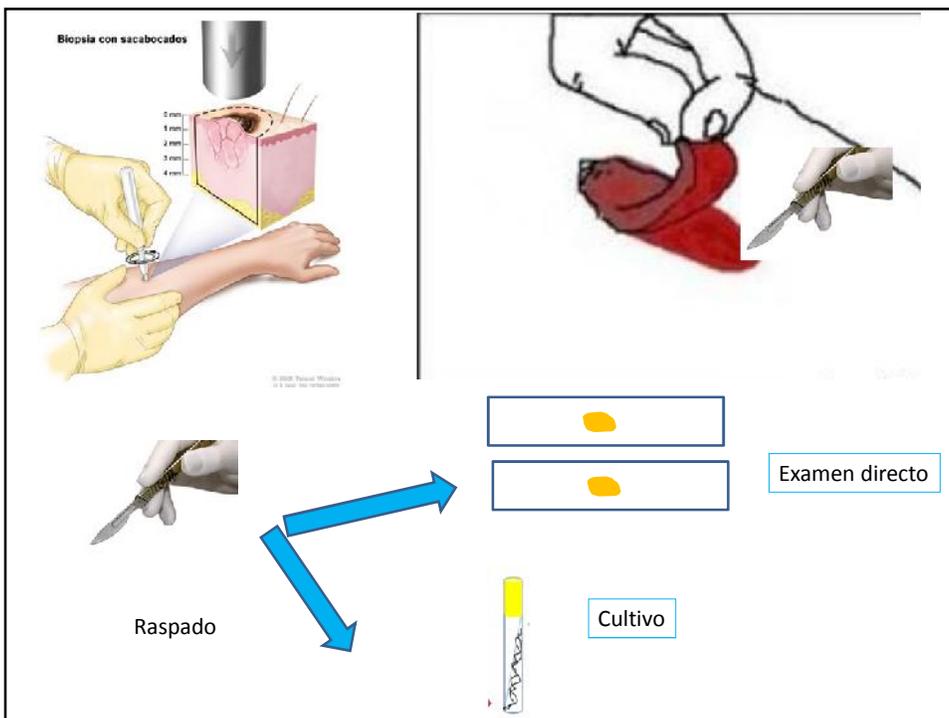
- ❖ **Métodos directos:** visualización de las levaduras en las lesiones y cultivos
- ❖ **Estudios histopatológicos:** certifican la invasión tisular
- ❖ **Métodos indirectos:** pruebas inmunológicas Ag-Ac
- ❖ **Métodos moleculares:** ADN

