

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**UNA REVISIÓN DE LA LITERATURA ACERCA DE LA HISTOPLASMOSIS: LA
MICOSIS DEL VIAJERO**

**Trabajo final de investigación aplicada sometida a la consideración de la
Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidades en
Microbiología para optar por el grado y título de Especialidad Profesional en
Micología Médica**

RAÚL ENRIQUE MATAMOROS SUÁREZ

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2021

DEDICATORIA

A Dios, quien me dio fortaleza para seguir adelante, y a mi madre y mi padre, por nunca dejarme desfallecer en mis sueños, gracias por esto.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Stefany Lozada Alvarado por supervisar esta revisión, al Dr. Allan Valverde Vindas y al personal docente de la Especialidad de Micología Médica de la Universidad de Costa Rica, por todo el conocimiento transmitido a través del transcurso de dicho posgrado.



SISTEMA DE ESTUDIOS EN POSGRADO
PROGRAMA DE POSGRADO EN ESPECIALIDADES EN MICROBIOLOGÍA

ACTA-69-2021

Acta presentación de Requisito Final de Graduación Trabajo de Investigación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el martes 24 de agosto de 2021 con el objeto de recibir el informe oral del estudiante Raúl Enrique Matamoros Suárez carné #B03787, quien se acoge al Reglamento General del Sistema de Estudios de Posgrado para presentar el Trabajo Final de Graduación, para optar por el grado académico de Especialista en Micología Médica. Están presentes los siguientes miembros del Tribunal Examinador: Stefany Lozada Alvarado, MSc. quien preside y tutora, Maylin Serrano Víquez, Esp. y Allan Valverde Vindas Esp. lectores.

ARTICULO 1

Quien preside solicita al postulante realizar la presentación oral de su Trabajo de Investigación titulado: "Una revisión de la literatura acerca de la histoplasmosis: la micosis del viajero"

ARTICULO 2

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan al postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTICULO 3

El Tribunal Examinador declara el Trabajo Final de Graduación: Aprobado [X] Reprobado []

ARTICULO 4

Se da lectura al acta que firman los miembros del Tribunal Examinador y el Postulante, a las 15:20 horas.

Table with 3 columns: Nombre, Firma, No. Cédula. Rows include Stefany Lozada Alvarado, MSc., Maylin Serrano Víquez, Esp., Allan Valverde Vindas, Esp., and Raúl Enrique Matamoros Suárez Estudiante.

Observaciones: El tribunal acuerda conceder mención de honor al trabajo

Nota: Solamente firmarán el acta los responsables de la actividad descrita
Si el trabajo es merecedor de mención de honor anotar en observaciones

TABLA DE CONTENIDOS

PORTADA	i
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iii
HOJA DE APROBACIÓN	iv
RESUMEN	vii
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xv
1-GENERALIDADES	1
1.1-Definición	1
1.2-Sinonimia	4
1.3-Historia	4
2-ETIOLOGÍA	9
2.1-Descripción de los agentes etiológicos	9
2.2-Aspectos genéticos	15
2.3-Dimorfismo	23
3-ECOLOGÍA	26
4-ASPECTOS VETERINARIOS	28
5-EPIDEMIOLOGÍA	43
5.1-Distribución Geográfica	43
5.2-Frecuencia	46
5.3-Fuentes de Infección y vías de entrada	59
5.4-Etnia, sexo y edad	62
5.5-Período de incubación	62
5.6-Factores predisponentes	63
6-PATOGÉNESIS	68
6.1-Historia natural de la enfermedad	68
6.2-Factores de Virulencia	70
7-RESPUESTA INMUNE	97
7.1-Inmunología de la histoplasmosis	97

7.2-Vacunas e Inmunización Pasiva _____	121
8-MANIFESTACIONES CLÍNICAS _____	126
8.1-Histoplasmosis capsulati o Histoplasmosis Americana _____	129
8.2-Histoplasmosis duboisii o Histoplasmosis Africana _____	147
9-DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL _____	150
10-DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO _____	153
10.1-Diagnóstico micológico _____	153
10.2-Diagnóstico histopatológico _____	162
10.3-Diagnóstico serológico, molecular, detección de antígeno, intradermorreacción y otras técnicas _____	165
11-TRATAMIENTO _____	187
12-PRONÓSTICO Y PREVENCIÓN _____	194
13-MODELOS DE INFECCIÓN _____	197
14-CONCLUSIONES _____	201
14-REFERENCIAS _____	203

RESUMEN

La histoplasmosis es una enfermedad fúngica cosmopolita de tipo granulomatosa sistémica producida por un hongo dimórfico termonutricional conocido como *Histoplasma capsulatum*. A pesar de que la enfermedad se considera autolimitada en pacientes inmunocompetentes, con el aumento de pacientes inmunosupresos en los últimos años, se han reportado nuevos casos de histoplasmosis diseminada, especialmente en paciente HIV positivos en fase SIDA donde la enfermedad se caracteriza por una alta mortalidad y morbilidad.

Adicionalmente, la enfermedad es capaz de afectar una gran variedad de animales que incluyen a los animales domésticos como los perros y los gatos por lo que representa también un problema de salud para el ámbito veterinario.

Se registran brotes en turistas que visitan países que son endémicos de esta enfermedad o que presentan el hábitat natural del agente etiológico como lo son las cuevas donde habitan murciélagos. Por esta razón, se considera a la histoplasmosis como una de las enfermedades más frecuentes en turistas, siendo está incluida en el *Health Information for International Travel Yellow Book*, donde se le ha llamado la micosis del viajero.

El agente etiológico se divide en tres variedades: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* que produce la forma clásica de histoplasmosis en el continente americano, *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* que es el agente etiológico de la histoplasmosis en el continente africano e *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum* causante de la linfangitis epizoótica en caballos en África.

Este hongo cuenta con un amplio arsenal de factores de virulencia que le van a permitir sobrevivir en el ambiente intracelular de los macrófagos de modo que es capaz de evadir la respuesta inmunológica del hospedero.

En la presente revisión se describirá al agente etiológico, la ecología del hongo, su clasificación taxonómica, la epidemiología y patogenia de la enfermedad, así como los factores de virulencia del hongo y la respuesta inmunológica despertada en el ser humano, el tratamiento y el diagnóstico de la histoplasmosis, entre otros.

LISTA DE CUADROS

- Cuadro I.** Primers utilizados en la amplificación y detección de las regiones específicas del “locus del tipo de apareamiento” MAT1 de *Histoplasma capsulatum* en la técnica de PCR para la determinación del idiomorfo de los aislamientos (información tomada de Bubnick y Smulian, 2007). _____ 13
- Cuadro II.** Primers utilizados en la amplificación y detección de la secuencia parcial de cuatro genes de *Histoplasma capsulatum* en la técnica de PCR, entre otras, para la discriminación entre aislamientos (información tomada de Kasuga et al, 2003 y Sepúlveda et al, 2017). _____ 18
- Cuadro III.** Países endémicos de histoplasmosis por región y otros lugares con menor reporte de casos (información tomada de Diaz, 2018; Gómez, 2011; Sánchez et al, 2010 y Teixeira et al, 2016). _____ 44
- Cuadro IV.** Casos publicados de histoplasmosis en la población de Costa Rica (total de 116 casos). _____ 49
- Cuadro V.** Células fagocíticas involucradas en la inmunidad innata contra *Histoplasma capsulatum*, y algunos de los receptores involucrados en el reconocimiento de los antígenos fúngicos (información tomada de Ray y Rappleye, 2018). _____ 99
- Cuadro VI.** Primers utilizados en la amplificación y detección de los diferentes blancos moleculares de *Histoplasma capsulatum* en la técnica de PCR anidado para el diagnóstico de histoplasmosis (información tomada de Dantas et al, 2018). _____ 177
- Cuadro VII.** Tratamiento para diferentes cuadros clínicos de histoplasmosis según la condición del paciente (Información tomada de Chander, 2018; Chang y Rodas, 2012; Diaz, 2018 y Sánchez et al, 2010). _____ 188

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fase teleomorfa de *Histoplasma capsulatum* conocida como *Ajellomyces capsulatus* observada en lactofenol azul, reproducida en el experimento de la Dra. Kwon Chung en 1972. A) Cleistotecio, las flechas indican hifas enrolladas en la periferia de la estructura (300X). B) Ascocarpo donde se observa tres hifas ascógenas enrolladas (485X). C) Racimo de ascas jóvenes (750X). D) Ascas maduras con ascosporas (1250X) (imagen tomada de Kwon Chung, 1972). 11
- Figura 2.** Distribución geográfica de los clados y linajes de *Histoplasma capsulatum* a partir del estudio de Kasuga et al (2003) en 17 aislamientos provenientes de 25 países (imagen tomada de Vite et al, 2014). _____ 19
- Figura 3.** A-B) Nódulos en puente nasal, C) pápulas en el pabellón de la oreja y D) lesión crónica en la zona radial de la pata izquierda (imagen inferior derecha) de una gata con histoplasmosis (imagen tomada de Larsuprom et al, 2017). 31
- Figura 4.** Levaduras intracelulares en macrófagos vistas en biopsias al teñir preparaciones en PAS, 100X (imagen tomada de Larsuprom et al, 2017).__ 32
- Figura 5.** A) Pápulas en el área dorsal del cuello y B) encía eritematosa e hinchada al día 20 de la infección (imagen tomada de Ortiz et al, 2015)._____ 34
- Figura 6.** Levaduras intracelulares en macrófagos epitelioides vistas en aspirado submandibular tomado con agua fina y teñido con tinción Diff-Quick®, 1000X (imagen tomada de Ortiz et al, 2015). _____ 34
- Figura 7.** A) Múltiples lesiones correspondientes a nódulos de inflamación granulomatosa en pulmones de un gato doméstico con histoplasmosis diseminada. B) Levaduras intracelulares en una célula gigante multinucleada en muestra de bazo teñida en hematoxilina eosina (600X). C) Micelio hialino septado y macroconidias tuberculadas de *Histoplasma capsulatum* visto en lactofenol azul (100X) (imagen tomada de Alfaro et al, 2019). _____ 36
- Figura 8.** A) Lesiones nodulares y ulcerosas de un caballo con linfangitis epizoótica en Etiopía. B) Nódulos con un patrón en cadena en rostro (imagen tomada de Guillot et al, 2018)._____ 41
- Figura 9.** A) Lesiones cutáneas en extremidad anterior y B) cabeza en un burro, C) donde se observa levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*, en el examen directo del exudado purulento de las lesiones al teñir en Gram (imagen tomada de Powell et al, 2015). _____ 42
- Figura 10.** Distribución geográfica de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (áreas moradas) e *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* (áreas sombreadas) alrededor del mundo. Los círculos indican los casos reportados de histoplasmosis en pacientes HIV positivos en fase SIDA autóctonos de cada país (imagen tomada de Bahr et al, 2015). _____ 43

- Figura 11.** Ciclo de vida de *Histoplasma capsulatum* en el ser humano, se observa de color rojo las microconidias (forma infectante) y macroconidias, donde las primeras logran ingresar a vías respiratorias al ser inhaladas e invaden neutrófilos y macrófagos (representado de color verde en la imagen) (imagen tomada de Bonifaz, 2020). _____ 68
- Figura 12.** Conformación de las α -glucanas, donde se observa la estructura de la D-glucosa unida por enlaces de tipo α -1,4-glucosil en este caso (imagen tomada de Lara et al, 2014). _____ 75
- Figura 13.** Conformación de las β -glucanas, compuesta por unidades repetidas de D-glucosa, donde se observa la estructura de la D-glucosa unida por enlaces de tipo β -1,3-glucosil con ramificaciones que se unen a la cadena principal mediante enlaces de tipo β -1,6-glucosil (imagen tomada de Lara et al, 2014). _____ 76
- Figura 14.** La imagen A de la izquierda se observa la composición de la pared y la membrana celular de *Histoplasma* spp. en fase micelial y la imagen B a la derecha corresponde a la fase levaduriforme del quimiotipo II (imagen tomada de Lara et al, 2014). _____ 77
- Figura 15.** Evasión de los mecanismos microbicidas de la fagocitosis por parte de las levaduras de *Histoplasma capsulatum*. La máscara de α -glucanas y la endoglucanasa disminuye el reconocimiento de las β -glucanas por parte de la Dectina-1 por tanto el desarrollo de una respuesta proinflamatoria. La Sod3 y CatB protegen al microorganismo de las especies reactivas de oxígeno producto del complejo NADPH oxidasa celular (Phox) de los fagocitos. También las levaduras expresan la Cpb1 ante bajas concentraciones de calcio para quelarlo y ponerlo a disposición del hongo (imagen tomada de Shen y Rappleye, 2017). _____ 88
- Figura 16.** Respuesta de *Histoplasma capsulatum* ante la privación de hierro y zinc intracelular e hipoxia. Producto del IFN- γ y el GM-CSF producidos en la respuesta inmune tardía, se genera en el macrófago activado una disminución de receptores de transferrina en el fagocito y una redistribución de zinc hacia el aparato de Golgi y metalotioneínas, por lo que el hongo expresa sideróforos para adquirir hierro y el transportador de zinc Zrt2, para adquirir zinc. También ante la hipoxia, la levadura produce el factor de transcripción Srb1 para expresar genes HRG de sobrevivencia ante hipoxia (imagen tomada de Shen y Rappleye, 2017). _____ 91
- Figura 17.** Reconocimiento antigénico de *Histoplasma capsulatum* por parte de los fagocitos profesionales de la inmunidad innata. Se observa el reconocimiento de la Hsp60 por parte del macrófago mediante el CR3, de las β -1,3-glucanas mediante la Dectina-1 y la Yps3 mediante el TLR-2, con la subsecuente cascada de señalización que puede o no permitir el control de la infección. También se evidencia el reconocimiento de las células dendríticas mediante los mismos

receptores que el macrófago, pero adicionalmente mediante el receptor VLA-5, lo que constituye una vía alternativa que sí logra el control de la infección promoviendo una respuesta TH₁. Adicionalmente, se ve que las células dendríticas reconocen también las mananas mediante la Dectina-2 y que los TLR-7 y TLR-9 podrían promover la respuesta inmune al reconocer ácidos nucleicos de las levaduras producto de su destrucción. Los neutrófilos al igual que los demás polimorfonucleares reconocen el patógeno, pero opsonizado (por ejemplo, por el C3bi o por anticuerpos) mediante receptores como el CR1, CR3 y FCγRIII, en donde la respuesta desencadenada tampoco es capaz de controlar la infección, pero media un efecto fungistático gracias a la secreción de sus gránulos azurófilos (imagen tomada de Ray y Rappleye, 2018). ____ 102

Figura 18. Interacción entre los receptores de tipo CLR, Dectina-1 y Dectina-2 para desencadenar la activación del inflamasoma NLRP3/Caspasa 1, con la consecuente maduración de la IL-1β (imagen tomada de Salazar y Brown, 2018). _____ 107

Figura 19. Clasificación del cuadro clínico causado por las diferentes variedades de *Histoplasma capsulatum* (información tomada de Sánchez et al, 2010). ____ 128

Figura 20. Paciente con histoplasmosis diseminada aguda donde se evidencia organomegalia (imagen tomada de Sánchez et al, 2010). _____ 132

Figura 21. Lesiones orales en pacientes con histoplasmosis en un adulto (A) y un niño (B) (imagen tomada de Bonifaz, 2015). _____ 133

Figura 22. Lesiones nodulares en el rostro de paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (A y B) (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012). _____ 139

Figura 23. Lesiones con aspecto de pápulas en el rostro de pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (A y B). La imagen B muestra lesiones papulares un poco más hiperqueratócicas (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012). _____ 139

Figura 24. Lesiones con aspecto similar a *molluscum contagiosum* en rostro (A) y brazo (B) de paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012). _____ 140

Figura 25. Lesiones con aspecto de placas hemorrágicas en rostro de paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012). _____ 141

Figura 26. Estudio *post mórtem* de un paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada e histoplasmosis en mesencéfalo. En la imagen A se evidencia la zona de inflamación granulomatosa con tejido necrótico (marcado con una flecha). En las imágenes B y C se observan levaduras semejantes a *Histoplasma capsulatum* (1000X) (B en GSM y C en hematoxilina eosina) (imagen tomada de Azizirad et al, 2007). _____ 142

- Figura 27.** Segmento de intestino delgado con áreas hemorrágicas y perforación con aspecto infiltrativo e inflamación, extraído de un paciente HIV positivo con histoplasmosis ileal (imagen tomada de Inocente et al, 2012). _____ 144
- Figura 28.** Paciente HIV positivo habitante de Senegal con recuento de células CD4+ de 4 células/mm³, que presenta lesiones papulonodulares, necróticas, ulceradas y umbilicadas diseminadas con afectación oral, y fiebre que evidencia presencia de levaduras extracelulares grandes (10 µm de diámetro) de doble contorno al examen directo de las lesiones, confirmado con cultivo (macroconidias tuberculadas) e histopatología (levaduras intracelulares en células gigantes multinucleadas) como histoplasmosis africana (imagen tomada de Ndiaye et al, 2011). _____ 148
- Figura 29.** Paciente agricultor de 22 años inmunocompetente habitante de Senegal. A) Presenta lesiones polimórficas en piel, principalmente lesiones papulonodulares umbilicadas (la flecha amarilla indica un nódulo carnos) y linfadenopatía no inflamatoria. B) Geodo óseo (señalado con la flecha amarilla) en extremidad superior izquierda visto en la radiografía que demuestra desmineralización ósea. Confirmado por histoplasmosis africana mediante la observación de levaduras grandes de doble contorno (10-12 µm de diámetro) al examen directo de biopsia de piel y ganglios linfáticos, y mediante cultivo en Agar Sabouraud Glucosado. El paciente fallece por cuadro de sepsis debido a la inaccesibilidad de la Anfotericina B como tratamiento en el país (imagen tomada de Diadie et al, 2016). _____ 149
- Figura 30.** Levaduras ovaladas y elongadas con septo central (señalada con una flecha) de *Talaromyces* (*Penicillium*) *marneffe*. Muestra teñida en Hematoxilina Eosina (100X) (imagen tomada de Kradin, 2017). _____ 152
- Figura 31.** Levaduras intracelulares en un examen directo con Blanco de Calcofluor a partir de una muestra de lavado bronquioalveolar (100X) (imagen de autoría propia). _____ 153
- Figura 32.** Levaduras intracelulares en un macrófago. Muestra teñida en Hematoxilina Eosina (120X) (imagen tomada de Bonifaz, 2015). _____ 154
- Figura 33.** Levaduras intracelulares en un neutrófilo. Muestra teñida en tinción de Wright (100X) (imagen cortesía del Dr. Allan Valverde Vindas, Especialista en Micología Médica). _____ 154
- Figura 34.** Levaduras intracelulares en un histiocito. Muestra teñida en Giemsa(1000X) (imagen tomada de McCullough y Leslie, 2018). _____ 155
- Figura 35.** Levaduras intracelulares en un macrófago. Muestra teñida en PAS (1000X) (imagen tomada de Diaz, 2015). _____ 156
- Figura 36.** Levaduras intracelulares en un macrófago. Muestra teñida en GMS (1000X) (imagen tomada de Diaz, 2015). _____ 156

- Figura 37.** Levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* en una muestra de esputo teñido con tinción de Metanamina de Plata de un paciente con histoplasmosis africana (800X) (imagen tomada de Diaz, 2018). _____ 157
- Figura 38.** En la imagen A se observan dos tubos con colonias filamentosas de *Histoplasma capsulatum* con morfología de tipo B y en la imagen B se observa un tubo incubado a 25 °C con una colonia filamentosa y un tubo incubado a 37 °C con una colonia levaduriforme, ambas de *Histoplasma capsulatum* con una morfología de tipo A (imagen tomada y modificada de Bonifaz, 2015 y Chander, 2018). _____ 159
- Figura 39.** Colonia levaduriforme de *Histoplasma capsulatum* obtenida al inocular Agar Infusión Cerebro Corazón e incubar a 35 °C durante 28 días (imagen tomada de Ortiz et al, 2015). _____ 160
- Figura 40.** Micelio hialino septado y macroconidias tuberculadas de *Histoplasma capsulatum* (800X) (imagen tomada de Diaz, 2018). _____ 161
- Figura 41.** Biopsia obtenida por aspirado transtorácico de aguja fina en paciente con histoplasmosis paratraqueal y paraesofágico. En la imagen A se observa tejido granulomatoso con zonas de necrosis (teñido en hematoxilina eosina, 100X) y en la imagen B se observa una levadura similar a *Histoplasma capsulatum* señalada con una flecha (teñido en GSM, 1000X) (imagen tomada de Richmond et al, 2013). _____ 163
- Figura 42.** Infiltrado histiocitario, con linfocitos, plasmocitos y macrófagos parasitados con microorganismos intracelulares, en paciente HIV positivo con histoplasmosis ileal. Preparación teñida con hematoxilina eosina (40X) (imagen tomada de Inocente, 2012). _____ 164
- Figura 43.** Estructuras fúngicas redondas pequeñas de pared gruesa con halo claro, visto en una biopsia de piel teñida con Hematoxilina Eosina (100X) (imagen de autoría propia). _____ 164
- Figura 44.** Levaduras homogéneas, con una célula madre más grande que la célula hija, y base de implantación angosta, visto en una biopsia de piel teñida en Grocott (100X) (imagen de autoría propia). _____ 165
- Figura 45.** Banda de precipitación H y M, producto de la interacción de los anticuerpos presentes en el pocillo con suero del paciente y los antígenos de la histoplasmina depositados en el pocillo central, mediante la técnica de inmunodifusión en gel de Ouchterlony (imagen tomada de Arenas, 2015). 168
- Figura 46.** En la imagen A se observa la radiografía del tórax de un paciente con histoplasmosis primaria donde se evidencia lesiones micronodulares. En la imagen B se observa el TAC del paciente donde se ven los infiltrados nodulares (imagen tomada de Bonifaz, 2015). _____ 183

Figura 47. En la imagen A se observa la radiografía del tórax de un paciente con un histoplasmosis calcificada señalado con la flecha. En la imagen B se observa el TAC de tórax del paciente con el nódulo calcificado y adenopatías hiliares (imagen tomada de Fraser et al, 2006)._____ 184

Figura 48. En la imagen A se observa la radiografía del tórax de un paciente con histoplasmosis miliar es decir que las lesiones diseminaron a todo el pulmón. En la imagen B se observa el TAC de tórax de un paciente con neumonía por histoplasmosis donde se ve el patrón característico de infiltrados nodulares miliares conocido como “patrón en tormenta” (imagen tomada de Bonifaz, 2015 y Diaz, 2018)._____ 185

LISTA DE ABREVIATURAS

BPI: Bactericidal Permeability Increasing Protein.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

EIA: Enzyme Immunoassay.

ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

EPA: Environmental Public Health.

EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.

HAART: Terapia Antirretroviral de Gran Actividad.

HIV: Human Immunodeficiency Virus.

HRG: Hipoxia Responsive Genes.

HS: genes Heat Shock

HSP: Heat Shock Protein

IDR: Intradermoreacción.

IRIS: Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome.

MIF: Macrophage Migration Inhibitory Factor.

PAMP: Pathogen Associated Molecular Patterns.

PAS: Periodic Acid Schiff.

PCR: Polymerase Chain Reaction.

PHD: Pulmonary Histoplasmosis Disseminated.

POHS: Presumed Ocular Histoplasmosis Syndrome.

POHS: Presumed Ocular Histoplasmosis Syndrome.

PRR: Pattern Recognition Receptor.

RAPD: Random Amplification of Polymorphism.

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism.

ROI: Reactive Oxygen Intermediates.

ROS: Reactive Oxygen Species.

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida.

SREBP: Sterol Regulatory Element Binding Protein.

TNF- α : Tumor Necrosis Factor Alpha.

WGA: Wheat Germ Agglutinin.

1-GENERALIDADES

1.1-Definición

La histoplasmosis es una enfermedad micótica del tipo granulomatosa sistémica producida por *Histoplasma capsulatum*, un hongo dimórfico termo nutricional con tropismo por el sistema reticuloendotelial del hospedero (Colombo et al, 2011), para el cual las microconidias son la fase infectante y tras su inhalación, produce inicialmente un cuadro pulmonar o infección primaria pulmonar que puede diseminarse hacia otros órganos y producir una infección cutánea aguda o crónica entre otras formas diseminadas (Sánchez et al, 2010). El aire es capaz de transportar las conidias en kilómetros por lo que individuos no expuestos al sitio de riesgo pueden llegar a infectarse (Colombo et al, 2011) considerándose al viento como el principal medio de diseminación ambiental del hongo (Chang y Rodas, 2012).

En pacientes sanos, la histoplasmosis se considera una infección moderada o autolimitada, sin embargo, hay brotes en turistas que visitaron zonas endémicas como cuevas en Nicaragua, para los cuales se han reportado anomalías pulmonares radiográficas a pesar de que eran pacientes inmunocompetentes (Sánchez, 2009).

Pese a que la histoplasmosis no es una enfermedad de reporte obligatorio, se ha visto que presenta elevadas tasas de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunocomprometidos, especialmente los pacientes HIV positivos (por sus siglas en inglés de Human Inmunodeficiency Virus) (Teixeira et al, 2016). Se estima que la mortalidad es cercana al 50 %, y entre los afectados también se registran pacientes trasplantados y con enfermedades inflamatorias crónicas. Los pacientes inmunosupresos han contribuido con el aumento de casos de histoplasmosis diseminada en los últimos años. En los pacientes HIV positivos en fase SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) que viven en zonas endémicas la diseminación ronda del 2-25 % de los casos (Gómez, 2011 y Teixeira et al, 2016).

Se estima que en América Latina alrededor del 30 % de los pacientes HIV positivos en fase SIDA podrían morir de histoplasmosis (Teixeira et al, 2016). También se cree que, en países de Centroamérica, el 15 % de pacientes HIV positivos en fase

SIDA y con histoplasmosis, tendrán tuberculosis. Pero en países endémicos, incluyendo a Estados Unidos, se sabe que del 2-25 % de pacientes HIV positivos padecen de histoplasmosis (Díaz, 2018).

En Colombia, el índice de mortalidad es del 37 % en pacientes HIV positivos en fase SIDA que reciben terapia antirretroviral HAART (por sus siglas en inglés de Highly Active Antiretroviral Therapy) y si padecen una histoplasmosis diseminada, el índice de mortalidad aumenta a 39 % dentro de los 3 meses posterior al diagnóstico, de lo contrario los pacientes que no reciben este tratamiento, mueren. En Guatemala se registra un índice de mortalidad similar, del 40 % en pacientes con histoplasmosis pulmonar diseminada (Gómez, 2011). En otro estudio retrospectivo, se ha registrado una mortalidad del 17 % de la histoplasmosis diseminada para pacientes inmunocompetentes (Colombo et al, 2011).

Debido a la globalización, esta enfermedad figura también un problema para los turistas, así lo demuestra el sistema de vigilancia GeoSentinel (que está conformado por 25 clínicas para viajeros alrededor del mundo) quienes reportaron entre 1998 al 2002 que la histoplasmosis representaba más del 70 % de las micosis sistémicas adquiridas por viajeros alrededor del mundo, siendo de las más frecuentes junto a la coccidioidomicosis, por lo que están incluidas en las enfermedades relacionadas a viajes en el *Health Information for International Travel Yellow Book* (Sánchez, 2009).

La mayoría de viajeros afectados son norteamericanos que visitaron zonas endémicas de Norteamérica (por ejemplo los valles del río Ohio, Mississippi y Missouri) o países de América Latina (como Martinica, Perú, Costa Rica, Ecuador, Dominica, Belice, México, Nicaragua, Guatemala y el Salvador), donde el principal origen de la infección fue por visita a cuevas (brotes desde el año 1995 hasta el 2007) (Negroni, 2011 y Sánchez, 2009).

En zonas endémicas de Estados Unidos, se ha informado de un total de 105 brotes entre 1938 al 2013 involucrando 2850 casos en 26 estados, incluyendo Puerto Rico, siendo el común exponente el contacto con gallineros y edificios en demolición o remodelación, donde en más del 77 % de casos se observó la presencia de aves,

murciélagos o el guano, además se estimó que del 15-27 % de personas infectadas requirieron hospitalización por sintomatología respiratoria con un 1 % de casos fatales por neumonía debida a histoplasmosis aguda (Díaz, 2018).

Es curioso observar que de estos brotes, 9 fueron asociados a visitas de cavernas que pertenecían a lugares más hacia el sur de Estados Unidos, incluyendo Florida, Texas y Puerto Rico considerados como sitios no endémicos (Díaz, 2018).

Además, se ha reportado brotes por la visita de otros ambientes, como por ejemplo el brote en un hotel en remodelación en Acapulco, México donde resultaron afectados 250 estudiantes norteamericanos, en el cual la fuente de la infección fue la tierra de macetas por lo que se sugiere que en zonas endémicas, los lugares con la presencia de guano no son necesarios para adquirir la infección (Sánchez, 2009). También se ha reportado un brote en viajeros españoles que participaron en la rehabilitación de una escuela en Guatemala (García et al, 2005).

Otro brote asociado más bien a actividades laborales donde se facilitó la exposición a material contaminado es el ocurrido en la renovación de campos de Golf en Alberta, al Oeste de Canadá que incluía actividades como el corte de césped y árboles. La exposición y disrupción del suelo resultó en la generación de polvo, por tanto, en la inhalación de las microconidias del hongo, afectando a 4 personas que presentaron sintomatología sugerente y que fueron confirmados por histoplasmosis mediante la técnica de inmunodifusión ante la presencia de las bandas H y M, y la técnica de fijación del complemento. Es interesante recalcar que no se evidenció la presencia de guano de aves y murciélagos en el campo de golf (Anderson et al, 2006).

Otros ejemplos de actividades relacionadas a brotes en zonas urbanas son la demolición en un parque en Iowa, Estados Unidos y la construcción de un complejo de tenis y la excavación para construir una piscina en Indiana, Estados Unidos. Hechos ocurridos entre las décadas de 1970 y 1980 (Anderson et al, 2006).

1.2-Sinonimia

Se le conoce como enfermedad de Darling, histoplasmosis americana, histoplasmosis clásica, citomicosis, retículoendoteliosis, enfermedad de los murciélagos, enfermedad de las cuevas, fiebre de las cavernas y minas, enfermedad de los mineros y espeleólogos, fiebre de Tingo María, enfermedad del valle de Ohio, la micosis del viajero, tuberculosis fúngica (debido a la similitud del cuadro clínico pulmonar) y sífilis fúngica (por sus diversas manifestaciones clínicas) (Bonifaz, 2015; Chang y Rodas, 2012; Sánchez, 2009 y Sánchez et al, 2010).

1.3-Historia

En el año 1873, Sebastiano Rivolta, un veterinario y bacteriólogo italiano, observó levaduras en caballos con linfagitis epizoótica por lo que creyó que el agente etiológico pertenecía al género *Cryptococcus* sp. (Rivolta y Micellone, 1883).

Pero no es hasta el año 1905 que se describe por primera vez el agente etiológico en el ser humano por el médico patólogo norteamericano Samuel Darling, al realizar un estudio en Panamá a un paciente proveniente de Martinica que era obrero de la construcción del canal de Panamá, muerto por una presuntiva leishmaniasis sistémica. El obrero presentaba hepatoesplenomegalia, inflamación del bazo y daño pulmonar. Darling observó en las biopsias numerosos cuerpos intracelulares semejantes a amastigotos que carecían de quinetonúcleos y que estaban rodeados por un halo transparente semejante a una cápsula, por lo que clasificó al agente como un protozario y lo llamó *Histoplasma capsulata*. Actualmente se le ha asignado el nombre de *Histoplasma capsulatum*, proveniente de histiocitos (*Histo-*) y plasmodium (*plasma*) ya que Darling además observó organismos intracelulares dentro de los histiocitos que asemejaban a *Plasmodium* sp., y que parecían tener cápsula (*capsulata*). Para este mismo año, la linfangitis epizoótica causada por *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum* es introducida a Inglaterra mediante la importación de caballos provenientes de Asia y África (Chander, 2018; Gómez, 2011; Guillot et al, 2018, Sánchez et al, 2010 y Villalobos y Rodríguez, 2014).

En el año 1913, Henrique da Rocha Lima (médico patólogo e infectólogo brasileño) sospechó que el microorganismo aislado por Darling era más bien una levadura al

comparar secciones de caballos con linfangitis epizoótica con el material obtenido por Darling proveniente del paciente con presuntiva leishmaniasis (Chang y Rodas, 2012 y Chander, 2018).

En 1926 se reportó el primer caso de histoplasmosis humana en Estados Unidos por Riley y Watson (Guillot et al, 2018), por lo que se dejó de pensar que la enfermedad era endémica solo de países tropicales ya que solo se habían reportado casos *post mórtem* en lugares de origen tropical evidenciados por cortes histológicos (Bonifaz, 2015).

Para el año 1929, Katherine Dood y De Mombreum de la Universidad de Vanderbilt de Tennessee, Estados Unidos, lograron aislar el patógeno de una niña que padecía una histoplasmosis diseminada al lograr cultivar el microorganismo, continuando los estudios hasta cumplir con los postulados de Koch (Bonifaz, 2015). Además, en 1934, De Mombreum demostró el dimorfismo de *Histoplasma capsulatum* y postuló que probablemente la fase saprofítica de este hongo existía en la naturaleza (Chander, 2018). Para este año, *Cryptococcus farciminosum* nombrado por Rivolta, es clasificado como *Histoplasma farciminosum* por Radaelli y Ciferri (Guillot et al, 2018).

En 1945, Amos Christie y Peterson describieron una infección pulmonar primaria que en ocasiones diseminaba, y expresaron que la enfermedad por el hongo no era rara debido a la frecuencia con que se presentaba estas infecciones pulmonares (Chander, 2018 y Sánchez et al, 2010).

En 1947 se reportó por primera vez un brote de histoplasmosis, el cual se dio en Oklahoma, Estados Unidos y años posteriores muchas epidemias serían reportadas tanto en Estados Unidos como en Suramérica (Guillot et al, 2018).

En 1948, se registró el primer caso de histoplasmosis felina en Estados Unidos, por lo que quedó claro que la enfermedad también representaba un problema para los animales domésticos (Guillot et al, 2018).

En el año 1949, Chester Wilson Emmons (micólogo norteamericano) realizó el primer aislamiento de *Histoplasma capsulatum* a partir del suelo proveniente de las

cercanías de la entrada de una madriguera de ratas debajo del borde de un gallinero, donde además se reportaron otros aislamientos de suelos de minas y cavernas (Bonifaz, 2015 y Guillot et al, 2018). En el mismo año, Perrín y Matínez Báenz reportaron los primeros casos de histoplasmosis en México mediante histopatología (Bonifaz, 2015).

En 1952, Dubois y colaboradores describieron por primera vez la histoplasmosis en África por lo que se le llamó al cuadro clínico histoplasmosis duboisii o histoplasmosis africana y al agente etiológico *Histoplasma duboisii* (Dubois et al, 1952).

En 1954, se reportó el primer caso de histoplasmosis en Kolkata, en la India, descrito por Panja y Sen, demostrando que la enfermedad también estaba presente en países orientales (Chander, 2018).

En 1955, Ajello y Lazarus aislaron *Histoplasma capsulatum* de la Cueva de las Lechuzas en Tingo María Huanuco en Perú, de ahí que se le conociera al cuadro ocasionado por el patógeno como fiebre de Tingo María debido al atractivo turístico nacional e internacional que representa la cueva (Sánchez et al, 2010).

En 1958, Emmons observó por primera vez la asociación que existe entre el hábitat de los murciélagos y la presencia de *Histoplasma capsulatum*. En 1959, el síndrome de histoplasmosis ocular fue definido por Woods, del cual se le conoce como Síndrome de Presunta Histoplasmosis Ocular o POHS (por sus siglas en inglés de Presumed ocular histoplasmosis syndrome) (Chander, 2018 y Guillot, 2018).

En 1961 se indicó el primer caso de histoplasmosis en un tejón, en Europa, debido a *Histoplasma farciminosum* (Guillot et al, 2018).

En 1963, en Malasia, se aísla *Histoplasma capsulatum* a partir del suelo por primera vez en un país asiático (Bahr et al, 2015).

En 1970, se reportaron 30 casos autóctonos de histoplasmosis en India, Malasia, Indonesia, Singapur, Tailandia, Vietnam y Japón (Bahr et al, 2015).

A raíz de que en 1967, Ajello y Cheng habían identificado erróneamente el cleistotecio producido por un hongo no patógeno en un cultivo mixto como la fase sexual de *Histoplasma capsulatum*, la Dra. Kwon Chung (bióloga y bacterióloga surcoreana) intentó reproducir la fase sexual de *Histoplasma capsulatum* a partir de 12 aislamientos del hongo provenientes de palomares de Arkansas, Estados Unidos. Al cultivarlos en pares con 144 posibles combinaciones en Medio agar con Alphacel y extracto de levadura, encontró en 70 combinaciones los cleistotecios después de 3 semanas de incubación a 25 °C que asemejaban a los cleistotecios de *Ajellomyces dermatitidis* (teleomorfo de *Blastomyces dermatitidis*). Por lo que, en 1972, Kwon Chung y en 1979 McGinnis y Katz, identificaron el estado teleomórfico de *Histoplasma capsulatum* el cual se le conoció como *Emmonsella capsulata* que en la actualidad fue renombrado como *Ajellomyces capsulatus* propuesto por McGinnis y Katz en 1979. (Bonifaz, 2015; Chander, 2018 y Kwon Chung, 1967).

En 1983, varios reportes en Estados Unidos de pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis diseminada fueron registrados, provenientes de la zona hiperendémica de histoplasmosis en Indiana, y también de otras zonas donde la enfermedad es menos común como Michigan y Texas, y en otras donde antes no había reportes como por ejemplo Nueva York y Colorado. Dichos reportes fueron en incremento tanto en zonas endémicas como no endémicas de Estados Unidos. También para este año se reportaron casos en países donde no se habían reportado la enfermedad o donde los casos eran raros como por ejemplo Trinidad, Tailandia y la República Democrática del Congo (Bahr et al, 2015).

Debido a las diferencias en las manifestaciones clínicas, distribución geográfica y morfología de las levaduras, en 1983, Ajello propuso dividir en variedades a *Histoplasma capsulatum* descrito por Darling (1905) y a *Histoplasma duboisii* descrito por Dubois (1952), proponiendo a *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* y a *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, respectivamente (Ajello, 1983).

En 1985, la tercera variedad observada por Rivolta que había sido colocada dentro del género por Ciferri y Redaelli en 1934, también es propuesta como *Histoplasma capsulatum* var. *faciminosum* por Weeks y colaboradores (Weeks et al, 1985).

Para el año 1990, se reportan más de 100 casos de histoplasmosis en pacientes HIV positivos en fase SIDA provenientes de Indiana, Estados Unidos, y otros provenientes de zonas fuera de las áreas endémicas tradicionales, donde la mayoría de los casos sintomáticos eran debidos a una histoplasmosis diseminada progresiva contrario al cuadro pulmonar que presentan generalmente los pacientes HIV negativos. El aumento de casos de pacientes HIV positivos en fase SIDA permitió identificar nuevas zonas endémicas de histoplasmosis debido a que anteriormente los casos presentados eran en su mayoría asintomáticos por lo que existía un subregistro en estas zonas (Bahr et al, 2015).

2-ETIOLOGÍA

2.1-Descripción de los agentes etiológicos

Pertenece al Reino Fungi, Subreino Dikarya, phylum Ascomycota, Clase Eurotiomycetes, orden Onygenales y familia Onygenaceae, de la cual actualmente se sugiere que podrían pertenecer más bien a la familia Ajellomycetaceae gracias a estudios efectuados en 6 loci: 18S, 5.8S y 28S en genes del ARNr, EF1 (Factor de Elongación 1) y RPB1 y RPB2 (subunidad 1 y 2 de la polimerasa de ARN respectivamente) (Chander, 2018).

El agente etiológico se divide en tres subespecies o variedades basado en sus características fenotípicas o morfológicas, distribución geográfica y patogenicidad: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* que produce la forma clásica de histoplasmosis en el continente americano, *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* que es el agente etiológico de la histoplasmosis en el continente africano donde afecta a primates y al ser humano, e *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum* causante de la linfangitis epizoótica en caballos y mulas en el norte y medio este de África (Gómez, 2011; Sánchez et al, 2010 y Teixeira et al, 2016). *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum* también se ha aislado a partir de caballos y mulas en Europa, India y sur de Asia (Kasuga et al, 2003; Teixeira et al, 2016 y Guillot et al, 2018).

Histoplasma capsulatum var. *duboisii* causa manifestaciones clínicas similares a *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, y conviven en ecosistemas similares en África (Diaz, 2018). Pero *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* a diferencia de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, está restringido a las áreas tropicales de África causando en el ser humano micosis cutáneas, subcutáneas y lesiones en hueso (Teixeira et al, 2016).

En general las levaduras del género *Histoplasma* tienen forma redonda, son de pared gruesa y son producidas por el hongo al ser cultivado en Agar sangre enriquecido con cisteína o en Agar Infusión Cerebro Corazón incubados a 37 °C o en tejidos infectados en modelos *in vivo*. Este hongo no crece a pH menor a 5.0 ni a pH mayor a 10.0, o al incubar a temperaturas mayores a 40 °C. *Histoplasma*

capsulatum es un hongo heterotálico que puede completar su ciclo sexual en presencia de hifas complementarias donde se produce la estructura estromática fértil conocida como el ascocarpo producto de la constricción de hifas complementarias que se enrollan entre sí hasta formar dicha estructura, que es específicamente del tipo cleistotecio (estructura redonda cerrada con esferas adentro que cubren las ascas con ascosporas compuestas de pseudoparénquima y prosénquima), conociéndose su fase teleomorfa como *Ajellomyces capsulatus* (teleomorfo de *Histoplasma capsulatum sensu stricto*), el cual constituye una forma dicariótica y diploide que eventualmente forma las ascosporas haploides después del proceso de reducción meiótica (ver Figura 1) (Bonifaz, 2020; Colombo et al, 2011; Muniz et al, 2014; Ortiz et al, 2015 y Teixeira et al, 2016).

Cabe destacar que la forma teleomórfica o sexual de *Histoplasma capsulatum* solo se ha logrado reproducir en condiciones de laboratorio, por lo que nunca se ha observado en la naturaleza, entonces, se desconoce la magnitud que tiene el proceso de recombinación sexual del hongo en este entorno (Sepúlveda et al, 2017).

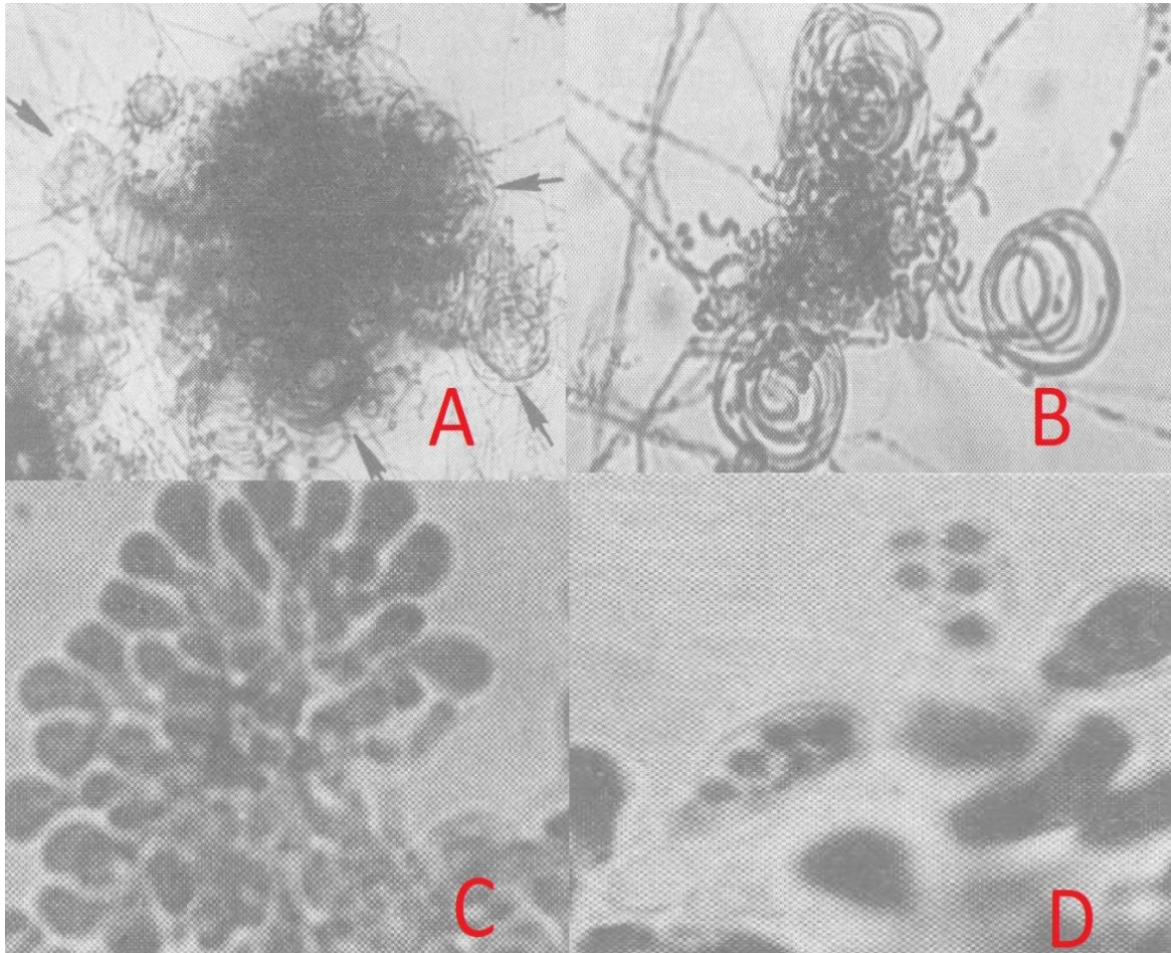


Figura 1. Fase teleomorfa de *Histoplasma capsulatum* conocida como *Ajellomyces capsulatus* observada en lactofenol azul, reproducida en el experimento de la Dra. Kwon Chung en 1972. A) Cleistotecio, las flechas indican hifas enrolladas en la periferia de la estructura (300X). B) Ascocarpo donde se observa tres hifas ascógenas enrolladas (485X). C) Racimo de ascas jóvenes (750X). D) Ascas maduras con ascosporas (1250X) (imagen tomada de Kwon Chung, 1972).

Esta reproducción sexual va a ser entonces el resultado de la unión de los dos tipos de apareamiento, es decir, entre el tipo (+) o MAT1-1 y el tipo (-) o MAT1-2, y este proceso va a estar regulado por una región genómica especializada conocida como “el locus del tipo de apareamiento” (MAT1 por sus siglas en inglés de mating-type locus) que contiene uno o más genes que codifican para factores de transcripción con motivos estructurales (Muniz et al, 2014).

Cuando un aislamiento de *Histoplasma capsulatum* que contiene un idiomorfo del locus MAT1 (MAT1 contiene dos regiones idiomórficas) que puede ser MAT1-1 o

MAT1-2 (ambos idiomorfos difieren en secuencias codificantes para factores de transcripción) se encuentra con su complementario, se produce el apareamiento, ya que un idiomorfo codifica el dominio caja HMG (por sus siglas en inglés de high mobility group) de un factor de transcripción (idiomorfo MAT1-2), mientras que el otro idiomorfo codifica para el dominio caja alfa de otro factor de transcripción (idiomorfo MAT1-1), confiriendo ambos dominios la identidad sexual a la célula haploide (Muniz et al, 2014).

Debido a estos descubrimientos, en el 2007, Bubnick y Smulian, desarrollaron un PCR con primers específicos para la identificación de ambas regiones MAT1-1 y MAT1-2 del locus MAT de los aislamientos de *Histoplasma capsulatum* (ver Cuadro I) (Bubnick y Smulian, 2007).

Este evento de recombinación entre dos cepas puede generar una cepa nueva con una virulencia mayor a las cepas progenitoras, por lo que la reproducción sexual en *Histoplasma capsulatum* es un evento de especial interés para futuros estudios (Bubnick y Smulian, 2007).

Curiosamente, al cultivar las cepas continuamente en el laboratorio, causa que pierdan su fertilidad natural o su capacidad de aparearse, por lo que autores como Medeiros et al (2014), sugieren que la presión selectiva ejercida por el hábitat natural del hongo ayuda a mantener su fecundidad (Muniz et al, 2014).

Cuadro I. Primers utilizados en la amplificación y detección de las regiones específicas del “locus del tipo de apareamiento” MAT1 de *Histoplasma capsulatum* en la técnica de PCR para la determinación del idiomorfo de los aislamientos (información tomada de Bubnick y Smulian, 2007).

Idiomorfo	Primers	Secuencia	Tamaño aproximado de la secuencia (pb)
MAT1-1	Primer sentido	5' CGTGGTT AGTTACGGAGGCA 3'	440
	Primer antisentido	5' TGAGGATGCGAGTGATGGG A 3'	
MAT1-2	Primer sentido	5' ACACAGTAGCCCAACCTCT C 3'	528
	Primer antisentido	5' TCGACAATCCCATCCAATACCG 3'	

El PCR se efectúa en condiciones estándar con una temperatura de “annealing” de 60°C y utilizando como control del idiomorfo MAT1-1 la cepa ATCC 26032 y como control del idiomorfo MAT1-2 la cepa ATCC 22635, ambas de *Histoplasma capsulatum* (Bubnick y Smulian, 2007).

En aislamientos clínicos se ha visto que hay un predominio del idiomorfo (-) o MAT1-2, en una relación 7:1 del (-):(+) , respectivamente, en comparación a los aislamientos de la naturaleza donde más bien se encuentran en una relación 1:1. A pesar de esta diferencia en los aislamientos clínicos, los estudios en modelos murinos han demostrado que ambos idiomorfos poseen la misma virulencia, por lo que se estima que el predominio del idiomorfo (-) o MAT1-2 se debe a que este posee una habilidad incrementada para producir propágulos infecciosos, es decir, que sus hifas tienen una mayor capacidad para pasar a la fase levaduriforme (Muniz et al, 2014).

En los brotes de histoplasmosis, también se ha visto predominio del idiomorfo (-) o MAT1-2, como por ejemplo en el estudio efectuado por Kwon Chung et al (1984), donde a partir de 28 aislamientos de un brote de histoplasmosis en Indianápolis, Estados Unidos, entre 1978 y 1979, y entre 1980 y 1981, se encontró en su mayoría este idiomorfo (Kwon Chung et al, 1984).

Estudios efectuados por Damasceno et al (2019), en aislamientos clínicos provenientes en su mayoría de pacientes HIV positivos de centros de salud de Ceará, que es un sitio endémico de histoplasmosis en el noreste de Brasil (considerada la zona con mayor mortalidad por histoplasmosis en Suramérica), demostró igualmente predominio del idiomorfo (-) o MAT1-2, pero al efectuar el análisis por clados genéticos por separado a los cuales pertenecían los aislamientos, se encontró el predominio de este idiomorfo solo en el Clado Noreste BR1, en cambio en el Clado Noreste BR2 predominó ligeramente el idiomorfo (+) o MAT1-1, por lo que la tendencia al predominio del idiomorfo (-) o MAT1-2, no siempre se cumple (Damasceno et al, 2019).

En otros estudios como el de Rodríguez et al (2013), efectuado en 28 aislamientos del hongo provenientes del suelo, guano de murciélagos y de seres humanos, obtenidos en Brasil y México, se encontró que de los 14 aislamientos de México, 10 resultaron ser del idiomorfo (-) o MAT1-2, mientras que todos los 14 aislamientos de Brasil son del idiomorfo (+) o MAT1-1, lo que demuestra una vez más que *Histoplasma capsulatum* posee una diversidad genética significativa por lo que estos hallazgos pueden variar entre las distintas localizaciones geográficas, por lo que el predominio de un idiomorfo sobre otro podría depender de este factor, que además también se cree que podría asociarse al reservorio natural de este hongo en estos sitios (Rodríguez et al, 2013).

El estudio de Damasceno et al (2019), también demostró que en pacientes HIV positivos puede haber infecciones mixtas por ambos idiomorfos de una misma especie filogenética (en este estudio por el Clado Noreste BR1), por lo que se estima que se puede deber a exposiciones repetidas al sitio de infección y que además esta infección mixta se traduce en un mayor riesgo de padecer histoplasmosis diseminada (Damasceno et al, 2019).

La reproducción sexual se ha demostrado también en aislamientos provenientes de Norteamérica donde se presume que los eventos de recombinación e intercambio genético podrían permitir que este hongo se adapte a diferentes condiciones que traería el nacimiento de nuevos genotipos más virulentos capaces de infectar

nuevos hospederos ya que este hongo se ha caracterizado por poseer una alta variación genética y ser de distribución mundial en comparación con otros patógenos dimórficos pertenecientes al Orden de los Onygenales que están más restringidos geográficamente (Teixeira et al, 2016).

2.2-Aspectos genéticos

Variabilidad cromosómica

En cuanto a la ploidía o el conjunto de los cromosomas de *Histoplasma capsulatum*, este cuenta con un número de cromosomas que va de 3 a 7, con un intervalo de tamaño de 0.5 Mb a 5.7 Mb, ya que, como en la mayoría de organismos pertenecientes al Reino Fungi, no van a ser estables, es decir, se puede encontrar variabilidad tanto en el estado haploide como en el estado diploide (recordar que estos son los estadios cromosomales más comunes en la naturaleza, es decir, los eucariotas duplican su ploidía en el estado sexual y la reducen a la mitad gracias a la meiosis) (Romero et al, 2004).

Entonces, este hongo presenta polimorfismo cromosómico, es decir, diversidad en los cromosomas tanto en tamaño como número de cromosomas así como en la secuencia de ciertos genes. Steele et al (1989), demostraron este hecho al estudiar el número de cromosomas en diferentes cepas de *Histoplasma capsulatum* mediante las técnicas de hibridación con sondas específicas, FIGE (por sus siglas en inglés de Field Inversion Gel Electrophoresis) y CHEF (por sus siglas en inglés de Contour Clamped Homogeneous Electric Field) (ambas técnicas son tipos de electroforesis en gel de campos pulsados o PFGE por sus siglas en inglés de Pulsed Field Gel Electrophoresis, que se les llama diferente de acuerdo a la orientación de los campos eléctricos). Se encontró 8 cromosomas para la cepa Downs (cepa de baja virulencia), 4 cromosomas para la cepa G-186B (cepa virulenta) y 3 cromosomas en la cepa G-217B (cepa virulenta) (Romero et al, 2004 y Steele et al, 1989).

También se ha demostrado el polimorfismo en la longitud de los cromosomas o CLP (por sus siglas en inglés de Chromosome Length Polymorphism) en el estudio de múltiples aislamientos de *Histoplasma capsulatum*, es decir que hay diversidad

cromosómica o polimorfismo cromosómico y está asociado tanto al tamaño como la movilidad de los cromosomas, pero aún se desconoce la relación que pueda tener con el fenotipo de los aislamientos (Romero et al, 2004).

Diversidad Genética

Se considera que el género *Histoplasma* podría tener más bien 6 especies crípticas, basado en la filogenética molecular (Chander, 2018), otros consideran que podría llegar a constituir 11 especies filogenéticas o linajes crípticos (Damasceno et al, 2019).

Estudios en la composición en moles por ciento de guanina-citosina (G+C) tanto del ADN de la fase micelial como levaduriforme han arrojado resultados similares (45.6-49.8 % y 45.4-49.8 %, respectivamente), sin embargo, esta similitud no indica que la especie de este hongo sea homogénea ya que como se mencionó anteriormente, *Histoplasma capsulatum* probablemente esté compuesto de especies crípticas o que más bien representa un complejo de especies y cada especie es un clado que puede agrupar cepas con diferencias biológicas. Este hecho está evidenciado porque se sabe con certeza que los especímenes de este hongo se caracterizan por una diversidad morfológica y fisiológica, así como un elevado polimorfismo (Romero et al, 2004).

En la actualidad, el desarrollo de técnicas de biología molecular y el estudio de marcadores moleculares ha constituido un avance útil en la identificación de las especies crípticas del complejo al cual pertenece este hongo ya que la clasificación antes se basaba en criterios morfológicos y biológicos (Vite et al, 2014).

Los métodos de genotipificación molecular como el Polimorfismo de Longitud de Fragmentos de Restricción o RFLP (por sus siglas en inglés de Restriction Fragment Length Polymorphism), Hibridación de ADN, ADN Polimórfico Amplificado Aleatoriamente o RAPD (por sus siglas en inglés de Random Amplification of Polymorphic DNA) y la secuenciación de los ITS 1 y 2, así como a partir de la secuencia parcial de cuatro genes o loci: ARF (factor de ribosilación de ADP), H-ANTI (precursor de antígeno H), OLE1 (Delta 9 desaturasa de ácido graso) y TUB1

(tubulina- α) (ver Cuadro II), han permitido demostrar una amplia diversidad de *Histoplasma capsulatum sensu stricto* en asociación geográfica. Por lo que los estudios pioneros de Kasuga et al, en 1999 y en el 2003 en aislamientos clínicos, veterinarios y del suelo provenientes de varios continentes, y más recientemente los estudios efectuados por Teixeira et al (2016), permitieron considerar que esta especie es un complejo compuesto de 8 clados (ver Figura 2): Clado 1 Norteamérica (NAM 1), Clado 2 Norteamérica (NAM 2), Clado A Latinoamérica (LAM A), Clado B Latinoamérica (LAM B), Clado Australia, Clado Países Bajos (Indonesia), Clado África y Clado Eurasia (proveniente de Egipto, India, China, Tailandia e Inglaterra), donde 7 de estos clados son poblaciones genética y geográficamente distintas que podrían ser considerados especies filogenéticas a excepción del Clado Eurasia que no constituye una especie filogenética ya que se origina del Clado A Latinoamérica (LAM A) pero con la diferencia de que son aislamientos homogéneos que provienen del lejano oriente de Europa (Arenas, 2015; Colombo et al, 2011 Gómez, 2011; Kasuga et al, 1999; Kasuga et al, 2003 y Teixeira et al, 2016).

En ese mismo estudio de Kasuga et al (2003) sobre el análisis de la relación filogenética de aislamientos de *Histoplasma capsulatum* provenientes de diferentes lugares del mundo, también se evidenció que algunos de estos no pertenecían a los clados sugeridos para la clasificación de este hongo como por ejemplo el linaje H81 aislado a partir del ser humano en Panamá, entre otros ejemplos (Kasuga et al, 2003).

Cuadro II. Primers utilizados en la amplificación y detección de la secuencia parcial de cuatro genes de *Histoplasma capsulatum* en la técnica de PCR, entre otras, para la discriminación entre aislamientos (información tomada de Kasuga et al, 2003 y Sepúlveda et al, 2017).

Gen	Primers	Secuencia	Tamaño aproximado de la secuencia (pb)
Tubulina α	Primer sentido	5' GGTGGCCAAATCGCAAATC 3'	278
	Primer antisentido	5' GGC AGCTTTCCGTTCTCAGT 3'	
Factor de ribosilación de ADP	Primer sentido	5' AGAATATGGGGCAAAAAGGA 3'	470
	Primer antisentido	5' CGCAATTCATCTTCGTTGAG 3'	
Precursor de antígeno H	Primer sentido	5' CGCAGTCACCTC CATACTATC 3'	412
	Primer antisentido	5' GCGCCGACATTAACCC 3'	
Delta 9 desaturasa de ácido graso	Primer sentido	5' TTAAACGAAGCCCCACGG 3'	425
	Primer antisentido	5' CACCACCTCCAACAGCAGCA 3'	

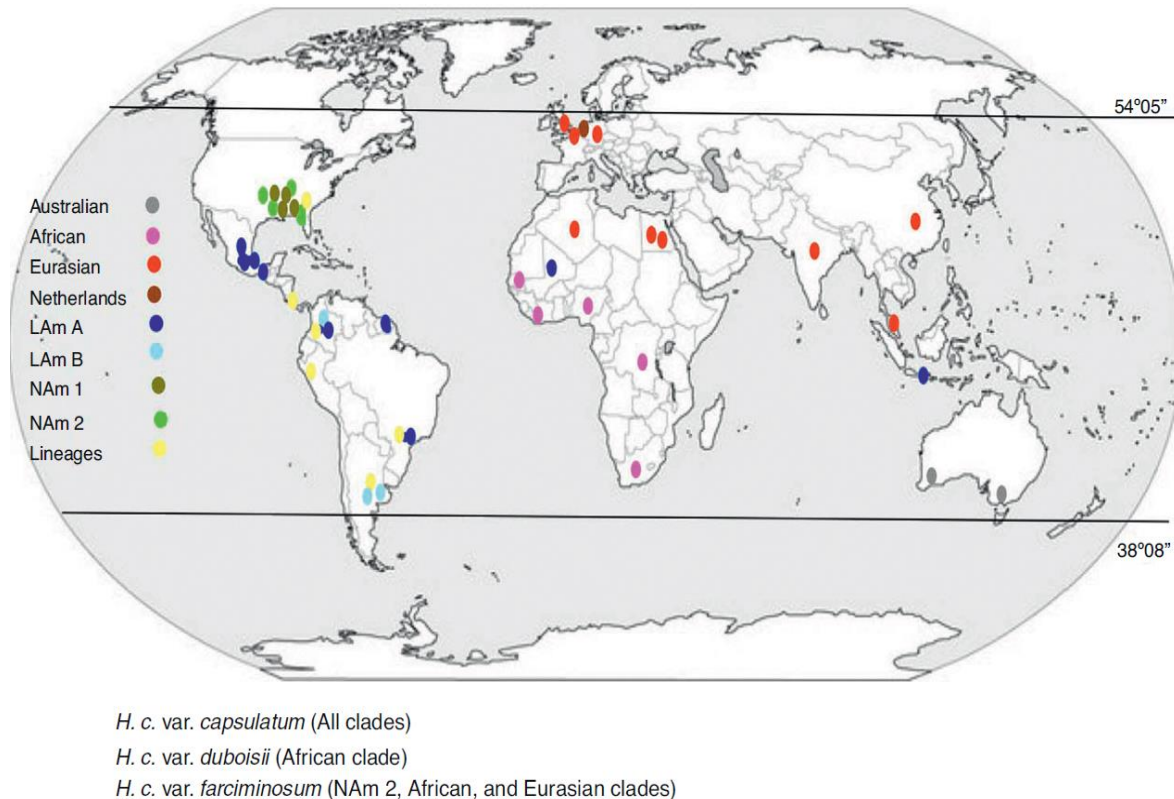


Figura 2. Distribución geográfica de los clados y linajes de *Histoplasma capsulatum* a partir del estudio de Kasuga et al (2003) en 17 aislamientos provenientes de 25 países (imagen tomada de Vite et al, 2014).

