

HISTOPLASMOSE: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Rejane da Silva Xavier

Ciências Biológicas UVA

Pedagogia UFRJ

RESUMO

O presente artigo é uma revisão bibliográfica da doença histoplasmose, tendo como referência a produção científica brasileira contida na base de dados Scielo, do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - INI e da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas. Se propõem a conhecer sobre a histoplasmose quanto às características morfológicas encontradas em laboratório do agente etiológico, patogenia e seus diferentes modos de diagnóstico. A histoplasmose é uma doença causada pelo agente etiológico *Histoplasma capsulatum*, um fungo dimórfico, sistêmico, cosmopolita e endêmico em 93 países do mundo. Foram notificadas três importantes variedades do *Histoplasma capsulatum*: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, e por último *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*. Seu habitat é o solo rico em excretas de morcegos e aves, cavernas, árvores ocas, construções antigas e sótãos. A infecção se dá por inalação, através do trato respiratório, da forma miceliar de *Histoplasma capsulatum* pelo hospedeiro, podendo alcançar os macrófagos, e tem amplo espectro clínico, sendo a mais comum a infecção assintomática. Foram observadas, nas referidas fontes bibliográficas, diferentes metodologias de diagnóstico da histoplasmose. Segundo tais fontes, o diagnóstico clínico pode ser confundido com outras doenças, como tuberculose e resfriado, e o diagnóstico laboratorial microbiológico - cultura apresenta um padrão-ouro, utilizando métodos de coloração como Wright, Giemsa e Grocott, porém há limitações nesta técnica, como reações cruzadas, que afetam seu rendimento.

Palavras-chave: Histoplasmose. *Histoplasma capsulatum*. Micologia

1. INTRODUÇÃO

"[...] que a importância de uma coisa não se mede com fita métrica nem com balanças nem barômetros etc. Que a importância de uma coisa há que ser medida pelo encantamento que a coisa produza em nós."
(Manoel de Barros, 2010)

O interesse em estudar a histoplasmose surgiu no contexto das aulas de micologia do curso de Pós Graduação *Lato Sensu* de Microbiologia Clínica e Laboratorial da Academia de Ciência e Tecnologia. Sendo o percurso deste artigo organizado de modo a informar sobre a histoplasmose quanto a: seu agente etiológico, sua morfologia encontrada em laboratório, a epidemiologia e seus diferentes modos de diagnóstico.

No presente artigo, foi usado como metodologia a revisão de literatura tradicional, analisando a utilização do termo histoplasmose na produção científica brasileira armazenada na base de dados SciELO, com ocorrência de 98 artigos publicados em ordem cronológica, sendo o mais recente de 2022 e o mais antigo de 1945. Após busca pela palavra-chave, foi realizado um levantamento da temática emergente dos 20 primeiros artigos publicados, observando que dos 20 primeiros, 11 fizeram relação da histoplasmose com as palavras: HIV, carcinomas e imunocomprometidos, evidenciando o aparecimento da doença e sua relação como oportunística.

Foi utilizado também os bancos de dados do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas - INI e Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, que após seleção prévia foram escolhidos três artigos dos autores: Cláudia Pizzini (2013), Almeida (2014), Juana Portugal (2019) e Goulart (2008).

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 *Histoplasma capsulatum*

A histoplasmose clássica é uma doença causada por um fungo sistêmico e cosmopolita, “considerado endêmica ou potencialmente endêmica em 93 países do mundo” (PORTUGAL, 2019), que tem como agente etiológico o *Histoplasma capsulatum*, que apresenta afinidade patogênica pelo Sistema Retículo Endotelial

(SRE). A doença é conhecida popularmente como doença de Darling por ter sido descrita pela primeira vez por “Samuel Darling, no Panamá, que entre 1905 e 1906 necropsiou três casos disseminados da doença, dois dos quais provenientes da Ilha de Martinica, onde hoje esta micose é reconhecidamente endêmica.” (PIZZINI, 2013). É conhecida também por Doença das cavernas e Citomicose Retículo Endotelial de Humphrey.

