



UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA

**HISTOPLASMOSE EM PESSOAS IMUNOCOMPROMETIDAS: CAUSAS, TIPOS E  
COMPLICAÇÕES**

Etelvina Sebastião Lemos da Silva Mateus

Dissertação orientada pela Professora Doutora Maria Manuel Pereira Lopes

Mestrado em Análises Clínicas

2024



UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA

**HISTOPLASMOSE EM PESSOAS IMUNOCOMPROMETIDAS: CAUSAS, TIPOS E  
COMPLICAÇÕES**

Etelvina Sebastião Lemos da Silva Mateus

Dissertação orientada pela Professora Doutora Maria Manuel Pereira Lopes

Mestrado em Análises Clínicas

2024

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela sua presença constante na minha vida e por me permitir concluir este trabalho, dando-me sabedoria e determinação para superar os desafios que surgiram ao longo da realização desta dissertação de mestrado.

À Professora Maria João Silva, por me ter ouvido e aconselhado sempre que precisei de desabafar.

À Professora Maria Manuel Lopes, por ter aceite ser minha orientadora e pela sua disponibilidade sempre que precisei.

À minha família, nomeadamente ao meu marido, pela sua paciência e conselhos, e aos meus filhos pela sua força e ajuda.

Aos meus colegas Priscila, Beatriz, Lívia e Gustavo, pela colaboração, força, amizade e momentos de descontração.

Declaro ter desenvolvido e elaborado o presente trabalho em consonância com o Código de Conduta e de Boas Práticas da Universidade de Lisboa. Mais concretamente, afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de fraude académica, que aqui declaro conhecer, e que atendi à exigida referência de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, assumindo na íntegra as responsabilidades da autoria.

## RESUMO

A histoplasmose é uma infecção fúngica causada pelo fungo *H. capsulatum*. Ocorre principalmente em áreas com solo contaminado por excrementos de aves ou morcegos, como grutas ou edifícios abandonados. A transmissão dá-se pela inalação dos esporos presentes no ar contaminado. A maioria das infecções é assintomática, o que significa que não necessita de cuidados médicos, e manifesta-se em muito poucos doentes. A extensão da doença depende do número de conídios inalados e função do sistema imunitário celular do hospedeiro. A infecção pulmonar é a principal manifestação da histoplasmose, variando desde uma pneumonia ligeira até à síndrome de dificuldade respiratória na forma crónica progressiva da histoplasmose. Embora as pessoas com imunidade forte possam apresentar uma infecção ligeira ou assintomática infecção, imunocomprometidos nomeadamente aqueles com VIH/SIDA, com diabetes, indivíduos que tomam imunossuppressores e receptores de transplantes de órgãos, apresentam, em muitos casos, uma manifestação mais grave da doença, caracterizada por histoplasmose pulmonar aguda e, em alguns casos, crónica, outras manifestações pulmonares e histoplasmose disseminada, que pode ser fatal. As complicações que surgem em pessoas com imunidade comprometida incluem doença pulmonar crónica que progride para doença pulmonar, disseminação grave, que afecta negativamente o fígado e o baço, e fibrose mediastínica. Os resultados sugerem que a compreensão da patogénese e das complicações da histoplasmose conduzirá ao desenvolvimento de estratégias de diagnóstico, terapêuticas e preventivas eficazes. Essa compreensão resultará em melhores resultados para a população vulnerável.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Histoplasma capsulatum* , VIH, SIDA, imunocomprometidas, doença

## ABSTRACT

Histoplasmosis is a fungal infection caused by the fungus *H. capsulatum*. It occurs mainly in areas with soil contaminated by bird or bat faeces, such as caves or abandoned buildings. Transmission occurs through the inhalation of spores found in polluted air. Most infections are asymptomatic, requiring minimal medical intervention and affecting a limited number of people. The severity of the disease depends on the amount of conidia inhaled and the effectiveness of the host's cellular immune response. Lung infection is the main manifestation of histoplasmosis, ranging from mild pneumonia to respiratory distress syndrome in its persistent and recurrent form. Although people with strong immunity can present with a mild or asymptomatic infection, immunocompromised individuals, particularly those with HIV/AIDS, diabetes, those under and organ transplant recipients, often present with a more severe manifestation of the disease, characterised by acute and, in some cases, chronic pulmonary histoplasmosis, other pulmonary manifestations and disseminated histoplasmosis that can be fatal. Complications that arise when people have compromised immunity include chronic lung disease that progresses to lung disease, severe dissemination that negatively affects the liver and spleen, and mediastinal fibrosis. The results suggest that understanding the pathogenesis, complications of histoplasmosis in immunodeficient individuals and the clinical manifestation of the conditions is essential for developing effective diagnostic, therapeutic and preventative strategies. Such an understanding will result in better outcomes for the vulnerable population.