Cabe destacar que, en la actualidad, la técnica de MLST (por sus siglas en inglés de Multilocus Sequence Typing) se considera el principal método de biología molecular para evaluar la diversidad genética de *Histoplasma capsulatum* a nivel de especie, mediante la amplificación parcial de las secuencias de ADN de 4 genes nucleares (*arf*, *H-anti*, *ole1* y *tub1*), por lo que, estudios recientes efectuados mediante esta técnica han permitido demostrar que en realidad los clados LAm A y LAm B, se dividen en 4 *clusters*: LAm A1, LAm A2, LAm B1 y LAm B2, además se descubrió dos nuevas especies filogenéticas: RJ (Suroeste de Brasil) y BAC-1 (México, asociado a especies de murciélagos), y 4 clados crípticos y monofiléticos provenientes de Brasil: Noreste BR1, Noreste BR2, BR3 y BR4, por lo que se considera que Latinoamérica posee la mayor diversidad genética de *Histoplasma capsulatum* en comparación con las demás zonas endémicas, siendo el sitio con

mayor diversidad Brasil, además, se cree que es el origen de la dispersión de este hongo en América Latina, muy posiblemente facilitado por hospederos migratorios como las aves y murciélagos (Damasceno et al, 2019 y Rodrigues et al, 2020).

Estudios recientes del 2020, efectuados por Rodrigues et al, mediante la técnica de MLST (de 3 genes: *arf*, *H-anti*, *ole1*, además de ITS4 e ITS5) y AFLP (por sus siglas en inglés de Amplified Fragment Length Polimorphism) en 102 aislamientos clínicos y 2 aislamientos veterinarios provenientes de diferentes regiones geográficas de Brasil, sugieren la existencia de otros linajes filogenéticos o Clados, como por ejemplo LAm C, LAm D y LAm E, relacionados a la producción de brotes de histoplasmosis en el Noreste de Brasil entre el 2011 y 2015, donde el Clado LAm C se considera el principal causante de la enfermedad en pacientes HIV positivos de esta región del país (Ceará) y el Clado LAm D y LAm E son aislados de pacientes del Sureste del país (Rodrigues et al, 2020).

Se cree que la gran diversidad genética del hongo que se da en este país y la alta incidencia de histoplasmosis, se podría deber a la recombinación genética producto de la reproducción sexual (Rodrigues et al, 2020).

Es interesante mencionar que *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* se encuentra en todo los clados. El Clado África incluye las tres variedades, en el cual se encuentra *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* que está limitado al continente de África. *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum* se ubica en 3 de los 8 clados (Clado África, Clado NAm 2 y Clado Eurasia), por lo que se evidencia que la clasificación de este hongo en las tres variedades no tiene sentido desde el punto de vista de la filogenética, entonces, por ejemplo, en el caso de *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*, no es una especie filogenética, sino más bien representa un conjunto de aislamientos pertenecientes a varios clados que comparten la característica de que son capaces de producir enfermedad en los caballos (Kasuga et al, 2003).

Debido a que no se ha llegado a la conclusión clara sobre el orden de cómo se ramifican los clados, Kasuga et al (2003) sugieren que *Histoplasma capsulatum* es

un hongo que diseminó en un período de tiempo corto de aproximadamente 3 a 13 millones de años atrás (Kasuga et al, 2003).

El problema con la clasificación de *Histoplasma capsulatum* en especies filogenéticas basado en los 4 loci codificantes (arf, H-anti, ole1 y tub1) es que solo proporciona información parcial a cerca de la diversidad genealógica de este hongo, por lo que resulta limitado, además, en estos grupos genéticos no se logra incluir todos los aislamientos estudiados, como es el caso del linaje Panama/H81 en el estudio de Kasuga et al (2003) que no se identificó dentro de ninguna de las especies filogenéticas ya que estos representan un grupo polifilético (para que todos fueran incluidos en la especie filogenética, los individuos deberían ser un grupo monofilético) (Kasuga et al, 2003 y Sepúlveda et al, 2017).

Se sospecha que estas diferencias filogenéticas podrían influir en las manifestaciones clínicas presentes en los pacientes, como por ejemplo se ha visto que los aislamientos de *Histoplasma capsulatum* pertenecientes al Clado LAm A y Clado LAm B, aislados de Latinoamérica, suelen producir lesiones en piel, en cambio los aislamientos en Norteamérica (NAm 1 y NAm 2) no producen esta manifestación con frecuencia. En un estudio donde se comparó pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis entre Brasil y Estados Unidos, se observó que los pacientes provenientes de Brasil presentaban más lesiones cutáneas, hallazgos gastrointestinales y mayores índices de muerte, en comparación con los pacientes provenientes de Estados Unidos probablemente debido a las diferencias genéticas entre los clados que predominan en estos países que se evidencia por el dermatotropismo de los clados latinoamericanos (Colombo et al, 2011; Gómez, 2011 y Teixeira et al, 2016).

Una infección debida a este hongo puede estar dada por más de un genotipo, como se observó en el estudio de Damasceno et al (2019) donde había población HIV positiva con histoplasmosis causada tanto por aislamientos del Clado Noreste BR1 como por el Clado Noreste BR2, lo que podría ser comparable al concepto de “superinfección” manejada en otras disciplinas como la virología donde un individuo infectado por un genotipo adquiere un segundo genotipo, posiblemente debido a

exposiciones diferentes o porque ambos genotipos comparten el mismo nicho ecológico (Damasceno et al, 2019).

El reconocimiento de estas infecciones mixtas por dos genotipos diferentes es importante ya que se cree que pueden variar en su tropismo hacia la célula hospedera, mecanismos de evasión de la respuesta inmune, respuesta adaptativa del sistema inmunológico que generan que es importante para la elaboración de vacunas y perfil de susceptibilidad a los antifúngicos, por lo tanto de la progresión de la enfermedad, siendo esto último crítico en los pacientes que padecen la histoplasmosis diseminada (Damasceno et al, 2019).

En la actualidad el estudio de Sepúlveda et al (2017), permitió cambiar anteriores linajes evolutivos al nivel de especie. En el estudio se utilizó el análisis del genoma completo y secuenciación de 30 aislamientos provenientes de varios sitios endémicas de histoplasmosis en América, para comprobar que este género está compuesto por varias especies. Se concluyó que estas especies están genéticamente aisladas y raramente se cruzan, y difieren en su virulencia (Sepúlveda et al, 2017).

Se encontró suficientes diferencias genéticas y en la estructura polifilética entre los *cluster*, por lo que se definieron los siguientes linajes evolutivos como 4 especies filogenéticas independientes: *Histoplasma capsulatum sensu stricto* (anteriormente conocido como el linaje Panama/H81), *Histoplasma mississippiense* sp. nov. (anteriormente Clado NAm 1), *Histoplasma ohioense* sp. nov. (anteriormente Clado NAm 2) e *Histoplasma suramericanum* sp. nov. (anteriormente Clado LAm A) (Sepúlveda et al, 2017 y Rodrigues et al, 2020).

Cabe destacar que esta clasificación de especies filogenéticas no evalúa el grado de incompatibilidad reproductiva entre especies, a como lo establece la definición de especie biológica en donde dos individuos de diferentes especies no se pueden reproducir entre sí. Pareciera ser que este hecho solo se ha comprobado en el caso de *Histoplasma mississippiense* e *Histoplasma ohioense*, donde la distribución geográfica de ambas especies se traslapa en Norteamérica y aún así se encuentran en sintopía, que también podría ser la misma situación en el caso de *Histoplasma*

suramericanum e *Histoplasma capsulatum sensu stricto*, donde su distribución geográfica se traslapa en Centroamérica y posiblemente en el Noroeste de Colombia (Sepúlveda et al, 2017).

Se cree que *Histoplasma suramericanum* es un agente etiológico que produce frecuentemente la enfermedad pulmonar aguda con una pronunciada patología pulmonar que desemboca en una alta mortalidad en Centro América y Suramérica, en cambio, *Histoplasma mississippiense* e *Histoplasma ohiense* producen más frecuentemente enfermedad pulmonar crónica en Estados Unidos (Rodrigues et al, 2020).

Histoplasma mississippiense se considera menos virulento, pero presenta más resistencia a los antifúngicos de uso regular, además cuenta con una actividad proteolítica extracelular considerada como única. Por otro lado, *Histoplasma ohiense* carece de α -1,3-glucanas en la fase levaduriforme que son consideradas como un factor de virulencia importante, pero posee la adhesina Yps3p (homóloga a la adhesina Bad1p de *Blastomyces dermatitidis*) que igual le permiten causar patología (Sepúlveda et al, 2017).

En el estudio de Sepúlveda et al (2017) también se encontró resultados de aislamientos del Clado África pertenecientes a *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, que sugieren que también constituye una especie, pero por el número reducido de aislamientos (2 aislamientos) en el presente estudio, no se puede llegar a esta conclusión hasta analizar una mayor cantidad de especímenes (Sepúlveda et al, 2017).

2.3-Dimorfismo

Histoplasma capsulatum es un hongo dimórfico termonutricional, que expresa su fase saprofitica de micelio, macroconidias tuberculadas y microconidias a temperatura ambiente en medios como el agar Sabouraud glucosado y agar Mycosel o en el medio ambiente, además expresa su forma levaduriforme o parasitaria a 37 °C en medios ricos como gelosa sangre o agar infusión cerebro corazón o en el hospedero, por lo que se considera un patógeno primario (Sánchez, 2009 y Sánchez et al, 2010).

Muchos de los cambios fisiológicos en respuesta a cambios ambientales como lo es la temperatura, son debidos a modificaciones en la membrana lipídica de las células (Carratú et al, 1996 y Maresca y Kobayashi, 2000).

Durante este cambio de temperatura se activan los genes de choque de calor o HS (por sus siglas en inglés de Heat Shock) donde las membranas se vuelven hiperfluidas, es decir, se desestabiliza la fase lamelar, por lo que es necesario aumentar los ácidos grasos saturados para estabilizar la topología de la membrana (Carratú et al, 1996).

En las levaduras (y en células animales), la Acyl CoA desaturasa o Δ^9 -desaturasa, es la principal enzima que convierte el ácido palmítico y el ácido esteárico que son ácidos grasos saturados a ácido palmitoleico o ácido oleico que son ácidos grasos insaturados. Se cree que esta enzima es responsable de las modificaciones que sufre la membrana celular ante cambios de temperatura o cambios nutricionales (Maresca y Kobayashi, 2000).

Para el cambio morfológico, el hongo también requiere de una fuente de grupos sulfidrilos, donde el más importante es la cisteína (Maresca y Kobayashi, 2000).

Estudios efectuados sobre el crecimiento de la levadura en cultivo (no del micelio) han evidenciado que necesita adquirir la cisteína gracias a la expresión de una sulfito reductasa dependiente de la temperatura, por lo que sin la enzima es incapaz de incorporar sulfato a partir de compuestos como la cisteína (Garfoot et al, 2014).

Histoplasma capsulatum es capaz de sintetizar todas las vitaminas esenciales, a excepción de la tiamina. Además, la levadura dentro del fagosoma tiene limitaciones de riboflavina y pantotenato por lo que necesita la síntesis de novo de estos precursores de cofactores (Garfoot et al, 2014).

En 1987, se comprobó que la transcripción de genes de choque de calor (HS) y la acumulación de proteínas de choque de calor o HSP (por sus siglas en inglés de Heat Shock Protein) ocurrían durante la transición de micelio a levadura. Estos estudios fueron efectuados por Caruso et al (1987), donde se encontró la Hsp70 en *Histoplasma capsulatum* (Caruso et al, 1987 y Maresca y Kobayashi, 2000).

Estas proteínas de choque térmico son importantes en el proceso de dimorfismo porque este se da a temperaturas de 37 °C, por lo que se necesita de estas proteínas chaperonas para garantizar que las proteínas involucradas en el proceso de dimorfismo se plieguen correctamente y que los complejos proteicos se transporten y se ensamblen adecuadamente. Además, las HSP protegen el proceso de respiración y el acoplamiento de la síntesis de ATP por lo que uno de los objetivos más probables de estas proteínas sea también la membrana mitocondrial (Boyce y Andrianopoulos, 2015; González et al, 2012; Maresca y Kobayashi, 2000; Ray y Rapple, 2018 y Sánchez, 2009).

3-ECOLOGÍA

Histoplasma capsulatum es un hongo geofílico que en su fase saprofítica tiene su hábitat en el suelo o sustratos con alto contenido de nitrógeno y fosfato, alta humedad y pH ácido, en los detritus vegetales y en el guano de aves domésticas como gallinas, pavos y gansos, además de aves migratorias y otras aves como palomas, estorninos, mirlos, gaviotas, cuervos, pavos, gansos y zanates, y en murciélagos (Chang y Rodas, 2012; Diaz, 2018; Sánchez, 2009; Sánchez et al, 2010 y Teixeira et al, 2016).

Se cree que *Histoplasma capsulatum* tiene la habilidad de coevolucionar con el huésped más frecuente que son los murciélagos, ya que la fisiología mitocondrial del murciélago ha evolucionado para tolerar la alta carga de estrés oxidativo lo que le permite ser más tolerante al parasitismo intracelular en comparación con otros mamíferos (Teixeira et al, 2016).

Histoplasma capsulatum crece en sitios con temperaturas entre los 18 °C a 28 °C, siendo la temperatura óptima entre 20 °C a 30 °C, humedad constante mayor a 60 % (óptima de 70-90 %) y baja luminosidad (Chang y Rodas, 2012 y Teixeira et al, 2016), pero se desarrolla mejor en suelos calcáreos con temperaturas entre 22 °C a 29 °C con una precipitación anual de 1000 mm a 1200 mm y una humedad relativa de 67-87 %, condiciones que se encuentran principalmente en zonas templadas y tropicales, siendo en verano cuando estas condiciones están más presentes (Chang y Rodas, 2012 ; Gómez, 2011 y Sánchez et al, 2010).

Para autores como Ray y Rappleye (2018), el ciclo de vida del hongo no necesita necesariamente la infección de un mamífero para completarse, por lo que se piensa que el ser humano es un huésped accidental el cual presenta una micosis debido al dimorfismo del hongo y su capacidad de sobrevivencia intracelular (Ray y Rappleye, 2018).

Las aves y murciélagos pueden infectarse esporádicamente con este hongo por lo que pueden constituir un medio de dispersión ya que muchos de estos reservorios son especies migratorias, principalmente en países endémicos, además el hongo también se ha detectado en otros animales como por ejemplo babuinos, tejones,

nutrias marinas, mapaches y animales domésticos como equinos, felinos y caninos, por lo que autores como Teixeira et al (2016) sugieren que los mamíferos también podrían estar involucrados en los complejos mecanismos de especiación y dispersión de este hongo (Teixeira et al, 2016).

Además, el hecho de que los murciélagos puedan habitar múltiples sitios como cuevas, edificios ocupados o abandonados, corona de plantas, corteza y rocas en asociación con humedad y microentornos enriquecidos con guano, permite el desarrollo del hongo en varios sitios. Adicionalmente, el hongo al ser capaz de crecer en sustratos con alto contenido de nitrógeno y fósforo como el guano de aves y murciélagos le da una ventaja selectiva sobre otros microorganismos que podrían estar presentes en el medio, ya que el alto contenido de nitrógeno no es necesario para la sobrevivencia del hongo pero si se ha visto que acelera el proceso de esporulación y crecimiento (Ortiz et al, 2015 y Teixeira et al, 2016).

Autores como Arenas (2015), describen que en el nicho ecológico de *Histoplasma capsulatum*, también se ha aislado otros hongos filamentosos como por ejemplo *Acremonium* sp., *Aspergillus terreus*, *Gymnascella cintrina*, *Gymnoascus dankaliensis*, *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Aphanoascus fulvescens*, y levaduras como *Candida catenulata* y *Rhodotorula* sp., así como ácaros micófagos que se alimentan de estos hongos que cohabitan el guano, por lo que se cree que cumplen una función de dispersión de *Histoplasma capsulatum* mediante mecanismos foréticos (Arenas, 2015).

4-ASPECTOS VETERINARIOS

Histoplasma capsulatum infecta murciélagos causándoles una infección diseminada, pero hay especies de murciélagos cavernícolas como por ejemplo *Leptonycteris curasoae*, *Desmodus rotundus* y *Tadarida brasiliensis*, que pueden infectarse sin padecer la enfermedad. En el caso de las aves, estas son inmunes a la infección posiblemente por su alta temperatura corporal (Arenas, 2015; Diaz, 2018 y Teixeira et al, 2016).

Infección por *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*

La forma de transmisión principal en animales para adquirir a *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* es por inhalación de los propágulos, en donde afecta principalmente al animal inmunosupreso o al inmunocompetente que estuvo expuesto a una dosis grande de elementos fúngicos. En animales como los perros y los gatos, también se ha sugerido como medio de transmisión la ingesta de material infectado en donde se explicaría la enfermedad primaria gastrointestinal en estos animales domésticos (Guillot et al, 2018). Además, se cree que otra forma de transmisión en gatos podría ser la vía transcutánea (Larsuprom et al, 2017).

La histoplasmosis es la segunda micosis sistémica más común en gatos en Estados Unidos (Teixeira et al, 2016) y en general es la segunda más reportada después de la criptococosis en estos animales, además, en los animales de compañía la infección por *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* es frecuente observarla en regiones enzoóticas o endémicas de los valles de la Rivera del Mississippi y Ohio en Norteamérica, pero se han reportado casos en perros y gatos en Suramérica, Italia, Grecia, Japón, Australia, Colorado, California, Nuevo México y Texas, curiosamente estas últimas tres localizaciones de Estados Unidos son consideradas no enzoóticas (Guillot et al, 2018 y Larsuprom et al, 2017).

En Europa, la histoplasmosis se ha reportado también tanto en animales domésticos como animales salvajes, como, por ejemplo, numerosas investigaciones sugieren que *Histoplasma capsulatum* es el responsable de las lesiones cutáneas limitadas a piel y nódulos linfáticos subcutáneos, en los tejones eurasiáticos (*Meles meles*) en Suiza, Dinamarca, Alemania y Austria, que por su estilo de vida omnívoro, su

hábitat y su costumbre de hurgar, los predispone potencialmente a la histoplasmosis y la tuberculosis (Guillot et al, 2018).

En animales, la enfermedad puede ir desde una infección respiratoria leve o aguda hasta una infección diseminada, que varía debido al tamaño del inóculo y la virulencia de la cepa. En algunos animales, la enfermedad puede mantenerse latente con poca cantidad de levaduras infectantes, y ante una inmunosupresión futura puede desencadenar la infección, por lo que el período de incubación puede ir desde las 2-3 semanas hasta muchos años (Guillot et al, 2018).

El hongo se encuentra en nódulos linfáticos pulmonares y órganos del sistema reticuloendotelial como el hígado, bazo y médula ósea, también en piel, sistema nervioso central y tracto gastrointestinal (Guillot et al, 2018).

Los signos clínicos en perros y gatos no son específicos, puede ser pérdida de peso, inapetencia, debilidad, deshidratación y fiebre. Puede haber signos respiratorios o pueden estar ausentes en el caso de que haya diseminación a otros órganos que no involucren el sistema respiratorio. La radiografía torácica generalmente revela patrones intersticiales lineares, difusos, nodulares o miliares, y se ha reportado la combinación de patrones intersticiales, bronquiales y alveolares, o la ausencia completa de hallazgos anormales (Guillot et al, 2018).

Se cree que las lesiones en pulmón en gatos no son detectables debido al pequeño tamaño de estas (generalmente detectadas *post mórtem*) ya que el agente etiológico rápidamente disemina a otros órganos una vez inhalado a diferencia del ser humano, por lo que se reporta que, en Europa, generalmente los hallazgos clínicos son cutáneos, pero se podría presentar anemia, pérdida de peso, letargia, fiebre, anorexia y enfermedad del intersticio pulmonar y otros órganos afectados (Larsuprom et al, 2017).

Los signos oculares son más o menos frecuentes en gatos (visto en un cuarto de casos) e incluyen coriorretinitis, desprendimiento de la retina, neuritis óptica y uveítis anterior o panofalmitis. En perros la diarrea debilitante que a veces presenta melena, se evidencia como mucosas pálidas, pérdida de peso y debilidad, es

frecuente. Otros signos clínicos reportados en la literatura incluyen nódulos cutáneos, dolor articular, lesiones en lengua, miosis y esplenomegalia (Guillot et al, 2018).

La histoplasmosis sistémica en estos animales cursa con tos intermitente, disnea, linfadenopatía, hipertermia, anorexia, pérdida de peso y diarrea, descrito en caballos, ganado y dromedarios. En algunos casos *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* es el responsable de abortos en yeguas debido a lesiones en la placenta (placentitis) con posterior invasión del feto, o también si no hay aborto, la transmisión vertical puede causar la muerte perinatal de potros debido a la severa neumonía granulomatosa y queratitis en caballos (Guillot et al, 2018).

Larsuprom et al (2017) reportaron el primer caso de histoplasmosis en gatos en Tailandia, en una gata doméstica de dos años que tenía acceso a áreas exteriores contaminadas con heces de palomas. Presentaba pápulas en las orejas y nódulos en la nariz durante cuatro meses y también heridas crónicas laterales sin signos de infección sistémica (ver Figura 3). Se tomaron hisopados nasales y de las heridas crónicas donde se observó levaduras intracelulares al estudio citológico al igual que al teñir con tinción de Ácido Peryódico de Schiff o PAS (por sus siglas en inglés de Periodic Acid Schiff) las biopsias para el estudio histopatológico (ver Figura 4), lo que se confirmó mediante PCR de tejidos incrustados en parafina donde se amplificó el ADN genómico de la región de ITS utilizando como primers los ITS1 e ITS4 que al comparar con el GenBank BLAST se evidenció 99% de homología con *Histoplasma capsulatum* (Larsuprom et al, 2017).

El tratamiento con Itraconazol (10 mg/kg dos veces por día vía oral) resolvió las lesiones, pero se presentó recurrencia del cuadro por lo que se tuvo que administrar Anfotericina B Desoxicolato (0.5 mg/kg dos veces a la semana) más itraconazol (5 mg/kg vía oral cada 12 horas) lo que disminuyó el número de nódulos pero sin resolución del cuadro, entonces se administró Fluconazol (50 mg vía oral por día) al día 84 sin mejora de los nódulos o pápulas pero sin aparición de nuevas lesiones, pero manteniéndose una condición estable del animal (Larsuprom et al, 2017).



Figura 3. A-B) Nódulos en puente nasal, C) pápulas en el pabellón de la oreja y D) lesión crónica en la zona radial de la pata izquierda (imagen inferior derecha) de una gata con histoplasmosis (imagen tomada de Larsuprom et al, 2017).

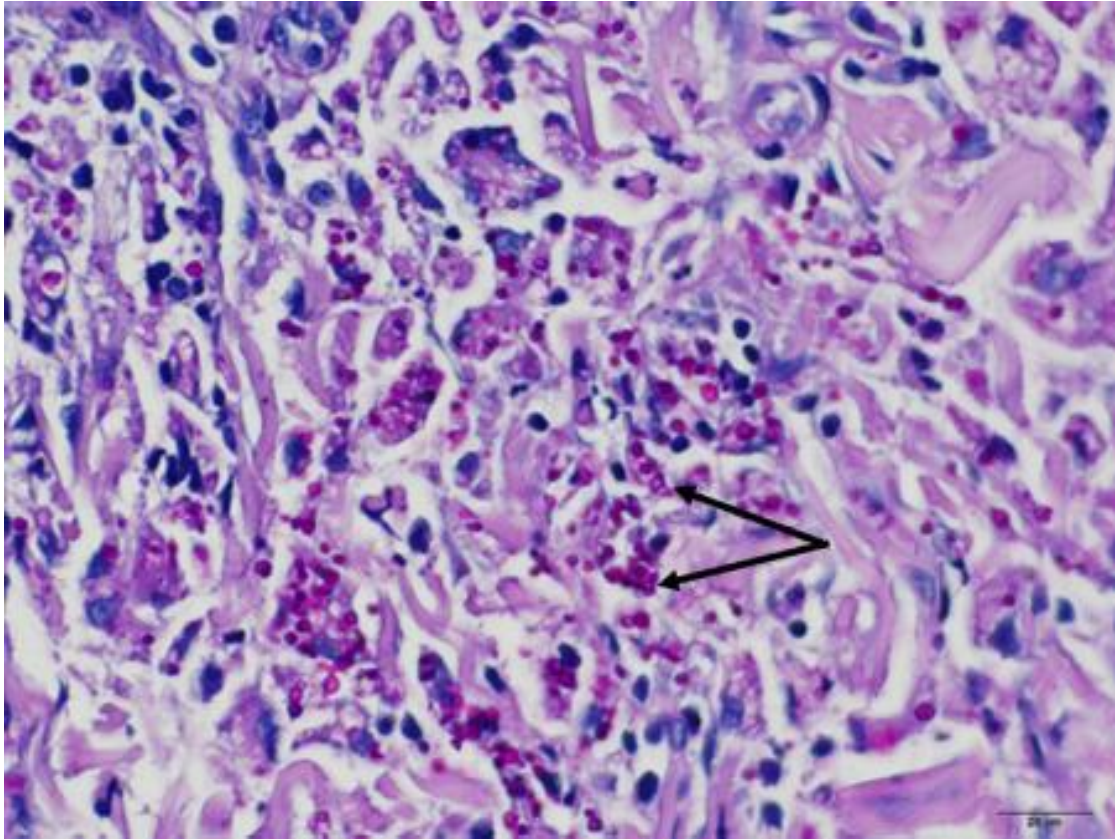


Figura 4. Levaduras intracelulares en macrófagos vistas en biopsias al teñir preparaciones en PAS, 100X (imagen tomada de Larsuprom et al, 2017).

En América Latina, es común la infección en animales domésticos que viven en patios o corrales en zonas con clima cálido y húmedo, donde el potencial de riesgo de adquirir la infección es mucho mayor, además es común encontrar hallazgos clínicos como trombocitopenia y lesiones cutáneas sugerentes de diseminación en perros infectados, (Ortiz et al, 2015).

Ortiz et al (2015) reportaron un caso en Ecuador de histoplasmosis con linfadenopatía multifocal, lesiones cutáneas y lesiones gingivales en un perro Schnauzer hembra de 4 años que habitaba una zona donde se utilizaba como fertilizante para cultivo el guano de aves, que inició como una diarrea mucosa y sintomatología respiratoria no sugerente de histoplasmosis tratado con hidratación, donde después del día 20, se presentaron pápulas con costras en labios, atrás de la cabeza, nuca, tórax y región lumbar, con presencia de hinchazón de nódulos

linfáticos en la zona submandibular, poplítea y la encía maxilar izquierda (ver Figura 5) (Ortiz et al, 2015).

Al hemograma se observó trombocitopenia marcada sin anormalidades imagenológicas. La biopsia de las lesiones reveló presencia de granuloma y una celularidad con fondo inflamatorio dada por la presencia de linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos e histiocitos, donde se observaron en los macrófagos epitelioides, numerosas levaduras intracelulares redondas u ovals de 2-4 μm de diámetro rodeadas de un halo claro con un centro púrpura en forma de media luna sugerente de *Histoplasma capsulatum* (ver Figura 6) (Ortiz et al, 2015).

El cultivo en Agar Papa Dextrosa incubado a 25 °C y el Agar Infusión Cerebro Corazón más 5 % de sangre humana incubado a 35 °C (ambos medios con agentes antibacterianos) después 28 días, presentaron colonias filamentosas y levaduriformes, respectivamente, evidenciando el dimorfismo. Al examen microscópico de la colonia filamentosa se observaron macroconidias tuberculadas y microconidias. Mediante PCR de los ITS1 e ITS4 se confirmó la identificación (Ortiz et al, 2015).

Como tratamiento, se le administró al perro Cefalexina oral (25 mg/kg cada 12 horas por 21 días) y Ketoconazol (10 mg/kg cada 12 horas por 60 días) presentando recuperación de las lesiones cutáneas y reducción del tamaño de los nódulos linfáticos, recordando que el antifúngico recomendado es el Itraconazol (Ortiz et al, 2015). En Japón, estudios efectuados actualmente en estos animales sugieren que la enfermedad en perros podría tener un origen cutáneo como por ejemplo por heridas quirúrgicas que son contaminadas con el agente etiológico (Larsuprom et al, 2017).

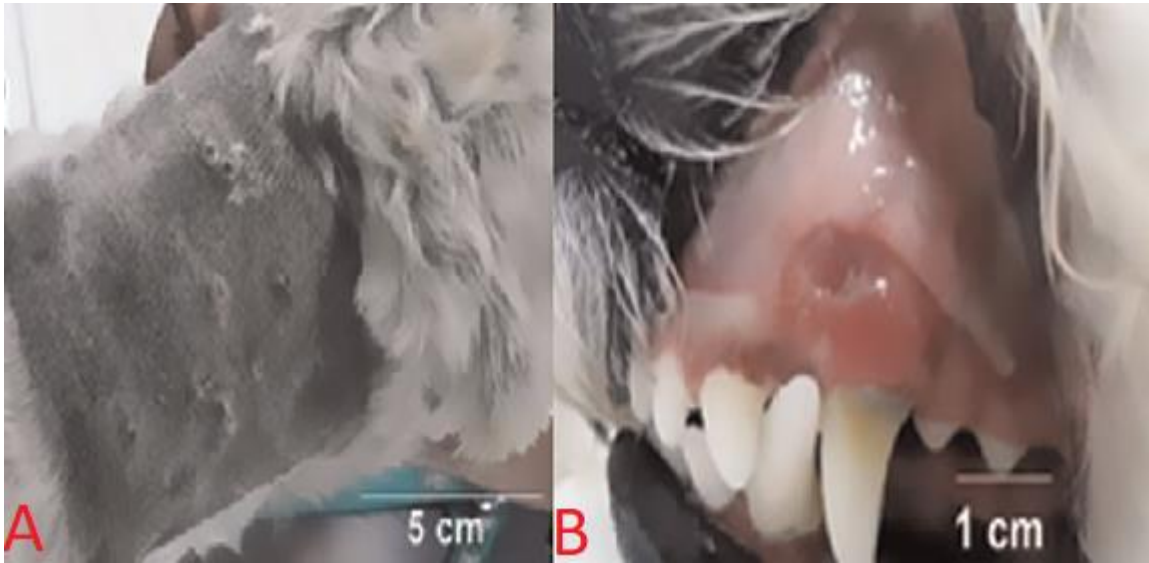


Figura 5. A) Pápulas en el área dorsal del cuello y B) encía eritematosa e hinchada al día 20 de la infección (imagen tomada de Ortiz et al, 2015).

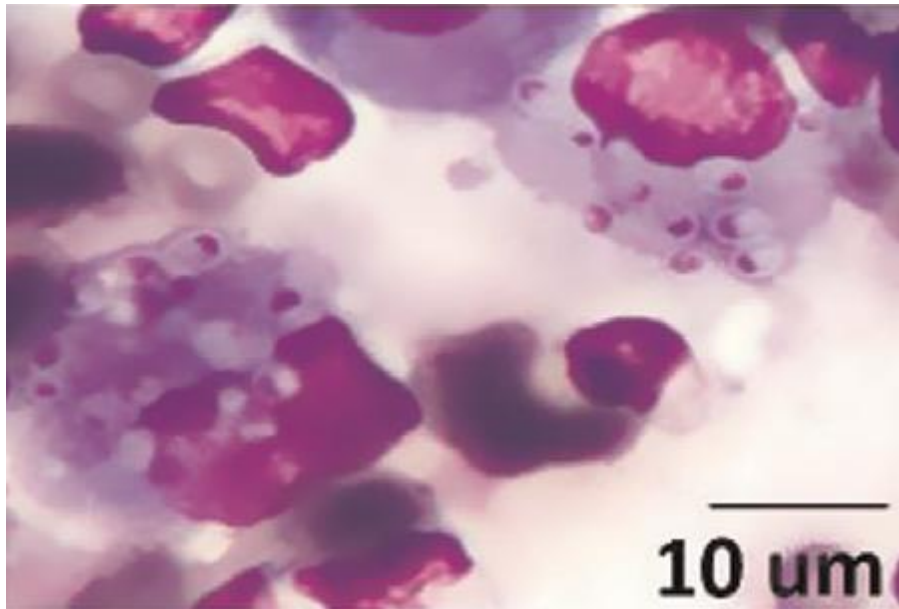


Figura 6. Levaduras intracelulares en macrófagos epitelioides vistas en aspirado submandibular tomado con agua fina y teñido con tinción Diff-Quick®, 1000X (imagen tomada de Ortiz et al, 2015).

En Costa Rica, el Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, reportó en el 2019, un caso de histoplasmosis diseminada en un gato doméstico macho castrado de 3 años de edad. Este presentaba libre acceso a áreas verdes de Cañas, Guanacaste al noroeste del país. El animal cursaba con rinitis supurativa, anorexia y pérdida de peso progresiva de 4 semanas, con antecedentes de descarga purulenta bilateral que resolvió con antibióticos 5 meses atrás. La serología por el Virus de la Leucemia Felina y el Virus de la Inmunodeficiencia Felina, resultó negativa. Al examen físico reveló hipotermia (36.6 °C), ritmo cardíaco de 200 latidos por minuto, ictericia, estridor pulmonar y taquipnea. El animal falleció, por lo que el diagnóstico se hizo *post mórtem*, lo que reveló la presencia de nódulos de inflamación granulomatosa en pulmones correspondiente a neumonía granulomatosa bronquio intersticial (ver Figura 7A), además de linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia (Alfaro et al, 2019).

Se realizaron montajes de tejido pulmonar en Hematoxilina Eosina, Grocott y PAS, observándose macrófagos con levaduras intracelulares de 2x3 µm de diámetro (ver Figura 7B), además, al cultivar el tejido en Agar Sabouraud Dextrosa (Oxoid®, Thermo Fisher Scientific Inc, UK) a 28 °C durante 22 días, se obtuvieron colonias blanquecinas filamentosas, que al realizar el examen microscópico en lactofenol azul reveló la presencia de hifas hialinas septadas, microconidias esféricas y macroconidias tuberculadas o equinuladas identificándose como la fase saprofitica de *Histoplasma capsulatum* (ver Figura 7C). Se cultivó en Agar Infusión Cerebro Corazón a 37 °C, pero no se logró demostrar el dimorfismo (Alfaro et al, 2019).

Cabe destacar que tanto el Laboratorio de Patología como el Laboratorio de Micología de la Escuela Veterinaria de la Universidad Nacional ya han reportado otros casos en gatos y perros, por lo que muy probablemente exista una prevalencia más alta de histoplasmosis en estos animales domésticos en el país que no se está publicando debido al subregistro de casos. Es importante resaltar que el registro de casos en estos animales cobra importancia por el hecho de que constituyen un

indicador indirecto del riesgo que corre el ser humano para adquirir la infección debido a la exposición a la fuente de contaminación en común (Alfaro et al, 2019).

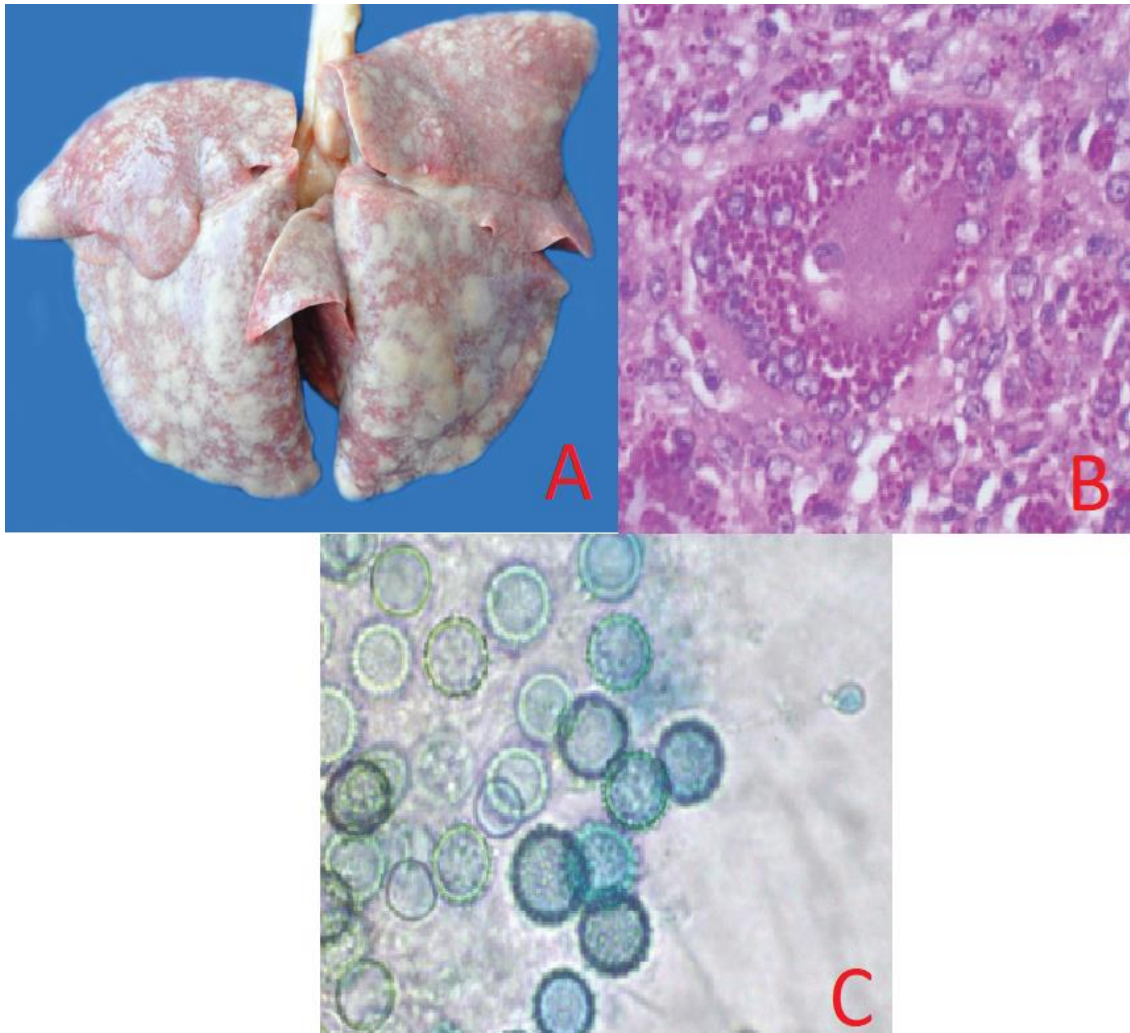


Figura 7. A) Múltiples lesiones correspondientes a nódulos de inflamación granulomatosa en pulmones de un gato doméstico con histoplasmosis diseminada. B) Levaduras intracelulares en una célula gigante multinucleada en muestra de bazo teñida en hematoxilina eosina (600X). C) Micelio hialino septado y macroconidias tuberculadas de *Histoplasma capsulatum* visto en lactofenol azul (100X) (imagen tomada de Alfaro et al, 2019).

Otros animales que son susceptibles a la infección tanto de la forma levaduriforme como micelial son los cerdos de guinea, roedores (*Mus musculus*, ratones de pata blanca o *Peromyscus leucopus*, rata negra o *Rattus rattus*, rata gris o *Rattus norvegicus* y ratas espinosas o *Proechimys semispinosus*), hamsters, didélfidos del

género *Didelphis* sp. o *Philander* sp., y conejos, por lo que han sido utilizados como modelos de histoplasmosis en estudios *in vitro*, además para aislar al hongo a partir del suelo, aire y guano de murciélagos y aves. También se pueden infectar vacas, dromedarios, caballos, burros, mulas, primates, erizos, zorros rojos (*Vulpes vulpes*), osos cafés (*Ursus arctos*), mofetas rayadas (*Mephitis mephitis*), zorrillo manchado (*Spilogale putorius*), tejones (*Meles meles*) y nutrias marinas (*Enhydra lutris*) (Chander, 2018 y Guillot et al, 2018).

Infección por *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*

La infección por *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* se ha reportado en babuinos (*Papio cynocephalus*) del oeste de África. Produce infección secundaria en piel, tejido subcutáneo y nódulos linfáticos en forma de pequeñas pápulas y granulomas supurativos, con ausencia de afectación en pulmón y vísceras, debido a que se considera menos virulento que *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Guillot et al, 2018).

Esta subespecie no se ha encontrado afectando ganado, pero sí en seres humanos y otros mamíferos como murciélagos (*Nycteris hispida* y *Tadarida pumila*) y osos hormigueros (*Orycteropus afer*) (Guillot et al, 2018).

Infección por *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*

La histoplasmosis causada por esta variedad es una enfermedad debilitante que se conoce como la histoplasmosis farciminosi o linfangitis epizoótica, en la cual el agente etiológico se considera hospedero específico en caballos, mulas, burros y perros, pero se ha recuperado también de gatos y tejones, y se cree que el ser humano podría llegar a ser afectado eventualmente. La clínica se puede manifestar en cuatro presentaciones: asintomático, ocular, cutáneo y respiratorio, de las cuales puede haber presentaciones mixtas (Chander, 2018 y Guillot et al, 2018).

En el continente africano se reporta frecuentemente la histoplasmosis en caballos asociado a *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*, pero se cree que los cuadros en caballos podrían ser causados también por otras variedades del hongo. En los caballos, la enfermedad se distribuye en el medio este del continente

africano, así como en Argelia, Angola, Chad, Cameroon, Egipto, Etiopía, Ghana, Marruecos, Nigeria, Togo, Tunisia, Senegal y Sudán, también en Japón, Filipinas, China, India, Indonesia, Iraq, Israel, Pakistán y Siria, y se considera erradicada de Europa. En Centroamérica y Suramérica también se ha informado de casos esporádicos, probablemente importados, pero casi no hay información de su reporte en la literatura (Chander, 2018, Guillot et al, 2018 y Teixeira et al, 2016).

La enfermedad es tan severa en los caballos de países como Etiopía que se le ha llamado “el SIDA de los caballos” debido a que genera un impacto económico importante en esta industria de caballos de tiro ya que se ha estimado que produce la pérdida del 50 % de las ganancias diarias (Guillot et al, 2018).

Curiosamente, la infección causada por *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*, ya se ha reportado en gatos residentes de Suiza y del este de Francia, en el 2013 y 2014, respectivamente, donde se evidenció que la infección se limitaba a lesiones cutáneas, y el diagnóstico se realizó por histopatología, así como por biología molecular (PCR y MLST) (Guillot et al, 2018).

La principal forma de transmisión de *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum* en caballos y muy posiblemente en otros animales, es la inoculación, principalmente por la contaminación de heridas de estos animales, pero también puede ser por inhalación o por vía conjuntival. Se ha obtenido resultados inconsistentes al experimentar con el medio de transmisión percutánea al inocular de forma subcutánea o intradérmica pus que contiene levaduras de esta variedad del hongo en caballos. Además, también se ha sospechado de la transmisión directa entre el animal infectado y el sano al contacto durante el apareamiento (Guillot et al, 2018).

En África, se cree que las moscas del género *Musca* sp. y *Stomoxys* sp. transmiten mecánicamente el agente etiológico entre los animales, esto debido a que se ha aislado la subespecie *farciminosum* en el tracto digestivo de moscas hematófagas, además se hipotetiza que las pulgas podrían estar también involucradas en esta transmisión,. Las lesiones cutáneas en caballos tienden a atraer más moscas lo que empeora la severidad de la enfermedad (Chander, 2018 y Guillot et al, 2018).

Los cambios estacionales podrían tener un efecto importante en la eficacia de la transmisión directa de esta variedad en estos animales, debido a que, en época lluviosa, el lodo en las heridas retrasa su proceso de curación por lo que incrementa el riesgo en los caballos. Además, la contaminación telúrica, es decir la debida a causas naturales y no por el ser humano, como por ejemplo por el curso del agua, podría explicar porque las zonas más afectadas en la infección primaria son zonas expuestas como extremidades, fosas nasales y ojos (Guillot et al, 2018).

El cuadro cutáneo está dado por nódulos subcutáneos multifocales piogranulomatosos de 0.5 cm a 3 cm de diámetro, duros e indoloros, aislados o en cadena, además las lesiones pueden progresar a través de las extremidades produciendo cojera debido a que las levaduras y leucocitos infectados con estas pueden diseminar por vasos linfáticos al tejido adyacente (ver Figura 8 y Figura 9). El período de incubación de las lesiones cutáneas es de 1-7 meses (Chander, 2018 y Guillot et al, 2018).

En piel, el hongo induce una respuesta inflamatoria caracterizada por granulocitos, macrófagos y células gigantes multinucleadas, además de una reacción fibrosa y edematosa alrededor de los nódulos. Esta tumoración va de 5 cm a 30 cm de diámetro y puede evolucionar a fístulas. Se forman también abscesos que descargan un pus amarillento que contiene las levaduras, así como macrófagos y granulocitos. Cuando el tejido de granulación aparece, se forma las úlceras que son de bordes invertidos con borde activo amarillento con pus que generalmente se presentan en extremidades, tórax, pecho, cuello y cabeza, que pueden ser sobreinfectadas por bacterias (Guillot et al, 2018).

Puede haber afectación de órganos genitales y hueso, y no es frecuente que las lesiones en piel se ubiquen también en mucosas (oral, conjuntiva, nasal y epitelio respiratorio) (Guillot et al, 2018).

El cuadro respiratorio se caracteriza por la presencia de lesiones piogranulomatosas dentro de la mucosa nasal y el parénquima pulmonar que podrían llegar a desencadenar una infección multisistémica. El periodo de incubación del cuadro respiratorio va de semanas hasta 2 meses (Chander, 2018).

Al examen directo se observan levaduras en tejido que son similares a las levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, que al cultivar por ejemplo en Agar Sabouraud Glucosado + 2.5 % glicerol, crece una colonia húmeda, glabra, granular, arrugada, color gris a blanca que tiende a hacerse café, que se desarrolla muy lentamente en alrededor de 3 meses a 25 °C, tendiendo a tener menos micelio aéreo en comparación con las otras variedades, donde se ha observado que en Agar Sabouraud Dextrosa produce micelio aéreo corto, irregular, curvo y ramificado, con cuerpos redondos a ovals rudimentarias, por lo que es necesario inducir la esporulación en Agar Extracto Suelo (Chander, 2018).

Como tratamiento se administra Itraconazol en dosis de 200-600 mg por día, y si la infección es diseminada se administra Anfotericina B con remoción quirúrgica de las lesiones cutáneas. Se reportan relapsos aún después de administrado el tratamiento (Chander, 2018).

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE por sus siglas de su antiguo nombre de Oficina Internacional de Epizootias, actualmente en inglés World Organisation for Animal Health) establece que el antifúngico de elección para el tratamiento de la linfangitis epizoótica es la Anfotericina B (Guillot et al. 2018).

Otro tipo de tratamiento aplicados en caballos es el uso de yoduro, mercurio, arsénico e Imidazoles, que se consideraron eficientes, pero duran más en surtir efecto, son relativamente caros y tóxicos, y en combinación con la remoción quirúrgica de la lesión y su cauterización, la recuperación se puede alcanzar en 4 a 6 semanas (Guillot et al, 2018).

Como prevención se cree que sacrificar a los caballos infectados y la práctica de normas higiénicas estrictas puede prevenir la diseminación de la enfermedad en estos animales, el problema radica en que no siempre es posible sacrificar los caballos en sitios endémicos donde representan el sustento de muchas familias ya sea para el transporte u otras actividades (Guillot et al, 2018).

A raíz de esta situación, recientemente se ha desarrollado una vacuna viva atenuada contra la linfangitis epizoótica, desarrollada y probada en China, que

informa de la protección de 75.5 % de los caballos vacunados con una inmunidad generada que persiste por más de 2 años, pero dicha vacuna aún no se encuentra disponible comercialmente ya que aún se encuentra en investigación ciertas reacciones adversas que se han presentado (Guillot et al, 2018).



Figura 8. A) Lesiones nodulares y ulcerosas de un caballo con linfangitis epizoótica en Etiopía. B) Nódulos con un patrón en cadena en rostro (imagen tomada de Guillot et al, 2018).



Figura 9. A) Lesiones cutáneas en extremidad anterior y B) cabeza en un burro, C) donde se observa levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*, en el examen directo del exudado purulento de las lesiones al teñir en Gram (imagen tomada de Powell et al, 2015).

5-EPIDEMIOLOGÍA

5.1-Distribución Geográfica

La histoplasmosis es una micosis cosmopolita, tanto urbana como rural, reportada en todos los continentes a excepción de la Antártida (Gómez, 2011 y Sánchez et al, 2010). Además, es una enfermedad pulmonar endémica (Díaz, 2018), por lo que se considera de baja endemicidad a Europa y Oceanía, de endemicidad moderada a África y el sur de Asia y de endemicidad elevada a América (ver Figura 10 y Cuadro III), (Teixeira *et al*, 2016).

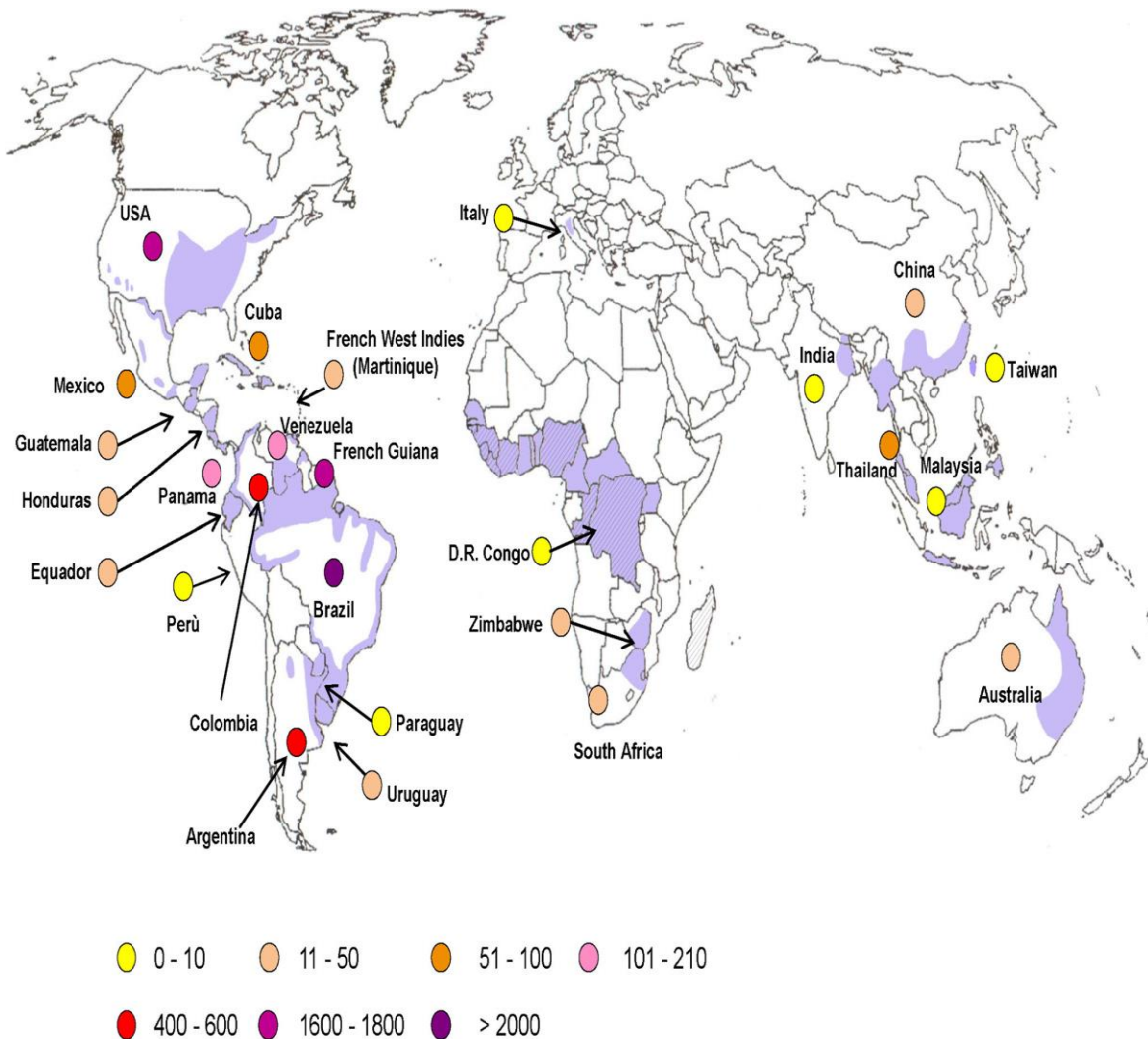


Figura 10. Distribución geográfica de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (áreas moradas) e *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* (áreas sombreadas) alrededor del mundo. Los círculos indican los casos reportados de histoplasmosis en pacientes HIV positivos en fase SIDA autóctonos de cada país (imagen tomada de Bahr et al, 2015).

Cuadro III. Países endémicos de histoplasmosis por región y otros lugares con menor reporte de casos (información tomada de Ashraf et al, 2020, Diaz, 2018; Gómez, 2011; Sánchez et al, 2010 y Teixeira et al, 2016).

Región	Países
Norteamérica	Estados Unidos (Valles de Missouri, San Lorenzo y Ohio) y sur de Canadá (Quebec y Ontario, a lo largo de las vías marítimas de San Lorenzo y la cuenca de drenaje de los Grandes Lagos)
América Latina	México, Honduras, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Puerto Rico, Belice, Jamaica, Cuba, Martinica, Surinam, Guyana Francesa, Colombia, Venezuela, Brasil, Perú, Ecuador y Argentina
África	Sur de África (Suráfrica, Tanzania y Zimbabwe), África Subsahariana y África occidental y central
Asia	Sur de Asia (China, India y Tailandia) pero con menor cantidad de casos en Malasia, Indonesia, Myanmar y Filipinas
Otros (menor reporte de casos)	Oceanía (Australia) y Europa

Es interesante mencionar que, en países como Estados Unidos, si bien los Valles de Missouri, San Lorenzo y Ohio, son considerados las zonas endémicas, en los últimos años, se han observado microfocos de contaminación de *Histoplasma capsulatum* evidenciado con casos nuevos en los estados costeros del Atlántico medio del país, California, Arizona, Idaho, Montana, Florida, áreas rurales de Nueva York y el norte de las zonas clásicas endémicas como Minnesota, Wisconsin y Michigan, lo que sugiere que hay cambios en el uso que el ser humano le da a la tierra y también cambios climáticos, que han permitido la expansión geográfica de las áreas donde este hongo puede sobrevivir (Ashraf et al, 2020 y Linder y Kauffman, 2019).

Países como Brasil, Argentina, India y Suráfrica se consideran de alta prevalencia de casos causados por *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Bahr et al, 2015)

y actualmente, son regiones de alto riesgo Costa Rica, Cuba, Trinidad y Puerto Rico, debido a la visita de cuevas por exposición a murciélagos y el guano (Díaz, 2018).

En Perú se ha reportado en la zona del Alto de Huallaga que es una zona de atracción turística compuesta por cuevas donde la mayor cantidad de casos se reporta en el distrito de Rupa Rupa (Tingo María) debido a que se ubica la cueva de las lechuzas que representa un importante atractivo turístico del país además de contar con la presencia de murciélagos de la especie *Steatornis caripensis* donde también se ha aislado *Histoplasma capsulatum* del suelo de la cueva (Sánchez et al, 2010).

Generalmente, los casos de histoplasmosis reportados en Europa son debidos a casos importados, pero ya se han informado de casos autóctonos en Italia (Linder y Kauffman, 2019). En el 2008 se reportó el primer caso autóctono de histoplasmosis en el este de Europa en Turquía y en el 2018 el primer caso de histoplasmosis en Israel en el Medio este, en Asia, donde en este último caso se presentó en una mujer de 53 años previamente sana que vivía cerca de las cuevas de Galilee donde se ha aislado *Histoplasma* sp., la mujer presentó linfopenia con pérdida de peso crónico, ronquera y una masa en la mucosa laríngea que contenía múltiples levaduras intracelulares en histiocitos observados en la biopsia (Díaz, 2018).

En países asiáticos como China la distribución de la histoplasmosis se traslapa con la distribución de talaromicosis en muchas áreas del país, al igual que en Tailandia, por lo que el diagnóstico diferencial es muy importante, de hecho, en Tailandia la histoplasmosis compite con la talaromicosis como una micosis oportunista diseminada en pacientes HIV positivos (Bahr et al, 2015 y Linder y Kauffman, 2019).

El centro de África Subsahariana y oeste de África se considera una zona coendémica de la histoplasmosis africana causada por *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* junto con *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Díaz, 2018).

La histoplasmosis africana se restringe a África Subsahariana involucrando a los países del oeste de África principalmente pero también del centro de África,

alrededor del ecuador y las islas de Madagascar. La mayoría de casos provienen de Nigeria pero también se ha reportado la enfermedad en otros países africanos como por ejemplo Niger, Senegal, Congo, Tanzania, Zaire, Kenya, Gabon y Uganda (Ashraf et al, 2020 y Chander, 2018). También se han reportado casos esporádicos causados por *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* en Centro y Sur América, Oceanía, en el norte de África Subsahariana y en Europa, pero estos casos son importados (Bahr et al, 2015 y Guillot et al, 2018).

En el 2015, se reportó el primer caso de histoplasmosis africana en Kerala, al sur de la India, en un paciente que nunca viajó al extranjero (Chander, 2018).

5.2-Frecuencia

Frecuencia en México, Centroamérica y el Caribe

Históricamente los pacientes HIV positivos han sido el grupo que se ha visto más afectado por las micosis endémicas como lo es la histoplasmosis, pero a partir de 1990, la prevalencia de la histoplasmosis diseminada ha disminuido por la mejora al acceso de la terapia HAART, aunque la enfermedad se mantiene actualmente debido a que todavía hay personas que no tienen acceso a la terapia o que presentan fallo de esta, principalmente en la población de los países más pobres de Latinoamérica (Colombo et al, 2011).

Según la OMS cada año se registran 15 600 nuevos casos de histoplasmosis por año en la Región de las Américas que provoca 4500 muertes de personas HIV positivas (OMS, 2020). Ante esta situación, se considera que Centroamérica junto a Suramérica contribuyen a aportar la mayoría de los casos de histoplasmosis alrededor del mundo (Teixeira et al, 2016).

Además, la falta de programas de vigilancia y de capacidad diagnóstica de muchos centros de salud generan un subregistro de casos en los países latinoamericanos como por ejemplo México, donde de por sí la enfermedad está presente en un número importante de personas por año (Ashraf et al, 2020).

En México, se estima una incidencia de la histoplasmosis de 0.1-0.29 casos por 100 000 habitantes, siendo la histoplasmosis pulmonar primaria la presentación clínica

de la enfermedad más relevante. En el período entre año 1953 a 1997, se registraron 102 brotes de histoplasmosis correspondientes a 1444 casos (Gómez, 2011). Además, hay 112-325 casos de histoplasmosis pulmonar aguda o diseminada por año en el país, principalmente en el centro y sur de los estados de Veracruz, Oaxaca, Campeche, Tabasco y Chiapas (Ashraf et al, 2020).

En Centroamérica, debido a que la histoplasmosis no es una enfermedad de reporte obligatorio, no se cuenta con datos actualizados de su frecuencia, aunque se sabe de la endemidad de la enfermedad en estos países. En Guatemala, se estimaba que cerca del 1 % de la población estaba infectada para el 2007, a pesar de la epidemia de HIV/SIDA, por lo que se esperaba que el número de casos hayan aumentado con los años. En un estudio se informó de 48 pacientes con histoplasmosis pulmonar diseminada que presentaban un conteo de células CD4+ de (1 a 193) células/ μ L, donde el 40 % murió, sugiriendo que la histoplasmosis es una micosis oportunista importante a tomar en cuenta en esta población de pacientes del país (Gómez, 2011).

En Panamá, mediante estudios efectuados en el Hospital Arnulfo Arias Madrid en la Ciudad de Panamá entre el año 1997 al 2003, se encontró 104 pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis, y solo 13.5 % recibieron terapia antirretroviral al comienzo de los síntomas de la histoplasmosis lo que demuestra la importancia del diagnóstico de la histoplasmosis y el tratamiento temprano en esta población (Gómez, 2011).

También hay casos de histoplasmosis pulmonar aguda reportados en la literatura para otros países centroamericanos como por ejemplo Nicaragua y Costa Rica, así como también casos de histoplasmosis diseminada provenientes de Costa Rica (Colombo et al, 2011).

La histoplasmosis también está presente en los países del Caribe, ya que hay casos y brotes reportados en República Dominicana y Cuba, e inclusive más recientemente se ha identificado a Jamaica como un país endémico de la enfermedad (Ashraf et al, 2020). Por ejemplo, en Cuba han ocurrido brotes en las provincias de La Habana, Matanzas, Pinar del Río, Ciego de Ávila y el municipio de

la Isla de Juventud, donde uno de estos brotes llegó a afectar hasta 300 personas. Cabe resaltar que la histoplasmosis sí es una enfermedad de reporte obligatorio en Cuba (Fernández et al, 2011).

Frecuencia en Costa Rica

El primer caso de histoplasmosis en Costa Rica reportado en la literatura data de 1958. El paciente era una niña de 4 años a quien se le diagnosticó la histoplasmosis mediante la observación del hongo en una muestra de ganglio cervical (Mohs y Jiménez, 1969).

Al igual que muchos países latinoamericanos, la histoplasmosis en Costa Rica no es una enfermedad de reporte obligatorio, por lo que el conocimiento que se tiene de esta micosis proviene de la experiencia profesional del microbiólogo encargado del área de micología médica de los diferentes centros de salud y hospitales del país, así como de los pocos casos reportados en la literatura (ver Cuadro IV) (Negroni, 2011).

Desde la década de los 80, se ha reportado otros casos de esta micosis en el país, por ejemplo, en el año 1982 se publicó un caso de histoplasmosis diseminada en una niña de seis meses de edad atendida en el Hospital Dr. Fernando Escalante Pradilla de San Isidro de El General. La paciente provenía de Buenos Aires de Puntarenas y presentaba gastroenteritis, hepatoesplenomegalia, bronconeumonía y deshidratación. Como antecedentes la paciente padecía de malnutrición y vivía en condiciones deplorables de higiene en su hogar. Al realizar exámenes de laboratorio se evidenció pancitopenia y levaduras intracelulares dentro de células reticulares al examen directo en médula ósea, por lo que se diagnosticó como histoplasmosis diseminada y se trató con Anfotericina B y Sulfas hasta que logró resolver completamente (Calderón et al, 1982).

Cuadro IV. Casos publicados de histoplasmosis en la población de Costa Rica (total de 186 casos).