Segundo a pesquisadora do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas- INI Cláudia Pizzini, a espécie *Histoplasma capsulatum* apresenta três variedades distintas:

Com base nas características fenotípicas deste fungo, considera-se que a espécie *Histoplasma capsulatum* engloba três variedades distintas: *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum*, agente da histoplasmose capsulata ou clássica, *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*, agente da histoplasmose africana, ambas variedades heterotáticas, com *mating type* (+) e (-) e que se reproduzem sexualmente para formar o teleomorfo *Ajellomyces capsulatus* e por último *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*, agente etiológico da linfangite epizoótica em cavalos e mulas, que ocorre na Europa, África, Japão e Ásia (CHANDLER *et al.*, 1980; MARESCA; KOBAYASHI, 1989). A variedade *capsulatum* é a de maior importância em nosso meio devido a sua distribuição geográfica, e é responsável pela maioria dos casos de histoplasmose no mundo. (PIZZINI, 2013)

Este organismo é um fungo dimórfico “identificado por várias características morfológicas ou bioquímicas, incluindo a aparência de seus corpos de frutificação.” (HOPKINS, 2017). Em seu dimorfismo, apresenta duas formas morfológicas; uma miceliar (forma saprófita), presente no solo produzindo hifas septadas hialinas e conídios, que crescem em solos úmidos e acidez ideais, com elevados teores de nitrogênio e a uma temperatura de 25 C, a outra é leveduriforme (forma parasitária), presente no hospedeiro. (GOULART, 2008)

A pesquisadora Letícia Goulart (2008), destaca que a forma miceliar do fungo é encontrada principalmente em solos onde há excretas de aves e morcegos, cavernas, árvores ocas, construções antigas e sótãos, além disso, a própria movimentação do solo proporciona o transporte de esporos pelo ar.

Pizzini (2013) explica que os morcegos atuam como “reservatórios do agente do fungo, uma vez que se infectam, abrigam o microrganismo em sua mucosa intestinal, disseminando-o em suas fezes” (PIZZINI, 2013), e as aves são “consideradas carreadoras, podendo disseminá-lo para outros ambientes por meio de seus pés, penas, asas e bicos” (PIZZINI, 2013). A afinidade do microrganismo com fezes desses animais

é devida ao alto teor de ácido úrico encontrado nestas excretas, sendo este componente utilizado como fonte de nitrogênio pelo fungo, imprescindível ao seu crescimento e proliferação.

A referida pesquisadora, Cláudia Pizzini (2013), evidenciou em sua tese de doutorado as formas morfológicas das variantes do histoplasma em ambiente de laboratório:

Em ágar Sabouraud, à temperatura ambiente, o micélio cresce na forma de uma colônia branca aérea. Microscopicamente, o micélio é hialino, ramificado e septado de 2 a 4 μm de diâmetro que contém microconídios, piriformes e de paredes lisas, medindo 2 a 5 μm de diâmetro, assim como macroconídios tuberculados, medindo de 8 a 16 μm de diâmetro e cobertos por projeções espiculadas (PINE, 1960; ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2013)[Fig 1A , 1B]. A 37 °C, *H. capsulatum* var. *capsulatum* apresenta-se como leveduras de 2 a 5 μm de diâmetro, ovaladas que frequentemente apresentam gemulação única (Figura 2A, 2B). Esses elementos leveduriformes podem ser visualizados em parasitismo no interior dos macrófagos ou células gigantes e mais raramente no interior dos polimorfonucleares. (PIZZINI, 2013)