**KEY WORDS:** *Histoplasma capsulatum*, VIH, SIDA, Immunocompromised, disease.

## ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	III
Nota Anterior .....	IV
Resumo .....	V
Abstract.....	VI
ACRÓNIMOS E ABREVIATURAS .....	X
1. Metodologia .....	1
2. Objectivos .....	1
2.1. Objectivo geral.....	1
2.2. Objectivos específicos .....	1
3. Introdução .....	2
4. Histoplasmose .....	4
4.1. Definição.....	4
4.2. Etiologia.....	5
4.3. Epidemiologia .....	7
4.3.1. Epidemiologia molecular.....	10
4.4. Patogénese.....	13
4.5. Patogénese e factores de risco em doentes infectados pelo VIH.....	15
4.6. Factores de virulência.....	17
4.7. Factores de risco ambientais .....	18
4.8. Transmissão .....	19
4.9. Manifestações clínicas.....	22
4.10. Aspectos clínicos da histoplasmose .....	22
5. Tipos de histoplasmose .....	23
5.1. Classificação com base nas manifestações clínicas e na gravidade .....	23
5.1.1. Histoplasmose assintomática .....	23
5.1.2. Histoplasmose pulmonar aguda.....	23
5.1.3. Histoplasmose pulmonar crónica.....	24

5.1.4. Histoplasmose disseminada progressiva (PDH) .....	26
5.1.4.1. Grupos de doentes em risco de histoplasmose disseminada.....	27
5.2. Classificação com base em factores específicos.....	31
5.2.1. Histoplasmose oportunista.....	31
5.2.2. Histoplasmose africana.....	31
5.2.2.1. Epidemiologia da histoplasmose africana .....	32
5.2.2.2. Vias de infeção da histoplasmose africana .....	34
5.2.2.3. Manifestação clínica da histoplasmose africana.....	35
6. Diagnóstico da histoplasmose .....	38
6.1. Diagnóstico laboratorial da histoplasmose.....	38
6.1.1. Diagnóstico da histoplasmose africana .....	40
6.1.2. Diagnóstico da histoplasmose do sistema nervoso central.....	43
6.2. Exame direto e cultural .....	44
6.2.1. Diagnóstico histopatológico .....	48
6.2.2. Diagnóstico serológico .....	51
6.2.3. Diagnóstico molecular.....	55
6.2.4. Pesquisa de exoantígenos.....	57
6.3. Melhorias nos métodos de diagnóstico da histoplasmose .....	58
7. Prevenção e tratamento .....	60
7.1. Prevenção.....	60
7.2. Tratamento .....	60
8. Esforços efectuados na luta contra a histoplasmose.....	63
9. CONCLUSÃO.....	65
10. BIBLIOGRAFIA .....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Áreas endémicas de histoplasmose nos EUA <sup>(3),(4)</sup> . <b>Fonte:</b> (CORREIA, 2015) <sup>(5),(3)</sup> . .....	4
<b>Figura 2.</b> Distribuição geográfica do <i>H. capsulatum</i> . <b>Fonte:</b> (NELSON, 2017) <sup>(2)</sup> .....	8
<b>Figura 3 -</b> Principais receptores envolvidos no reconhecimento de <i>H. capsulatum</i> pelos fagócitos <sup>(9)</sup> .....	14
<b>Figura 4 -</b> Ciclo de infeção por <i>H. capsulatum</i> . <b>Fonte:</b> (Minuto Saudável) <sup>(61)</sup> .....	20
<b>Figura 5</b> Padrões moleculares associados aos agentes patogénicos de <i>H. capsulatum</i> <sup>(2)</sup> . <b>Fonte:</b> (VILANCULO, 2017) <sup>(2)</sup> .....	21
<b>Figura 6.</b> histoplasmose pulmonar aguda grave num homem que foi exposto a um grande inóculo de <i>H. capsulatum</i> enquanto limpava aves e guano acumulados de uma num pilar ponte <sup>(19)</sup> . <b>Fonte:</b> (KAUFFMAN, 2007) <sup>(19)</sup> .....	24
<b>Figura 7.</b> Radiografia lateral do tórax de um paciente enfisema grave e gravemente com doente com histoplasmose pulmonar cavitária crónica <sup>(19)</sup> . <b>Fonte:</b> (KAUFFMAN, 2007) <sup>(19)</sup> ·25	
<b>Figura 8:</b> Distribuição dos casos notificados de histoplasmose em África (1952-2017). <b>Fonte:</b> (OLADELE, et. al., 2018).....	33
<b>Figura 9.</b> Mulher de 36 anos, seronegativa para o VIH, com nódulos de tamanhos variados, com umbilicação e úlcera. <b>Fonte:</b> (OCANSEY, 2022) <sup>(86)</sup> .....	36
<b>Figura 10.</b> Tamanhos variáveis de pápulas e nódulos hipopigmentados carnudos como coalescentes lesões <b>Fonte:</b> (OCANSEY, 2022).....	37
<b>Figura 11.</b> <i>H. capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> , leveduras intracelulares <sup>(4)</sup> . <b>Fonte:</b> (NELSON, 2017) <sup>(4)</sup> .....	39
<b>Figura 12.</b> <i>H. capsulatum</i> em forma de levedura no interior do neutrófilo. <b>Fonte:</b> (OLIVEIRA et. al., 2020) <sup>(14)</sup> .....	45
<b>Figura 13.</b> Aspeto macro e micromorfológico de <i>H. capsulatum</i> : a) macromorfológico em SDA, mostrando uma colónia branca; b) micromorfológico aspeto em lactofenol azul de algodão, mostrando os macroconídios tuberculados (estalagmosporos); c) forma de levedura a 35°C em ágar BHI suplementado com 5% de sangue de carneiro, mostrando colónias de aspeto húmido, de cor branco-amarelada; d) aspeto	

