



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE MEDICINA

COMISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

INSTITUTO ANATOMOPATOLÓGICO “DR. JOSÉ ANTONIO O’DALY”

**ESTUDIO CLÍNICO-PATOLÓGICO DE AUTOPSIAS CON DIAGNÓSTICO DE  
HISTOPLASMOSIS**

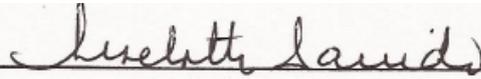
Trabajo Especial de Grado que se presenta para optar al título de Especialista en Anatomía  
Patológica

Idania Carolina Lubo Julio

Miriam Rosana Ramírez Serrano

Tutor: Liseloth Garrido

Caracas, diciembre 2013



Liseloth Garrido.

Tutor.



María Eugenia Orellana.

Directora del curso de especialización en Anatomía Patológica.



Leticia Hamana.

Coordinadora del curso de especialización en Anatomía Patológica.



Alicia Machado.

Asesor.

## **DEDICATORIA**

Este trabajo fue posible gracias al apoyo y aliento de las siguientes personas a quienes está dedicado:

Los amigos incondicionales, ya que sin su empuje constante esta obra estaría aún en el teclado de un computador.

Nuestros padres, quienes día a día aportaron un granito para ser lo que hoy día somos.

Dios, por guiar siempre nuestros pasos al éxito.

Nuestra tutora, la Dra. Liseloth Garrido; este trabajo fue en principio visión suya, y su sabia guía finalmente le dio forma.

Nuestra asesora, la Dra. Alicia Machado, amiga, docente, siempre dispuesta a enseñar.

Al Dr. José Atahualpa Pinto, siempre ejemplo de sabiduría a seguir.

Al Dr. José David Mota, quien en todo momento nos desafía a alcanzar nuevas metas y a renovar constantemente la patología.

A la Dra. María Eugenia Orellana, directora del instituto que nos formó y que siempre llevaremos en el corazón.

Y finalmente a todos los que de una u otra forma contribuyeron a la realización de este trabajo, esperamos les sea de utilidad.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>MÉTODOS</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>18</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>24</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>37</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>43</b>

## ESTUDIO CLÍNICO-PATOLÓGICO DE AUTOPSIAS CON DIAGNÓSTICO DE HISTOPLASMOSIS

**Idania Carolina Lubo Julio**, C.I. 13.466.198. Sexo: Femenino, E-mail: [icaluju@gmail.com](mailto:icaluju@gmail.com). Telf: 0416-6320482. Dirección: Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly. Curso de Especialización en Anatomía Patológica;

**Miriam Rosana Ramírez Serrano**, C.I. 15.640.563. Sexo: Femenino, E-mail: [mrosanars@hotmail.com](mailto:mrosanars@hotmail.com). Telf: 0416-0476067. Dirección: Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly. Curso de Especialización en Anatomía Patológica;

Tutor: **Liseloth Garrido**, C.I. 4.083.412 Sexo: Femenino, E-mail: [liselothgarrido@hotmail.com](mailto:liselothgarrido@hotmail.com). Telf: 0416-8123338. Dirección: Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly. Especialista en Anatomía Patológica.

### RESUMEN

**Objetivo:** Caracterizar los aspectos clínico-patológicos de la histoplasmosis a través del estudio de la autopsia clínica. **Métodos:** De 719 autopsias realizadas entre los años 2005 y 2009 en el Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly” (Universidad Central de Venezuela), se seleccionaron diecinueve autopsias con diagnóstico definitivo de histoplasmosis. **Resultados:** 74% correspondieron al sexo masculino, siendo >50% de los casos menores de 35 años. Trece pacientes eran VIH positivos. 42% presentó síntomas respiratorios, mientras que la mayoría cursó con sintomatología inespecífica ( $p < 0,01$ ). El pulmón estuvo afectado en todos los casos estudiados, con diseminación a ganglios linfáticos, hígado, bazo, médula ósea, entre otros; siendo el compromiso único pulmonar en dos casos. La forma de presentación histopatológica más frecuente fue el infiltrado linfocitario severo. Los granulomas estuvieron presentes en 53% de los casos, principalmente de tipo necrotizantes. El patrón de daño alveolar difuso se encontró en 58%, y el patrón de lipoproteinosis alveolar en 37% de los casos. El Grocott fue positivo en todos los casos. **Conclusiones:** Al igual que en reportes previos, se observó que la histoplasmosis es una micosis sistémica que se adquiere por vía inhalatoria, siendo el órgano primariamente afectado el pulmón, donde adopta la forma de histoplasmosis pulmonar y de ahí se disemina a otros órganos. No existe un patrón histopatológico definitorio de histoplasmosis, por lo que es fundamental un alto índice de sospecha para aprovechar de forma oportuna las herramientas diagnósticas auxiliares.

**Palabras claves:** Histoplasmosis, autopsia, patrones histopatológicos, pulmón, Grocott.

### ABSTRACT

#### CLINICOPATHOLOGICAL STUDY OF AUTOPSIES WITH DIAGNOSIS OF HISTOPLASMOSIS

**Objective:** Characterize the clinical and pathological issues of histoplasmosis by studying the clinical autopsy. **Methods:** From a total of 719 autopsies performed 2005 through 2009 in the

Institute of Pathology "Dr. José A. O'Daly" (Central University of Venezuela), were selected nineteen autopsies with definitive diagnosis of histoplasmosis. **Results:** Were found 74% cases from masculine gender, which >50% were less of 35 year-old. Thirteen patients were positive for HIV. A 42% showed respiratory symptoms, and the majority showed nonspecific symptoms ( $p<0,01$ ). Lung was affected in all cases, been disseminated to lymph nodes, liver, spleen, bone marrow, and others; single lung infection was seen in two cases. Severe lymphohistiocytic infiltrate was the frequent pattern. Granulomas were found in 53%, principally necrotizing. Diffuse alveolar damage was present in 58%; and alveolar lipoproteinosis was reported in 37% of cases. Grocott was positive in all cases. **Conclusions:** Like previous papers, were noticed that histoplasmosis is a systemic mycosis contracted by inhalation, been primarily affects the lungs, when is call pulmonary histoplasmosis and then other organs can affect. There is not a unique histopathological pattern of histoplasmosis, for that reason is important a high suspicious index for make it an advantage of diagnostically tools.

**Key words: Histoplasmosis, autopsy, histopathological patterns, lung, Grocott.**

## INTRODUCCIÓN

La histoplasmosis es una enfermedad infecciosa producida por el hongo dimorfo *Histoplasma capsulatum*, el cual tiene dos variedades patógenas para el ser humano encontrándose en América la forma *H. capsulatum var. capsulatum*. Es la micosis endémica más común en el ser humano y tiene una distribución cosmopolita <sup>(1-3)</sup>.

En la mayoría de los casos (>90%), especialmente en áreas endémicas, la infección será asintomática o se manifestará bajo la forma de un cuadro viral leve que no genera sospecha diagnóstica <sup>(1,2)</sup> ya que el hongo es capaz de desarrollar varios mecanismos que le permiten evadir el sistema de defensa del huésped <sup>(2,4,5)</sup>. En estos casos, su existencia se puede documentar desde el punto de vista clínico, por la reactividad cutánea o serológica en contra de antígenos relacionados al histoplasma <sup>(1,2,6-8)</sup>. Las manifestaciones clínicas se hacen evidentes en < 1% de los pacientes inmunocompetentes y en un porcentaje mucho mayor en caso de inmunosupresión en donde se presenta la infección de forma progresiva y severa, siendo útil la biopsia para confirmar el diagnóstico <sup>(1-3)</sup>. A este respecto, la forma de presentación pulmonar se agrupa en varios síndromes clínicos que son histoplasmosis pulmonar aguda, subaguda, diseminada y crónica <sup>(1,2)</sup>, sin embargo, desde el punto de vista histopatológico es una enfermedad polimorfa, es decir, morfológicamente puede cursar con múltiples patrones de presentación <sup>(9,10)</sup>; y requiere de un diagnóstico patológico oportuno para lograr adecuado tratamiento <sup>(11)</sup>.

La infección se adquiere por vía inhalatoria y la severidad de la misma va a depender de la intensidad de la exposición al inoculo y la inmunidad previa del huésped, siendo el órgano de choque principal los pulmones, a partir del cual ocurre la diseminación a otros órganos <sup>(1,2,6)</sup>.

## **Planteamiento y delimitación del problema**

Dado el polimorfismo histológico de la enfermedad, se plantea identificar ¿cuáles son las características clínicas y los patrones histológicos pulmonares que se puedan presentar? ¿Habría relación entre éstas para poder llegar a un adecuado diagnóstico? Siendo la sala de autopsia el lugar esencial para el aprendizaje de la patología, y el pulmón el órgano de compromiso inicial, no es de extrañar que la revisión de casos de autopsia permita identificar dichas características, pudiendo contribuir así a un mejor entendimiento de esta enfermedad, para lo cual, en este trabajo se revisaron todos los protocolos de autopsias y preparados histológicos correspondientes a las autopsias realizadas en el Instituto Anatomopatológico “Dr. José Antonio O’Daly” de la Universidad Central de Venezuela durante el período Enero de 2005 y Diciembre de 2009.

## **Justificación e importancia**

En Venezuela, la histoplasmosis no es una enfermedad de denuncia obligatoria, por lo que no se conoce con exactitud, el impacto que ésta tiene sobre la salud pública. En los últimos años, su prevalencia ha venido en aumento debido a su asociación con enfermedades que comprometen el sistema inmunológico tales como el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) y las neoplasias, entre otras; de allí la importancia del correcto diagnóstico sospechado clínicamente y comprobado por histopatología, para poder establecer una terapéutica adecuada y evitar un fatal desenlace. Además, con este estudio se contribuye a crear una casuística real de nuestros pacientes, aunque con la limitante que sólo son pacientes provenientes del Hospital Universitario de Caracas.

## **Antecedentes**

La histoplasmosis ha sido identificada en más de 50 países a nivel mundial, pero su predominio por los continentes americano y africano es notorio. En Norte América predomina en los estados del centro-este de los Estados Unidos y en el valle de los ríos Mississippi y

Ohio <sup>(1-3)</sup>. En Méjico la incidencia anual entre los años 1953 y 1997 fue de 0,29/100.000 habitantes, mientras que en los Estados Unidos la incidencia fue mucho mayor (3,4/100.000 habitantes) <sup>(12)</sup>. En Centroamérica y las islas del Caribe, las áreas endémicas más importantes se encuentran en Honduras, Guatemala, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Puerto Rico, República Dominicana y Jamaica. En Suramérica las áreas endémicas están localizadas en Perú, Colombia, Ecuador, Surinam, la cuenca del Río de la Plata en Argentina, Paraguay, Uruguay, Venezuela y Brasil <sup>(6,7,13,14)</sup>. En Brasil se ve con mayor frecuencia en el centro-este y sureste del país donde la prevalencia oscila entre 4,4 - 63,1%, y 3 - 93,2% respectivamente <sup>(13)</sup>.

En Venezuela, al igual que la mayor parte de los países de Latinoamérica como Colombia <sup>(15)</sup>, la incidencia y prevalencia real de la histoplasmosis no puede ser calculada ya que no existen datos confiables puesto que no es una patología de denuncia obligatoria, y además suele ser diagnosticada erróneamente lo cual suministra sólo una visión parcial del problema <sup>(14)</sup>. No obstante previamente, en un estudio realizado en el Estado Bolívar, se estimó una prevalencia de un 54,9% reactivos a la histoplasmina en una población determinada (644 reactivos de 1173 encuestados) <sup>(8)</sup>, y recientemente, en un caserío del Estado Aragua se determinó una prevalencia de 72,5%; de estos casos se observó que la infección ocurría rápida y tempranamente en la vida del individuo, y la endemidad del microorganismo, así como el riesgo de contraer la infección eran más elevados en los trabajadores agrícolas <sup>(16)</sup>.

En el continente americano la histoplasmosis fue descrita por primera vez por Samuel Darling, en Panamá en 1905, en la autopsia de tres pacientes que trabajaban en la construcción del canal de Panamá y se pensaba habían muerto de leishmaniasis <sup>(2)</sup>. Darling observó el microorganismo, pensó que era un protozooario y lo llamó histoplasma capsulatum debido a que se alojaba en los histiocitos y tenía un halo claro a manera de cápsula. Posteriormente, en 1912 Henrique Da Rocha-Lima, un patólogo brasilero que trabajaba para el Instituto de Enfermedades Tropicales en Hamburgo (Alemania), sugirió que aquel microorganismo

inicialmente descrito por Darling como una variante de leishmania, correspondía realmente a un hongo <sup>(17)</sup>.

Los primeros informes acerca de histoplasmosis en Venezuela datan de 1950, cuando Campins y Scharyj <sup>(7)</sup>, observaron positividad de 13,7% a la histoplasmina, en escolares de la ciudad de Barquisimeto (Estado Lara), y posteriormente en 1952 <sup>(18)</sup> confirmaron la presencia del hongo en la autopsia de un adulto natural y residente del Estado Lara, que había muerto después de presentar un cuadro de sepsis, encontrando en este caso una forma generalizada de la enfermedad. A partir de estos hechos, se realizaron diversas encuestas epidemiológicas que demostraron la infección en personas procedentes de distintas regiones del país <sup>(8,19,20)</sup>, siendo en ese entonces la región minera del Callao una zona de alta endemia, con un 89% de pruebas positivas, así como también las localidades de la industria azucarera con más de un 50% de positividad <sup>(21)</sup>.

En 1953, Pollak et al. <sup>(22)</sup> en el Instituto Nacional de Tuberculosis, describieron un caso de histoplasmosis pulmonar, siendo éste el primero en Venezuela con diagnóstico micológico mediante cultivo de inoculación del material obtenido por biopsia pulmonar a cielo abierto, con fines diagnósticos, de un nódulo identificado radiográficamente.

En 1954 se documenta la primera epidemia en doce escolares que visitaron La Cueva de la Vieja en Sanare, Estado Lara, en cuyo suelo se comprobó la presencia de *Histoplasma capsulatum* <sup>(23)</sup>. En ese mismo año, se publica el primer caso en Venezuela de la enfermedad con localización cutáneo-mucosa <sup>(24)</sup>.

Desde 1954, el Dr. Angulo Ortega y sus colaboradores empezaron a notar, en el estudio de las lesiones pulmonares circunscritas de origen infeccioso (tuberculomas), que en algunos casos no se lograba establecer la etiología tuberculosa ni mediante el estudio

histológico, ni mediante cultivo e inoculación, tales nódulos eran contestados por tanto de manera inespecífica como foco necrótico circunscrito por tejido de granulación. Cuatro años más tarde, fueron descritos, por primera vez en Venezuela, por el Dr. Angulo Ortega los histoplasmosomas (formas pulmonares circunscritas causadas por *Histoplasma capsulatum*), quien estudió 12 casos de lesiones nodulares circunscritas del pulmón, obtenidas mediante resección segmentaria, cuneiforme o simples enucleaciones, en el Sanatorio Simón Bolívar y en el Sanatorio Antituberculoso Infantil Luisa Cáceres de Arismendi. Los pacientes eran de ambos sexos con edades comprendidas entre 10 y 72 años, siete eran venezolanos (procedentes de distintas partes del país) y cinco eran inmigrantes. En estos casos se encontró positividad para las pruebas de sensibilidad cutánea y serológica, y el diagnóstico histopatológico se realizó mediante la técnica histoquímica de Gomori modificada por Grocott. Todos estos casos fueron estudiados en el Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Tuberculosis y los hallazgos fueron comunicados en febrero de 1959 en las VI Jornadas Nacionales de Anatomía Patológica <sup>(21,25)</sup>.

Para diciembre de 1959 se habían reportado en el país unos veinte casos de histoplasmosis, tanto en autopsias como en piezas pulmonares resecaadas, siendo comprobado el diagnóstico en la mayoría de los casos mediante la identificación del hongo en cortes histológicos, y en otros por cultivo <sup>(19)</sup>.

Desde 1999, en el Departamento de Micología Médica del Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Central de Venezuela (UCV) se ha observado incremento en el diagnóstico del número de casos de infección por histoplasmosis, especialmente durante el año 2000, debido a un brote epidémico relacionado con visita a cuevas <sup>(6,14)</sup>.

Actualmente la histoplasmosis es una micosis endémica, con predilección por la zona central del país. Los primeros casos eran casi exclusivos de áreas rurales, sin embargo poco a poco se ha ido convirtiendo en una enfermedad urbana como consecuencia de cambios

climáticos, desastres naturales, construcciones, deterioro de las condiciones socioeconómicas de la población y la progresión del SIDA, entre otros factores. Es así como hoy en día, en Latinoamérica, es una micosis frecuentemente encontrada en los pacientes con SIDA, al igual que candidiasis y pneumocistosis <sup>(14,26-28)</sup>, donde la prevalencia varía entre 2,1 y 20% <sup>(12)</sup>, no obstante, en los países donde está difundida ampliamente la terapia antirretroviral altamente activa (HAART) se ha observado tendencia a disminuir su frecuencia <sup>(29)</sup>.

### **Marco teórico**

La Histoplasmosis fue descrita por primera vez por el Dr. Samuel Darling a principios del siglo XX mientras trabajaba en la zona del canal de Panamá <sup>(1,2)</sup>, describiendo la forma diseminada de la enfermedad en un caso fatal, aunque en ese entonces pensaba que se trataba de una Leishmania <sup>(2)</sup>. No fue sino hasta décadas después que se reconoció al *Histoplasma capsulatum* como agente causal de la enfermedad y a la Histoplasmosis como una enfermedad infecciosa pulmonar primaria.

El *H. capsulatum* es un hongo dimorfo con dos variedades patógenas para el ser humano: *H. capsulatum* var. *capsulatum* e *H. capsulatum* var. *duboisii*, este último reportado con mayor frecuencia en África y Europa <sup>(1,2)</sup>. Para su desarrollo, el hongo requiere condiciones como la presencia de suelos con elevado contenido de nitrógeno, por lo que se relaciona estrechamente con la exposición a los excrementos de aves y murciélagos <sup>(1,2,6,30)</sup>. Por tanto, tienen mayor riesgo de exposición las personas que por motivos ocupacionales, recreacionales o diversos, están en contacto con excremento de aves o murciélagos colonizados por *H. capsulatum*, por ejemplo, trabajadores de la construcción, restauradores, granjeros, jardineros, trabajadores de aires acondicionados, personal de servicio y exploradores de cuevas <sup>(6,7,30)</sup>. A este respecto cabe la pena destacar el caso de un Pastor, quien junto a su asistente desarrollaron síntomas respiratorios poco tiempo después que el campanario de su iglesia fuera limpiado de excrementos de murciélago (guano) <sup>(31)</sup>. Sin embargo, como dato curioso a tener en cuenta, *H. capsulatum* puede permanecer en el suelo

varios años inclusive cuando ya las aves y/o murciélagos no se encuentren en el lugar, y las conidias pueden ser arrastradas por el aire exponiendo así a individuos que no han estado en contacto directo con el sitio inicialmente contaminado <sup>(1,2,6,32)</sup>.

Existen dos tipos de conidias de histoplasma: las macroconidias, que miden de 8 a 15µm de diámetro, de paredes gruesas; y las microconidias, que son estructuras pequeñas de 2 a 4µm <sup>(1,2)</sup>, de superficie externa lisa y que son la forma infectante propiamente dicha <sup>(11)</sup>. A temperatura ambiente el organismo pasa a la fase de levadura <sup>(2)</sup> las cuales se van a encontrar a nivel intracelular o extracelular.

La histoplasmosis es una micosis profunda de distribución mundial que se adquiere por vía inhalatoria, siendo por tanto la presentación pulmonar la forma más común de la enfermedad, seguido por el compromiso cutáneo. La enfermedad diseminada se presenta hasta en el 50% de los casos <sup>(12)</sup>. La patogenia de la histoplasmosis no se conoce del todo <sup>(33)</sup>, sin embargo, se sabe que una vez que las conidias se inhalan se depositan en los alveolos y se convierten en levaduras, las cuales son fagocitadas por las células del sistema monocítico-macrófago, donde *histoplasma capsulatum* es capaz de resistir a la degradación mediante mecanismos que modulan el pH de su microambiente además de activar vías que le permiten soportar condiciones de inanición incluyendo la baja concentración de hierro intracelular <sup>(34)</sup>; es así como el hongo es capaz de multiplicarse en la célula huésped y lizarla, o migrar en los endosomas de los macrófagos, a los ganglios linfáticos regionales y de ahí diseminarse por vía hematógica a otros órganos pudiendo permanecer latente para posteriormente activarse <sup>(33)</sup>.

Afecta principalmente a personas con cualquier tipo de compromiso del sistema inmune y/o en los extremos de la vida <sup>(2)</sup>. En los pacientes inmunocompetentes, en alrededor del 95% de los casos la presentación es subclínica <sup>(1)</sup>, sin embargo, en pacientes con SIDA el cuadro puede ser completamente diferente con evolución frecuentemente a histoplasmosis diseminada <sup>(11)</sup>, especialmente en aquellos pacientes con conteo de linfocitos CD4 < 150

células/ $\mu$ l<sup>(35,36)</sup>. Los casos sintomáticos pueden presentarse en un amplio espectro, desde una simple infección respiratoria leve (parecida a la gripe), hasta una forma diseminada, que afecta ganglios linfáticos, bazo, hígado y/o médula ósea. Manifestaciones únicas incluyen compromiso suprarrenal, ocular, síndrome hemofagocítico e histoplasmosis en médula ósea<sup>(35,37,38)</sup>.