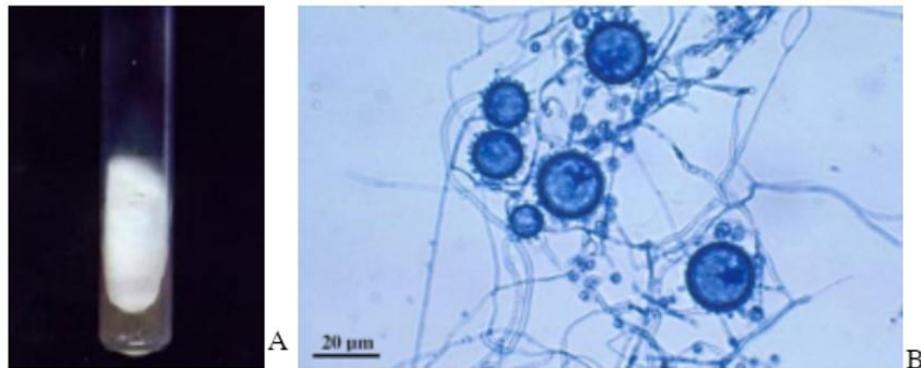


Figura 1: *Histoplasma capsulatum* na forma miceliana: (A) Aspecto macroscópico de cultura a 25 °C com colônias branca, cotonosas (B) Microscopia em lâmina mostrando hifas hialinas, macro e microconídeos. Fonte: PIZZINI, 2013

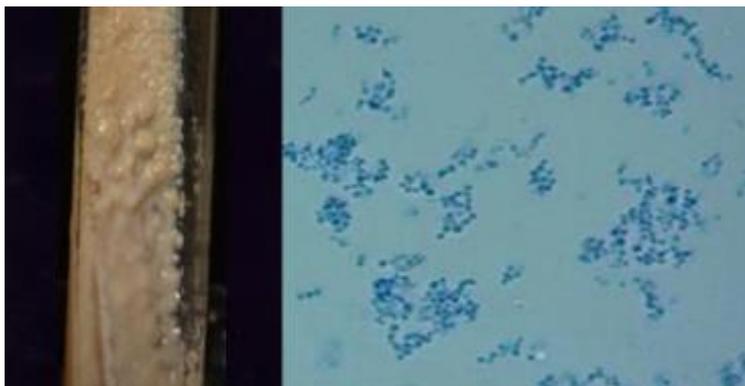


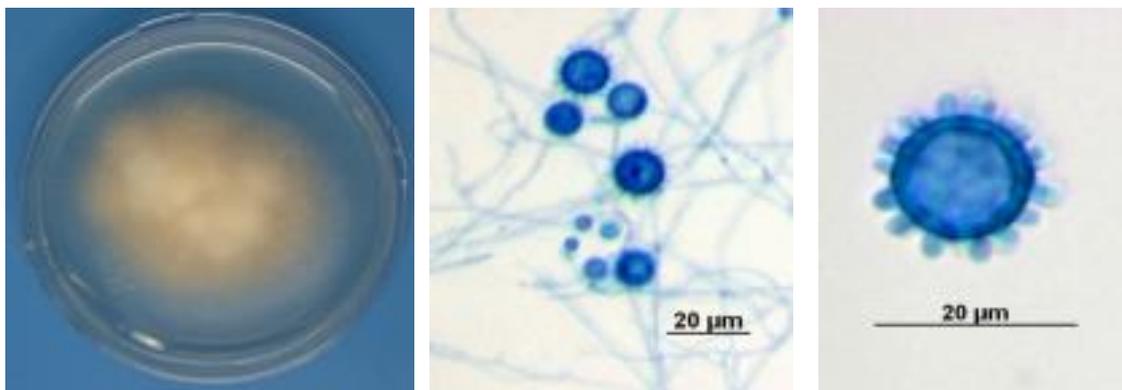
Figura 2: *Histoplasma capsulatum* na forma leveduriforme: (A) Aspecto macroscópico da cultura a 37 °C. (B) Microscopia em lâmina mostrando leveduras unibrotantes. Fonte: o autor- Laboratório de Micologia – Setor Imunodiagnóstico – IPEC-Fiocruz.