Número de casos	Diagnóstico	Factor de Riesgo	Período de Tiempo (año)	Referencia
1	Histoplasmosis	Paciente de 4 años	1958	Mohs y Jiménez, 1969
12	Histoplasmosis	Pacientes con edades entre 5 meses a 10 años (algunos con desnutrición)	1967-1969	Mohs y Jiménez, 1969
1	Histoplasmosis Diseminada	Paciente pediátrico con malnutrición y condiciones de vivienda inadecuadas	1982	Calderón et al, 1982
40	Histoplasmosis Diseminada	Pacientes pediátricos (algunos con deficiencia de células T)	1983-1996	Odio et al, 1999
1	Histoplasmosis Diseminada	Paciente hemofílico HIV positivo en fase SIDA	1980-1986	Cordero et al, 1988
17	Histoplasmosis Pulmonar	Estudiantes universitarios que visitaron cueva donde habitaban murciélagos	1988	CDC, 1988
51	Histoplasmosis Pulmonar Aguda	Turistas niños y adultos que visitaron cueva donde habitaban murciélagos	1998-1999	Lyon et al, 2004
1	Úlcera Colónica debida a Histoplasmosis y Tuberculosis	Paciente adulto HIV positivo trabajador del sector de turismo	2001	Garzona y Solano, 2001
28	Histoplasmosis Diseminada	Pacientes adultos HIV positivos	2004-2007	Hernández et al, 2012
15	Histoplasmosis Aguda Progresiva	Pacientes adultos HIV positivos	2008-2012	Villalobos y Rodríguez, 2014
1	Histoplasmosis Diseminada	Paciente adulto con etilismo crónico y malnutrición	2010	Rojas y Zumbado, 2010
18	Histoplasmosis Diseminada	Pacientes pediátricos en contacto con gallinas o murciélagos	2010-2019	Batalla, 2020

Esa misma década, a raíz del brote de SIDA, se realizó un estudio retrospectivo de casos en pacientes hemofílicos en Costa Rica entre el año 1980 y 1986, que dejó en evidencia que uno de los pacientes hemofílicos HIV positivos en fase SIDA falleció por un cuadro de histoplasmosis diseminada de 18 meses de evolución. Por lo que para el año 1986 se reconoce a la histoplasmosis sistémica como una de las causas principales de muerte en este tipo de pacientes con SIDA en el país (Cordero et al, 1988).

En el año 1988, se registró el primer brote de histoplasmosis en Costa Rica, en 17 estudiantes universitarios (con una edad promedio de 24 años) que visitaron una cueva del Parque Nacional de Santa Rosa, en la Provincia de Guanacaste, en donde se encontró la presencia de murciélagos y guano. Los pacientes presentaron fiebre (93 %), dolor de cabeza (87 %), tos (80 %), disnea (80 %), dolor de pecho (73 %) y mialgia (53%). Sólo dos fueron hospitalizados y todos se recuperaron sin tratamiento antifúngico (CDC, 1988).

Este brote evidenció que Costa Rica es un sitio con condiciones adecuadas para el desarrollo del hongo por el clima, flora y fauna, por lo que autores como Hernández et al (2012) estiman que el país es una zona endémica de histoplasmosis (Hernández et al, 2012). Entre el año 1998 y 1999 se informó de otro brote de histoplasmosis pulmonar aguda en turistas tanto nacionales como extranjeros que visitaron las Cavernas de Venado en San Carlos, en la zona norte del país, donde se vieron implicados 51 personas (44 nacionales y 9 extranjeros) que comprendían tanto niños como adultos (Lyon et al, 2004).

En el año 2001, se registró un caso de una úlcera colónica en un paciente de 35 años HIV positivo, trabajador del sector turístico que ingresó al Hospital Dr. Rafael Ángel Calderón Guardia por un cuadro de trastorno gastrointestinal no específico de 3 años de evolución. Al efectuar el ultrasonido se encontró dos segmentos colónicos con paredes engrosadas. La gastroscopía reveló múltiples úlceras gigantes de 10 cm de diámetro en el colon ascendente y al tomar biopsias se descubrió mediante el examen directo en PAS levaduras intracelulares dentro de macrófagos, y bacilos similares a micobacterias al examen directo en Ziehl Neelsen

y Fite Faraco, por lo que se concluyó que el cuadro clínico se debía a tuberculosis e histoplasmosis que diseminaron por la condición de inmunosupresión del paciente. El paciente resolvió el cuadro clínico gracias al tratamiento con antibióticos (Rifampicina, Isoniacida, Pirazinamida, Etambutol y Trimetroprim Sulfametoazol), antirretrovirales (Zidoduvina, Lamiduvina y Efavirenz) e Itraconazol (Garzona y Solano, 2001).

Uno de los estudios de reporte de casos de histoplasmosis más completos en el país es el efectuado por Hernández et al (2012) en pacientes HIV positivos del Hospital Rafael Ángel Calderón Guardia. El trabajo consistió en un estudio observacional y retrospectivo entre el año 2004 al 2007 de pacientes HIV positivos mayores de 18 años, donde 28 pacientes fueron diagnosticados con histoplasmosis (Hernández et al, 2012).

En el estudio, el 87.5 % de pacientes eran masculinos y con una edad media de 33.4 años. El 62.5 % de pacientes presentaban un recuento de linfocitos CD4+ menor a 50 células/mm³ y 87.5 % una carga viral por encima de 50000 copias. La mayoría padecían un cuadro de histoplasmosis diseminada (95.8 %). En todos los años de estudio hubo casos diagnosticados (proporción de 20.8 % casos por año) (Hernández et al, 2012).

La mayoría de casos en este estudio presentaban fiebre, fatiga, pérdida de peso, sudoración nocturna y hepatoesplenomegalia, además de anemia y leucopenia, y elevación de enzimas hepáticas (deshidrogenasa láctica, aspartato amino transferasa y la fosfatasa alcalina) e hiponatremia e hipoalbuminemia, y elevación de la proteína C reactiva y velocidad de eritrosedimentación. Entre las enfermedades concomitantes a las histoplasmosis más frecuentemente encontradas se puede mencionar la candidiasis en tracto gastrointestinal superior y la neumonía por *Pneumocystis jirovecii* (45.8 % y 41.6 % de los casos respectivamente) (Hernández et al, 2012).

El diagnóstico se llevó a cabo mediante el cultivo y frotis con Giemsa o Wright, de sangre periférica y médula ósea, e histopatología (biopsia de bazo, pulmón y ganglio cervical), resultando el cultivo de sangre periférica y médula ósea como los métodos

diagnósticos más sensibles (sensibilidad de 37.5 % y 54.2 % respectivamente). Los pacientes fueron tratados con terapia dual de Anfotericina B seguido de Itraconazol, o solamente Anfotericina B o Fluconazol. En este último panorama de monoterapia se obtuvo los menores porcentajes de curación (Hernández et al, 2012).

En el 2014 se publicaron los resultados de otro estudio retrospectivo de casos de histoplasmosis diseminada en pacientes HIV positivos atendidos en el Hospital San Juan de Dios, entre el año 2008 y 2012. En dicho estudio se encontró 15 casos diagnosticados por cultivo, examen directo de médula ósea y biopsia, los cuales, tenían un promedio de edad cercano a los 35 años (60 % hombres), 86.7 % eran HIV positivos y poseían en promedio 60 células/mm³ de linfocitos CD4+. Los pacientes presentaron histoplasmosis diseminada aguda progresiva, y solo dos padecieron compromiso intestinal (Villalobos y Rodríguez, 2014).

Mediante este estudio, Villalobos y Rodríguez (2014) dilucidaron que el tratamiento en combinación de antirretrovirales y Anfotericina B desoxicolato, y una segunda línea de tratamiento con Fluconazol (para evitar las interacciones medicamentosas que pueda tener el Itraconazol con los antirretrovirales del grupo de los inhibidores de la transcriptasa reversa no nucleósidos, ya que ambos son metabolizados por el Citocromo P450 3A4) mejora la respuesta clínica de estos pacientes evitando recaídas, a pesar de que los autores sugieren que el Fluconazol posee menos actividad contra *Histoplasma capsulatum* (Villalobos y Rodríguez, 2014).

Otro caso de histoplasmosis diseminada también fue reportado en el año 2010 por Rojas y Zumbado (2010) en el Hospital Max Terán Valls en Quepos, Puntarenas, en un paciente masculino de 51 años con etilismo crónico, malnutrición y hemoglobina baja de 6.8 g/dL que ingresó por un cuadro febril. El diagnóstico fue efectuado por el hallazgo de levaduras intracelulares en los macrófagos al realizar el examen directo del aspirado de médula ósea. El paciente se trató con Anfotericina B, Metronidazol y Dexametasona pero al final fallece (Rojas y Zumbado, 2010).

La población pediátrica de Costa Rica también se ha visto afectada por esta micosis. En el año 1969, Mohs y Jliménez, registraron 12 casos de histoplasmosis en pacientes con edades entre los 5 meses y 10 años del Hospital Nacional de Niños

Dr. Carlos Sáenz Herrera. También en 1999, Odio et al, publicaron un estudio efectuado entre el año 1983 y 1996, donde se encontró 40 casos de histoplasmosis diseminada infantil (24 masculinos, con edad promedio de diagnóstico de 15.3 meses). Los pacientes presentaron fiebre, hepatoesplenomegalia y anormalidades hematológicas. El diagnóstico se efectuó por histología y cultivo de médula ósea, biopsia de hígado, bazo y nódulos linfáticos, y lavado bronqueoalveolar. Todos los pacientes fueron tratados con Anfotericina B y Azoles orales durante 3 meses, y sólo 4 murieron (Odio et al, 1999).

Otro estudio más reciente que ha dejado en evidencia la presencia de la histoplasmosis en la población pediátrica de Costa Rica es el trabajo de Batalla (2020) que consistió en un estudio retrospectivo, descriptivo y observacional en pacientes pediátricos con histoplasmosis entre el año 2010 al 2019 atendidos en el Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. Se reportaron 18 pacientes (72 % sexo masculino) con una edad promedio de 12 meses. Entre los síntomas más frecuentes que presentaron los pacientes se encontró la hepatomegalia (89 %), la esplenomegalia (83 %) y la fiebre (78 %) (Batalla, 2020).

Es curioso mencionar que el 78 % de los pacientes en este estudio tuvieron como factor de riesgo el contacto con gallinas o murciélagos. El diagnóstico se efectuó mediante histopatología (mayoritariamente de médula ósea, pero también de tejido pulmonar y ganglionar) y al realizar el examen directo del aspirado de médula ósea y lavado bronqueoalveolar. Solo en dos casos se hizo diagnóstico por cultivo de lavado bronqueoalveolar y solo en un caso se obtuvo hemocultivo y cultivo de líquido cefalorraquídeo positivos. Todos los pacientes fueron tratados con Anfotericina B desoxicolato intravenosa, registrándose 3 muertes y 3 complicaciones de linfocitosis hemofagocítica secundaria. Batalla (2020) concluye que la población pediátrica menor de 2 años tienen mayor riesgo de desarrollar una histoplasmosis diseminada debido a la inmadurez inmunológica, específicamente de la inmunidad celular, además también puede deberse a la malnutrición que genera una inmunodeficiencia secundaria pero también es necesario descartar las inmunodeficiencias primarias (Batalla, 2020).

Como se puede observar en los datos recopilados, la histoplasmosis es una enfermedad que está presente en varias regiones de Costa Rica, y debido al subregistro de casos en los centros de salud por la ausencia de su reporte en la literatura, deja entrever que esta enfermedad puede ser más frecuente en el país de lo que se cree actualmente. Además, también está demostrado que la histoplasmosis en Costa Rica es una enfermedad prevalente en grupos de riesgo como lo son los pacientes HIV positivos.

Frecuencia en Suramérica

En los países de Suramérica, la histoplasmosis diseminada está siendo diagnosticada con mayor frecuencia en los nuevos pacientes HIV positivos, por lo que se ha estimado que podría llegar a parecerse a la tuberculosis en cuanto a su frecuencia (Ashraf et al, 2020).

En Guayana Francesa, gracias a un estudio retrospectivo del año 2011 en hospitales de las comunas de Saint Laurent du Maroni y Kourou de Cayena, se demostró que la histoplasmosis es la infección oportunista más frecuente en pacientes HIV positivos en fase SIDA (1.54 casos por 1000 personas por año) seguido de la candidiasis esofágica, toxoplasmosis cerebral y tuberculosis (Gómez, 2011).

En Venezuela, estudios realizados entre el año 2004 al 2005, en Bolívar, evidenciaron que en 66 pacientes HIV positivos en fase SIDA que fallecieron, la histoplasmosis se encontraba presente en el 44 % de las autopsias efectuadas. Además entre el año 2000 al 2005, en un estudio realizado en Caracas, se vio que en 158 pacientes con histoplasmosis, 85 % tenían un factor de riesgo (34 % eran HIV positivos en fase SIDA, 13 % enfermedades malignas, 12 % estaban en contacto con murciélagos y aves de corral, 10 % de los pacientes eran menores de 2 años y 7 % eran mayores de 65 años) (Bahr et al, 2015 y Gómez, 2011).

En Colombia, la última encuesta realizada del año 1971 evidenció que 6 millones de personas del total de la población (33 millones) estaban infectadas. Estudios efectuados por la CIB (Corporación para Investigaciones Biológicas) e INS (Medical

Mycology Groups of the National Institutes of Health) entre el año 1992 al 2008, registraron 434 casos de histoplasmosis distribuidos en los 20 departamentos del país. El 70.5 % de casos de histoplasmosis en adultos estaba representado por pacientes HIV positivos en fase SIDA y 7 % de casos era pacientes con otras condiciones de inmunosupresión. Por lo que se evidencia que la histoplasmosis es una micosis frecuente en Colombia, especialmente en los grupos de riesgo como los pacientes HIV positivos (Gómez, 2011).

En el 2018, se publicó el estudio de Caceres et al (2018), efectuado en Medellín, Colombia. El estudio era observacional y transversal de una cohorte de pacientes HIV positivos en fase SIDA, entre el año 2008 al 2011, provenientes del Hospital La María. Se logró identificar 45 pacientes con histoplasmosis diseminada progresiva, de los cuales 23 presentaban otras coinfecciones como por ejemplo tuberculosis, pneumocistosis, criptococosis, citomegalovirus, toxoplasmosis, herpes y candidiasis esofágica. Esto puso en evidencia que estos pacientes son propensos a presentar otras infecciones oportunistas junto a la histoplasmosis por lo que el diagnóstico de laboratorio apropiado es necesario para disminuir la mortalidad mediante un adecuado tratamiento (Caceres et al, 2018).

Otro grupo de pacientes que se han visto afectados por la histoplasmosis en Colombia son los pacientes con trasplante renal. Así lo deja en evidencia el estudio descriptivo y retrospectivo efectuado por Nieto et al (2014) en el Hospital Pablo Tobon Uribe en Medellín entre el año 2006 al 2013, donde se reportó una incidencia del 1.1 % en 9 pacientes trasplantados que manifestaron la forma diseminada de la histoplasmosis. El tratamiento con Anfotericina B causó la muerte de dos pacientes debido a la nefrotoxicidad, por lo que los demás continuaron recibiendo Itraconazol. El tratamiento inmunosupresor que reciben estos pacientes los predispone a infecciones agresivas por *Histoplasma capsulatum*, por lo que estos pacientes deben ser considerados de riesgo para la vigilancia de la enfermedad (Nieto et al, 2014).

En Argentina, el área endémica de histoplasmosis está compuesta de las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos, Córdoba, este de La Pampa, sur de Salta,

norte de Tucumán, norte de Corrientes, y este y centro de Chaco (Calanni et al, 2013). Para el 2010, se estimó que había 7 millones de personas infectadas con histoplasmosis (Sánchez et al, 2010) y que el 30-40 % de la población ha estado en contacto con el hongo (Ashraf et al, 2020).

En el año 2013 se publicó un brote de histoplasmosis por exposición laboral (encargados del mantenimiento de caminos provinciales) en 5 pacientes, ocurrido en el año 2002 en la región de Zapala, en la provincia de Neuquén, en La Patagonia, donde además se logró evidenciar la presencia del hongo a partir de muestras ambientales de suelo, lo que sugirió que esta región debe ser estudiada más a fondo para poder incluirla entre las áreas endémicas de histoplasmosis del país (Calanni et al, 2013). Con anterioridad también fue registrado otro brote en el año 2008 en la localidad de Morón, al oeste de la de la provincia de Buenos Aires, en una base aérea, donde resultaron afectados 6 cadetes al limpiar un hangar donde se encontraban deyecciones de aves y murciélagos (Negrón et al, 2010).

Recientemente, se publicó en el año 2020, un estudio retrospectivo y descriptivo en pacientes pediátricos del Hospital Pediátrico Juan Pedro Garrahan entre el año 2008 al 2016. Se encontró 13 pacientes que presentaban la forma diseminada o pulmonar de la histoplasmosis y algunos presentaban comorbilidades. Se demostró que la histoplasmosis es una enfermedad a tomar en cuenta también en la población menor de 18 años y la incidencia real en estos pacientes es desconocida en Argentina (Voto et al, 2020).

En Brasil, se considera zonas de alta endemicidad el norte del país (Amazona, Roraima, Pará, Amapá, Rio Grande do Norte y Bahía) y el medio oeste del país (Minas Gerais, Sao Pablo) y una parte del sureste del país (Bahr et al, 2015). Entre el año 1958 al 2006, se informó 26 brotes de histoplasmosis en donde se vieron involucradas 184 pacientes (2-3 pacientes por brote). También, entre el año 1992 al 2005 en Minas Gerais se presentó varios casos de histoplasmosis diseminada donde el 52.6 % eran pacientes HIV positivos en fase SIDA, considerando a la histoplasmosis como una de las principales causas de muerte en estos pacientes, solo por debajo de la criptococosis y candidiasis (Colombo et al, 2011).

Otros estudios realizados entre el año 1996 y el 2006, mostraron una tasa de 4.73 casos por 1000 muertes asociadas a pacientes HIV positivos en fase SIDA que padecen de histoplasmosis (Bahr et al, 2015) además este país posee una tasa de mortalidad de 39 %, mucho mayor a la reportada en otros países como Estado Unidos por lo que autores como Gómez (2011), sugieren que se debe a diferencias genéticas de las cepas que se encuentran en Latinoamérica en comparación con las cepas que se encuentran en otros países (Gómez, 2011).

Otro país de Suramérica donde se reportaron casos de histoplasmosis pulmonar aguda es Ecuador, además en Perú también se han presentado casos de histoplasmosis diseminada (Colombo et al, 2011).

Chile posee una prevalencia estimada de la histoplasmosis de 0.1 %, dado por casos importados ya que en el 2017 se reportaron 9 casos en inmigrantes extranjeros (Ashraf et al, 2020), por lo que no hay casos de histoplasmosis autóctonos del país (Gómez, 2011).

Frecuencia en Norteamérica, África, Asia y otros países

En Estado Unidos, para el año 2010, se estimaba un número de 30 millones de personas infectadas con histoplasmosis (con un promedio de 200 000/año) (Sánchez et al, 2010).

En la última encuesta de histoplasmosis en el país entre el año 2011 al 2014, en doce estados, se registró que la incidencia anual de la enfermedad iba de 0-4.3 casos/100 000 individuos (con un promedio de 0-39 casos/100 000 habitantes) (CDC, 2020). Esta incidencia es un poco mayor en la población adulta mayor (con un promedio de edad de 65 años), donde se reportó 3.4-6.1 casos por cada 100 000 individuos, reportándose tasas mayores en el oeste medio del país. Esta enfermedad por tanto afecta a un rango amplio de grupos etáreos del país y posee una tasa de mortalidad del 5-13 %. Lo cual es importante dado el reporte de varios brotes (CDC, 2020; Gómez, 2011 y Teixeira et al, 2016).

Hoy en día se sabe que al menos 60-90 % de personas que viven en los alrededores de las zonas endémicas del país como por ejemplo el Valle de la Rivera de los ríos

Ohio y Mississippi, han estado en contacto con el patógenos durante su vida, según datos de la CDC (2020). De este porcentaje de personas, sólo el 1 % desarrolla sintomatología, sin embargo, los casos pueden exceder el 50 % durante los brotes de histoplasmosis, además de que el 25 % de personas HIV positivas que viven en estas zonas desarrollaron la enfermedad diseminada. En este país la histoplasmosis se ha considerado una infección emergente en pacientes inmunosupresos ya que se ha visto que las presentaciones diseminadas y letales de esta enfermedad son comunes en este tipo de pacientes (Díaz, 2018 y Sánchez, 2009).

Según los últimos datos de la CDC, la histoplasmosis se ha reportado en 13 estados del país (Arkansas, Delaware, Illinois, Indiana, Kansas, Kentucky, Louisiana, Michigan, Minnesota, Nebraska, Pennsylvania, Rhode Island y Wisconsin), siendo de las enfermedades fúngicas por hongos dimórfico más frecuentes junto a la coccidioidomicosis (reportada en 27 estados) y la blastomicosis (reportada en 5 estados) (CDC, 2020).

Además de Estados Unidos, la población de Canadá también se ha visto afectada por esta enfermedad ya que estudios serológicos han demostrado que el hongo infecta naturalmente a las personas, en tasas bajas, pero se reporta una mayor prevalencia de infecciones autóctonas en las provincias de Ontario y Quebec, con una expansión reciente a Montana. También se registró brotes en este país como el que se presentó en Quebec en empleados de una compañía de demolición (Teixeira et al, 2016).

La histoplasmosis también es prevalente en el cinturón tropical de África, específicamente en el oeste y centro del Subsahara al igual que en Madagascar, donde alrededor de 300 casos de histoplasmosis fueron reportados en el año 2007 relacionado al incremento de la población HIV positiva. Se estima que la cantidad de casos es mayor ya que existe un subregistro debido a la ineficiencia del diagnóstico de micosis invasivas en estos países. También se han diagnosticado casos de histoplasmosis en Europa importados desde África, los cuales son menos frecuentes (Teixeira et al, 2016).

Países del sur del continente asiático también son perjudicados por la histoplasmosis. Por ejemplo, en los últimos años, se ha presentado un incremento de la enfermedad en China. Entre el año 1990 al 2011 se reportaron 300 casos, 75 % de los cuales provenían de la Rivera de Yangtze, y 257 casos correspondieron a histoplasmosis diseminada progresiva ante inmunosupresión, siendo algunos pacientes HIV positivos (Ashraf et al, 2020 y Bahr et al, 2015).

Entre el año 1994 al 2017, se registraron 144 casos de histoplasmosis en la India, específicamente al oeste de Bengal, Assam, Bihar, Delhi, Haryana, Punjab y Uttar Pradesh, pero probablemente los casos estuvieron subdiagnosticados por lo que podrían ser muchos más en la actualidad (Ashraf et al, 2020).

En Tailandia, a raíz de la epidemia del SIDA, entre el año 1984 al 2010, se ha reportado 1200 casos de histoplasmosis diseminada (Bahr et al, 2015).

Otro país con menor número de casos de histoplasmosis es Australia. En la literatura se ha informado de 63 casos autóctonos entre el año 1948 al 2009, de los cuales, 11 eran pacientes HIV positivos en fase SIDA. Además, se ha logrado aislar el agente etiológico de diferentes fuentes como los son corrales y cuevas de aves en el estado de Queensland y New South Wales (Bahr et al, 2015).

5.3-Fuentes de Infección y vías de entrada

Este hongo se puede aislar en ambientes cerrados como grutas, cuevas, túneles, edificios y construcciones, así como en ambientes abiertos como por ejemplo parques públicos donde abundan las excretas de aves y murciélagos, por lo que estos sitios se consideran fuentes de infección (Sánchez, 2009).

Se ha visto que los suelos con guano de aves y murciélagos permanecen contaminados hasta un año después de que se eliminó los sitios donde habitan estos animales, por lo que estos suelos también son la fuente de infección (Anderson et al, 2006 y Gómez, 2011).

A pesar de que en verano están las condiciones más adecuadas para el crecimiento del hongo, es la época seca donde se da la mayoría de los casos de primoinfección debido a que hay mayor cantidad de aire y polvo que son los medios por donde se

transportan las esporas (Chang y Rodas, 2012; Gómez, 2011 y Sánchez et al, 2010).

Las personas con histoplasmosis no son infectocontagiosas (Gómez, 2011). La vía de entrada tanto para la histoplasmosis americana como africana se da por inhalación de aerosoles provenientes de suelo, polvo, guano de aves y murciélagos, y material vegetal, que contienen las microconidias y fragmentos de hifa, pero también se puede dar por inoculación cutánea que genera una lesión chancriforme similar a esporotricosis y coccidioidomicosis (Alverson et al, 2010; Sánchez, 2009 y Sánchez et al, 2010).

También se tiene como vía de infección esporádica la ingestión de microconidias o el contacto de estas con heridas expuestas (Ortiz et al, 2015). Además, se ha reportado transmisión por accidentes de laboratorio en el momento que se está manejando cultivos del hongo (Chander, 2018).

Se reporta también la transmisión por trasplante de órganos, en específico por trasplante de riñón en dos pacientes de zonas no endémicas a partir del mismo donador de una zona endémica, en el año 2000 (Diaz, 2018).

En el caso de la histoplasmosis africana, también se ha informado como vía de transmisión, las heridas contaminadas con material del suelo (Diaz, 2018).

Se cree que actividades como la quema y generación de fuego podrían constituir un medio de transmisión de las microconidias mediante aerosoles generados (Diaz, 2018).

Nunca se ha reportado la transmisión entre animales de compañía y el ser humano, pero se cree que las mascotas pueden considerarse centinelas de la posible exposición que tiene el ser humano a sitios donde pueda contraer la enfermedad, lo que es muy importante en el caso de dueños inmunocomprometidos, ya que se ha reportado la infección simultánea de dueño y mascota ante la misma fuente de exposición (Guillot et al, 2018). Ante esta situación la enfermedad no se considera una zoonosis sino más bien una sapronosis porque el hongo se adquiere en la naturaleza donde está presente en su fase saprofítica (Fernández et al, 2011).

En el año 2010, Se reportó la transmisión vertical de la enfermedad, en una niña de 4 semanas de nacida, hija de una madre guatemalteca HIV positiva y con linfoma de Hodgkin, inmigrante residente de Rhode Island, Estados Unidos desde hace 2 años. La recién nacida presentaba trombocitopenia, fiebre y lesiones cutáneas maculopapulares, era HIV positiva, además mostraba candidiasis oral y al teñir con tinción de Wright el frotis de sangre periférica se observó levaduras intracelulares dentro de neutrófilos y monocitos, y se evidenció la presencia de *Histoplasma capsulatum* con el cultivo del líquido espinal por lo que se realizó el diagnóstico de histoplasmosis diseminada. Se confirmó la histoplasmosis activa tanto en la recién nacida como en la madre mediante un ensayo inmunoenzimático o EIA (por sus siglas en inglés de Enzyme Immunoassay) para la detección del antígeno urinario. La paciente fue tratada con Itraconazol, Anfotericina B y terapia antiretroviral. Este caso constituye el primer caso de transmisión congénita de histoplasmosis que progresa a la forma diseminada en una paciente de una zona no endémica (Alverson et al, 2010).

Otro caso confirmado de transmisión vertical de histoplasmosis es el reportado en Missouri, Estados Unidos, donde una mujer de 23 años HIV positiva en fase SIDA con 22 semanas de gestación presentaba fiebre, sudoración nocturna, diarrea y dolor abdominal, por lo que a la semana 25 de gestación se le practica una cesárea y se detecta la histoplasmosis tanto en el suero del neonato como en el líquido peritoneal y líquido cerebro espinal (Alverson et al, 2010).

En la literatura se ha descrito en muy pocos casos la transmisión transcutánea requiriendo la presencia de lesiones expuestas y el contacto íntimo entre personas, además, al ser la transmisión periparto posible, existe la posibilidad de que las lesiones expuestas en la piel del pecho de la madre que entran en contacto con el recién nacido a la hora de amamantar sea una posible vía de infección que aún no ha sido comprobada (Alverson et al, 2010).

5.4-Etnia, sexo y edad

Hay mayor incidencia en la tercera y cuarta década de vida por factores ocupacionales, pero en general se puede presentar a cualquier edad y género siendo más frecuente en hombres que en mujeres en una proporción de 4:1. Además se estima que, en algunas regiones de países de Centroamérica y Suramérica, cerca del 80 % de personas en la década de los 20 años han sido infectados con histoplasmosis (Gómez, 2011; Sánchez, 2009 y Sánchez et al, 2010).

Los pacientes pediátricos también se ve afectado por esta micosis. Por ejemplo estudios efectuados en Costa Rica, entre los años 1983 y 1996 evidenciaron 40 casos de histoplasmosis infantil donde el promedio de edad en el momento en que se efectuó el diagnóstico fue a los 15 meses de nacidos siendo el menor de 6 semanas de edad (Odio et al, 1999).

También se reporta que las personas de raza blanca son un 25 % más susceptibles en relación con las personas de raza negra (Sánchez et al, 2010).

En el caso de la histoplasmosis pulmonar crónica, esta se presenta con más frecuencia en adultos varones con historia de enfisema, fumadores crónicos con EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica) o bronquitis crónica, en cambio la histoplasmosis diseminada aguda suele observarse más en niños de la primera infancia al igual que la histoplasmosis diseminada subaguda (Sánchez et al, 2010).

5.5-Período de incubación

Los síntomas se pueden presentar entre 1 a 3 semanas, pero también se ha reportado de 1 a 3 días (con un promedio de 7 a 10 días) y hasta 1 a 5 meses. En el caso de la histoplasmosis pulmonar aguda, el período de incubación puede ser de 10 a 16 días (Chander, 2018; Sánchez, 2009 y Sánchez et al, 2010).

Generalmente la mayoría de las personas se recuperan de manera espontánea en la tercera semana después de la exposición, lo que representa el estadio leve de la enfermedad (Sánchez, 2009).

En casos de reinfección, el período de incubación puede ir de 4 a 7 días (Chang y Rodas, 2012 y Gómez, 2011). En las áreas endémicas las personas pueden reinfectarse por otra cepa del hongo, pero con períodos de incubación más cortos antes de generar la sintomatología, además se ha visto que, a mayor tiempo de exposición e intensidad, más severa es la enfermedad pulmonar (Sánchez, 2009).

5.6-Factores predisponentes

La histoplasmosis cutánea primaria se presenta principalmente en recolectores de guano y limpiadores de gallineros (Sánchez et al, 2010), por lo que la ocupación es un factor predisponente considerándose una enfermedad ocupacional y va a estar relacionada con la exposición a las microconidias, es decir a la exposición a los ambientes contaminados, por ejemplo en agricultores, cuidadores de aves de corral, mineros, arqueólogos, espeleólogos, obreros de construcción, turistas de cavernas y grutas, personas que trabajan derribando árboles o limpiando sótanos de casas o lugares donde descansan aves y barriendo hojas, y trabajadores rurales de bajo nivel socioeconómico (Sánchez, 2009; Sánchez et al, 2010 y Teixeira et al, 2016).

La visita de ambientes cerrados como cuevas, grutas y construcciones abandonadas son ambientes de riesgo y generan morbilidad ocasional que podría desencadenar casos severos, en cambio, los espacios abiertos como por ejemplo gallineros, granjas, campos de golf, complejo de tenis y parques de atracciones también son factores de riesgo pero que generan una alta morbilidad con baja letalidad en pacientes inmunosupresos (Díaz, 2018 y Sánchez, 2009).

En el caso de los ambientes abiertos, se ha visto que tienden a atraer bandadas de aves como por ejemplo las gaviotas porque les sirve de refugio temporal, por lo que el guano está presente en estos ambientes. En los ambientes cerrados como cuevas y edificios, hay más riesgo de adquirir la infección si están presentes actividades que generen disrupción de estos lugares como por ejemplo excavaciones y construcciones (Díaz, 2018).

Además, la intensidad de la exposición a ambientes contaminados también se considera un factor predisponente, que va a estar dado por la duración de la exposición y que tanto polvo genera la actividad realizada (Gómez, 2011 y Sánchez

et al, 2010). A baja intensidad de la exposición, los individuos son en el 99 % de casos asintomáticos, por lo que nunca son diagnosticados, pero ante la exposición de un inóculo grande, los individuos pueden exhibir una serie de síntomas que van desde los que son autolimitados de una histoplasmosis pulmonar aguda a los que pertenecen a una enfermedad pulmonar progresiva (Gómez, 2011).

La residencia o viajes a zonas endémicas se considera uno de los principales factores de riesgo, por lo que se ha visto reflejado en un aumento de casos de histoplasmosis de uno o varios *clusters* en diferentes lugares del mundo principalmente por inmigrantes de América Latina y África Subsahariana, debido al turismo de zonas endémicas, migración por trabajo y programas de cooperación internacional, lo que cobra importancia debido a las reactivaciones por inmunosupresiones futuras que puedan tener estas personas (Bahr et al, 2015 y Diaz, 2018).

Desde el año 1998 al 2008 se han reportado en Estados Unidos casos de histoplasmosis pulmonar importados por viajes a otros países, 262 provenientes de México, 29 de Costa Rica, 20 de El Salvador, 11 de Ecuador y 5 de Nicaragua. En España, 9 casos importados de Guatemala y 18 casos importados de Perú, El Salvador, Guatemala, Ecuador, Nicaragua, Venezuela, África, además de múltiples exposiciones (Costa Rica, Ecuador, Argentina y Guayana Francesa), relacionados a la visita de cuevas, pasaje de túneles infestados con murciélagos, contacto con árboles infestados de murciélagos, dormir al aire libre en bosques, actividad agrícola, estar cerca de áreas de construcción de edificios, practicar entomología y visitar zonas rurales. En Canadá se reportó 14 casos provenientes de Belice. En Francia, 13 casos provenientes de Martinica. En Inglaterra, 13 casos provenientes de Uganda. En Italia, 4 casos provenientes de Perú. Y en Polonia, 4 casos provenientes de Ecuador (Bahr et al, 2015 y Diaz, 2018).

También se considera como factor de riesgo las personas que utilizan el guano como fertilizante para cultivar plantas, además de otras actividades como por ejemplo la tala y quema de bambú, donde se reportó un brote en el año 2011 en la zona rural de Arkansas, Estados Unidos, en 19 integrantes de una familia que

presentaron fiebre, tos, dificultad para respirar y dolor de pecho después de 2 a 9 días de exposición a la tala y quema de bambú sin reporte de murciélagos en el área pero sí de la presencia de aves de la especie *Agelaius phoeniceus* o *Tordo sergento*. Adicionalmente, en el año 1980, se había informado de un brote en 6 trabajadores que desarrollaron neumonía por histoplasmosis debido a la tala de bambú cargado con guano de mirlos (Diaz, 2018).

La edad es un factor de riesgo, específicamente los extremos etarios, ya que los niños tienden a la diseminación por lo que es de mal pronóstico, principalmente en niños menores de 1 año, informándose que la mortalidad de la histoplasmosis diseminada en el infante es de 83-93 %, además se ha visto que, en algunos países latinoamericanos como Venezuela, las personas menores de 2 años y mayores de 65 años tienen más riesgo de contraer histoplasmosis (Alverson et al, 2010; Gómez, 2011 y Sánchez et al, 2010).

Pacientes con enfermedad pulmonar crónica o inmunodeficientes como por ejemplo diabéticos, tumores sólidos, linfomas (Hodgkin), leucemias, corticoterapia, alcoholismo, diálisis y Síndrome de Cushing se consideran en riesgo. La administración de productos biológicos como Infliximab o Etanercept es un factor de riesgo importante principalmente para los pacientes reumatológicos, con enfermedad gastrointestinal o con enfermedades dermatológicas, que son tratados con estos medicamentos (Bahr et al, 2015; Chang y Rodas, 2012; Colombo et al, 2011 y Sánchez et al, 2010).

Las enfermedades reumatológicas se consideran factor de riesgo sólo si el paciente está medicado con inmunosupresores. En un estudio efectuado entre el año 1998 y el 2009, en el centro de salud Mayo Clinic, en Minnesota, Estados Unidos, en 26 pacientes con artritis reumatoide e histoplasmosis, se observó que 12 de los pacientes desarrollaron histoplasmosis diseminada, y 11 de esos 12 pacientes recibían múltiple terapia inmunosupresora. Del total, 16 recibían Metrotexato, 15 Corticosteroides, 5 Hidroxicloroquina, 5 Leflunomida y 15 Inhibidor del factor de necrosis tumoral alfa o TNF- α (por sus siglas en inglés de Tumor Necrosis Factor Alpha). En el caso del Inhibidor del TNF- α , el medicamento es un factor de riesgo

importante ya que inhibe el desarrollo de la respuesta inmune granulomatosa contra *Histoplasma capsulatum*, por ejemplo, en el año 2010, se reportó también 88 casos de histoplasmosis, en su mayoría diseminadas, en pacientes que tomaban Inhibidor del TNF- α tanto de zonas endémicas como fuera de estas, estando la mayoría medicados con Infliximab (Barh et al, 2015).

Los pacientes HIV positivos en fase SIDA están en riesgo de padecer una histoplasmosis diseminada (20-30 % de pacientes HIV positivos desarrollan histoplasmosis diseminada aguda en países endémicos) (Bahr et al, 2015; Chang y Rodas, 2012; Colombo et al, 2011 y Sánchez et al, 2010).

Se ha observado que la primera manifestación de los pacientes HIV positivos en fase SIDA es la histoplasmosis, específicamente en el 50-75 % de los pacientes con recuento de CD4+ <150 células/ μ L, lo que se considera de alto riesgo, por lo que se indica una mortalidad del 10 % en países con acceso a terapia antirretroviral y aumenta a 40 % en lugares donde no se tiene acceso a la terapia (Colombo et al, 2011 y Diaz, 2018).

El principal factor de riesgo para la infección diseminada es el defecto en la inmunidad mediada por células, que incluye a los pacientes HIV positivos con conteo de CD4+ < (150 a 200) células/ μ L, receptores de trasplantes, pacientes que consumen Inhibidores del TNF- α y deficiencias congénitas de las células T (Gómez, 2011).

El trasplante de órgano sólido es un factor de riesgo para desarrollar histoplasmosis debido a la medicación inmunosupresora. En un estudio retrospectivo en diferentes centros de salud de Estados Unidos entre el año 2003 al 2010 en 152 pacientes con trasplante de órgano sólido con histoplasmosis (trasplante de riñón, hígado, páncreas, corazón y pulmón), se observó que 138 de los pacientes recibían inhibidores de la calcineurina, algunos con preparaciones de Micofenolato y Corticosteroides. De estos pacientes, 122 desarrollaron histoplasmosis diseminada y 15 murieron, además se reportó que para 132 pacientes, la detección de antígeno en orina fue la prueba diagnóstica más sensible (Barh et al, 2015).

También se ha reportado una predisposición genética a padecer la enfermedad que va a determinar la capacidad de diseminación del hongo a diferentes partes del cuerpo humano. Por lo que algunos antígenos de histocompatibilidad se han relacionado a una susceptibilidad aumentada como por ejemplo el HLA-B7 y el HLA-B22. Además, mutaciones en los genes IFNGR1 y STAT1, que codifican para el receptor 1 del interferón γ , y para el transductor de señal y activador de transcripción 1, respectivamente, se han relacionado a la histoplasmosis diseminada grave (Bonifaz, 2015; Bologna et al, 2018 y Ortiz et al, 2015).

Costumbres de los países asiáticos como el uso de guano de murciélago como medicina herbaria también se considera un factor de riesgo que aumenta la probabilidad de adquirir la enfermedad en países endémicos (Ashraf et al, 2020).

6-PATOGENESIS

6.1-Historia natural de la enfermedad

La forma infectante son las microconidias, que al ser inhaladas pasan a vías respiratorias a través de los bronquiolos donde los neutrófilos son incapaces de destruir al microorganismo. Los macrófagos tisulares fagocitan las microconidias dentro de los 10 minutos de exposición en los alveolos pulmonares, con un promedio de 70 microconidias fagocitadas por cada 100 macrófagos dentro de 1 hora siendo incapaces de destruirlas y generando una infección primaria similar a la tuberculosis (ver Figura 11) (Bahr et al, 2015; Chander, 2018; Chang y Rodas, 2012 y Ray y Rappleye, 2018).

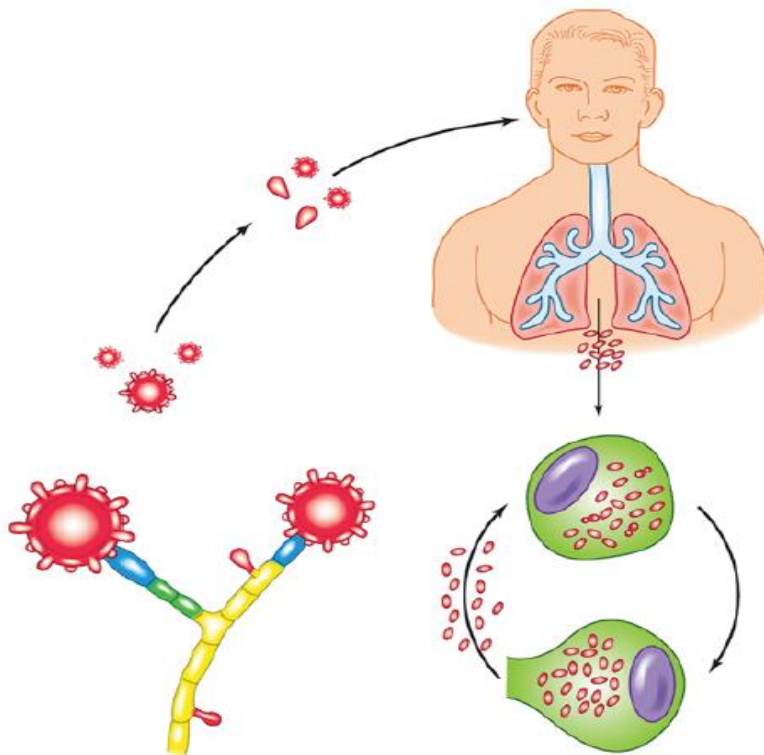


Figura 11. Ciclo de vida de *Histoplasma capsulatum* en el ser humano, se observa de color rojo las microconidias (forma infectante) y macroconidias, donde las primeras logran ingresar a vías respiratorias al ser inhaladas e invaden neutrófilos y macrófagos (representado de color verde en la imagen) (imagen tomada de Bonifaz, 2020).

El ambiente intracelular en los macrófagos es un ambiente de pocos nutrientes y de acidez, aquí las microconidias se transforman en levaduras (paso de un morfotipo no virulento a uno virulento) y al fusionarse el fagolisosoma, el hongo es capaz de incrementar el pH, lo que le permite sobrevivir y multiplicarse intracelularmente, a pesar de quedar expuesto a anticuerpos específicos y al complemento, ya que no se modifica la susceptibilidad intracelular del hongo, aún cuando las estructuras fúngicas opsonizadas con anticuerpos estimulan el estallido respiratorio por la fagocitosis mediada por receptores Fc (DuBois y Smulian, 2016 y Maniscalchi y Lemus, 2006).

La multiplicación de la levadura produce lisis celular, y se estimula una respuesta inflamatoria no característica del hongo, quedando la infección controlada en pacientes inmunocompetentes donde los macrófagos más bien transportan las levaduras fagocitadas a los nódulos linfáticos para su destrucción mediado por el desarrollo de la respuesta inmunitaria de células T (Diaz, 2018 y Ray y Rappleye, 2018).

En el caso contrario, la infección se establece, es decir, hay una presentación clínica, principalmente en pacientes con deficiencia de la inmunidad innata mediada por células T, como por ejemplo el Síndrome de Job, en el paciente con inmunosupresión médica, por inmunosupresión relacionada a otras condiciones como malignidades o HIV, o si el inóculo del patógeno es muy grande (Bahr et al, 2015).

Se desarrolla una proliferación de histiocitos, de células gigantes y células epitelioides formando un granuloma con o sin centro caseoso, y hay diseminación extrapulmonar mediante células dendríticas por vía hemática o mediante el sistema retículo endotelial hacia ganglios regionales, hígado, bazo, piel, riñones, conjuntiva, médula ósea, hueso, intestino, glándulas adrenales, sistema nervioso central, superficie de mucosas y rara vez a la glándula tiroides, senos paranasales, próstata y epidídimo, por lo que en la infección crónica como aguda, progresan rápidamente a una infección diseminada principalmente en personas inmunosupresas como pacientes diabéticos, HIV positivos y HIV positivos en fase SIDA, de los cuales se

reporta que podrían cursar con histoplasmosis cutánea, mucosa e intestinal diseminada sin haber cursado con neumonía (Chander, 2018; Diaz, 2018; Gómez, 2011 y Sánchez et al, 2010).

Autores como Gómez (2011), consideran toda infección primaria como una infección diseminada ya que las levaduras migran de los pulmones a cualquier órgano rico en células mononucleares fagocíticas, por lo que se reúne el término de histoplasmosis diseminada progresiva o PHD (por sus siglas en inglés de Pulmonary Histoplasmosis Disseminated) para referirse a este cuadro y más en específico al crecimiento implacable de este microorganismo en diferentes órganos del cuerpo humano (Gómez, 2011).

Cabe destacar que una inmunosupresión de células T permite la reactivación de la enfermedad en pacientes previamente expuestos que no desarrollaron síntomas clínicos, lo que se evidencia en inmigrantes latinoamericanos o de África Subsahariana que desarrollan la enfermedad pero que viven en países no endémicos de Europa (Bahr et al, 2015).

6.2-Factores de Virulencia

Reconocimiento antigénico y adherencia

A diferencia de otros hongos que tienen la capacidad para crecer y multiplicarse intracelularmente como por ejemplo *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum* no va a tener mecanismos para evadir la fagocitosis como por ejemplo la cápsula de polisacáridos, ya que este microorganismo va a necesitar ser fagocitado para que la célula le provea un ambiente aislado para poder crecer que al mismo tiempo va a constituir un vehículo para su diseminación extrapulmonar, por lo que el reconocimiento celular va a ser un paso crucial para que el hongo pueda lograr entrar a los macrófagos y neutrófilos, y finalmente pueda adoptar una morfología levaduriforme, ya que en el caso contrario, un hongo que exprese una morfología micelial generaría la ruptura del fagocito, exponiendo al hongo al sistema inmune del hospedero (Boyce y Andrianopoulos, 2015 y Ray y Rappleye, 2018).

La levadura necesita minimizar su detección por parte de los receptores inmunes, pero al mismo tiempo necesita interactuar con las células fagocíticas, por lo que la

adherencia primaria del hongo a los macrófagos va a estar mediada por los receptores del complemento, principalmente el CR3 pero también por el CR4 y para que se dé la fagocitosis no se va a requerir estrictamente la opsonización (mediante C3b, C3bi o anticuerpos) para mediar el reconocimiento (Garfoot et al, 2016 y Ray y Rappleye, 2018).

El hongo es reconocido por los receptores del complemento sin desencadenar una respuesta proinflamatoria pero antes debe lograr evadir los Receptores de Reconocimiento de Patrones o PRR, ya que estos sí pueden desencadenar una respuesta inflamatoria que lograría controlar la infección. Entonces por ejemplo el hongo debe evadir el reconocimiento mediado por los Receptores Tipo Toll o TLR (por sus siglas en inglés de Toll Like Receptor) y Receptores de Lectina Tipo C o CLR (por sus siglas en inglés de C Type Lectin Receptor). Se ha visto que los antígenos de *Histoplasma capsulatum* son reconocidos por estos receptores en menor medida que en comparación con otros patógenos oportunistas (Garfoot et al, 2016 y Ray y Rappleye, 2018).

La proteína Hsp60 es una chaperona citoplasmática expresada en menor cantidad en la superficie celular que participa en la evasión de la respuesta inmune del hospedero ya que sirve de ligando para el receptor CR3 (CD11b/CD18) de los macrófagos posibilitando el parasitismo intracelular. La Hsp60 se considera de las adhesinas de superficie más importantes porque al ser el ligando para el CR3, va a mediar el reconocimiento antigénico de *Histoplasma capsulatum* sin desencadenar una respuesta inmune proinflamatoria, por lo que la molécula es suficiente y necesaria para la unión a la célula fagocítica, pero otras proteínas de superficie del patógeno podrían contribuir también a la adhesión (González et al, 2012; Ray y Rappleye, 2018 y Sánchez, 2009).

El hecho de que el hongo pueda ser reconocido y adherirse al fagocito mediante receptores del complemento constituye un mecanismo para evadir la respuesta inmune ya que en general la fagocitosis mediada solamente por receptores del complemento desencadena una respuesta no inflamatoria cuando no se está acompañado por otras señales estimulantes. Hay poca producción de citoquinas y

se ha visto que disminuye la producción de IL-12 por tanto la producción de IFN- γ ya que no hay estímulo para las células que lo producen por lo que no se limita el crecimiento del hongo (Ray y Rappleye, 2018).

Se ha visto *in vitro* que proteínas recombinantes Hsp60p son capaces de unirse competitivamente a los macrófagos bloqueando el sitio de unión de la Hsp60 del hongo, demostrando que la Hsp60 es necesaria para la unión al macrófago (Ray y Rappleye, 2018).

Dimorfismo, el paso a una morfología virulenta

Se considera que el principal factor de virulencia es el dimorfismo del hongo (Sánchez, 2009) ya que el cambio de morfología del hongo es necesario para que se pueda dar la parasitación al hospedero, de ahí que los factores de virulencia conocidos a la fecha pertenecen a la fase levaduriforme y no a la micelial, ya que la fase micelial se relaciona más a la penetración y colonización del suelo, absorción de nutrientes y la producción de conidióforos con la formación y liberación de conidias, por el contrario, la levadura está más adaptada para habitar el fagosoma ya que es la fase que presenta los factores de virulencia que le van a permitir sobrevivir y proliferar (Garfoot et al, 2016 y Shen y Rappleye, 2017).

Cuando se presenta el cambio de temperatura, se modifica la biosíntesis de glucanas de la pared celular, favoreciéndose la síntesis de α -1,3-glucanas en la fase levaduriforme, donde el gen AGS1 que codifica para la α -1,3-glucano sintasa (Ags1) permite este proceso, al igual que el gen AMY1 que codifica para la α -1,4-amilasa y el gen UGP1 que codifica por la UTP-glucosa-1-fosfato uridiltransferasa. El cambio hacia la biosíntesis de las α -glucanas favorece la evasión de la respuesta inmune ya que se evita el reconocimiento de las β -glucanas por parte de la Dectina-1 que de lo contrario desencadenaría la producción de citoquinas proinflamatorias, por tanto, se favorecería la eliminación del hongo (Boyce y Andrianopoulos, 2015; Gorocica et al, 2009 y Shen y Rappleye, 2017).

Se cree que una cepa virulenta de *Histoplasma capsulatum* posee 1000 veces más α -1,3-glucanas en comparación con una cepa avirulenta, donde se ha visto que algunas cepas espontáneamente producen estas variantes avirulentas carentes de

α -1,3-glucanas. Las cepas virulentas pueden persistir dentro del macrófago varias semanas adoptando morfologías atípicas, por lo que las α -1,3-glucanas podrían ser importantes en establecer la latencia intracelular dentro del macrófago y regular la proliferación de la levadura y protegerla del fagolisosoma (Gorocica et al, 2009).

Este dimorfismo está regulado y requiere de genes como el DRK1 y el RYP1, además de RYP2, RYP3 y RYP4 que son factores de transcripción, por ejemplo el gen RYP1 codifica por la proteína Ryp1 de la familia WOPR de proteínas fúngicas y los genes RYP2 y RYP3 codifican para proteínas Ryp2 y Ryp3 de la familia de proteínas Velvet, que son reguladores transcripcionales de genes involucrados en los cambios morfológicos dependientes de temperatura y se cree que podrían estar involucrados en la viabilidad de las esporas y la reproducción sexual (Arenas, 2015; Laskowski et al, 2012; Nguyen y Sil, 2008 y Shen y Rappleye, 2017).

Se sabe que estos genes permiten el cambio morfológico al unirse a promotores de las secuencias genéticas, aunque las cascadas de señalización que producen no están dilucidadas completamente todavía. Consecuentemente, la expresión de estos factores de transcripción van a permitir la expresión de los demás factores de virulencia (Arenas, 2015; Garfoot et al, 2016; Laskowski et al, 2012; Nguyen y Sil, 2008 y Shen y Rappleye, 2017).

Es importante mencionar que el gen DRK1 codifica por la Histidin Kinasa de Clase III necesaria para desencadenar la cascada de señalización que permite el cambio morfológico, también se ha visto involucrado en la adaptación de *Histoplasma capsulatum* al estrés osmótico, a mantener la integridad de la pared celular y al desarrollo asexual como lo es la esporulación, ya que cuando se presenta la mutación de este gen, resulta en una distribución anormal de la quitina en la pared celular por lo tanto se compromete la integridad de la pared que es clave para la sobrevivencia ante las especies reactivas del oxígeno o ROS (por sus siglas en inglés de Reactive Oxygen Species) y la hidrólisis dentro del macrófago, además también genera una reducción en el desarrollo asexual de la fase micelial por ejemplo la esporulación, lo que implica la disminución en la producción de los propágulos (Boyce y Andrianopoulos, 2015).

El gen VEA1 es otro gen que codifica por proteínas *Vea1* de la familia Velvet de factores de transcripción. Este es el gen de *Histoplasma capsulatum* que es homólogo al gen VEA (Velvet A) de *Aspergillus nidulans* necesario para el desarrollo sexual y la producción de toxinas. Se desconoce su rol en la virulencia de este hongo dimórfico, pero se ha visto que al silenciar el gen VEA1 en cepas productoras de cleistotecio (UC26), causa que ya no puedan formar estas estructuras reproductivas complejas, estas pasan rápidamente a la morfología micelial y una vez que se induce el cambio a la morfología levaduriforme, muestran un cambio alterado o del todo se inhibe la conversión, además su virulencia en ratones y macrófagos disminuye, mostrando sensibilidad al crecimiento en medios con condiciones ácidas, por lo que se cree que este gen es importante para el desarrollo del hongo (Laskowski et al, 2012).

El gen CDC2 codifica para la proteína Cdc2 o Cdk1 que es la Kinasa dependiente de Ciclina 1. Esta es una serina treonina kinasa que regula el ciclo celular del hongo mediante fosforilaciones, relacionada también a la expresión de α -tubulina y de β -tubulina. Se ha visto que este gen aumenta su expresión al pasar a la fase levaduriforme (Arenas, 2015).

Otros genes involucrados en el fenómeno de dimorfismo son el CaM que codifica para la calmodulina que es un regulador de la transducción de señalización del calcio en las células, OLE1 que es el gen codifica para la $\Delta 9$ -desaturasa implicada en la síntesis de ácidos grasos insaturados y que además regula la expresión de otros genes que codifican por Proteínas de Choque Térmico o HSP (por sus siglas en inglés de Heat Shock Protein), e YPS que son genes relacionados a la virulencia diferencial de cepas del hongo y que son exclusivos de la fase levaduriforme que codifican para la proteína yps-3 de la pared celular (Arenas, 2015 y López, 2006).

El dimorfismo también implica la inhibición de genes miceliales como lo es la expresión de la proteína reguladora *Wet1* donde su expresión más bien causa el crecimiento micelial a 37 °C (Shen y Rapple, 2017).

Pared Fúngica, el determinante del quimiotipo como modulador de la respuesta inmune

Los polisacáridos se consideran un factor de virulencia importante ya que están involucrados en el reconocimiento antigénico por parte del sistema inmune del hospedero y constituyen el 80 % del peso seco de la composición de la pared de *Histoplasma capsulatum*. La glucosa es el monosacárido más abundante de la pared (seguido de la manosa y la galactosa), tanto en la fase micelial como en la fase levaduriforme (Gorocica et al, 2009 y Lara et al, 2014).

Los polisacáridos son en su mayoría las glucanas que son homo o hetero polímeros de D-glucosa unidos por enlaces α o β glucosídicos (α -1,3 o β -1,3 o β -1,6, algunas α -1,4 y β -1,4), ambos presentes en la pared de la fase micelial y levaduriforme (Gorocica et al, 2009; Lara et al, 2014).

Las α -glucanas contienen residuos lineales de α -1,3-glucosil (ver Figura 12), mientras que las β -glucanas consisten en una cadena principal lineal unida por enlaces β -1,3-glucosil con cadenas laterales unidas mediante enlaces β -1,6-glucosil que varían en longitud y distribución donde forman una estructura terciaria compleja que se estabiliza por enlaces de hidrógenos entre las cadenas (ver Figura 13) (Gorocica et al, 2009).

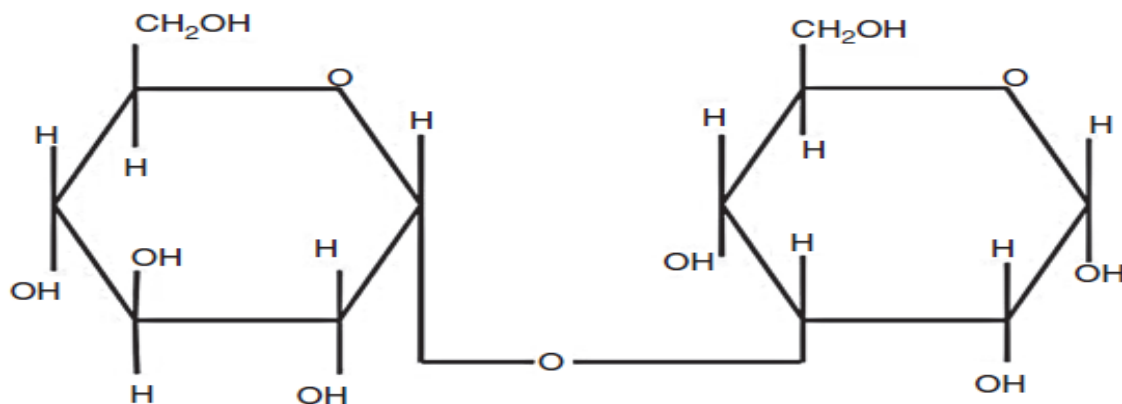


Figura 12. Conformación de las α -glucanas, donde se observa la estructura de la D-glucosa unida por enlaces de tipo α -1,4-glucosil en este caso (imagen tomada de Lara et al, 2014).

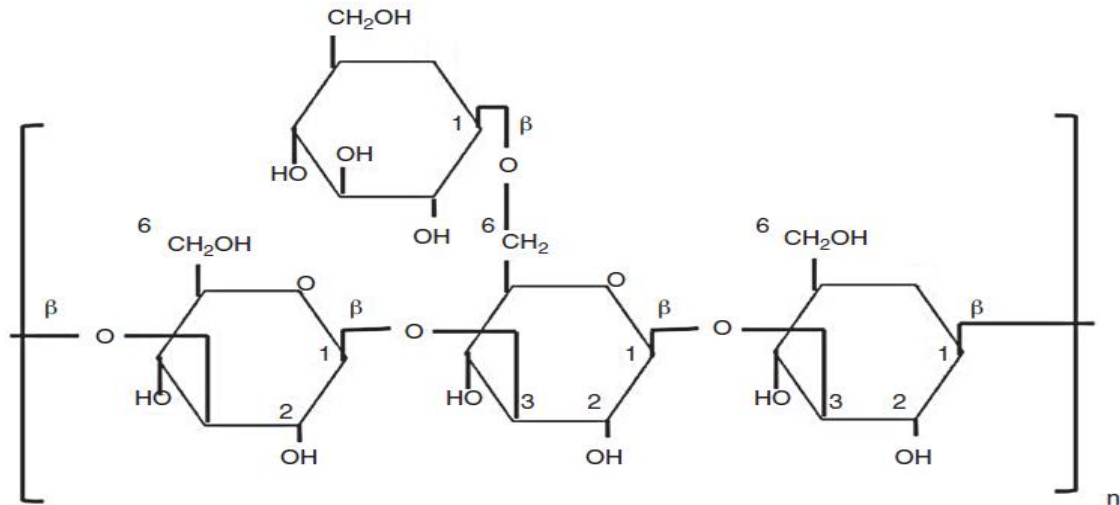


Figura 13. Conformación de las β -glucanas, compuesta por unidades repetidas de D-glucosa, donde se observa la estructura de la D-glucosa unida por enlaces de tipo β -1,3-glucosil con ramificaciones que se unen a la cadena principal mediante enlaces de tipo β -1,6-glucosil (imagen tomada de Lara et al, 2014).

La fase levaduriforme posee una pared celular más gruesa con más α -glucanas que constituyen cerca del 35-46 % del contenido total de carbohidratos, es rica en quitina con menos aminoácidos y manosa, y la fase micelial tiene por el contrario más β -glucanas y galactomananos, mayor proporción de manosa y menos contenido de quitina en comparación con la fase levaduriforme, por lo que se considera a la pared celular de la fase levaduriforme más virulenta que la pared celular micelial (ver Figura 14) (Lara et al, 2014).

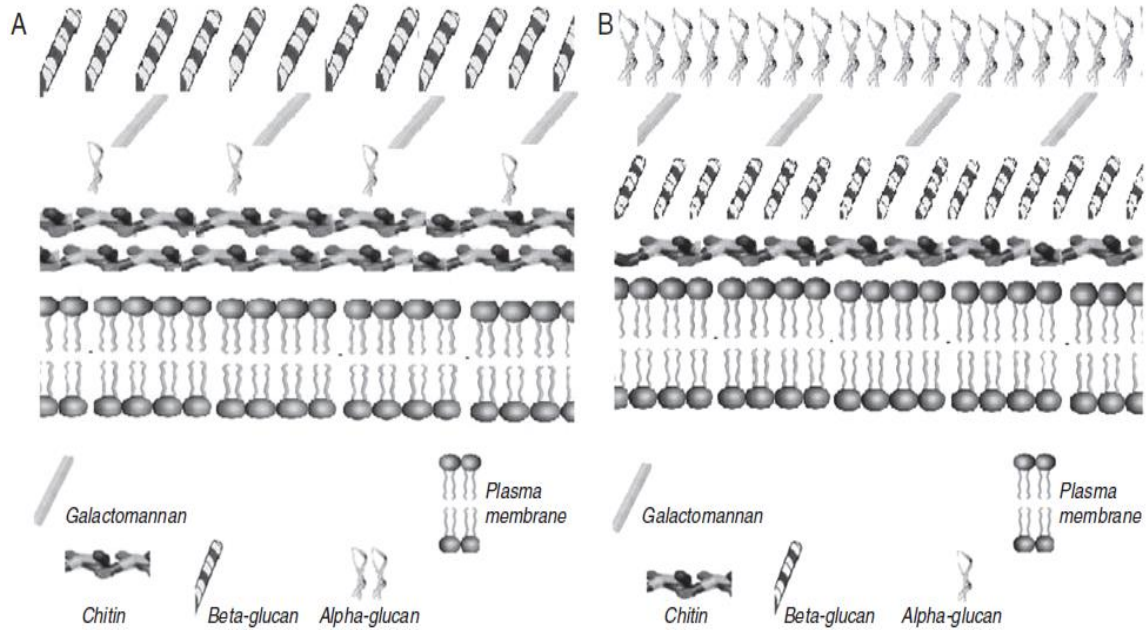


Figura 14. La imagen A de la izquierda se observa la composición de la pared y la membrana celular de *Histoplasma* spp. en fase micelial y la imagen B a la derecha corresponde a la fase levaduriforme del quimiotipo II (imagen tomada de Lara et al, 2014).