La afectación pulmonar en la infección por histoplasma se produce de varias formas dependiendo del número de organismos inhalados, de la duración de la infección y de la respuesta inmunológica del huésped<sup>(39)</sup>. Radiológicamente se puede presentar como un infiltrado pulmonar intersticial difuso retículo-nodular. La forma pulmonar crónica ocurre generalmente en pacientes con neumatías de larga data de tipo enfermedad broncopulmonar obstructiva crónica (EBOC). Clínicamente tiene un espectro variable y puede semejar a otras enfermedades infecciosas, como la tuberculosis<sup>(9)</sup>, e inclusive enfermedades no infecciosas como la Sarcoidosis<sup>(31)</sup>. En el contexto de un paciente con SIDA, la tuberculosis diseminada es un importante diagnóstico diferencial.

Desde el punto de vista histopatológico, como se mencionó previamente los hallazgos son polimorfos<sup>(1,9,40)</sup>, variando según la forma de presentación de la enfermedad, por tanto se debe tener presente en los diagnósticos diferenciales. En las formas agudas y diseminadas la levadura se encuentra en el interior de los fagolisosomas de los macrófagos alveolares (intracelular), y no se forman granulomas necrotizantes ya que en los pacientes con esta forma de afectación suele estar alterado el sistema monocítico-macrofágico; mientras que en las formas crónicas el hallazgo fundamental es el granuloma epitelioides con o sin necrosis, donde la levadura se encuentra intracelular (en los fagosomas de los histiocitos epitelioides y en células gigantes, así como también en las áreas de necrosis). En los pacientes con SIDA en general no se forman granulomas o no están bien constituidos y se pueden encontrar levaduras intracelulares o extracelulares en focos necróticos<sup>(1,9)</sup>. En estos pacientes es frecuente observar la forma diseminada de histoplasmosis, involucrando diferentes órganos y sistemas, siendo potencialmente fatal si no es tratada oportunamente<sup>(35,36,39)</sup>.

Entre los patrones histopatológicos que se pueden observar en la histoplasmosis pulmonar se encuentran: granulomas con necrosis caseosa, sugestivos de tuberculosis; granulomas epitelioides (sin necrosis) sugestivos de sarcoidosis; angeitis granulomatosa del pulmón (similar a la granulomatosis de Wegener, granulomatosis broncocéntrica, granulomatosis tipo sarcoide); proteinosis alveolar pulmonar, y daño alveolar difuso <sup>(9)</sup>, por lo cual el patólogo debe tener presente estos patrones histopatológicos en el diagnóstico diferencial de esta entidad, siendo necesario emplear en el protocolo de trabajo, técnicas de apoyo como el cultivo de tejidos y coloraciones especiales (histoquímica) <sup>(1,9,41,42)</sup>. Para la identificación de hongos en general, la impregnación argéntica de Grocott es la técnica preferida por la mayoría de los centros <sup>(1,2)</sup>. El ácido Peryódico de Schiff (PAS) usado con contratinción también es una técnica útil, sin embargo cuando se emplea sin contraste genera dificultad al tratar de diferenciar un fondo de restos necróticos de hongos de pequeño tamaño como el histoplasma <sup>(1)</sup>. Algunos autores han empleado también el Giemsa <sup>(1,9,11)</sup> para identificar el hongo. Estas técnicas de histoquímica ofrecen resultados más rápidos en comparación al cultivo, y permiten la distinción del hongo mediante las características morfológicas <sup>(1,2)</sup>, no obstante, en ciertos casos, dicha morfología puede ser alterada por el tratamiento y en cierta medida por el estado inmunológico del paciente <sup>(42)</sup>.

En la mayoría de los casos es suficiente revisar dos o tres bloques de tejido para identificar el agente infeccioso, siendo las áreas con inflamación granulomatosa necrotizante las de mayor carga fúngica ya que los microorganismos tienden a localizarse en el centro de la necrosis en lugar del tejido viable circundante o en los granulomas no necrotizantes. Sin embargo, es importante tener presente que una proporción baja pero significativa (hasta un tercio de los casos), de los granulomas necrotizantes por lo demás típicos, pueden ser negativos tanto para las técnicas de histoquímica como para los cultivos <sup>(1,42,43)</sup>. En estos casos, se piensa que la ausencia del microorganismo se deba a la efectiva respuesta celular del huésped <sup>(1,5)</sup>.

Existen otros métodos complementarios como la inmunohistoquímica, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la microscopía electrónica <sup>(1,9)</sup> que ofrecen mejor especificidad pero tienen la desventaja de no estar disponibles en todos los centros y ser de mayor costo, por lo que las pruebas morfológicas con histoquímica aún se emplean ampliamente (Grocott, PAS y/o Giemsa) <sup>(2,11)</sup>. El diagnóstico exacto de esta entidad es importante para establecer el tratamiento adecuado el cual repercute directamente en el pronóstico del paciente <sup>(1-3,9,44,45)</sup>.

### **Objetivo general**

Caracterizar los aspectos clínico-patológicos de la histoplasmosis en nuestro país a través del estudio de la autopsia clínica.

### **Objetivos específicos**

- Calcular la concordancia entre los diagnósticos de solicitud de autopsia con los diagnósticos definitivos de las mismas en pacientes autopsiados en el Instituto Anatomopatológico "Dr. José A. O'Daly".
- Determinar edad, sexo, procedencia y ocupación de los pacientes.
- Describir los hallazgos clínicos e histopatológicos de la histoplasmosis.
- Determinar la frecuencia de la histoplasmosis en relación con otras micosis profundas durante el periodo de estudio.
- Identificar los parámetros histológicos para el diagnóstico de histoplasmosis.

### **Aspectos éticos**

Todas las autopsias consultadas en el presente estudio contaban con la orden de solicitud de autopsia firmada por el médico tratante y la autorización de realización de la

misma, firmada por un familiar directo de acuerdo a las normas de realización de autopsias del Hospital Universitario de Caracas y el Instituto de Anatomía Patológica “Dr. José A. O’Daly”.

Se garantizó el anonimato (confidencialidad) ya que los datos tomados de los protocolos de autopsia no incluyeron identificación personal (**Anexo 1**). Los estudios reportados en la presente investigación tanto clínicos como paraclínicos fueron previamente obtenidos por el médico tratante y contenidos en la historia clínica, elemento indispensable (junto con los previamente mencionados) para realizar y concluir las autopsias. Por otra parte, dada la naturaleza descriptiva de este estudio, no se realizaron experimentos directos en los pacientes evaluados.

## **MÉTODOS**

### **Tipo de estudio**

El estudio fue de tipo descriptivo, retrospectivo.

### **Población y muestra**

La población estuvo constituida por todas las autopsias (719) realizadas en el Instituto Anatomopatológico “Dr. José Antonio O’Daly” de la Universidad Central de Venezuela (IAP-UCV), durante el período comprendido entre Enero del año 2005 y Diciembre del año 2009, de las cuales se encontraron veintiún (21) casos con diagnóstico anatomopatológico definitivo de histoplasmosis. La muestra estuvo finalmente conformada por diecinueve (19) casos que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión que se exponen abajo.

### **Criterios de inclusión**

Protocolos de autopsias realizadas en el IAP-UCV durante el período de Enero de 2005 y Diciembre de 2009 con el diagnóstico definitivo de Histoplasmosis.

### **Criterios de exclusión**

Aquellos casos con protocolos de autopsia incompletos o extraviados, protocolos de óbitos fetales y casos cuyas láminas o bloques no se encontraran en la sección de archivo del IAP-UCV.

## **Procedimiento**

Se revisaron los protocolos correspondientes a las autopsias realizadas entre Enero de 2005 y Diciembre de 2009, de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión señalados previamente, se obtuvieron los diagnósticos de la boleta de solicitud de autopsia, la información clínica de los resúmenes de historias médicas, se recopilaron, revisaron y analizaron las láminas coloreadas con Hematoxilina y Eosina (H-E), las coloraciones PAS, Ziehl-Neelsen (ZN), Giemsa y la impregnación argéntica de Grocott.

Se registraron los datos para cada caso seleccionado de forma manual en una hoja de recolección (**Anexo N°1 y N°2**) y posteriormente se transcribió a tablas de datos para la elaboración del análisis estadístico. Se registró el número de cada autopsia, el sexo del cadáver, la edad, ocupación y procedencia. Así mismo, se identificó el estado de positividad o no para el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH). Los datos clínicos se agruparon en síntomas constitucionales (fiebre, cefalea, astenia, hiporexia, pérdida de peso), clínica abdominal (nauseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, distensión abdominal), clínica respiratoria (tos, disnea, hemoptisis, dolor pleurítico) y síntomas neurológicos (desorientación, convulsiones, debilidad muscular, paresia, limitación funcional, afasia). Se registraron las adenopatías independientemente de su localización.

Se registró la presencia de hábito tabáquico y su intensidad, así como la presencia de patologías asociadas referidas en los antecedentes clínicos. También se revisaron los estudios paraclínicos con énfasis en la hematología completa y cifras de Lactato Deshidrogenasa (LDH). Se informó acerca de la presencia de pruebas auxiliares (radiología simple de tórax, tomografía computarizada, resonancia magnética, cultivos, entre otros).

El diagnóstico principal de solicitud de autopsia y/o los diagnósticos causales de muerte consignados en la solicitud de autopsia fueron también registrados en la hoja de recolección de datos.

Se realizó la respectiva descripción histopatológica del patrón de daño pulmonar encontrado correspondiente a cada uno de los casos. De forma semicuantitativa, estos hallazgos se catalogaron como: ausentes, leves (+), moderados (++) y severos (+++). Se investigó la presencia de granulomas (con y sin necrosis), células gigantes multinucleadas, infiltrado nodular (microabscesos), infiltrado linfocitario, necrosis, lipoproteinosis alveolar, daño alveolar difuso, bronconeumonía, enfisema centroacinar, vasculitis y calcificaciones. Todos estos, hallazgos frecuentes en infecciones por hongos <sup>(1)</sup>.

Se consideraron los casos positivos para histoplasma aquellos en los que se demostró con la tinción de PAS y/o el Grocott la presencia de microorganismos con las siguientes características morfológicas: levaduras de pequeño tamaño (promedio 3µm, rango de 1 a 5µm), ovals, uniformes, con ausencia de gemación o gemación única <sup>(1-3)</sup>. La intensidad de impregnación de Grocott se evaluó de forma semicuantitativa en: ausente, débil (+), moderada (++) y fuerte (+++).

### **Tratamiento estadístico**

Se realizó registro fotográfico de los casos mediante el uso de una cámara Lumix Panasonic® DMC-FX33 de 8 Megapíxeles y un microscopio Olympus® modelo CX-21. Por tanto, los recursos humanos, equipos y materiales que se emplearon en este trabajo consistieron en: médicos patólogos, técnicos de archivo, personal de informática y de biblioteca, cámara digital, computadoras, impresoras, material de papelería, microscopios, lamineros, láminas histológicas teñidas con H-E, preparados histológicos con impregnación argéntica de Grocott, preparados histológicos con la tinción de PAS, y protocolos de autopsia.

Para el análisis estadístico del nivel de concordancia de dos evaluadores (médico clínico y médico patólogo) se empleó índice kappa de Cohen <sup>(46)</sup> de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\kappa = \frac{p_o - p_e}{1 - p_e}$$

Dicho índice se catalogó usando la escala de valoración de Landis y Koch <sup>(47)</sup> en: ausencia de acuerdo, acuerdo insignificante, discreto, moderado, sustancial y casi perfecto.

<b>Valor de Kappa (<math>\kappa</math>)</b>	<b>Grado de acuerdo</b>
< 0,00	sin acuerdo
0,00 a 0,20	insignificante
0,21 a 0,40	discreto
0,41 a 0,60	moderado
0,61 a 0,80	sustancial
0,81 a 1,00	casi perfecto

Las variables cuantitativas fueron resumidas como medias con sus desviaciones estándar ( $\pm$ DE). Las variables cualitativas fueron resumidas como proporciones (%). Para la variable edad se generó un histograma de frecuencias con su correspondiente curva de distribución normal. La comparación de las proporciones se realizó con la prueba de chi cuadrado ( $\chi^2$ ). Todos los análisis estadísticos se realizaron con un nivel de confianza de 95%, considerándose p significativa < 0,05. Para el análisis estadístico los datos fueron tabulados bajo Excel 2007 ® para Windows 7 ®, siendo procesados con SPSS ® 17.0.

## RESULTADOS

En el periodo comprendido de Enero de 2005 a Diciembre de 2009 se realizaron en el Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly” setecientos diecinueve (719) autopsias **(Figura 1)**.

Durante el año 2005 se realizaron 216 autopsias (30,04%), en el 2006 se realizaron 181 autopsias (25,17%), en el 2007 se realizaron 121 autopsias (16,82%), en el 2008 se realizaron 119 autopsias (16,55%) y en el 2009 se realizaron 82 autopsias (11,40%). Del total de autopsias realizadas, se encontraron 623 (86,48%) protocolos para su revisión, distribuidos de la siguiente manera: 326 adultos, 2 adolescentes, 3 escolares, 1 preescolar, 15 lactantes y 276 óbitos fetales. Del total de pacientes adultos, adolescentes, escolares, preescolares y lactantes (347), se encontraron 21 (6,05%) autopsias con diagnóstico definitivo de histoplasmosis y se realizaron 19 solicitudes de autopsia con diagnóstico de histoplasmosis de las cuales 13 se sospecharon. Al calcular la concordancia entre el diagnóstico de solicitud de autopsia y el diagnóstico definitivo, se encontró que fue sustancial ( $\kappa=0,636$ ). De los 19 pacientes que se seleccionaron para el estudio con diagnóstico de histoplasmosis, en un 68% se sospechaba histoplasmosis al solicitar la autopsia ( $\chi^2=2,579$ ;  $p=0,108$ ).

Del total de autopsias con diagnóstico definitivo de histoplasmosis se excluyeron dos (2) por no encontrarse las láminas y bloques en archivo para su revisión, seleccionando finalmente diecinueve (19) casos para este estudio de los cuales 74% (14/19) correspondió al sexo masculino, el cual predominó, y 26% (5/19) al sexo femenino ( $\chi^2=4,263$ ;  $p=0,039$ ) **(Figura 2)**.

La edad promedio de los pacientes evaluados con el diagnóstico definitivo de histoplasmosis fue de 36,95 años ( $\pm 12,45$ , rango 17 a 66 años), correspondiendo en más de 50% de los casos a menores de 35 años de edad (**Figura 3**). En el **Cuadro 1** se aprecia la relación de distribución por sexo y grupos de edad en los pacientes evaluados. De acuerdo a dicha relación se observa que el grupo de mayor importancia fue el de sexo masculino menor de 35 años de edad (9/19, 47%) ( $\chi^2=4,044$ ;  $p=0,132$ ).

En relación a la ocupación dicha información solo se encontró reportada en 11 casos (58%), los cuales correspondieron principalmente a chofer (3), desempleado (2), seguido por otras ocupaciones ( $p>0,05$ ) (**Cuadro 2**).

Sobre la procedencia sólo se obtuvo información en 12 casos (63%), la cual correspondió en 10 casos (53%) al Distrito Capital, seguido por Miranda (1/19; 5%) y Vargas (1/19; 5%) ( $p>0,05$ ) (**Cuadro 3**). En 2 casos de los 7 donde no se reportó en la historia clínica la procedencia del paciente, no se sospechó el diagnóstico de histoplasmosis. Estos 2 pacientes cursaron con síntomas constitucionales (en ausencia de sintomatología respiratoria), anemia, leucopenia, trombocitopenia y aumento de las cifras de LDH; siendo la forma morfológica de presentación histoplasmosis diseminada con enfisema centroacinar leve y moderado respectivamente.

En los pacientes autopsiados, en relación a su clínica, 95% presentaron síntomas constitucionales (18/19) ( $\chi^2=15,211$ ;  $p<0,01$ ), 79% clínica abdominal (15/19), 42% presentaron clínica respiratoria (8/19), 26% síntomas neurológicos (5/19) y 16% adenopatías (3/19) (**Figura 4**).

Del total de pacientes se tenía registro de que 42% (8/19) tenían hábito tabáquico a razón de 3 a 30 cigarrillos/día.

En cuanto a los antecedentes de importancia, en 21% (4/19) estaban ausentes, 21% (4/19) tenía como antecedente tuberculosis, 16% (3/19) consumo de drogas ilícitas, 11% (2/19) hipertensión, entre otros ( $p>0,05$ ) (**Cuadro 4**).

Desde el punto de vista de laboratorio, 90% (17/19) presentó anemia ( $\chi^2=11,842$ ;  $p=0,01$ ), 74% (14/19) Leucocitosis, 74% (14/19) plaquetopenia y 63% (12/19) leucopenia (**Figura 5**). Las cifras de LDH se encontraron aumentadas en 42% (8/19) con rango de 232 a 8049 UI/L (media de 1478,56 UI/L).

Del total de protocolos revisados (347), 51 eran positivos para el VIH (14,69%); mientras que de los casos estudiados 13 de 19 (68%) correspondieron a individuos positivos para el VIH, y 6 fueron VIH negativos (32%) ( $\chi^2=2,579$ ;  $p=0,108$ ).

Al investigar la presencia de otras micosis, se encontró: 5 casos de candidiasis (1,44%), cuatro de los cuales tenían infección por VIH/SIDA y dos asociados a histoplasmosis (**Figura 6**); 5 pneumocystosis (1,44%), uno de éstos sin asociación a infección por VIH/SIDA; 2 paracoccidioidomicosis (0,57%), ninguno relacionado con VIH/SIDA; 1 criptococosis meníngea (0,28%) en un paciente VIH positivo; y 1 aspergilosis (0,28%) no relacionada al VIH. Así mismo, otras infecciones no micóticas encontradas en las autopsias revisadas fueron 22 tuberculosis (6,34%), doce de las cuales eran VIH/SIDA; 8 Toxoplasmosis (2,30%), 1 asociada a histoplasmosis; y 9 adrenalitis por citomegalovirus (2,59%), de las cuales 7 estaban asociadas a VIH/SIDA y 3 a histoplasmosis (**Figura 7**).

En relación a los hallazgos histopatológicos el más frecuentemente encontrado fue el infiltrado linfocitocitario (**Cuadro 5**), el cual se observó en 89% de los casos (17/19): siendo en 11 (58%) severo, en 4 (21%) moderado, en 1 (5%) escaso y en 1 (5%) nodular. Estuvo ausente en 11% (2/19) de los casos (**Figura 8 y 9**).

Los granulomas pulmonares (**Figura 10**) estuvieron presentes en 53% (10/19) y estaban ausentes en 47% (9/19), siendo: 5 (26%) necrotizantes, 4 (21%) no necrotizantes y 1 (5%) mixto (necrotizante y no necrotizante) (**Cuadro 6**) observándose necrosis en empalizada (**Figura 11**) sólo en 11% de los casos (2/19).

La diseminación del hongo a otros órganos y tejidos se produjo en 17 de 19 (89,47%) casos (**Figura 12**), en orden de frecuencia fue a: ganglios linfáticos (13/19), hígado (9/19), bazo (9/19), médula ósea (7/19), riñones (6/19), suprarrenales (2/19), páncreas (2/19), intestino (1/19), meninges (1/19) y arteria cerebral media (1/19). En dos casos se observó compromiso pulmonar único.

En relación a las células gigantes estas estuvieron ausentes en 63% (12/19) de los casos y presentes en 37% (7/19): siendo en 26% (5/19) escasas, 5% (1/19) abundantes y 5% (1/19) moderadas (**Figura 13**).

En cuanto a los microabscesos (**Cuadro 7**), éstos estuvieron ausentes en 47% (9/19) y presentes en 53% (10/19): siendo múltiples en 6 casos (32%) y focales en 4 casos (21%) (**Figura 14**).

La necrosis del parénquima pulmonar estuvo presente en 26%: siendo en 11% (2/19) moderada, 11% (2/19) severa y en 5% (1/19) leve. Fue ausente en 74% de los casos (14/19) (**Figura 15**).

En relación a la lipoproteínosis alveolar (**Cuadro 8**) estuvo ausente en 63% (12/19) de los casos y presente en 37% (7/19): siendo en 16% (3/19) de los casos severa, 11% (2/19) leve y 11% (2/19) moderada (**Figura 16**).

El daño alveolar difuso (**Cuadro 8**) se observó en 58% de los casos (11/19): siendo en 8 (42%) moderado y en 3 (16%) severo. Estuvo ausente en 42% (8/19) de los casos (**Figura 17**).

La bronconeumonía estuvo ausente en 63% (12/19) de los casos y presente en 37% (7/19): siendo en 21% (4/19) de los casos leve y 16% (3/19) moderada (**Figura 18**).

En cuanto al enfisema centroacinar, se observó en 58% de los casos (11/19): siendo en 6 (32%) leve y en 5 (26%) moderado. Estuvo ausente en 42% (8/19) de los casos (**Figura 19**).

En relación a la vasculitis estuvo ausente en 95% (18/19) de los casos y presente sólo en 1 caso (5%), donde se asoció a trombosis de la arteria cerebral media derecha con presencia de hemorragia intraparenquimatosa. Al evaluar la visualización intravascular del hongo se encontró en 21% (4/19) (**Figura 20**).

Las calcificaciones (**Cuadro 9**) estuvieron ausentes en 84% (16/19) y presentes solamente en 16% (3/19), en relación con necrosis (**Figura 21**).

Al realizar la técnica de histoquímica con metenamina de plata (Grocott) fue positivo en todos los casos (**Figura 22**), siendo positivo moderado en 58% de los casos (11/19), seguido por positivo fuerte en 26% (5/19) (**Figura 23**).