Fonte: PIZZINI, 2013

O pesquisador Marcos Almeida (2014), em sua dissertação de mestrado, realizou cultivos microbiológicos do fungo em laboratório acadêmico evidenciando seu dimorfismo, tais características são mostradas nas figuras 3 e 4.

[...] Trata-se de um fungo dimórfico, encontrado na natureza (saprofitismo) sob a forma filamentosa ou quando cultivado a temperaturas abaixo de 35°C e nos tecidos como levedura (parasitismo) ou quando cultivados a 37°C (ZANCOPÉ-OLIVEIRA; MUNIZ; WANKE 2013). Em temperaturas inferiores a 35°C, *H. capsulatum* se apresenta como colônias brancas a acastanhadas, algodonosas, microscopicamente caracterizado por hifas hialinas, septadas, ramificadas e de morfologia típica, representada por macroconídios, medindo de 8 a 16µm de diâmetro, geralmente esféricos, inicialmente de parede lisa, desenvolvendo com o envelhecimento da colônia, projeções semelhantes a tubérculos, e ainda microconídios ovais com diâmetros de dois a cinco micrômetros, de paredes lisas [...]

(ALMEIDA, 2014).



A

B

C

Figura 3: *Histoplasma capsulatum* (Fase filamentosa). (A) Cultivo da fase filamentosa. (B) e (C) Aspectos microscópicos da fase filamentosa com micro e macroconídios característicos. Corados por lactofenol azul de algodão. 40 e 100X. Fonte: ALMEIDA, 2014

Na forma parasita do fungo, demonstrada na figura 4:

Em parasitismo, ou a partir de espécimes clínicos cultivados a 37°C em meios de cultura apropriados, *H. capsulatum* se apresenta como colônias de aspecto úmido, lisa e de coloração branco-amarelada. Microscopicamente se mostra como pequenas leveduras, medindo de dois a quatro micrômetros de diâmetro, esféricas ou ovais, de paredes finas e unibrotantes (ZANCOPÉ-OLIVEIRA; MUNIZ; WANKE 2013) [...] (ALMEIDA, 2014)



Figura 4: *Histoplasma capsulatum* (Fase leveduriforme). (A) Cultivo da fase leveduriforme. (B) e (C) Aspectos microscópicos da fase leveduriforme com leveduras unibrotantes. Corados por lactofenol azul de algodão. 10 e 40X. Fonte: ALMEIDA, 2014

2.2 Patogenia

A infecção ocorre a partir da inalação, através do trato respiratório, da forma micelial de *Histoplasma capsulatum* pelo hospedeiro, podendo alcançar os macrófagos como explica a autora Leticia Goulart “A infecção ocorre quando o micélio composto de hifas e conídios se torna aerolizado por alterações físicas e são inalados. Nos pulmões, os fragmentos de hifas e conídios diferenciam-se em leveduras que sobrevivem e se proliferam no interior de macrófagos” (GOULART, 2008).

[...] Uma vez o fungo instalado nos alvéolos pulmonares, é fagocitado por macrófagos. Com a temperatura corporal (37°C), passa para a forma de levedura, multiplicando-se dentro dos fagolisossomos e lizando o macrófago. As infecções por *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* são controladas por células T auxiliares que reconhecem os antígenos da parede celular fúngica e proteínas do choque térmico e secretam interferon-gama que ativa os macrófagos para destruírem as leveduras intracelulares. O *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* induz os macrófagos a secretarem Fator de Necrose Tumoral-alfa (FNT- α), que estimula outros macrófagos a destruírem o fungo. Se a resposta do sistema imune é adequada, ocorre uma intensa reação granulomatosa seguida de cicatrização, fibrose e calcificação. Se não for controlada, a infecção pode alcançar os gânglios mediastínicos, corrente sanguínea e outros órgãos ricos em sistema monocítico – histiocitário como o fígado e o baço [...] (GOULART, 2008)