micromorfologia em azul de algodão com lactofenol, mostrando uma estrutura semelhante a uma levedura com geminação. **Fonte:** (RIBEIRO, 2012)<sup>(72)</sup> .....46

**Figura 14.** Cultura de *H. capsulatum* em ágar Sabouraud. (A) - Colónia branca, cotonosa a 25°C. (B) - A levedura forma-se a 37°C como colónias de cor creme/acastanhada e húmidoaspeto <sup>(14)</sup>. **Fonte:** (FURUIE, 2014)<sup>(31)</sup>.....48

## ACRÓNIMOS E ABREVIATURAS

ARV	Retrovírus associado à SIDA
APC	Célula apresentadora de antigénios
BHE	Barreira hemato-encefálica
BHIA	<i>Ágar de infusão cérebro-coração</i>
CARTÃO	Terapia antirretroviral combinada
CD	<i>Cláusulas de diferenciação</i>
CDC	<i>Centros de Controlo e Prevenção de Doenças</i>
CE	Candidose esofágica
CMV	Citomegalovírus
CrAg	Antigénio capsular <i>de Cryptococcus</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
dsDNA	ADN de cadeia dupla
AIE	Imunoensaio enzimático
EUA	Estados Unidos da América
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
GMS	<i>Mancha de prata de metenamina de Grocott</i>
GAFFI	<i>Ação global contra as infeções fúngicas</i>
HAART	<i>Terapia antirretroviral altamente ativa</i>
VIH	<i>Vírus da Imunodeficiência Humana</i>
VIH-1	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1
VIH-2	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2
HPA	<i>Antigénio polissacárido de Histoplasma</i>

VHS	<i>Vírus do herpes simples</i>
H	Histoplasmose
Hc	<i>Histoplasma capsulatum</i>
HTLV-III	Vírus linfotrópico de células T humanas tipo III
IL	Interleucina
INF	Interferão
INF- $\alpha$	Interferão alfa
INF- $\beta$	Interferão beta
INF- $\gamma$	Interferão gama
IO	Infecções oportunistas
ID	Imunodifusão dupla
LAV	Linfadenopatia associada ao vírus
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LBA	Lavagem bronco-alveolar
LFA	Teste de fluxo lateral
MHC	<i>Complexo Principal de Histocompatibilidade</i>
NNRT	Inibidores da não transcriptase Reserva
NÃO	Óxido nítrico
NRTI	Inibidores da transcriptase reversa
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAS	<i>Ácido periódico de Schiff</i>
PCP	Pneumonia por <i>Pneumocystis</i>
PCR	<i>Reação em cadeia da polimerase</i>