Con el Ziehl-Nielsen se pudo descartar otros diagnósticos, como tuberculosis, al resultar negativo en 89% de los casos (17/19), sin embargo en 11% (2/19) de los casos no se pudo realizar.

Finalmente el PAS (**Figura 24**) no se pudo realizar en 47% de los casos (9/19), y en aquellos que se realizó (10/19) fue positivo en todas: 26% (5/19) moderado, 16% (3/19) débil, y fuerte en menor frecuencia (**Figura 25 y 26**).

## DISCUSIÓN

La histoplasmosis es una micosis de distribución mundial producida por el hongo dimorfo *H. capsulatum*, descrita por primera vez por Samuel Darling en la primera década del siglo XX <sup>(2)</sup>. En Venezuela, la histoplasmosis se conoce desde 1950 gracias a las encuestas epidemiológicas realizadas por Campins y Scharyj <sup>(7)</sup>, a lo cual posteriormente contribuye Pollak <sup>(19)</sup>.

Esta enfermedad tiene una mayor frecuencia en el sexo masculino, encontrando en el presente estudio un 74% correspondiente a dicho sexo, siendo acorde estos datos con las características epidemiológicas reportadas hasta la fecha <sup>(6,9,14-16,30,36,48)</sup>, sin embargo, en una encuesta epidemiológica realizada en el año 1977 en una población del Estado Bolívar a 1173 personas, se encontró mayor positividad en el sexo femenino con un 58,5% para la intradermorreacción <sup>(8)</sup>.

Redondo en 1995 <sup>(48)</sup> en el Distrito Capital demostró mayor frecuencia del sexo masculino, casi cercana al 100%. Mata et al. <sup>(14)</sup>, durante los años 2000 a 2005, estudiaron 158 casos y encontraron un 73,4% de frecuencia para el sexo masculino (116 de 158 casos) muy similar a lo encontrado en la presente revisión. Reviákina et al. en el año 2002, de 240 casos también hallaron mayor frecuencia del sexo masculino con un 80% <sup>(30)</sup>. De igual manera, Garrido et al. <sup>(9)</sup> en un artículo publicado el año 2006 de una serie corta, encontraron un 75% de casos de sexo masculino (3 de 4 casos). Mota et al. <sup>(16)</sup> en el Estado Aragua, encontraron en 131 agricultores predominio del sexo masculino (56%; n=73), relacionándose en esta serie el sexo a la ocupación de los pacientes.

Desde el punto de vista etario, la histoplasmosis compromete más frecuentemente a personas jóvenes, de igual forma a lo observado en este trabajo, donde la edad media fue de  $36,95 \pm 12,45$  años, con un rango que osciló de 17 a 66 años.

En 1977 Volcán et al. <sup>(8)</sup> reportaron dos casos de autopsia en un lactante de 9 meses y un adulto de 54 años. Por su parte, Redondo <sup>(48)</sup> encontró mayor frecuencia en pacientes entre los 31 y 40 años. Mata et al. <sup>(14)</sup> encontraron una media similar a la encontrada en este trabajo de  $32,3 \pm 20,2$  años, con un rango más amplio de 15 días a 83 años. Garrido et al. <sup>(9)</sup> en sus 4 casos de formas inusuales describieron pacientes de 3 meses, 25, 42 y 70 años respectivamente. De igual manera, Mota et al. <sup>(16)</sup> encontraron que 64,9% eran menores de 30 años. En un estudio realizado recientemente en Colombia <sup>(15)</sup> el cual revisó datos de distintas áreas del país, se encontró que de 434 pacientes disponibles con diagnóstico de histoplasmosis, 417 (96,1%) eran pacientes mayores de 15 años.

La mayor frecuencia vista en sexo masculino y en personas jóvenes se relaciona principalmente con mayor exposición de tipo ocupacional, profesional y/o actividades deportivas y recreativas las cuales están ligadas al ciclo de vida del hongo <sup>(1-3,6)</sup>, sin embargo, en relación a la ocupación tal información en este estudio estuvo reportada en el protocolo de autopsia sólo en 11 de los 19 casos (58%), destacando la ocupación chofer en 3 casos y desempleado en 2. En el **Cuadro 10** se resumen y comparan los hallazgos demográficos, epidemiológicos y micológicos obtenidos con los de otros autores locales.

En estudios realizados previamente la histoplasmosis en Venezuela se ha reportado asociada a brotes por motivos recreacionales al visitar cuevas, como en caso de la “Cueva de la Vieja” en Sanare, Estado Lara <sup>(7)</sup> y el brote reportado luego de la visita de un grupo de estudiantes y su docente a la cueva Alfredo Jahn (Estado Miranda) <sup>(6)</sup>. Así mismo previamente se ha reportado la exposición ocupacional en 131 agricultores en el Estado Aragua <sup>(16)</sup>.

Mota et al. <sup>(16)</sup> consideraron a la zona central de Venezuela como endémica, mientras que en el presente trabajo, encontramos que más de la mitad de los casos procedían del Distrito Capital, no obstante esto se logra explicar por el origen de las autopsias de un solo centro hospitalario (Hospital Universitario de Caracas). Sin embargo, como pudimos ver, los datos epidemiológicos estuvieron ausentes en siete casos, donde resaltó la importancia de dos pacientes que no presentaron clínica respiratoria sino síntomas constitucionales inespecíficos, en quienes histoplasmosis no estuvo dentro de los diagnósticos diferenciales, retrasándose así la terapéutica efectiva al no elaborarse una historia clínica completa.

En un reporte publicado de ocho pacientes en Guatemala con histoplasmosis diseminada y SIDA <sup>(49)</sup>, se observó que todos fueron ingresados inicialmente al servicio de hospitalización con diagnóstico de tuberculosis asociada a SIDA lo cual causó notable retraso en el inicio del tratamiento.

La infección por histoplasma es la micosis sistémica que más frecuentemente se presenta en pacientes con VIH/SIDA, considerándose a ésta última por sí sola un factor de riesgo importante desde su primera asociación con el Síndrome en los años 80 <sup>(14,26,27)</sup>, sin embargo, en este estudio no se encontró asociación estadísticamente significativa pese a que 13 de los 19 casos (68%) eran VIH positivos, siendo mayor este porcentaje al encontrado por García-Tamayo en una serie de 120 autopsias, quien encontró 40,86% (n=47), seguido por citomegalovirus 34,78% (n=40). Redondo en 1995 <sup>(48)</sup>, describió la presencia de histoplasmosis en un porcentaje menor, 21,5% (43 de 200 pacientes con diagnóstico de SIDA).

De los 6 pacientes que no presentaron positividad para el VIH, en un caso se atribuyó la inmunosupresión a la presencia de diabetes tipo 1, y en otro a la medicación empleada para el tratamiento de esclerodermia concomitante, sin embargo, en el resto de los casos no se identificó una causa de inmunosupresión.

En la presente revisión se encontró que de 51 casos con presencia de infección VIH/SIDA, 22 (43,13%) tenían además infección concomitante por hongos, siendo en orden de frecuencia: histoplasmosis, candidiasis, neumocistosis y criptococosis. Por otra parte, se observaron infecciones micóticas en 11 casos (1,92%) no relacionados al VIH, siendo de éste grupo el 54,54% histoplasmosis. De igual manera, en dos revisiones publicadas en el año 2002 por Dolande et al. y Reviákina et al. <sup>(26,30)</sup> tratando de establecer la relación entre las micosis profundas sistémicas en general y la infección por VIH/SIDA, se detectó que de 1.044 muestras positivas para VIH, 113 (10,8%) eran positivas para la presencia de micosis profundas sistémicas (histoplasmosis, paracoccidioidomicosis, coccidioidomicosis, criptococosis y aspergilosis), siendo la histoplasmosis encontrada con mayor frecuencia (50,4%) <sup>(26)</sup>, mientras que sólo un 4% (127) de las muestras negativas para VIH presentaron positividad para micosis profundas sistémicas, correspondiendo un 44% de éste último grupo a histoplasma. Por tanto, al igual que los hallazgos que se presentan, se observó que la histoplasmosis fue la micosis profunda sistémica de mayor frecuencia tanto en el paciente inmunosuprimido como inmunocompetente.

Al comparar la presencia de histoplasmosis con otras micosis, Reviákina et al. <sup>(26,30)</sup> encontraron que de 240 muestras con diagnóstico de micosis, 112 correspondieron a histoplasma (46,7%), seguido por paracoccidioides, criptococos y aspergillus sp.

En los casos estudiados con VIH/SIDA la infección por histoplasma estuvo asociada, a la presencia de candidiasis pulmonar, toxoplasmosis (encefalitis necrotizante) y adrenalitis por citomegalovirus.

En un caso descrito en 1977 <sup>(8)</sup> se reportó que el paciente era fumador a razón de más de 50 cigarrillos/día. En el presente trabajo se encontró una prevalencia del 42% (8/19) de hábito tabáquico, con rangos de 3 a 30 cigarrillos/día. De estos ocho pacientes cinco presentaron además lesión de la pequeña vía aérea bajo la forma de enfisema centroacinar

atribuible al cigarrillo, sin embargo, seis casos de pacientes sin hábito tabáquico reportado en la historia clínica cursaron con enfisema centroacinar que osciló de leve a moderado. No obstante, en un estudio publicado por Graybill et al. <sup>(50)</sup> no se logró establecer una relación substancial entre el enfisema subyacente y la presencia de histoplasmosis. Sin embargo, se sabe que en pacientes con enfisema centroacinar subyacente es común la presencia de infección pulmonar progresiva por histoplasma <sup>(51,52)</sup>, considerándose un factor predisponente <sup>(53)</sup>, como ocurrió en los casos que se presentan.

Clínicamente, la histoplasmosis puede semejar otras enfermedades pulmonares infecciosas y no infecciosas <sup>(31,42,44)</sup>, especialmente por su capacidad de evocar un amplio rango de manifestaciones, ninguna de ellas definitorias de histoplasmosis, convirtiéndose así en un gran imitador, por lo que es importante un alto índice de sospecha. En este estudio se encontró que los pacientes autopsiados presentaron en su mayoría (95%) síntomas constitucionales (18/19;  $\chi^2=15,211$ ;  $p<0,01$ ). Un 79% de los casos presentó clínica abdominal, de los cuales sólo en uno se observó signos de infección micótica en el tracto gastrointestinal (colon); un 42% presentaron síntomas respiratorios (8/19). En un 26% se observó la presencia de síntomas neurológicos (5/19), relacionados a trombosis de la arteria cerebral media en un caso y meningitis en otro.

Al igual que lo descrito por otros autores los síntomas hallados no son específicos, y no se relacionan al efecto citopático directo del hongo en los distintos órganos y tejidos, sino a la liberación de mediadores inflamatorios como el factor de necrosis tumoral (FNT) e interleuquinas como la IL-1 y la IL-6, pudiendo por tanto encontrarse estas manifestaciones clínicas en otras enfermedades con similar etiopatogenia como la tuberculosis <sup>(33)</sup>.

El compromiso ganglionar desde el punto de vista histopatológico fue frecuente, sin embargo, desde el punto de vista clínico, sólo en un 16% de los casos (3/19), se encontraron

adenopatías evidentes, una de ellas asociada a cambios reactivos por el VIH sin presentar granulomas ni infección micótica.

En 1977, Volcán et al. <sup>(8)</sup> al describir los hallazgos en dos pacientes, encontraron como signos frecuentes, hepatomegalia y anemia. Otros hallazgos descritos fueron diarrea, fiebre, tos húmeda, disnea, vómitos, erupción cutánea, aumento de volumen abdominal y adenopatías cervicales, axilares e inguinales.

Redondo <sup>(48)</sup> encontró con mayor frecuencia pérdida de peso, fiebre, tos productiva, adenopatías y disnea; hallazgos semejantes a los casos reportados en este estudio. Así mismo, Panizo et al. <sup>(6)</sup> en 9 pacientes estudiados, encontraron como síntomas más frecuentes: fiebre, náuseas y vómitos, cefalea, erupción cutánea y dolor abdominal; siendo los menos frecuentes expectoración, conjuntivitis e ictericia; éstos dos últimos son hallazgos poco frecuentes y no se encontraron en el presente estudio.

Mota et al. <sup>(16)</sup> encontraron en 131 casos, en primer lugar síntomas respiratorios (tos, expectoración, disnea, hemoptisis), seguido por síntomas constitucionales (astenia, anorexia, pérdida de peso). Cabe la pena destacar que en estos casos no se reportó la presencia de fiebre, signo constante en la mayoría de las series.

En los casos estudiados en la presente revisión, la sospecha clínica se presentó en trece de diecinueve casos, lo cual correspondió a un 68% de los pacientes con diagnóstico definitivo de histoplasmosis ( $\chi^2=2,579$ ;  $p=0,108$ ). Entre los casos no sospechados se encontró una mujer de 26 años con antecedentes de esclerodermia y fibrosis pulmonar, donde las manifestaciones clínicas se atribuyeron a una infección pulmonar sobre agregada no específica. Otro caso no sospechado correspondió a un paciente masculino de 56 años, VIH negativo, cuyos diagnósticos de solicitud de autopsia fueron síndrome de desgaste orgánico y desnutrición de

probable etiología neoproliferativa. En estos casos resalta la importancia de la sospecha diagnóstica para la identificación micológica oportuna.

En los 19 casos autopsiados en este estudio no se realizó la prueba de intradermorreacción para la histoplasmina en vida, a diferencia de otros estudios, como el caso de los 9 pacientes de Panizo et al. <sup>(6)</sup>, donde 2 presentaron prueba de intradermorreacción positiva para histoplasmina.

El hallazgo de laboratorio más frecuentemente encontrado fue anemia (90% n=17;  $\chi^2=11,842$ ; p=0,01), seguido por trombocitopenia (63% n=12), lo cual concuerda con otras series, como los 200 pacientes con SIDA publicados por Redondo <sup>(48)</sup>, donde 74% cursaron con anemia, seguido por leucopenia (53%) y trombocitopenia (53%).

En este estudio se observó la presencia de valores aumentados de LDH en un 42% de los casos, oscilando entre 232 y 8049 UI/L. La LDH es una enzima glicolítica, presente en distintos tejidos cuyos niveles elevados han sido asociados con una variedad de condiciones que incluyen shock séptico, neoplasias malignas, hipoxia y enfermedades granulomatosas, entre otras <sup>(54)</sup>. Debido a que los niveles de LDH también se pueden elevar en pacientes con otras infecciones como neumocistosis, en un estudio retrospectivo publicado en el año 2002 <sup>(55)</sup> compararon 30 pacientes con diagnóstico de histoplasmosis con 120 pacientes con diagnóstico de neumocistosis encontrado que el nivel de LDH fue mayor en los pacientes con diagnóstico de histoplasmosis, determinando que en un contexto clínico apropiado, niveles mayores de 450 UI/L eran 9.33 veces más probables de estar asociados con histoplasmosis, con una sensibilidad de 70% y especificidad de 80%, mientras que a valores mayores de 600 UI/L tanto la sensibilidad como la especificidad disminuían aunque seguían siendo sugestivos de infección por histoplasmosis. Por su parte, Corcoran et al. <sup>(54)</sup> encontraron que niveles > 600 UI/L eran mucho más probables de presentarse en pacientes con VIH/SIDA e histoplasmosis diseminada.

Desde el punto de vista histopatológico el patrón de daño pulmonar que se encontró con más frecuencia fue el infiltrado linfocitario, el cual fue predominantemente severo, y se correspondió con la forma clínica diseminada. En estos casos se observó la presencia de abundantes histiocitos expandiendo el intersticio pulmonar y al interior de los alveolos, tal como se encuentra descrito en la literatura <sup>(1,40)</sup>. En estos histiocitos el hongo se puede observar inclusive con la coloración de rutina hematoxilina-eosina. En los pacientes con VIH/SIDA clásicamente se ha descrito la ausencia de granulomas, siendo el hallazgo principal el exudado intraalveolar mononuclear con evidencia de microorganismos. Esta forma se observó en 5 de los 13 pacientes estudiados con diagnóstico VIH/SIDA. La diseminación a otros órganos de histoplasmosis se observó en 17 casos, 11 de ellos en el contexto de VIH/SIDA donde el compromiso fue principalmente de ganglios linfáticos, hígado, bazo, médula ósea y riñón, siendo el cuadro histológico la presencia de infiltrado linfocitario y granulomas mal constituidos con necrosis. García-Tamayo et al. <sup>(27)</sup> también encontró la forma diseminada de histoplasmosis en 27 de 120 casos de autopsias de pacientes con SIDA. En dicho estudio, los hallazgos histopatológicos principales fueron la presencia de macrófagos con el hongo intracelular y focos necróticos en el parénquima pulmonar, mientras que los granulomas se observaron ocasionalmente. Así mismo, en el presente estudio se observó con mayor frecuencia el hongo en los macrófagos alveolares tanto con la coloración de Grocott como de PAS, y sólo en 26% se encontró necrosis del parénquima pulmonar. De igual forma cuando se comparó la presencia de granulomas en pacientes con VIH se encontró que sólo dos casos de trece presentaban granulomas, estando ausentes o mal constituidos en el resto, lo cual se puede explicar por el grado de alteración del sistema inmune secundario a la infección por VIH.

El segundo patrón pulmonar en orden de frecuencia encontrado fue inflamación crónica granulomatosa principalmente de tipo necrotizante, el cual es frecuentemente observado en la histoplasmosis crónica <sup>(1,38)</sup> usualmente los granulomas se encuentran rodeados por una capa de colágeno acelular la cual se localiza por fuera del anillo de células

inflamatorias, en estos casos la calcificación distrófica en la necrosis central es común como reflejo de lesión celular previa <sup>(33)</sup>, observándose éste hallazgo en el 16% de los casos en el presente trabajo donde con la coloración de hematoxilina-eosina se observaron basófilas, granulares y amorfas. Así mismo, las células gigantes se asociaron a la presencia de granulomas, estas células aparecen como consecuencia de la activación y fusión macrofágica para controlar la infección, proceso secundario a la liberación de Interferón- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) y otras citoquinas por parte de células inflamatorias <sup>(5)</sup>.

También se observaron áreas necróticas amplias y fácilmente identificables desde menor aumento en dos casos, encontrándose alta carga fúngica al momento de realizar las técnicas de histoquímica. Mukhopadhyay et al. <sup>(56)</sup> encontraron que las áreas de necrosis del parénquima pulmonar estaban rodeadas por el infiltrado linfocitario en lugar de estar rodeadas por histiocitos epitelioides. En este estudio se encontró ese hallazgo en un caso, mientras que en el resto los histiocitos epitelioides rodeaban esas áreas de necrosis.

Por otra parte, se observó en nueve pacientes la presencia de microabscesos caracterizados por infiltrado inflamatorio mixto con presencia de polimorfonucleares neutrófilos, sin embargo el curso clínico pulmonar agudo con el cual se suele asociar este patrón morfológico <sup>(1)</sup> sólo se presentó en uno de estos nueve casos. Mukhopadhyay et al. <sup>(56)</sup> encontraron como hallazgos histopatológicos en cuatro casos de histoplasmosis pulmonar aguda la presencia de prominente infiltrado linfocitario con disposición nodular, de predominio único, mal definido, asociado a necrosis parenquimatosa y vasculitis, sin presencia de microabscesos.

El tipo de vasculitis que se describe asociada a histoplasmosis es no necrotizante <sup>(1)</sup> como se vio en este estudio, el cual estuvo caracterizado por la presencia de infiltrado inflamatorio transmural constituido por linfocitos y plasmocitos con presencia de trombosis, y visualización intravascular del hongo. Mukhopadhyay et al. <sup>(56)</sup> encontraron vasculitis en

cuatro de los cuatro casos estudiados de histoplasmosis pulmonar aguda, siendo severa en tres de ellos, afectando a arterias de mediano calibre, presentando al igual que lo visto en este estudio, infiltrado inflamatorio mononuclear sin evidencia de necrosis.

La forma localizada de infección por histoplasma (histoplasmoma), la cual se caracteriza macroscópicamente por ser una lesión bien circunscrita de apariencia lamelada con centro necrótico, no fue observada en los casos presentados en la presente revisión.

Garrido et al. <sup>(9)</sup> presentaron cuatro casos con manifestaciones diversas a las clásicas descritas previamente, de las cuales en el presente estudio se encontró en once casos de histoplasmosis asociación con patrón de daño alveolar difuso y siete con extensas áreas de lipoproteinosis alveolar. El daño alveolar difuso se caracterizó por la presencia de membrana hialina, hiperplasia de neumocitos tipo II, congestión y edema pulmonar; mientras que la lipoproteinosis alveolar consistió en la presencia de material eosinofílico granular positivo a la reacción de PAS, con hendiduras ópticamente vacías. Estas presentaciones “inusuales” subrayan la necesidad de realizar técnicas de histoquímica para excluir una etiología infecciosa.

Hoy en día, los métodos de detección molecular de distintos microorganismos, entre ellos de hongos, han tenido un gran avance <sup>(28)</sup>, sin embargo los métodos histoquímicos siguen jugando un papel importante conservado buena relación costo beneficio. En un estudio retrospectivo de 10 años de revisión de biopsias realizado por Sangoi et al. <sup>(42)</sup>, se encontró que la identificación microscópica de hongos tuvo una eficacia general del 79%. En este trabajo, todos los preparados histológicos fueron positivos a la impregnación argéntica de Grocott, la mayoría con una positividad oscilando entre moderada y fuerte.