De acordo com Cláudia Pizzini (2013), essa infecção pode apresentar amplo espectro clínico, variando de infecção subclínica ou assintomática (forma mais comum), aguda, pulmonar crônica, disseminada, disseminada aguda, disseminada subaguda, disseminada crônica e oportunística. E a evolução dessa doença depende de alguns fatores; do inóculo infectante, do status imunológico do hospedeiro e da virulência da cepa:

O início da infecção por *H. capsulatum* depende de uma complexa interação entre o fungo e seu hospedeiro e, pelo menos, três fatores governam a patogenia desta micose. O desenvolvimento de infecção assintomática ou sintomática na histoplasmose é diretamente dependente da competência imunológica do hospedeiro, da virulência da cepa infectante e/ou da carga parasitária adquirida. Células T e fagócitos representam a principal resistência do hospedeiro contra o *H. capsulatum*. A imunidade protetora é caracterizada pela produção de citocinas por células T, particularmente IFN- γ e TNF- α , o qual ativa subsequentemente as células fagocíticas e liberação de mediadores químicos como H₂O₂ e NO⁻ que expõem o fungo a um “stress” oxidativo. Entretanto, mecanismos de escape, entre os quais a produção de catalases, são desencadeados, com ocorrência do processo de multiplicação do fungo dentro de macrófagos alveolares (BULLOCK; WRIGHT, 1987; SCHUNUR; NEWMAN, 1990). (PIZZINI, 2013)

2.3 Diagnóstico

O diagnóstico da histoplasmose é baseado em aspectos clínicos, epidemiológicos, radiológicos e laboratoriais, “embora alguns sintomas possam ser confundidos com outras doenças, tais como a tuberculose e outras micoses.” (ALMEIDA, 2014)

Goulart (2008) destaca que como o contágio do fungo se dá pela inalação dos esporos, a primoinfecção se dá no pulmão, onde na maioria das pessoas “dos indivíduos, esta forma clínica é benigna, passando despercebida ou com sintomas semelhantes à uma infecção viral, do tipo resfriado comum. Como sequelas, podem ficar calcificações residuais nodulares no pulmão, semelhante ao que ocorre na tuberculose.” (GOULART, 2008)

Claudia Pizzini (2013) destaca diferentes Metodologias para o diagnóstico da doença:

Exame direto e cultura:

A demonstração de *H. capsulatum* em espécimes clínicos através da microscopia de preparações a fresco ou com hidróxido de potássio a 10 % é extremamente difícil. Melhor sensibilidade é obtida utilizando métodos de coloração como Wright, Giemsa e Grocott, porém fatores limitantes como similaridades na morfologia deste fungo com outros patógenos e artefatos de coloração podem afetar o rendimento da técnica (ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2013). Apesar das limitações relacionadas a obtenção da cultura do fungo, esta metodologia é considerada o método padrão-ouro no diagnóstico da histoplasmose (ROSENBERG; SCHEINFELD, 2003; GUIMARÃES et al., 2006-b; FERNANDEZ ANDREU et al., 2011; ZANCOPE-OLIVEIRA et al., 2013). (PIZZINI, 2013)

O diagnóstico histopatológico permite uma maior rapidez no resultado, porém sua sensibilidade é menor que 50%, e podem também ter resultados falso-positivos confundidos com outros fungos, como no caso do *Pneumocystis jirovecii* ou até mesmo por artefatos de

coloração. “A coloração pela hematoxilina-eosina (HE) apresenta sensibilidade mediana, onde as leveduras intracelulares são visualizadas como um corpúsculo levemente basofílico, esférico ou ovalado, rodeado por um halo claro delimitado por uma parede celular hialina muito fina. Porém quando usadas colorações mais específicas para fungos, como PAS e prata (Gomori metenamina ou Grocott), o rendimento melhora consideravelmente.” (PIZZINI, 2013)