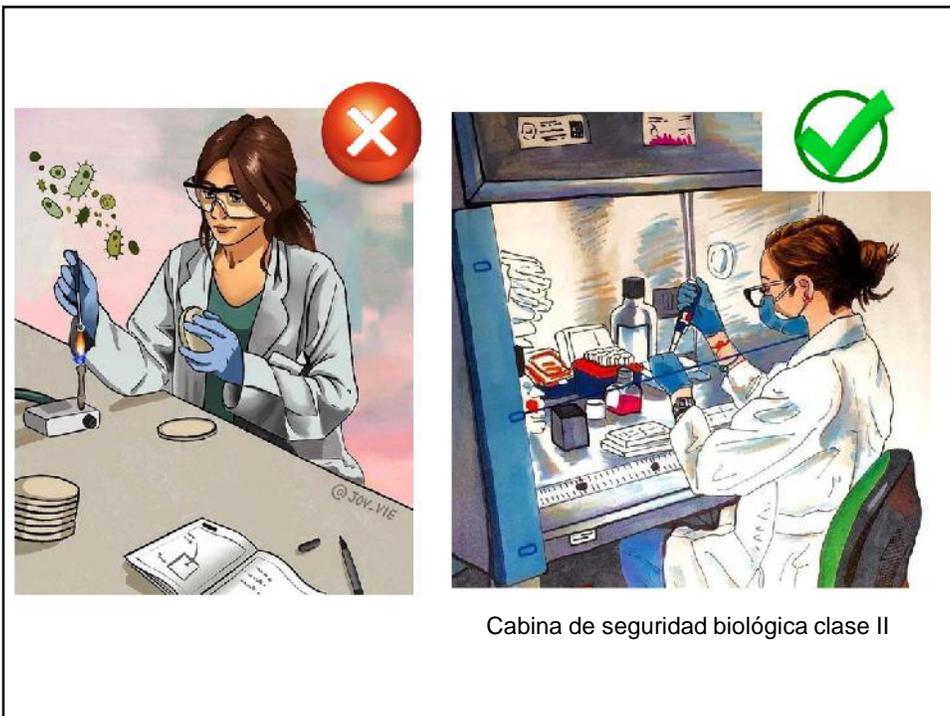
Muestras clínicas

- Biopsias
- Esputo
- Lavado bronquioalveolar
- Punción de médula ósea, hepática o esplénica
- Hemocultivo por lisis-centrifugación)
- Líquido cefalorraquídeo
- Escarificaciones de lesiones cutáneas o mucocutáneas
- Suero

Muestras clínicas

Escarificaciones cutáneas y biopsias cutáneo- mucosas





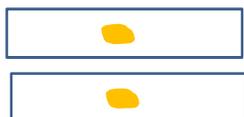
Secreciones respiratorias

- Esputo, BAL, miniBal, lavado bronquial

Centrifugar para concentrar



LCR, líquido pleural, líquido articular
Mini bal, BAL.



Examen directo



Cultivo



Hemocultivos

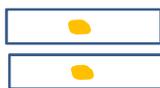
- Lisis centrifugación: sangre c/anticoagulante (heparina) + saponina.
- Hemocultivo convencional
- Hemocultivos automatizados: no sirve para *Histoplasma*