Las α -1,3-glucanas son consideradas factores de virulencia importantes de *Histoplasma capsulatum*, mientras que las β -1,3-glucanas poseen propiedades antigénicas que modulan la respuesta inmune del hospedero (Gorocica et al, 2009). La forma de las β -glucanas más activa inmunológicamente es aquella que tiene más ramificaciones o cadenas laterales unidas por enlaces β -1,6-glucosídicos a la cadena principal, ya que la longitud de las cadenas laterales más que la longitud de la cadena principal determina la actividad del sistema inmune del hospedero (Lara et al, 2014).

Cabe destacar que *Histoplasma capsulatum* es capaz de regular el contenido de α -1,3-glucanas, así como de los otros polisacáridos de acuerdo con las condiciones ambientales, composición del medio de cultivo, tipo de cepa y métodos de extracción (Lara et al, 2014).

Basados en la concentración de α -1,3-glucanas en la pared de la levadura, estas se pueden clasificar en el quimiotipo I y el quimioitipo II. La pared celular del quimiotipo

II contiene una combinación de α -glucanas y β -glucanas, pero siempre con predominio de α -glucanas que forman una capa de polisacáridos superior que cubre los demás polisacáridos como las β -glucanas, mientras que el quimiotipo I contiene solo β -glucanas, pero contiene más quitina y menos glucanas en comparación con el quimiotipo II (Gorocica et al, 2009 y Ray y Rappleye, 2018).

Es interesante mencionar que el único grupo filogenético de *Histoplasma capsulatum* encontrado hasta el momento que no es capaz de expresar las α -1,3-glucanas en su superficie es decir que pertenece al quimiotipo I, es el Clado Norteamericano 2 (NAM 2 o *Histoplasma ohiense*), lo cual correlaciona con su virulencia la cual es menor en comparación a los Clados A y B Latinoamericanos (LAM A y LAM B), pero de igual manera, aunque el Clado NAM 2 carece de α -glucanas en su pared, es capaz de restringir la exposición de las β -glucanas como por ejemplo mediante la endoglucanasa Eng1, por lo que igual demuestra virulencia (Hoolbrook y Rappleye, 2008 y Ray y Rappleye, 2018).

Ambos quimiotipos exhiben una cinética de infección diferente en modelos murinos a altas dosis, donde el quimiotipo II mata más rápido a los macrófagos lo que resulta en un curso de la infección más rápido en comparación con el quimiotipo I que más bien alcanza una carga fúngica mucho mayor, pero de igual manera, logra matar a los macrófagos, pero más lentamente (Ray y Rappleye, 2018).

Ambos quimiotipos poseen mecanismos para la evasión del reconocimiento por parte del receptor Dectina-1 que era el Receptor de Lectina Tipo C capaz de desencadenar una respuesta proinflamatoria que controla la infección (Ray y Rappleye, 2018).

La unión de los Patrones Moleculares Asociados a Patógenos o PAMP's (por sus siglas en inglés de Pathogen Associated Molecular Patterns) fúngicos a los respectivos receptores permiten la internalización de la levadura mediante la fagocitosis y se desencadena una cascada de señales proinflamatorias en las células inmunes como los linfocitos CD4+ de tipo TH₁ que permiten la producción de mediadores inflamatorios como los leucotrienos, además de TNF- α , la óxido nítrico sintasa inducible, MIP-2 (quimioquina involucrada en la quimiotaxis y

activación de neutrófilos ante infección) y el peróxido de hidrógeno por parte de los macrófagos y se da el reclutamiento de leucocitos (Gorocica et al, 2009, Lara et al, 2014 y Ray y Rappleye, 2018).

Ligando Señuelo, la máscara de α -glucanas

A pesar de todos los mecanismos microbicidas del macrófago inducidos por el reconocimiento antigénico, la levadura evita su eliminación mediante las α -1,3-glucanas de superficie del quimiotipo II, ya que la cubierta externa de α -glucanas enmascara las β -glucanas y la quitina que son los inmunoestimuladores. Además, también se unen a receptores como la Dectina-1 sin desencadenar la respuesta inmune actuando como un ligando señuelo, por tanto, no hay reconocimiento por parte de los receptores que reconocen las β -glucanas, consecuentemente se anula la respuesta inmune innata del huésped, pero se considera que este mecanismo de evasión no es perfecto ya que se ha visto que receptores como el CR3, la Lactosilceramida y el SR (por sus siglas en inglés de Scavenger Receptor) sí logran interactuar con las β -glucanas, por lo que la inhibición de la respuesta inmune innata por parte de las α -glucanas podría ser anulada por otros receptores (Gorocica et al, 2009, Lara et al, 2014 y Ray y Rappleye, 2018).

Estudios en levaduras de *Histoplasma capsulatum* genéticamente modificadas para inhibir la expresión de las α -1,3-glucanas mediante la depleción o delección del gen *Ags1* que codifica para la α -glucano sintasa, han demostrado que estas cepas disminuyen su capacidad para establecer una infección en pulmones en modelos *in vivo*, también se ha visto que al inhibir este gen en el quimiotipo I que naturalmente no posee α -1,3-glucanas, resulta no generar un efecto en su virulencia confirmando que estas levaduras del quimiotipo I no pueden enmascarar las β -glucanas con las α -glucanas (Ray y Rappleye, 2018).

Además, las células fagocíticas a las que se les ha inhibido la expresión de la Dectina-1, tienen una capacidad limitada de producir TNF- α al ser expuestos a las levaduras con menor expresión de α -glucanas en su pared que deja expuestas las β -glucanas, como por ejemplo en el quimiotipo I, evidenciando que este receptor media el reconocimiento al interactuar con las β -glucanas (Ray y Rappleye, 2018).

Las α -1,3-glucanas, contribuyen también a la latencia intracelular de la levadura además de regular la proliferación del microorganismo dentro del fagolisosoma, también reducen la producción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) producido por la célula infectada (Lara et al, 2014).

A diferencia de las α -1,3-glucanas que no son reconocidas por los receptores de β -glucanas celulares, las glucanas insolubles (β -1,3-glucanas y β -1,6-glucanas) al ser reconocidas por estos receptores activan los macrófagos para que produzcan citoquinas proinflamatorias como la IL-8 y el TNF- α que participan en la patogenia de la enfermedad y favorecen el control de la infección (Gorocica et al, 2009 y Lara et al, 2014).

Por su parte se sabe que hay β -glucanas solubles (algunas β -1,3-glucanas y β -1,4-glucanas) que tienen la capacidad de unirse a otros receptores no Dectina-1 de los macrófagos y de las células dendríticas, pero generando más bien que no se active la respuesta inmune, por lo que estas β -glucanas solubles pueden ser también ligandos señuelos que bloquean receptores (Lara et al, 2014).

Endoglucanasa Eng1

El hongo también es capaz de secretar endoglucanasas conocidas como Eng1, que son miembros de la familia de las glicosil hidrolasas 81 (GH81). Esta enzima es una glucanasa extracelular de la fase levaduriforme con especificidad por los enlaces glucosídicos β -1,3 que hidroliza y remueve las β -glucanas expuestas en la superficie que pueden ser reconocidas por la Dectina-1, por lo que se reduce la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de las células fagocíticas al no reconocer este antígeno (Garfoot et al, 2016 y Ray y Rappleye, 2018).

Autores como Garfoot et al (2016) analizaron el proteoma de *Histoplasma capsulatum* por métodos bioinformáticos y encontraron la presencia de otros genes que codifican para Endoglucanasas como por ejemplo los genes ENG3, SUN1, BGL2, BGL3, BGL4 y BGL5 que corresponden a glicosil hidrolasas de la familia GH16, GH17, GH81 y GH132. Sin embargo el gen ENG1 que codifica por la Eng1 es la que está en mayor cantidad en la fase levaduriforme por tanto es la que tiene el rol más importante en la patogénesis (Garfoot et al, 2016).

Es importante mencionar que cuatro de los genes que codifican para Endoglucanasas, específicamente los ENG3, BGL2, BGL4 y SUN1, se encuentran también en la fase micelial, por lo que se cree que las Endoglucanasas podrían tener un papel importante en la biología del hongo (Garfoot et al, 2016).

Se ha visto *in vitro* que la enzima Eng1 no es necesaria para el crecimiento del hongo ni para la separación entre célula madre e hija durante el proceso de gemación, ya que enzimas homólogas a la Eng1 de otras levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans*, sí son necesarias para que se efectúe esta separación, además, en estas levaduras la enzima se encuentra en la pared celular, en cambio, *Histoplasma capsulatum* sí tiene la capacidad de secretar la enzima (Garfoot et al, 2016).

En cepas a las que se le inhibe la expresión del gen que codifica para la enzima mediante ARNi (ARN de interferencia), presentan menor virulencia *in vivo* en la fase de la inmunidad celular, donde se evidencia un incremento en la producción de TNF- α e IL-6 por parte de las células dendríticas y los macrófagos (Garfoot et al, 2016).

Cuando las levaduras se dividen rápidamente pueden quedar remanentes de β -glucanas en la superficie debido al agotamiento de la Eng1, por lo que en ese momento las levaduras quedan expuestas al reconocimiento por parte de la Dectina-1, evidenciando que este mecanismo de evasión inmune tampoco es infalible (Ray y Rappleye, 2018).

En el caso del quimiotipo II, el cual contiene α -glucanas en su superficie, se ha visto que el efecto de reducir el reconocimiento de las β -glucanas por parte de la máscara de α -glucanas de superficie y la acción de endoglucanasa Eng1 que remueve β -glucanas remanentes, es aditivo, teniendo mayor aporte la máscara de α -glucanas de la superficie, ya que se ha comprobado que en cepas del quimiotipo II al inhibirles la expresión de la Eng1, estas tienen menos incremento en la unión del ligando-receptor (unión de β -glucanas a Dectina-1), que cuando se inhibe la expresión de las α -glucanas de la máscara, que resulta en mayor incremento de la unión entre ligando-receptor cuando ambos mecanismos están inhibidos (Ray y Rappleye, 2018).

Los estudios efectuados por Garfoot et al (2016) demuestran que el aporte de la Eng1 en la reducción del reconocimiento de la Dectina-1 hacia las β -glucanas es de 1/3, mientras que la máscara de α -glucanas aporta 2/3 del efecto (Garfoot et al, 2016).

En la fase levaduriforme también se ha identificado otra enzima como lo es la β -1,3-exoglucanasa llamada Exg8 que también es una glicosil hidrolasa, pero se ha visto que no tiene un efecto relevante en la virulencia del hongo (Shen y Rappleye, 2017).

Otros Componentes de la Pared Fúngica

Otros componentes de la pared son la quitina y las mananas. La quitina es un glicano lineal compuesto de β -1,4-N-acetil-D-glucosamina, por su parte las mananas son polímeros lineales de manosa unidos a proteínas conocidas como manoproteínas (Lara et al, 2014). Las fibras de quitina poseen diferentes arreglos dentro de la pared que varían entre la fase micelial y la fase levaduriforme y se cree que estas podrían tener un efecto inmunomodulador en los macrófagos al inmunosuprimir o activar mecanismos antimicrobianos dado por el aumento en la producción de óxido nítrico (Gorocica et al, 2009).

Otros carbohidratos de la pared que tienen propiedades antigénicas son los galactomananos de la fase micelial del hongo. Se ha visto que estos polisacáridos, en modelos animales como los cerdos de guinea, inducen una respuesta de hipersensibilidad e inhiben la liberación del Factor Inhibidor de Migración de Macrófagos o MIF (por sus siglas en inglés de Macrophage Migration Inhibitory Factor). También se cree que el complejo de galactomananos podría estar involucrado en la protección del hongo contra su propia enzima, la serina-tiol proteasa que juega un papel importante en la diseminación del microorganismo a través de la matriz extracelular (Gorocica et al, 2009).

La pared fúngica contiene una baja proporción de lípidos, de los cuales se unen a carbohidratos mostrando una heterogeneidad estructural. Para autores como Gorocica et al (2009), las modificaciones de los esfingolípidos de la pared de *Histoplasma capsulatum* podrían ser relevantes para su ciclo de vida, morfogénesis, crecimiento e interacción patógeno-hospedero (Gorocica et al, 2009).

Gorocica et al (2009), plantean que la glicosilinositol fosforilceramida de la pared del hongo presente tanto en la fase micelial como en la fase levaduriforme podría ser importante para su supervivencia (Gorocica et al, 2009).

Se ha visto que un componente de la superficie celular de *Histoplasma capsulatum* no identificado, tiene la habilidad de unirse a los eritrocitos humanos y aglutinarlos al interaccionar con los receptores de Lectina Tipo C (CLR), habilidad que es considerada por Gorocica et al (2009) como implicada en la diseminación del microorganismo y la patogénesis de la enfermedad (Gorocica et al, 2009).

Modulación y supervivencia ante los mecanismos microbicidas de los fagocitos

Maniscalchi y Lemus (2006) consideran la histoplasmosis como una enfermedad del sistema fagocítico mononuclear debido a la evasión de los mecanismos microbicidas al ser fagocitado el microorganismo, por lo que estos mecanismos son considerados un factor de virulencia importante (Maniscalchi y Lemus, 2006).

En fagocitos no profesionales, *Histoplasma capsulatum* tiene la capacidad de entrar a la célula y multiplicarse porque los mecanismos microbicidas de estas células no son suficientes para eliminar al hongo, ya que el hongo cuenta con estrategias para evadir esos mecanismos, pero de igual manera estas estrategias también le van a permitir evadir los mecanismos de los fagocitos profesionales (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Al ser fagocitado *Histoplasma capsulatum*, se activa una reprogramación transcripcional y traduccional en el hongo que favorece su supervivencia dentro de la célula fagocítica. Se expresan diferentes genes al pasar a la fase levaduriforme como por ejemplo el gen YPS3 que se expresa al tercer día de la transformación que codifica para la proteína Yps3 de la pared celular de la levadura producida solo en algunas cepas. La Yps3 es una proteasa aspártica perteneciente a la familia de proteinasas yapsina que se relaciona al mantenimiento y crecimiento de la pared celular del hongo. La Yps3 es reconocida por el TLR-2 del fagocito induciendo una respuesta inflamatoria, por lo que las cepas que carecen de este antígeno tienen

una ventaja en el sentido de que no despiertan esta respuesta (González et al, 2012; Ray y Rappleye, 2018 y Sánchez, 2009).

También se expresan proteínas de choque térmico como la Hsp70 y la Hsp82, específicamente al momento del cambio hacia la morfología levaduriforme, que se involucran con cambios en la concentración de ácidos grasos saturados e insaturados de la membrana celular del hongo y junto a la Hsp60, permiten establecer la homeostasis térmica en respuesta al cambio de temperatura del hospedero, por lo que estas chaperonas van a permitir aumentar la tolerancia térmica posibilitando que las proteínas del hongo se plieguen correctamente y que los complejos proteicos se transporten y se ensamblen adecuadamente (Boyce y Andrianopoulos, 2015; González et al, 2012; Ray y Rappleye, 2018 y Sánchez, 2009).

La internalización del hongo en la célula fagocítica es un mecanismo para evadir las condiciones extracelulares adversas, donde el tiempo de internalización es de 15 a 60 minutos, como máximo 180 minutos, lo cual es un tiempo bastante prolongado en comparación con otros microorganismos que utilizan esta misma estrategia como por ejemplo *Mycobacterium tuberculosis*, por lo que se considera a las levaduras de este hongo como resistentes a las condiciones adversas extracelulares. Por otro lado, la permanencia de la levadura en el ambiente intracelular es también largo, alrededor de 10 horas, que también se considera un mecanismo de escape ante la adversidad del ambiente extracelular mientras el microorganismo logra diseminar (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Se cree por estudios *in vitro* en modelos murinos, que *Histoplasma capsulatum* es capaz de retrasar la fusión del fagosoma con el lisosoma dependiendo de la cantidad de inóculo del patógeno, por lo que hay menor probabilidad de fusión con el lisosoma conforme aumenta la duración de la fagocitosis debido a la cantidad del inóculo, además también se piensa que el patógeno puede modular el pH del fagolisosoma permitiéndole prosperar, ya que puede aumentar el pH y mantenerlo entre 6.0 a 6.5 debido a que a más de 6.5 se da la privación de hierro que también podría inhibir su crecimiento (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Al ser fagocitada la levadura, se expresa el gen HCL1 que codifica para la HMG CoA liasa (Hidroximetilglutaril Coenzima A liasa) que es la enzima que se cree que previene la acidificación del fagosoma en el macrófago ya que se ha visto que en levaduras mutantes que carecen de la expresión de esta enzima, presentan un defecto en el crecimiento en los macrófagos, donde además se encontró un aumento en la acidificación del fagosoma de los macrófagos infectados, pero se mantiene desconocido como es el mecanismo por el cual la enzima previene la acidificación pero se piensa que podría ser porque bloquea la vía de biosíntesis de leucina (Boyce y Andrianopoulos, 2015).

Se hipotetiza también que la alteración del pH puede ser debida más bien a la propia H⁺ATPasa vacuolar del macrófago que es la encargada de mantener el pH ácido del fagosoma, donde se sugiere que el hongo neutraliza el efecto de la ATPasa o la excluye o la inhibe directamente por interacción o aumento de la degradación de la enzima, además se piensa que puede evitar la fusión de las vesículas que contienen la ATPasa con el fagosoma, acidificando por su propia cuenta un poco el medio para mantener el pH en 6.5 de modo que le permita sobrevivir al disminuir la actividad de las hidrolasas lisosomales que se activan a pH ácido pero a la misma vez obtener hierro a partir de las transferrinas (López, 2006 y Maniscalchi y Lemus, 2006).

Por el contrario, estudios anteriores postularon que esta ATPasa vacuolar que generalmente genera el pH ácido de los fagosomas no participa en la alteración del pH fagosomal durante la infección del hongo, ya que experimentalmente se observó que al agregar Bafilomicina (que es un inhibidor de esta ATPasa) a fagocitos con fagosomas infectados con *Histoplasma capsulatum*, no se afectó el crecimiento intracelular de la levadura ni tampoco el pH fagosomal. En cambio, al agregar Bafilomicina a fagocitos con fagosomas que contienen levaduras de *Saccharomyces cerevisiae*, el pH cambió de 5.0 a 7.0. También se observó que los fagosomas que contienen a *Histoplasma capsulatum* poseen 5 veces menos ATPasa vacuolar que los fagosomas que contienen a *Saccharomyces cerevisiae*. Por lo que se cree que *Histoplasma capsulatum* podría reclutar otras proteínas a la

membrana como por ejemplo la Na^+/K^+ ATPasa, para activar el Intercambiador de Na^+/H^+ (NHE) del fagosoma (que es otra proteína de la membrana del fagosoma) para que este acidifique el pH del fagosoma, por tanto, la levadura por mecanismos aún no conocidos, alcalinizaría el pH del fagosoma de modo que logre mantenerlo entre 6.0 a 6.5. Otra teoría es que la levadura acidifica el pH fagosomal por mecanismos propios aún no conocidos manteniendo un delicado balance entre la inactivación de las hidrolasas y la adquisición de hierro que lo realizaría mediante sensores de pH que le permitirían monitorear el pH intrafagosomal para responder adecuadamente ante cualquier cambio (Newman, 1999).

Cabe destacar que los macrófagos también intentan eliminar a la levadura por otros mecanismos diferentes a la acidificación del fagosoma, como por ejemplo el estallido respiratorio donde se cataliza el paso del oxígeno molecular a anión superóxido mediante la NADPH Oxidasa y se convierte en peróxido de hidrógeno, ácido hipocloroso y radicales hidroxilos, mediante la superóxido dismutasa y la mieloperoxidasa (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Se cree que la levadura también tiene la capacidad de producir fallos en el estallido respiratorio de la célula fagocítica por la inhibición de la Protein Kinasa C (PKC) que participa en la regulación de la maduración del fagosoma, específicamente su isoenzima PKC- α que juega un papel importante en la regulación de la función macrofágica innata en el control de infecciones por microorganismos intracelulares. En modelos murinos infectados con levaduras opsonizadas se ha visto que estimulan el estallido respiratorio, al igual que en modelos con neutrófilos humanos infectados con levaduras opsonizadas, por lo que se plantea que el patógeno modula el estallido respiratorio de forma diferente al ser fagocitado cuando está opsonizado (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Histoplasma capsulatum es capaz de producir factores neutralizadores de los ROS como lo son la catalasa y la superóxido dismutasa, de modo que es capaz de eliminar estos compuestos secretados tanto por los neutrófilos como por los macrófagos (Ray y Rappleye, 2018), específicamente el hongo produce la Sod3

superóxido dismutasa y la CatB catalasa, además de la Proteína tipo Tioeredoxina (TrI3) (Boyce y Andrianopoulos, 2015 y Garfoot et al,2016).

El efecto de la Sod3 genera peróxido de hidrógeno a partir del anión superóxido que es eliminado por la CatB del *Histoplasma capsulatum* produciendo agua (ver Figura 15). La CatB al igual que Sod3 solo son producidos por la fase levaduriforme. Cabe destacar que la Sod3 es secretada por la levadura y una pequeña porción se asocia a la superficie de la levadura, por lo que la enzima es capaz de neutralizar el superóxido producido por polimorfonucleares y macrófagos, pero no así el estrés oxidativo a nivel citosólico. La CatB también es responsable de la actividad extracelular contra el estrés oxidativo al igual que la Sod3, pero se ha identificado otra catalasa, la CatP que es una catalasa peroxisomal que detoxifica el peróxido producto del catabolismo de los ácidos grasos del hongo que más bien se encarga de la actividad contra el estrés oxidativo a nivel intracelular. (Shen y Rappleye, 2017).

Shen y Rappleye (2017) hipotetizan que el estrés oxidativo intracelular al que se enfrenta la levadura durante la parasitación del hospedero es despreciable en comparación al estrés oxidativo extracelular, ya que se ha visto que al inhibir la expresión de la CatP en cepas del hongo, su virulencia no se atenúa al infectar ratones, pero sí lo hace si se inhibe la expresión de la CatB o la Sod3 (Shen y Rappleye, 2017).

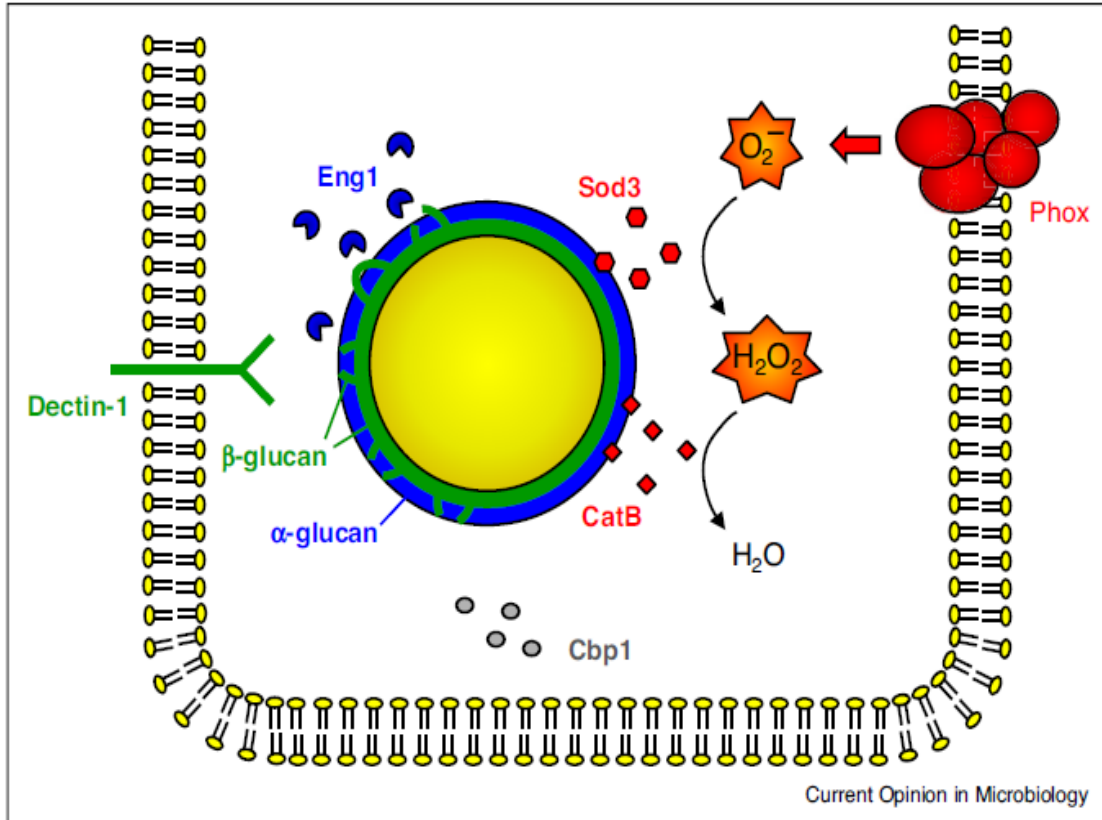


Figura 15. Evasión de los mecanismos microbicidas de la fagocitosis por parte de las levaduras de *Histoplasma capsulatum*. La máscara de α -glucanas y la endoglucanasa disminuye el reconocimiento de las β -glucanas por parte de la Dectina-1 por tanto el desarrollo de una respuesta proinflamatoria. La Sod3 y CatB protegen al microorganismo de las especies reactivas de oxígeno producto del complejo NADPH oxidasa celular (Phox) de los fagocitos. También las levaduras expresan la Cbp1 ante bajas concentraciones de calcio para quelarlo y ponerlo a disposición del hongo (imagen tomada de Shen y Rappleye, 2017).

Es interesante mencionar que los polimorfonucleares de pacientes con la Enfermedad Granulomatosa Crónica que carecen de la producción de anión superóxido presentan una actividad fungistática parecida al efecto ejercido por los polimorfonucleares provenientes de pacientes sanos (Ray y Rappleye, 2018).

En el caso de las especies reactivas del nitrógeno o RNS (por sus siglas en inglés de Reactive Nitrogen Species), se ha visto que *Histoplasma capsulatum* interfiere con la actividad de la Óxido Nítrico Sintasa Inducible (iNOS), por tanto, puede detoxificar o suprimir especies reactivas de nitrógeno. También posee el citocromo

P450 reductasa codificado por el gen *nor1* que se cree que participa en la detoxificación del Óxido Nítrico (Boyce y Andrianopoulos, 2015 y Brunke et al, 2016).

Enzimas y Sideróforos necesarios para sobrevivir ante la limitación nutricional

La parasitación intracelular en el macrófago también implica para la levadura un desafío en su metabolismo debido a la falta de elementos traza como el hierro, el zinc y el calcio (Boyce y Andrianopoulos, 2015).

La adquisición de hierro por parte de *Histoplasma capsulatum* es crítica para lograr su crecimiento en los tejidos ya que es un cofactor importante para la síntesis de metaloenzimas, catalasa y citocromos, metabolismo de aminoácidos y ácidos nucleicos relacionado al crecimiento del hongo (Álvarez et al, 2013).

La escasez de concentración de hierro en el ambiente como los tejidos y el plasma constituye un mecanismo de protección del hospedero contra el hongo (Agiato, 2002), y esto lo logra gracias a las proteínas de unión al hierro de alta afinidad que corresponden a la transferrina y a la ferritina, que secuestran intracelularmente el hierro para que no pueda ser utilizado por *Histoplasma capsulatum*, además al darse una respuesta proinflamatoria, se produce IFN- γ que disminuye la expresión de los receptores para transferrina de la superficie celular de la célula por lo que restringe la disponibilidad intracelular del hierro (Boyce y Andrianopoulos, 2015).

Es interesante destacar que *in vitro*, el IFN- γ inhibe la proliferación intracelular de *Histoplasma capsulatum*, pero al agregar transferrina saturada con hierro, la inhibición de la proliferación se revierte. También se ha visto que al agregar quelantes como la Deferoxamina, se inhibe el crecimiento intracelular de la levadura, pero de igual manera al agregar transferrina se revierte el efecto (Boyce y Andrianopoulos, 2015).

Como ya se mencionó, la limitación del hierro en el ambiente intracelular se debe a que, durante la respuesta inmune adaptativa de la histoplasmosis, el IFN- γ producido induce la disminución de la expresión de receptores de transferrina de la

célula parasitada de modo que reduce la disponibilidad de hierro para el hongo (ver Figura 16). Esta limitación de hierro hace que se expresen varios genes en *Histoplasma capsulatum* (sid1, sid3, sid4, nps1, oxr1, msf1 y abc1) relacionados con la biosíntesis de sideróforos y transporte y utilización del hierro. La expresión de estos genes va a estar regulada por la proteína Sre1 que es un factor de transcripción GATA. En condiciones de abundancia de hierro, el factor de transcripción GATA Sre1 reprime la expresión de los genes relacionados a la síntesis de sideróforos y adquisición de hierro. Un ejemplo de estos genes es el gen sid1 que codifica para la L-ornitina monooxigenasa que es necesaria para catalizar el primer paso de la producción de sideróforos. Se ha visto que cuando se inhibe el gen sid1 en cepas del hongo produce defecto en el crecimiento al exponerse a ambientes con limitaciones de hierro. Además, es importante mencionar que, ante un ambiente rico en hierro, se induce también la expresión de las catalasas CatB y CatP para proteger a la levadura del estrés oxidativo relacionado al hierro (Boyce y Andrianopoulos, 2015; Newman y Smulian, 2013 y Shen y Rappleye, 2017).

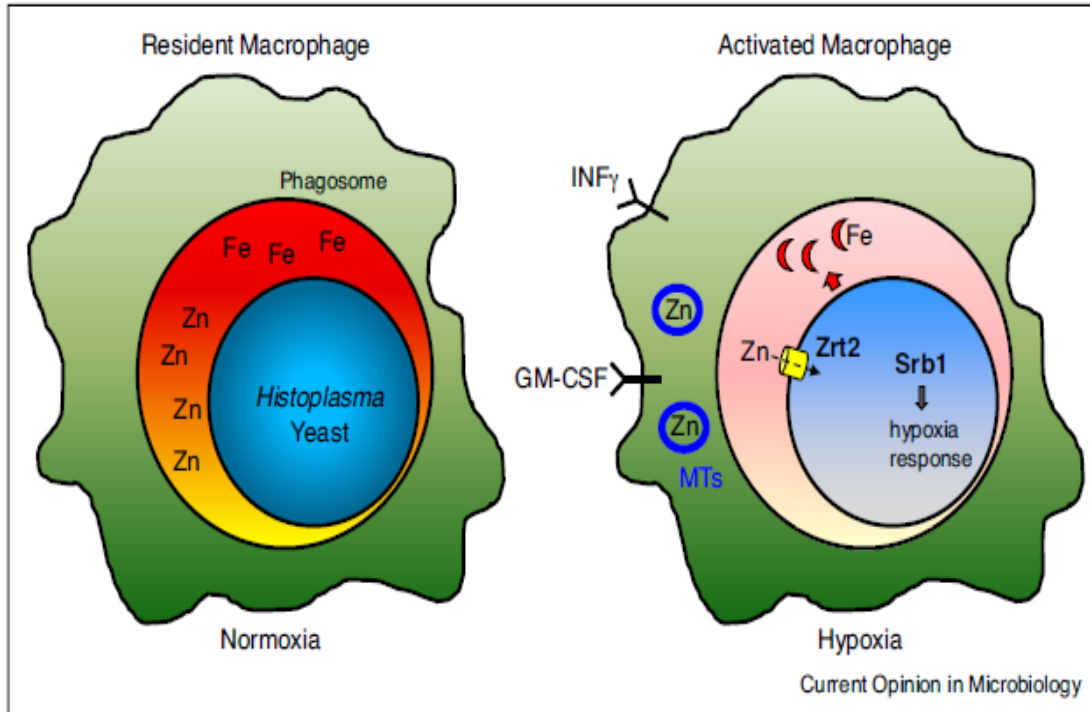


Figura 16. Respuesta de *Histoplasma capsulatum* ante la deprivación de hierro y zinc intracelular e hipoxia. Producto del IFN- γ y el GM-CSF producidos en la respuesta inmune tardía, se genera en el macrófago activado una disminución de receptores de transferrina en el fagocito y una redistribución de zinc hacia el aparato de Golgi y metalotioneínas, por lo que el hongo expresa sideróforos para adquirir hierro y el transportador de zinc Zrt2, para adquirir zinc. También ante la hipoxia, la levadura produce el factor de transcripción Srb1 para expresar genes HRG de sobrevivencia ante hipoxia (imagen tomada de Shen y Rappleye, 2017).

Autores como Agiata (2002) sugieren que, a partir de estudios previos, se ha visto que *Histoplasma capsulatum* es capaz de adquirir hierro de la transferrina cuando se encuentran en el medio intracelular en macrófagos, mediante un sistema de transporte mediado por sideróforos, al igual que a partir de la hemina la cual se considera la principal fuente de hierro intracelular para el hongo, donde se cree que su utilización y la internalización del hierro al microorganismo se da por un sistema mediado por proteínas de unión a la hemina de superficie del hongo que se expresa ante la exposición del microorganismo a un medio con escasez de fuente de hierro. Se sugiere que la capacidad del hongo de unir la hemina a su superficie podría estar dada por dos objetivos: internalizar la molécula entera o acercar la hemina a reductasas en su pared que le permiten reducir el hierro férrico (Fe^{3+}) a hierro

ferroso (Fe^{2+}) para poder ser utilizado e integrado mediante permeasas sin el anillo de porfirina (Agiato, 2002).

Esta actividad reductasa de *Histoplasma capsulatum* está dada por la presencia de un complejo enzimático con actividad γ -glutamyltransferasa (GGT) y actividad de reductasa férrica dependiente de glutatión (GSH-FeR). El complejo permite enzimáticamente escindir el glutatión (GSH), donde un grupo tiol del dipéptido liberado reduce el hierro férrico (Fe^{3+}) a hierro ferroso (Fe^{2+}) lo que le permite a la levadura adquirir el hierro. Cabe destacar que esta reacción le da una ventaja al hongo ya que se efectúa en un amplio rango de pH. Al inhibir la expresión de los genes involucrados en la expresión del complejo enzimático en cepas de *Histoplasma capsulatum* mediante ARNi (ARN de interferencia), resulta en una replicación más lenta dentro del macrófago en comparación con las cepas a las que se les sobreexpresa el gen GGT1 que codifica para la enzima Ggt1 (γ glutamyltransferasa) que es parte del complejo (Newman y Smulian, 2013).

También el hongo podría utilizar otras fuentes de hierro como por ejemplo el hemo, la hemosiderina y la ferritina que son otras formas de almacenar el hierro en las células. Se ha observado que, en cultivo con limitaciones de hierro, el hongo también es capaz de utilizar la hemoglobina como fuente de hierro (Agiato, 2002).

Otro mecanismo que se sugiere para explicar cómo *Histoplasma capsulatum* adquieren hierro del ambiente intracelular es la secreción de reductasas férricas, las cuales le permiten al hongo reducir el hierro de la transferrina y de los sideróforos de hidroxamato producidos por el mismo hongo para poder ser integrado a la levadura. Adicionalmente, se ha visto que, al cultivar el hongo en medios de cultivo con baja concentración de hierro, este es capaz de producir otros compuestos quelantes de hierro como por ejemplo el coprogeno B y la fusarina (Newman y Smulian, 2013).

Estudios de alineamiento de secuencias mediante programas informáticos como BLAST, muestran que algunas cepas de *Histoplasma capsulatum* poseen secuencias genéticas homólogas a los genes FET1 y FET3 de *Saccharomyces cerevisiae* que codifican para una permeasa férrica y el complejo de oxidasa

multicobre, respectivamente. Esto puede implicar que este complejo le sirva a la levadura de algunas cepas para adquirir hierro de su entorno siendo un importante factor de virulencia comprobado en otros hongos en el cual el complejo está presente como por ejemplo *Candida albicans* (Newman y Smulian, 2013).

Ante la respuesta inmune tardía contra la histoplasmosis, se va a producir también el GM-CSF (Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos y Macrófagos) (ver Figura 16), que va a activar los macrófagos y va a producir el secuestro de zinc, de modo que ya no va a estar disponible para la levadura dentro del fagosoma. El secuestro de zinc por parte del fagocito se da mediante dos mecanismos: almacenamiento de zinc en el aparato de Golgi y su unión a proteínas de unión al zinc como las metalotioneínas. Ante la limitación de zinc, la levadura va a expresar el transportador de zinc Zrt2 que le va a permitir adquirir el zinc en bajas concentraciones en el fagosoma. Es importante mencionar que el Zrt2 no es necesario cuando la levadura se encuentra dentro de los macrófagos no activados en etapas tempranas de la infección, ya que el GM-CSF que activa los macrófagos se produce en etapas tardías de la respuesta inmune, cuando la inmunidad innata es activada (Shen y Rappleye, 2017).

El calcio es importante para el metabolismo de *Histoplasma capsulatum* ya que regula la homeostasis del hierro, la adaptación al pH, el metabolismo de la glucosa y la morfogénesis y desarrollo del hongo. Es importante mencionar que la fase micelial requiere mayor cantidad de calcio para su crecimiento, pero no así la levadura, por lo que se sugiere que la levadura se ha adaptado para vivir en ambientes de baja disponibilidad de calcio como lo es el fagolisosoma. El ambiente intracelular representa un compartimento de escasez de calcio para la levadura debido a que el exceso de Ca^{2+} citosólico se transporta a almacenes internos o externos donde ya no queda disponible para su utilización por parte de los microorganismos (Boyce y Andrianopoulos, 2015).

El hongo es capaz de producir sideróforos para adquirir el calcio. El gen CBP1 codifica para la proteína de unión al calcio Cbp1 que, se cree que por su estructura, es miembro de la familia de las saponinas de lípidos que unen proteínas. La Cbp1

es requerida por el hongo para parasitar macrófagos y se produce durante la fase de infección activa, por lo que se ha asociado a la supervivencia y a la infección pulmonar ya que la delección de este gen provoca que *in vitro* el hongo sea incapaz de colonizar y parasitar macrófagos del huésped. El gen CPB1 es expresado exclusivamente por la fase levaduriforme por lo que la Cbp1 se produce solo dentro del macrófago por ejemplo ante ambientes como el fagolisosoma. Entonces, esta proteína se expresa ante bajas concentraciones de calcio cuando el hongo se encuentra en este ambiente intracelular (Boyce y Andrianopoulos, 2015; Brunke et al, 2016; Chander, 2018; González et al, 2012 y Shen y Rappleye, 2017).

La Cpb1 se ha relacionado también a la muerte de los macrófagos, específicamente mediante la inducción de genes involucrados en apoptosis como la Trb3 (kinasa pro apoptótica) y el fenómeno de “estrés del retículo endoplásmico” (del inglés ER stress debido al aumento de la demanda de secreción proteica por una situación patológica donde el retículo endoplasmático no da abasto), pero se desconoce exactamente el mecanismo por el cual el hongo puede inducir apoptosis a las células (Shen y Rappleye, 2017).

Se ha descrito como factor de virulencia el producto del gen URA5 que codifica por la Orotato fosforribosiltransferasa (OPRTasa) que participa en la biosíntesis de las pirimidinas y ácidos nucleicos, ya que el hospedero representa un microambiente que proporciona un aporte nutricional limitado para el patógeno por lo que esta enzima es necesaria para que el hongo pueda sobrevivir (Fernández et al, 2011 y González et al, 2012).

Otros Genes, Coactivadores y Factores de Transcripción

Otro gen que se considera un importante factor de virulencia es el gen Hcp100 que codifica para una proteína de 100 kDa coactivadora de factores de transcripción de *Histoplasma capsulatum*, relacionada a la supervivencia de la levadura dentro del macrófago, donde se ha visto que se sobreexpresa 1 hora después del contacto del hongo con los macrófagos murinos (González et al, 2012).

Se cree que la Hcp100 cuenta con 4 dominios *staphylococcal nuclease* (SN) de aproximadamente 150 aminoácidos dispuestos en tándem que sirven para

interactuar con la maquinaria basal de la transcripción y un quinto dominio SN modificado de 200 aminoácidos que interactúa con el dominio tudor de la proteína de unión al ARN involucradas en la unión, transporte y metabolismo del ARN, que a su vez interactúan con componentes importantes del splicing del ARN como por ejemplo ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNP) y proteína nuclear SKIP (SKIIP) (González et al, 2012).

La composición multidominio de la proteína Hcp100 se asocia también a funciones esenciales como por ejemplo la unión al ADN y ARN que además al ser inducida en etapas tempranas de la infección, actúa como una proteína reguladora de la adaptación de *Histoplasma capsulatum* al ambiente interno del macrófago murino permitiendo que se exprese la virulencia del hongo (González et al, 2012).

También se tiene la Proteína de Unión al Elemento Regulador del Esterol de *Histoplasma capsulatum* o SREBP (por sus siglas en inglés de Sterol Regulatory Element Binding Protein) conocida como Srb1. Esta proteína es parte de la familia de factores de transcripción de unión al ADN que aumenta ante condiciones de hipoxia durante la infección al huésped como por ejemplo el ambiente del granuloma producto de la hipersensibilidad retardada de tipo IV, siendo crítica para la adaptación del hongo a este ambiente de hipoxia por lo tanto constituye un factor de virulencia importante (DuBois y Smulian, 2016).

Se ha visto que la Srb1 se relaciona al control de la expresión de genes involucrados en la biosíntesis de esteroides, lípidos y hemo, además de la activación de otros genes relacionados a la hipoxia como lo son los Genes Sensibles a la Hipoxia o HRG (por sus siglas en inglés de Hipoxia Responsive Genes) (DuBois y Smulian, 2016).

Se ha observado que al inhibir la expresión de la Srb1 en cepas del hongo, resulta un fenotipo incapaz de sobrevivir a la hipoxia *in vitro*, pudiendo ser eliminados por macrófagos murinos, por lo que se consideran cepas avirulentas para los modelos murinos aún al ser administrados en la dosis letal, además estas cepas muestran una hipersensibilidad al Itraconazol (DuBois y Smulian, 2016).

La maduración del ARNm de la Hsp82 y el spliceosoma también son importantes en la infección por *Histoplasma capsulatum*. La Hsp82 se identificó por primera vez en la cepa G222B de *Histoplasma capsulatum*, que es una cepa que se caracteriza por ser muy virulenta y termotolerante (Maresca y Kobayashi, 2000).

El gen de la Hsp82 contiene intrones y es bien sabido que los choques de calor afectan el metabolismo del ARN, que incluye el procesamiento del ARN, así como la degradación del ARNm. A temperaturas de 37 °C a 39 °C no se produce la maduración del ARN en microorganismos termosensibles, es decir, se acumulan en el citoplasma los intrones en el pre-ARN ya que se bloquea el fenómeno de splicing por la desestabilización del complejo spliceosoma-pre-ARNm, pero en el caso del ARNm de la Hsp82 de *Histoplasma capsulatum* sí se mantiene el fenómeno de splicing aún a temperaturas de 37 °C a 40 °C. Además, también se dice que el propio Spliceosoma de *Histoplasma capsulatum* es resistente a las altas temperaturas. (Minchiotti et al, 1991).

Esta característica es importante para la patogenicidad de *Histoplasma capsulatum* ya que la maquinaria que permite la maduración del ARNm debe mantenerse funcionando a la temperatura corporal del ser humano de modo que se permita el cambio morfológico y la sobrevivencia del hongo (Minchiotti et al, 1991).

7-RESPUESTA INMUNE

7.1-Inmunología de la histoplasmosis

Inmunidad Innata Humoral contra la Histoplasmosis

Numerosos péptidos solubles y proteínas representan una barrera de protección en las vías respiratorias, como por ejemplo la lisozima, la lactoferrina, las proteasas leucocitarias secretoras, la fosfolipasa A2, las defensinas y las catelicidinas, que son secretadas principalmente por las células epiteliales y las células de las glándulas submucosas de la vía aérea. Estas moléculas solubles efectoras son capaces de eliminar a los microorganismos al neutralizarlos o mediante la opsonización o por sus propios efectos microbicidas (Li et al, 2019).

Las defensinas, la lisozima y los péptidos antimicrobianos secretados por las células epiteliales son ejemplos de estos mediadores inflamatorios que constituyen un paso importante en la respuesta protectora ya que incluyen dentro de sus funciones el reclutamiento de células inflamatorias por tanto la generación directa de factores antimicrobianos (Li et al, 2019).

En modelos murinos se ha visto que hay dos isoformas de lisozima llamadas lisozima P que es expresada por las células de Paneth en el intestino delgado y la lisozima M expresada por los macrófagos alveolares y células epiteliales alveolares de tipo II, que además se encuentra en el lavado bronquio alveolar del pulmón. Estudios indican que tanto las defensinas como la lisozima están involucradas en la defensa del huésped contra las infecciones fúngicas respiratorias por lo que podrían jugar un papel en la inmunidad contra la histoplasmosis (Li et al, 2019).

Las Colectinas (Collagen Like o C-type Lectin) van a ser una línea de defensa importante contra la histoplasmosis. Por ejemplo, se tiene los surfactante SP-A y SP-D en pulmón que son producidos por las células alveolares de tipo II y las células epiteliales bronquiales no ciliadas conocidas como células de Clara en los bronquiolos terminales y conductos aéreos (Pandit et al, 2012).

El SP-A y el SP-D representan potentes compuestos fungicidas para las levaduras de *Histoplasma capsulatum* ya que mediante la unión dependiente de calcio de estas moléculas con el patógeno producen un aumento de la permeabilidad de la

pared celular y una inhibición de las capacidades biosintéticas del hongo al reducir la síntesis de proteínas, lo que se ha asociado con la pérdida de la capacidad de la replicación del hongo que consecuentemente produce la muerte. Además, el SP-A y el SP-D pueden modular el crecimiento y la viabilidad del hongo en presencia o ausencia de los macrófagos alveolares (Pandit et al, 2012).

Se ha visto que en ratones deficientes de SP-A e infectados con *Histoplasma capsulatum* presentan mayor carga fúngica en pulmones en comparación con los ratones normales infectados (Pandit et al, 2012).

También se ha evidenciado que el tamaño del inóculo no afecta la actividad de estas colectinas. Pero, es muy importante mencionar que tanto el SP-A como el SP-D fallan en inhibir el crecimiento de la levadura dentro de los macrófagos una vez han sido fagocitadas (Pandit et al, 2012), por lo que *Histoplasma capsulatum* evade la acción de las colectinas al entrar rápidamente a los macrófagos pulmonares (Gorocica et al, 2009).

A veces, las opsoninas son necesarias para que el hongo pueda ser fagocitado mediante el reconocimiento de receptores Tipo Lecitina C (CLR) o por receptores de opsonina como el receptor del Complemento CR3, además, en algunos casos el SP-A y el SP-D funcionan como los ligandos de estos receptores como por ejemplo para el receptor de manosa MR (CD206), que al opsonizar al patógeno estos receptores proporcionan un mecanismo para controlar la proliferación del hongo durante la fase preinflamatoria de la interacción patógeno-hospedero, por lo que inhiben el crecimiento de la levadura y eluden la agresividad de este (Gorocica et al, 2009).

Otras colectinas como la ficolina y la pentraxina son proteínas circulantes que pueden servir como opsoninas. Las células epiteliales alveolares de tipo II son capaces de secretar H-ficolina como una opsonina de la respuesta inmune innata involucrada en la defensa pulmonar contra infecciones fúngicas (Li et al, 2019).

Receptores Involucrados en el Reconocimiento de *Histoplasma capsulatum*

El reconocimiento de PAMP's por parte de células residentes como por ejemplo las células dendríticas, macrófagos y neutrófilos, con el posterior desencadenamiento de señales bioquímicas, va a ser muy importante en la reacción inmediata del huésped para lograr eliminar al patógeno, por lo que se va a ver involucrado una serie de receptores en estas células que van a permitir el reconocimiento antigénico de una serie de ligandos de *Histoplasma capsulatum* (ver Cuadro V).

Cuadro V. Células fagocíticas involucradas en la inmunidad innata contra *Histoplasma capsulatum*, y algunos de los receptores involucrados en el reconocimiento de los antígenos fúngicos (información tomada de Ray y Rappleye, 2018).

Célula Residente	Receptor	Tipo de Receptor	Ligando
Neutrófilos	CR1 o CD35	Receptor del Complemento	β -1,3-glucanas-C3b
	CR3 o CD11b/CD18	Receptor del Complemento	β -1,3-glucanas-C3bi
	Fc γ RIII o CD16	Receptor Fc de Inmunoglobulinas	IgG unidas a los antígenos fúngicos
	TLR2	Receptores de Tipo Toll	Zimosan, β -1,3-glucanas de la fase micelial
Macrófagos	TLR4	Receptores de Tipo Toll	mananas
	CR1 o CD35	Receptor del Complemento	β -1,3-glucanas-C3b
	CR3 o CD11b/CD18	Receptor del Complemento	β -1,3-glucanas-C3bi, Hsp60
	CR4 o CD11c/CD18	Receptor del Complemento	β -1,3-glucanas-C3bi
	Dectina-1	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	β -1,3-glucanas
	Dectina-2	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	α -manosa
	MR o CD206	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	Manosa
	DC-SIGN o CD209	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	Manosa
	TLR2	Receptor de Tipo Toll	Yps3 , Zimosan, β -1,3-glucanas de la fase micelial
	TLR4	Receptor de Tipo Toll	mananas
Células Dendríticas	VLA-5 (Alfa-5-beta-1)	Receptor de adhesión de la familia de las Integrinas que se une a fibronectina	CypA
	CR3	Receptor del Complemento	β -1,3-glucanas
	Dectina-1	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	β -1,3-glucanas
	Dectina-2	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	α -manosa
	MR o CD206	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	Manosa
	DC-SIGN	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	Manosa
	CLEC-1	Receptor de tipo Lectina C (CLR)	Ligando desconocido
	TLR2	Receptores de Tipo Toll	Zimosan, β -1,3-glucanas de la fase micelial
	TLR4	Receptores de Tipo Toll	mananas
	TLR7	Receptor de Tipo Toll	Ligando desconocido (probablemente material genético fúngico)
	TLR9	Receptor de Tipo Toll	Ligando desconocido (probablemente material genético fúngico)
	VLA-5 (Alfa-5-beta-1)	Receptor de adhesión de la familia de las Integrinas	CypA

Después del reconocimiento primario de *Histoplasma capsulatum*, cerca de la tercera semana a partir de la infección se presenta inmunidad mediada por linfocitos T con producción de citoquinas del tipo TH₁ que activa a los macrófagos y expresan receptores de la familia de las integrinas leucocitarias (LFA-1) para favorecer su migración al sitio de infección, también se expresan más receptores del complemento CR3 y CR4 (CD11/CD18), y receptores de tipo Lectina C como la Dectina-1 (ver Figura 17), donde tanto las levaduras como las microconidias se adhieren a los macrófagos y se liberan citoquinas como IL-2 e IL-12 generando reclutamiento de más macrófagos tisulares y monocitos (Ray y Rappleye, 2018 y Sánchez et al, 2010).

Las β -1,3-glucanas presentes en la fase micelial infectiva del hongo, tienen la capacidad de unirse a los receptores de Tipo Toll como el TLR2, receptores de Tipo Lectina C como la Dectina-1, receptores del Complemento como el CR3 (CD11b/CD18), moléculas de adhesión (Mac-1), colectinas como el SP-A y el SP-D, y proteínas de fase aguda de la inflamación como la pentraxina-3 secretadas o presentes en la superficie tanto de células fagocíticas profesionales como no profesionales como por ejemplo macrófagos, neutrófilos, células epiteliales y células dendríticas. Adicionalmente la Dectina-1 está presente en células NK y células T. También otros ligandos del hongo son capaces de ser reconocidos por otros receptores de estas células como lo son el TLR4, el receptor MR (CD206) y el receptor DC-SIGN (CD209) (Gorocica et al, 2009; Lara et al, 2014 y Ray y Rappleye, 2018).

Es importante mencionar, que en el caso del reconocimiento mediado por los receptores TLR2 y TLR4, no se va a desencadenar la fagocitosis del hongo, pero pueden desencadenar la señalización necesaria para la diferenciación celular (Lara et al, 2014).

Histoplasma capsulatum se acopla a estos receptores de las células fagocíticas para poder ser fagocitado, pero debe hacerlo sin despertar una señal por parte de los Receptores de Reconocimiento de Patrones o PRR's (por sus siglas en inglés de Pattern Recognition Receptor), por lo que se ha visto que el reconocimiento de

los PAMP's de *Histoplasma capsulatum* se da en menor grado que los PAMP's de otros hongos oportunistas, generando que la respuesta celular innata se vuelve inefectiva (Ray y Rappleye, 2018).

Por ejemplo, la levadura evita su eliminación mediante las α -1,3-glucanas de superficie del quimiotipo II, ya que la cubierta externa de α -glucanas enmascara las β -glucanas y la quitina que son los inmunoestimuladores, donde también se unen a receptores como la Dectina-1 sin desencadenar la respuesta inmune actuando como un ligando señuelo (Gorocica et al, 2009; Lara et al, 2014 y Ray y Rappleye, 2018).

Entonces el reconocimiento de las glucanas va a inducir el reclutamiento de leucocitos, también estimulan las células madre hematopoyéticas, activan la vía alterna del complemento, activan los linfocitos B, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas y células NK (Lara et al, 2014).

Dependiendo de la célula fagocítica que interaccione con *Histoplasma capsulatum*, así va a ser la respuesta hacia el hongo, por ejemplo, los neutrófilos y las células dendríticas se relacionan al bloqueo del crecimiento del patógeno mediante la respuesta inmune de tipo TH₁, en cambio, los macrófagos proveen un ambiente intracelular habitable para la levadura. En este sentido, *Histoplasma capsulatum* es considerado patógeno primario debido a que este hongo no despierta una respuesta inmune parecida a la que inducen los hongos patógenos oportunistas, por lo que las células de la respuesta inmune innata no son capaces de controlar la infección (Ray y Rappleye, 2018).

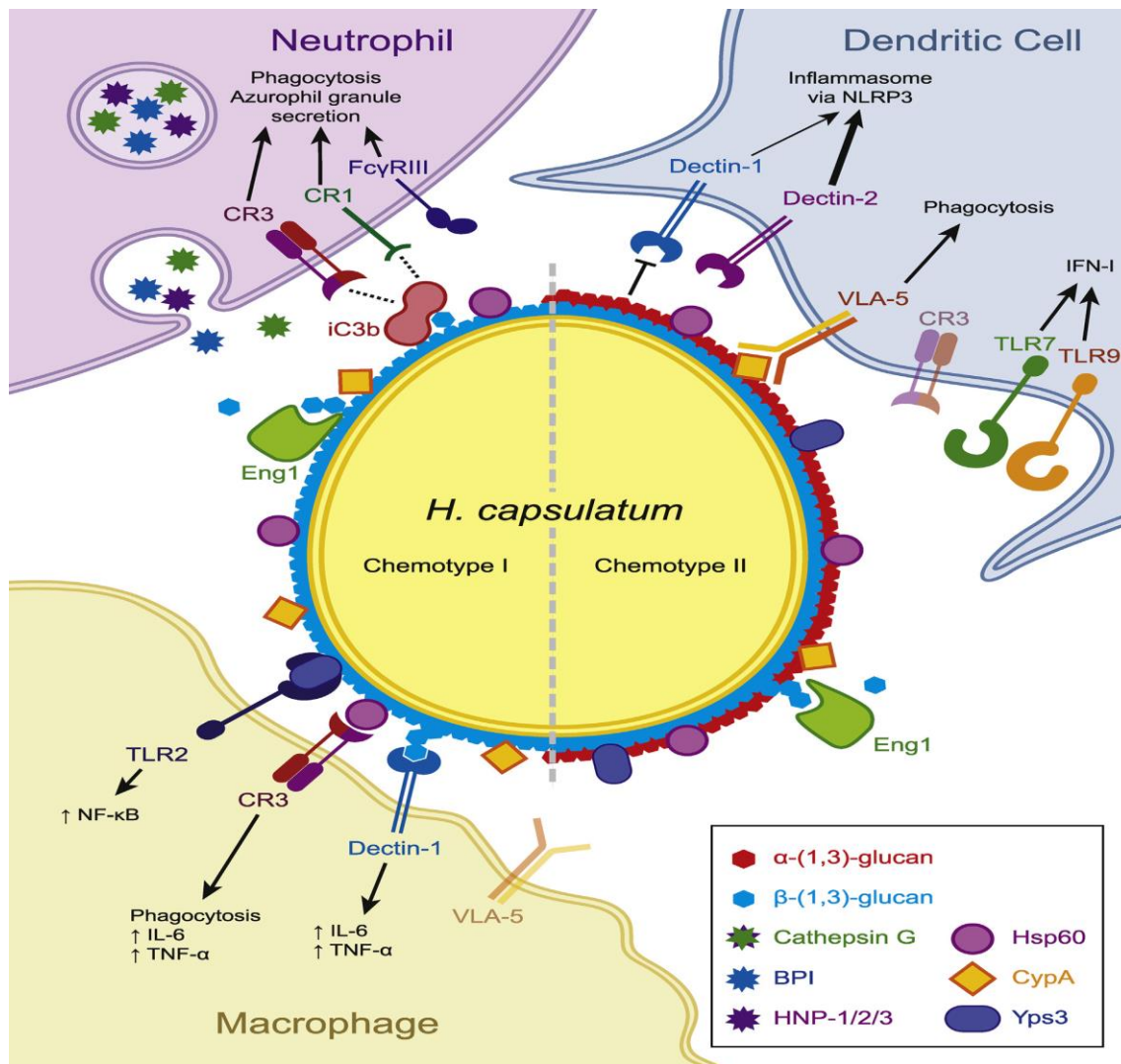


Figura 17. Reconocimiento antigénico de *Histoplasma capsulatum* por parte de los fagocitos profesionales de la inmunidad innata. Se observa el reconocimiento de la Hsp60 por parte del macrófago mediante el CR3, de las β -1,3-glucanas mediante la Dectina-1 y la Yps3 mediante el TLR-2, con la subsecuente cascada de señalización que puede o no permitir el control de la infección. También se evidencia el reconocimiento de las células dendríticas mediante los mismos receptores que el macrófago, pero adicionalmente mediante el receptor VLA-5, lo que constituye una vía alternativa que sí logra el control de la infección promoviendo una respuesta TH₁. Adicionalmente, se ve que las células dendríticas reconocen también las mananas mediante la Dectina-2 y que los TLR-7 y TLR-9 podrían promover la respuesta inmune al reconocer ácidos nucleicos de las levaduras producto de su destrucción. Los neutrófilos al igual que los demás polimorfonucleares reconocen el patógeno, pero opsonizado (por ejemplo, por el C3bi o por anticuerpos) mediante receptores como el CR1, CR3 y FC γ RIII, en donde la respuesta desencadenada tampoco es capaz de controlar la infección, pero media un efecto fungistático gracias a la secreción de sus gránulos azurófilos (imagen tomada de Ray y Rappleye, 2018).

Receptores de Oponina (CR3): cuando el patógeno es opsonizado, el dominio C3bi y el dominio CD11b del receptor CR3 reconocen al patógeno, mientras que las β -glucanas del hongo permiten la unión al Carbono terminal del dominio CD18, pero se sabe que la proteína de shock térmico Hsp60 es el principal ligando del dominio CD18, y dependiendo de cuál sea el ligando, así va a ser la respuesta inmune desencadenada, por ejemplo la proteína Hsp60 de la superficie celular del hongo va a mediar el reconocimiento sin desencadenar una respuesta inmune proinflamatoria, caso contrario si el ligando son las β -glucanas (González et al, 2012; Gorocica et al, 2009; Lara et al, 2014; Ray y Rappleye, 2018 y Sánchez, 2009).

Por lo que se ha reportado que dependiendo del ligando unido al receptor CR3 podría producir más bien una regulación negativa en la producción de IL-12, por lo que disminuye su concentración y por tanto su efecto protector contra *Histoplasma capsulatum*, en este sentido el receptor puede constituir una puerta de entrada segura para el hongo hacia el macrófago (Gorocica et al, 2009).

La fagocitosis de *Histoplasma capsulatum*, además de facilitarse por la opsonización por parte del dominio C3bi y del reconocimiento del receptor CR3, también requiere de los microfilamentos de actina de la célula, pero no de la polimerización de los microtúbulos, por lo que para algunos autores, la opsonización por parte del C3bi o del C3b o de anticuerpos, no es requerido estrictamente para que se dé la fagocitosis del patógeno (Ray y Rappleye, 2018).

Receptores de Lectina tipo C: Las lectinas tipo C son receptores para el reconocimiento inmune de polisacáridos que generan la activación de las células fagocíticas. La Dectina-1 reconoce las β -glucanas y la Dectina-2 las α -mananas, donde la respuesta que generan contra *Histoplasma capsulatum* va a variar entre los diferentes tipos de células fagocíticas. Las células dendríticas expresan tanto la Dectina-1 como la Dectina-2. La Dectina-1 activa la caspasa-1 y el inflamasoma NLRP3 desencadenando la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-1 y la IL-18, pero la Dectina-1 no es imprescindible para la activación del inflamasoma y la ausencia de Dectina-2 no tiene efecto en la progresión de la infección, por lo

que autores como Ray y Rappleye (2018) consideran que el aporte de ambos receptores en el control de la infección es mínimo (Ray y Rappleye, 2018).

Al unirse las β -glucanas al receptor Dectina-1, se induce la producción de especies reactivas del oxígeno o ROS (por sus siglas en inglés de Reactive Oxygen Species) y el factor transcripcional NF- κ B es translocado al núcleo donde desencadena la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-1, IL-6, TNF- α , MIP-2 (proteína-2 inflamatoria de macrófagos), intermediarios reactivos de oxígeno o ROI (por sus siglas en inglés de Reactive Oxygen Intermediates) y eicosanoides (Gorocica et al, 2009 y Lara et al, 2014).

Entonces, tanto la Dectina-1 como la Dectina-2 son receptores importantes en el reconocimiento y la respuesta inmune contra la histoplasmosis ya que se han visto involucrados en la generación de una respuesta inmune de tipo TH₁ y TH₁₇ necesarias para que se pueda dar la resolución de la infección (Goyal et al, 2018).