O Teste de exoantígeno, “teste de imunoidentificação detecta macromoléculas imunogênicas solúveis produzidas pelos fungos durante sua fase de crescimento (STANDARD; KAUFMAN, 1976). O método convencional de exoantígeno para identificação de *H. capsulatum* utiliza o teste de imunodifusão dupla para detecção das proteínas H e M. Esta metodologia permite identificar formas micelianas atípicas de *H. capsulatum* e discriminá-los de fungos saprofitos morfologicamente semelhantes. (PIZZINI, 2013)

E o Imunodiagnóstico “As metodologias empregadas no imunodiagnóstico da histoplasmose oferecem um diagnóstico presuntivo da doença, uma vez que detectam de forma indireta a existência do patógeno no hospedeiro através da detecção de anticorpos e/ou antígenos específicos em fluidos orgânicos, ou pela demonstração de reação de hipersensibilidade cutânea específica a antígenos fúngicos. Entretanto, as técnicas empregadas no imunodiagnóstico da histoplasmose apresentam algumas variações quanto ao seu rendimento. Estas variações estão relacionadas aos limites de detecção das técnicas empregadas, e as diferentes formas clínicas da histoplasmose.”

A pesquisadora Goulart (2008) deu maiores detalhes quanto às metodologias dos exames microscópico direto e cultura:

“Exame Microscópico Direto

O exame do material a fresco tratados com hidróxido de potássio (KOH) a 10% tem pouco valor porque se trata de parasito com pequenas dimensões, aproximadamente 3 micras de diâmetro, difícil de ser diferenciado. Nos esfregaços corados por Giemsa, o *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* é visualizado como elementos arredondados ou ovalados, dentro de macrófagos. O citoplasma se cora de azul claro, e o núcleo localizado em um dos pólos, se cora mais intensamente. Observa-se um halo claro ao redor do fungo. Essas formas são difíceis de serem visualizadas no exame direto do escarro. O melhor rendimento é obtido com esfregaços submetidos à impregnação pela prata, embora persistam as dificuldades de interpretação [...] (GOULART, x)

Em cultura microbiológica:

As amostras devem ser cultivadas a 37°C, podendo ser utilizados os ágaros: Sabouraud dextrose sólido; Mycobiotic® ou o Mycosel® (ambos contendo cloranfenicol e cicloheximida); o meio BHI (ágar infusão cérebro – coração) adicionado de cloranfenicol e de cicloheximida na proporção de 0,05g e 0,5 g/mL, respectivamente, ou BHI - ágar sangue. O fungo é dimórfico, isto é, apresenta forma micelial na temperatura de 25°C e forma leveduriforme, quando cultivado em meios ricos a 37°C. (GOULART, 2008)

Segundo o pesquisador Almeida (2014), “o teste de referência para a confirmação do diagnóstico é o isolamento e identificação de *H. capsulatum* em cultivo. Entretanto, na ausência dos mesmos, a sorologia tem sido utilizada para o diagnóstico presuntivo da histoplasmose através da detecção de anticorpos.” principal complexo antigênico utilizado para a detecção de anticorpos anti-*H. capsulatum* é a histoplasmina, constituída principalmente pelos antígenos C, H e M. (ALMEIDA, 2014)

Ainda para o pesquisador Almeida (2014) o western blot tem o melhor desempenho:

O Western blot demonstrou uma sensibilidade de 94,9%, especificidade de 94,1%, acurácia de 94,5% e uma precisão quase perfeita. As fitas demonstraram-se viáveis para utilização por até cinco anos após a sensibilização com o antígeno HMIN-PT. Estes resultados comprovam a validade do ensaio imunoenzimático (Western blot) para detecção de anticorpos anti-*H. capsulatum* utilizando HMIN-PT como uma ferramenta de boa acurácia no diagnóstico da histoplasmose e reprodutível. Desta forma, contribuindo para o melhoramento do diagnóstico desta micose, uma vez que esta técnica permitirá a obtenção de resultados em menos de 24 horas, o que supõe um grande avanço a despeito das técnicas existentes na atualidade e poderá vir a ser implantada e disponibilizada para outros centros do Sistema Único de Saúde. (ALMEIDA, 2014)