Lisis centrifugación

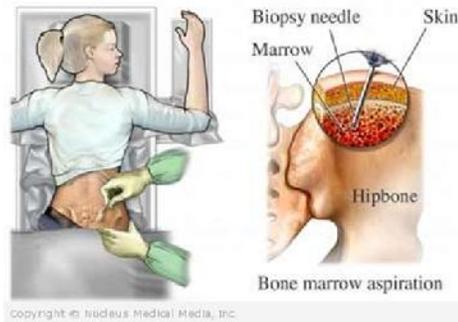


9 mL sangre + 1 mL de saponina 50 %
Incubar 1 hora temp. ambiente

Centrifugar



Mielocultivos

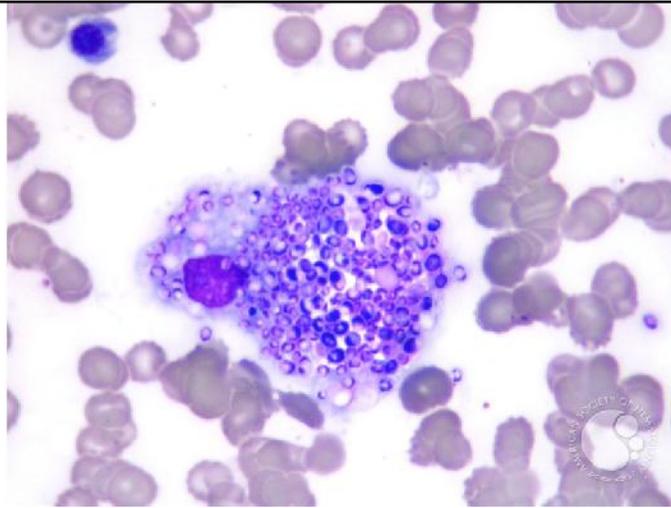


Otros materiales

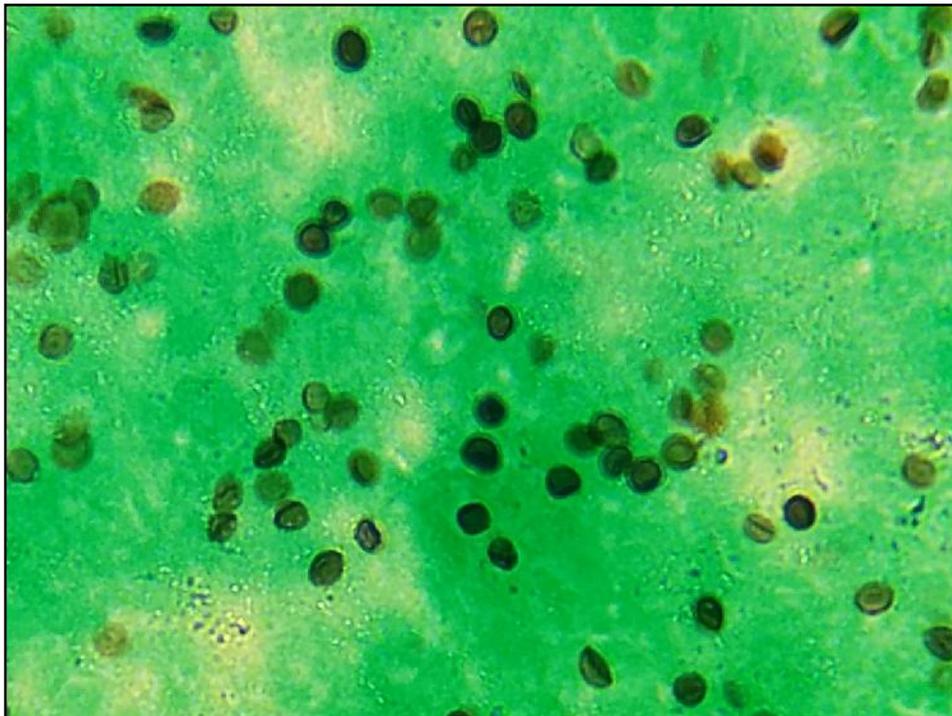
- ❖ Biopsias de ganglio, biopsia de laringe, orina, de intestino, etc.
- ❖ LCR: cultivo y detección de Ac

Examen directo

- ❖ Preparaciones en fresco **no tienen buenos rendimientos**
- ❖ Para *Histoplasma* la coloración recomendada es GIEMSA
- ❖ Pacientes con SIDA el *Histoplasma capsulatum* puede visualizarse:
 - Frotis de sangre periférica
 - Raspado de lesiones cutáneas
 - Raspado de lesiones mucocutáneas



Elemento oval de 3 a 5 μm de diámetro. Con un solo brote. Pared celular gruesa: no toma los colorantes de anilina y simula una capsula. Posee un único núcleo que se sitúa cerca de la pared celular. Se colorean en forma de medialuna



Cultivo

28 °C



1 Sabouraud
1 ASG

Cuanto más tubos siembren es mejor!!!!

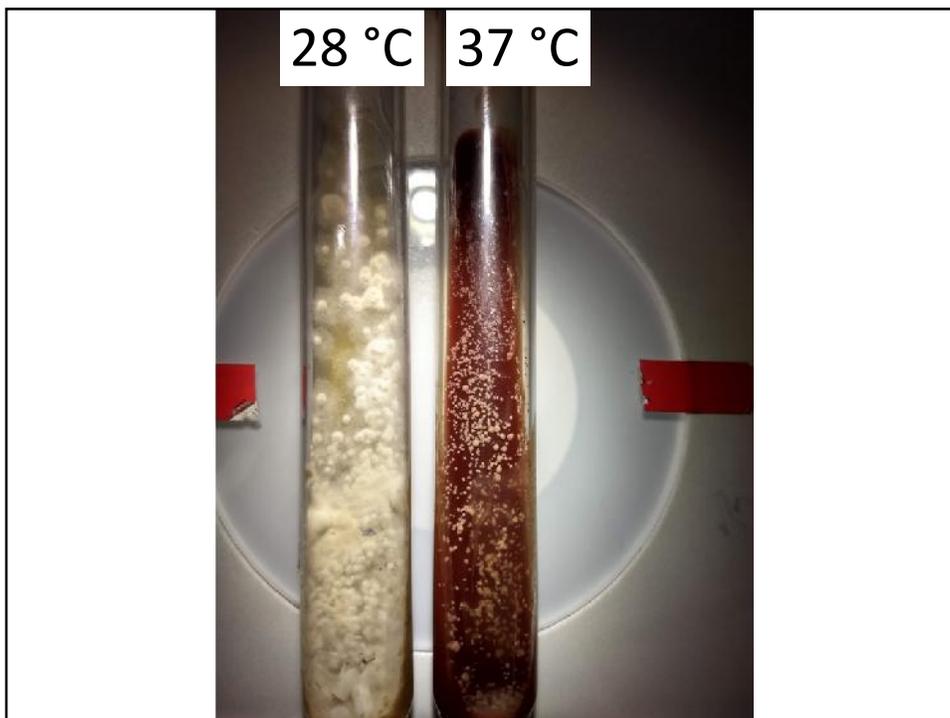
Cultivo – revisados 1 vez a la semana
Directo (Negativo o positivo)

37 °C



2 BHI con sangre

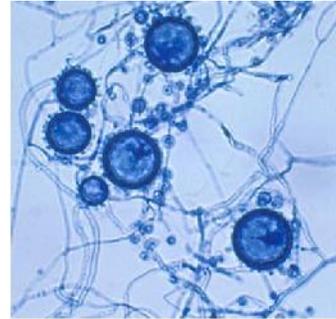
30 + días



***Histoplasma* en su fase micelial**

- Hifas hialinas, ramificadas, tabicadas, de 2 a 4 μm de diámetro.