En modelos murinos, se ha visto que la Dectina-1 actúa en conjunto con el receptor CR3 mediante una asociación a través de las balsas lipídicas para que ante el reconocimiento de *Histoplasma capsulatum* se pueda generar TNF- α e IL-6 mediante la cascada de señalización por medio de Syk, JNK y AP-1, por lo que el reconocimiento por parte de la Dectina-1 induce la secreción de citoquinas y el reconocimiento por parte del CR3 permite la fagocitosis del patógeno (Goyal et al, 2018 y Salazar y Brown, 2018).

También los otros receptores de Lectina tipo C (CLR), además de la Dectina-1 como la Dectina-2, DC-SIGN, CLEC-1 y KLRB1 (CLEC-5B o NKR-P1A o CD161 presentes en las células NK) se han relacionado a la respuesta inmune de tipo TH₁₇ implicada en la defensa contra este patógeno ya que las células TH₁₇ son capaces de producir citoquinas proinflamatorias como IL-17, TGF β , IL-1 β , IL-6, IL-21, IL-22, y IL-23, que favorecen la eliminación intracelular de las levaduras, (Lara et al, 2014).

Receptores de Tipo Toll: Las células dendríticas también expresan receptores Tipo Toll como por ejemplo el TLR7 y TLR9 que permiten el reconocimiento de los antígenos de *Histoplasma capsulatum* y promueven una respuesta de tipo Interferón

I contra el hongo que polariza la respuesta inmune hacia una de tipo TH₁ (Ray y Rappleye, 2018).

Una vez reconocidos los ligandos por parte de estos receptores, las células dendríticas son capaces de destruir las levaduras con la consecuente liberación de ácidos nucleicos fúngicos que pueden servir para dirigir a estas células a la respuesta inmune adaptativa protectora para el hospedero (Ray y Rappleye, 2018).

Los receptores TLR2 se unen también al antígeno Yps3 que es una proteasa aspártica de la superficie de *Histoplasma capsulatum*, presuntivamente de la fase levaduriforme, la cual no está presente en todas las cepas y desencadenan una respuesta proinflamatoria, adicionalmente, la Yps3 también es reconocido por el CD18 de las integrinas de los receptores del complemento (CR3) y la Dectina-1 para la formación de cuerpos lipídicos que se relacionan a la producción de leucotrienos del tipo B₄, donde se ha correlacionado los altos niveles de leucotrienos con el control de la infección, ya que es bien sabido que el leucotrieno B₄ es importante en la defensa, el reclutamiento de los neutrófilos y el establecimiento de las células T de memoria durante la histoplasmosis (Caffrey et al, 2018 y Ray y Rappleye, 2018).

Se ha visto que la pérdida del adaptador proteico MyD88 mediante el cual la mayoría de los TLR controlan la respuesta contra *Histoplasma capsulatum*, reduce la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de las células dendríticas y los macrófagos pulmonares, pero no altera la proliferación del hongo lo que sugiere la participación de otros receptores en el reconocimiento y control de este patógeno (Ray y Rappleye, 2018 y Salazar y Brown, 2018).

Receptores Tipo RIG (RLR): son receptores intracelulares que reconocen ARN y son expresados tanto en células inmunes como en células no inmunes. Son capaces de promover las vías de señalización que desencadenan la producción de IFN de tipo I e IFN de tipo III involucrados en la inmunidad antiviral, sin embargo, estos receptores se han asociado a la respuesta inmune contra la histoplasmosis, específicamente en la producción de interferones a partir del reconocimiento del hongo por las células dendríticas (Salazar y Brown, 2018).

Complejo Inflamasoma NLRP3: este complejo comprende una serie de proteínas intracelulares cuya función es la regulación de la inmunidad innata mediante la maduración de la pro-IL-1 β y pro-IL-18, así como la inducción de la muerte de las células inflamatorias por piroptosis mediado por la caspasa-1 (Li et al, 2019).

El complejo puede ser activado vía unión de PAMP's con los PRR's o por la unión de los DAMP's (por sus siglas en inglés de Damage Associated Molecular Pattern o patrones moleculares asociados al daño) con los PRR's. Este complejo se asocia a las infecciones respiratorias de múltiples microorganismos incluyendo los hongos (Li et al, 2019).

Adicionalmente, el zymosan y las mananas también estimulan el inflamasoma NLRP3 para inducir la actividad de la caspasa 1 en macrófagos y células dendríticas, al igual que la secreción de IL-1 β , sugiriendo que los componentes de la pared celular son los responsables de la activación del ASC (proteína adaptadora del inflamasoma) y del inflamasoma durante la infección fúngica (Li et al, 2019).

En el caso de la histoplasmosis, la Dectina-1 puede interactuar junto a la Dectina-2, para activar el inflamasoma NLRP3/Caspasa 1, mediante la cascada de señalización que involucra Syk y JNK ante el reconocimiento del hongo, con la consecuente producción de IL-1 β e IL-18, que son citoquinas proinflamatorias importantes en la resolución de la infección (ver Figura 18) (Salazar y Brown, 2018).

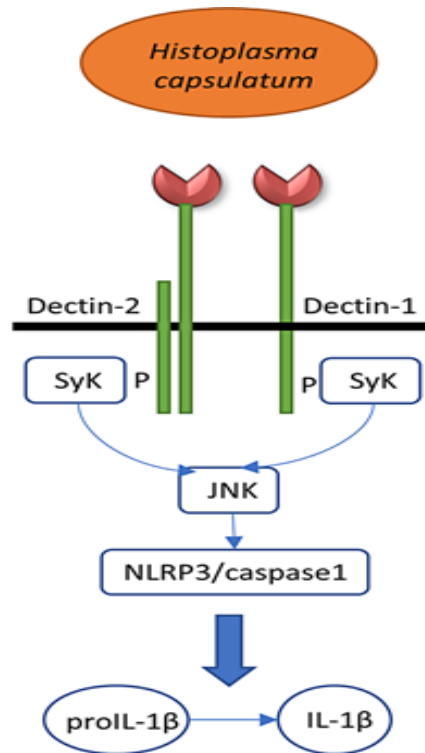


Figura 18. Interacción entre los receptores de tipo CLR, Dectina-1 y Dectina-2 para desencadenar la activación del inflammasoma NLRP3/Caspasa 1, con la consecuente maduración de la IL-1 β (imagen tomada de Salazar y Brown, 2018).

Se ha observado que células dendríticas que carecen tanto de la Dectina-1 como la Dectina-2, tienen deficiencias en la secreción de IL-1 β al compararlo con las células control o las células que poseen solo deficiencia en uno de los receptores. Además, Chang et al (2017) demostraron al utilizar anticuerpos anti Dectina-1, anticuerpos anti Dectina-2 y anticuerpos anti Dectina-1/Dectina-2, que la Dectina-2 es el receptor que más aporta a la activación del inflammasoma en las células dendríticas infectadas con *Histoplasma capsulatum* (Castro et al, 2017 y Chang et al, 2017).

Inmunidad Innata Celular contra la Histoplasmosis

Los fagocitos profesionales como los polimorfonucleares, células dendríticas y macrófagos, así como los fagocitos no profesionales de la línea epitelial y fibroblástica, van a ejercer la función fagocítica sobre el patógeno. Los fagocitos profesionales son efectores preliminares de la inmunidad innata, al fagocitar a *Histoplasma capsulatum* e intentar destruirlo y producir citoquinas, además son células presentadoras de antígeno, y vuelven a ser efectores al ser estimulados por los linfocitos T cooperadores (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Cuando el hongo es fagocitado la célula lo trata de eliminar por especies reactivas del oxígeno (ROS) mediante el estallido respiratorio, así como por especies reactivas del nitrógeno (RNS) y otras proteínas almacenadas en los gránulos como por ejemplo lisozima, lactoferrina y proteínas catiónicas (defensinas, catepsina G y azurozidina). La eliminación del microorganismo en el fagolisosoma no ocurre siempre, ya que depende de la cantidad de conidias fagocitadas y de deficiencias congénitas o primarias del hospedero (Maniscalchi y Lemus, 2006).

El fagolisosoma es altamente ácido con una gran variedad de enzimas hidrolíticas que se activan a pH bajo. La disminución de pH es debida a la ATPasa incorporada a la membrana del fagosoma y este pH interviene tanto en la unión del lisosoma como en la actividad de las hidrolasas. *Histoplasma capsulatum* va a lograr multiplicarse aún con la formación del fagolisosoma (Maniscalchi y Lemus, 2006).

En el momento en que los microorganismos atraviesan las primeras barreras físicas, la primera línea de defensa celular de la inmunidad innata pulmonar contra las infecciones fúngicas son las células epiteliales, los neutrófilos, los macrófagos alveolares y las células dendríticas, que van a desencadenar una cascada de señalización producto del reconocimiento de los PAMP's fúngicos, que va a conducir a la activación de las células involucradas en la respuesta inmunitaria. Los macrófagos alveolares se van a encontrar en mayor cantidad y van a fagocitar a los microorganismos, al mismo tiempo, las células epiteliales contribuyen al producir citoquinas, quimioquinas y péptidos antimicrobianos, principalmente las betas defensinas (Juárez et al, 2009 y Li et al, 2019).

Los macrófagos alveolares, ante el reconocimiento de las β -glucanas de la pared del hongo mediante el receptor de Dectina-1, montan una respuesta inflamatoria constituida por la secreción de TNF- α , IL-1 α/β , IL-6, la quimioquina MIP (Macrophage Inflammatory Proteins) y G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor). A continuación, hay una respuesta rápida dada por el reclutamiento de neutrófilos hacia el sitio de infección que van a servir no solo para controlar la infección sino también para promover la reparación tisular (Li et al, 2019).

Posteriormente, los macrófagos y células dendríticas también van a constituir el puente entre la inmunidad innata y adaptativa al funcionar como células presentadoras de antígeno, donde le van a presentar antígenos fúngicos a las células T nativas (Li et al, 2019).

Consecuentemente, se involucra el reclutamiento de otras células inmunes al sitio de infección como por ejemplo neutrófilos, eosinófilos y monocitos que amplifican la respuesta inflamatoria local y aportan más mecanismos microbicidas para lograr eliminar al patógeno (Juárez et al, 2009).

Células Epiteliales: representan la barrera mecánica o física entre el ambiente interno y externo de las vías respiratorias contra *Histoplasma capsulatum*, pero también participan en la inmunidad innata, específicamente las células epiteliales ciliadas del tracto respiratorio superior, las células de Clara de la vía aérea pequeña y las células epiteliales tipo II de los alveolos (Garcia y Sibila, 2013).

Las células epiteliales pulmonares entonces constituyen un puente entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa frente a las infecciones fúngicas en la mucosa respiratoria (Li et al, 2019).

También participan en la regeneración del tejido dañado al promover angiogénesis y proliferación celular. El surfactante SP-A funciona como ligando para los TLR de las células epiteliales del tracto respiratorio, por ejemplo, la unión del ligando al TLR induce la producción de IL-8 en las células epiteliales (Tonatouh et al, 2005), mediante la señalización que involucra a MyD88, donde la quimioquina es la responsable del reclutamiento rápido de neutrófilos durante la infección fúngica,

también induce la expresión de otras quimioquinas a través de la unión del ligando al IL-1R (Li et al, 2019).

Neutrófilos: Los polimorfonucleares también pueden ser considerados células fagocíticas profesionales hospederas del patógeno, como el neutrófilo que representa parte de la respuesta aguda contra la infección (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Se ha observado *in vitro* que la acción fungistática ejercida por los polimorfonucleares está dada además por mecanismos no oxidativos ya que al comparar la actividad fungistática de polimorfonucleares tanto de pacientes con enfermedad Granulomatosa Crónica como de personas normales, no se evidencian diferencias. Estos mecanismos no oxidativos antimicrobianos están dados principalmente por las hidrolasas lisosomales y los péptidos catiónicos o defensinas de los gránulos azurófilos, ya que se sabe que el hongo es resistente al efecto de las ROS (Maniscalchi y Lemus, 2006 y Newman, 1999).

Los neutrófilos no son capaces de eliminar a las levaduras, por lo que cumplen una función fungistática en la inmunidad innata en etapas tempranas contra la infección por *Histoplasma capsulatum* en los pulmones hasta que la inmunidad adaptativa logre activarse, por lo que autores como Deepe (2000) consideran que los polimorfonucleares son importantes en el control de la infección primaria y no secundaria debido a su efecto fungistático, ya que tanto en modelos murinos como de células humanas se ha relacionado a alta mortalidad en la infección primaria la depleción de los polimorfonucleares al agregar anticuerpos monoclonales anti polimorfonucleares (Deepe, 2000 y Ray y Rappleye, 2018).

Los polimorfonucleares fagocitan el hongo opsonizado mediante varios receptores entre los cuales se encuentran los receptores del complemento CR1 (CD35) y CR3 (CD11b/CD18), y el receptor de inmunoglobulina FcγRIII (CD16), siendo necesaria la opsonización para que el patógeno sea fagocitado, pero a su vez, la fagocitosis no es necesaria para que estas células ejerzan el efecto fungistático, ya que lo hacen a través del estallido respiratorio mediado por los gránulos azurófilos secretados, sin que sea indispensable el efecto de ROS (Ray y Rappleye, 2018).

Los gránulos azurófilos contienen catepsina G (proteasa), Proteína Bactericida que Incrementa la Permeabilidad o BPI (por sus siglas en inglés de Bactericidal Permeability Increasing Protein), HNP-1, HNP-2 y HNP-3 (defensinas de neutrófilos humanos), donde se ha visto que *in vitro* ejercen un efecto fungistático dependiendo de la dosis (Ray y Rappleye, 2018).

También la fagocitosis puede no generar una respuesta inflamatoria dependiendo si el microorganismo no viene acompañada de otras señales estimuladoras ya sea por falta de respuesta de las citoquinas o por la inhibición en la producción de estas, ya que *in vitro* se ha evidenciado que neutrófilos expuestos a levaduras de *Histoplasma capsulatum* inactivadas por calor, hacen que el neutrófilo reduzca la producción de IL-12 al ser estimulados con polisacáridos, ya que la IL-12 es importante para promover la inmunidad celular y la producción de IFN- γ , que debería limitar el crecimiento del microorganismo (Gorocica et al, 2009; Lara et al, 2014 y Ray y Rappleye, 2018).

Los neutrófilos liberan IL-12, TNF- α y Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos y Macrófagos (GM-CSF), los cuales participan en la defensa contra la infección primaria, por lo que, ante neutropenia del paciente, se produce un descenso importante en la producción de citoquinas (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Es importante resaltar que los polimorfonucleares son células con menor vida que los macrófagos por lo que estos últimos son más adecuados para la proliferación de *Histoplasma capsulatum* que es un hongo de crecimiento lento, además les proporciona la ventaja de que son células migratorias que facilitan su diseminación (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Macrófagos: los macrófagos y las células dendríticas son los encargados de regular la respuesta inmune contra *Histoplasma capsulatum*, siendo las células dendríticas más eficientes en la destrucción de la levadura porque hay más exposición de las hidrolasas dentro del fagolisosoma lo que podría ser suficiente aún si el microorganismo intenta evadir la destrucción (Maniscalchi y Lemus, 2006).

En los macrófagos, los cuales son más permisivos para la proliferación del hongo, los receptores de lectina tipo C cumplen funciones diferentes. La Dectina-1 estimula la producción de citoquinas, pero no participa en la fagocitosis de la levadura a diferencia de otros tipos de receptores del complemento como el CR3 (CD11b/CD18) (Ray y Rappleye, 2018).

También, las diferentes poblaciones de macrófagos van a tener una expresión diferente de los receptores capaces de reconocer los antígenos de *Histoplasma capsulatum* como por ejemplo LFA-1 (CD11a), CR3 y CR4, por lo que autores como Ray y Rappleye (2018) creen que se podría ver afectado el reconocimiento e internalización del patógeno, ya que los receptores presentan además diferentes afinidades a los antígenos, pero aún no está comprobado (Ray y Rappleye, 2018).

En las primeras etapas de la infección, los macrófagos son capaces de reconocer a *Histoplasma capsulatum* y fagocitarlo representando un ambiente intracelular permisivo para la replicación del hongo. Se ha visto *in vitro* que tanto las levaduras como las microconidias sin ser opsonizadas pueden ser fagocitadas por los macrófagos alveolares, lo cual es un proceso rápido que desencadena la inmunidad mediada por células hacia este patógeno, estimulándose el estallido respiratorio y la fusión del lisosoma con el fagosoma, que, en el caso del estallido respiratorio, es un mecanismo que no logra eliminar las levaduras de *Histoplasma capsulatum* (Newman, 1999).

Es interesante mencionar que, *in vitro*, se ha visto que las levaduras no opsonizadas del hongo no estimulan el estallido respiratorio en macrófagos residentes o macrófagos activados por IFN- γ en modelos murinos, a diferencia de las levaduras opsonizadas que sí lo hacen (Newman, 1999).

Una vez que la levadura es fagocitada por el macrófago, esta es capaz de sobrevivir dentro del fagolisosoma al alcalinizar el pH y mantenerlo entre 6.0 a 6.5 de modo que se inactivan las hidrolasas y el hongo es capaz todavía de adquirir hierro. Adicionalmente, se cree que el hongo puede evitar la fusión del fagosoma con el lisosoma, por lo que también disminuye su exposición a las hidrolasas, o también

se cree que podría evitar la acumulación de la ATPasa vacuolar del fagosoma evitando que se acidifique el pH (Deepe, 2000 y Newman, 1999).

La IL-12 es necesaria para que se induzca la producción de IFN- γ que va a activar a los macrófagos, pero en modelos *in vitro* de macrófagos humanos, se ha visto que también la IL-3, el GM-CSF y el M-CSF, son capaces de activar macrófagos para inhibir el crecimiento de las levaduras de *Histoplasma capsulatum* (Newman, 1999).

Entonces, los macrófagos son activados principalmente por citoquinas como el INF- γ que es la citoquina que restringe la proliferación de la levadura en una respuesta inmune del tipo TH₁, donde se induce la activación de la Óxido Nítrico Sintasa (NOS) para la liberación de óxido nítrico (NO) producto del metabolismo de la L-Arginina. El óxido nítrico actúa al quelar el hierro intracelular disminuyendo su disponibilidad necesaria para el metabolismo de *Histoplasma capsulatum*, además disminuye la regulación de los receptores de transferrina expresados en los macrófagos por el IFN- γ , por lo que se restringe la proliferación de la levadura ejerciendo un efecto fungistático (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Histoplasma capsulatum es capaz de sobrevivir a las ROS producidas por los macrófagos, ya que se ha visto en modelos murinos, que la levadura no desencadena el estallido respiratorio en las células murinas, caso contrario, en los macrófagos humanos, la levadura sí desencadena un estallido respiratorio fuerte, pero de igual manera las levaduras fagocitadas pueden sobrevivir a estas moléculas y replicarse (Deepe, 2000).

El macrófago también es capaz de presentar antígenos a los linfocitos T, y una vez que son producidas más citoquinas, se pueden activar más macrófagos que pasan a ser células efectoras intentando eliminar al hongo intracelular (Newman, 1999).

El cambio del fenotipo entre M1 y M2 del macrófago también es importante en la generación de una respuesta inflamatoria capaz de controlar la infección. Por ejemplo, la IL-4 conducirá a la respuesta de tipo TH₂, amplificando la producción de la IL-33 por parte del macrófago con fenotipo M2, mediante la cascada de señalización que involucra STAT6, IRF4 y la Dectina-1 (Salazar y Brown, 2018).

Los macrófagos y monocitos reclutados también forman los granulomas epitelioides compactados en personas inmunocompetentes, por tanto, se controla la infección por lo que generalmente resuelve espontáneamente (Sánchez et al, 2010).

Monocitos: son capaces de regular a los neutrófilos, las células NK y los linfocitos T, orquestando de manera indirecta la inmunidad innata y adaptativa. Por lo que la monocitopenia se ha sugerido como un factor de riesgo para la histoplasmosis. Por el contrario, una excesiva activación de los monocitos puede conducir a un aumento en el reclutamiento de los neutrófilos que con su consecuente activación pueden llegar a generar daño, sugiriendo que la actividad de los monocitos también debe ser regulada (Salazar y Brown, 2018).

Células Dendríticas: los PAMP's fúngicos son reconocidos por el receptor DC-SIGN presente en las células dendríticas inmaduras, permitiendo la fagocitosis del patógeno, por tanto, la célula dendrítica madura es capaz de presentar antígenos a las células T (Li et al, 2019).

La maduración de las células dendríticas puede estar mediada por los neutrófilos, recordando que, a su vez, los neutrófilos fueron reclutados por las quimioquinas secretadas por las células dendríticas, al igual que son reclutados los linfocitos T cooperadores de tipo TH₁, por lo que se evidencia una interacción entre estas tres células (neutrófilos, células dendríticas, linfocitos TH₁) (Li et al, 2019).

Las células dendríticas proveen un ambiente menos permisivo para la proliferación de las levaduras en comparación con los macrófagos donde se ha reportado la degradación de las levaduras dentro de las células dendríticas en alrededor de 2 horas al ser fagocitadas. Las células dendríticas son las responsables de presentar los antígenos de las levaduras degradadas a los linfocitos de la respuesta inmune adaptativa, despertando una respuesta del tipo TH₁, donde proliferan las células T (Ray y Rappleye, 2018).

Se cree que la diferencia entre la capacidad de destruir al patógeno por parte de las células dendríticas y los macrófagos se debe a que las células dendríticas son capaces de reconocer los antígenos del hongo mediante diferentes vías, por

ejemplo, las células dendríticas presentan glicoproteínas del complejo CD18 (específicamente CR4 o CD11c/CD18) que *in vitro* al ser bloqueadas por anticuerpos no se inhibe la unión del hongo a las células dendríticas por lo que se evidencia que posee otras vías de reconocimiento (Ray y Rappleye, 2018).

Además también al administrar *in vitro* Hsp60 recombinante del hongo no inhibe la adherencia a las células dendríticas como sí sucede con los macrófagos, demostrando otra vez que las células dendríticas tiene diferentes vías de reconocimiento al patógeno ya que adicionalmente el hongo a través de su antígeno ciclofilina A (CypA) se une a las células dendríticas mediante el receptor de fibronectina conocido como antígeno muy tardío-5 o VLA-5, que *in vitro*, al agregar CypA recombinante en exceso se inhibe la unión del hongo a la célula dendrítica por saturación de sus receptores, pero no así a los macrófagos, sugiriendo que el receptor VLA-5 es específico para el ligando CypA, a pesar de que el receptor VLA-5 se expresa tanto en las células dendríticas como en los macrófagos, por lo que estas diferencias continúan sin explicación (Ray y Rappleye, 2018).

Células NK: estudios en modelos murinos han evidenciado que las células NK son importantes en la respuesta inmune generada contra *Histoplasma capsulatum*, ya que se ha visto que modelos murinos que poseen una depleción de las células NK son más susceptibles a esta infección. Estas células son mediadores de la inmunidad innata que protegen de las infecciones de los microorganismos mediante la secreción del IFN- γ y sus gránulos. En infecciones respiratorias fúngicas, se ha visto que los linfocitos T CD4+ causan que haya un aumento de las células NK con su posterior liberación de IFN- γ , granzima B y perforinas. También pueden producir el GM-CSF necesario para que los neutrófilos ejerzan su actividad antifúngica (Li et al, 2019; Salazar y Brown, 2018 y Schmidt et al, 2017).

A diferencia de otras células del sistema inmune innato, las células NK no pueden defenderse del agente fúngico directamente mediante la fagocitosis, sino que se cree que más bien regulan su actividad antifúngica mediante la secreción del IFN- γ (Li et al, 2019).

Actualmente, los mecanismos por los cuales las células NK median la defensa contra infecciones fúngicas a nivel respiratorio y su interacción con las demás células de la inmunidad durante estas infecciones, queda poco esclarecido y se requieren más estudios (Li et al, 2019).

Tanto las células T CD4+ como las células NK, y las citoquinas producto de reconocimiento del patógeno (el IFN- γ , IL-2 e IL-12) son considerados por Sánchez et al (2010), como componentes importantes en la defensa contra este patógeno (Sánchez et al, 2010).

Inmunidad Adaptativa contra la Histoplasmosis

Linfocitos T CD4+ y linfocitos T CD8+: la resolución del cuadro clínico va a estar influenciada por la activación de la inmunidad celular mediada por las células T, pero cuando esta inmunidad falla en controlar la infección, el microorganismo es encerrado en un granuloma que eventualmente calcifica lo que representa un foco de reactivación si el individuo llegara a padecer una enfermedad inmunosupresora o ante la ingesta de medicamentos que suprimen la inmunidad celular (Deepe, 2000).

En modelos murinos que presentan una depleción genética de las células T o al administrar anticuerpos monoclonales anti TCR, demuestran mayor susceptibilidad a padecer histoplasmosis en comparación con los ratones controles (Deepe, 2000).

Tanto los linfocitos T CD4+ como los linfocitos T CD8+, contribuyen a la inmunidad en la infección pulmonar primaria contra este hongo. Esto se ha demostrado al transferir células T CD4+ reactivas contra *Histoplasma capsulatum*, a ratones confiriéndoles resistencia a la infección, además, también se ha visto que el aclaramiento de las levaduras en los tejidos de ratones infectados se ve deteriorado cuando estos ratones carecen de células T CD8+ (Deepe, 2000).

En la infección pulmonar secundaria, la presencia de cualquiera de estas células sean las células T CD4+ o células T CD8+, basta para que los sujetos experimentales en los modelos murinos logren sobrevivir a la reinfección, pero la muerte se produce si ambos tipos de células faltan (Deepe, 2000).

El mecanismo por el cual las células T contribuyen a la resolución de la histoplasmosis, es mediante la producción de citoquinas como el IFN- γ y el TNF- α que activa a las células fagocíticas, sin embargo, no se sabe con certeza si las células T inducen la producción de anticuerpos protectores contra esta micosis, ya que se ha visto en modelos murinos, que al transferir sueros de ratones que resolvieron la infección a ratones infectados, no se presenta una reducción importante en la carga fúngica ni tampoco en el curso de la infección al comparar estos ratones con los ratones que carecen de células B y con el control (Deepe, 2000).

Las células T CD8+ son capaces de secretar IL-17A que es importante en la protección contra la histoplasmosis ya que favorece la actividad de los neutrófilos (Kumaresan et al, 2017).

La histoplasmosis va a depender del balance de la respuesta mediada por linfocitos T cooperadores de la respuesta TH₁ caracterizado por la producción de IFN- γ que refuerza la inmunidad celular y figura el control de la infección, y de la respuesta TH₂ asociada a la producción de IL-4 junto a la producción de anticuerpos, donde este balance de respuestas correlaciona con la severidad de la enfermedad. Adicionalmente se piensa que la IL-17 podría tener un papel importante en la regulación del balance de la respuesta inmune del tipo TH₁ y TH₂ (Lara et al, 2014).

Las citoquinas de la respuesta de tipo TH₁ estimulan las funciones efectoras de las células fagocíticas mientras que las citoquinas de la respuesta TH₁₇ como la IL-17 y la IL-22 promueven la liberación de péptidos antimicrobianos por parte de las células epiteliales que inducen el reclutamiento y la activación de los neutrófilos, por lo que se consideran respuestas protectoras contra las infecciones fúngicas pulmonares (Salazar y Brown, 2018).

En la infección pulmonar primaria por *Histoplasma capsulatum*, se produce una respuesta inmune de tipo TH₁ con la liberación de IL-12, IFN- γ y el TNF- α , que coincide con el incremento de células pertenecientes al linaje mieloide en pulmón que es seguido por un flujo de células T y células B al sitio de infección (Deepe, 2000).

Se sabe que la IL-12 es clave para el desarrollo de la respuesta protectora de tipo TH₁, ya que, al neutralizarla con anticuerpos monoclonales en ratones infectados intranasal e intramuscularmente con el patógeno, resulta en la muerte de los sujetos experimentales, además se observa una reducción del IFN- γ , pero no así del TNF- α y el GM-CSF que también son citoquinas relacionadas a la protección contra la infección (Deepe, 2000).

Por otro lado, la liberación de IL-12 y TNF- α no es dependiente del IFN- γ ya que no se evidencian diferencias significativas entre los niveles de estas dos primeras

citoquinas en ratones que carecen de IFN- γ en comparación con los ratones control, pero si se sabe que los ratones que carecen de IFN- γ llegan a morir a dosis subletales del hongo por lo que se sugiere que el IFN- γ es una molécula efectora importante en la resistencia del huésped contra la histoplasmosis, ya que su ausencia genera una disminución del NO (Óxido Nítrico) que sí es significativo en el control de la infección (Deepe, 2000).

En cuanto al TNF- α , esta citoquina es necesaria para el control de la histoplasmosis ya que al neutralizarla causa un aumento en la carga fúngica en los tejidos de ratones infectados por vía intranasal e intramuscular, acelerando su mortalidad, relacionada a una disminución en la producción del NO por parte de las células fagocíticas, pero sin afectar los niveles de IL-12, GM-CSF e IFN- γ (Deepe, 2000).

El GM-CSF también es requerido para el control de la infección pulmonar debido a que los ratones que carecen de esta citoquina también presentan un aumento en la carga fúngica en tejidos así como de la mortalidad, similar a los ratones que carecen de TNF- α , pero con la diferencia de que la deficiencia de GM-CSF también se relaciona a una disminución del TNF- α y el IFN- γ , por tanto una disminución del NO, y un aumento de la IL-4 e IL-10 característico de una respuesta inmune del tipo TH₂ que no lleva a la resolución de la infección (Deepe, 2000).

En la infección secundaria tanto pulmonar como sistémica, la IL-12 no es tan importante para la resolución de la infección a diferencia de la infección primaria ya que al neutralizar esta citoquina en los ratones con infección secundaria, no se ve afectada su capacidad para resolver la infección, situación que se da también al neutralizar el IFN- γ en el modelo de infección sistémica, no así en el modelos de infección intranasal donde el ratón si sucumbe a la infección, es decir, la dependencia del IFN- γ para resolver la infección varía de acuerdo al sitio de inoculación (Deepe, 2000).

El TNF- α sí es crítico para resolver la infección secundaria al igual que en el caso de la infección primaria, tanto en modelos murinos de infección pulmonar como sistémica. En el modelo de la infección sistémica secundaria, el TNF- α es solo necesaria si el sujeto experimental carece de IFN- γ ya que si el sujeto experimental

presenta el IFN- γ , entonces el TNF- α no es necesario para resolver la infección secundaria sistémica. En el modelo de la infección pulmonar secundaria, la inhibición del TNF- α anula la protección de los ratones normales, y además también se ha visto implicado en la alteración en la producción de citoquinas de la respuesta inmune de tipo TH₂, aumentando los niveles de IL-4 e IL-10 que conducen a un empeoramiento de la infección, donde se ha comprobado que la ausencia de la IL-10 se relaciona a la eliminación del patógeno (Deepe, 2000 y Tóth et al, 2017).

El GM-CSF también juega un papel importante en la infección pulmonar secundaria, pero con efectos menos importantes que el TNF- α . Al inhibir el GM-CSF en los modelos murinos que padecen una infección pulmonar secundaria, se exagera la infección, pero no incrementa la mortalidad, ni tampoco altera la producción de citoquinas (Deepe, 2000).

Anticuerpos: se considera que los anticuerpos circulantes contra el agente etiológico producto de la inmunidad adaptativa son poco relevantes para inhibir el desarrollo intracelular del hongo al ser fagocitado, por lo que después de la resolución de la infección, estos anticuerpos tienen poco valor en la inmunidad establecida, pero sí se han reportado algunos anticuerpos como por ejemplo los dirigidos contra la proteína tipo histona H2B que facilitan la fagocitosis y la producción de citoquinas. Por lo que la respuesta protectora para estos patógenos intracelulares está dada por la inmunidad mediada por células (Maniscalchi y Lemus, 2006).

La histoplasmosis genera el incremento de IgM en las primeras dos semanas de la infección, seguido de un aumento del título de las IgG e IgA. Estudios en modelos murinos han demostrado que los anticuerpos específicos contra este hongo alcanzan su pico máximo al día 21 de la infección y que las células B en pulmón incrementan su número en la primera semana de la infección, pero en un grado menor que las otras células mieloides, pero continúan aumentando mientras las otras células mieloides comienzan a disminuir (Roth et al, 2019).

7.2-Vacunas e Inmunización Pasiva

A raíz del creciente número de casos de histoplasmosis alrededor del mundo, y basado en estudios a partir del Norte de América, especialmente en las zonas endémicas como la Rivera del Valle de Mississippi, se ha propuesto la elaboración de una vacuna contra este hongo dimórfico, enfocada principalmente en proteger a las personas inmunosupresas, ya que Estados Unidos es un país con alta incidencia de la histoplasmosis en la que se registra 4.3 casos/100 000 habitantes al año, lo cual se estima que puede ser mayor debido al subregistro de casos por la pobre vigilancia epidemiológica que existe en los servicios de salud en lo referente a esta enfermedad (Roth et al, 2019).

Entre las estrategias de inmunización activa, se tiene el uso de la glicoproteína HIS62 (ahora conocida como Hsp60), derivada del extracto de pared y membrana de *Histoplasma capsulatum*, la cual se considera un antígeno inmunogénico y es el principal ligando del receptor CR3 de los macrófagos del hospedero. Se ha visto que esta glicoproteína puede generar una reacción de hipersensibilidad en modelos murinos que fueron inmunizados previamente con una dosis subletal del hongo. Además, esplenocitos extraídos de ratones los cuales fueron inmunizados previamente con levaduras vivas de este hongo, proliferaron en respuesta a la exposición de la HIS62 (Roth et al, 2019).

También, el 80 % de los ratones inmunizados con la HIS62 purificada, sobrevivieron al administrar la dosis letal intravenosa del hongo (Roth et al, 2019).

Es curioso mencionar que al estudiar el gen que codifica por la HIS62, se encontró que esta proteína es homóloga en un 70 % de las secuencias de aminoácidos a la Hsp60 de *Saccharomyces cerevisiae*, por lo que se le cambió el nombre a esta glicoproteína como Hsp60 de *Histoplasma capsulatum* y a su contraparte recombinante como rHsp60, donde el 100 % de los ratones vacunados con la rHsp60 sobrevivieron a la dosis letal intranasal de levaduras vivas de *Histoplasma capsulatum* (Roth et al, 2019).

Se ha visto que el uso de la rHsp60 genera en el hospedero la producción de IgG, donde el efecto protector que genera se caracteriza por la disminución de la carga

fúngica y daño en el tejido del hospedero, así como por una prolongación de la sobrevivencia de los sujetos experimentales en modelos murinos (Nosanchuk et al, 2012).

Se cree que la vacunación con la Hsp60 funciona preparando una respuesta efectora de células T CD4+ de tipo TH₁ dependiente de IL-12 e IFN- γ secretadas por las células dendríticas y macrófagos, además de la IL-10, que inducen la diferenciación de los linfocitos T nativos, pero también se ha visto un efecto sobre las células T CD8+ (Roth et al, 2019).

Debido a que la vacuna con Hsp60 requiere una población funcional de células T CD4+, se piensa que dicha vacuna tiene una aplicabilidad limitada en pacientes que poseen un conteo disminuido de este tipo de células como lo son los pacientes HIV positivos en fase SIDA, por lo que se cree que su efectividad va a estar dada por la administración de la vacuna al paciente antes de que adquiera una inmunodeficiencia, pero se piensa que se podría inmunizar a estos pacientes mediante la activación directa de otras células efectoras como las células T CD8+ de modo que se pueda llevar a cabo la respuesta efectora a pesar del bajo recuento de las células T CD4+ (Roth et al, 2019).

Otro antígeno que se ha visto que podría ser capaz de conferir protección contra la histoplasmosis es el antígeno H. Este es un miembro de las proteínas de la familia β -glucosidasa que forma parte de la superficie de la pared celular de *Histoplasma capsulatum* (Roth et al, 2019).

Se ha evidenciado que el antígeno H es inmunogénico, pero se ha visto que el antígeno H recombinante no genera una respuesta inmune protectora en modelos murinos que fueron inmunizados con una dosis letal o subletal intravenosa de levaduras vivas de este hongo (Roth et al, 2019).

Es importante mencionar que las células dendríticas son las principales células presentadoras de antígeno y fagocitos capaces de eliminar las levaduras de *Histoplasma capsulatum*, además de estimular una respuesta efectora de células T CD4+ y T CD8+ contra esta infección (Roth et al, 2019).

Al estimular *in vitro* células dendríticas con macrófagos apoptóticos que previamente habían fagocitado levaduras inactivadas con calor de *Histoplasma capsulatum*, se ha descubierto que al trasplantarlas a ratones, genera una respuesta protectora de células efectora como las células T CD4+ y T CD8+, por lo que se considera que podría ser otro posible método de inmunización activa contra esta enfermedad, correspondiendo igualmente un desafío para los pacientes HIV positivos en fase SIDA que no son capaces de levantar una respuesta efectora de células T CD4+ (Roth et al, 2019).

Otro antígeno importante como potencial recurso para desarrollar una vacuna es el antígeno M. Este es una glicoproteína del hongo que se ha utilizado en el diagnóstico de la enfermedad y que se expresa en la superficie celular del hongo donde cumple una función de catalasa (Nosanchuk et al, 2012).

Se ha producido a partir del antígeno M, IgM e IgG_{2a} que han evidenciado que son capaces de opsonizar a *Histoplasma capsulatum* e inducir la fagocitosis de las levaduras por parte de los macrófagos favoreciendo la expresión de los mecanismos microbicidas (Nosanchuk et al, 2012).

Autores como Nosanchuk et al (2012) piensan que la inmunización pasiva para tratar las micosis es un tema controversial, pero si se sabe que los anticuerpos colaboran para mejorar la respuesta inmune dada por la fagocitosis y la respuesta de células T (Nosanchuk et al, 2012).

La efectividad de la inmunización pasiva va a depender del tamaño del inóculo del patógeno, la ruta de infección, de la genética tanto del hospedero como del hongo, de la condición inmunológica del hospedero, de los epítomos del hongo, así como del isotipo del anticuerpo y del momento en que se administran los anticuerpos (Nosanchuk et al, 2012).

En cuanto a la inmunización pasiva contra las histoplasmosis, se ha visto que la infección induce la producción de anticuerpos policlonales contra una variedad de antígenos del hongo, sin embargo, la inmunización pasiva con suero de ratones inmunes a la infección, no confiere protección a los ratones que nunca han sido

infectados, una vez que se les administra e infecta con la dosis letal, por lo que deja en evidencia que el componente celular es necesario para proteger contra la infección (Roth et al, 2019).

Otros anticuerpos contra antígenos de *Histoplasma capsulatum* han sido sugeridos como posibles candidatos para efectuar la inmunización pasiva contra esta enfermedad, entre los cuales se puede mencionar la IgM contra las Histonas 2B y la IgG contra la rHsp60 (Roth et al, 2019).

Al inmunizar a ratones con levaduras inactivadas con calor de *Histoplasma capsulatum* se producen IgM contra Histonas 2B que es una proteína de superficie del hongo asociada a la unión y reconocimiento por parte de las células del hospedero. Al pretratar a ratones con estos anticuerpos antes de ser infectados genera una reducción en la severidad de la infección incrementando la sobrevivencia (Nosanchuk et al, 2012 y Roth et al, 2019).

La IgM contra Histonas 2B se relaciona a la reducción de la capacidad del hongo para replicarse en el ambiente intracelular ya que es incapaz de mantener el pH neutro dentro del fagosoma de los macrófagos lo que resulta en la eliminación de las levaduras, así como en el incremento del procesamiento y presentación de antígenos fúngicos, por lo tanto, la activación de las células T (Nosanchuk et al, 2012).

Se cree que la ineffectividad de esta IgM se debe a la propia naturaleza del anticuerpo ya que debido a su estructura pentamérica, se limita su tránsito a través del flujo sanguíneo de los espacios alveolares. Se ha visto que al preincubar este anticuerpo con las levaduras del hongo para ser administrados intranasalmente, mejoran la sobrevivencia de los ratones, pero también disminuyen la carga fúngica y el daño en los tejidos (Roth et al, 2019).

Estudios actuales han permitido elaborar anticuerpos del tipo IgG contra la rHsp60, los cuales se encuentran actualmente bajo estudio. La administración intraperitoneal de los subtipos IgG₁ e IgG_{2a} de estos anticuerpos genera una

sobrevivencia más prolongada en ratones infectados con la dosis letal intranasal de levaduras de *Histoplasma capsulatum* (Roth et al, 2019).

La eficiencia de las IgG contra rHsp60 es limitada, debido a que se ha observado que la inmunización confiere solo protección al 60 % de los sujetos experimentales, además la IgG_{2a} no confiere protección a los ratones ante la dosis letal del hongo, a pesar de que se ha visto que ambos subtipos de anticuerpos se unen al mismo epítipo (Roth et al, 2019).

Otros anticuerpos pan fúngicos que se cree que podrían tener algún efecto sobre la histoplasmosis son la IgG_{2b} contra la β -1,3-glucanas, la IgM contra la glucosilceramida de superficie de los hongos y la IgM contra la melanina (Roth et al, 2019).

El tratamiento de los ratones con IgG_{2b} contra la rHsp60 antes de ser infectados con la dosis letal, no genera ningún tipo de efecto en la sobrevivencia, pero cuando se incuban los anticuerpos con el hongo antes de infectar a los ratones, se puede ver un aumento al 30 % de la sobrevivencia de los sujetos de prueba (Roth et al, 2019).

También se han creado anticuerpos quimera dirigidos contra antígenos pan fúngicos como por ejemplo el WGA-Fc, que es una lectina o WGA (por sus siglas en inglés de Wheat Germ Agglutinin) fusionada al dominio Fc de una IgG_{2a} que poseen alta afinidad por los oligómeros de quitina (Roth et al, 2019).

La opsonización de *Histoplasma capsulatum* con WGA-Fc antes de ser incubados con macrófagos disminuye el índice de crecimiento intracelular de la levadura, además al tratar a ratones con estos anticuerpos quimera genera protección completa contra la dosis subletal intranasal de *Histoplasma capsulatum* (Roth et al, 2019).

La terapia con anticuerpos pareciera ser una alternativa de tratamiento contra las micosis para los pacientes inmunosupresos que no se pueden beneficiar de la inmunización activa, por lo que su efectividad en estos pacientes continua bajo estudio (Roth et al, 2019).

8-MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Se pueden presentar 3 tipos de cuadros clínicos de acuerdo con la variedad del agente etiológico que infecte al paciente, así por ejemplo se tiene **Histoplasmosis capsulati** (causada por *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*) que es la histoplasmosis clásica, la **Histoplasmosis africana o Histoplasmosis duboisii** (causada por *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*) y la **Histoplasmosis farciminosi** (causada por *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*) que es la histoplasmosis epizootica, donde los primeros dos cuadros son exclusivos del ser humano (Chander, 2018).

El paciente puede ser asintomáticos o sintomáticos con presentación que puede ser benigna o diseminada. La fase de diseminación hemática de las levaduras generalmente cursa asintomática (Sánchez et al, 2010). Generalmente el paciente asintomático presenta una prueba positiva a la histoplasmina sin ningún foco de infección que es muy común en áreas endémicas (Chander, 2018).

Menos del 1 % de personas expuestas a las microconidias desarrollan sintomatología, la cual está dada en el 60 % de los casos por sintomatología respiratoria como por ejemplo dolor de pecho, tos y dificultad respiratoria, donde en pacientes inmunosupresos, la sintomatología recuerda a la influenza. También se puede presentar fiebre, escalofríos, dolor abdominal, náuseas y vómitos principalmente en niños, además de malestar general, fatiga, pérdida de peso, dolor de cabeza severo, mialgia y artralgias en adultos (Diaz, 2018).

A pesar de que algunos pacientes son asintomáticos en la infección primaria, el padecimiento si va a dejar lesiones calcificadas (Gómez, 2011). La sintomatología inespecífica como, por ejemplo, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, tos no productiva, mialgia, pérdida de peso, fatiga y dolor de pecho, usualmente desaparece en pocas semanas (Gómez, 2011).

En pacientes que viven en zonas endémicas y se trasladan a otros lugares, se ha visto la aparición de la enfermedad muchos años después de que fue adquirida lo que se conoce como una reactivación, principalmente en pacientes con factor de

riesgo de fondo como lo es el trasplante de órganos o los pacientes HIV positivos en fase SIDA (Chander, 2018).

Puede presentarse también lesiones cutáneas y en mucosas que se consideran inespecíficas como resultado de la llegada de las levaduras a la piel al diseminarse. Ocurren en el 4-11 % de los pacientes, porcentaje que aumenta hasta 10-25 % si se es un paciente HIV positivo en fase SIDA. La manifestación cutánea es más común en América Latina llegando a estar presente en el 38-85 % de los pacientes (Chang y Rodas, 2012 y Sánchez et al, 2010).

En el caso de pacientes inmunosupresos, se puede exhibir síntomas no específicos que generalmente no se van a presentar en todas las personas por lo que puede variar, como por ejemplo lesiones en piel y mucosas, linfadenopatía dolorosa, leucopenia, lesiones granulomatosas en vías respiratorias, colon, ojos, hígado y cerebro. También puede haber síntomas específicos en los pacientes inmunosupresos que, si se van a presentar en la mayoría de los individuos como por ejemplo fiebre prolongada, pérdida de peso, caquexia y pancitopenia (Diaz, 2018).

Debido a que la presentación clínica de la **histoplasmosis capsulati** es tan variable, varios autores han propuesto clasificarla para poder estudiarla, de modo que Sánchez et al (2010), proponen dividirla en: **histoplasmosis primaria, histoplasmosis diseminada, histoplasmosis mediada inmunológicamente, histoplasmosis-SIDA, Síndrome Inflamatorio de Reconstitución Inmune y complicaciones** (ver Figura 19) (Sánchez et al, 2010).

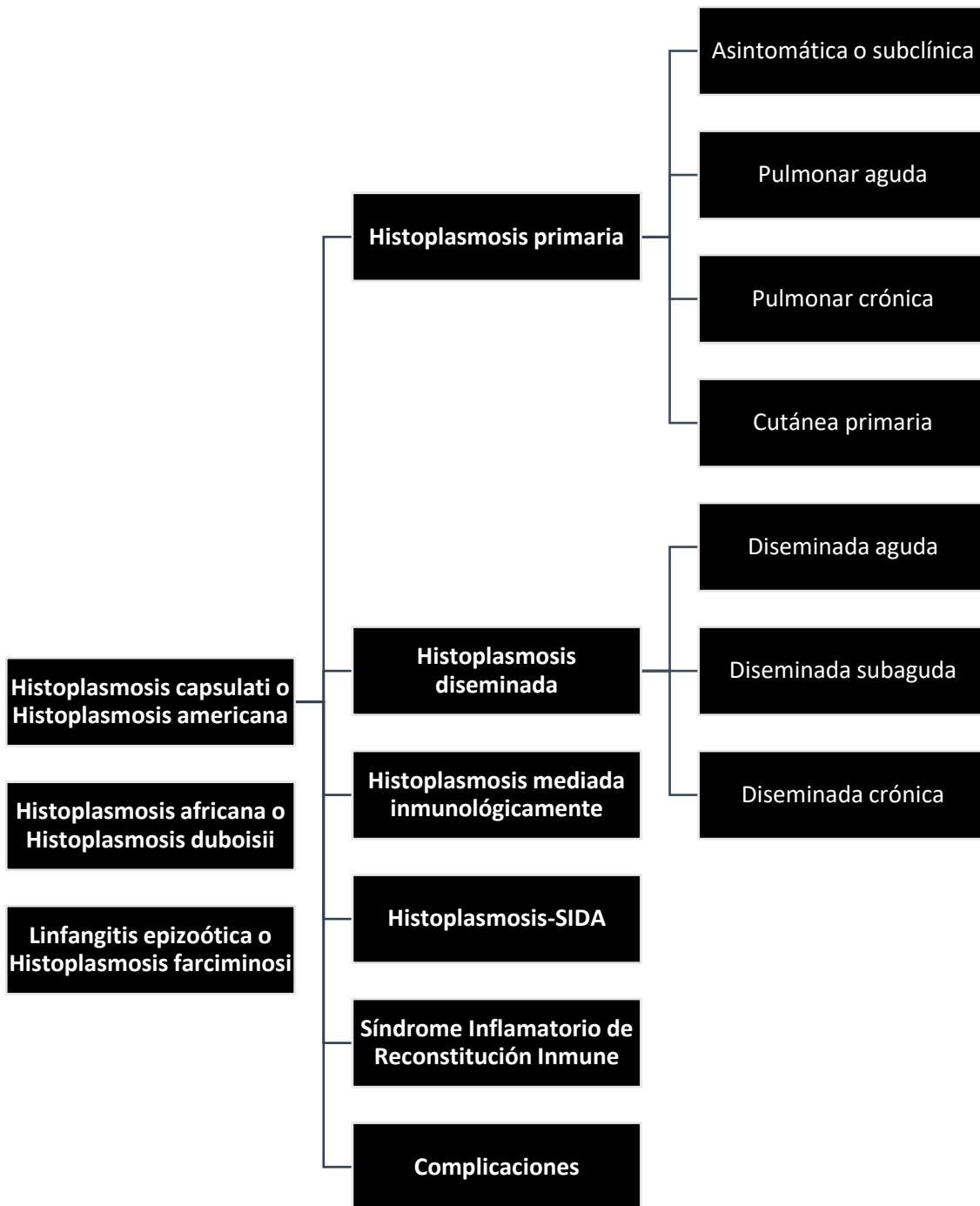


Figura 19. Clasificación del cuadro clínico causado por las diferentes variedades de *Histoplasma capsulatum* (información tomada de Sánchez et al, 2010).

8.1-Histoplasmosis capsulati o Histoplasmosis Americana

Histoplasmosis Primaria

La histoplasmosis primaria se puede dividir en **histoplasmosis asintomática o subclínica** que es común en áreas endémicas. En esta presentación clínica no se manifiestan signos o síntomas, pero la prueba de histoplasmina se presenta positiva porque el sistema inmunológico controla la infección siendo más fungistático que fungicida. En este caso podría haber persistencia de las levaduras dentro de células permisivas lo que constituiría una infección latente donde si el sistema inmune se ve debilitado ya sea por la edad, medicamentos inmunosupresores, enfermedades inmunosupresoras y alcoholismo crónicos, podría desencadenar una reactivación endógena que puede iniciar una enfermedad diseminada (Sánchez, 2009 y Sánchez et al, 2010).

En algunos casos se presentan focos pulmonares de calcificación observables mediante radiología, además, estos pacientes cursan con un periodo de incubación que va de 1 a 3 semanas. En estos casos se podría presentar una forma subclínica que evoluciona a la curación espontánea y se asemeja a la gripe (Sánchez et al, 2010).

La histoplasmosis primaria también puede ser una **histoplasmosis pulmonar aguda** que se da en pacientes inmunocompetentes cuando el inóculo inhalado es grande. Presentan un período de incubación que va de los 7 a los 21 días (con un promedio de 14 días) con sintomatología leve o subclínica en el 65-95 % de los casos que tiende a la resolución espontánea, siendo sólo un 5 % de los casos los que presentan sintomatología variable que en este caso se considera de mal pronóstico (Sánchez et al, 2010).

Si hay sintomatología el cuadro puede ser moderado y si empeora, se presenta neumonía atípica con un cuadro respiratorio más marcado. Si se está en la fase grave, la infección se asemeja a la tuberculosis pulmonar y se puede deber a una infección primaria o reactivación de un foco latente o a una reinfección. Se presenta decaimiento, fiebre, cefalea, mialgias, artralgias, sintomatología respiratoria inespecífica, tos con expectoración mucoide, dolor torácico, disnea, estertores y

puede haber cianosis por insuficiencia respiratoria. Los síntomas duran de 2 a 4 semanas, pero en los casos graves puede durar de 1 a 6 meses (Sánchez et al, 2010).

En el 5 % de los casos también se forma una mediastinitis granulomatosa con adenopatías con sintomatología obstructiva (compresión esofágica, hemoptisis y compresión de la vena cava). Puede presentarse pericarditis en el 5-10 % de los casos. Generalmente se acompaña de erupción cutánea de tipo eritema tóxico, eritema multiforme y eritema nodoso. Con el tiempo este cuadro pulmonar agudo de histoplasmosis puede evolucionar a un cuadro pulmonar crónico (Sánchez, 2009 y Sánchez et al, 2010).

La histoplasmosis primaria además puede manifestarse como una **histoplasmosis pulmonar crónica**, generalmente se limita al pulmón y a los ganglios linfáticos regionales, generando consolidación y cavitación pulmonar semejante a la tuberculosis pulmonar sin manifestaciones cutáneas. Se puede presentar escalofríos, hemoptisis, moco o pus, fiebre, pérdida de peso y dificultad para respirar. (Sánchez et al, 2010).

Las lesiones calcifican y se ven rodeadas por una zona periférica de fibrosis conocidas como histoplasmodoma que comienzan como zonas de 2 mm a 4 mm de diámetro que en un período de 10 a 15 años aumentan de 3 cm a 4 cm. La presencia de calcificaciones es más común en la histoplasmosis que en la tuberculosis y coccidioidomicosis, y es inusual en la criptococosis y blastomicosis (Chander, 2018).

Generalmente la infección se resuelve después del tratamiento con antimicóticos con excepción de la cicatrización del tejido pulmonar. Pueden haber recaídas, además puede diseminarse a otros órganos por vía hemática evolucionando a una histoplasmosis diseminada, en el caso de niños pequeños o pacientes con el sistema inmune debilitado. El cuadro también puede complicarse a artritis, fibrosis pulmonar, pericarditis e insuficiencia respiratoria (Sánchez et al, 2010).

La histoplasmosis primaria se puede mostrar como una **histoplasmosis cutánea primaria** que es poco común porque solo se presenta en el 0.5 % de los casos ya

que la mayoría de los casos es debido a inoculación traumática del patógeno en la piel que se manifiesta como un nódulo o una úlcera más adenopatía satélite semejante a la tuberculosis primaria (Sánchez et al, 2010).

La lesión cutánea generalmente es chancriforme que en el caso de pacientes inmunocomprometidos la morfología de la lesión puede variar por lo que se dificulta el diagnóstico, además puede presentar nódulos, abscesos y úlceras que pueden confundirse con las lesiones de tipo moluscoide (Sánchez et al, 2010).

Cuando no es primaria generalmente es porque constituye una forma secundaria a la histoplasmosis pulmonar aguda o crónica y también se puede manifestar como lesiones púrpura equimóticas o petequias usualmente en el área abdominal y torácica o en la mucosa de la cavidad oral (Chander, 2018). Por lo general el paciente inmunocompetente cursa con una infección autolimitada ya que *Histoplasma capsulatum* no posee mucha afinidad con el tegumento cutáneo (Sánchez et al, 2010).

Histoplasmosis Diseminada

Se presenta en pacientes con alteraciones inmunológicas tales como linfoma, etilismo crónico, desnutrición severa e inmunosupresión por SIDA y la diseminación se da por vía hemática durante la infección aguda o por una reinfección o reactivación, donde la infección pasa de los pulmones hacia otros órganos (Sánchez et al, 2010).

Se pueden ver involucrados órganos de varios sistemas o pueden tener una diseminación focal a un solo órgano. Usualmente se puede presentar infecciones hepáticas, destrucción de las glándulas adrenales y mucosas ulceradas, que se exhibe en más del 60 % de los pacientes inmunosupresos y cuando se muestra infección al sistema nervioso central presente en el 5-20 % de estos pacientes, se produce meningitis o lesiones cerebrales focales (Gómez, 2011).

De acuerdo con su progresión se puede dividir artificialmente para facilitar su estudio en: diseminada aguda, diseminada subaguda y diseminada crónica (Sánchez et al, 2010).

La **histoplasmosis diseminada aguda** cursa con adelgazamiento progresivo, astenia, anorexia, fiebre, diarrea, vómitos, hepatoesplenomegalia, adenomegalia, anemia o pancitopenia y fiebre (ver Figura 20). También puede haber sintomatología respiratoria como por ejemplo disnea, tos con expectoración mucopurulenta, con infiltrado en el intersticio pulmonar, bilaterales y micronodulillares al realizar la radiografía del pulmón (Sánchez et al, 2010).



Figura 20. Paciente con histoplasmosis diseminada aguda donde se evidencia organomegalia (imagen tomada de Sánchez et al, 2010).

Hay pápulas y nódulos pequeños moluscoides que se transforman en úlceras superficiales y con úlceras cubiertas con secreción serohemática en mucosas. Esta forma se presenta en pacientes con grave disminución de la actividad de la inmunidad celular como por ejemplo en leucemia, linfoma, SIDA y por trasplante de órganos (Sánchez et al, 2010).

Se asocia a un curso fatal si no hay tratamiento, teniendo un cuadro clínico similar a la septicemia grave con fallo multiorgánico, encefalopatía, coagulación intravascular diseminada y un cuadro de insuficiencia respiratoria del adulto con vasculitis cutánea y hemorragia en mucosas (Sánchez et al, 2010). Si la histoplasmosis diseminada aguda no es tratada inmediatamente, cursa rápidamente hacia la muerte en el transcurso de semanas (Gómez, 2011).

La **histoplasmosis diseminada subaguda** también suele presentarse en pacientes con la actividad de la inmunidad celular disminuida. Es la presentación más común de histoplasmosis en pacientes HIV positivos en fase SIDA (Sánchez et al, 2010).

Hay presencia de pérdida de peso, anorexia, fiebre prolongada, diarrea y vómitos. Puede haber manifestaciones cutáneas y mucosas que se presentan con más frecuencia que en comparación con las demás formas clínicas, donde se presentan pápulas que se ulceran en el vértice cubiertas de costras serohemáticas, pero también se pueden observar nódulos que evolucionan a gomas y úlceras de aspecto variado que se describen como más profundas en comparación con la forma diseminada aguda. Puede haber también úlceras de fondo rojo cubiertas de secreción blanco-amarillenta en mucosa de la boca (ver Figura 21), laringe y glánde, además puede haber afectación visceral (Sánchez et al, 2010).



Figura 21. Lesiones orales en pacientes con histoplasmosis en un adulto (A) y un niño (B) (imagen tomada de Bonifaz, 2015).

En pacientes receptores de trasplante de órganos sólidos suele observarse también nódulos grandes eritematosos que producen úlceras extensas y afectación del aparato gastrointestinal (Sánchez et al, 2010).

Se ha reportado que los pacientes con histoplasmosis diseminada subaguda que no son tratados llegan a morir en 2 a 24 meses (Gómez, 2011).

La **histoplasmosis diseminada crónica** se caracteriza porque los pacientes presentan sintomatología leve, lesiones focales y respuesta inmunológica efectiva mediada por la inmunidad celular que se reporta que aparece de meses a años después de que el paciente abandona la zona endémica y se presenta principalmente en adultos del sexo masculino entre 40 a 60 años (Sánchez et al, 2010).

Suele presentarse fiebre, sudoración nocturna, leve pérdida de peso, afección respiratoria, linfadenopatía, meningitis crónica con LCR claro y tendencia a la hidrocefalia y lesiones cutáneas o mucosas como por ejemplo úlceras orales con bordes definidos y fondo granulomatoso que afectan mucosa nasal, yugal, faríngea, laríngea y lengua que se observan en el 50 % de los casos (Sánchez et al, 2010).

Se puede presentar hepatoesplenomegalia y afección en glándulas suprarrenales en el 30 % de los casos (Sánchez et al, 2010). Puede haber histoplasmosis gastrointestinal con presencia de diarrea, sangre en heces que se puede confundir con colitis ulcerativa y la enfermedad de Crohn, causando obstrucción intestinal o perforación, estando involucrado principalmente el íleon distal, colon y estómago (Chander, 2018).

Histoplasmosis Mediada Inmunológicamente

A partir del parasitismo quiescente acompañado de la constante liberación de antígenos del hongo se puede generar la histoplasmosis mediada inmunológicamente que comprende el histoplasmodoma (masas fibrosas asintomáticas de 5 mm a 3 cm únicas o múltiples), mediastinitis fibrosante (produce compresión intrínseca de la vena cava superior y esófago), y el Síndrome de Presunta Histoplasmosis Ocular o POHS (por sus siglas en inglés de Presumed Ocular Histoplasmosis Syndrome) (Chander, 2018 y Sánchez et al, 2010).

El **histoplasmodoma** se puede presentar tanto en el paciente inmunocompetente como inmunosupreso. Representa un problema a la hora del diagnóstico ya que se

confunde fácilmente con malignidades o tuberculomas desde el punto de vista radiográfico. Estos se presentan principalmente en pulmones, pero puede presentarse en sistema nervioso central y otras áreas corporales como huesos, cavidad oral y partes blandas, y muy poco frecuente en el tracto intestinal, y pueden llegar a medir más de 3 cm, y cuando son docenas de nódulos calcificados de 2 mm a 4 mm se les ha llamado “buckshot” (traducido como perdigones), por el contrario, si es una masa ≥ 3 cm se le conoce más bien como “cannonball” (traducido como bala de cañón). Puede presentarse como una lesión subaguda o crónica, y estar asociado a síntomas respiratorios o sistémicos (Inocente et al, 2012 y Richmond et al, 2013).

El histoplasmosis generalmente no produce sintomatología y se produce posterior a un cuadro respiratorio primario siendo un hallazgo casual de los exámenes radiológicos que se observan generalmente como un nódulo pulmonar solitario de 3 cm de diámetro más frecuentemente en lóbulos inferiores con lesiones satélites calcificadas (Bonifaz, 2015).

Está compuesto de lesiones cavitarias encapsuladas o calcificadas constituidos de un foco central de necrosis dando el aspecto de una masa rígida y fibrosa que se genera en el término de años siendo este fenómeno mucho más frecuente en la histoplasmosis que en la tuberculosis o coccidioidomicosis y que suelen confundirse con neoplasias (Bonifaz, 2015).

En el caso de pacientes inmunocomprometidos, el histoplasmosis puede constituir una fuente de diseminación hacia otros órganos después de 5 a 10 años. Estos pacientes presentan la prueba a la histoplasmina positiva (Bonifaz, 2015).

El histoplasmosis también representa el origen de una reactivación de la enfermedad durante la inmunosupresión ya que el microorganismo persiste en estos focos de forma inactiva (Colombo et al, 2011).

Se desconoce si en regiones endémicas el histoplasmosis es el origen del cuadro clínico ante una presuntiva reactivación o si más bien se debe a una exposición exógena del agente (Gómez, 2011).

La mediastinitis fibrosante es la complicación como resultado del paciente que cursa con histoplasmosis y desarrolla adenitis (inflamación de ganglios linfáticos), y son masas llamadas granulomas mediastinales que consisten en material semilíquido cubierto de una cápsula fibrótica las cuales generalmente no tienen significancia clínica, pero podrían estar envueltos en la compresión de vasos del mediastino (Richmond et al, 2013).

Los mediastinitis fibrosantes son una manifestación de la hiperreactividad del paciente hacia la infección, los cuales pueden desencadenar la estenosis de vasos y bronquios dentro del mediastino (zona anatómica del tórax entre los pulmones y las pleuras), causando hipertensión pulmonar, síndrome de vena cava superior y obstrucción bronquial (Gómez, 2011 y Sánchez et al, 2010).