Por otra parte, la diferenciación morfológica del histoplasma de otras levaduras pequeñas puede representar un reto, tal es el caso de la cándida intracelular, toxoplasma

gondii, leishmania donovani y cryptococcus neoformans <sup>(1,13,42)</sup>. Es por ello que la observación minuciosa de las características morfológicas del hongo y su contexto son importantes para un adecuado diagnóstico, como es la uniformidad de las levaduras, la presencia de una pseudocápsula, la pobre tinción con hematoxilina-eosina, y la reacción inflamatoria crónica asociada.

## **Conclusión**

Como regla general se puede definir qué desde el punto de vista clínico se debe sospechar histoplasmosis en todo paciente con cualquier tipo de inmunosupresión; mientras que en el paciente inmunocompetente se debe tener en cuenta la entidad cuando se ha estado en contacto con zonas endémicas o se han desarrollado conductas de riesgo que favorezcan la infección. Desde el punto de vista histológico el cuadro clásico lo constituye la inflamación crónica granulomatosa, necrotizante o no, sin embargo se debe sospechar histoplasmosis al evaluar una biopsia pulmonar que presente inflamación de cualquier tipo, ya que como se ha visto el cuadro morfológico es variable de ahí la importancia que el patólogo se familiarice con las características morfológicas para evitar diagnósticos erróneos. En este estudio se halló en orden de frecuencia patrón de infiltrado linfocitario, seguido por inflamación crónica de tipo granulomatosa, a los cuales se asoció la presencia de daño alveolar difuso seguido por lipoproteínosis alveolar y bronconeumonía. En este medio es importante tener presente a la sarcoidosis <sup>(31)</sup> dentro de los diagnósticos diferenciales, especialmente ante la presencia de biopsias pulmonares con granulomas no necrotizantes y escaso infiltrado inflamatorio, donde primero se debe realizar búsqueda de levaduras para excluir la presencia de histoplasmosis.

Así mismo es importante recordar que en el paciente inmunosuprimido los granulomas estarán ausentes en la mayoría, predominando en estos casos el infiltrado linfocitario, los microabscesos y las áreas de necrosis, siendo muy rara la formación de células gigantes; por otra parte, la presencia de granulomas bien conformados con células gigantes y centro necrótico hablará a favor de una mejor respuesta inmunológica frente al hongo <sup>(5)</sup>.

Pese a la disponibilidad de las técnicas histoquímicas para la identificación del hongo por su morfología, aún el diagnóstico en muchos casos se retrasa o no se realiza ya que no se sospecha, de ahí que se debe tener en cuenta a esta entidad dentro de los principales diagnósticos diferenciales en todo paciente con VIH/SIDA, en el paciente inmunocomprometido por causas diversas, en los extremos de la vida, y en aquellos que en algún momento puedan haber tenido una exposición al hábitat del hongo por motivos ocupacionales, recreacionales u otros, para evitar de esta manera retraso en el tratamiento.

Así mismo se recomienda para evitar falsos negativos elegir cuidadosamente los cortes para histoquímica (Grocott, PAS y/o Giemsa) a fin de identificar las áreas con mayor carga fúngica. Por ejemplo, en el caso de compromiso único de la médula ósea las levaduras se encontrarán habitualmente dentro de los macrófagos, pudiéndose ver con menos frecuencia a nivel extracelular <sup>(43)</sup>, a diferencia del caso de compromiso único pulmonar donde además de los macrófagos es muy frecuente encontrar al hongo en los focos de necrosis donde se facilita mucho su identificación como se vio en los casos estudiados. Por otra parte, en algunas oportunidades *Histoplasma* sp. se tiñe débilmente con Grocott incluso cuando el control con otro hongo es fuerte, por esta razón de igual manera a lo descrito en la literatura <sup>(1,42)</sup>, es ideal usar un control histológico que contenga histoplasma para evitar falsos negativos. Otra técnica de histoquímica útil para la identificación del histoplasma es el PAS, que permite identificar los microorganismos especialmente a nivel intracelular, mientras que en los restos necróticos es ideal usarlo con una tinción de fondo que permita distinguir las levaduras.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Central de Venezuela y en especial al Instituto Anatomopatológico por habernos abierto sus puertas, las de la casa que vence la sombra.

A la sección de Patología Respiratoria. Dras. Liseloth y Alicia, por su gran ayuda y colaboración en cada momento de consulta y soporte en este trabajo de investigación.

A la sección de archivo del Instituto Anatomopatológico, quienes a pesar de las dificultades, nos facilitaron los instrumentos objeto de estudio en esta investigación.

Al personal del laboratorio general y de histoquímica, quienes amablemente realizaron nuevos cortes y coloraciones especiales de los casos faltantes para poder incluirlos en el estudio, sin ellos no habría sido posible.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma, colaboraron o participaron en la realización de esta investigación, hacemos extensivo nuestro más sincero agradecimiento.

## REFERENCIAS

1. Katzenstein AL. Infection: Granulomatous infections. En: Katzenstein and Askin's Surgical Pathology of Non-neoplastic Lung Disease. 3rd ed. New York: WB Saunders Company;1997. p. 293-4.
2. Wheat L, Conger N. Histoplasmosis. En: Hospenthal D, Rinaldi M, editores. Diagnosis and Treatment of Human Mycoses. New Jersey: Humana Press Inc;2008. p. 317.
3. Kauffman CA. Histoplasmosis: a Clinical and Laboratory Update. Clin Microbiol Rev 2007;20(1):115-32.
4. Maniscalchi M, Lemus D. Mecanismos de evasión de Histoplasma capsulatum en los fagocitos. Rev Soc Ven Microbiol 2006; 26(1):6-13.
5. Heninger E, Hogan L, Karman J, Macvilay S, Hill B, Woods JP. Characterization of the Histoplasma capsulatum-Induced Granuloma. J Immunol 2006;177:3303-3313.
6. Panizo M, Dolande M, Reviákina V, Maldonado B. Histoplasmosis pulmonar asociada con visita a cuevas: Descripción de un brote epidémico y revisión de la literatura. Rev Soc Ven Microbiol 2001;21(1):30-5.
7. Campins H, Sharyj M. Investigación de la sensibilidad cutánea a la histoplasmina en Venezuela. Arch Ven Pat Trop Parasit Med Med 1950;2:75-82.
8. Volcán G, Godoy G, Medrano C, Díaz C, Caldera L. Contribución al Estudio de la Histoplasmosis en el Estado Bolívar, Venezuela. Casos Clínicos, Encuesta Epidemiológica y Serológica de una Localidad. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1977;19:261-8.
9. Garrido L, Mata S, de Capriles C, Landaeta M, Pacheco I, Fuentes Z. Pulmonary histoplasmosis: unusual histopathologic findings. Pathol Res Pract 2006;202(5):373-8.
10. Hartung M, Salfelder K. Pulmonary alveolar proteinosis and histoplasmosis: report of three cases. Virchows Arch A Pathol Anat Histol 1975;28:368(4):281-7.

11. Wheat L, Freifeld A, Kleiman M, Baddley J, McKinsey D, Loyd J, et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Patients with Histoplasmosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2007;45:807–25.
12. Sifuentes-Osornio J, Corzo-León DE, Ponce-de-León LA. Epidemiology of Invasive Fungal Infections in Latin America. *Curr Fungal Infect Rep* 2012;6:23–34.
13. Guimaraes A, Nosanchuk J, Zancope R. Diagnosis of histoplasmosis. *Braz J Microbiol* 2006; 37(1):1-13.
14. Mata-Essayag S, Colella M, Rosellò A, Hartung C, Landaeta M, Pérez C, et al. Histoplasmosis A Study os 158 Cases in Venezuela, 2000-2005. *Medicine* 2008;87:193-202.
15. Arango M, Castañeda E, Agudelo CI, De Bedout C, Agudelo CA, Tobón A, et al. Histoplasmosis: results of the Colombian National Survey, 1992-2008. *Biomédica* 2011;31:344-56.
16. Mota J, Pavillard A, Pérez R, Pérez-Ybarra L, Luis-León J. Prevalencia de la infección por *Paracoccidioides brasiliensis* e *Histoplasma capsulatum* en agricultores del “Caserío La Entrada”. Estado Aragua. Venezuela. *Salud trab* 2009;17(1):33-47.
17. Daniel TM, Baum GL. Drama and discovery: the story of histoplasmosis. Westport, CT: Greenwood Press;2002. p. 31.
18. Campins H, Sharyj M. Comprobación de las histoplasmosis en Venezuela. *Gac Méd de Caracas* 1953;60:67-75.
19. Pollak L. Histoplasmosis en Venezuela. Ensayo Epidemiológico. *Rev Sanidad y Asist Social Venezuela* 1958;18:569-575.
20. Moncada F, Sequera H, Gabaldón A. Encuesta epidemiológica de tuberculina, coccidioidina e histoplasmina en 1.000 personas del Estado Mérida. *Rev Coleg Méd Mérida* 1957;7:377.

21. Baldó JI, Campins H, Ayala C. Histoplasmosis en Venezuela. *Mycopathol mycol appl* 1961;15(1):177-216.
22. Pollak L, Rodríguez C, Adrianza M. Histoplasmosis pulmonar presentación de un caso. *Acta Med Ven* 1953;1:242-5.
23. Campins H, Zubillaga Z, Gómez-López L, Dorantes M. Estudio de una epidemia de histoplasmosis en el Estado Lara, Venezuela. *Gac Méd de Caracas*. 1955;62:3-4.
24. Velutini L, Borelli D, Rodríguez G. Histoplasmosis. Nota preliminar sobre un caso proveniente de Barinas, con localización cutáneomucosa. *Gac Méd de Caracas*. 1955;62:1.
25. Angulo-Ortega A. Las formas circunscritas de histoplasmosis pulmonar (histoplasmosomas). *Mycopathol mycol appl* 1961;15(1):217-230.
26. Dolande M, Reviákina V, Panizo M. Diagnóstico inmunológico de las micosis sistémicas en pacientes con SIDA (1997-2001). *Rev Soc Ven Microbiol* 2002;22(1):51-6.
27. Garcia-Tamayo J, Perez-Almeida C, Caleiras E, Duran M. The Pulmonary Pathology in the Acquired Immunodeficiency Syndrome (Aids). *Acta Microscopica* 1993;2(1):99-109.
28. Karimi K, Wheat J, Connolly P, Cloud G, Hajjeh R, Wheat E, et al. Differences in Histoplasmosis in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome in the United States and Brazil. *J Infect Dis* 2002;186(11):1655-60.
29. Morgello S, Mahboob R, Yakoushina T, Khan S, Hague K. Autopsy findings in a Human Immunodeficiency Virus-Infected Population Over 2 Decades: Influences of Gender, Ethnicity, Risk Factors, and Time. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126:182-190.
30. Reviákina V, Panizo M, Dolande M. Micosis profundas sistémicas: Casuística del Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" durante 5 años (1997-2001). *Rev Soc Ven Microbiol* 2002; 22(2):164-8.
31. Wynbrandt J, Crouser E. Transformation of pulmonary histoplasmosis to sarcoidosis: A case report. *Respir Med* 2007;101:863-4.

32. Morgan J, Cano MV, Feikin DR, Phelan M, Velazquez O, Kuri P, et al. A Large Outbreak of Histoplasmosis Among American Travelers. *Am J Trop Med Hyg* 2003;69(6):663–9.
33. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. En: *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*. 8th ed. Philadelphia: Saunders and Elsevier;2010. p. 711-12.
34. Timmerman M M, Woods J P. Ferric reduction is a potential iron acquisition mechanism for *Histoplasma capsulatum*. *Infection and immunity* 1999;67(12): 6403-08.
35. Deeptarka R, Pradipta G, Dipanjan B, Partha S, Sanjoy K. Pancytopenia with Hemophagocytic Syndrome Associated with Histoplasmosis in Acquired Immunodeficiency Syndrome: Description of 2 Case Studies and Literature Review. *J AIDS Clinic Res* 2011;2:115.
36. Gutierrez M, Canton A, Sosa N, Puga E, Talavera L. Disseminated Histoplasmosis in Patients with AIDS in Panama: A Review of 104 Cases. *Clin Infect Dis* 2005; 40:1199–202.
37. Vyas S, Kalra N, Das PJ, Lal A, Radhika S, Bhansali A, et al. Adrenal histoplasmosis: An unusual cause of adrenomegaly. *Indian J Nephrol*. 2011;21(4):283–5.
38. Fowler B, Shen C, Mastellone J, Chaum E. Acute systemic histoplasmosis associated with chorioretinitis in an immunocompetent adolescent *Digit J Ophthalmol* [serial online] 2011 Aug [citado 15 sep 2012];17(3):31-35. Disponible en: URL: <http://www.djo.harvard.edu/site.php?url=/physicians/cr/1567>.
39. McKinsey D, Spiegel R, Hutwagner L, Stanford J, Driks M, Brewer J, et al. Prospective study of histoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus: incidence, risk factors, and pathophysiology. *Clin Infect Dis* 1997; 24:1195-1203.
40. El-Zammar O, Katzenstein AL. Pathological diagnosis of granulomatous lung disease: a review. *Histopathology* 2007; 50:289–310.
41. Weydert J, Van Natta T, DeYoung B. Comparison of fungal culture versus surgical pathology examination in the detection of *Histoplasma* in surgically excised pulmonary granulomas. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131(5):780-3.

42. Sangoi A, Rogers W, Longacre T, Montoya J, Baron E, Banaei N. Challenges and Pitfalls of Morphologic Identification of Fungal Infections in Histologic and Cytologic Specimens. A Ten-Year Retrospective Review at a Single Institution. *Am J Clin Pathol* 2009;131:364-75.
43. Ulbright T, Katzenstein AL. Solitary necrotizing granulomas of the lung. Differentiating features and etiology. *Am J Surg Pathol* 1980;4:13-28.
44. Alves J, Ribeiro K, Palagi F, Schaich F, Ferreira M, Chagas T, et al. Pitfalls in diagnosis of pulmonary histoplasmosis. *Respiratory Medicine Extra* 2007; 3:9–13.
45. Baddley J, Sankara I, Rodríguez M, Pappas P, Many W. Histoplasmosis in HIV-infected patients in a southern regional medical center: poor prognosis in the era of highly active antiretroviral therapy. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 62(2):151-6.
46. Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 1960;20:37-46.
47. Landis J.R., Koch G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159-174.
48. Redondo, M. C. Disseminated histoplasmosis in Venezuelan AIDS patients. *Infect Dis Clin Pract.* 4: 300-303, 1995.
49. Segura L, Rojas M, Pelaez N, Shor-Posner G, RosaRe D, Moreno J, et al. Disseminated Histoplasmosis and Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection: Risk Factors in Guatemala. *Clin Infect Dis* 1997; 25(2):343-4.
50. Graybill JR, Ahrens J, Suchyta M, Coalson J. Experimental pulmonary histoplasmosis and emphysema. *Am Rev Respir Dis* 1988;137(5):1193-7.
51. Gurney JW, Conces DJ. Pulmonary histoplasmosis. *Radiology.* 1996;199:297-306.
52. Wheat J, Sarosi G, McKinsey D, Hamill R, Bradsher R, Johnson P, et al. Practice Guidelines for the Management of Patients with Histoplasmosis. *Clin Infect Dis* 2000;30:688-695.

53. Severo LC, Rizzon CF, Roesch W, Oliveira F, Porto N. Chronic pulmonary histoplasmosis in brazil: report of two cases with cavitation diagnosed by transthoracic needle biopsy. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* [serial online] 1997 Sep [citado 15 mar 2013];39(5): 293-298. Disponible en: URL: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46651997000500009&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46651997000500009&lng=en).
54. Corcoran G, AI-Abdely H, Flanders CD, Geimer J, Patterson TF. Markedly Elevated Serum Lactate Dehydrogenase Levels Are a Clue to the Diagnosis of Disseminated Histoplasmosis in Patients with AIDS. *Clin Infect Dis* 1997;24:942-4.
55. Butt AA, Michaels S, Greer D, Clark R, Kissinger P, Martin DH. Serum LDH level as a clue to the diagnosis of histoplasmosis. *AIDS Read* 2002;12(7):317-21.
56. Mukhopadhyay S, Katzenstein A Biopsy Findings in Acute Pulmonary Histoplasmosis Unusual Histologic Features in 4 Cases Mimicking Lymphomatoid Granulomatosis *Am J Surg Pathol* 2010; 34(4):541-6.

## ANEXOS

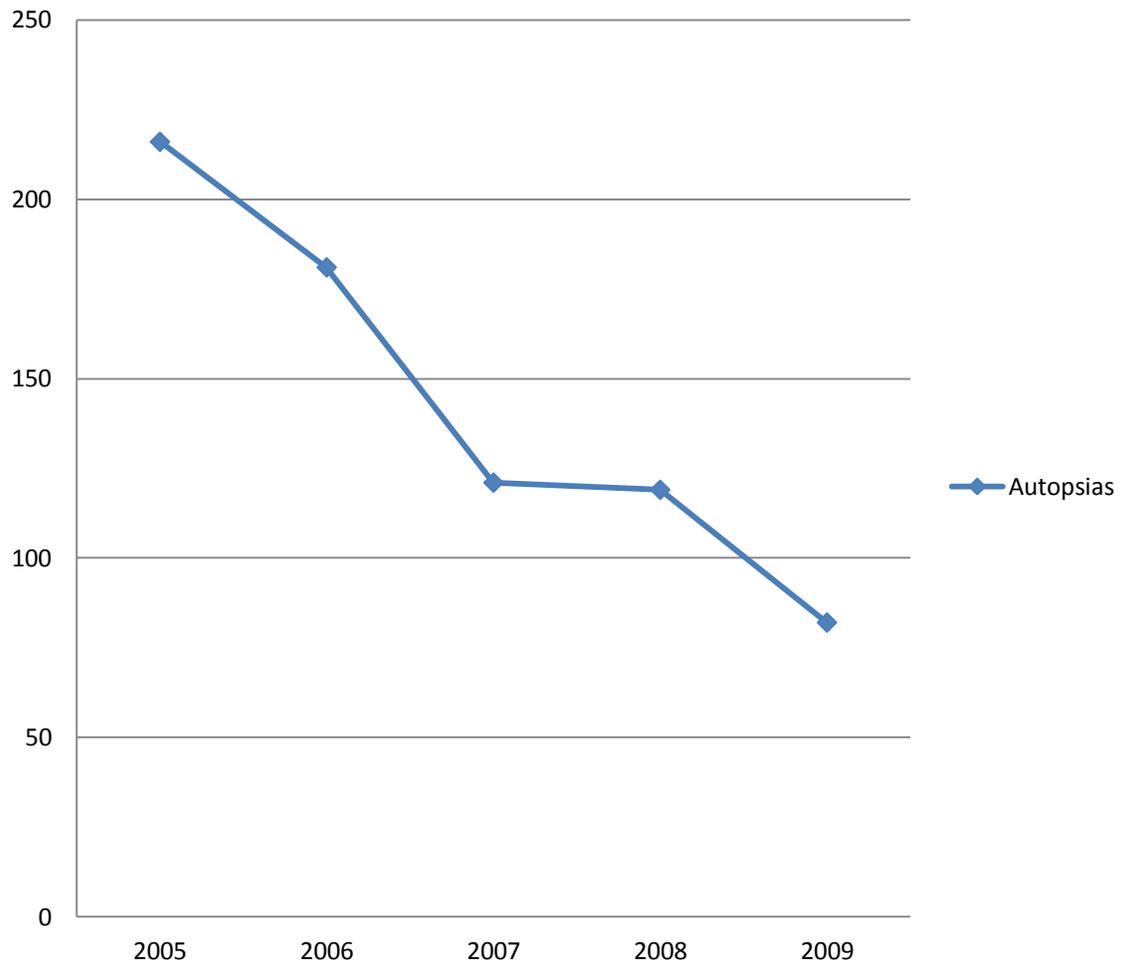
### Anexo 1. Hoja de recolección de datos clínicos.