- **Microconidias** piriformes de pared celular lisa o ligeramente rugosa. 2 a 5 μm de diámetro. Nacen simples sobre cortos conidióforos o sésiles a lo largo de la hifa.

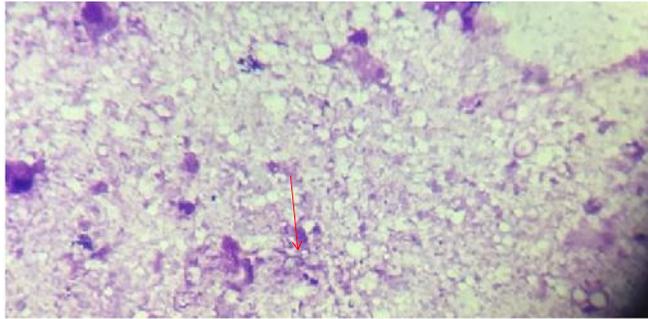


- **Macroconidias** digitiformes. Diámetro de **15 a 20 μm** . Crecen en el ápice de conidióforos cortos que nacen sobre las hifas principales en ángulo recto

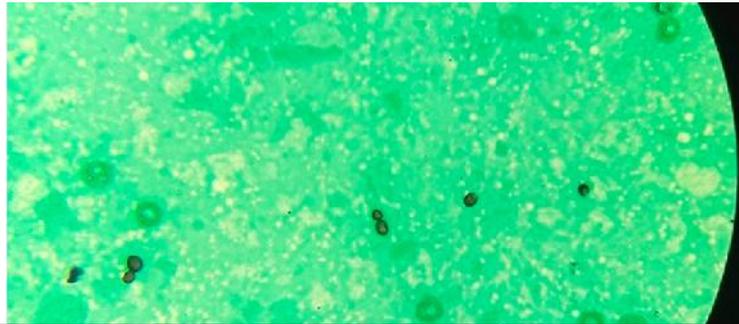
28°C en SAB



Cultivos +: 7 hasta 60 días.

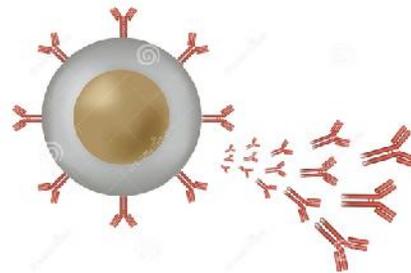


La sensibilidad está limitada por la calidad de la muestra y el entrenamiento del operador



Pruebas inmunológicas

Antígenos o **Anticuerpos circulantes**



Único indicio de infección fúngica

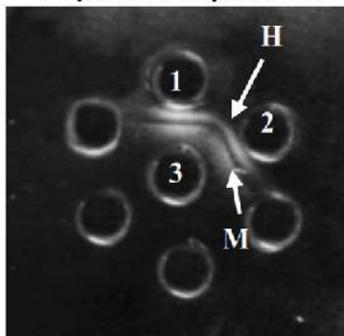
Valor diagnóstico

La determinación de anticuerpos en suero depende del estado inmunológico del hospedero y del tiempo transcurrido desde el primer contact