El Síndrome de Presunta Histoplasmosis Ocular o POHS (por sus siglas en inglés de Presumed Ocular Histoplasmosis Syndrome) es un síndrome inflamatorio con una coriorretinitis crónica que desencadena desprendimiento de la retina. Se da principalmente en mujeres entre los 30 a 50 años y se ha visto asociado al antígeno leucocitario humano HLA B7 y DRw2, donde se reporta que ambos han resultado positivos en estos pacientes con una frecuencia de 81 % y 77 % en pacientes con histoplasmosis ocular en Estados Unidos, respectivamente (Chander, 2018 y Ramírez, 2015).

Actualmente se asocia también la presencia de los alelos HLA-DR15 y HLA-DQ6 con la manifestación de membranas neovasculares en pacientes con histoplasmosis ocular que viven en el medio oeste de los Estados Unidos (Chander, 2018 y Ramírez, 2015).

El síndrome ha sido descrito tanto en pacientes inmunocompetentes como inmunosupresos. Si no se trata produce ceguera en el 50 % de los casos. Se da como una secuela de la infección subclínica o sistémica donde las lesiones o manchas se conocen como “histo spots” (Chander, 2018 y Ramírez, 2015).

Se describe como presuntivo porque aún no se ha encontrado una asociación causal entre el hongo y la enfermedad ocular. Se piensa que el cuadro se da por

una infección focal de la coroides debido a una diseminación hematógica, resultando en una cicatriz atrófica en patrón de sacabocados en los estadios más tempranos, que daña la membrana de Bruch y que adicionalmente podría dañar el epitelio retinal pigmentario y producir la coriocapilaritis que progresa a hemorragia subretinal, exudación y a la formación de una cicatriz disciforme fibrovascular (Chander, 2018 y Ramírez, 2015).

Se cree también que la cicatrización no está dada por el hongo en sí, sino más bien debido al proceso inflamatorio, ya que algunos autores han descrito que la histoplasmosis diseminada asociada a la invasión ocular se manifiesta como infiltrados intrarretinianos de levaduras de *Histoplasma capsulatum* que no generan cicatrización, pero sí se sugiere que el hongo podría estar relacionado a una respuesta tardía del sistema inmune que induce una reacción autoinmune en la retina (Chander, 2018 y Ramírez, 2015).

Como sintomatología se reporta la pérdida indolora progresiva de la agudeza visual y metamorfopsia que puede presentarse como aguda o insidiosa. La sintomatología se presenta hasta que la neovascularización coroidal compromete la fóvea (Chander, 2018 y Ramírez, 2015).

Histoplasmosis y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA)

En pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis, la enfermedad se presenta como una infección oportunista multisistémica con presentaciones cutáneas (pápulas necróticas, lesiones acneiformes, moluscoides, variceliformes, placas y úlceras en sacabocado), pulmonares y en menor medida lesiones en la mucosa nasal, sinusal, paladar, laringe, faringe e intestino (Sánchez et al, 2010).

La infección puede iniciar a partir de una reactivación de la infección latente crónica o la progresión de una infección adquirida. Los síntomas son similares a la histoplasmosis diseminada aguda con predominio de manifestaciones generales (Sánchez et al, 2010).

También concomitante con la histoplasmosis se pueden presentar otras infecciones fúngicas oportunistas como por ejemplo la candidiasis oral y lesiones

granulomatosas en hígado, bazo, colon y cerebro, donde se han reportado 2 casos de histoplasmosis gastrointestinal con perforación colónica y del neumoperitoneo en pacientes HIV positivos en fase SIDA que presentaban dolor abdominal crónico y melena (Díaz, 2018).

Un estudio efectuado en Colombia reveló que los pacientes HIV positivos en fase SIDA en comparación con los pacientes HIV negativos, eran más propensos a manifestar lesiones en piel, anemia, leucopenia, velocidad de eritrosedimentación elevada, además de demostrar una respuesta más reducida a la terapia antifúngica (Colombo et al, 2011).

Si se presentan las lesiones cutáneas, estas se caracterizan por ser polimórficas pudiéndose presentar como pápulas, placas con o sin costra, pústulas, nódulos, úlceras en mucosa, erosiones, lesiones similares al *molluscum contagiosum*, erupciones acneiformes, pápulas eritematosas, síndromes de eritrodermia, pioderma gangrenosa, paniculitis, hiperpigmentación difusa, abscesos y celulitis (ver Figura 22, 23, 24 y 25), siendo las zonas más comúnmente afectadas la cara, extremidades, tronco y mucosa oral, perianal y genital pero podría haber lesiones en la mucosa gastrointestinal en forma de placas, nódulos o úlceras (Chang y Rodas, 2012).

Las lesiones en mucosa oral afectan al 75 % de estos pacientes presentándose como úlceras orofaríngeas o nódulos dolorosos en la lengua, encías y laringe (Chang y Rodas, 2012).



Figura 22. Lesiones nodulares en el rostro de paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (A y B) (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012).



Figura 23. Lesiones con aspecto de pápulas en el rostro de pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (A y B). La imagen B muestra lesiones papulares un poco más hiperqueratóticas (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012).



Figura 24. Lesiones con aspecto similar a *molluscum contagiosum* en rostro (A) y brazo (B) de paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012).



Figura 25. Lesiones con aspecto de placas hemorrágicas en rostro de paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada (imagen tomada de Chang y Rodas, 2012).

Se reporta que del 5-10 % de pacientes HIV positivos en fase SIDA habitantes de áreas endémicas con histoplasmosis diseminada presentan afección al sistema nervioso central, donde no necesariamente se muestran síntomas debido a las lesiones presentadas. La clínica más frecuente es la presencia de meningitis subaguda o crónica, además se podrían presentar apoplejía y encefalitis. Otros hallazgos es la presencia de histoplasmosomas (ver Figura 26). En el análisis del líquido cefalorraquídeo se puede evidenciar generalmente aumento de la concentración de proteínas sin una elevación significativa de la celularidad (Azizirad et al, 2007).

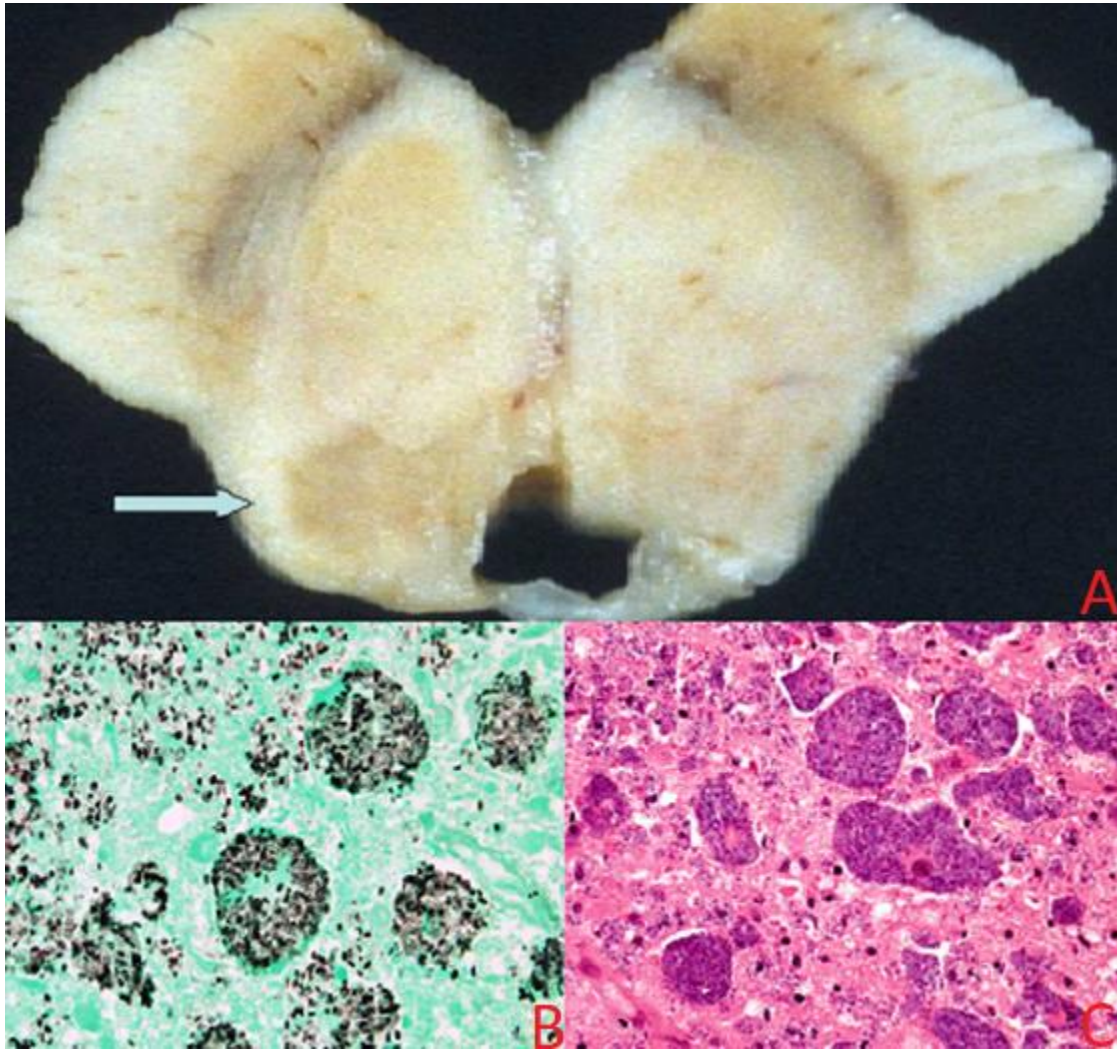


Figura 26. Estudio *post mórtem* de un paciente HIV positivo en fase SIDA con histoplasmosis diseminada e histoplasmosa en mesencéfalo. En la imagen A se evidencia la zona de inflamación granulomatosa con tejido necrótico (marcado con una flecha). En las imágenes B y C se observan levaduras semejantes a *Histoplasma capsulatum* (1000X) (B en GSM y C en hematoxilina eosina) (imagen tomada de Azizirad et al, 2007).

A veces se puede presentar sepsis como antesala de la histoplasmosis diseminada en estos pacientes, siendo de mal pronóstico, donde la mortalidad va del 10-20 %, y puede aumentar hasta el 80 % (Azizirad et al, 2007).

La afección a sistema nervioso central debida a histoplasmosis diseminada es de difícil diagnóstico empeorando si no se encuentran evidencias de padecer una histoplasmosis diseminada, siendo de elección el análisis de muestras como el

líquido cefalorraquídeo (es recomendado el análisis de por lo menos 20 mL) y la biopsia, con una sensibilidad de 20-60 % para el cultivo, 60-80 % para el estudio de anticuerpos en líquido cefalorraquídeo y 50-80 % para el estudio de la biopsia (Azizirad et al, 2007).

El diagnóstico no invasivo es poco útil muchas veces, y aunado a esta situación no en todos los casos se le puede tomar una biopsia al paciente, en los cuales el análisis del líquido cefalorraquídeo mediante las técnicas convencionales como el cultivo, y el análisis de anticuerpos y antígenos resulta crítico para poder diagnosticar la enfermedad, a pesar de que se ha visto que la determinación del antígeno urinario en estos pacientes puede resultar negativa principalmente en pacientes inmunocompetentes que poseen una baja carga parasitaria (Azizirad et al, 2007 y Richmond et al, 2013).

También se presenta la afectación del tracto intestinal en pacientes HIV positivos con histoplasmosis diseminada, donde se ha reportado un compromiso en el 90 % de los casos con un curso de sintomatología inespecífica como diarrea y dolor abdominal, por lo que se debe hacer diagnóstico diferencial con infecciones causadas por patógenos entéricos principalmente en países no endémicos de la histoplasmosis (Inocente et al, 2012).

Se afecta principalmente el íleon terminal y colon, a veces como una masa obstructiva pseudotumoral (ver Figura 27), que son lesiones hiperplásicas más frecuentemente vistas en la Enfermedad de Crohn y la tuberculosis intestinal y que simulan un tumor al estudio radiológico, clínico y anatomopatológico al observar macroscópicamente, lo que puede conducir a un diagnóstico erróneo, siendo el estudio microscópico histológico el que va a permitir efectuar el diagnóstico ya que en este último solo se confunde con los tumores por la presencia de engrosamiento e inflamación del intestino pero se diferencia por la presencia de microorganismos intracelulares semejantes a *Histoplasma capsulatum* (Inocente et al, 2012).



Figura 27. Segmento de intestino delgado con áreas hemorrágicas y perforación con aspecto infiltrativo e inflamación, extraído de un paciente HIV positivo con histoplasmosis ileal (imagen tomada de Inocente et al, 2012).

Síndrome Inflamatorio de Reconstitución Inmune o IRIS

Se presenta en pacientes HIV positivos que inician la terapia antirretroviral HAART donde hay una recuperación parcial de la inmunidad celular o en pacientes que suspenden el tratamiento de inhibidores del TNF- α u otros inmunosupresores. Se inducen manifestaciones clínicas conocidas como el Síndrome Inflamatorio de Reconstitución Inmune o IRIS (por sus siglas en inglés de Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome), que consiste en el empeoramiento de los síntomas que presentaba el paciente después del éxito del tratamiento microbiológico al mejorar el sistema inmunitario debilitado (Bahr et al, 2015 y Chander, 2018).

El IRIS describe la inflamación que presentan estos pacientes que desencadena el empeoramiento de infecciones preexistentes, desórdenes autoinmunes o desenmascara infecciones subclínicas debido a una respuesta inmune no controlada y específica (Hidrón y González, 2012).

En un estudio retrospectivo efectuado en áreas no endémicas de histoplasmosis en Francia, se reportó una prevalencia del 11 % en pacientes HIV positivos con histoplasmosis que reciben tratamiento HAART (Peigne et al, 2011).

En pacientes HIV positivos con histoplasmosis que reciben tratamiento HAART, el IRIS es una manifestación poco frecuente y cuando se presenta cursa con síntomas leves. Generalmente la evolución del paciente HIV positivo con infección fúngica en tratamiento con HAART es favorable cuando es tratado con antifúngicos (Hidrón y González, 2012).

Además de la histoplasmosis, también se ha asociado a otras infecciones fúngicas como la criptococosis y pneumocystosis, donde el común denominador es ser un paciente con trasplante de órgano sólido, paciente neutropénico o mujer en período posparto (Hidrón y González, 2012).

Se cree también que los antimicóticos utilizados como tratamiento de las infecciones fúngicas invasoras (Anfotericina B, Triazoles y Equinocandinas) contribuyen al fenómeno de IRIS ya que presentan propiedades proinflamatorias porque se consideran inmunomoduladores debido a que aumentan la actividad de las células fagocíticas como los monocitos, neutrófilos y macrófagos (Hidrón y González, 2012).

En la histoplasmosis, el IRIS se manifiesta 1 a 4 meses después de que el paciente inicia el tratamiento con HAART con sintomatología focal que se asocia a las lesiones que ya existían pero puede haber compromiso de nuevos órganos además de los anteriormente afectados como granulomas hepáticos, uveítis y artritis, pero específicamente para la histoplasmosis se reporta adenopatías necróticas, obstrucción intestinal secundaria a colitis granulomatosa, infarto esplénico, Síndrome hemofagocítico, lesiones en piel y meningitis aséptica. Al realizar el estudio histológico de las lesiones se observa granulomas con células gigantes y necrosis que se presentan generalmente en el paciente que es inmunocompetente (Hidrón y González, 2012).

Complicaciones

Se ha reportado recaídas en pacientes inmunocomprometidos o tratados inadecuadamente (Sánchez et al, 2010). También se pueden presentar la obstrucción bronquial, traqueal y esofágica secundarias a la adenopatía, calcificaciones pulmonares, hepáticas, esplénicas y rara vez pleuresía y pericarditis (que puede generar estenosis valvular). Además, puede haber histoplasmosis del sistema nervioso central con meningitis crónica e histoplasmosis intracraneal (Arenas, 2015; Gómez, 2011 y Sánchez et al, 2010).

Puede producirse bronquiolitiasis, neumonía y hemoptisis que resultan en cavitaciones, insuficiencia respiratoria y adrenal (en este caso al afectar glándulas suprarrenales se produce Enfermedad de Addison ya que ambas glándulas presentan inflamación granulomatosa necrotizante lo que genera la insuficiencia) (Arenas, 2015; Colombo et al, 2011; Gómez, 2011 y Linder y Kauffman, 2019).

Se debe sospechar de insuficiencia adrenal en pacientes con histoplasmosis que presenten hipotensión ortostática, hiperkalemia, hiponatremia y eosinofilia. Es interesante mencionar que estos pacientes al ser tratados y resolver la histoplasmosis, necesitan de por vida suplementos con corticosteroides ya que la función adrenal no es restaurada (Linder y Kauffman, 2019).

En un estudio del año 1970 en 57 pacientes con histoplasmosis diseminada se encontró que el 50 % desarrollaron insuficiencia adrenal lo cual es una de las causas de muerte más comunes incluyendo a la meningitis crónica, en donde se dice que, en este último caso, si no es diagnosticado prontamente, las probabilidades de fallo del tratamiento y recaídas son altas. Si las complicaciones son severas, el paciente muere por sepsis, fallo respiratorio y renal o fallo multiorgánico (Colombo et al, 2011 y Gómez, 2011).

El cuadro agudo también puede resultar en granulomatosis mediastínica con afección de las estructuras adyacentes, pericarditis y fibrosis. Las formas cavitadas pueden generar espacios que puede ser ocupados por bolas fúngicas del género

Aspergillus sp. Si se producen úlceras intestinales, se genera el Síndrome de Malabsorción (Arenas, 2015).

La infección endovascular como complicación de la histoplasmosis es un evento raro que se da principalmente en pacientes con prótesis cardíacas, y debe ser sospechado en pacientes con endocarditis que poseen una prótesis cardíaca y que presentan cultivos negativos, por lo que el diagnóstico debe complementarse con la detección de antígenos, ya que por ejemplo menos de la mitad de pacientes con esta complicación presentan hemocultivos positivos (Ledtke et al, 2012).

8.2-Histoplasmosis duboisii o Histoplasmosis Africana

La histoplasmosis duboisii afecta primariamente huesos y tejidos blandos (tejido cutánea y subcutáneo) con poca evidencia de lesiones en pulmones u otros órganos ya que involucra muy pocas veces al sistema reticuloendotelial (Chander, 2018).

Las lesiones cutáneas pueden parecerse a lesiones de carcinoma y se presentan como pápulas que frecuentemente desarrollan un centro umbilicado que puede transformarse en nódulos, abscesos o úlceras (ver Figura 28) (Chander, 2018).

Las manifestaciones subcutáneas se pueden presentar como granulomas con abscesos que descargan a través de sinusoides. Las lesiones en hueso son osteolíticas típicamente en huesos largos y huesos planos (ver Figura 29) (Chander, 2018).

Es poco común las manifestaciones respiratorias, en el tracto gastrointestinal y nódulos linfáticos (Chander, 2018). La histoplasmosis africana se limita generalmente a pulmones en pacientes sanos por lo que la ruta de infección es respiratoria, se asocia muy rara vez a pacientes HIV positivos en fase SIDA, pero cuando lo hace se puede presentar como sintomatología más diseminada con lesiones granulomatosas en piel y nódulos linfáticos, lesiones osteolíticas en hueso, costilla y vértebras, donde se reporta un porcentaje de fatalidad del 20 % en el caso de la histoplasmosis africana diseminada (Diaz, 2018).

Sin embargo, en los últimos años se ha reconocido a la histoplasmosis duboisii como causante de enfermedad diseminada en pacientes HIV positivos en países africanos (Ashraf et al, 2020).



Figura 28. Paciente HIV positivo habitante de Senegal con recuento de células CD4+ de 4 células/mm³, que presenta lesiones papulonodulares, necróticas, ulceradas y umbilicadas diseminadas con afectación oral, y fiebre que evidencia presencia de levaduras extracelulares grandes (10 µm de diámetro) de doble contorno al examen directo de las lesiones, confirmado con cultivo (macroconidias tuberculadas) e histopatología (levaduras intracelulares en células gigantes multinucleadas) como histoplasmosis africana (imagen tomada de Ndiaye et al, 2011).



Figura 29. Paciente agricultor de 22 años inmunocompetente habitante de Senegal. A) Presenta lesiones polimórficas en piel, principalmente lesiones papulonodulares umbilicadas (la flecha amarilla indica un nódulo carnos) y linfadenopatía no inflamatoria. B) Geodo óseo (señalado con la flecha amarilla) en extremidad superior izquierda visto en la radiografía que demuestra desmineralización ósea. Confirmado por histoplasmosis africana mediante la observación de levaduras grandes de doble contorno (10-12 μm de diámetro) al examen directo de biopsia de piel y ganglios linfáticos, y mediante cultivo en Agar Sabouraud Glucosado. El paciente fallece por cuadro de sepsis debido a la inaccesibilidad de la Anfotericina B como tratamiento en el país (imagen tomada de Diadie et al, 2016).

9-DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Las lesiones cutáneas por histoplasmosis se pueden confundir con sífilis, carcinoma y paracoccidioomicosis (principalmente si las lesiones afectan mucosa oral, ya que son frecuentes en la paracoccidioomicosis), por lo que se debe hacer diagnóstico diferencial con estas otras entidades clínicas (Chander, 2018).

Las lesiones cutáneas también pueden tener aspecto moluscoide, entonces se debe hacer diagnóstico diferencial con el virus del Molusco contagioso (poxvirus), en especial en los casos de histoplasmosis diseminada donde se presentan pápulas de aspecto moluscoide (Bonifaz, 2015 y Sánchez et al, 2010).

Pero a nivel histopatológico de las lesiones cutáneas, el principal diagnóstico diferencial de la histoplasmosis es el carcinoma epidermoide, debido a que en ambas enfermedades se presenta crecimiento de forma irregular en las crestas epiteliales que aparentan separarse del epitelio es decir se presenta hiperplasia pseudoepiteliomatosa (Bologna et al, 2018).

En pacientes inmunocompetentes con sintomatología pulmonar, se debe hacer diagnóstico diferencial con influenza, neumonía adquirida en la comunidad, tuberculosis y psitacosis (enfermedad pulmonar causada por la bacteria intracelular *Chlamydia psittaci*) (Diaz, 2018). Pero la tuberculosis va a ser el principal diagnóstico diferencial con el cuadro pulmonar de histoplasmosis debido a que ambas enfermedades son homólogas, debido a que tanto la bacteria (*Mycobacterium tuberculosis*) como el hongo (*Histoplasma capsulatum*), utilizan a los macrófagos como sus hospederos entablando una infección aguda, persistente pulmonar o diseminada, además en ambas enfermedades los aspectos patológicos y clínicos también son similares (Chander, 2018).

En el caso del cuadro diseminado en pacientes inmunosupresos, especialmente pacientes HIV positivos en fase SIDA o pacientes con enfermedad neumónica difusa reticulonodular, el diagnóstico diferencial es más complejo debido a la amplia presentación clínica, por lo que se debe diferenciar la histoplasmosis de la tuberculosis miliar, neumonía debida a *Pneumocystis jirovecii*, Sarcoma de Kaposi, neumonía por Citomegalovirus, linfoma y otras infecciones oportunistas de origen

fúngico como por ejemplo coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis, criptococosis y talaromicosis (Diaz, 2018).

También se tiene que hacer diagnóstico diferencial con otros agentes etiológicos que desarrollan neumonitis localizada como por ejemplo *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella* sp., *Coxiella burnetti* o *Chlamydia pneumoniae* (Chander, 2018), al igual que con otras enfermedades respiratorias y cuadros agudos de fiebre del viajero que visitan zonas endémicas, como por ejemplo leptospirosis, esquistosomiasis, influenza, parainfluenza, dengue y malaria (Sánchez, 2009).

Al realizar tinciones para histopatología como la tinción de metanamina de plata o ácido peryódico de Schiff, las levaduras intracelulares pueden confundirse con otros hongos como por ejemplo *Candida glabrata*, *Talaromyces (Penicillium) marneffeii*, *Pneumocystis jirovecii*, *Cryptococcus neoformans* y *Blastomyces dermatitidis* (Sánchez, 2009).

Además, las levaduras de *Histoplasma capsulatum* se deben distinguir también de otros microorganismos intracelulares como por ejemplo *Leishmania donovani*, *Toxoplasma gondii*, *Emergomycetes pasteurianus* y *Emergomycetes africanus* (las levaduras de estos dos últimos hongos son pequeñas de 1 µm a 3 µm de diámetro pero carecen de halo). En el caso de *Emergomycetes orientalis*, sus levaduras miden de 4 µm a 10 µm por lo que se podrían confundir con las levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*. Las levaduras de *Histoplasma capsulatum* no poseen kinetoplasto por lo que se diferencian de *Leishmania donovani*, además también se diferencian de los taquizoitos de *Toxoplasma gondii* en que estos últimos no se tiñen con tinción Argéntica o GMS. Las levaduras de *Candida glabrata* se podrían confundir con las de *Histoplasma capsulatum* debido a que son pequeñas y se podrían encontrar colonizando orofaringe y se diferencian porque no se encuentran intracelulares (Bonifaz, 2020 y Chander, 2018).

Las macroconidias de la fase saprofítica de *Histoplasma capsulatum* también se podrían confundir con las macroconidias de hongos saprofíticos como *Sepedonium* sp. y *Renispora flavissima*, además de que las microconidias también podrían parecerse a las de *Chrysosporium* sp., por lo que se requiere realizar diagnóstico

diferencial, por su estuvieran presentes como contaminantes de medios de cultivo (Chander, 2018).

Las levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, al ser tan grandes deben diferenciarse de las levaduras monogemantes con base de implantación ancha de *Blastomyces dermatitidis* y de las levaduras de *Lacazia loboi* que están dispuesta en la conformación en cadena generalmente (Chander, 2018).

En el examen directo se debe hacer diagnóstico diferencial con *Talaromyces (Penicillium) marneffe* ya que este presenta también levaduras intracelulares que son redondas u ovaladas de 2.5 μm a 4.5 μm de diámetro (generalmente son curvas o elongadas cuando se encuentran en el medio extracelular lo que es característico de este hongo), también se diferencian debido a que poseen una septación transversal (que se observa mejor en tinciones como GMS), además es importante mencionar que estas levaduras se reproducen por fisión binaria por lo que no se observan levaduras gemantes a diferencia de *Histoplasma capsulatum* (ver Figura 30) (Bonifaz, 2015 y Chander, 2018). Los amastigotos de *Leishmania* sp. podrían también generar confusión al examen directo (Bonifaz, 2015).

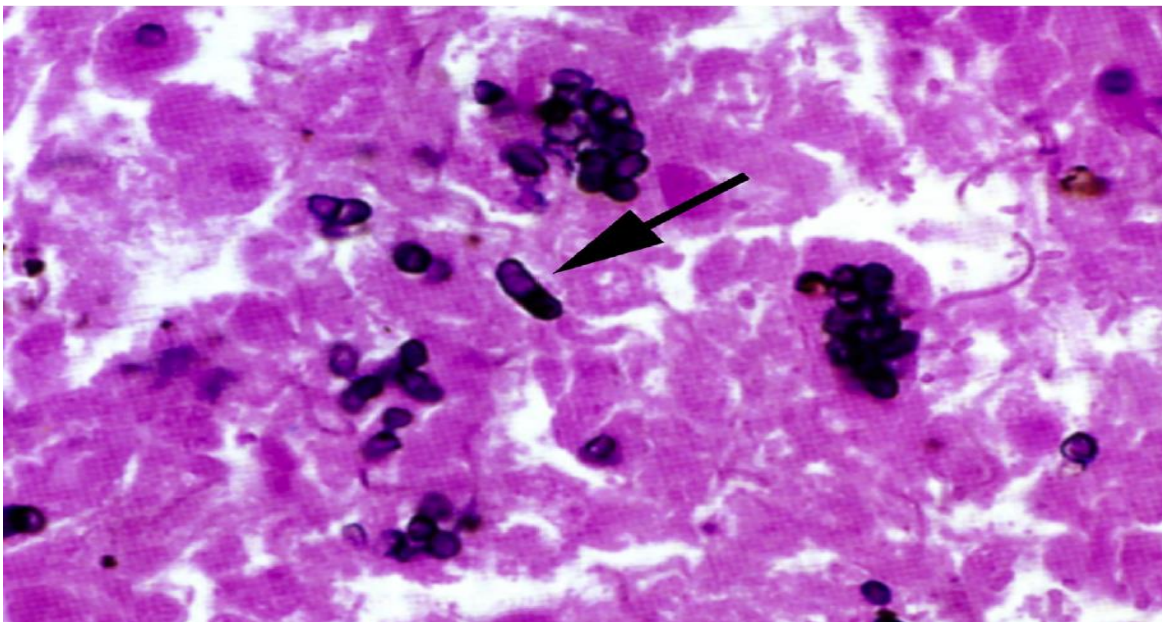


Figura 30. Levaduras ovaladas y elongadas con septo central (señalada con una flecha) de *Talaromyces (Penicillium) marneffe*. Muestra teñida en Hematoxilina Eosina (100X) (imagen tomada de Kradin, 2017).

10-DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

10.1-Diagnóstico micológico

La histoplasmosis no es clínicamente diagnosticada debido a lo inespecífico de su sintomatología clínica (Sánchez, 2009). El **examen directo** es de valor diagnóstico y por ejemplo los montajes en KOH no son útiles ya que las levaduras son muy pequeñas e intracelulares en polimorfonucleares, mononucleares y ocasionalmente células gigantes, por lo que generalmente pasan inadvertidas. La muestra para su estudio es el esputo, aspirado bronquial, secreción de lesiones, sangre periférica, médula ósea, líquido cefalorraquídeo y biopsia (hígado, pulmones, nódulos linfáticos y lesiones cutáneas) (Díaz, 2018 y Sánchez et al, 2010).

El examen directo tiene utilidad diagnóstica cuando también se efectúa al montar con Blanco de Calcofluor (ver Figura 31) o Hematoxilina Eosina (ver Figura 32) o Wright (ver Figura 33) pero también al teñir con Giemsa (ver Figura 34), PAS (ver Figura 35), GMS o Grocott (ver Figura 36) y Gomori o Griedley, donde al observar al microscopio se ven levaduras de 1 μm a 2 μm de diámetro con una pared gruesa que se observa como un halo refringente que simula una cápsula, generalmente dentro de polimorfonucleares (Sánchez et al, 2010).



Figura 31. Levaduras intracelulares en un examen directo con Blanco de Calcofluor a partir de una muestra de lavado bronquioalveolar (100X) (imagen de autoría propia).

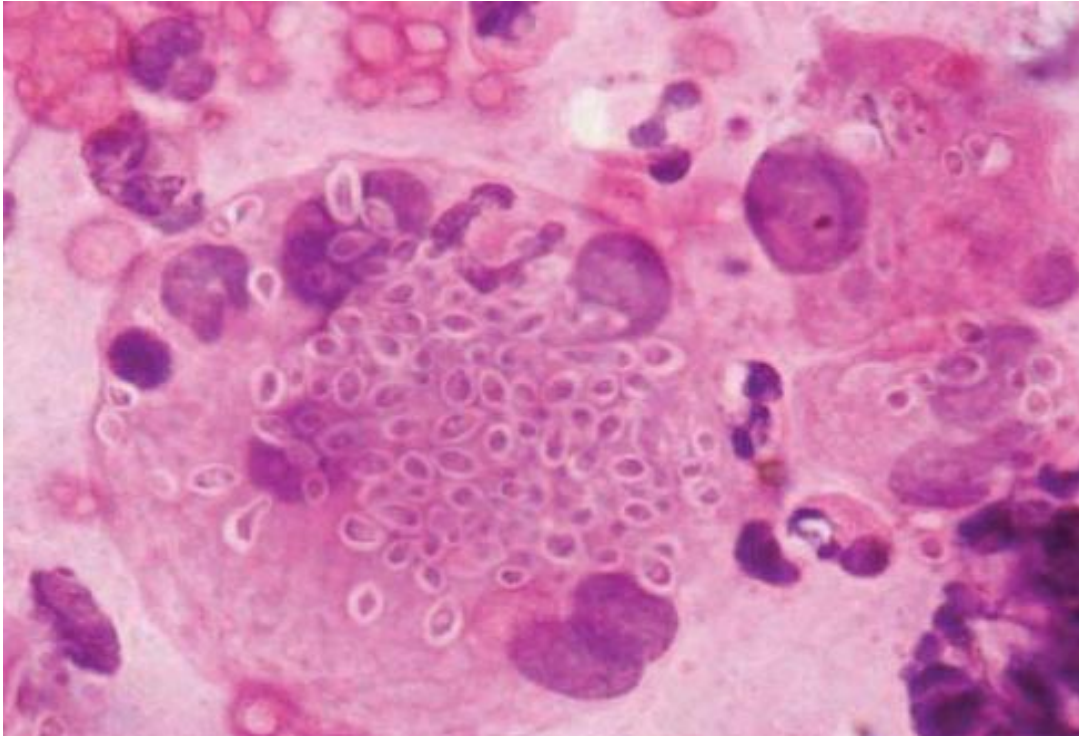


Figura 32. Levaduras intracelulares en un macrófago. Muestra teñida en Hematoxilina Eosina (120X) (imagen tomada de Bonifaz, 2015).

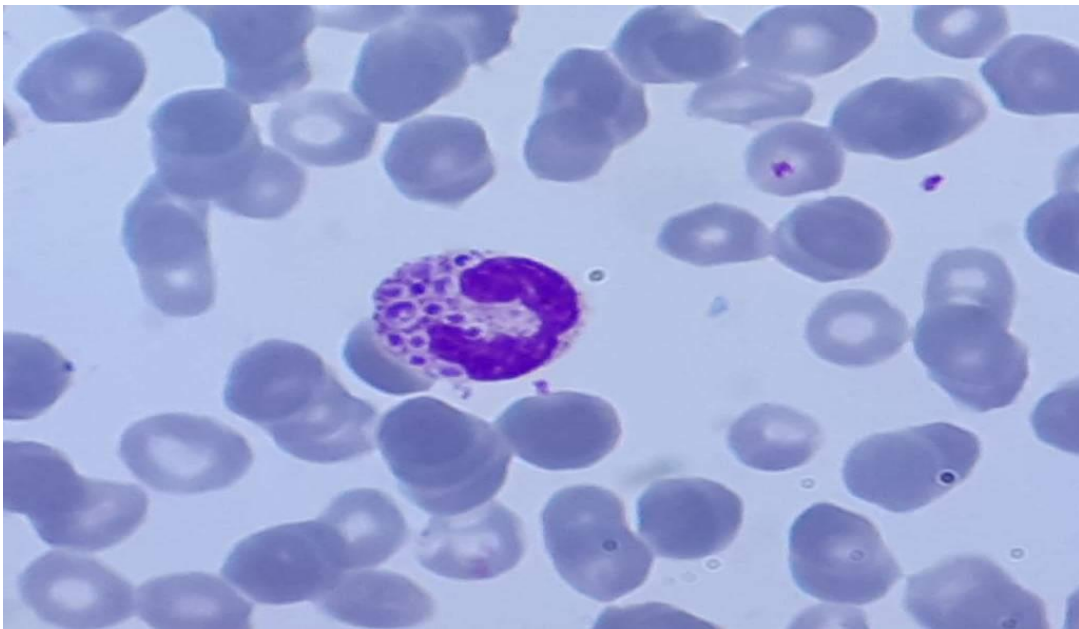


Figura 33. Levaduras intracelulares en un neutrófilo. Muestra teñida en tinción de Wright (100X) (imagen cortesía del Dr. Allan Valverde Vindas, Especialista en Micología Médica).

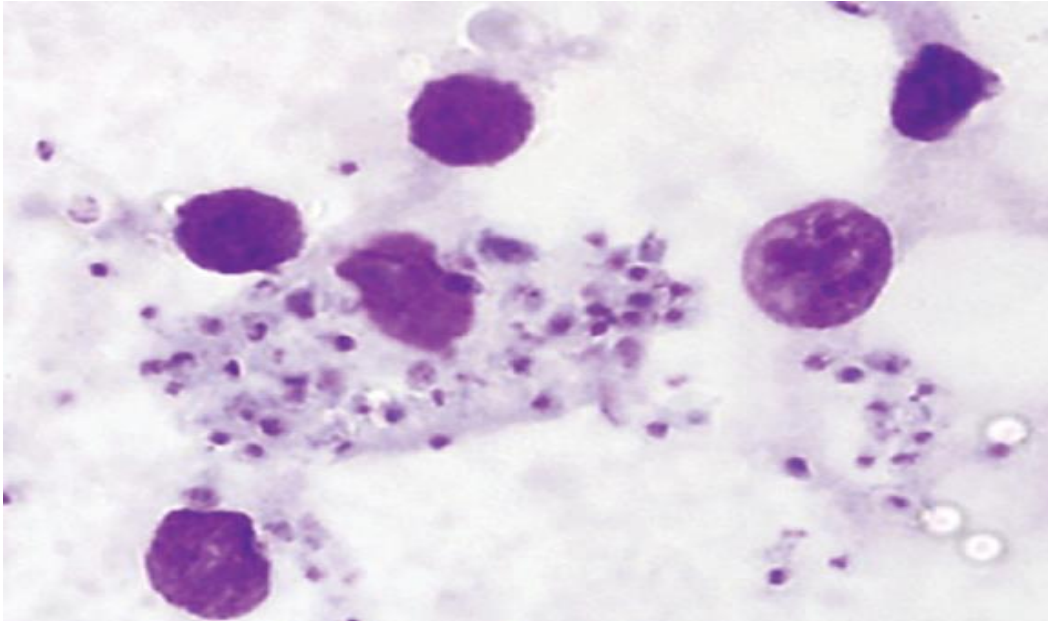


Figura 34. Levaduras intracelulares en un histiocito. Muestra teñida en Giemsa(1000X) (imagen tomada de McCullough y Leslie, 2018).

En la tinción de Giemsa, la pared celular de las levaduras se observa azul claro con un espacio claro entre la pared y el protoplasma de color azul oscuro. En la tinción de PAS (Ácido Periódico de Schiff), la pared celular de las levaduras se ve violeta, rojo o rosado con un protoplasma pálido. En la tinción de GMS (metanamina plata de Grocott) o argéntica, las levaduras se observan de color negro. En el caso de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, se observan levaduras más grandes de 7 μm a 15 μm de diámetro intracelulares de pared gruesa (3 o 4 veces más grandes que las de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*) (ver Figura 37) (Chang y Rodas, 2012).

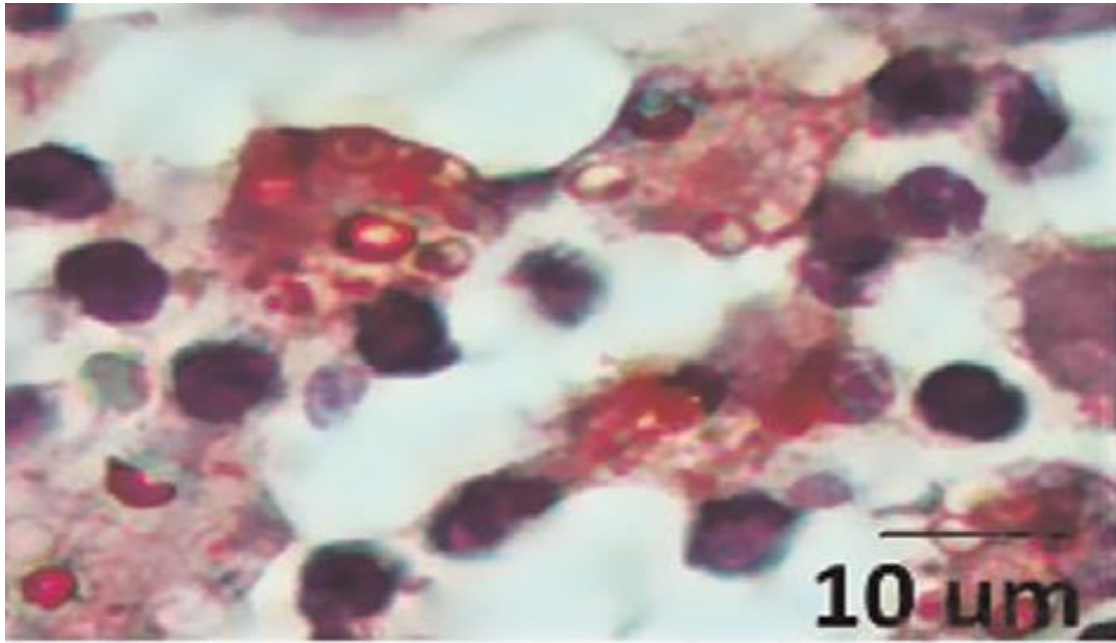


Figura 35. Levaduras intracelulares en un macrófago. Muestra teñida en PAS (1000X) (imagen tomada de Diaz, 2015).

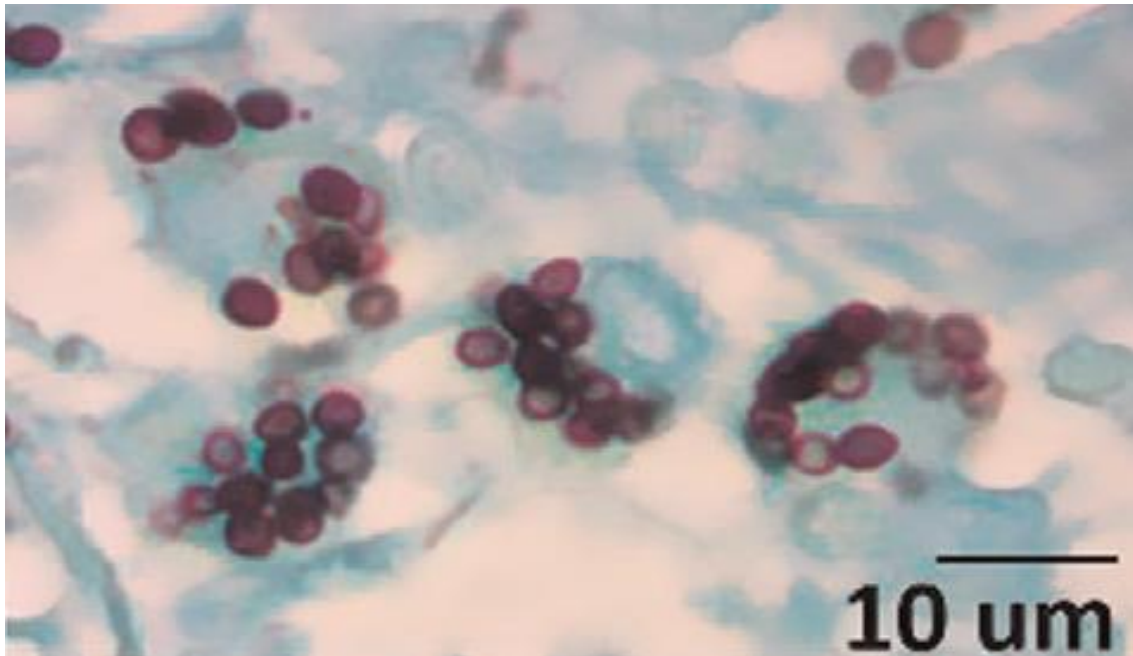


Figura 36. Levaduras intracelulares en un macrófago. Muestra teñida en GMS (1000X) (imagen tomada de Diaz, 2015).

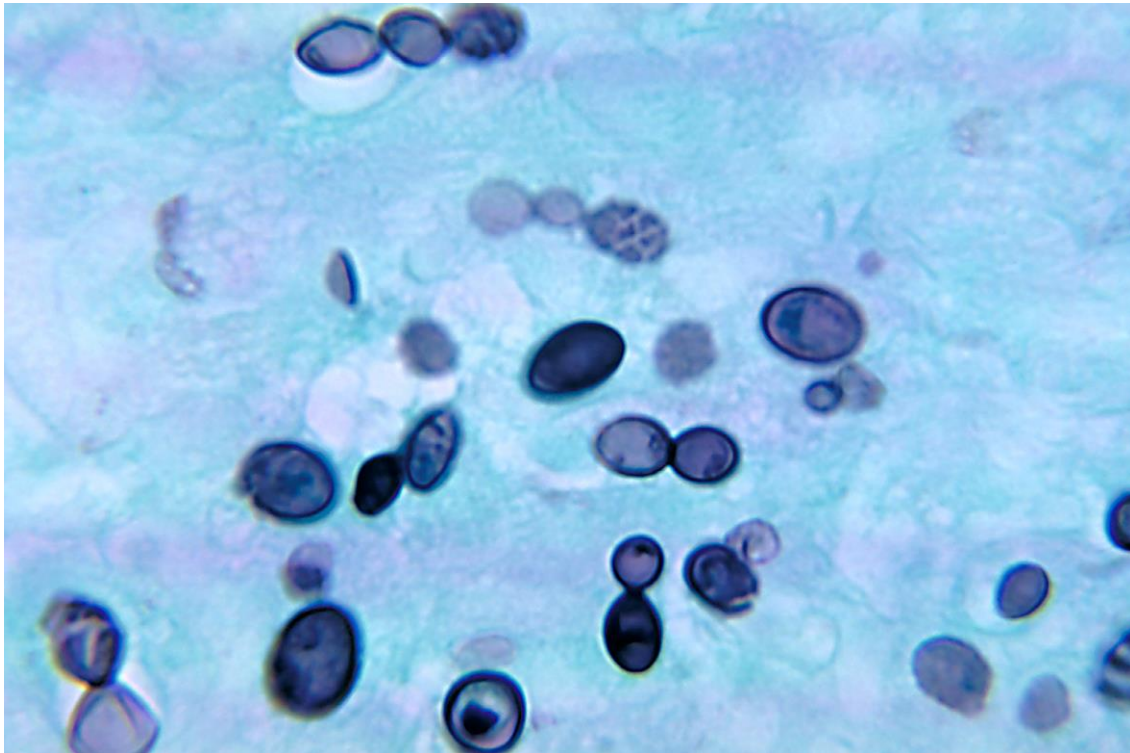


Figura 37. Levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* en una muestra de esputo teñido con tinción de Metanamina de Plata de un paciente con histoplasmosis africana (800X) (imagen tomada de Diaz, 2018).

El frotis de sangre para realizar tinciones se puede obtener a partir de la capa leucocitaria o “buffy coat” obtenido al centrifugar sangre citratada o del sedimento que queda en el tubo al centrifugar donde está concentrada la celularidad (Chander, 2018). Las tinciones de tejidos o sangre periférica son métodos rápidos, pero de baja sensibilidad (Chang y Rodas, 2012).

El **cultivo** es de valor confirmatorio y se considera el estándar de oro para el diagnóstico complementado con los hallazgos histopatológicos, especialmente si se efectúa a partir del aspirado de médula ósea en pacientes HIV positivos. En conjunto con el examen directo, se incrementa la sensibilidad diagnóstica (Chang y Rodas, 2012; Hernández et al, 2012 y Linder y Kauffman, 2019).

A partir de la muestra se siembra Agar Sabouraud glucosado más antibióticos, Agar Sangre y Agar Mycosel, en el caso de hemocultivos, la muestra se puede cultivar a partir del sistema lisis centrifugación con saponina que presenta una mejor

sensibilidad en comparación con los cultivos efectuados a partir del hemocultivo convencional, siendo considerado el método de elección para el aislamiento de este hongo, ya que la sangre extraída es lisada por la saponina, por lo que se destruyen los eritrocitos y leucocitos liberando las levaduras intracelulares en el medio. Los medios de cultivo inoculados con la muestra se incuban a una temperatura de 25 °C a 28 °C hasta por 6 semanas antes de descartar las placas inoculadas. Los cultivos se revisan diario la primera semana y dos veces a la semana las siguientes tres semanas. En el caso del Agar Mycosel, si es inoculado a partir de aislamientos primarios obtenidos de las lesiones, la cicloheximida o actidione podrían ser inhibitorios o retardar el crecimiento de *Histoplasma capsulatum*, entonces cuando no hay crecimiento de los aislamientos primarios, el material clínico podría ser inoculado en Agar Extracto de Levadura Fosfato con Hidróxido de Amonio (medio sólido para el cultivo de hongos dimórficos a partir de aislamientos primarios de muestras contaminadas, el extracto de levadura provee vitaminas, elementos traza y aminoácidos, el fosfato mantiene el pH y estimula la esporulación y el crecimiento, y el hidróxido de amonio funciona como agente selectivo que inhibe el crecimiento de bacterias y hongos saprófitos) (Arenas, 2015; Chander, 2018; Linder y Kauffman, 2019; Muñoz et al, 2010 y Sánchez et al, 2010).

El crecimiento obtenido puede presentar dos tipos de morfología colonial que se han descritos como tipo A o albina y tipo B o café (B por Brown por su nombre en inglés) (ver Figura 38). En ambos casos las colonias son de aspecto lanoso, algodonoso o liso que llegan a abarcar gran parte de la superficie de la placa con el medio de cultivo. Generalmente la tipo A presenta fino micelio aéreo y es de color blanco y al realizar pasajes podría expresar pigmentos y la de tipo B es plana de color café oscuro o claro donde el pigmento es desarrollado dentro de 7 días, en los cuales el pigmento podría difundir al medio (Arenas, 2015; Chander, 2018 y Sánchez et al, 2010).

Se dice que las colonias de tipo A tienen mayor producción de macroconidias, en comparación con las colonias de tipo B que producen más microconidias. En países como México, se ha observado que es más frecuente aislar colonias del tipo B en

la naturaleza y a partir de pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis (Arenas, 2015).

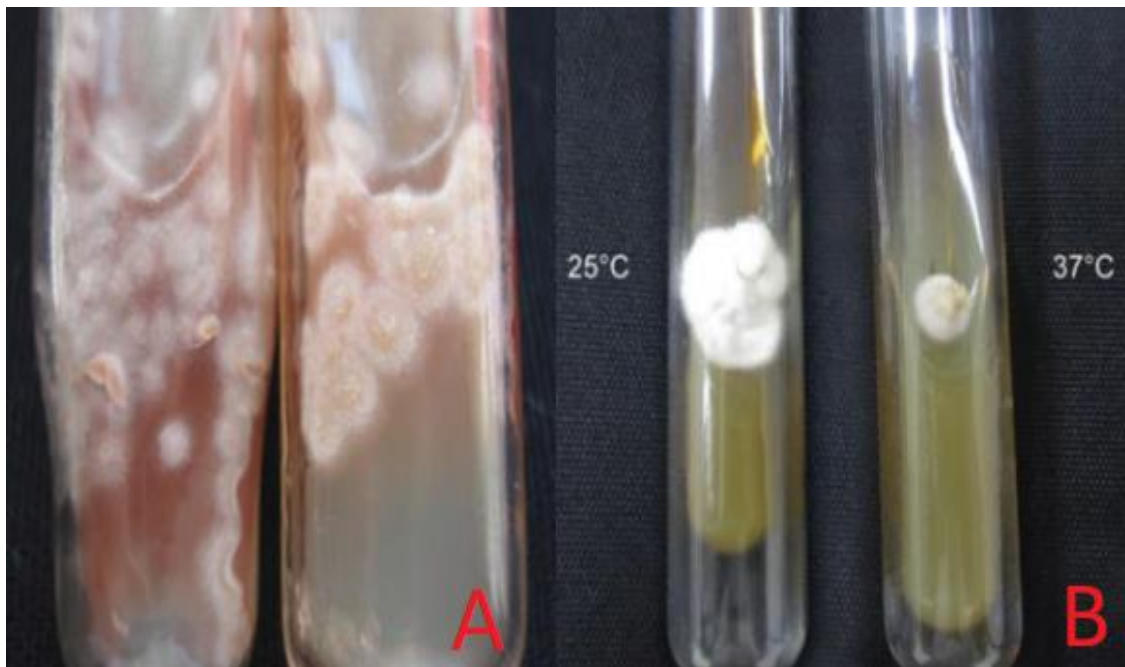


Figura 38. En la imagen A se observan dos tubos con colonias filamentosas de *Histoplasma capsulatum* con morfología de tipo B y en la imagen B se observa un tubo incubado a 25 °C con una colonia filamentosas y un tubo incubado a 37 °C con una colonia levaduriforme, ambas de *Histoplasma capsulatum* con una morfología de tipo A (imagen tomada y modificada de Bonifaz, 2015 y Chander, 2018).

Se debe inducir el dimorfismo del hongo para confirmar los aislamientos al cultivar a 37 °C en medios ricos como el Agar Infusión Cerebro Corazón más antibióticos, Agar Kelley, Medio Pine o Agar BGC (Agar Sangre Glucosa Cisteína). Al cultivar se obtiene una colonia levaduriforme de consistencia granular y mucosa de color crema que se torna café en pocas semanas (ver Figura 39). Este hongo requiere condiciones reductoras para poder pasar a la fase levaduriforme y mantenerse, por lo que muchos de estos medios ricos contienen cisteína que provee grupos tiol libres para generar esas condiciones reductoras. La esporulación del hongo se puede inducir con Agar Papa Dextrosa (Chander, 2018).

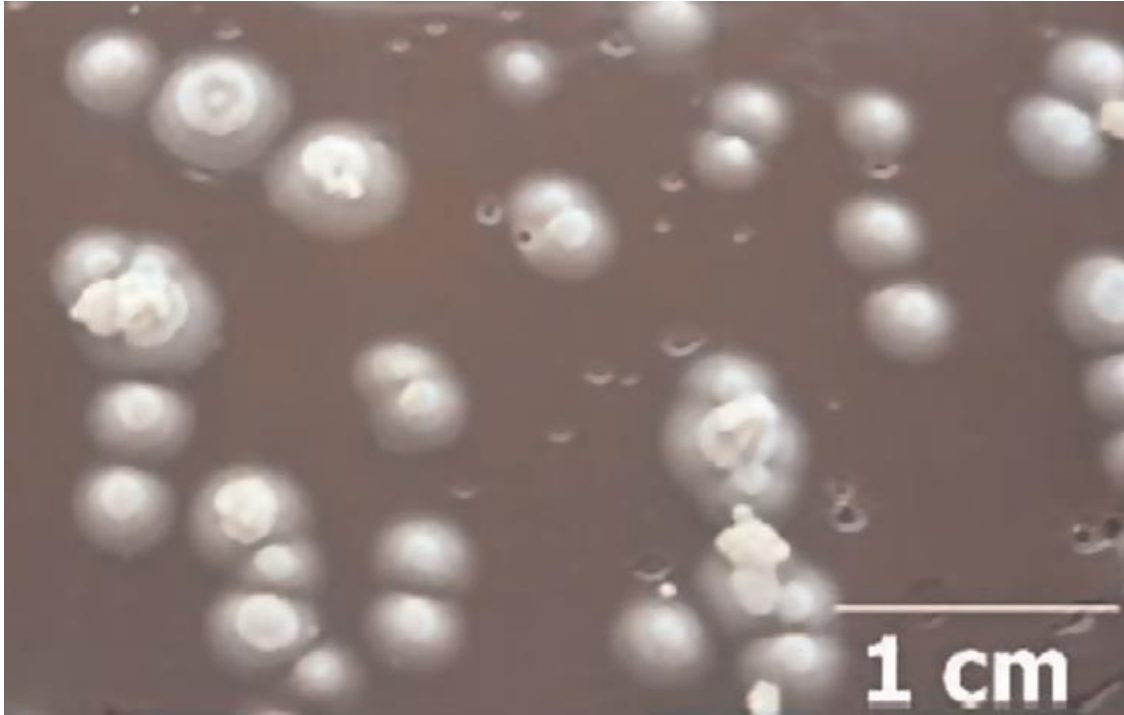


Figura 39. Colonia levaduriforme de *Histoplasma capsulatum* obtenida al inocular Agar Infusión Cerebro Corazón e incubar a 35 °C durante 28 días (imagen tomada de Ortiz et al, 2015).

Al realizar el examen microscópico se observan macroconidias tuberculadas de 8 μm a 14 μm de diámetro redondas u ovaladas de pared gruesa que crecen a partir de conidióforos simples cortos, además se observan microconidias de 2 μm a 4 μm de diámetro esféricas, de pared lisa que nacen de conidióforos simples cortos y angostos y que además se consideran la fase infectante al ser humano (ver Figura 40) (Sánchez et al, 2010).

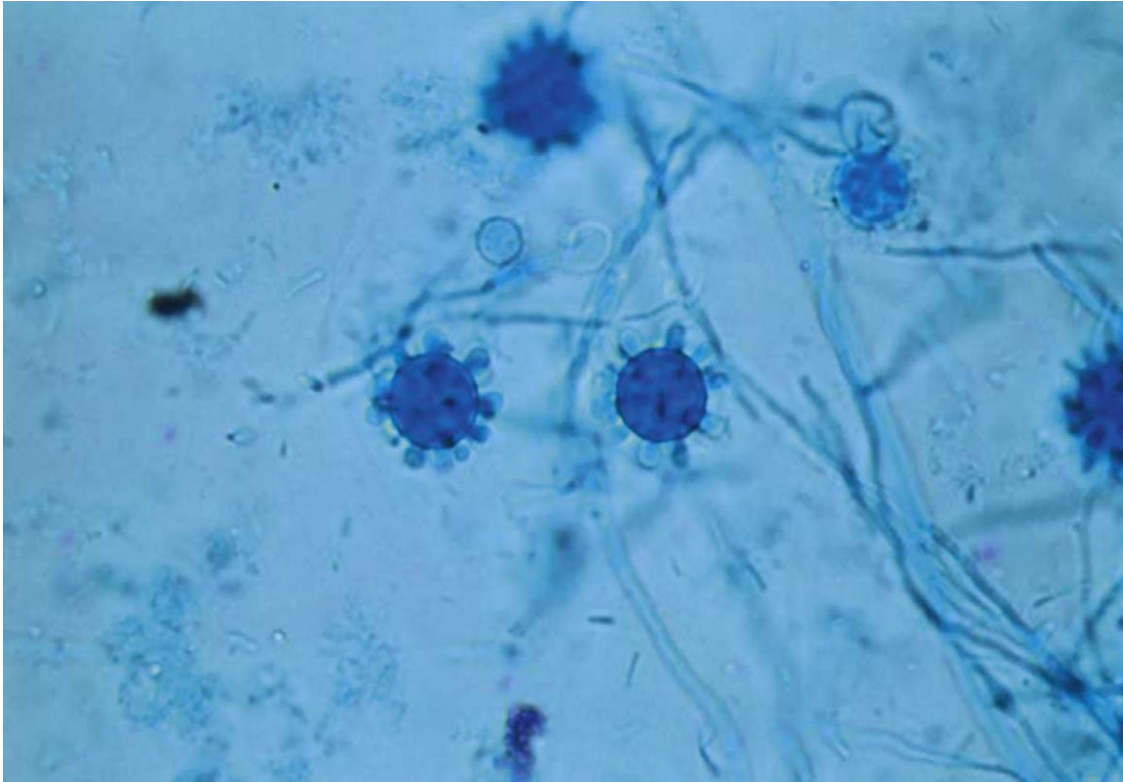


Figura 40. Micelio hialino septado y macroconidias tuberculadas de *Histoplasma capsulatum* (800X) (imagen tomada de Diaz, 2018).

El cultivo se puede confirmar también mediante técnicas de biología molecular mediante el empleo de una sonda de ADN comercial (accu-probe; Gen probe) (Sánchez, 2009). En la fase saprofítica, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* e *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* son morfológicamente indistinguibles, pero autores como Chander (2018), establecen que casualmente el tamaño de las levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, se asemejan al tamaño de las macroconidias y el tamaño de las levaduras de *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* se asemejan al tamaño de las microconidias, siendo la otra alternativa para diferenciar entre variedades las técnicas de biología molecular a través de la utilización de sondas de ADN (Chander, 2018).

10.2-Diagnóstico histopatológico

La biopsia es la muestra de elección para el estudio histopatológico al igual que para estudiar los casos de histoplasmosis mucocutánea. A nivel histopatológico, las lesiones se caracterizan porque inicialmente pueden presentar una reacción inflamatoria aguda con infiltrado de polimorfonucleares y macrófagos que contienen gran cantidad de levaduras intracelulares de 2 μm a 4 μm de diámetro ovals con brotes pequeños, que posteriormente al hacerse crónicas pueden presentar infiltrado granulomatoso de células epiteliales y células gigantes multinucleadas con áreas de necrosis (ver Figura 41) (Sánchez et al, 2010).

Entonces para autores como Arenas (2015), los hallazgos histológicos van a depender del cuadro que presente el paciente y el tiempo de evolución por tanto la gravedad. En general, en la fase aguda se observa numerosas levaduras que están dentro de los histiocitos, y hay infiltrado de neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas. En la fase subaguda, ya se forma el granuloma epitelioides que contiene células plasmáticas, linfocitos, neutrófilos, macrófagos y células gigantes multinucleadas, además se encuentra menos cantidad de levaduras, puede haber formación de granuloma tuberculoide con necrosis caseosa, fibrosis y calcificaciones, pero estos hallazgos no son específicos de la histoplasmosis y podrían presentarse en otras infecciones. En el cuadro grave, las levaduras abundan, pero ya en la fase crónica vuelven a estar escasas y pueden llegar a adoptar tamaños y formas irregulares llegando a medir de 10 μm a 20 μm de diámetro (Arenas, 2015 y Linder y Kauffman, 2019).

En el caso de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, se observa generalmente infiltrado de muchas células gigantes pero que van a contener numerosas levaduras ovals de 12 μm a 15 μm de diámetro, mucho más grandes en comparación a *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* (Arenas, 2015).

Los granulomas pueden o no presentar la necrosis caseosa, hay infiltrado linfocítico o mononuclear difuso con presencia de levaduras adentro o afuera de los macrófagos (ver Figura 42). Las preparaciones para el estudio histológico se pueden teñir con tinción de Ácido Peryódico de Schiff (PAS), Metanamina de Plata,

Gomori Grocott, Gram, Giemsa, Gridley, Hematoxilina Eosina y Wright (Arenas, 2015 y Chang y Rodas, 2012). Cabe destacar que en Giemsa la levadura se tiñe y se rodea de un halo claro que asemeja una cápsula, además, también se logra teñir las levaduras con rojo Congo, pero solo parcialmente con PAS y se ha visto que solo el 50 % de las levaduras se tiñen con Ziehl Neelsen. En Hematoxilina Eosina las levaduras se observan como estructuras pequeñas redondas de pared gruesa con un halo claro (ver Figura 43), y en Grocott se ven levaduras con tamaño homogéneo donde la célula madre es más grande que la célula hija gemante con una base de implantación angosta (ver Figura 44) (Arenas, 2015). La sensibilidad del diagnóstico histológico es de 69 % para los lavados bronquiales, 30 % para el frotis de sangre y 42 % para médula ósea (Chang y Rodas, 2012).