De acordo com os pesquisadores do Instituto Nacional de Infectologia, houve um aumento considerável da doença e isso ocorreu com o aumento dos casos de HIV, no Brasil há diversos relatos de casos de coinfeção de histoplasmose/HIV nas regiões Norte e Sudeste. “Fizemos um trabalho pelo Laboratório de Micologia destacando a histoplasmose em nosso país e, por não ser uma doença de notificação compulsória, não temos dados exatos sobre ela. Fomos então atrás de publicações que traziam relatos de casos e os estados mais afetados são o Ceará, o Rio de Janeiro, Goiás e Rio Grande do Sul, locais onde existe uma tradição em

micologia médica. No Amapá, por exemplo, não encontramos nenhuma publicação e acreditamos que isso é impossível porque o estado faz fronteira com a Guiana Francesa onde a histoplasmosose é bastante ativa”. (PORTUGAL, 2019).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após o estudo das referidas fontes bibliográficas sobre a doença histoplasmosose, observa-se diferentes metodologias para o seu diagnóstico. O diagnóstico clínico pode ser confundido com outras doenças devido a sintomas similares, como tuberculose ou resfriado comum.

Quanto ao diagnóstico laboratorial microbiológico- cultura, há uma limitação nas reações cruzadas e limiar de detecção das técnicas empregadas o que pode dificultar a precisão desses diagnósticos no padrão-ouro. Em pesquisa mais recente, a metodologia Western blot, ensaio imunoenzimático, fornece diagnósticos mais precisos.

Foi evidenciado uma questão importante sobre a subnotificação da doença em algumas regiões do Brasil, principalmente em áreas de fronteiras, ainda há dados insuficientes para a incidência da doença no território nacional.

Observa-se também a relação da histoplasmosose com HIV e pacientes imunocomprometidos, as temáticas estão entrelaçadas e são pesquisadas com maior frequência no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, Marco de Abreu. *Validação de ensaio imunoenzimático (Western Blot) para diagnóstico da histoplasmose. Rio de Janeiro, 2014.* Documento eletrônico disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/14284>>. Acesso em agosto de 2013.

BARROS, Manoel. *Poesia completa.* São Paulo: Leya, 2010.

GOULART, Letícia Silveira & ROSSINI, Thaís. *Histoplasmose clássica: Revisão.* In: **20º Congresso Internacional de Bioquímica e Medicina Laboratorial.** RBAC, vol. 38(4), 2008. Disponível em: <https://lume-re-demonstracao.ufrgs.br/atlasmicologia/files/Link_Caso_16.pdf>. Acesso em agosto de 2013.

PIZZINI, Cláudia Vera. Ferramentas proteômicas na identificação de novos alvos antigênicos na proteína M do *Histoplasma capsulatum* e aplicação em ensaios imunoenzimáticos. Rio de Janeiro, 2013. Documento eletrônico disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/9238>>. Acesso em agosto de 2023.

PORTUGAL, Juanita. *A busca por novos tratamentos da Histoplasmose.* Rio de Janeiro, 2019. Documento eletrônico disponível em: <<https://www.ini.fiocruz.br/busca-por-novos-tratamentos-para-histoplasmose>>. Acesso em agosto de 2013.

HOPKINS, Myres. *Introdução à micologia.* Carolina do sul, 2017. Documento eletrônico disponível em: <<https://www.microbiologybook.org/Portuguese%20Mycology/port-mycology1.htm#:~:text=Fungos%20dim%C3%B3rficos%20s%C3%A3o%20identificados%20por,microcon%C3%ADdios%20%2C%20blastosporos%2C%20artrocon%C3%ADdios>>. Acesso em agosto de 2023.