Pruebas inmunológicas

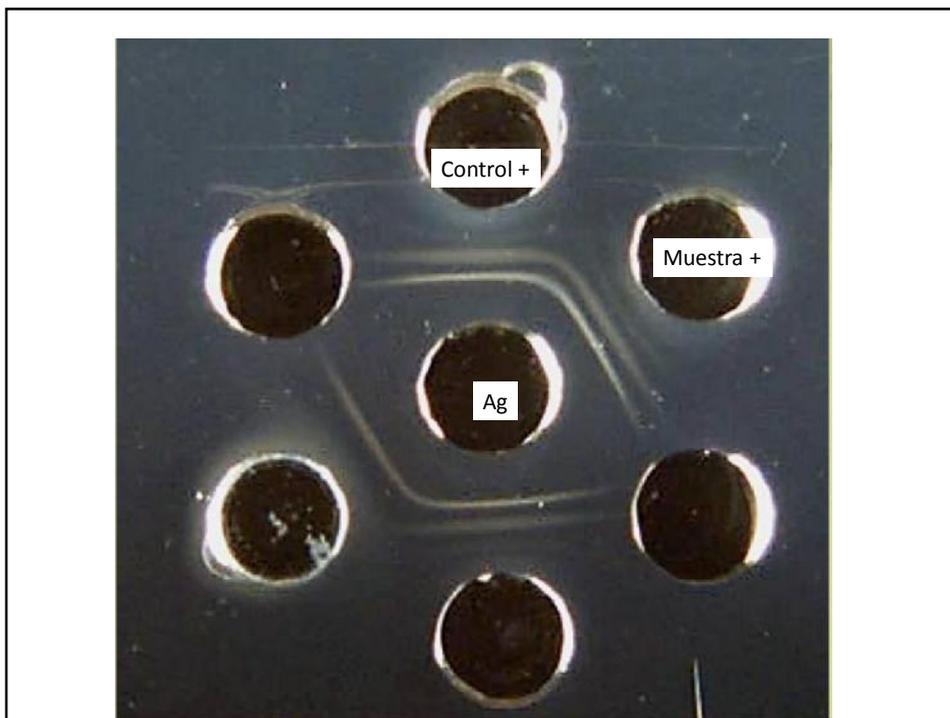
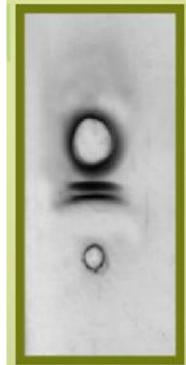
Detección de anticuerpo

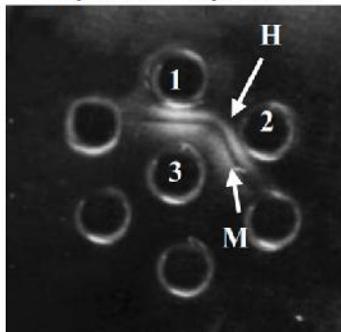
ID para *H. capsulatum*



Pocillo 1: suero control positivo, Pocillo 2: suero de paciente, Pocillo 3: antígeno

CIEF



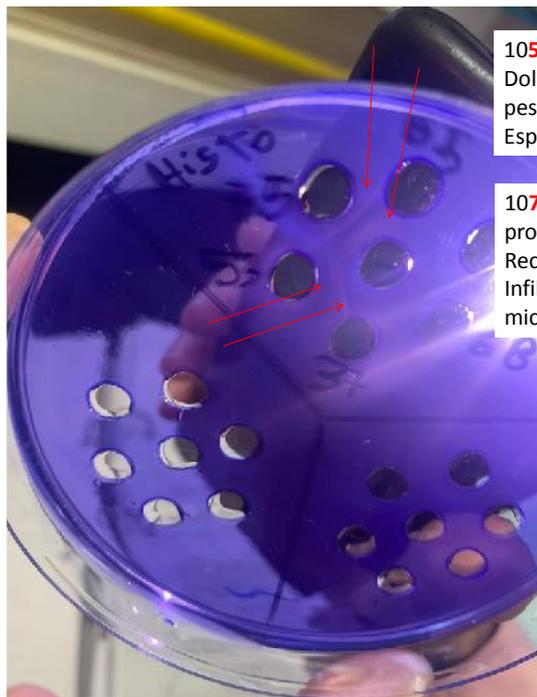
ID para *H. capsulatum*

Pocillo 1: suero control positivo, Pocillo 2: suero de paciente, Pocillo 3: antígeno

Histoplasmosis activa: reacciones de identidad para las bandas H y M

70 % de ptes. con histoplasmosis comprobada: banda M

10 % de ptes. con histoplasmosis comprobada: banda M y H



1053. 29 años. B 24 (2017) ARM.
Dolor abdominal Crónico, pérdida peso. Adenopatías retroperitoneales. Esplenomegalia. **AgU +**

1075. 26 años. Síndrome febril prolongado. Pérdida de 15 Kg de peso. Reciente dx de B24. CD4 14 células. Infiltrados pulmonares micronodulillares bilateral. **Ag U?**