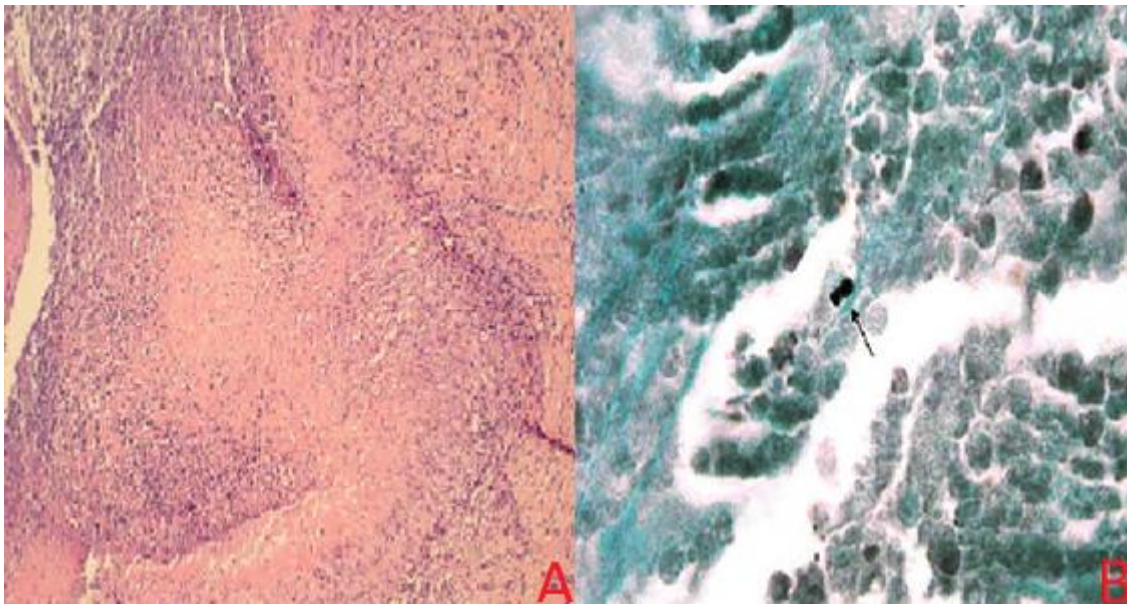


Figura 41. Biopsia obtenida por aspirado transtorácico de aguja fina en paciente con histoplasmosis paratraqueal y paraesofágica. En la imagen A se observa tejido granulomatoso con zonas de necrosis (teñido en hematoxilina eosina, 100X) y en la imagen B se observa una levadura similar a *Histoplasma capsulatum* señalada con una flecha (teñido en GSM, 1000X) (imagen tomada de Richmond et al, 2013).

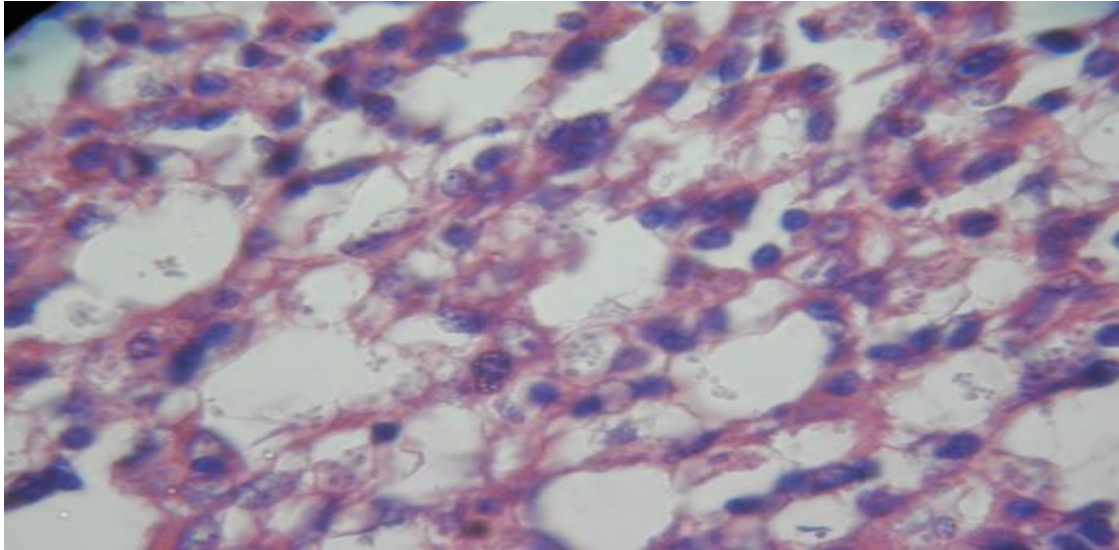


Figura 42. Infiltrado histiocitario, con linfocitos, plasmocitos y macrófagos parasitados con microorganismos intracelulares, en paciente HIV positivo con histoplasmosis ileal. Preparación teñida con hematoxilina eosina (40X) (imagen tomada de Inocente, 2012).

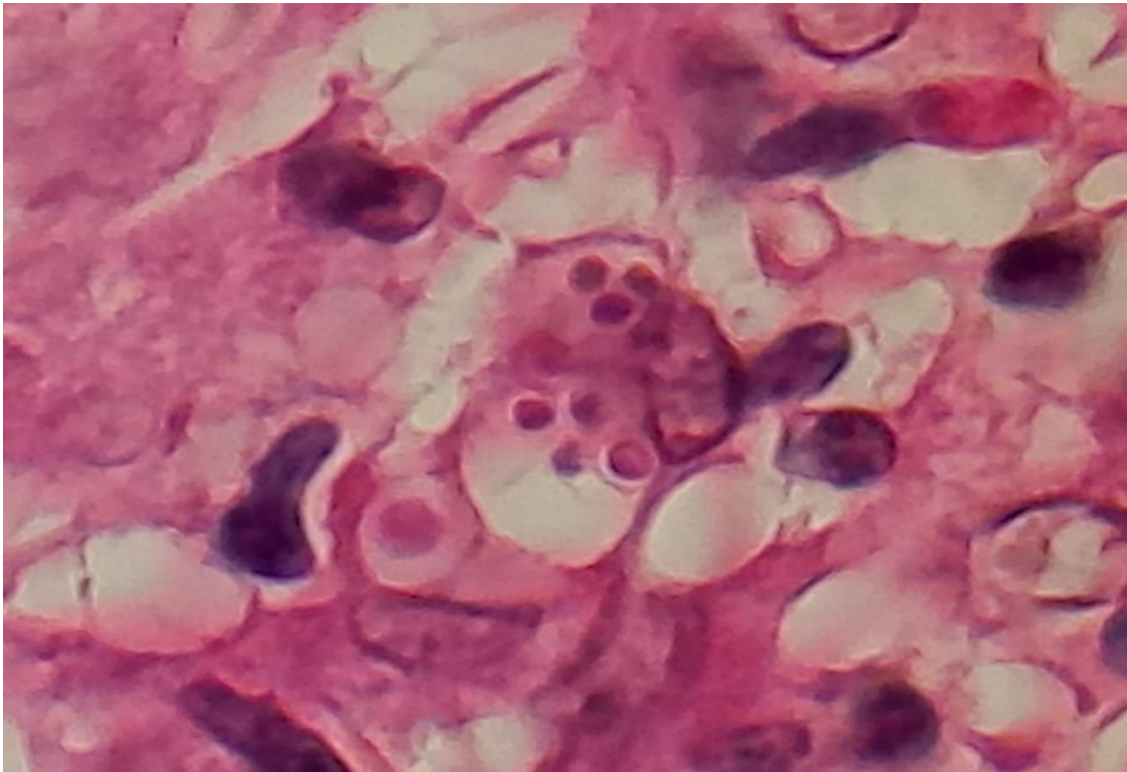


Figura 43. Estructuras fúngicas redondas pequeñas de pared gruesa con halo claro, visto en una biopsia de piel teñida con Hematoxilina Eosina (100X) (imagen de autoría propia).

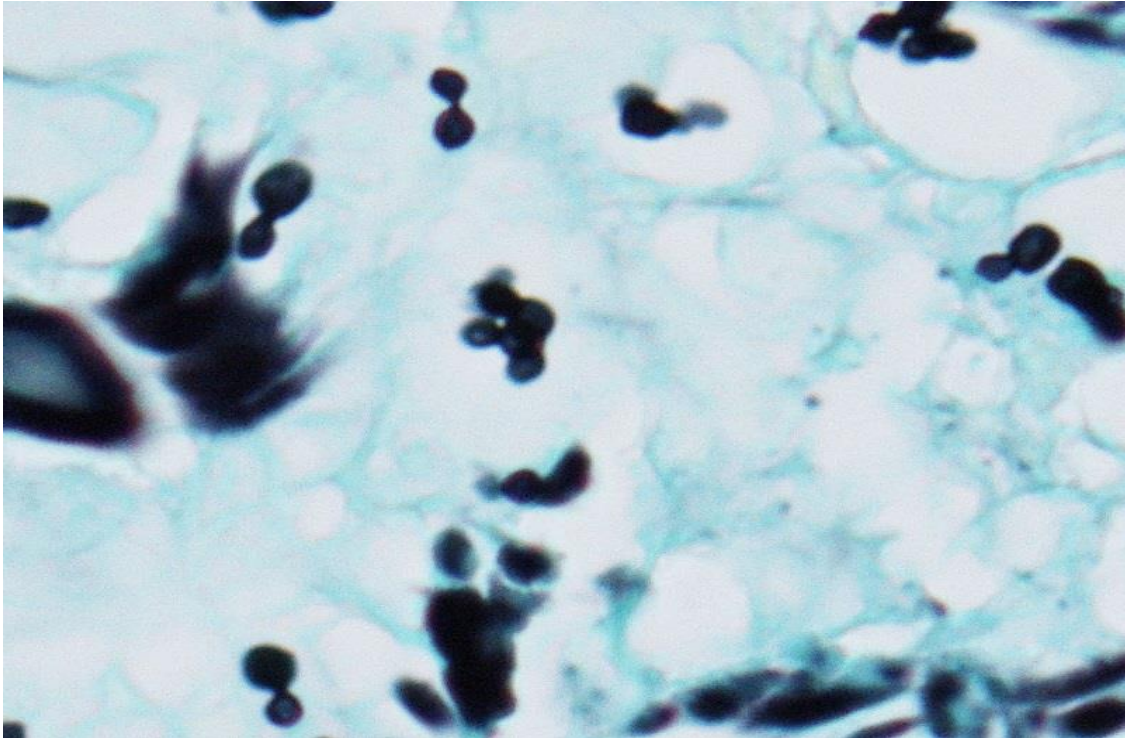


Figura 44. Levaduras homogéneas, con una célula madre más grande que la célula hija, y base de implantación angosta, visto en una biopsia de piel teñida en Grocott (100X) (imagen de autoría propia).

10.3-Diagnóstico serológico, molecular, detección de antígeno, intradermorreacción y otras técnicas

Diagnóstico Serológico

En cuanto a las pruebas serológicas, en la sangre del paciente aparecen anticuerpos fijadores anti *Histoplasma* sp. en fase micelial o levaduriforme que son los que se determinan, pero también se valoran precipitinas y aglutininas (Chang y Rodas, 2012; Diaz, 2018 y Sánchez et al, 2010).

Por ejemplo, en una histoplasmosis aguda se produce anticuerpos anti *Histoplasma capsulatum* en 6 semanas o más de infectado el paciente, pero en general se dice que estos anticuerpos aparecen de 4 a 8 semanas después de la infección primaria pulmonar aguda y disminuyen después de 2 a 5 años de la infección (Chander, 2011; Chang y Rodas, 2012; Diaz, 2018; Linder y Kauffman, 2019).

Un paciente con una presentación clínica inicial de la enfermedad aguda puede resultar negativo para las pruebas serológicas y positivizarse semanas después, pero para el caso de los pacientes que tienen el cuadro clínico de una histoplasmosis diseminada generalmente resultan positivos para las pruebas serológicas inmediatamente (Linder y Kauffman, 2019).

Entonces la positividad de los anticuerpos va a variar de acuerdo con la evolución de la enfermedad, siendo positivos el 90 % de los pacientes con enfermedad pulmonar y 85 % de los pacientes con enfermedad diseminada, después de la cuarta semana de contacto y su presencia se puede mantener unos años por lo que estas técnicas sí permiten diferenciar entre infecciones recientes y pasadas pero tienen poco valor en el caso de pacientes con la infección aguda reciente o en inmunosupresos donde los casos que dan positivos disminuyen a 80 % (por ejemplo se reporta para los pacientes HIV positivos en fase SIDA una positividad de 75 %), y para otros casos se puede presentar solo 25 % a 35 % de positividad (Chang y Rodas, 2012; Diaz, 2018 y Sánchez et al, 2010).

Se dice que hay una correlación entre la carga fúngica y la severidad de los síntomas, por lo que el 100 % de los pacientes que presentan un cuadro severo dan resultados positivos para la serología (Chang y Rodas, 2012).

Estas técnicas serológicas se utilizan cuando el examen directo y el cultivo resultan negativos, además se utilizan para confirmar los resultados positivos presuntivos de los ensayos inmunoenzimáticos (Chander, 2011; Chang y Rodas, 2012 y Diaz, 2018).

Un título de anticuerpos igual o mayor a 1:32 es sugerente de histoplasmosis, pero también se toma en consideración un aumento de cuatro veces en el título de los anticuerpos (Chander, 2018).

Estas pruebas serológicas se realizan por dos técnicas: inmunodifusión en gel por la técnica de Ouchterlony y la reacción de fijación del complemento. La técnica de Inmunodifusión en gel y la técnica de fijación del complemento dan un resultado positivo en alrededor del 80 % y 87 % de individuos infectados, respectivamente

(Arenas, 2015; Chander, 2018). En zonas endémicas, se reporta una prevalencia de positividad de 0.5 % para la técnica de inmunodifusión en gel y de 40 % para la técnica de fijación del complemento, por lo que la inmunodifusión en gel se considera menos sensible pero más específica que la fijación del complemento (Chang y Rodas, 2012).

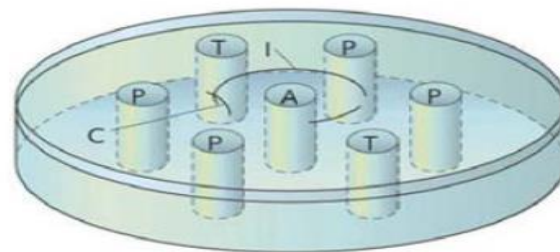
La técnica de fijación del complemento detecta la presencia de anticuerpos contra dos tipos de antígenos correspondientes a la fase micelial y la fase levaduriforme que componen a la histoplasmina. Esta técnica indica tanto valor predictivo como diagnóstico, es específica y sencilla, da positivo entre la segunda y cuarta semana después de la infección y se mantiene mientras la histoplasmosis esté activa siendo evidenciado por un título 1:8 o 1:16, ya títulos de 1:32 se pueden traducir como infección activa o progresión, y se sabe que la recuperación clínica conduce la negativización de los resultados. Puede haber reacción cruzada con otras enfermedades granulomatosas como los son la tuberculosis y la sarcoidosis (Arenas, 2015; Chang y Rodas, 2012; Linder y Kauffman, 2019 y Sánchez et al, 2010).

La inmunodifusión en gel por la técnica de Ouchterlony utiliza exoantígenos M y H, es rápida, barata, da positivo en la tercera o cuarta semana de la infección, negativiza con la curación o persiste hasta los 2 años y da buenos resultados si se combina con la reacción de fijación del complemento (Arenas, 2015 y Sánchez et al, 2010).

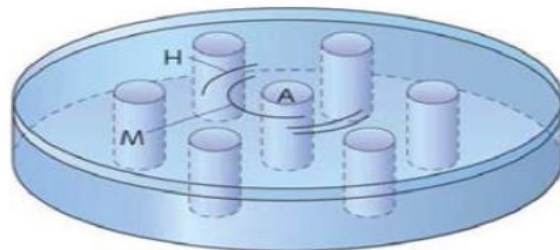
Un resultado positivo en la prueba de inmunodifusión se evidencia por la aparición de una de las dos bandas correspondientes a la reacción de los anticuerpos contra los antígenos H y M, o ambas, donde la banda M tiene apariencia de línea gruesa cercana al pocillo donde está depositado el antígeno y la banda H aparece como una línea delgada cercana al pocillo donde está depositado el antisuero (ver Figura 45) (Arenas, 2015 y Chander, 2018).

La banda H aparece en una infección activa ya que los anticuerpos anti antígeno H son formados durante la infección activa pero esta banda generalmente es vista en menos del 20 % de los casos y es raro verla sin la banda M. La banda M es un

hallazgo más frecuente y sugiere tanto una infección aguda como crónica, debido a que los anticuerpos anti antígeno M se producen tanto en la infección activa como crónica (que podría entenderse también como un proceso de recuperación del paciente) y puede persistir aun cuando la infección ha resuelto, por lo que la banda H tiene más valor diagnóstico durante los primeros 6 meses de infección desapareciendo una vez que termina la fase activa de la infección (Arenas, 2015; Chander, 2018 y Linder y Kauffman, 2019). La banda C podría indicar reacción cruzada con otros patógenos, ya que representa a los anticuerpos anti carbohidrato C que corresponde a un galactomanano termoestable presente en la mayoría de los hongos dimórficos que producen micosis sistémicas (Dantas et al, 2018).



A = antígeno
T = suero testigo
P = suero problema
I = banda de precipitación
C = banda de precipitación cruzada



H = banda de precipitación en histoplasmosis activa (cerca de antisuero)
M = banda de precipitación por presencia de anticuerpos (cerca de antígeno)

Figura 45. Banda de precipitación H y M, producto de la interacción de los anticuerpos presentes en el pocillo con suero del paciente y los antígenos de la histoplasmina depositados en el pocillo central, mediante la técnica de inmunodifusión en gel de Ouchterlony (imagen tomada de Arenas, 2015).

La histoplasmina utilizada en estas técnicas como antígeno, se obtiene al filtrar Caldo Asparagina Glucosa donde la forma micelial del hongo estuvo creciendo durante un período de 3 a 6 meses o al filtrar una suspensión de mertiolate y levadura en solución salina. Curiosamente, el antígeno M es un antígeno que se encuentra en forma abundante en la fase micelial del hongo (Chander, 2018).

Tanto el antígeno H como M que forman parte de la histoplasmina deben ser utilizados al mismo tiempo, ya que uno solo no puede ser detectado por todos los anticuerpos que podrían estar presentes en la muestra del paciente (Chander, 2018).

Ambos antígenos son especie específicos pero otros componentes de la histoplasmina como lo son algunos carbohidratos podrían generar reacción cruzada con otros anticuerpos contra antígenos de *Coccidioides* sp. y *Blastomyces* sp., principalmente en zonas endémicas, y contra antígenos de *Sporothrix* sp., por lo que los anticuerpos anti *Histoplasma* sp. pueden estar presentes en otras infecciones fúngicas sistémicas. También se puede realizar aglutinación en látex como prueba serológica (Bonifaz, 2020; Chander, 2018 y Chang y Rodas, 2012). Tanto en pruebas serológicas como en ensayos enzimáticos, la confirmación por cultivo o histopatología es necesaria (Diaz, 2018).

Recientemente se han desarrollado ensayos inmunoenzimáticos (EIA) para medir la concentración de IgG e IgM, utilizadas en el diagnóstico de la histoplasmosis pulmonar aguda, con posible utilidad también en el diagnóstico del cuadro de meningitis en la histoplasmosis. Estas técnicas aparentemente son más sensibles que la inmunodifusión en gel y la fijación del complemento, pero aún es necesario más estudios que pueden confirmar estos hallazgos (Linder y Kauffman, 2019).

Detección de Antígeno

También se pueden efectuar ensayos inmunoenzimáticos o EIA que detectan rápidamente la presencia de antígenos de *Histoplasma capsulatum* en sangre y orina, en específico la histoplasmina, y son recomendados como una prueba de

tamizaje para la histoplasmosis. En pacientes inmunosupresos permite efectuar un diagnóstico rápido, teniendo la ventaja en comparación con las pruebas serológicas que detectaban anticuerpos anti-*Histoplasma capsulatum*, de que la presencia del antígeno no se ve retrasado por la formación de anticuerpos de ahí que sea una técnica más rápida para apoyar el diagnóstico en estos tipos de pacientes (Díaz, 2018).

Según “las Directrices para el Diagnóstico y Manejo de la Histoplasmosis Diseminada en Personas con Infección por el HIV”, de la OPS, publicadas en abril del año 2020, el diagnóstico de la enfermedad en estos pacientes debe realizarse mediante la detección de antígenos circulantes, no solamente por la metodología tradicional ya que esta por si sola toma más tiempo en dar un resultado final que podría eventualmente retrasar la administración adecuada del tratamiento a los pacientes (OPS, 2020).

La detección del antígeno tiene una especificidad del 98 % y una sensibilidad en orina y suero de 82 % y 60 %, respectivamente (Chander, 2018 y Chang y Rodas, 2012).

El análisis del antígeno urinario se utiliza para el diagnóstico de recaídas, además posee una sensibilidad mayor al 90 % en la enfermedad diseminada por ejemplo en pacientes HIV positivos en fase SIDA, por lo que es un método sensible para el diagnóstico de la enfermedad diseminada donde se obtiene la mejor sensibilidad para el cuadro diseminado agudo y el cuadro pulmonar agudo (Chang y Rodas, 2012 y Sánchez *et al*, 2010).

La detección del antígeno también se puede efectuar en sangre, líquido de lavado alveolar y líquido cefalorraquídeo, pero con la desventaja de que es menos sensible determinarlo en estas matrices en comparación con la orina y se utiliza también para orientar acerca de la eficiencia del tratamiento (Sánchez, 2009).

Se considera usualmente como positivo un resultado tanto en sangre como en orina ≥ 0.6 ng/mL. La sensibilidad de los ensayos inmunoenzimáticos (EIA) aumenta con la severidad de la enfermedad, pero puede resultar en falsos negativos en pacientes

con presentaciones leves de la enfermedad o baja carga del agente fúngico (Diaz, 2018).

La detección del antígeno puede presentar reacción cruzada con paracoccidioidomicosis, blastomicosis, talaromicosis, coccidioidomicosis e histoplasmosis africana (Chander, 2018). Entre las técnicas que se pueden realizar para la detección de antígenos se encuentra los radioinmunoensayos y el ensayo inmunoenzimático (EIA) (Chang y Rodas, 2012).

El radioinmunoensayo (RIA, por sus siglas en inglés de Radioimmunoassay) es la técnica más vieja en la detección de antígenos de este hongo en orina y suero, es una técnica rápida y útil para el diagnóstico de la histoplasmosis diseminada, además sirve para el monitoreo del tratamiento y el diagnóstico de posibles recaídas ya que la antigenuria y antigenemia cesan con el tratamiento y aparecen en recaídas. Fue desarrollada en 1986 desconociendo específicamente cual antígeno del hongo era detectado (Wheat et al 1986).

Un ejemplo de técnica de detección de antígeno de *Histoplasma capsulatum* que se ha utilizado para el diagnóstico son la detección de galactomananos, que se ha desarrollado como un EIA cuantitativo aplicable en suero, orina, lavados bronquealveolares y líquido cefalorraquídeo, pero estandarizado solo en orina. Esta técnica es desarrollada por MiraVista Diagnostics, LLC (Indianapolis, EEUU), que detecta este antígeno y ha evidenciado una especificidad del 99 % y una sensibilidad mayor al 90 % (100 % para antigenuria y 92.3 % para antigenemia) en pacientes con histoplasmosis diseminada, especialmente pacientes HIV positivos que presentan una alta carga del microorganismo, pero esta sensibilidad disminuye hasta cerca del 60 % en pacientes con histoplasmosis pulmonar aguda. La reacción cruzada con *Blastomyces dermatitidis*, que presenta esta prueba es debido a que la distribución de galactomananos en la pared celular de *Histoplasma capsulatum* es similar a la distribución que presenta el otro hongo. Este ensayo no está disponible comercialmente por lo que las muestras tienen que ser remitidas a los laboratorios de MiraVista en Indianapolis, EEUU (Connolly et al, 2007 y Linder y Kauffman, 2019).

Otros ensayos para la determinación de antígenos de *Histoplasma capsulatum* en orina mediante EIA con anticuerpos policlonales que sí están disponibles comercialmente son el EIA Histoplasma IMMY ALPHA de ImmunoMycologics, Inc. (Norman, OK, Estados Unidos) que presenta una especificidad de 97.5 % y una sensibilidad del 67.1 % en pacientes HIV positivos con histoplasmosis diseminada, por lo que su sensibilidad se considera inferior al compararlo con el ensayo de MiraVista (Linder y Kauffman, 2019 y Torres et al, 2018). También ImmunoMycologics, Inc. (Norman, OK, Estados Unidos) ha desarrollado el EIA Histoplasma GM IMMY para detectar los galactomananos en orina pero que utilizan anticuerpos monoclonales, el cual presenta una especificidad del 98 % y una sensibilidad del 64.5 % que sigue siendo menor a la obtenida por el ensayo de MiraVista (Linder y Kauffman, 2019 y Theel et al, 2013). Adicionalmente a la reacción cruzada que presentan estas pruebas con otros hongos dimórficos, el EIA Histoplasma GM IMMY tiene reacción cruzada también con *Candida* sp. (Theel et al, 2013 y Torres et al, 2018).

El Centro para el Control y la Prevención para Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés de Centers for Disease Control and Prevention) también desarrolló su propio EIA para la detección de antigenuria mediante anticuerpos policlonales, probado en pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis diseminada progresiva en un estudio en Guatemala en el 2009 que presentó una especificidad del 95 % y una sensibilidad del 81 %, esto con el objetivo de que la técnica pueda ser accesible para países de escasos recursos (Linder y Kauffman, 2019 y Scheel et al, 2009).

También se ha desarrollado pruebas rápidas o “rapid point of care test” (en inglés) que aumentan la especificidad y acortan el tiempo que tarda el diagnóstico convencional de la histoplasmosis como por ejemplo el ensayo de amplificación isotérmica mediada por bucle o *Histoplasma* sp. specific loop mediated isothermic amplification assay (en inglés) para el diagnóstico de la histoplasmosis pulmonar (Diaz, 2018).

Intradermorreacción a la Histoplasmina

Una prueba utilizada con poco valor diagnóstico es la Intradermorreacción a la histoplasmina (IDR) o hipersensibilidad tardía a la histoplasmina que da un resultado positivo en los pacientes con la enfermedad con un valor de primocontacto, demostrando hipersensibilidad tardía, por lo que se usa más para estudios epidemiológicos, específicamente para identificar áreas endémicas (Chang y Rodas, 2012 y Teixeira et al, 2016).

El poco valor diagnóstico que tiene la prueba se define principalmente en las zonas endémicas donde es utilizada para estudiar la inmunidad que prevalece en la población, es decir, se utiliza para fines epidemiológicos, pero en áreas no endémicas se ha reportado que se utiliza para diagnosticar la histoplasmosis, principalmente en viajeros, pero no debería ser utilizada de rutina para el diagnóstico (Chander, 2018; Chang y Rodas, 2012 y Sánchez et al, 2010).

La prueba de intradermorreacción utiliza la histoplasmina obtenida del sobrenadante del cultivo del hongo que es un filtrado de proteínas y polisacáridos, no una proteína purificada, entonces, lo que se detecta es la inmunidad celular contra *Histoplasma* sp. que permanece de por vida en la persona (Chander, 2018 y Sánchez et al, 2010).

Se le administra al paciente una inyección intradérmica de 0.1 mL del antígeno en el antebrazo y se considera un resultado positivo si después de 48 a 72 horas de administrado el antígeno se genera una induración ≥ 5 mm, lo que se traduce como una infección presente o pasada pero que no puede ser diferenciada entre ambas, además una prueba negativa no excluye la enfermedad. Debe evitarse efectuar la IDR a la histoplasmina en pacientes con enfermedad pulmonar, fiebre de origen desconocido y hepatoesplenomegalia ya que el antígeno puede estimular un incremento de anticuerpos proporcionando información engañosa a la hora de interpretar las pruebas serológicas (Chander, 2018 y Chang y Rodas, 2012).

La intradermorreacción a la histoplasmina da resultados falsos positivos recurrentes en poblaciones de personas sudamericanas sanas. Se dice que del 60-90 % de

personas originarias de áreas endémicas de Estados Unidos presentan la prueba de histoplasmina positiva (Teixeira et al, 2016), pero en estas áreas endémicas, la reacción cutánea positiva a la histoplasmina puede variar del 5-90 % de los casos (Sánchez et al, 2010). En Canadá, se reporta una reacción cutánea a la histoplasmina positiva que varía de 0-68 % de los casos (Teixeira et al, 2016), en países latinoamericanos como Colombia se reporta un valor de positividad de 22 % en las regiones más importantes del país, en Venezuela de 42.7 % en áreas rurales y 34 % en zonas urbanas como la ciudad de Upata, en Brasil de 2.6 % en Bahía y 93.2 % en Río de Janeiro, en Argentina de 22.4-53.6 % en Tucumán, en México entre 5-50 % en diferentes áreas, en Panamá valores alrededor de 50 %, en Costa Rica y Nicaragua la positividad ronda el 37 %, y en Guatemala es de 57 %. En países del Caribe como Trinidad y Tobago la positividad llega a valores de 42 % (Ashraf et al, 2020 y Gómez, 2011).

En China se reporta una positividad a la histoplasmina entre 6-50 %. En Japón la sensibilidad a la histoplasmina se considera despreciable excepto en algunas poblaciones específicas como lo son los trabajadores que manipulan tierra y arena importadas de Estados Unidos, ya que en este país nunca se ha detectado el hongo por PCR a partir de muestras de suelo. En Tailandia, a raíz de un estudio efectuado entre los años 1966 y 1968, se reportó una positividad a la histoplasmina de 7-14 % en el norte del país y 15-36 % en el sur y sureste del país. En Malasia se reporta una prevalencia de positividad a la histoplasmina de 10.5 %. En India, la positividad a la histoplasmina reportada es de 4.7-12.3 %, dado principalmente por Calcutta y Delhi, con la mayoría de los casos en el noreste del país en los estados de Assam (Bahr et al, 2015).

También se reportan valores altos de reacción a la histoplasmina en Centroamérica, Puerto Rico y Dominica, pero resultados bajos para Europa, con escasa información para el resto del mundo lo que podría sugerir que la exposición al agente es infrecuente en esos lugares (Chander, 2018; Chang y Rodas, 2012 y Sánchez et al, 2010).

Diagnóstico Molecular

Actualmente no se encuentran disponibles ensayos de PCR oficiales aprobados por la FDA que se estén utilizando para apoyar el diagnóstico de la histoplasmosis en muestras clínicas, a pesar de que muchas de estas técnicas han probado ser sensibles y con aplicabilidad en la identificación de aislamientos clínicos. Pero sí se han desarrollado PCR a nivel experimental (“in house” o caseros) usando diferentes blancos moleculares que no han sido validados para su uso (Azar y Hage, 2017; Dantas et al, 2018 y Linder y Kauffman, 2019).

El PCR, se ha utilizado no solo para el diagnóstico molecular en aislamientos clínicos, sino también para otros tipos de matrices como muestras de suelo, recordando que la utilización de nuevas sondas siempre implica validar su utilización en estudios clínicos contra el cultivo y detección del antígeno como métodos diagnósticos (Sánchez, 2009).

El PCR también permite diferenciar las variedades de los aislamientos obtenidos. El PCR en tiempo real o PCR-RT y el PCR anidado, son técnicas que se han utilizado para apoyar el diagnóstico de la histoplasmosis, a partir de muestras respiratorias como aspirado bronquial, sangre y tejidos, principalmente en pacientes HIV positivos, donde se consideran técnicas sensibles y específicas (Arenas, 2015 y Linder y Kauffman, 2019).

En el 2016, Muraosa et al, desarrollaron dos ensayos mediante PCR en tiempo real y PCR en tiempo real anidado para la detección de *Histoplasma capsulatum* en muestras clínicas mediante la amplificación y detección del gen que codifica para la Dipeptidasa ácida ligada al α N acetilado (NAALADase por sus siglas en inglés de N-acetylated α -linked acidic dipeptidase) correspondiente a un producto de PCR de 279 pb, que es un antígeno que se encuentra en el suero de los pacientes con histoplasmosis, por lo cual la técnica permite detectar el ADN específico de las cepas de este hongo sin confundirlo con el de otros hongos o con el ADN del ser humano (Muraosa et al, 2016).

Para el PCR en tiempo real se utilizó el par de primers HcN2F/HcN1R y la sonda cíclica Hist1probe3. Para el PCR en tiempo real anidado se usó el par de primers HcN4F/HcHcN4R para la primera etapa de PCR convencional, y para la segunda etapa de PCR en tiempo real se usó el par de primers HcN2F/HcN1R y la sonda cíclica Hist1probe3 (Muraosa et al, 2016).

Ambas técnicas fueron puestas a prueba en muestras clínicas de pacientes con histoplasmosis como por ejemplo en suero, tejido fijado en formalina y lavados bronquioalveolares, lo que resultó en una sensibilidad de 77 % para el PCR en tiempo real anidado, mucho mayor a la sensibilidad de 33 % obtenida para el PCR en tiempo real, por lo que es necesario continuar los estudios con un mayor número de muestras ya que pareciera que el PCR en tiempo real anidado constituye una herramienta rápida y precisa para efectuar el diagnóstico de la histoplasmosis en las muestras clínicas de los pacientes, recordando que esta técnica tiene la desventaja de tener mayor riesgo de contaminación cruzada, y de ser un proceso largo de alto costo en comparación con el PCR en tiempo real (Muraosa et al, 2016).

La proteína reguladora de adaptación al ambiente intracelular Hcp100 de 100 kDa, específicamente el gen con un fragmento de 210 pb, también podría funcionar como marcador molecular en el diagnóstico de la histoplasmosis mediante el monitoreo por PCR anidado ya que se ha visto que es capaz de determinar la carga fúngica en el tejido de animales silvestres en cautiverio con histoplasmosis diseminada como por ejemplo los murciélagos, considerándose este marcador como altamente sensible y único para *Histoplasma capsulatum* (Arenas, 2015 y González et al, 2012).

La metodología diagnóstica para histoplasmosis mediante PCR anidado también ha sido comprobada en pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis. En el estudio de Dantas et al (2018) se recolectaron 40 muestras de pacientes con histoplasmosis y se clasificaron de acuerdo a la seropositividad del HIV. Se comparó el diagnóstico molecular por PCR anidado usando primers de *Histoplasma capsulatum* correspondientes a los genes 18S ARNr (HC18S), 5.8S ARNr ITS (HC5.8S-ITS) y el gen que codifica para la proteína de 100 kDa Hcp100 (HC100),

en comparación con otras metodologías convencionales micológicas (el cultivo y las tinciones) y la metodología serológica (la Inmunotransferencia y la Doble Inmunodifusión) (Dantas et al, 2018).

La mejor sensibilidad en suero se obtuvo al realizar el diagnóstico mediante la técnica de PCR anidado del gen 5.8S ARNr ITS (HC5.8S-ITS), además la mejor especificidad en suero se encontró por igual para la Doble Inmunodifusión, Inmunotransferencia y PCR anidado del gen HC100. Para el diagnóstico en sangre, la mayor sensibilidad se obtuvo mediante PCR anidado del gen 5.8S ARNr ITS (HC5.8S-ITS) y la mejor especificidad para el diagnóstico mediante la observación de frotis teñido con Giemsa. En el Cuadro VI, se observa los primers de los genes utilizados para efectuar el diagnóstico por PCR anidado. A pesar de que la metodología por microscopía puede resultar limitada para el diagnóstico de histoplasmosis en pacientes HIV positivos, así como la baja sensibilidad del cultivo, se recomienda utilizarlos en conjunto con el diagnóstico molecular, ya que se mejora la capacidad diagnóstica (Dantas et al, 2018).

Cuadro VI. Primers utilizados en la amplificación y detección de los diferentes blancos moleculares de *Histoplasma capsulatum* en la técnica de PCR anidado para el diagnóstico de histoplasmosis (información tomada de Dantas et al, 2018).

Blanco Molecular	Primers	Secuencia	Tamaño aproximado de la secuencia (pb)
Gen 18S ARNr (HC18S)	Primers externos	5' GTT AAA AAG CTC GTA GTT G 3' y 5' TCC CTA GTC GGC ATA GTT TA 3'	429
	Primers internos	5' GCC GGA CCT TTC CTC CTG GGG AGC 3' y 5' CAA GAA TTT CAC CTC TGA CAG CCG A 3'	231
Gen HC100	Primers externos	5' GCG TTC CGA GCC TTC CAC CTC AAC 3' y 5' ATG TCC CAT CGG GCG CCG TGT AGT 3'	391
	Primers internos	5' GAG ATC TAG TCG CGG CCA GGT TCA 3' y 5' AGG AGA GAA CTG TAT CGG TGG CTT G3'	210
Gen 5.8S ADNr ITS (HC5.8S-ITS)	Primers ITS1	5' TCC GTA GGT GGA CCT GCG 3'	290
	Primers ITS3	5' GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC 3'	330
	Primers ITS4	5' TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3'	330

Se utiliza como control positivo a *Histoplasma capsulatum* ATCC A811 y B923 (Dantas et al, 2018).

Diagnóstico mediante Proteómica

El estudio de la función y estructura de las proteínas mediante espectrometría de masas o MS (por sus siglas en inglés de Mass Spectrometry) se ha utilizado para la identificación de aislamientos clínicos obtenidos a partir de pacientes con micosis para apoyar al diagnóstico. Un ejemplo claro es el uso del MALDI-TOF (por sus siglas en inglés de Matrix-Assisted Láser Desorption/Ionization Time of Flight) que consiste en una ionización suave que permite identificar biomoléculas como las proteínas y los péptidos, generalmente proveniente de las proteínas ribosomales del hongo, lo que se conoce como “huella peptídica” (Bonifaz, 2020).

El MALDI-TOF es una metodología rápida, relativamente fácil de usar, sensible, específica, de bajo costo, segura, reproducible, de alto rendimiento, alta discriminación entre especies, puede reconocer a hongos de difícil identificación y tiene una base de datos más completa que permite asociar microorganismos a enfermedades, entre otros. Por otro lado, como limitaciones, es incapaz de diferenciar microorganismos muy relacionados, requiere un cultivo puro o una colonia aislada del hipotético agente etiológico, es necesario estar ampliando su base de datos (las bases de datos son exclusivas de cada compañía), no cuantifica, no determina sensibilidad a los antifúngicos, posee interferencias con sales, detergentes (Triton-100 y Tween 20) y pigmentos melánicos, y posee baja precisión al identificar hongos filamentosos (Bonifaz, 2020).

La colonia incógnita del hongo es colocada para su identificación en una placa metálica superpuesta con una matriz (amortigua la muestra y permite el paso del láser a calor). Se incide un láser sobre la colonia que causa la desorción y ionización de sus proteínas en un ambiente de alto vacío. Un campo eléctrico acelera las proteínas dentro de un tubo en dirección a un detector y se graba un “tiempo de vuelo”, donde las proteínas más livianas viajan más rápido que las proteínas más pesadas. Se genera un espectro de masas que es comparado con una base de datos construida a partir de aislamientos de hongos previamente identificados. Por último, un software provee una puntuación numérica que se traduce como la identificación del género y la especie del aislamiento incógnita de acuerdo a su

cercanía a los espectros de otros aislamientos pertenecientes a la base de datos. Como control positivo se utiliza a *Candida glabrata* ATCC MYA-2950 (Ramanan et al, 2017).

Para hongos filamentosos como *Histoplasma capsulatum*, se utiliza una etapa de lisis y extracción más fuerte en comparación con las levaduras, así por ejemplo se usa ácido fórmico más etanol, acetonitrilo y zirconio para romper la pared celular (generalmente para las levaduras se usa solo ácido fórmico) para liberar las proteínas (Bonifaz, 2020 y Ramanan et al, 2017).

En la actualidad, la FDA ha aprobado para realizar el diagnóstico clínico los sistemas Brunner-Biotyper® y Vitek MS® (Bonifaz, 2020). El Vitek MS® fue evaluado en el estudio de McMullen et al (2016) para determinar la precisión de la identificación de hongos filamentosos. Se trabajó con 319 aislamientos clínicos (comprendían 43 géneros previamente identificados fenotípicamente), en los cuales se incluía 2 aislamientos de *Histoplasma capsulatum*. Se logró identificar correctamente 245 aislamientos (76.8 %), que contenían a *Histoplasma capsulatum* (según el software SpectralIdentifier R2.1.0 y la versión 3.0 de la base de datos SARAMIS por sus siglas en inglés de Spectral Archive and Microbial Identification System) y fueron confirmados por secuenciación (McMullen et al, 2016).

Es importante destacar que en la investigación no se presentó identificaciones erróneas a nivel de género, solo a nivel de especies de *Aspergillus* sp. muy relacionadas entre sí (pertenecientes a la Sección Versicolor) no así para los hongos dimórficos testeados como *Histoplasma capsulatum*. Se concluyó que esta metodología por MALDI-TOF puede solventar el problema que representa tratar de identificar aislamientos de hongos filamentosos estériles (que no esporulan en los medios de cultivo) por los métodos convencionales (McMullen et al, 2016).

El equipo Vitek MS® incluye en su base de datos los espectros para identificar hongos dimórficos como *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Coccidioides posadasii* y el complejo *Sporothrix schenckii*, donde estudios han reportado una identificación para estos hongos del 100 % (Patel, 2018).

El equipo Brunker-Biotyper® también ha sido evaluado en la identificación de *Histoplasma capsulatum* gracias al estudio de Valero et al (2018). En este estudio se construyó una base de datos de los espectros para la identificación de este hongo a partir del procesamiento de 6 cepas del patógeno identificados previamente por secuenciación de la región ITS (incluía las 3 variedades conocidas del hongo). Posteriormente se utilizó 63 cepas clínicas (30 de *Histoplasma capsulatum*) provenientes del “Collection of the Spanish National Center for Microbiology” para validar la nueva base de datos y las previamente establecidas por el fabricante o comerciales. En un ensayo ciego efectuado en el estudio, se logró identificar correctamente todos los aislamientos a partir de las bases de datos evaluadas (Valero et al, 2018).

Es interesante destacar que en este estudio se evaluó la identificación tanto de la fase levaduriforme como de la fase micelial, y se encontró que esta última era la más adecuada para realizar la identificación ya que resultaba en puntajes de identificación sobre 1.7 en la mayoría de los aislamientos (según el fabricante ≥ 2.0 indica identificación de especie, 1.7-1.9 indica identificación a nivel de género y < 1.7 se interpreta como no identificación). De igual manera se logró identificar también adecuadamente la fase levaduriforme. Se obtuvo una especificidad del 100 % y una sensibilidad del 75-100 % dependiendo del punto de corte evaluado para la identificación de *Histoplasma capsulatum* (Valero et al, 2018).

El estudio concluye que esta metodología es una excelente herramienta para apoyar el diagnóstico de la histoplasmosis porque reduce el tiempo de respuesta del laboratorio y disminuye el riesgo de contagio al manipular cultivos de la forma micelial del patógeno por más tiempo al esperar que esporulen para realizar la identificación tradicional. Como aspecto negativo no se ha logrado separar correctamente los aislamientos identificados como *Histoplasma capsulatum* en sus 3 variedades debido a la compleja relación filogenética que poseen entre ellos lo que sugiere que tal vez esta clasificación en variedades no es tan adecuada (Valero et al, 2018).

FTIR o Microespectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

La técnica de FTIR (por sus siglas en inglés de Fourier Transform Infrared Microspectroscopy) o microespectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, es una metodología prometedora para apoyar el diagnóstico de las enfermedades micóticas mediante la discriminación rápida de la causa de la infección ya sea de origen bacteriano o de origen fúngico o si representa contaminación (Erukhimovitch et al, 2005).

La técnica consiste en generar un espectro infrarrojo de absorción a partir de una muestra, al incidirle un rayo de luz que contiene diferentes frecuencias, donde se mide cuanta luz es absorbida en cada longitud de onda. Por lo que se obtiene un espectro que es una “huella digital” única para cada componente de una célula viviente (proteínas, lípidos y carbohidratos), lo que podría servir para identificar y detectar patógenos fúngicos (Erukhimovitch et al, 2005).

En la actualidad, las investigaciones sobre esta técnica han ido dirigidas hacia la identificación de microorganismos en productos alimenticios y hongos fitopatógenos (Salman et al, 2010). Pero también ha sido utilizada para caracterizar y detectar células infectadas con microorganismos, lo que sería útil en el caso del estudio de hongos intracelulares como lo son las levaduras de *Histoplasma capsulatum* que invaden los macrófagos del hospedero (Erukhimovitch et al, 2005).

En el estudio de Erukhimovitch et al (2005) se utilizó la técnica de FTIR para observar la diferencia entre los espectros de cultivos de bacterias (*Escherichia coli*, *Pseudomonas stutzeri* y *Bacillus magaterium*) y hongos (*Penicillium* sp., *Memnoniella* sp. y *Fusarium* sp.) que pudieran constituir biomarcadores prometedores para ser utilizados en el futuro para la rápida identificación de patógenos (resultados se obtienen en 1 hora). Los espectros se determinaron en un rango de longitud de onda de 600 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} . Se obtuvo diferencias sutiles entre los espectros de los diferentes microorganismos en estudio que los hacen únicos por lo que representan preliminarmente una forma de identificación confiable (Erukhimovitch et al, 2005).

Es curioso resaltar que Erukhimovitch et al (2005) encontraron ciertos picos en los espectros que podrían ser únicos para hongos o bacterias (por ejemplo, un pico a 1396 cm^{-1} presente solo en las bacterias y un pico a 1377 cm^{-1} único para los hongos), que probablemente representan un grupo de proteínas y lípidos. Estos picos podrían ser potenciales biomarcadores para realizar una efectiva discriminación y deben ser estudiados a futuro. Además, ambos picos pueden ser identificados en muestras mixtas, siendo entonces la técnica de FTIR útil en el diagnóstico de infecciones mixtas causadas tanto por bacterias como por hongos (Erukhimovitch et al, 2005).

Resultados similares se encontraron en el estudio efectuado por Salman et al (2010) al estudiar hongos como *Fusarium* sp. donde se evidenció que la técnica es capaz de diferenciar a nivel de género a este hongo porque presenta una intensa banda correspondiente a lípidos entre la región de longitud de onda de 2800 cm^{-1} a 3020 cm^{-1} (Salman et al, 2010).

En el caso de la histoplasmosis, no se han efectuado estudios específicos para la identificación de este hongo dimórfico a partir de muestras clínicas mediante FTIR, pero se espera que estudios a futuro permitan su detección rápida en pacientes con histoplasmosis, de modo que se pueda instaurar rápidamente el tratamiento adecuado en el paciente (Erukhimovitch et al, 2005).

Otras Técnicas Diagnósticas

Otras técnicas reportadas en la literatura que se utilizan para apoyar el diagnóstico de la histoplasmosis son los rayos x y la tomografía axial computarizada que son indispensables para los casos pulmonares, meníngeos y óseos, así como otros exámenes de rutina en el laboratorio clínico por ejemplo el hemograma donde se evidencia anemia y pancitopenia, la química clínica que muestra un incremento de la velocidad de eritrosedimentación y de la concentración de fosfatasa alcalina y ferritina (Arenas, 2015 y Sánchez et al, 2010).

Los hallazgos por técnicas radiográficas y tomografía axial computarizada del tórax (TAC) simulan otras enfermedades como por ejemplo la tuberculosis o la neumonía

debida a otras etiologías, por lo que estas técnicas no son diagnósticas, solo sirven para apoyar el diagnóstico de laboratorio (Díaz, 2018). Los hallazgos radiológicos de la histoplasmosis incluyen un infiltrado pulmonar pequeño y disperso con linfadenopatía hiliar (agrandamiento de los ganglios linfáticos que rodean el hilio que es la zona en la que ambos pulmones se separan de la tráquea) y densos nódulos que sugieren infiltrado parenquimatoso, además hay presencia de calcificación en estadios avanzados (ver Figura 46) (Chander, 2018).

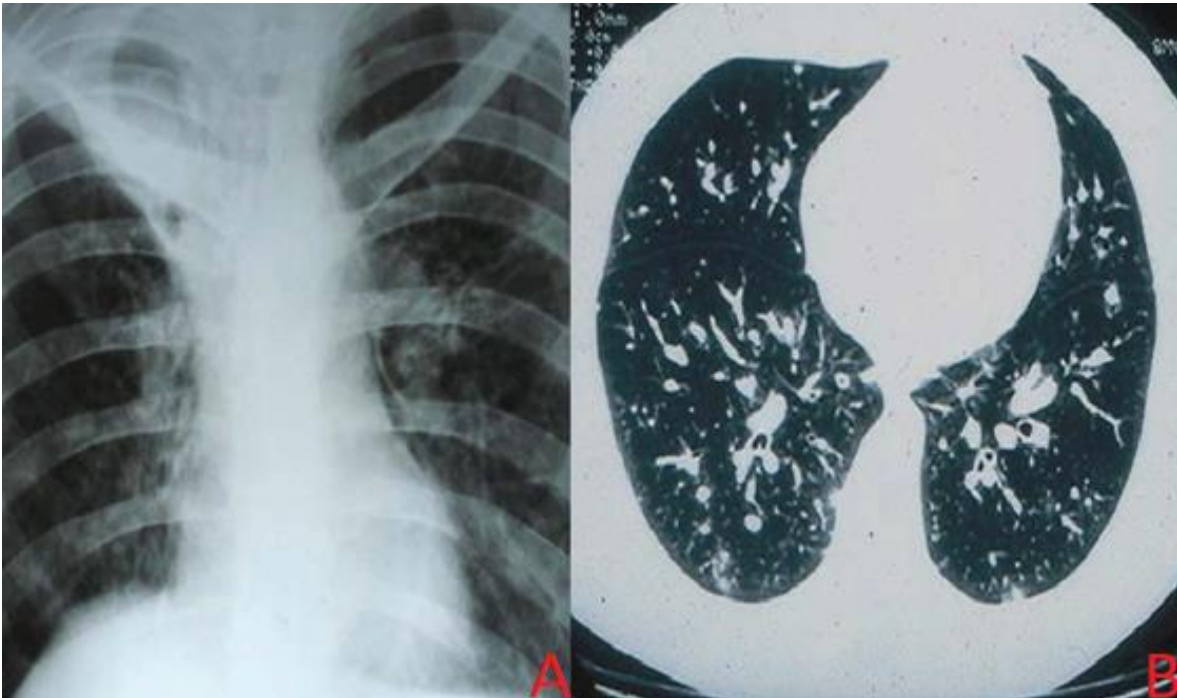


Figura 46. En la imagen A se observa la radiografía del tórax de un paciente con histoplasmosis primaria donde se evidencia lesiones micronodulares. En la imagen B se observa el TAC del paciente donde se ven los infiltrados nodulares (imagen tomada de Bonifaz, 2015).

Al realizar la radiografía del tórax, el histoplasmodoma se observa como un nódulo definido de 0.5 cm a 3 cm de diámetro el cual generalmente se observa en el lóbulo inferior del pulmón y puede presentar lesiones satélites de menor tamaño, donde el nódulo generalmente presenta un foco central de calcificación formando una imagen en diana o más bien difusa (ver Figura 47) y la calcificación no implica la curación del histoplasmodoma ya que con el tiempo la lesión puede aumentar de tamaño, por

lo que al realizar el estudio radiográfico durante varios meses se puede llegar a confundir el diagnóstico con una neoplasia (Fraser et al, 2006).

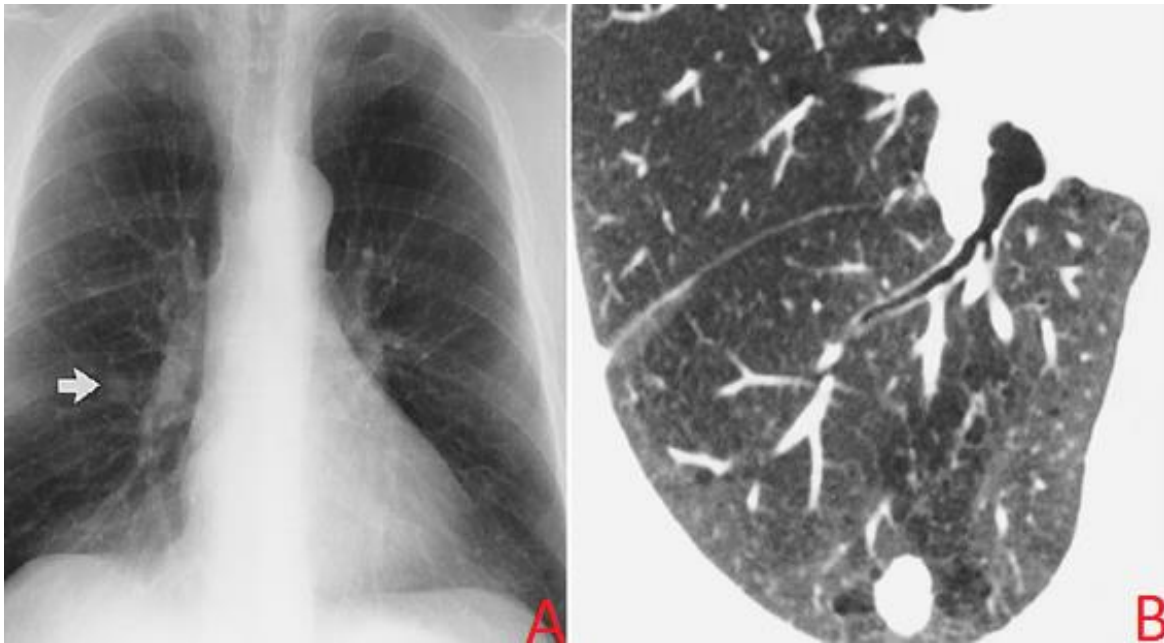


Figura 47. En la imagen A se observa la radiografía del tórax de un paciente con un histoplasma calcificado señalado con la flecha. En la imagen B se observa el TAC de tórax del paciente con el nódulo calcificado y adenopatías hiliares (imagen tomada de Fraser et al, 2006).

Para el caso de la histoplasmosis pulmonar aguda, se puede realizar reacciones cutáneas donde la intradermorreacción a las histoplasmina generalmente es débilmente positiva, reacciones serológicas que generalmente dan negativo y la detección de antígenos en sangre y orina (siendo la detección del antígeno urinario la técnica de elección para estos casos ya que posee una sensibilidad y una especificidad mayor al 90 %), además también se puede hacer la observación del agente etiológico en muestras clínicas y en el cultivo. También se puede observar mediante radiografía de tórax infiltrados focales, adenopatías hiliares o mediastínicas (o ambos patrones). Cuando el diagnóstico es *post mórtem* se observa hepatoesplenomegalia (Sánchez et al, 2010).

Cuando se realiza tomografía axial computarizada (TAC) en el pecho de los pacientes con neumonía aguda por histoplasmosis, también se puede observar en

el corte axial una apariencia clásica nodular miliar o conocida como en “tormenta” que puede orientar el diagnóstico (ver Figura 48) (Diaz, 2018).

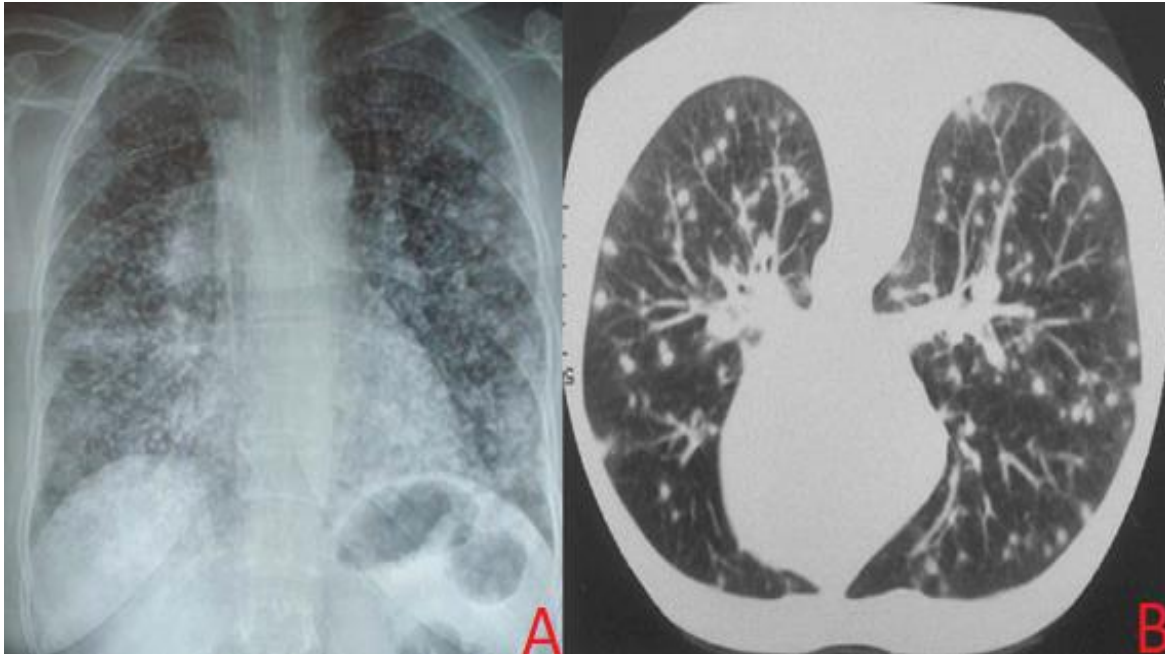


Figura 48. En la imagen A se observa la radiografía del tórax de un paciente con histoplasmosis miliar es decir que las lesiones diseminaron a todo el pulmón. En la imagen B se observa el TAC de tórax de un paciente con neumonía por histoplasmosis donde se ve el patrón característico de infiltrados nodulares miliares conocido como “patrón en tormenta” (imagen tomada de Bonifaz, 2015 y Diaz, 2018).

En la histoplasmosis pulmonar crónica, se puede efectuar radiografía del tórax evidenciando cavidades de paredes gruesas y adenopatías hiliares. Se efectúa también biopsia de tejido (biopsia pulmonar a cielo abierto), broncoscopio con biopsia transbronquial o lavado broncoalveolar, tomografía computarizada del tórax, intradermorreacción cutánea, título de fijación para el complemento para *Histoplasma capsulatum*, prueba de antígeno urinario para *Histoplasma capsulatum* (en cuyo caso es positiva solo si el cuadro evoluciona a una histoplasmosis diseminada), prueba de inmunodifusión, y tinción y cultivo de esputo (Sánchez et al, 2010).

Cuando el paciente presenta histoplasmosis cutánea primaria, el diagnóstico depende principalmente de estudios histopatológicos con la consecuente

identificación del hongo en el tejido, ya que la variabilidad de la morfología de las lesiones cutáneas dificulta el diagnóstico clínico e incita a realizar el diagnóstico diferencial con otros cuadros que presentan lesiones cutáneas similares (Sánchez et al, 2010). Sánchez et al (2010), también proponen que el diagnóstico se puede efectuar si el paciente cumple con 2 o más criterios de Wilson JW: desarrollo de la lesión chancriforme de 3 a 4 semanas después de una inoculación traumática, aislamiento en cultivo del agente etiológico, presencia de linfangitis y linfadenomegalia regional, sin evidencia clínica o de laboratorio de infección sistémica o pulmonar previa y conversión de la Prueba de Histoplasmina negativa a positiva con más un título serológico ascendente (Sánchez et al, 2010).

Para el diagnóstico y manejo de la histoplasmosis ocular se recomienda realizar técnicas de angiografía con fluoresceína y protoagulación láser. El diagnóstico es principalmente clínico, por lo que debe verificarse la ausencia de inflamación del vítreo y la cámara anterior más la presencia de dos de las tres lesiones características en uno o ambos ojos. Entonces se observaría para hacer el diagnóstico, la presencia de lesiones en el fondo del ojo típicamente cicatrices coroideas en sacabocado discretas, focales y atróficas, a nivel de la mácula o su periferia, además de la presencia de la cicatrización coriorretiniana peripapilar correspondiente a atrofia peripapilar, y la neovascularización coroidea o secuelas como el desprendimiento de la retina hemorrágica y cicatriz disciforme fibrovascular (Chander, 2018 y Ramírez, 2015).

11-TRATAMIENTO

El inicio del tratamiento de la histoplasmosis debe de ser rápido debido a la alta mortalidad de la enfermedad diseminada (Chang y Rodas, 2012). La dosis, forma de administración y la elección del tratamiento van a depender de las manifestaciones clínicas de la histoplasmosis que presente el paciente, enfermedades asociadas y su tratamiento, donde la Anfotericina B y el Itraconazol son los tratamientos de elección principalmente para pacientes severamente comprometidos (ver Cuadro VII) (Chander, 2018).

El manejo de la histoplasmosis incluye tratamiento para inducir la remisión de la enfermedad y tratamiento de mantenimiento para prevenir relapsos o recaídas de la enfermedad (Chang y Rodas, 2012 y Chander, 2018).

Los pacientes inmunocompetentes con histoplasmosis asintomática no requieren de tratamiento antifúngico al igual que la mayoría de los pacientes inmunocompetentes con histoplasmosis pulmonar aguda que solo se les administra tratamiento si la sintomatología como malestar y fiebre persisten más de un mes (Diaz, 2018).

En general, los Azoles como el Ketoconazol, Itraconazol, Fluconazol y Posaconazol poseen efectividad contra *Histoplasma capsulatum* tanto *in vitro* como *in vivo*, similar a la Anfotericina B (Chang y Rodas, 2012).

Cuadro VII. Tratamiento para diferentes cuadros clínicos de histoplasmosis según la condición del paciente (Información tomada de Chander, 2018; Chang y Rodas, 2012; Diaz, 2018 y Sánchez et al, 2010).