		<b>Autopsia N°:</b>
<b>Sexo:</b>	<b>Edad:</b>	
<b>Ocupación:</b>	<b>Procedencia:</b>	<b>VIH:</b>
<b>Clínica:</b>		
<b>Hábito tabáquico:</b>		
<b>Patologías asociadas:</b>		
<b>Anemia (OMS. Hombres: &lt; 13 g/dL, Mujeres: &lt; 12 g/dL, Niños hasta 6 años &lt; 11 g/dL, Niños 6 a 14 años &lt; 12 g/dL):</b>		
<b>Leucocitos (VN: 6000 a 10000 leucocitos/mm<sup>3</sup>):</b>		
<b>Eosinófilos (VN 20 a 350 eosinófilos/mm<sup>3</sup>):</b>		
<b>Plaquetopenia (VN: 150000 a 350000 plaquetas/mm<sup>3</sup>):</b>		
<b>LDH (VN: 200 a 680 U/ml):</b>		
<b>Pruebas Auxiliares:</b>		
<b>Diagnóstico Principal de Solicitud de Autopsia:</b>		

## Anexo 2. Hoja de recolección de datos morfológicos.

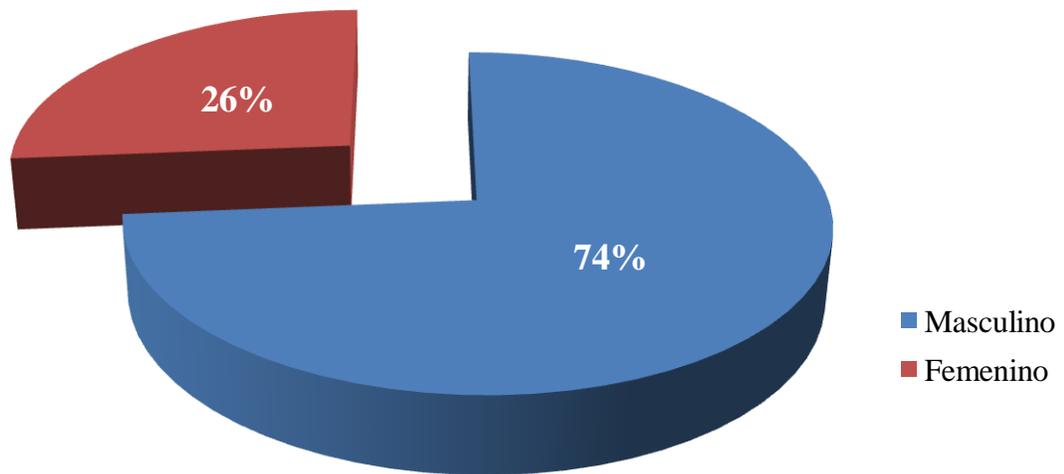
<b>Granulomas</b>	Bien conformados	Mal constituidos	Necrotizante	No necrotizante	Ausente				
<b>Granulomas con necrosis en empalizada</b>	Múltiples	Escasos	Ausentes						
<b>Células gigantes multinucleadas</b>	Abundantes	Moderadas	Escasas	Langhans	Cuerpo extraño	Touton	Ausentes		
<b>Infiltrado nodular (microabscesos)</b>	Único	Múltiple	Focal	No focal	Bien definido	Mal definido	Ausente		
	Linfocitos	Eosinófilos	Neutrófilos	Fibrosis					
<b>Infiltrado linfohistiocítico</b>	Prominente	Escaso	Ausente						
<b>Necrosis del parénquima</b>	Evidente	inconspicua	Focal	No focal	Ausente				
<b>Lipoproteínosis alveolar</b>	Leve	Moderada	Severa	Ausente					
<b>Daño Alveolar Difuso</b>	Leve	Moderada	Severa	Ausente					
<b>Bronconeumonía</b>	Leve	Moderada	Severa	Ausente					
<b>Enfisema centroacinar</b>	Leve	Moderado	Severo	Ausente					
<b>Vasculitis</b>	Leve	Moderada	Severa	Ausente					
<b>Calcificaciones</b>	En relación con necrosis	Sin relación con necrosis	Distróficas	Cuerpos de Psamoma	Ausentes				
<b>Grocott</b>	Positivo débil	Positivo moderado	Positivo fuerte	Visualización intravascular del hongo	Negativo	No realizado			
<b>Ziehl-Neelsen</b>	Positivo débil	Positivo moderado	Positivo fuerte	Negativo	No realizado				
<b>PAS</b>	Positivo débil	Positivo moderado	Positivo fuerte	Negativo	No realizado				
<b>Cultivo</b>	No reportado								
<b>Otros</b>									

**Figura 1.** Distribución por año del número de autopsias.



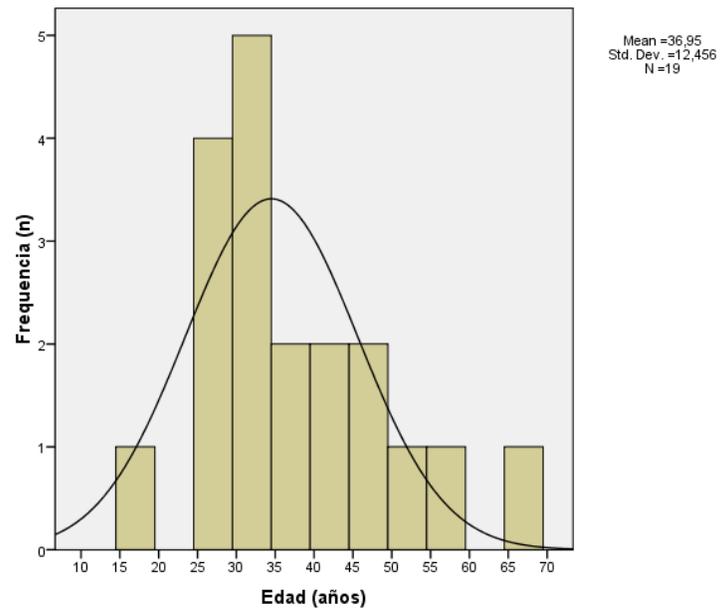
**Fuente:** Libro de autopsias. IAP-UCV.

**Figura 2.** Distribución por sexo de los pacientes evaluados.



**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

**Figura 3.** Distribución por grupos de edad de los pacientes evaluados.



**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

**Cuadro 1.** Distribución por sexo y grupos de edad (años) de los pacientes evaluados.

		<b>Sexo</b>			
			<b>Masculino</b>	<b>Femenino</b>	<b>Total</b>
<b>Grupos de Edad</b>	<b>&lt;35 años</b>	N	<b>9</b>	1	10
		% del total general	<b>47,4%</b>	5,3%	52,6%
	<b>35 a 50 años</b>	N	4	2	6
		% del total general	21,1%	10,5%	31,6%
	<b>&gt;50 años</b>	N	1	2	3
		% del total general	5,3%	10,5%	15,8%
<b>Total</b>		N	14	5	19

$\chi^2=4,044$ ;  $p=0,132$ .

**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

**Cuadro 2.** Ocupación de los pacientes evaluados.

Ocupación	n	%
Chofer	3	15,8
Desempleado	2	10,5
Administrador	1	5,3
Camarera de Hospital	1	5,3
Comerciante	1	5,3
Diseño de cocinas	1	5,3
Estudiante	1	5,3
Oficios del Hogar	1	5,3
No consignada	8	42,1
Total	19	100,0

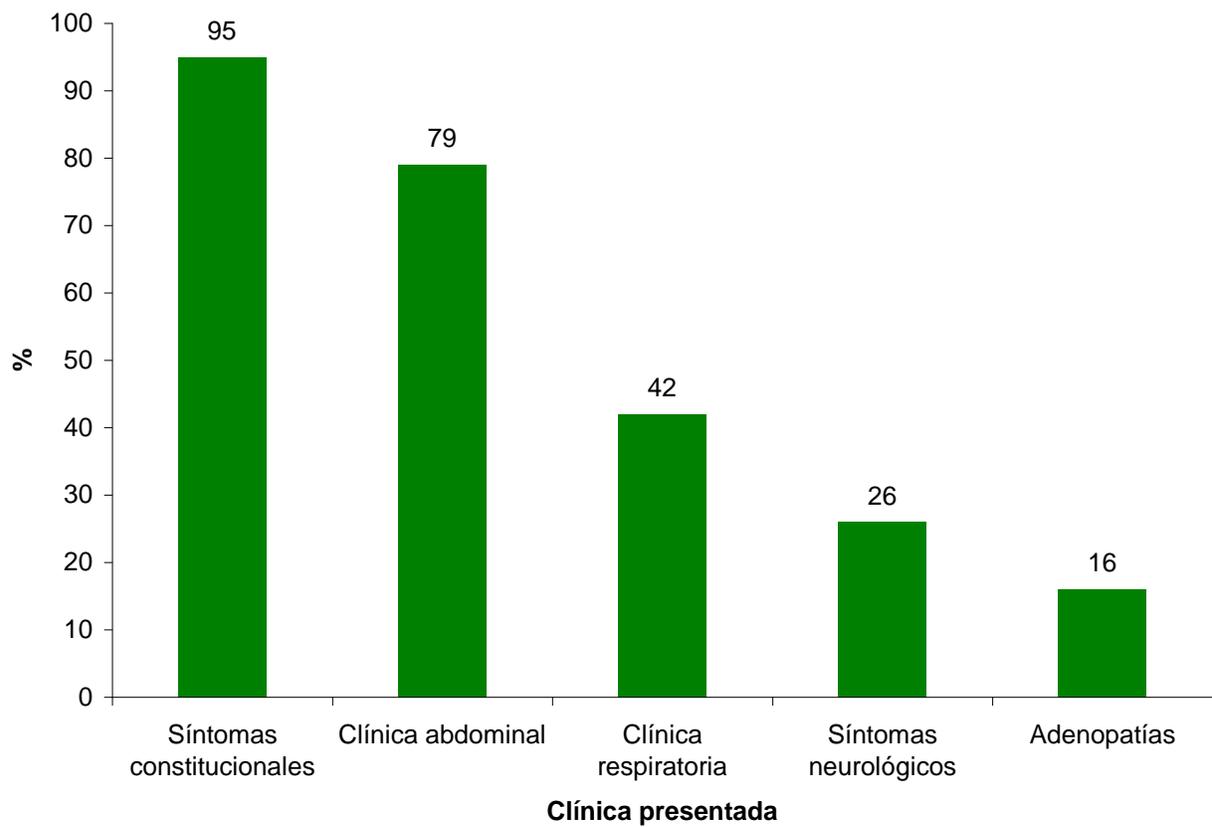
**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

**Cuadro 3.** Procedencia de los pacientes evaluados.

<b>Procedencia</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Distrito Capital	10	52,6
Miranda	1	5,3
Vargas	1	5,3
No consignada	7	36,8
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>100,0</b>

**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

**Figura 4.** Frecuencia relativa (%) de la clínica presentada por los pacientes evaluados

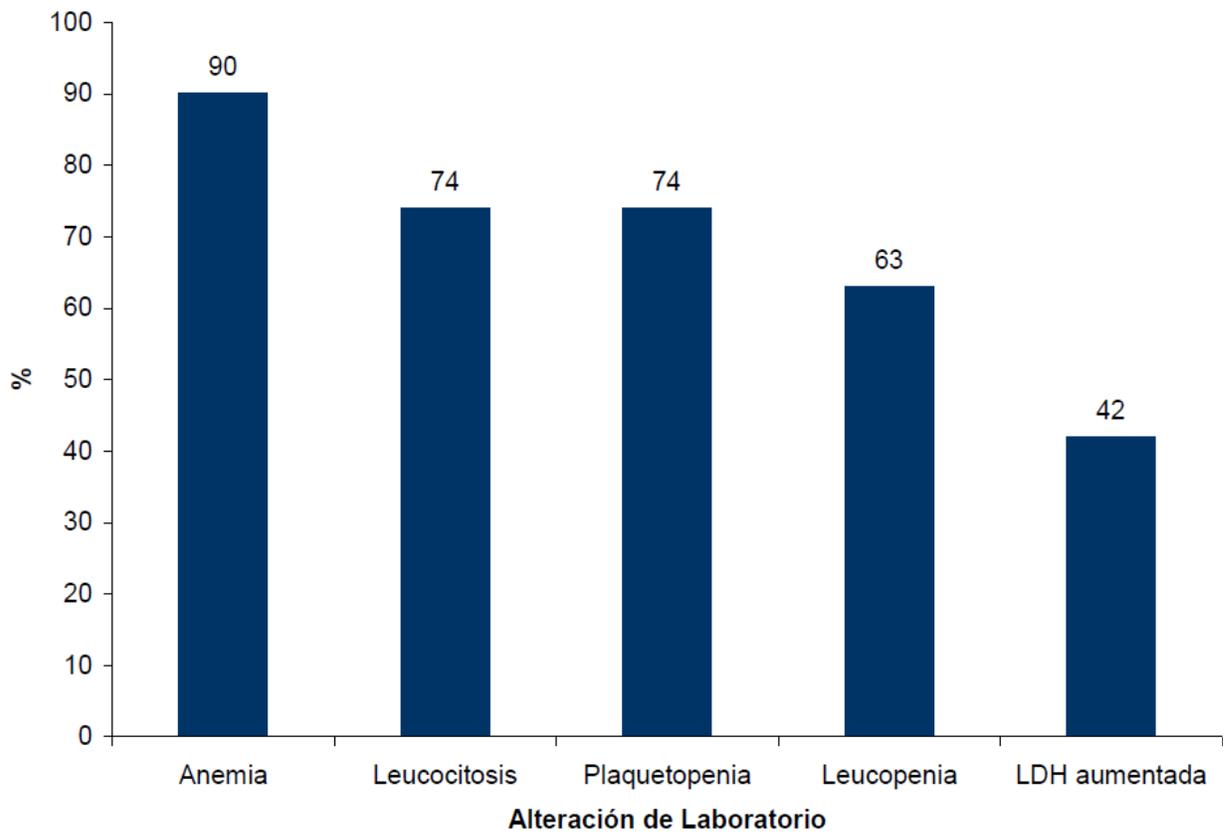


**Cuadro 4.** Antecedentes de importancia en los pacientes evaluados.

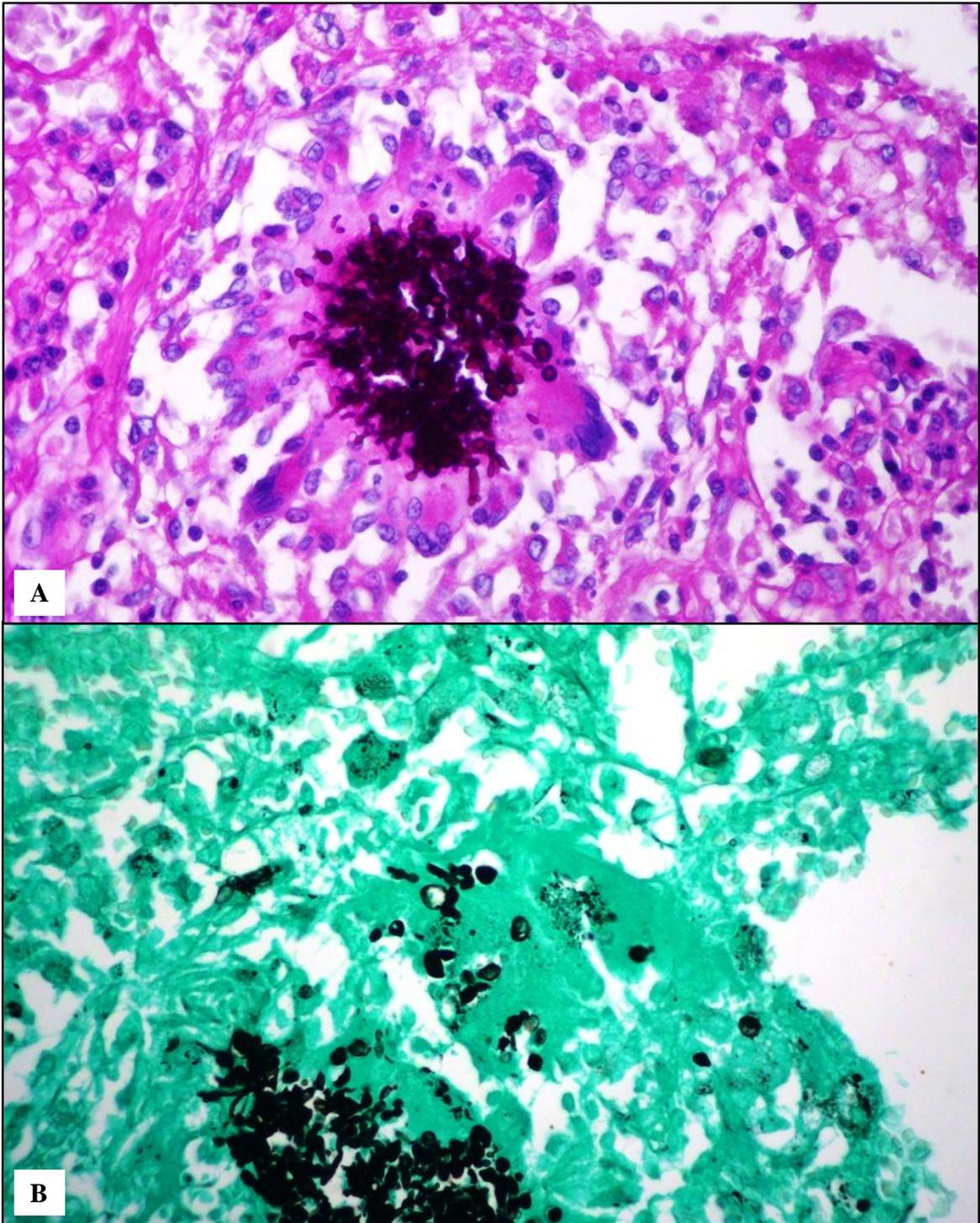
<b>Antecedentes</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Tuberculosis	4	21,1
Drogas ilícitas	3	15,8
Hipertensión	2	10,5
Alcohol	1	5,3
Bocio, Hipertensión	1	5,3
Diabetes tipo I	1	5,3
Esclerodermia y fibrosis pulmonar	1	5,3
Exposición a desechos contaminados	1	5,3
Pancreatitis	1	5,3
Ausentes	4	21,1
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>100,0</b>

**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

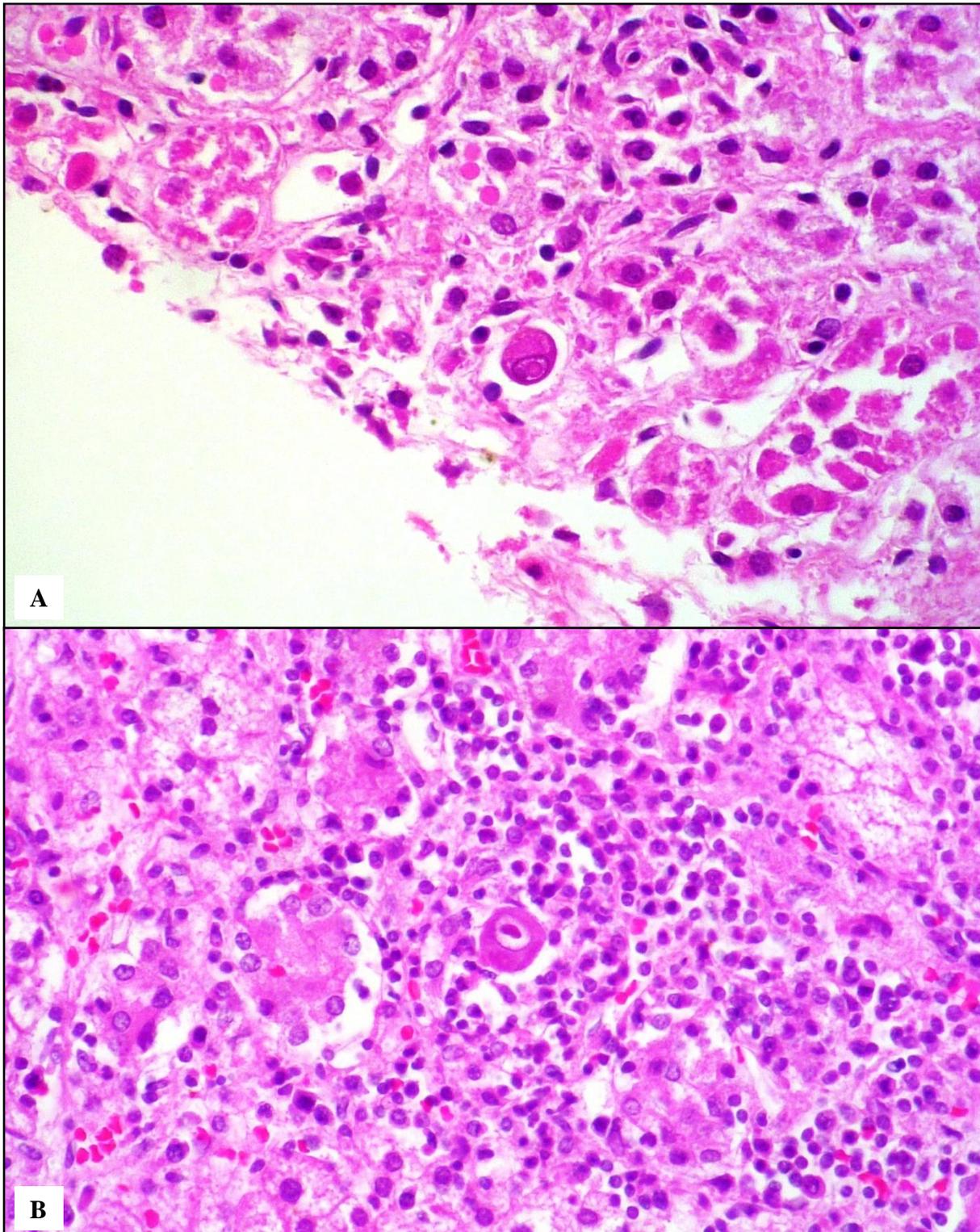
**Figura 5.** Frecuencia relativa (%) de las alteraciones de laboratorio presentadas por los pacientes evaluados.