Detección de antígeno urinario

- ELISA tipo sandwich
- Rutina en EEUU
- Orina IMMY
- Suero, lavados broncoalveolares y líquido cefalorraquídeo (MIRAVISTA)
- Histoplasmosis diseminada en pacientes inmunocomprometidos
- Detección cualitativa y cuantitativa
- Reacción cruzada con otros *Paracoccidioides sp*, y *Coccidioides sp*



Biología molecular

Búsqueda de ADN en sangre, líquidos o tejidos

PCR ANIDADA: gen Hcp100

REAL TIME PCR: Secuencia de la región ITS1 rDNA

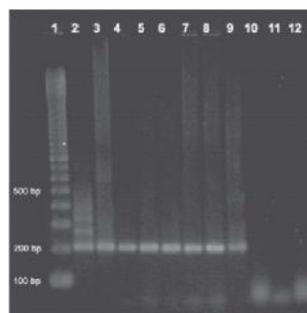
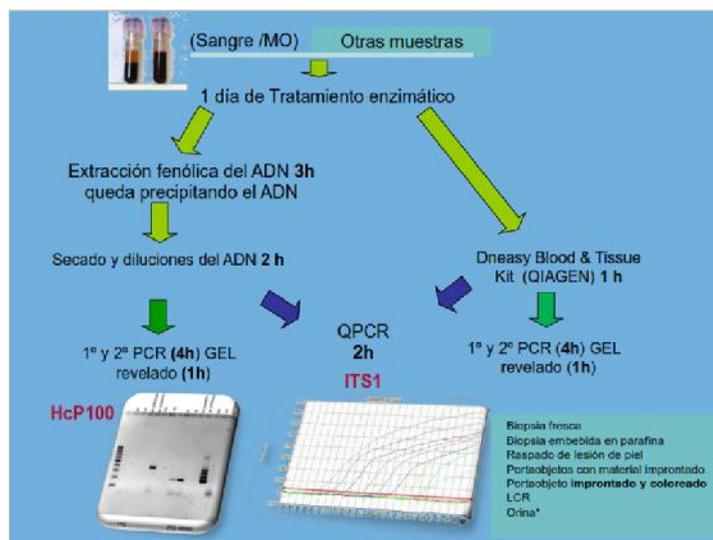


Figura 1. PCR anidada realizada a partir de ADN extraído de muestras de sangre simulada utilizando el método artesanal. 1: 100 bp ADN ladder; 2: ADN de *H. capsulatum* purificado (10 ng/μl); 3: 2.5×10^3 levaduras/ml; 4: 2.5×10^4 levaduras/ml; 5: 2.5×10^5 levaduras/ml; 6: 2.5×10^6 levaduras/ml; 7: 25 levaduras/ml; 8: 2.5 levaduras/ml; 9: 0,25-1 levaduras/ml; 10: sangre sin levaduras. 11 y 12: controles negativos.



Fuente: "Diagnóstico molecular de Histoplasmosis" MSc Adriana Toranzo.

La PCR en histoplasmosis

- Permite el diagnóstico rápido a partir de sangre periférica, materiales diversos, inclusive tejidos fijados e incluidos en parafina.
- Su mayor potencial es en pacientes inmunocomprometidos en los que es difícil obtener muestras invasivas por el deterioro generalizado.
- Permite identificar presuntivamente y rápida cepas aberrantes y de cultivo naciente.

No reemplaza al diagnóstico clásico

Casos de Histoplasmosis en la división Micología LSP 2015-2021

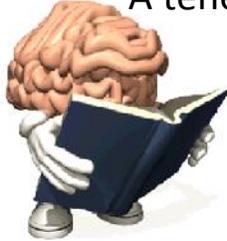
- 90 casos de histoplasmosis
- 12 Histoplasmosis meníngea



12 Casos de Histoplasmosis meníngea diagnosticados

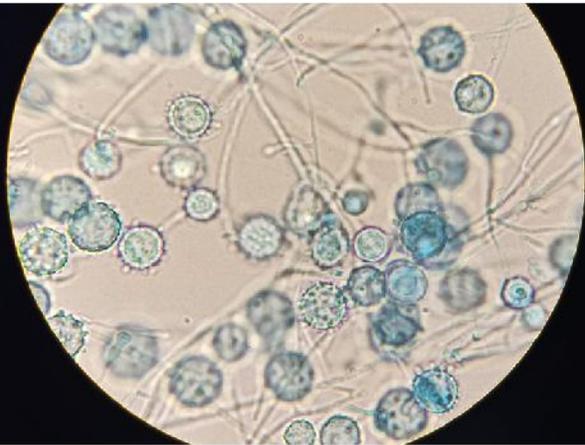
- ❖ Todos inmunocompetentes
- ❖ 4 fallecidos
- ❖ Resto: secuelas: deterioro cognitivo, pérdida de coeficiente intelectual, problemas marcha, diploipía.