Paciente	Tratamiento
Inmunocompetente con histoplasmosis asintomática o inmunocompetentes con histoplasmosis pulmonar aguda	No requieren de tratamiento antifúngico
Con compromiso leve o moderado que pueden recibir tratamiento antifúngico	Itraconazol oral, dosis inicial o de carga de 200 mg tres veces al día por 3 días en comidas, luego 200 mg dos veces al día por 6 a 18 meses o 100 mg dos veces al día por 3 a 6 meses según el grado de inmunosupresión y se realiza vigilancia por sus efectos hepatotóxicos
Inmunocompetente o inmunosupreso con histoplasmosis pulmonar crónica	Itraconazol oral, 200 mg dos veces al día por 12 a 24 meses
Con histoplasmosis diseminada	Itraconazol intravenoso, 200 mg dos veces al día por 3 días, seguido de 200 mg intravenoso diario por 14 días, después de forma oral 200 mg dos veces al día de 12 a 24 meses
Mantenimiento en pacientes con cuadros leves	ketoconazol oral, 400 mg/día por 3 días y después 200 mg/día 2 veces al día
Con histoplasmosis diseminada HIV positivo en fase SIDA o con enfermedad del Sistema Nervioso Central o con compromiso renal	Anfotericina B liposomal intravenosa, de 3.0 a 5.0 mg/kg/día hasta alcanzar la dosis total de (100 a 120) mg/kg de 2 a 4 meses
Sin respuesta adecuada al tratamiento convencional	Posaconazol (800 mg/kg/día en dos tomas) o Voriconazol (intravenosa u oral, dosis de carga de 6 mg/kg/día o cada 21 horas y de mantenimiento de (3 a 4) mg/kg/día o cada 12 horas
Con histoplasmosis pulmonar crónica y diseminada que no se le puede administrar itraconazol	Fluconazol, dosis inicial de 800 mg/día y 400 mg/día de mantenimiento
Con histoplasmosis progresiva crónica	Sulfas como Sulfametoxipiridazina y Sulfametoxidiazina en dosis de 20 mg/kg/día (en adultos equivale a 1.5 g/día) o Sulfametoxazol/trimetoprim a dosis de 400 mg y 80 mg respectivamente durante 1 o 2 años
Mantenimiento	Itraconazol, 200 mg una a dos veces por día o como alternativa 50 mg de Anfotericina B una vez por semana si el paciente lo tolera

La Anfotericina B se puede administrar en varias presentaciones: Anfotericina B liposomal de administración intravenosa con dosis de (3.0 a 5.0) mg/kg/día hasta alcanzar la dosis total de (100 a 120) mg/kg de 2 a 4 meses para pacientes con compromiso renal y con enfermedad del sistema nervioso (Chander, 2018). Esta presentación es de elección para el tratamiento de inducción de la histoplasmosis grave o moderada en pacientes HIV positivos (3.0 mg/kg durante dos semanas), de no estar disponible se debe dar la presentación desoxicolato ((0.7 a 1.0) mg/kg, durante dos semanas) previniendo la toxicidad en personas con insuficiencia renal (OPS, 2020).

La Anfotericina B también se puede administrar como Anfotericina B convencional de administración intravenosa con dosis de (0.7 a 1.0) mg/kg/día hasta alcanzar una dosis total de 35 mg/kg por 2 a 4 meses con efectos secundarios como la nefrotoxicidad (Chang y Rodas, 2012 y Sánchez et al, 2010).

Se ha visto que la administración de Anfotericina B es efectiva en inducir la remisión de la infección hasta en el 80 % de los pacientes, pero puede fallar en caso de pacientes severamente enfermos o que padecen de una infección del sistema nervioso central (Chander, 2018).

Para pacientes con compromiso leve o moderado que pueden recibir tratamiento (aplica también para pacientes HIV positivos con histoplasmosis leve a moderada), el antifúngico de elección es el Itraconazol que se administra de forma oral con una dosis inicial o de carga de 200 mg tres veces al día por 3 días en comidas, luego 200 mg dos veces al día por 6 a 18 meses según el grado de inmunosupresión y se realiza vigilancia por sus efectos hepatotóxicos o también se puede administrar 100 mg dos veces al día por 3 a 6 meses que debe ser instituido para prevenir el desarrollo de la histoplasmosis pulmonar crónica (Chang y Rodas, 2012; Diaz, 2018; OPS, 2020 y Sánchez et al, 2010).

En el caso de la histoplasmosis pulmonar crónica, se debe administrar Itraconazol oral tanto a pacientes inmunocompetentes como inmunosupresos, 200 mg dos veces al día por 12 a 24 meses. Si se presenta una histoplasmosis diseminada, se debe administrar primero Itraconazol de forma intravenosa, 200 mg dos veces al día

por 3 días, seguido de 200 mg intravenoso diario por 14 días, después se administra de forma oral 200 mg dos veces al día de 12 a 24 meses (Diaz, 2018).

Para pacientes que no muestran una respuesta adecuada al tratamiento convencional, se han usado nuevos Azoles como el Posaconazol y el Voriconazol que muestran buena actividad *in vitro* contra *Histoplasma capsulatum* (Chang y Rodas, 2012). Similar al Itraconazol, se ha usado el Posaconazol que tiene una dosis de 800 mg/kg/día en dos tomas (Sánchez et al, 2010).

El Voriconazol está disponible en presentación tanto intravenosa como oral, con una dosis de carga de 6 mg/kg/día o cada 21 horas y de mantenimiento de (3 a 4) mg/kg/día o cada 12 horas, reportándose que llega una concentración del 50 % en el líquido cefalorraquídeo (Chang y Rodas, 2012 y Sánchez et al, 2010).

También se reporta en la literatura el uso efectivo del Rabuconazol, pero todavía no se ha aprobado como tratamiento (Sánchez et al, 2010).

Se reporta que el Ketoconazol es efectivo por vía oral en dosis de 400 mg/día por 3 días y después 200 mg/día 2 veces al día como mantenimiento en cuadros leves (Sánchez et al, 2010).

Para la histoplasmosis pulmonar crónica y diseminada se ha utilizado también el Fluconazol con una dosis inicial de 800 mg/día y 400 mg/día de mantenimiento, pero se mantiene bajo investigación (Sánchez et al, 2010). Se ha observado una eficacia terapéutica limitada para el Fluconazol, por lo que su administración se reserva para tratar pacientes con histoplasmosis que por alguna razón no se les puede administrar Itraconazol (Chang y Rodas, 2012).

Recientemente se encuentra disponible el Isovuconazol, como una alternativa para tratar los casos de micosis invasivas como la aspergilosis pulmonar, mostrando ventajas claras sobre el tratamiento con Itraconazol y Anfotericina B por lo que se sugiere su uso para tratar la histoplasmosis (Diaz, 2018).

Para la histoplasmosis progresiva crónica se ha reportado la utilización de Sulfas como tratamiento, por ejemplo, Sulfametoxipiridazina y Sulfametoxidiazina en dosis de 20 mg/kg/día que en adultos equivale a 1.5 g/día, también el

Trimetoprim/Sulfametoxazol a dosis de 400 mg y 80 mg respectivamente durante 1 o 2 años (Sánchez et al, 2010).

Para mantenimiento que en algunos casos es de por vida, se ingiere 200 mg de Itraconazol de una a dos veces por día o como alternativa se administra 50 mg de Anfotericina B una vez por semana siempre y cuando el paciente sea capaz de tolerarlo (Chang y Rodas, 2012). Este régimen se mantiene por 12 meses en el caso de los pacientes HIV positivos, pero puede disminuirse los meses de administración si el paciente se encuentra inmunológicamente estable (por administración de antirretrovirales y supresión de la carga viral) (OPS, 2020).

En el caso de recidivas que se presentan en el 10-20 % de pacientes inmunocompetentes con histoplasmosis diseminada y en el 80 % de pacientes HIV positivos en fase SIDA con histoplasmosis diseminada, se debe administrar de nuevo el tratamiento con Itraconazol ya que se ha visto que la mortalidad es de un 80 % en los casos de histoplasmosis diseminada sin el tratamiento con Itraconazol (Diaz, 2018).

Si las recidivas se presentan en pacientes con neumonía aguda grave, se debe tratar con Anfotericina B desoxicolato intravenosa con dosis de (0.7 a 1.0) mg/Kg diario por 1 a 2 semanas, seguido de Itraconazol intravenoso en 200 mg tres veces al día por 3 días y después Itraconazol oral en 200 mg dos veces al día por 12 semanas (Diaz, 2018).

En cuanto a las complicaciones debidas a las histoplasmosis, es necesario el tratamiento antimicótico en el caso de la compresión de la vena cava. Además, se ha visto que el granuloma mediastinal y fibrosis mediastínica responden al tratamiento con Anfotericina B (Sánchez et al, 2010).

Como efecto secundario a la medicación se ha reportado falla renal y disfunción hepática, además de hipocalcemia causada por la Anfotericina B (Sánchez et al, 2010).

Para el caso de pacientes embarazadas, el Itraconazol y el Fluconazol son teratogénicos por lo que, si es necesario, se puede dar Anfotericina B, estando la profilaxis no indicada para estas pacientes (Alverson et al, 2010).

Los niños inmunocomprometidos que presentan histoplasmosis diseminada se les puede administrar Anfotericina B, Fluconazol o Itraconazol. Si son niños HIV positivos que presentan histoplasmosis diseminada progresiva, la terapia de por vida está recomendada, pero es mejor que la terapia sea descontinuada si se demuestra que, por 12 meses continuos, no se detecta el antígeno en orina (Alverson et al, 2010).

Nuevas moléculas antifúngicas han sido sometidas a estudios clínicos y han demostrado tener efecto contra *Histoplasma capsulatum*. Por ejemplo, se tiene al Olorofim (F2G Inc., Manchester Reino Unido, fase III), que forma parte de una nueva clase de antifúngicos conocidos como Orotomidas, donde su mecanismo de acción es inhibir la dihidroorotato deshidrogenasa, importante en la biosíntesis de las pirimidinas en los hongos, por lo tanto afecta a la estructura del ADN y ARN, la pared celular y la síntesis de fosfolípidos, la regulación celular y la producción de proteínas, entonces va a provocar importantes efectos sobre *Histoplasma capsulatum* tanto *in vitro* como *in vivo* (Rauseo et al, 2020 y Van Daele et al, 2019).

La Nikkomycina Z (Valley Fever Solutions, Inc., Tucson, AZ, fase II) es la primera molécula perteneciente a una nueva clase de antifúngicos derivados de las bacterias filamentosas *Streptomyces tendae* y *Streptomyces ansochromogenes* que actúa al inhibir competitivamente la quitina sintasa, por lo tanto, inhibe la síntesis de quitina que es un componente esencial para la pared fúngica y se ha comprobado en estudios con modelos murinos que posee moderada actividad contra la histoplasmosis (Gonzalez et al, 2017 y Rauseo et al, 2020).

Otro compuesto es el VT-1598, que es un nuevo Azol en estudios en fase preclínicos que posee un espectro más amplio y potente contra los hongos filamentosos como *Aspergillus* sp. y *Rhizopus arrhizus*, así como otros hongos endémicos como *Histoplasma* sp. (Rauseo et al, 2020).

También se tiene al AR-12 (Arno Therapeutics Inc. Flemington, NJ, fase I) que es un antitumoral derivado del Celecoxib y un antiinflamatorio no esteroideo que actúa de dos maneras, primero inhibe a la Acetil CoA Sintetasa del hongo, y segundo genera una regulación negativa o a la baja de las proteínas chaperonas del hospedero, incrementado su respuesta inmune, y ha demostrado actividad contra hongos dimórficos como *Histoplasma* sp. (Rauseo et al, 2020).

12-PRONÓSTICO Y PREVENCIÓN

La histoplasmosis primaria generalmente tiene un buen pronóstico porque resuelve en el 99 % de los casos, pero en el caso de la histoplasmosis crónica cavitaria, el pronóstico va a estar dado por la pérdida del parénquima pulmonar por lo tanto de la función pulmonar y generalmente hay mal pronóstico en la histoplasmosis diseminada en pacientes inmunosupresos (Sánchez et al, 2010).

Pacientes inmunocomprometidos poseen peor pronóstico que los pacientes inmunocompetentes ya que se ha visto que los primeros tienen índices de mortalidad más altos (Gómez, 2011). En pacientes HIV positivos, la terapia antirretroviral es una importante herramienta de prevención para evitar el desarrollo de una histoplasmosis futura, debido a que se revierte el defecto inmune en el recuento de los linfocitos CD4+, ya que se ha visto una mejoría en el cuadro de histoplasmosis en pacientes HIV positivos en fase SIDA solo con el tratamiento antirretroviral, por lo que en muchos países se recomienda que todo paciente HIV positivo comience el tratamiento con antirretrovirales sin importar el recuento de linfocitos CD4+ que se tenga (Bahr et al, 2015).

El Centro de Control y Prevención de Enfermedades o CDC (por sus siglas en inglés de Centers for Disease Control and Prevention) ha publicado guías para la protección de los trabajadores con riesgo de infectarse con *Histoplasma capsulatum*, donde se recomienda evitar situaciones que generen aerosoles de material que podría estar contaminado con las microconidias del hongo y su subsecuente inhalación (Gómez, 2011). También se recomienda el aseo regular de gallineros e instalaciones de granjas para reducir el riesgo a la exposición (Chander, 2018).

Para el caso de obreros que trabajan en suelos contaminados con *Histoplasma capsulatum* o en zonas donde hay acumulación de guano de aves o murciélagos, la organización "The US National Institute of Occupational Safety and Health" (NIOSH por sus siglas en inglés) recomienda ahuyentar aves o murciélagos que habitan las edificaciones, advertir de antemano a los obreros acerca del peligro que existe de adquirir la infección al trabajar en estos lugares, controlar la acumulación de polvo

al lavar constantemente las superficies de las edificaciones durante la construcciones, edificación o excavación en zonas endémicas, darle un manejo adecuado a las aguas contaminadas y portar equipo y ropa de protección adecuada (Díaz, 2018).

Para los visitantes de cuevas u otras zonas con alta concentración de guano de aves y murciélagos, deben también usar equipo de protección como por ejemplo guantes, ropa de protección y mascarillas. Si se encuentran arboledas de bambú cercanas a casas o escuelas que sirven de asentamiento para aves, se tienen que remover si ya presentan más de un año, utilizando el equipo de protección adecuado y dándole una disposición adecuada a los residuos (Díaz, 2018).

Los oficiales de salud pública deben vigilar mediante la inspección constante y la restricción de licencias, las actividades que puedan constituir un riesgo para la diseminación de la histoplasmosis en ambientes urbanos como lo son la cría de aves en patios de casas o las carreras de bandadas de palomas (Díaz, 2018).

En la industria de la agricultura, la cría de las aves de corral es una actividad muy importante por lo que se ha usado y está en desarrollo vacunas para la prevención primaria en estos animales, donde también se encuentra actualmente en estudio, vacunas para la prevención primaria en el ser humano, que se ha visto que las vacunas experimentales inducen en el ser humano la producción de linfocitos T cooperadores activos contra los antígenos de *Histoplasma capsulatum* (Díaz, 2018).

También se cree que la inmunización contra las proteínas de shock térmico constituye una herramienta importante para evitar la diseminación de las micosis en pacientes inmunosupresos ya que las proteínas de shock térmico son un factor de virulencia que permiten la evasión de la respuesta inmune (Díaz, 2018).

En la actualidad, la Agencia de Protección Ambiental o EPA (por sus siglas en inglés de Environmental Public Health) no ha aprobado el uso de desinfectantes específicos contra *Histoplasma capsulatum* como método de prevención que se puedan aplicar sobre superficies que podrían estar contaminadas (Gómez, 2011).

En el laboratorio de micología médica, se debe sellar los cultivos en tubo o placa destinados a la identificación del patógeno o cuando van a ser transportados a otro laboratorio de referencia como por ejemplo el “Histoplasmosis Reference Laboratory” (HRL por sus siglas en inglés, Indianapolis, EEUU) para prevenir la formación de aerosoles, además *Histoplasma capsulatum* al igual que otros hongos como *Coccidioides* sp. requieren de una infraestructura de nivel 3 de seguridad y peligrosidad para su manipulación (Chander, 2018).

13-MODELOS DE INFECCIÓN

Los modelos murinos han sido parte de los modelos animales más utilizados para estudiar la inmunología de la histoplasmosis. Por ejemplo, en estos modelos murinos se ha estudiado el perfil de citoquinas producidas ante la infección de este hongo, donde se ha evidenciado que la producción de IL-17 favorece la eliminación de *Histoplasma capsulatum*, además la producción de IL-23 en ausencia de la IL-12 extiende la supervivencia del ratón (Lara et al, 2014), en contraste, otros autores como Maniscalchi y Lemus (2006) vieron que la disminución en la producción de IL-12 se asocia más bien a una mortalidad acelerada (Maniscalchi y Lemus, 2006).

Adicionalmente, el reconocimiento antigénico del patógeno por parte de los receptores celulares como los TLR, también se ha estudiado en los modelos murinos. Células de la microglía extraídas de estos modelos han sido utilizadas para estudiar el receptor TLR-2 y su reconocimiento al antígeno de *Histoplasma capsulatum* Yps3, donde se ha visto que su unión induce la expresión de NF- κ B que es un complejo de proteínas involucrados en la transcripción del ADN, producción de más citoquinas y supervivencia celular. La Yps3 purificada ha servido para evidenciar que no se da la expresión del NF- κ B en las células de microglía murina a las cuales se le ha inhibido la expresión del receptor TLR-2, sugiriendo que el hongo es reconocido por este receptor pero no se ha evidenciado este reconocimiento en células fagocíticas presentes en el pulmón del ratón (Ray y Rappleye, 2011).

También se ha estudiado la participación de los receptores TLR-7 y TLR-9 de las células dendríticas en el control de la histoplasmosis mediante los modelos murinos. Se ha visto que en ratones a los que se les inhibe la expresión de los receptores TLR-7 y TLR-9 sucumben a una dosis subletal de *Histoplasma capsulatum* al día 11 a partir de que inicia la infección, pero solo produce un aumento leve de las levaduras en pulmón y bazo dos semanas después de la infección, lo que sugiere que la producción de una respuesta de tipo Interferón I solo contribuye un poco a la inmunidad innata en los primeros 10 días post infección en los modelos murinos

pero sí permite orientar esta respuesta a una del tipo TH₁ que es efectiva para controlar la histoplasmosis (Ray y Rappleye, 2011).

Se ha estudiado la participación de otros receptores como los de Lectina Tipo C en el reconocimiento del hongo. Se ha visto *in vitro* en modelos de ratones, que el reconocimiento de *Histoplasma capsulatum* por parte de la Dectina-1 no tiene un aporte tan grande en la respuesta inmune ya que al inhibir la expresión de la Dectina-1 en las células murinas no genera un cambio drástico en la respuesta inmune, solo se evidencia un aumento leve en la carga fúngica en los pulmones (Ray y Rappleye, 2011). Donde también se ha observado que el componente tipo lecitina de la levadura interacciona con una proteína de 68 kDa de la superficie de los macrófagos por lo que participan en su regulación y por tanto de la fagocitosis (Gorocica et al, 2009).

La participación de los receptores del Complemento en el reconocimiento de *Histoplasma capsulatum* han sido estudiados en células ováricas de ratones chinos las cuales carecen de la expresión de la familia de integrinas CD8+, demostrando que el receptor CR3 por sí solo es suficiente para mediar la unión de la levadura a las células (Ray y Rappleye, 2018).

Se dice que la histoplasmosis ocurre principalmente en pacientes con alteraciones de las células T, por lo que se ha usado también estos modelos murinos para estudiar este defecto. Se ha visto que los ratones que son atímicos congénitamente o cuando son tratados con suero anti-linfocitos y agentes citotóxicos, presentan un incremento en la infección, además se ha observado que la inmunidad anti-*Histoplasma* sp. puede ser transferida por células peritoneales o de bazo provenientes de donadores inmunizados. Los ratones inmunizados con una infección subletal pueden desencadenar la inhibición del crecimiento intracelular del hongo, por lo que se cree que la infección puede dejar cierta resistencia a la reinfección (Maniscalchi y Lemus, 2006).

También en modelos animales se ha estudiado la posibilidad de producir vacunas para prevenir el desarrollo del cuadro clínico en el ser humano como por ejemplo, se ha inmunizado ratones con la proteína Hsp60 donde se generó una respuesta

inmune protectora contra la infección, por lo que esta proteína podría ser un candidato para ser utilizada como blanco para producir una vacuna (Ray y Rappleye, 2011 y González et al, 2012).

Los modelos animales han permitido estudiar ciertos factores de virulencia de *Histoplasma capsulatum* como las endoglucanasas y los galactomananos del hongo. Levaduras de *Histoplasma capsulatum* a las que se les ha inhibido la expresión de la Eng1, producen menos carga fúngica en pulmones de modelos de ratones a los cuales a sus células se les ha inhibido la expresión de la Dectina-1 (Ray y Rappleye, 2011). Otros modelos animales como los cerdos de guinea han permitido estudiar las propiedades antigénicas de los galactomananos donde se ha visto que, inducen una respuesta de hipersensibilidad e inhiben la liberación del Factor de Migración de Macrófagos (Lara et al, 2014).

Otro organismo utilizado para estudiar la histoplasmosis ha sido *Galleria mellonella*, ya que esta larva se ha utilizado para estudiar la virulencia de varios agentes fúngicos, debido a que su sistema inmune presenta similitud con el sistema inmune innato del ser humano, donde el componente celular conocido como hemocitos, son capaces de fagocitar hongos y matarlos mediante la producción de especies reactivas de oxígeno y enzimas líticas, por lo que se consideran estas células como los equivalentes de los neutrófilos (Binder et al, 2015).

Además, este modelo es barato y de fácil obtención, y permite obtener resultados en estudios de virulencia, de forma rápida dentro de una o dos semanas, pero tiene la desventaja de que los insectos carecen de sistema inmune adaptativo, además su genoma no ha sido secuenciado totalmente y no hay protocolos para estandarizar el mantenimiento y la propagación del modelo, así como la concentración del volumen infeccioso (Binder et al, 2015).

La mortalidad dependiente de dosis (espora, conidia o célula) de *Galleria mellonella* incubada a 37 °C para la histoplasmosis es de 1×10^6 con 100 % de mortalidad dentro de 14 días, 1×10^5 con 100 % de mortalidad dentro de 15 días, 1×10^4 con un 100 % de mortalidad dentro de 16 días y 1×10^2 con un 95 % de mortalidad dentro de 16 días (Binder et al, 2015).

Recientes estudios han demostrado que *Galleria mellonella* es un modelo adecuado para estudiar hongos dimórficos como por ejemplo *Histoplasma capsulatum*, ya que se ha visto que el grado de melanización del modelo es proporcional al número de células inoculadas, además el inóculo más grande no causa el mayor índice de muerte, por lo que Binder et al (2015) consideran que existe un proceso dinámico en el modelo para el establecimiento de la enfermedad, sin embargo, se ha observado que la formación de micelio solo ocurre en la larva incubada a 37 °C (Binder et al, 2015).

14-CONCLUSIONES

- El reporte de casos de histoplasmosis en animales domésticos es un indicador indirecto del riesgo de contagio del ser humano debido a la exposición a la fuente de contaminación en común, además la enfermedad supone un impacto económica cuando afecta al ganado y a los caballos, y un peligro para la preservación de especies de vida silvestre, por lo que la investigación de esta micosis en animales es necesaria.
- En países de Latinoamérica como Costa Rica y países de África y Asia, existe un subregistro de casos debido a que la histoplasmosis no constituye una enfermedad de reporte obligatorio para los sistemas de salud, por lo que se desconoce el verdadero impacto que tiene esta micosis en la salud pública, específicamente en el sector más vulnerable representado por los pacientes HIV positivos, por tanto, es necesario contar con especialistas en micología médica para apoyar el diagnóstico de la histoplasmosis, principalmente en los países endémicos de la enfermedad, para que se visibilice su verdadera frecuencia.
- En Costa Rica se desconoce el tipo de apareamiento, clado filogenético o especie filogenética a la que pertenecen tanto los aislamientos clínicos como los aislamientos ambientales que circulan en el país, por lo que es necesario invertir en investigación para poder caracterizar adecuadamente al agente etiológico y a la enfermedad, debido a la diferencia en la virulencia entre cepas de este hongo.
- El acceso a la terapia antirretroviral, uso de equipo de protección para trabajadores en riesgo y turistas de zonas endémicas, así como la inversión económica para el desarrollo de una vacuna como lo es el uso de la Hsp60 recombinante, representan medidas efectivas que podrían disminuir el número de casos de histoplasmosis alrededor del mundo.
- Los avances en el diagnóstico de la histoplasmosis por medio de las técnicas de biología molecular como el PCR en tiempo real y el PCR anidado, representan herramientas sensibles, rápidas y precisas para la identificación del patógeno en muestras clínicas, por lo que se debe continuar estudiando

su aplicabilidad y validación para el uso clínico, pero siempre teniendo en cuenta que estas nuevas metodologías se deben usar complementariamente a los métodos diagnósticos tradicionales como lo es el cultivo y el examen directo de muestras clínicas, ya que en conjunto mejoran la capacidad diagnóstica del laboratorio de micología.

- Debido a la sociedad globalizada y a los cambios ecológicos y medioambientales, es importante que el profesional en micología médica conozca otros cuadros clínicos como la histoplasmosis africana u otras enfermedades con presentación clínica similar a la histoplasmosis clásica como la talaromicosis, ya que podrían presentarse casos importados que requieran realizar diagnóstico diferencial y mejorar la rapidez de respuesta del laboratorio, pues muchas de estas pueden llegar a ser enfermedades emergentes.

14-REFERENCIAS

1. Agiato, L (2002). Utilization and cell-surface binding of hemin by *Histoplasma capsulatum*. Can. J. Microbiol. 48: 437-442 (2002). Doi: 10.1139/W02-037
2. Ajello, L (1983). Histoplasmosis—a dual entity: histoplasmosis capsulati and histoplasmosis duboisii. Ig. Mod. 79:3-30.
3. Alfaro, A; Calderón, A; Urbina, A y Hagnauer, E (2019). Histoplasmosis diseminada en un gato doméstico en Costa Rica. Rev. Ciencias Veterinarias, Vol. 37, N° 2, [11-21], E-ISSN: 2215-4507, julio-diciembre, 2019. <https://doi.org/10.15359/rcv.37-2.2>
4. Anderson, H., Honish, L., Taylor, G., Johnson, M., Tovstiuk, C., Fanning, A., Tyrrell, H., Rennie, R., Jaipaul, J., Sand, C y Probert, S (2006). Histoplasmosis Cluster, Golf Course, Canada. Emerging infectious diseases, 12(1), 163-165. <https://doi.org/10.3201/eid1201.051083>
5. Álvarez, F; Fernández, M y Aguado, J (2013). Hierro e infección fúngica invasiva. Revista Iberoamericana de Micología. 2013;30(4):217-225. Doi: doi.org/10.1016/j.riam.2013.04.002
6. Alverson, B., Alexander, N., LeGolvan, M., Dunlap, W y Levy, C (2010). A Human Immunodeficiency Virus-Positive Infant with Probable Congenital Histoplasmosis in A Nonendemic Area. The Pediatric Infectious Disease Journal, Volume 29, Number 11, November 2010. PMID: 20526228. Doi: 10.1097/INF.0b013e3181e691ed
7. Arenas, R (2015). Micología Médica Ilustrada. Quinta Edición, McGraw-Hill Interamericana.
8. Ashraf, N; Kubat, R; Poplin, V; Adenis, A; Denning, D; Wright, L; McCotter, O; Schwartz, I; Jackson, B; Chiller, T y Bahr, N (2020). Re-drawing the Maps for Endemic Mycoses. Mycopathologia. 2020 Oct;185(5):843-865. Epub 2020 Feb 10. PMID: 32040709; PMCID: PMC7416457. Doi: 10.1007/s11046-020-00431-2.
9. Azar, M y Hage, C (2017). Laboratory Diagnostics for Histoplasmosis. Clin Microbiol 55:1612-1620. <https://doi.org/10.1128/JCM.02430-16>

10. Azizirad, O; Clifford, D. B; Groger, R. K; Prelutsky, D y Schmidt, R. E (2007). Histoplasmosis: Isolated central nervous system infection with *Histoplasma capsulatum* in a patient with AIDS. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 109(2), 176-181. Doi: 10.1016/j.clineuro.2006.04.010
11. Bahr, N; Antinori, S; Wheat, L y Sarosi, G (2015). Histoplasmosis Infections Worldwide: Thinking Outside of the Ohio River Valley. *Curr Trop Med Rep* (2015) 2:70-80. Doi: 10.1007/s40475-015-0044-0.
12. Batalla, S (2020). Caracterización de los pacientes diagnosticados con histoplasmosis diseminada en el Hospital Nacional De Niños Dr Carlos Sáenz Herrera en el período del 1 de enero del 2010 al 31 de diciembre del 2019. Tesis para optar al grado y título de Especialista en Pediatría. Universidad de Costa Rica. Recuperado de: <http://www.kerwa.ucr.ac.cr/handle/10669/81410>
13. Binder, U; Maurer, E y Lass-Flörl, C (2015). *Galleria mellonella*: An invertebrate model to study pathogenicity in correctly defined fungal species. *fungus* (2015) 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2015.06.002>
14. Bonifaz, A (2015). *Micología Médica Básica*. Cuarta edición, McGraw-Hill Interamericana.
15. Bonifaz, A (2020). *Micología Médica Básica*. Sexta edición, McGraw-Hill Interamericana.
16. Bologna, J; Schaffer, J y Cerroni, L (2018). *Dermatología*. Cuarta edición, ELSEVIER.
17. Boyce, K y Andrianopoulos, A (2015). Fungal dimorphism: the switch from hyphae to yeast is a specialized morphogenetic adaptation allowing colonization of a host. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(6), 797-811. Doi: 10.1093/femsre/fuv035
18. Brunke, S; Mogavero, S, Kasper, L y Hube, B (2016). Virulence factors in fungal pathogens of man. *Current Opinion in Microbiology* 2016, 32:89-95. PMID: 27257746. Doi: 10.1016/j.mib.2016.05.010
19. Bubnick, M y Smulian, A (2007). The MAT1 locus of *Histoplasma capsulatum* is responsive in a mating type-specific manner. *Eukaryotic cell*, 6(4), 616-621. <https://doi.org/10.1128/EC.00020-07>

20. Caceres, D; Tobón, A; Restrepo, A, Chiller, T y Gómez, B (2018). The important role of co-infections in patients with AIDS and progressive disseminated histoplasmosis (PDH): A cohort from Colombia. *Medical Mycology Case Reports* 19 (2018) 41-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mmcr.2017.07.004>
21. Caffrey-Carr, AK; Hilmer, KM; Kowalski, CH; Shepardson, KM; Temple, RM; Cramer, RA y Obar, JJ (2018) Host-Derived Leukotriene B4 Is Critical for Resistance against Invasive Pulmonary Aspergillosis. *Front. Immunol.* 8:1984. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01984
22. Calderón, E; De Franco, D; Hidalgo, M y Álvarez, A (1982). Histoplasmosis Diseminada (Presentación de un caso). *Revista Médica de Costa Rica.* XI.IX (480) 111-114:1982. Recuperado de: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/rmedica/480/art2.pdf>
23. Calanni, L; Pérez, R; Brasili, S; Schmidt, N; Iovannitti, C; Zuiani, M; Negroni, R; Finquelievich, J y Canteros, C (2013). Brote de histoplasmosis en la provincia de Neuquén, Patagonia Argentina. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(3), 193–199. Doi:10.1016/j.riam.2012.12.007
24. Carratù, L; Franceschelli, S; Pardini, C. L; Kobayashi, G. S; Horvath, I; Vigh, L y Maresca, B (1996). Membrane lipid perturbation modifies the set point of the temperature of heat shock response in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(9), 3870-3875. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.9.3870>
25. Caruso, M; Sacco, M; Medoff, G y Maresca, B (1987). Heat shock 70 gene is differentially expressed in *Histoplasma capsulatum* strains with different levels of thermotolerance and pathogenicity. *Mol Microbiol* 1987;1:151-158. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1987.tb00507.x>
26. Castro, RJA; Siqueira, IM; Jerônimo, MS; Basso, AMM; Veloso, Junior PHH; Magalhães, KG; Leonhardt, LC; Oliveira, SAM; Bürgel, PH; Tavares, AH y Bocca, AL (2017). The Major Chromoblastomycosis Etiologic Agent *Fonsecaea pedrosoi* Activates the NLRP3 Inflammasome. *Front. Immunol.* 8:1572. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01572

27. CDC (1988). Cave-associated histoplasmosis--Costa Rica. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1988 May 27;37(20):312-3. PMID: 3130563.
28. CDC (2020). Histoplasmosis Statistic. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED). Estados Unidos. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/histoplasmosis/statistics.html>
29. Chander, J (2018). Textbook of Medical Mycology. Forth edition. Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd. New Delhi, India.
30. Chang, P y Rodas, C (2012). Skin lesions in histoplasmosis. Clinics in Dermatology (2012) 30, 592-598. PMID: 23068146. Doi: 10.1016/j.clindermatol.2012.01.004
31. Chang, TH; Huang, JH; Lin, HC; Chen, WY; Lee, YH; Hsu LC, et al (2017). Dectin-2 is a primary receptor for NLRP3 inflammasome activation in dendritic cell response to *Histoplasma capsulatum*. PLoS Pathog (2017) 13:e1006485. Doi: 10.1371/journal.ppat.1006485
32. Colombo, A; Tobón, A; Restrepo, A; Queiroz, F y Nucci, M (2011). Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. Medical Mycology November 2011, 49, 785-798. PMID: 21539506. Doi: 10.3109/13693786.2011.577821
33. Connolly, P; Durkin, M; LeMonte, A; Hackett, E y Wheat, L (2007). Detection of Histoplasma Antigen by a Quantitative Enzyme Immunoassay. CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY, Dec. 2007, p. 1587-1591. Doi:10.1128/CVI.00071-07
34. Cordero, R; Montero, C; Astúa, M y Murillo, N (1988). El Síndrome De Inmunodeficiencia Adquirida En Hemofílicos De Costa Rica, 1980-1986. Rev. Cost. Cienc. Méd.1988;9(3):7-13. Recuperado de: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rccm/v9n3/art2.pdf>
35. Dantas, K; Freitas, R; da Silva, M; Criado, P; Luiz, O y Vicentini, A (2018). Comparison of diagnostic methods to detect *Histoplasma capsulatum* in serum and blood samples from AIDS patients. PLoS ONE 13(1): e0190408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190408>

36. Damasceno, L; Teixeira, M; Barker, B; Almeida, M; Muniz, M; Pizzini, C; Lima, J; Rodríguez, G; Ramírez, J; Vite, T; Leitão, T; Taylor, M; Paes, R y Zancopé, M (2019). Novel clinical and dual infection by *Histoplasma capsulatum* genotypes in HIV patients from Northeastern, Brazil. *Scientific Reports* (2019) 9:11789. Doi: 10.1038/s41598-019-48111-6.
37. Deepe (2000). Immune response to early and late *Histoplasma capsulatum* infections. *Current Opinion in Microbiology* 2000, 3:359-362. PMID: 10972494. Doi: 10.1016/s1369-5274(00)00104-1
38. Diadie, S; Diatta, B; Ndiaye, M; Gaye, M; Sow, D; Ndiaye, M; Seck, B; Diallo, S; Diop, A; Diallo, M; Ly, F; Niang, S; Kane, A y Dieng, M (2016). Histoplasmosse multifocale à *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* chez un Sénégalais de 22ans sans immunodépression prouvée [Multifocal histoplasmosis due to *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* in a 22 year-old Senegalese patient without proven immunodepression]. *J Mycol Med*. 2016 Sep;26(3):265-70. French. Epub 2016 May 2. PMID: 27158080. Doi: 10.1016/j.mycmed.2016.03.004.
39. Diaz, JH (2018). Environmental and Wilderness-Related Risk Factors for Histoplasmosis: More Than Bats in Caves. *Wilderness Environ Med*. 2018 Dec;29(4):531-540. Epub 2018 Sep 25. PMID: 30266238. Doi: 10.1016/j.wem.2018.06.008
40. Dubois, A; Janssens, P y Brutsert, P (1952). A case of african histoplasmosis with a mycological note on *Histoplasma duboisii* n.sp., by R. Vanbreuseghem. *Ann. Soc. belge Méd. trop.* 1952; 32: 569-584. PMID: 13040947.
41. DuBois, J y Smulian, A (2016). Sterol Regulatory Element Binding Protein (Srb1) Is Required for Hypoxic Adaptation and Virulence in the Dimorphic Fungus *Histoplasma capsulatum*. *PLoS ONE* 11(10): e0163849. Doi: 10.1371/journal.pone.0163849
42. Erukhimovitch, V; Pavlov, V; Talyshinsky, M; Souprun, Y y Huleihel, M (2005). FTIR microscopy as a method for identification of bacterial and fungal infections. *J Pharm Biomed Anal*. 2005 Apr 29;37(5):1105-8. PMID: 15862692. Doi: 10.1016/j.jpba.2004.08.010.

43. Fraser, R; Colman, N; Müller, N y Paré, P (2006). Fundamentos de las enfermedades del tórax. Tercera Edición. Elsevier Masson. <https://doi.org/10.1016/B978-84-458-1603-5.X5001-1>
44. Fernández, C; Illnait, M; Martínez, G; Perurena, M y Monroy, E (2011). Una actualización acerca de histoplasmosis. Revista Cubana de Medicina Tropical, 63(3), 189-205. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602011000300375&lng=es&tlng=es.
45. García, E; Velasco, M; Gascón, J; Corachán, M; Mejías, T y Torres, J (2005). Infección por *Histoplasma capsulatum* en un grupo de cooperantes en Guatemala. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 23(5), 274–276. Doi:10.1157/13074968
46. Garcia, L y Sibila, O (2013). Mecanismos de defensa pulmonar. Medicina respiratoria 2013, 6 (2):15-24. Recuperado de <http://www.neumologiaysalud.es/descargas/R6/R62-3.pdf>
47. Garfoot, A; Zemska, O y Rappleye, C (2014). *Histoplasma capsulatum* Depends on De Novo Vitamin Biosynthesis for Intraphagosomal Proliferation. January 2014 Volume 82 Number 1 Infection and Immunity p. 393-404. Doi: 10.1128/IAI.00824-13
48. Garfoot, A; Shen, Q; Wüthrich, M; Klein, B y Rappleye, C (2016). The Eng1 β -glucanase enhances *Histoplasma* virulence by reducing β -glucan exposure. mBio 7(2):e01388-15. Doi: 10.1128/mBio.01388-15.
49. Garzona, R y Solano, A (2001). Úlceras Colónicas por TB e Histoplasmosis en un paciente portador de VIH/Sida. Acta Médica Costarricense, 43(3), 138-140. Recuperado de: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022001000300008&lng=en&tlng=es.
50. Gómez, B (2011). Histoplasmosis: Epidemiology in Latin America. Curr Fungal Infect Rep (2011) 5:199-205. Doi: 10.1007/s12281-011-0073-7
51. González, A; Taylor, M y Curiel, E (2012). Aspectos relevantes del marcador molecular Hcp100 de *Histoplasma capsulatum* y su potencial uso terapéutico

- en la histoplasmosis. Rev Iberoam Micol. 2012;29(3):115-119. Doi: 10.1016/j.riam.2011.09.001
52. Gonzalez, M; Sifuentes, J y Ostrosky, L (2017). Drugs in Clinical Development for Fungal Infections. Springer International Publishing AG 2017. Doi: 10.1007/s40265-017-0805-2
53. Gorocica, P; Taylor, M; Alvarado, M; Pérez, A, Lascurain, R y Zenteno, E (2009). The interaction between *Histoplasma capsulatum* cell wall carbohydrates and host components: relevance in the immunomodulatory role of histoplasmosis. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 104(3): 492-496, May 2009. PMID: 19547878. Doi: 10.1590/s0074-02762009000300016
54. Goyal, S; Castrillón, J; Klaile, E y Slevogt, H (2018). The interaction of Human Pathogenic Fungi with C-Type Lectin Receptors. Front. Immunol. 9:1261. Doi: 10.3389/fimmu.2018.01261
55. Guillot, J; Guérin, C y Chermette, R (2018). Histoplasmosis in Animals. Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018. S. Seyedmousavi et al. (eds.), Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals. https://doi.org/10.1007/978-3-319-72093-7_5
56. Hernández, H; Solano, A y Carrillo, P (2012). Histoplasmosis en pacientes con infección por VIH en un hospital de Costa Rica: un estudio comparativo. La Gaceta De Infectología Y Microbiología Clínica Latinoamericana. Vol 2 N°2 - Mayo 2012. Recuperado de: http://www.infectologia.edu.uy/images/stories/pdf/publicaciones/biomedicas/divulgacion/gaceta_infmic_2_2_may2012.pdf
57. Hidrón, A y González, Á (2012). Síndrome inflamatorio de reconstitución inmune en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana y afecciones fúngicas. Infectio. 2012;16(Supl 3): 51-58. Doi: 10.1016/S0123-9392(12)70027-9
58. Holbrook, E y Rappleye, C (2008). *Histoplasma capsulatum* pathogenesis: making a lifestyle switch. Current Opinion in Microbiology 2008, 11:318-324. PMID: 18573684. Doi: 10.1016/j.mib.2008.05.010

59. Inocente, A; Aguirre, J; Torres, R; Sifuentes, Y y Salas, E (2012). Histoplasmosis ileal en un paciente con Virus de Inmunodeficiencia Humana. *Acta Med Per* 29(4) 2012. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172859172012000400004&lng=es&tlng=es.
60. Juárez, E; López, J; Torres, M y Sada, E (2009). Receptores de la inmunidad innata en procesos infecciosos pulmonares. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*. Octubre-Diciembre 2009, Vol. 22 N°4. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=24692>
61. Kasuga, T; Taylor, J y White, T (1999). Phylogenetic relationships of varieties and geographical groups of the human pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum* Darling. *Journal of clinical microbiology*, 37(3), 653–663. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.3.653-663.1999>
62. Kasuga, T; White, T; Koenig, G; Mcewen, J; Restrepo, A; Castañeda, E; Da Silva, C; Heins, E; De Freitas, R; Zancopé, R; Qin, Z; Negroni, R; Carter, D; Mikami, Y; Tamura, M; Taylor, M; Miller, G; Poonwan, N y Taylor, J (2003). Phylogeography of the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Molecular Ecology* (2003)12, 3383-340. Doi: 10.1046/j.1365-294X.2003.01995.x
63. Kradin, R (2017). Pulmonary Infection. *Understanding Pulmonary Pathology*, 157–242. Doi:10.1016/b978-0-12-801304-5.00009-5
64. Kumaresan, PR; da Silva, TA y Kontoyiannis, DP (2018). Methods of Controlling Invasive Fungal Infections Using CD8+ T Cells. *Front. Immunol.* 8:1939. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01939
65. Kwon Chung, KJ (1972). Sexual stage of *Histoplasma capsulatum*. *Science*. 1972 Jan 21;175(4019):326. PMID: 4651892. Doi: 10.1126/science.175.4019.326
66. Kwon Chung, KJ; Bartlett, M y Wheat, L (1984). Distribution of the two mating types among *Histoplasma capsulatum* isolates obtained from an urban histoplasmosis outbreak. *Sabouraudia: Journal of Medical and Veterinary Mycology* (1984) 22, 155-157. <https://doi.org/10.1080/00362178485380231>

67. Lara, R; Alvarado, N; Zenteno, E y Gorocica, P (2014). Effect of *Histoplasma capsulatum* glucans on host innate immunity. Rev Iberoam Micol. 2014;31(1):76-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2013.10.005>
68. Larsuprom, L; Duangkaewa, L; Kasorndorkbuab; Chen, C; Chindampor, A y Worasilcha, N (2017). Feline cutaneous histoplasmosis: The first case report from Thailand. Medical Mycology Case Reports 18 (2017) 28-30. PMID: 28794961. Doi: 10.1016/j.mmcr.2017.07.008
69. Laskowski, M; Calvo, A; Rohrsen, J y Smulian, G (2012). VEA1 is required for cleistothecial formation and virulence in *Histoplasma capsulatum*. Fungal Genetics and Biology 49 (2012) 838-846. PMID: 22841690. Doi: 10.1016/j.fgb.2012.07.001
70. Ledtke, C; Rehm, S; Fraser, T; Shrestha, N; Tan, C; Rodríguez, R; Tomford, W; Jain, A; Lytle, B; Johnston, D; Sabik, J; Gordon, S y van Duin, D (2012). Endovascular Infections Caused by *Histoplasma capsulatum* A Case Series and Review of the Literature. Arch Pathol Lab Med Vol 136, June 2012. Doi: 10.5858/arpa.2011-0050-OA
71. Li, Z; Lu, G y Meng, G (2019). Pathogenic Fungal Infection in the Lung. Front. Immunol. 10:1524. Doi: 10.3389/fimmu.2019.01524
72. Linder, K y Kauffman, C (2019). Histoplasmosis: Epidemiology, Diagnosis, and Clinical Manifestations. Current Fungal Infection Reports (2019) 13:120-128. <https://doi.org/10.1007/s12281-019-00341-x>
73. López, C (2006). Dimorfismo y patogenia de *Histoplasma capsulatum*. Revista Argentina de Microbiología (2006) 38: 235-242. ISSN 0325-7541. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/6436063_Dimorfismo_y_patogenia_de_Histoplasma_capsulatum
74. Lyon, GM; Bravo, AV; Espino, A; Lindsley, MD; Gutierrez, RE; Rodriguez, I; Corella, A; Carrillo, F; McNeil, MM; Warnock, DW y Hajjeh, RA (2004). Histoplasmosis associated with exploring a bat-inhabited cave in Costa Rica, 1998-1999. Am J Trop Med Hyg. 2004 Apr;70(4):438-42. PMID: 15100461.

75. Maniscalchi, M y Lemus, D (2006). Mecanismos de evasión de *Histoplasma capsulatum* en los fagocitos. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología 2006; 26: 6-13. Recuperado de: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131525562006000100003&lng=es&tlng=es.
76. Maresca, B y Kobayashi, G (2000). Dimorphism in *Histoplasma capsulatum* and *Blastomyces dermatitidis*. Contributions to microbiology. 5. 201-16. <https://doi.org/10.1159/000060346>
77. McCullough, A y Leslie, K (2018). Lung Infections. Practical Pulmonary Pathology: A Diagnostic Approach, 147–226.e5. Doi:10.1016/b978-0-323-44284-8.00007-7
78. McMullen, A; Wallace, M; Pincus, D; Wilkey, K y Burnham, C (2016). Evaluation of the Vitek MS Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry System for Identification of Clinically Relevant Filamentous Fungi. J Clin Microbiol. 2016 Aug;54(8):2068-73. Epub 2016 May 25. PMID: 27225405; PMCID: PMC4963483. Doi: 10.1128/JCM.00825-16.
79. Minchiotti, G; Gargano, S y Maresca, B (1991). The Intron-Containing hsp82 Gene of the Dimorphic Pathogenic Fungus *Histoplasma capsulatum* Is Properly Spliced in Severe Heat Shock Conditions. MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, Nov. 1991, p. 5624-5630 Vol. 11, No. 11. PMID: 1922067. PMCID: PMC361933. Doi: 10.1128/mcb.11.11.5624
80. Mohs, E y Jiménez, E (1969). Histoplasmosis en el niño. Acta Médica Costarricense, 12 (I) 53-62; 1969. Recuperado de: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/amc/v12n11969/art6.pdf>
81. Muniz, M; Nascimento, C; Evangelista, M; Vera, C; Abreu, M; Rodríguez, G; Taylor, M y Zancopé, R (2014). Sexual variability in *Histoplasma capsulatum* and its possible distribution: What is going on? Rev Iberoam Micol. 2014;31(1):7-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.riam.2013.10.002>
82. Muñoz, C; Cano, L y González, A (2010). Detección e identificación de *Histoplasma capsulatum* por el laboratorio: de los métodos convencionales a

- las pruebas moleculares, *Infectio*, Volume 14, Supplement 2, 2010, Pages 145-158, ISSN 0123-9392. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(10\)70132-6](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70132-6).
83. Muraosa, Y; Toyotome, T; Yahiro, M; Watanabe, A; Shikanai, M y Kamei, K (2016). Detection of *Histoplasma capsulatum* from clinical specimens by cycling probe-based real-time PCR and nested real-time PCR. *Medical Mycology*, 2016, 54, 433-438. Doi: 10.1093/mmy/myv106
84. Ndiaye, D; Diallo, M; Sene, P; Ndiaye, M y Ndir, O (2011). Histoplasmosis disséminée à *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* au Sénégal. À propos d'un cas chez un patient VIH positif [Disseminated histoplasmosis due to *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* in Senegal. A case in HIV-infected patient]. *J Mycol Med*. 2011 Mar;21(1):60-4. French. Epub 2011 Feb 15. PMID: 24451506. Doi: 10.1016/j.mycmed.2010.12.004.
85. Negroni, R; Duré, R; Ortiz, Á; Arechavala, A; Maiolo, E; Santiso, G; Iovannitti, C; Ibarra, y Canteros, C (2010). Brote de Histoplasmosis en la Escuela de Cadetes de la Base Aérea de Morón, Provincia de Buenos Aires, República de Argentina. *Revista Argentina de microbiología* 42(4):254-260. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/262658907_Brote_de_histoplasmosis_en_la_Escuela_de_Cadetes_de_la_Base_Aerea_de_Moron_Provincia_de_Buenos_Aires_Republica_Argentina
86. Negroni, R (2011). Histoplasmosis en América Latina. *Biomédica*, 31(3), 301. Doi:10.7705/biomedica.v31i3.597
87. Newman, S (1999). Macrophages in host defense against *Histoplasma capsulatum*. *TRENDS IN MICROBIOLOGY* 67 VOL. 7 NO. 2 FEBRUARY 1999. PMID: 10081083. Doi: 10.1016/s0966-842x(98)01431-0
88. Newman, S y Smulian, G (2013). Iron uptake and virulence in *Histoplasma capsulatum*. *Current Opinion in Microbiology* 2013, 16:700-707. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2013.09.001>
89. Nguyen, V y Sil, A. (2008). Temperature-induced switch to the pathogenic yeast form of *Histoplasma capsulatum* requires Ryp1, a conserved transcriptional regulator. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(12), 4880-4885. Doi:10.1073/pnas.0710448105

90. Nieto, J; Serna, L; Guzman, C; Ocampo, C; Aristizabal, A; Ramírez, I; Velez, C; Vanegas, J; Zuleta, J y Zuluaga, G (2014). Histoplasmosis in renal transplant patients in an endemic area at a reference hospital in Medellin, Colombia. *Transplant Proc.* 2014 Nov;46(9):3004-9. PMID: 25420811. Doi: 10.1016/j.transproceed.2014.06.060.
91. Nosanchuk, J; Zancopé, R; Hamilton, A y Guimarães, A (2012). Antibody therapy for histoplasmosis. *Frontiers in Microbiology. Fungi and Their Interactions.* February 2012. Volume 3. Article 21. Doi: 10.3389/fmicb.2012.00021
92. Odio, C; Navarrete, M y Carrillo, J (1999). Disseminated histoplasmosis in infants. *Pediatr Infect Dis J.* 1999 Dec;18(12):1065-8. PMID: 10608625. Doi: 10.1097/00006454-199912000-00007.
93. OMS (2020). OMS: acceso para los medicamentos para el VIH está gravemente afectado por el COVID-19 y la respuesta al SIDA se estanca. 6 de julio del 2020. Recupeado de: <https://www.who.int/es/news/item/06-07-2020-who-access-to-hiv-medicines-severely-impacted-by-covid-19-as-aids-response-stalls>
94. OPS (2020). Directrices para el Diagnóstico y Manejo de la Histoplasmosis Diseminada en Personas con Infección por el VIH. OPS y OMS. ISBN 978-92-75-32248-2 (impreso), ISBN 978-92-75-32249-9 (digital). <https://doi.org/10.37774/9789275322482>
95. Ortiz, J; Ortega, D; Barba, Mafla, P y Zurita, J (2015). Systemic canine histoplasmosis: A case report from Ecuador. *Medical Mycology Case Reports* 9 (2015) 18-21. PMID: 26199868. PMCID: PMC4506976. Doi: 10.1016/j.mmcr.2015.06.004
96. Pandit, H; Madhukaran, S, Nayak, A y Madan, T (2012). SP-A and SP-D in host defense against fungal infections and allergies. *Frontiers in bioscience (Elite edition).* 4. 651-61. PMID: 22201901. Doi: 10.2741/406
97. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *J Fungi (Basel).* 2019 Jan 3;5(1):4. PMID: 30609833; PMCID: PMC6463175. Doi: 10.3390/jof5010004.

98. Peigne, V; Dromer, F; Elie, C; Lidove, O; Lortholary, O y French Mycosis Study Group (2011). Imported Acquired Immunodeficiency Syndrome–Related Histoplasmosis in Metropolitan France: A Comparison of Pre–Highly Active Anti-Retroviral Therapy and Highly Active Anti-Retroviral Therapy Eras. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 85(5), 2011, pp. 934-941. Doi:10.4269/ajtmh.2011.11-0224
99. Powell, R; Bell, N; Abreha, T; Asmamaw, K; Bekelle, H; Dawit, T; Itsay, K y Feseha, G (2015). Cutaneous histoplasmosis in 13 Ethiopian donkeys. *Veterinary Record* (2006) 158, 836-837. PMID: 16782861. Doi: 10.1136/vr.158.24.836
100. Ramanan, P; Wengenack, N y Theel, E (2017). Laboratory Diagnostics for Fungal Infections: A Review of Current and Future Diagnostic Assays. *Clin Chest Med.* 2017 Sep;38(3):535-554. Epub 2017 May 31. PMID: 28797494. Doi: 10.1016/j.ccm.2017.04.013.
101. Ramírez (2015). Síndrome de Presunta Histoplasmosis Ocular. *Revista Médica De Costa Rica Y Centroamerica Lxxii* (615) 423-426, 2015. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=66421>
102. Ray, S y Rappleye, C (2018). Flying under the radar: *Histoplasma capsulatum* avoidance of innate immune recognition. *Semin Cell Dev Biol* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.03.009>
103. Rauseo, A; Coler, A, Lindsey, L y Andrej, S (2020). Hope on the Horizon: Novel Fungal Treatments in Development. Doi: 10.1093/ofid/ofaa016
104. Richmond, B. W; Worrell, J. A; Bastarache, J. A; Gervich, D. H; Slattery, W. R y Loyd, J. E (2013). Histoplasmosis of Uncommon Size. *Chest*, 143(6), 1795-1798. Doi:10.1378/chest.12-2071
105. Rivolta, S y Micellone, L (1883). -Del farcino criptococcio. *Giorn. Anat. Patol. Anim. dom.*, 15, 143-162
106. Rodrigues, A; Beale, M; Hagen, F; Fisher, M; Terra, P; de Hoog, S; Brilhante, R; de Aguiar Cordeiro, R; de Souza Collares, D; Rocha, M, Sidrim, J y de Camargo, Z (2020). The global epidemiology of emerging *Histoplasma*

- species in recent years. *Stud Mycol.* 2020 Mar 2;97:100095. PMID: 33335607; PMCID: PMC7714791. Doi: 10.1016/j.simyco.2020.02.001.
107. Rodríguez, G; Nascimento, C; de Medeiros, M; Ramírez, J; Pizzini, C; de Abreu, M; Evangelista, M; Fusco, A; Vite, T; Pitangui, N; Estrada, D; González, A; Mendes, M; Zancopé, R y Taylor, M (2013). Frequency and genetic diversity of the MAT1 locus of *Histoplasma capsulatum* isolates in Mexico and Brazil. *Eukaryot Cell.* 2013 Jul;12(7):1033-8. Epub 2013 May 24. PMID: 23709181; PMCID: PMC3697462. Doi: 10.1128/EC.00012-13.
108. Rojas, G y Zumbado, C (2010). Histoplasmosis Diseminada (Reporte de un Caso). *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXVII (593) 287-290* 2010. Recuperado de: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/593/art14.pdf>
109. Romero, R; Canteros, C y Taylor, M (2004). Variabilidad cromosómica intraespecífica en hongos patógenos de humanos, especialmente en *Histoplasma capsulatum*. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 168-176. Recuperado de <http://www.reviberoammicol.com/2004-21/168176.pdf>
110. Roth, M; Zamith, D y Nosanchuk, J (2019). Immunization Strategies for the Control of Histoplasmosis. *Current Tropical Medicine Reports.* <https://doi.org/10.1007/s40475-019-00172-3>
111. Sánchez, M (2009). Histoplasmosis, la micosis del viajero. *ENF INF MICROBIOL* 2009. Vol 29 (3): 111-116. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=26751#:~:text=La%20histoplasmosis%20es%20ocasionada%20por,como%20una%20enfermedad%20ocupacional%2C%20siendo>
112. Sánchez, L; Galarza, C y Cortés, F (2010). Infecciones micóticas sistémicas o profundas: histoplasmosis. *Dermatol Perú* 2010, Vol 20(1). Recuperado de: https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v20_n1/pdf/a09v20n1.pdf
113. Salazar, F y Brown, G (2018). Antifungal Innate Immunity: A Perspective from the Last 10 Years. *J Innate Immun* 2018;10:373-397. Doi: 10.1159/000488539

114. Salman, A; Tsrer, L; Pomerantz, A; Moreh, R; Mordechai, S y Huleihel, M (2010). FTIR spectroscopy for detection and identification of fungal phytopathogenes. *Journal of Spectroscopy*, vol. 24, Article ID 723489, 7 pages, 2010. <https://doi.org/10.3233/SPE-2010-0448>
115. Scheel, C; Samayoa, B; Herrera, A; Lindsley, M; Benjamin, L; Reed, Y; Hart, J; Lima, S; Rivera, B; Raxcaco, J; Chiller, T; Arathoon, E y Gómez, B (2009). Development and Evaluation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay To Detect *Histoplasma capsulatum* Antigenuria in Immunocompromised Patients. *CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY*, June 2009, p. 852-858. Doi:10.1128/CVI.00066-09
116. Schmidt, S; Tramsen, L y Lehrnbecher, T (2017). Natural Killer Cells in Antifungal Immunity. *Front. Immunol.* 8:1623. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01623
117. Sepúlveda, V; Márquez, R; Turissini, D; Goldman, W y Matute, D (2017). Genome Sequences Reveal Cryptic Speciation in the Human Pathogen *Histoplasma capsulatum*. *mBio.* 2017 Dec 5;8(6):e01339-17. PMID: 29208741; PMCID: PMC5717386. Doi: 10.1128/mBio.01339-17.
118. Shen, Q y Rappleye, C (2017). Differentiation of the fungus *Histoplasma capsulatum* into a pathogen of phagocytes. *Current Opinion in Microbiology* 2017, 40:1-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2017.10.003>
119. Steele, P; Carle, G; Kobayashi, G y Medoff, G (1989). Electrophoretic analysis of *Histoplasma capsulatum* chromosomal DNA. *Mol Cell Biol.* 1989 Mar;9(3):983-7. PMID: 2725508; PMCID: PMC362687. Doi: 10.1128/mcb.9.3.983.
120. Teixeira, M; Patané, J; Taylor, M; Gómez, B; Theodoro, R; Hoog, S; Engelthaler, D; Zancopé, O; R, Felipe, M y Barker, B (2016). Worldwide Phylogenetic Distributions and Population Dynamics of the Genus *Histoplasma*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016 Jun 1;10(6):e0004732. PMID: 27248851; PMCID: PMC4889077. Doi: 10.1371/journal.pntd.0004732
121. Theel, E; Jespersen, D; Haring, J; Mandrekar, J y Binnicker, M (2013). Evaluation of an Enzyme Immunoassay for Detection of *Histoplasma*

- capsulatum* Antigen from Urine Specimens. J. Clin. Microbiol. 2013, 51(11):3555. Doi:10.1128/JCM.01868-13.
122. Tonatouh, B; Torres, M; Bobadilla, K y Sada, E (2005). Papel de las células epiteliales en la respuesta inmune del pulmón. Revista Del Instituto Nacional De Enfermedades Respiratorias. Octubre-Diciembre 2005, Segunda Época, Vol. 18 N°4. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018775852005000400011&lng=es&tlng=es.
123. Torres, P; Niembro, M; Martínez, A; Ahumada, V; Andrade, J; Araujo, J; Chaparro, A; Crabtree, B; Cruz, S; Gamboa, A; Flores, O; Gaytán, J; González, L; Hernández, C; Lozano, V; Manríquez, M; Magaña, M; Martínez, P; Ramírez, J; Rangel, A; Rivera, N; Reyes, E; Reyes, G; Rodríguez, P; Ruíz, J; Santiago, J; Velázquez, N; Sifuentes, J y Ponce de León, A (2018). Diagnostic accuracy cohort study and clinical value of the Histoplasma urine antigen (ALPHA Histoplasma EIA) for disseminated histoplasmosis among HIV infected patients: A multicenter study. PLoS Negl Trop Dis 12(11): e0006872. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006872>
124. Tóth, EJ; Boros, É; Hoffmann, A; Szebenyi, C; Homa, M; Nagy, G; Vágvölgyi, C; Nagy, I y Papp, T (2017) Interaction of THP-1 Monocytes with Conidia and Hyphae of Different Curvularia Strains. Front. Immunol. 8:1369. Doi: 10.3389/fimmu.2017.01369.
125. Valero, C; Buitrago, M; Gago, S; Quiles, I y García, J (2018). A matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry reference database for the identification of *Histoplasma capsulatum*. Med Mycol. 2018 Apr 1;56(3):307-314. PMID: 28992262. Doi: 10.1093/mmy/myx047.
126. Van Daele, R; Spriet, S; Wauters, J; Maertens, J; Mercier, T; Van Hecke, S y Bruggemann, R (2019). Antifungal drugs: What brings the future? Medical Mycology, 2019, 57, S328-S343. Doi: 10.1093/mmy/myz012

127. Villalobos, M y Rodríguez, S (2014). Histoplasmosis diseminada, reporte de casos desde el año 2008 al 2012 en el Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica. *MéD. UIS.* 2014;27(3):19-26. Doi: 10.18273/revmed
128. Vite, T; Estrada, D; Cifuentes, J y Taylor, M (2014). The importance of molecular analyses for understanding the genetic diversity of *Histoplasma capsulatum*: an overview. *Rev Iberoam Micol.* 2014 Jan-Mar;31(1):11-5. Epub 2013 Nov 16. PMID: 24252830. Doi: 10.1016/j.riam.2013.09.013.
129. Voto, C; Pérez, G; Gómez, S; Epelbaum, C; Sarkis, C; Santos, P; Carnovale, S; Canteros, C y Bologna, R (2020). Histoplasmosis en Argentina: serie de casos en niños. *Revista Iberoamericana de Micología.* Doi:10.1016/j.riam.2019.10.005
130. Weeks, R; Padhye, A y Ajello, L (1985). *Histoplasma capsulatum* Variety *Farciminosum*: A New Combination for *Histoplasma farciminosum*. *Mycologia.* Vol. 77, No. 6 (Nov. - Dec., 1985), pp. 964-970 (7 pages). <https://doi.org/10.2307/3793310>
131. Wheat, L; Kohler, R y Tewari, R (1986). Diagnosis of Disseminated Histoplasmosis by Detection of *Histoplasma capsulatum* Antigen in Serum and Urine Specimens. *N Engl J Med* 1986 Jan 9;314(2):83-8. Doi: 10.1056/NEJM198601093140205.