**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.



**Figura 6.** Histoplasmosis pulmonar asociada a infección por *Candida*. **A)** PAS 40x. **B)** Grocott 40x.



**Figura 7. A) B)** Infección por citomegalovirus (centro) asociada a histoplasmosis  
Hematoxilina-Eosina 40x.

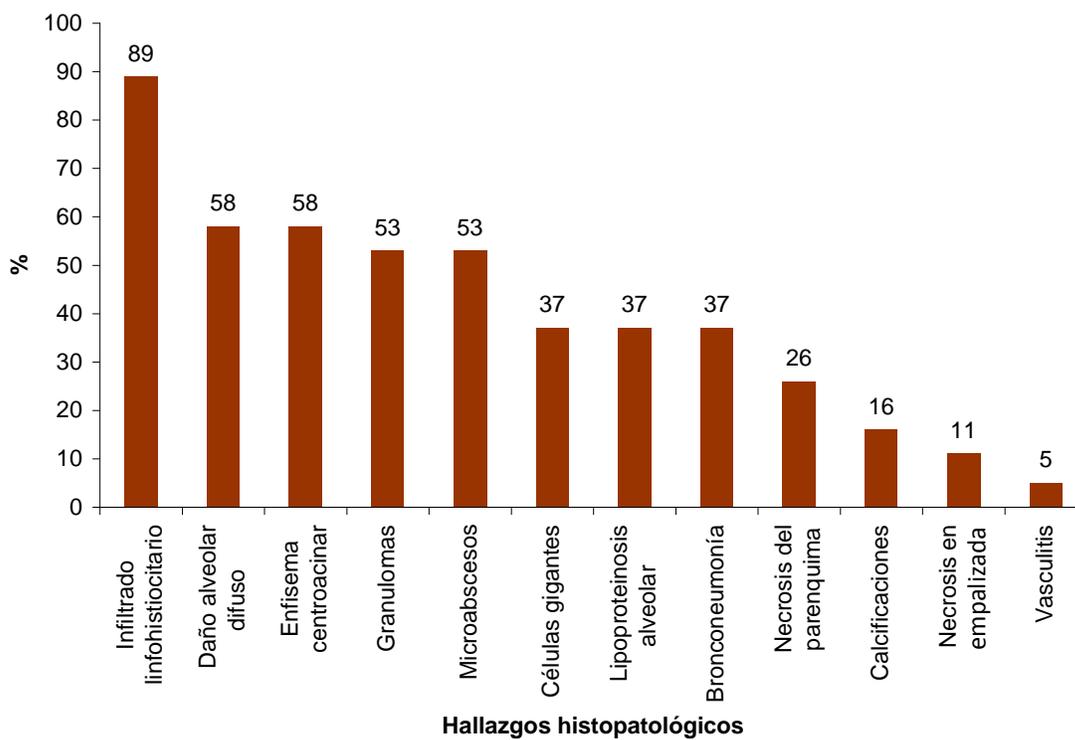
**Cuadro 5.** Severidad, frecuencia relativa y relación con el virus VIH/SIDA del infiltrado linfocitocitario pulmonar en los pacientes evaluados.

<b>Severidad</b>	<b>n*</b>	<b>%</b>	<b>VIH/SIDA</b>
<b>Leve</b>	1	5%	1
<b>Moderado</b>	4	21%	3
<b>Severo</b>	11	58%	7
<b>Ausente</b>	2	11%	2

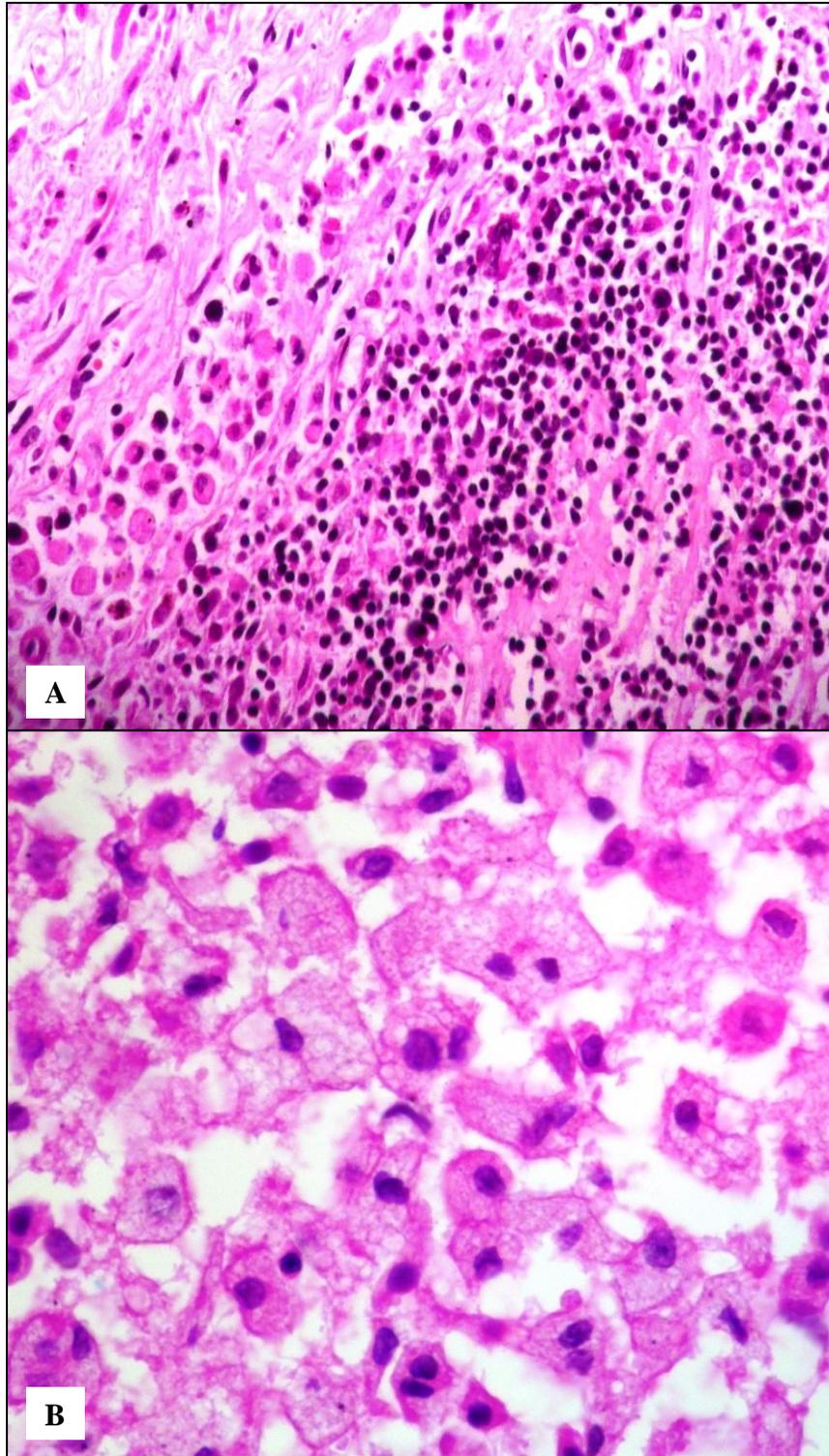
\*Un caso fue nodular

**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

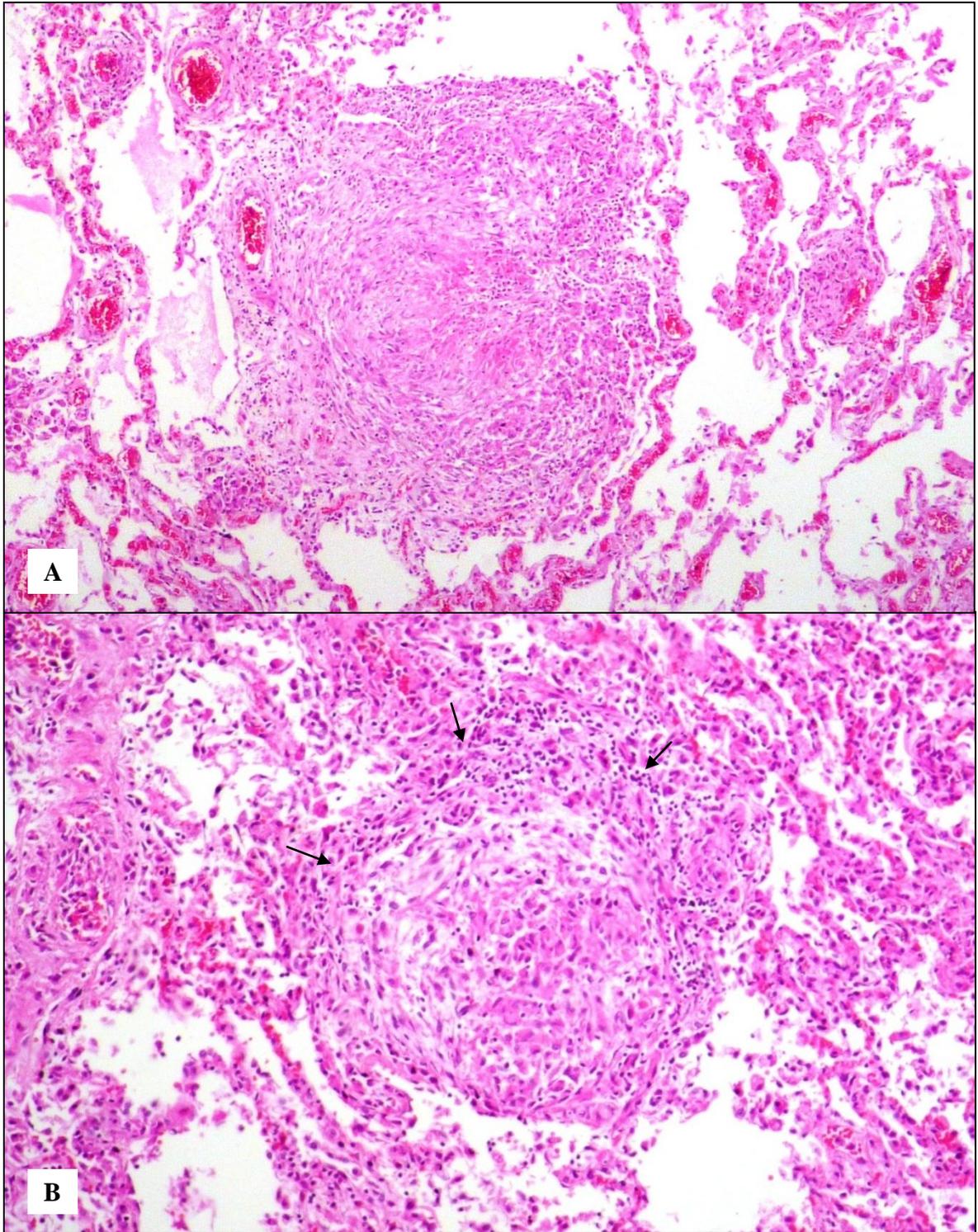
**Figura 8.** Frecuencia relativa (%) de los principales hallazgos histopatológicos encontrados en los pacientes evaluados.



**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.



**Figura 9.** A) Infiltrado linfohistiocitario. Hematoxilina-Eosina 10x. B) Abundantes histiocitos espumosos. Hematoxilina-Eosina 40x.

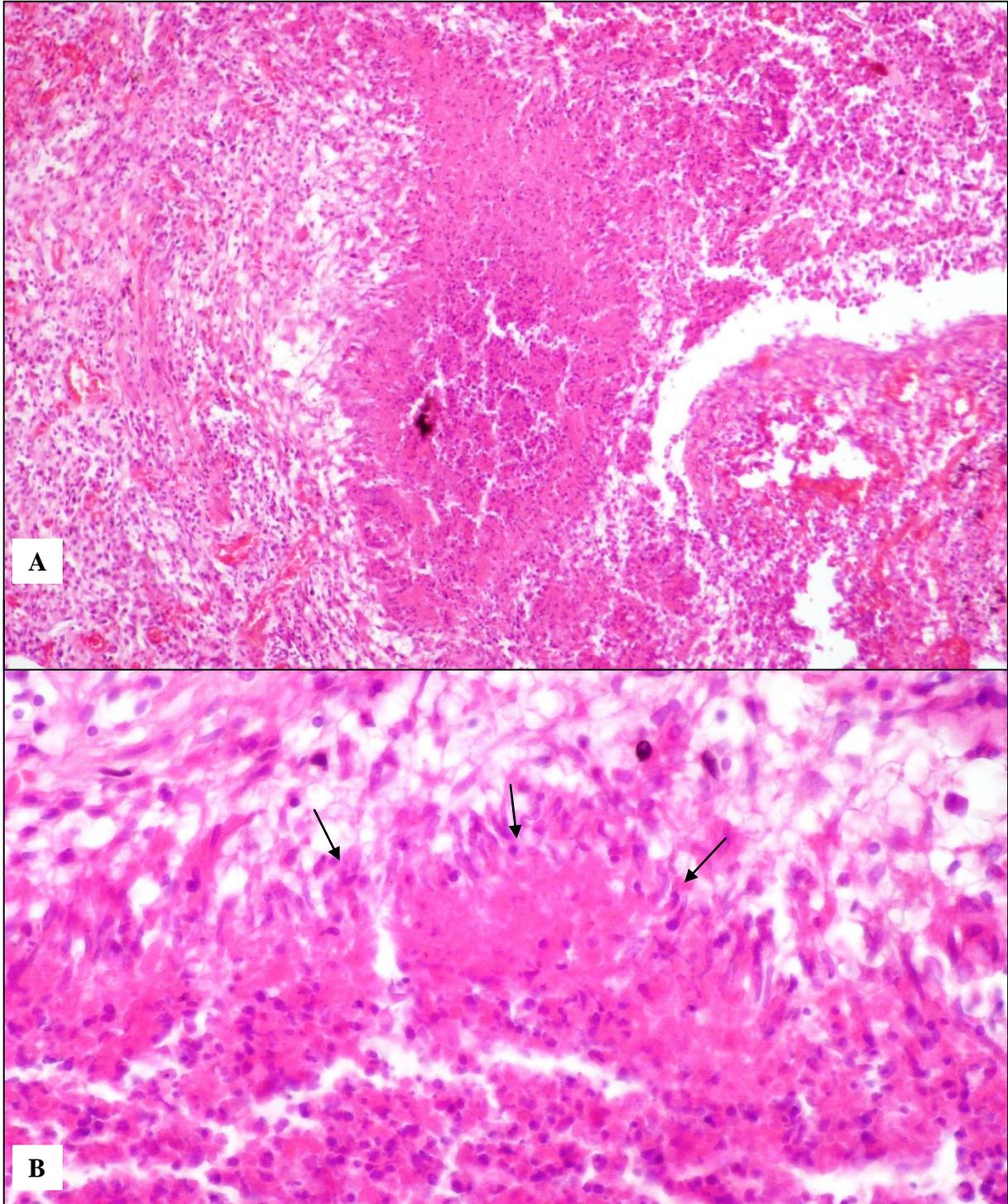


**Figura 10.** A) Granuloma en el parénquima pulmonar. Hematoxilina-Eosina 4x. B) Granuloma pulmonar bien constituido. Nótese la corona de linfocitos (flechas) rodeando células epiteloides en el centro. Hematoxilina-Eosina 10x.

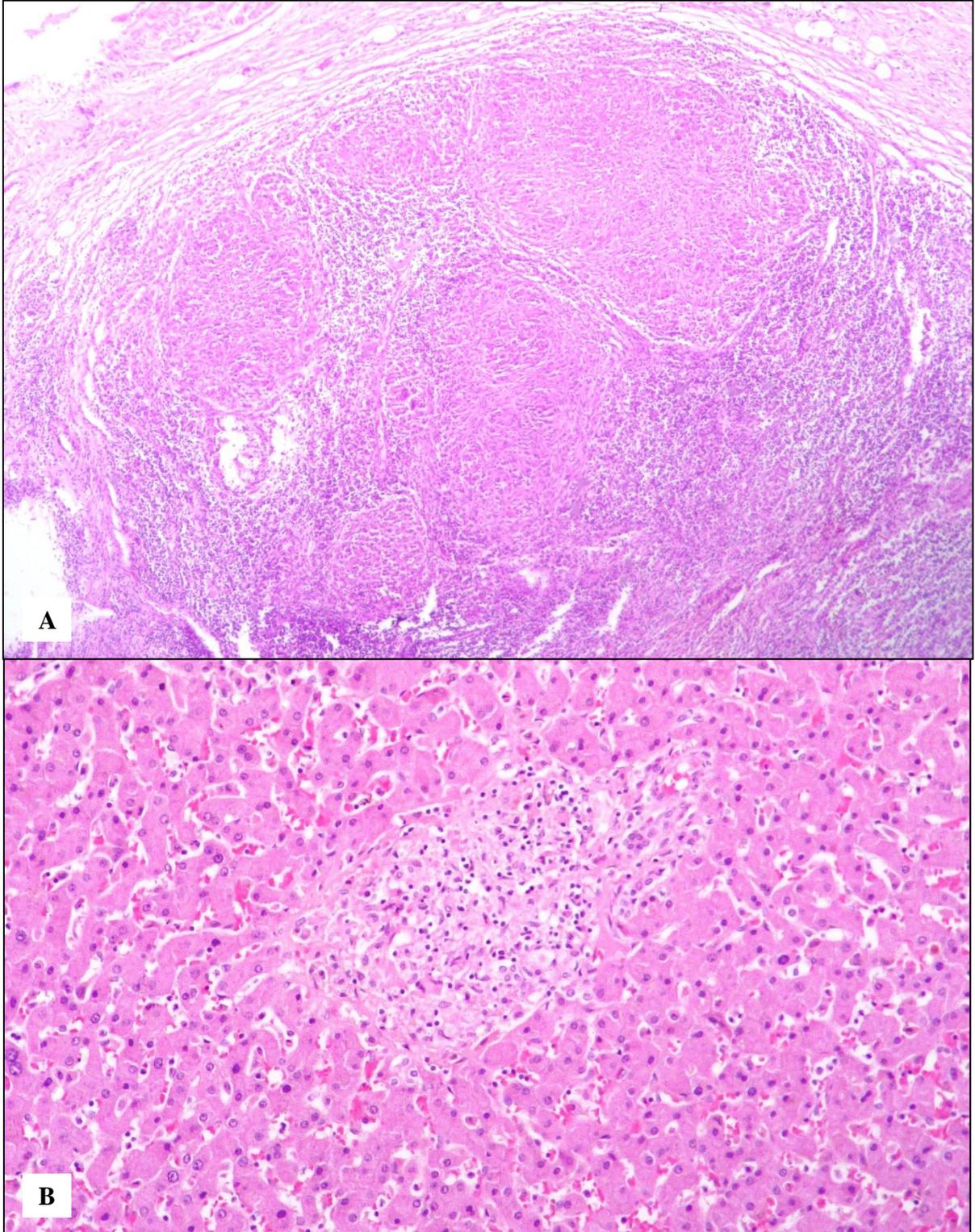
**Cuadro 6.** Frecuencia relativa y relación con el virus VIH/SIDA de los granulomas pulmonares en los pacientes evaluados.

Granulomas	Necrotizantes		No necrotizantes		Mixtos	
	n	VIH/SIDA	n	VIH/SIDA	n	VIH/SIDA
Bien conformados	1	1	1	1	0	0
Mal constituidos	4	3	3	3	1	1
<b>Total</b>	5	4	4	4	1	1

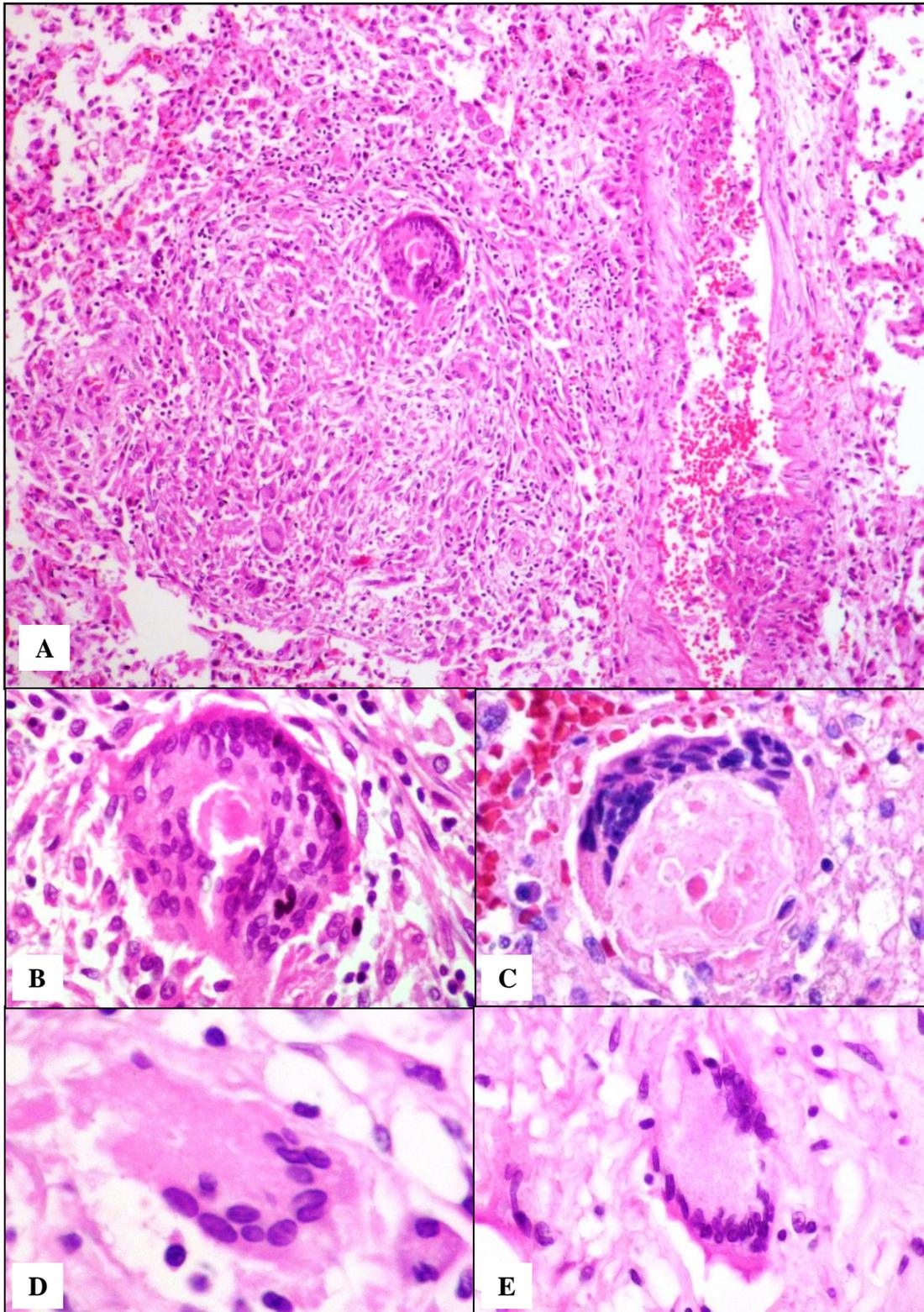
**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.