A tener en cuenta en las Histoplasmosis meníngeas

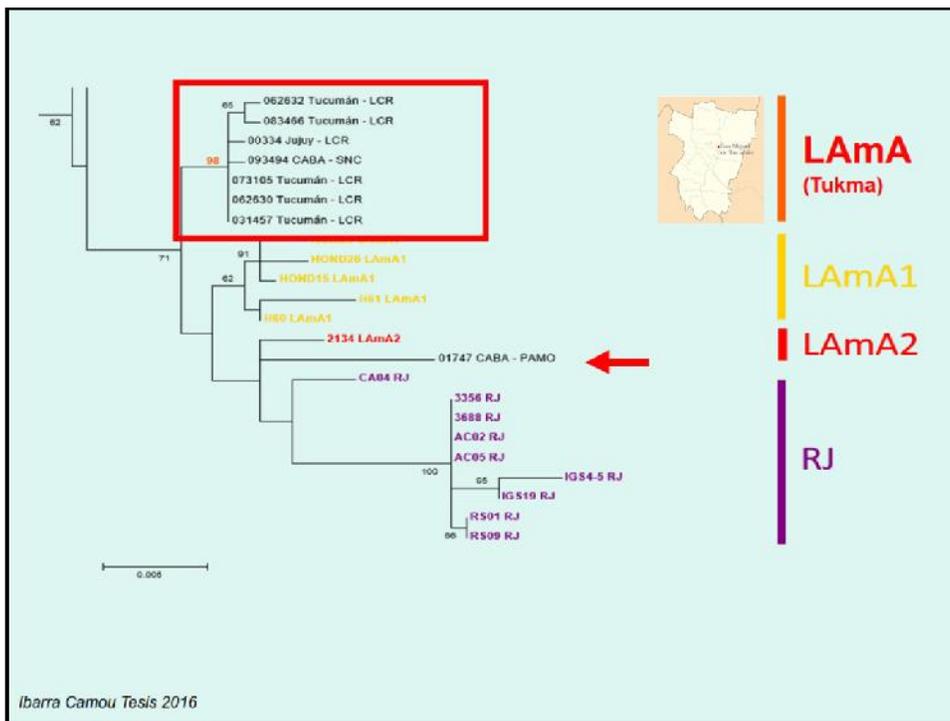


- ✓ Pacientes con antecedentes de meningitis sin diagnóstico
- ✓ Pacientes con válvulas ventriculares. **Biofilm!!!!**
- ✓ Cultivo: Gold standard. Descartar tubos pasados los 60 días
- ✓ Otras muestras clínicas: hemocultivos, sangre entera, suero
- ✓ Búsqueda de anticuerpos en suero y LCR. Son inmunocompetentes
- ✓ Se confunde con TBC meníngea
- ✓ LCR límpido, hipoglucorraquia, hiperproteorraquia, aumento de celularidad a predominio de linfocitos

2021



2021/6/17 15:39



¿Por qué los aislamientos de este brote patagónico de histoplasmosis tiene un genotipo diferente al Lam B?

¿Por qué los aislamientos de Tucumán forman un clado único (Lam A ?) y la mayoría fueron aisladas de SNC?

Colonia de *H. brasiliense*
Tucumán - Argentina


Universidad Nacional del Nordeste
FACULTAD DE MEDICINA
Maestría en micología Médica

PLAN DE TESIS

Apellido/s y nombre/s del alumno: Colombres María Sofía

Apellido/s y nombre/s del Director propuesto¹: Doctora Miotti María Daniela
Apellido/s y nombre/s del Co-director propuesto: Álvarez Christian

Título tentativo²: Búsqueda de *Histoplasma capsulatum* en murciélagos de la provincia de Tucumán

¿Hay infección en los murciélagos de Tucumán? **SI**

¿Con qué genotipo de *Histoplasma capsulatum* están infectados? **?**

¿Son del mismo genotipo que las cepas aisladas de los pacientes? **?**

Muchas gracias!!!!