**Figura 11.** Pulmón. **A)** Granuloma con necrosis en empalizada. Hematoxilina-Eosina 10x. **B)** Detalle de la empalizada de histiocitos (flechas). Hematoxilina-Eosina 40x.



**Figura 12. A)** Ganglio linfático peribronquial con presencia de abundantes granulomas necrotizantes. Hematoxilina-Eosina 4x. **B)** Hígado con presencia de granuloma no necrotizante. Hematoxilina-Eosina 10x.

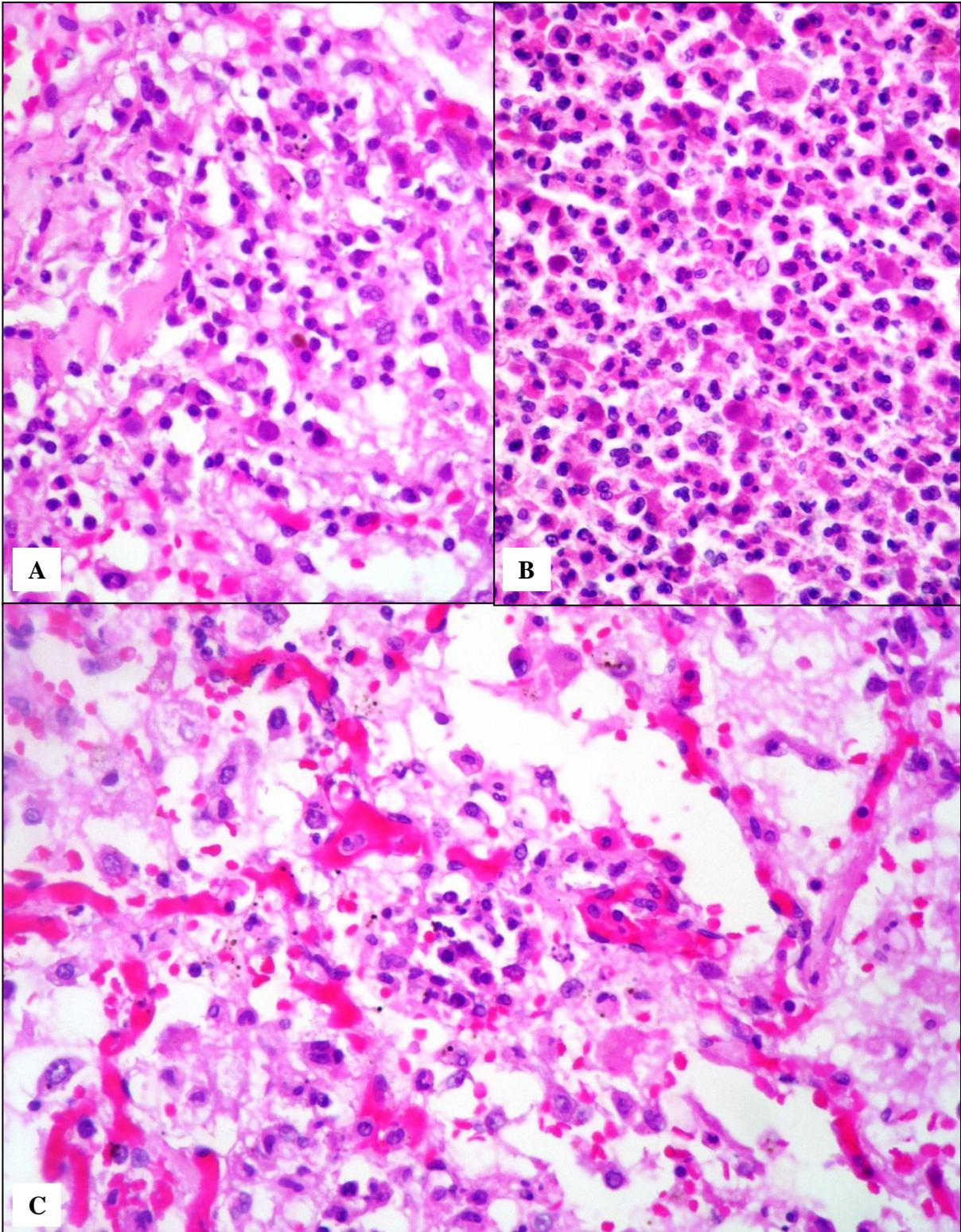


**Figura 13.** A) Granuloma pulmonar. Nótese la presencia de células gigantes. Hematoxilina-Eosina 4x. B) C) D) E) Células gigantes multinucleadas observadas en el contexto de infección por *Histoplasma capsulatum*. Hematoxilina-Eosina. 40x.

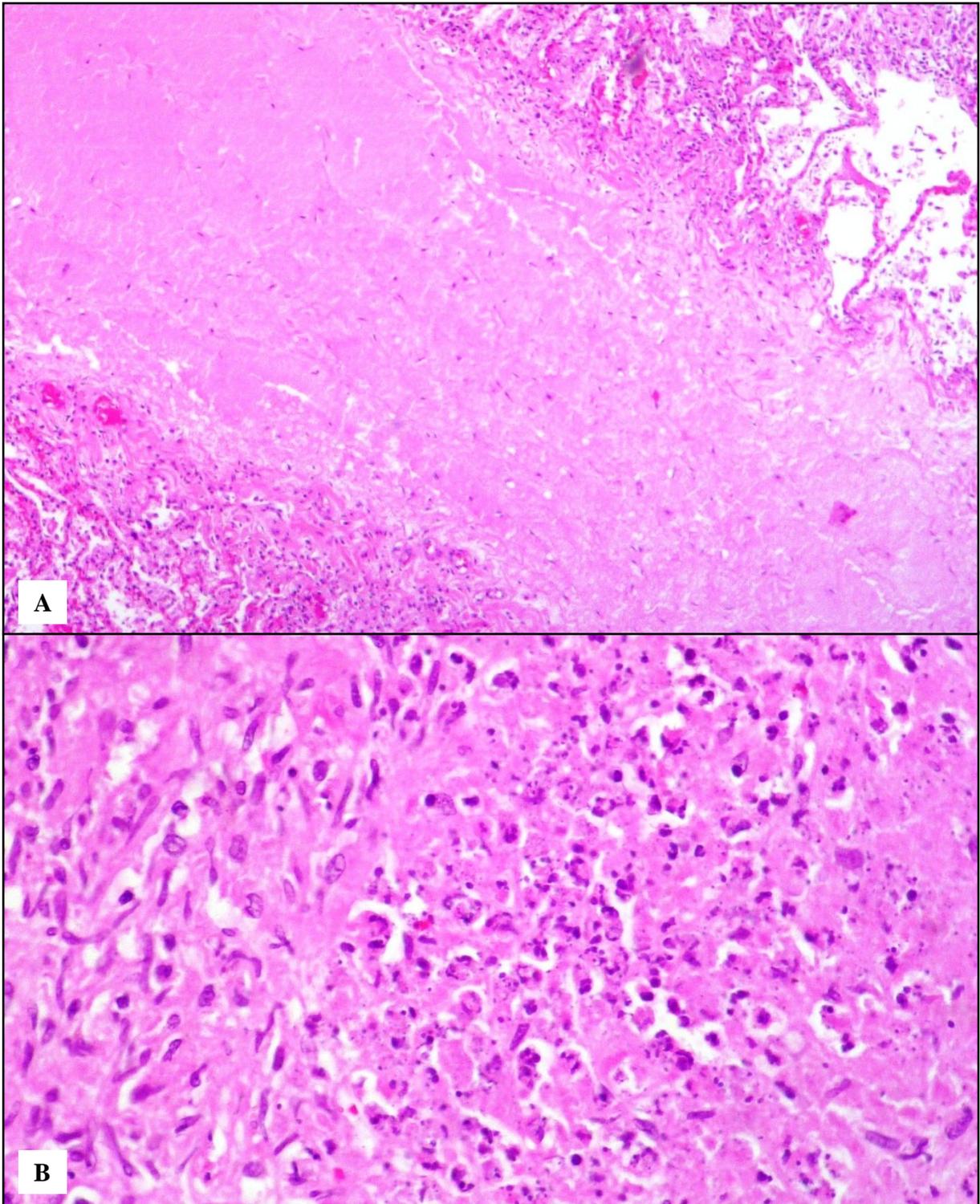
**Cuadro 7.** Disposición, frecuencia relativa y relación con el virus VIH/SIDA de los microabscesos pulmonares en los pacientes evaluados.

<b>Disposición</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>VIH/SIDA</b>
<b>Múltiples</b>	6	32	4
<b>Focales</b>	4	21	1
<b>Ausentes</b>	9	47	8

**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.



**Figura 14.** A) B) C) Microabscesos en el parénquima pulmonar. Hematoxilina-Eosina 40x.

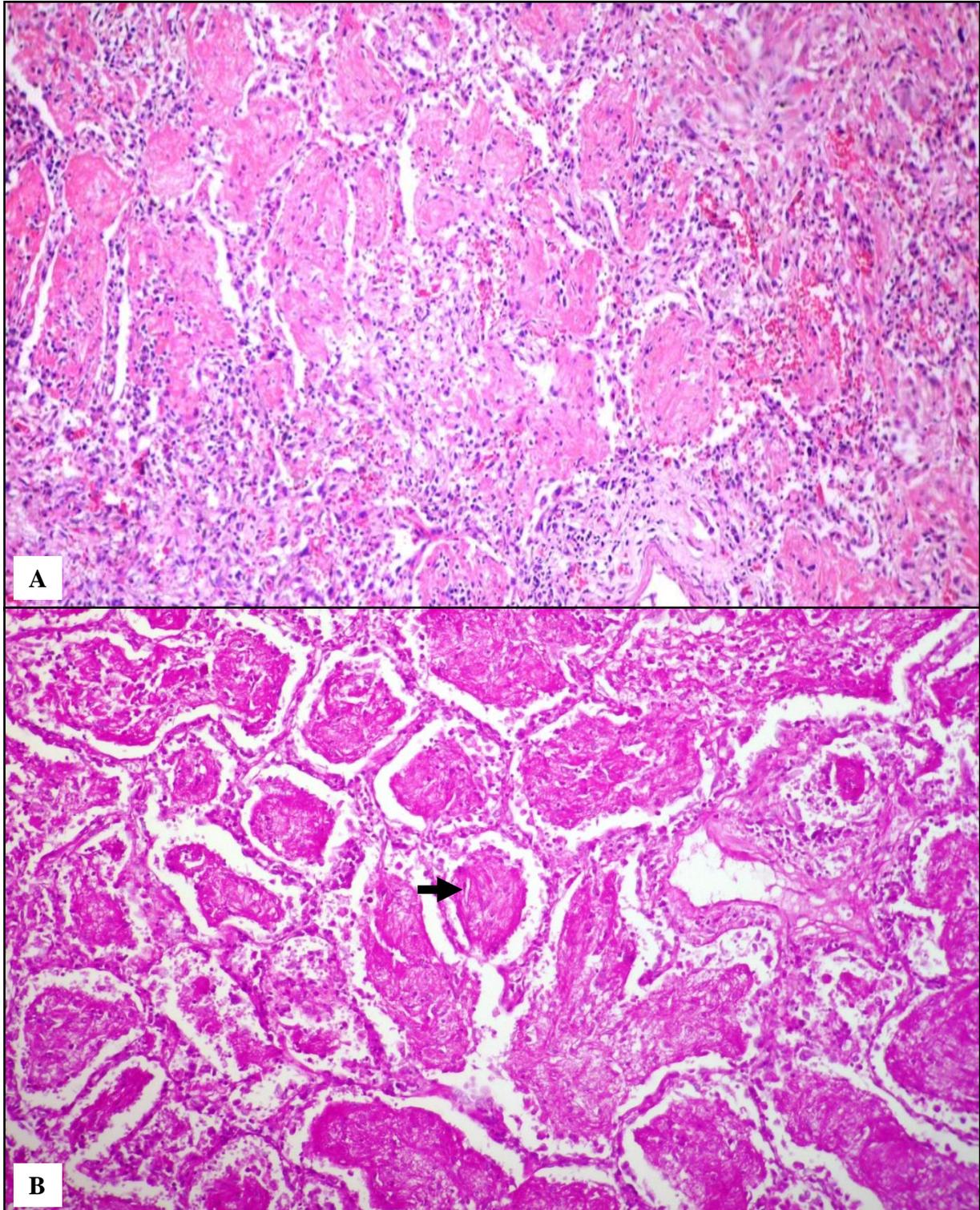


**Figura 15. A)** Necrosis extensa del parénquima pulmonar. Hematoxilina-Eosina 4x. **B)** Necrosis focal. Hematoxilina-Eosina. 40x.

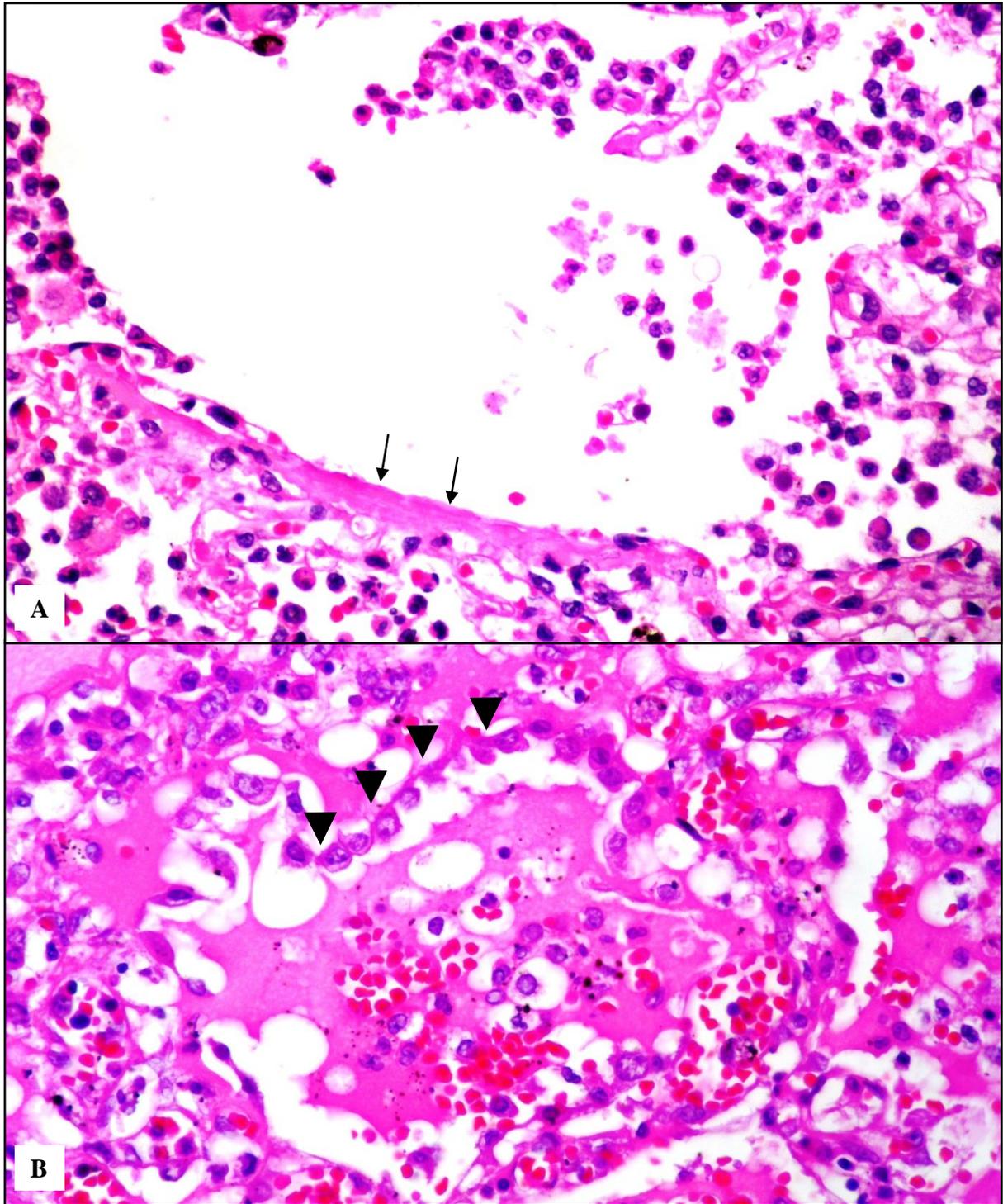
**Cuadro 8.** Lipoproteinosis alveolar y daño alveolar difuso, severidad y frecuencia relativa en los pacientes evaluados.

<b>Severidad</b>	<b>Lipoproteinosis alveolar</b>		<b>Daño alveolar difuso</b>	
	n	%	n	%
<b>Severa</b>	3	16	3	16
<b>Moderada</b>	2	11	8	42
<b>Leve</b>	2	11	0	0
<b>Ausente</b>	12	63	8	42

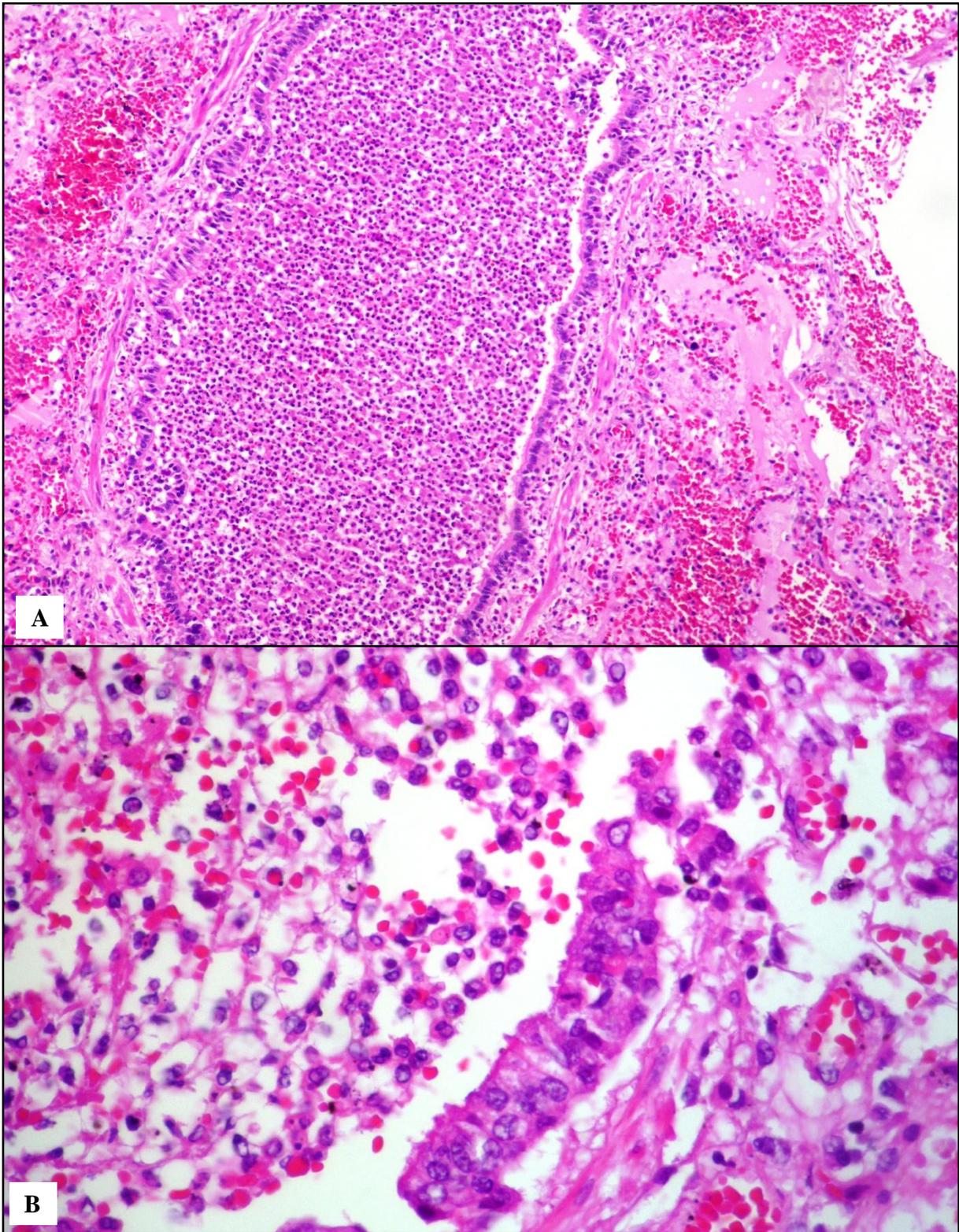
**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.



**Figura 16.** Histoplasmosis con patrón de lipoproteinosis alveolar. **A)** Hematoxilina-Eosina 10x. **B)** Se aprecian espacios ópticamente vacíos en el material proteináceo (flecha). PAS 10x.

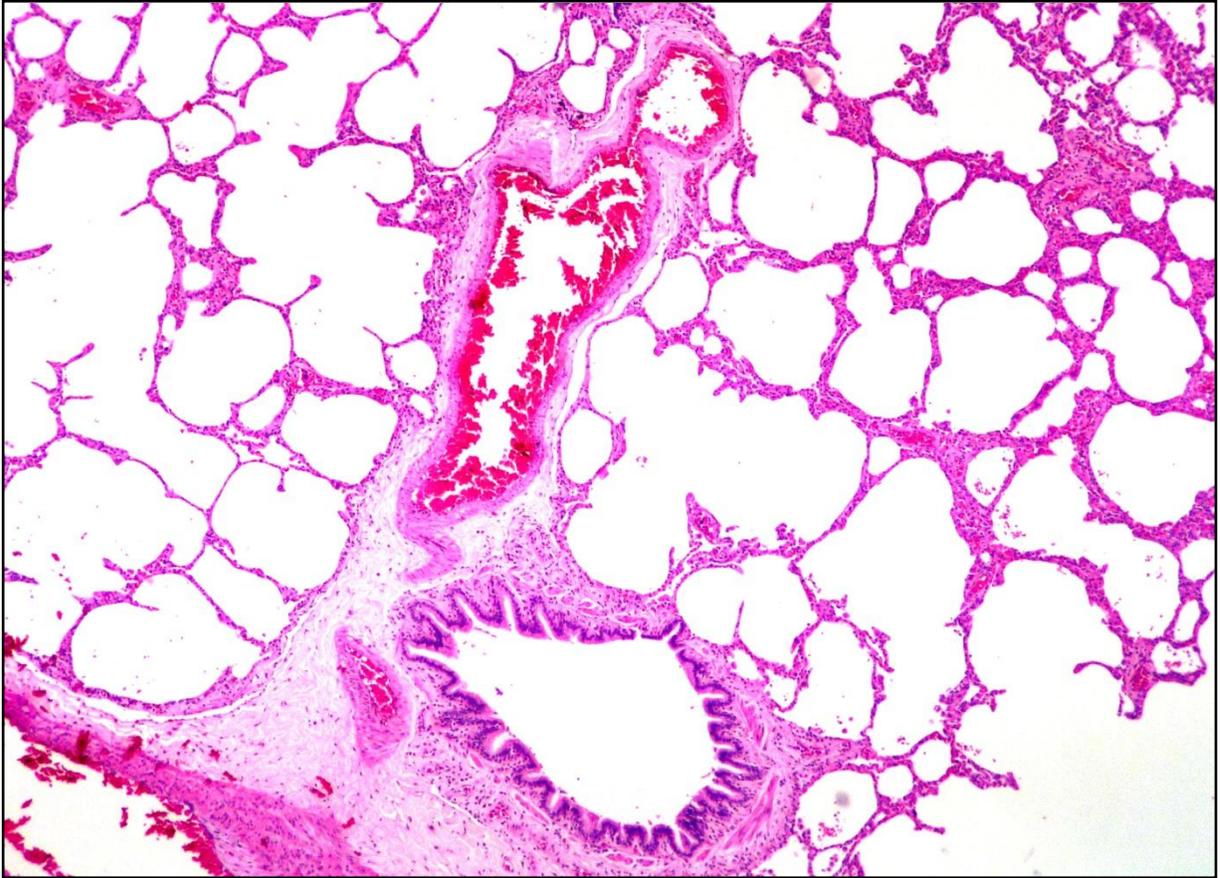


**Figura 17.** Histoplasmosis con patrón de daño alveolar difuso. **A)** Presencia de membrana hialina (flechas). Hematoxilina-Eosina 40x. **B)** Hiperplasia de neumocitos tipo II (puntas de flechas). Hematoxilina-Eosina 40x.

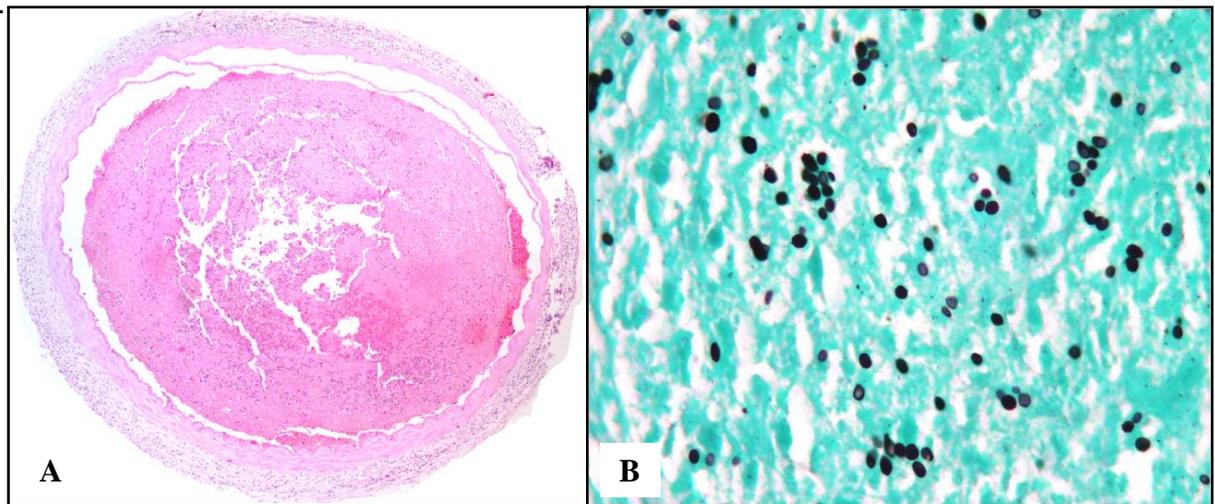


**Figura 18.** Histoplasmosis con patrón de bronconeumonía. **A)** Hematoxilina-Eosina 10x.

**B)** Hematoxilina-Eosina 40x.



**Figura 19.** Histoplasmosis con presencia de enfisema centroacinar. Hematoxilina-Eosina 4x.

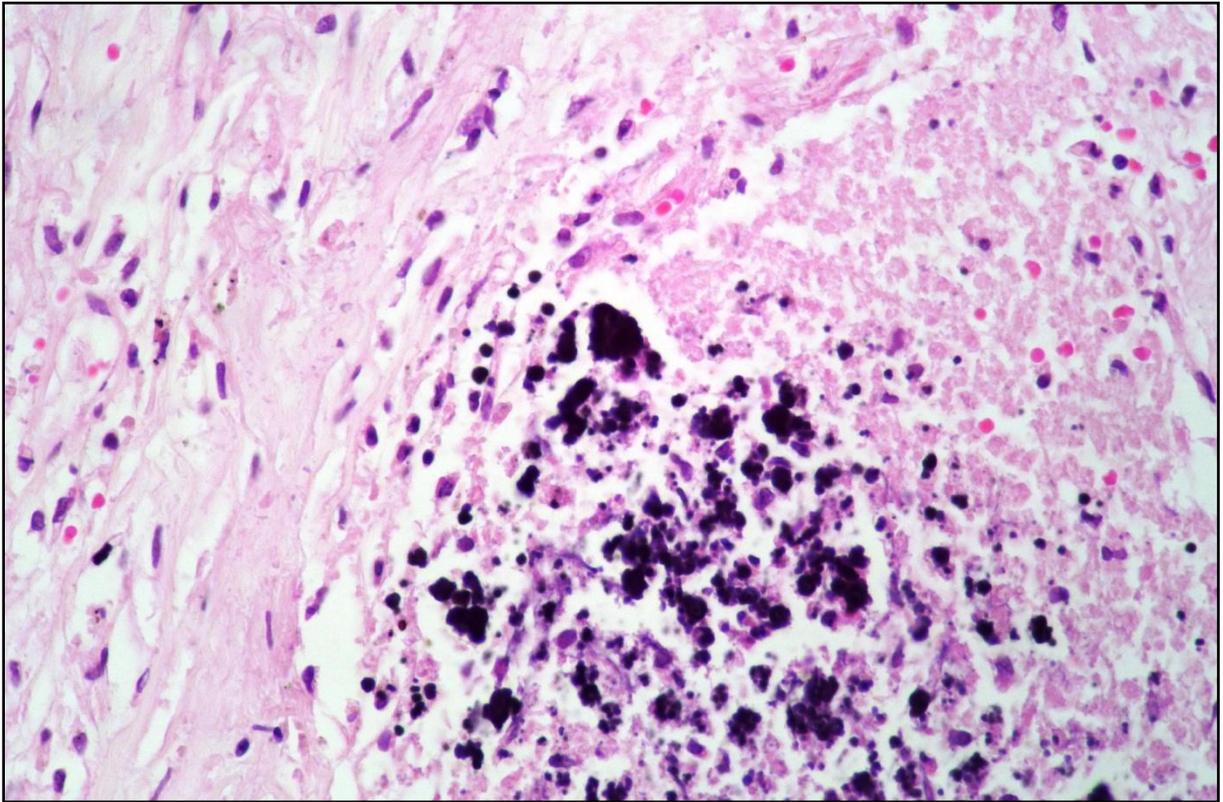


**Figura 20.** A) Trombosis secundaria a infección por *Histoplasma capsulatum*. Hematoxilina-Eosina 4x. B) Se evidencia la presencia del hongo. Impregnación de plata de Grocott 100x.

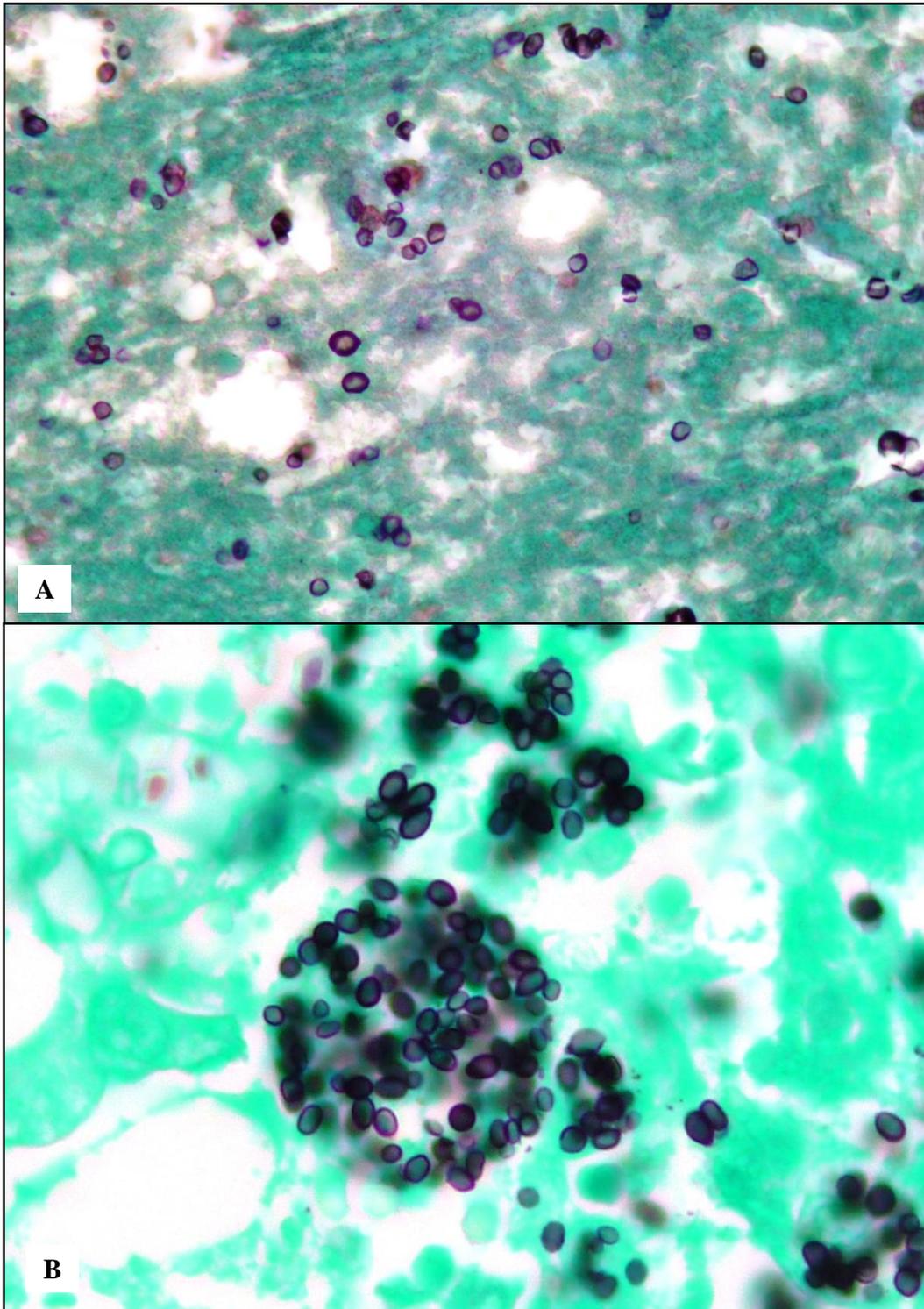
**Cuadro 9.** Calcificaciones, frecuencia relativa en los pacientes evaluados.

	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Presentes</b>	3	16
<b>Ausentes</b>	16	84

**Fuente:** Protocolos de autopsia. Archivo IAP-UCV.

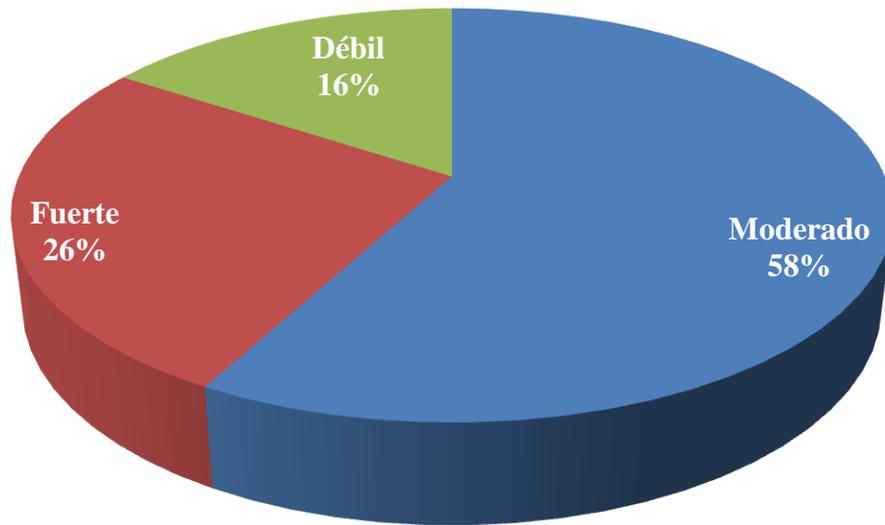


**Figura 21.** Calcificaciones en relación a necrosis central de un granuloma. Hematoxilina-Eosina 40x.



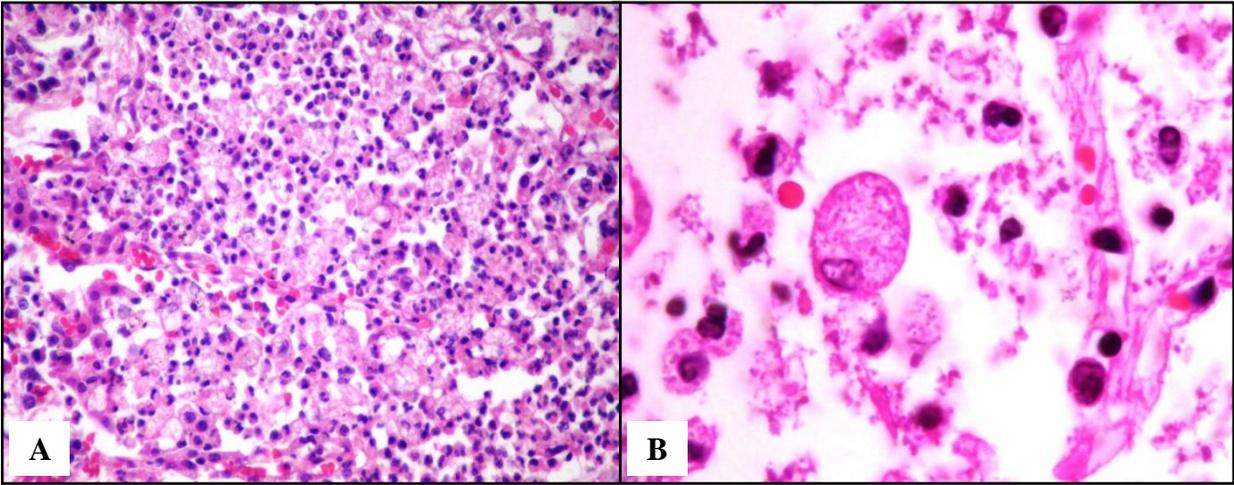
**Figura 22.** Histoplasmosis. **A) B)** Se observan levaduras de pequeño tamaño, ovals, uniformes. Impregnación argéntica de Grocott (100x).

**Figura 23.** Resultados del Grocott en los pacientes evaluados.

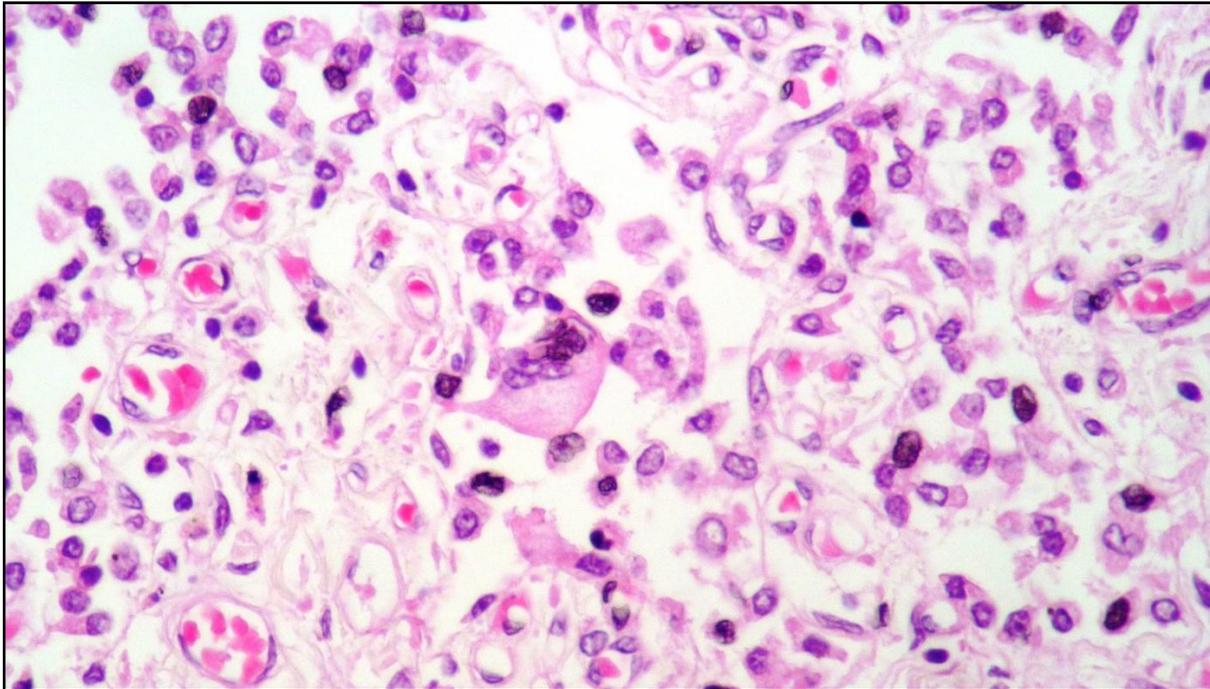


**Figura 24.** Resultados del PAS en los pacientes evaluados.





**Figura 25.** A) Histoplasmosis diseminada. Presencia de múltiples histiocitos intraalveolares, asociados a infiltrado inflamatorio mixto. Hematoxilina-Eosina 10x. B) Se observan múltiples histoplasmas en el citoplasma de un macrófago alveolar. PAS 40x



**Figura 26.** Histoplasmosis diseminada en un paciente con antecedente de esclerodermia y fibrosis pulmonar. Infiltrado linfohistiocitario con presencia de células gigantes (centro). Hematoxilina-Eosina 40x.

**Cuadro 10.** Comparación de hallazgos demográficos, micológicos y clínicos.

		<b>Lubo, Ramírez (2013)</b>	<b>Mata (2008)</b>	<b>Garrido (2006)</b>
		<b>19 autopsias</b>	<b>158 casos de consulta</b>	<b>4 casos con EPID*</b>
<b>Sexo</b>	Masculino	14 (74%)	116 (73,4%)	3 (75%)
	Femenino	5 (26%)	42 (26,6%)	1 (25%)
<b>Edad</b>	Media	36,95±12,45	32,3±20,2	-
	Rango	17 – 66 años	15d – 83 años	3m – 70 años
<b>Procedencia de área urbana</b>		10 (53%)	103 (65,2%)	3 (75%)
<b>Ocupación conocida</b>	Chofer	3 (15,8%)	-	-
	Oficina	1 (5,3%)	23 (28%)	1 (25%)
	Ama de casa	1 (5,3%)	14 (17,1%)	1 (25%)
	Agricultura	-	14 (17,1%)	-
	Construcción	-	14(17,1%)	-
	Desempleado	2 (10,5%)	N/A	-
	Otros	4 (21%)	18 (22%)	2 (50%)
<b>Ocupación desconocida</b>		8 (42,1%)	76 (48,1%)	-
<b>Hábito tabáquico</b>		8 (42%)	17 (10,8%)	1 (25%)
<b>Grocott (positivo)</b>		19/19 (100%)	27/27 (100%)	4/4 (100%)
<b>Síntomas constitucionales</b>		18 (95%)	152 (96,2%)	4 (100%)
<b>Síntomas abdominales</b>		15 (79%)	9 (5,7%)	1 (25%)
<b>Síntomas respiratorios</b>		8 (42 %)	99 (62,66%)	4 (100%)

\*EPID: Enfermedad Intersticial Pulmonar Difusa