PDA	<i>Ágar dextrose de batata</i>
RIA	<i>Radioimunoensaio</i>
ARN	Ácido ribonucleico
RM	Imagem por Ressonância Magnética
ROS	Espécies reactivas de oxigénio
SAP	<i>Aspartil protease segregada</i>
SIDA	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
SIV	<i>Vírus da imunodeficiência símia</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
TB	Tuberculose
Tc	Linfócito T citotóxico
Td	Linfócito T (hipersensibilidade <i>retardada</i> )
O	Linfócito T helper
TMP	Trimetroprime
TMP-SMX	Trimetroprime-Sulfametoxazol
TNF	Fator de Necrose Tumoral
Ts	Linfócito T supressor
ONUSIDA	Programa das Nações Unidas para o VIH/SIDA

## **Metodologia**

Trata-se de um estudo qualitativo com características descritivas. É composto por artigos selecionados por meio de busca em bases de dados nacionais e internacionais, tais como: National Library of Medicine (PUBMED), *Medical Literature Analysis and Retrieval System Online* (MEDLINE), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), Google Scholar; dissertações e teses de doutorado disponíveis gratuitamente online publicadas até 2023, e que incluam as palavras-chave (*H. capsulatum*, causas, tipos e complicações).

## **1. Objectivos**

### **1.1. Objectivo geral**

Um estudo descritivo da histoplasmose em pacientes imunocomprometidos, especificamente as causas, tipos e complicações.

### **1.2. Objectivos específicos**

1. Analisar a etiologia do *Histoplasma capsulatum* ;
2. Compreender a epidemiologia da histoplasmose;
3. Compreender as manifestações clínicas da histoplasmose;
4. Analisar os métodos de diagnóstico da histoplasmose;
5. Estudar os tipos de histoplasmose.

## 2. Introdução

*O H. capsulatum (H. capsulatum)* é o agente causador da histoplasmose, uma infecção fúngica que pode afetar tanto pessoas vulneráveis como imunocompetentes. Inicialmente documentada em 1905 por S. T. Darling, dizia respeito a um caso semelhante a uma tuberculose generalizada num doente da Martinica empregado na construção do Canal do Panamá. Desde então, a histoplasmose tem sido documentada nos cinco continentes, com regiões de prevalência tanto moderada como grave. Por conseguinte, estão disponíveis dados epidemiológicos, clínicos e terapêuticos de centros de referência de zonas não endêmicas <sup>(1)</sup>.

A histoplasmose, considerada por alguns autores como a infecção fúngica respiratória inicial, tem consequências variáveis em termos de saúde pública, dependendo do estado de deficiência do indivíduo. Em indivíduos imunocompetentes, para além das iniciativas de despistagem do histoplasma, foram efectuados poucos estudos de prevalência serológica na comunidade em geral. No entanto, alguns académicos estimam que centenas de milhares de casos ocorrem anualmente nas regiões dos rios Ohio e Mississipi. A histoplasmose é predominantemente assintomática e autolimitada, resultando em doença mínima e morte em pessoas com imunidade debilitada <sup>(1)</sup>.

Nas últimas décadas, a incidência e as taxas de mortalidade da histoplasmose aumentaram devido à crescente população de indivíduos imunocomprometidos. Embora os imunossuppressores administrados a receptores de transplantes ou a indivíduos com doenças inflamatórias crónicas contribuam para este aumento, o problema predominante deve-se principalmente à proliferação da epidemia de VIH. A acessibilidade dos preços da HAART e das composições lipídicas da anfotericina B, uma maior sensibilização por parte de algumas equipas e procedimentos de diagnóstico rápidos e não invasivos reduziram consideravelmente a mortalidade por histoplasmose. Os avanços foram tão notáveis que alguns investigadores já não consideram a histoplasmose como uma preocupação no contexto da infecção pelo VIH, recomendando que a investigação dê prioridade a tipos alternativos de imunossupressão associados à histoplasmose <sup>(1)</sup>.

Apesar da acessibilidade da HAART, a histoplasmose em indivíduos infectados pelo VIH continua a ser um problema de saúde pública negligenciado em certas regiões endêmicas, particularmente na América do Sul. A abordagem desta questão requer

requisitos essenciais para a compreensão e consciencialização demográfica entre os profissionais de saúde, o avanço das ferramentas de diagnóstico e a acessibilidade de terapias eficientes a preços razoáveis. A Organização Mundial da Saúde (OMS) informa que os dados da ONUSIDA indicam um declínio global nas novas infecções por VIH em 2021, com uma queda de cerca de 3,6% em comparação com 2020, marcando a diminuição anual mais fraca desde 2016 <sup>(127)</sup>.

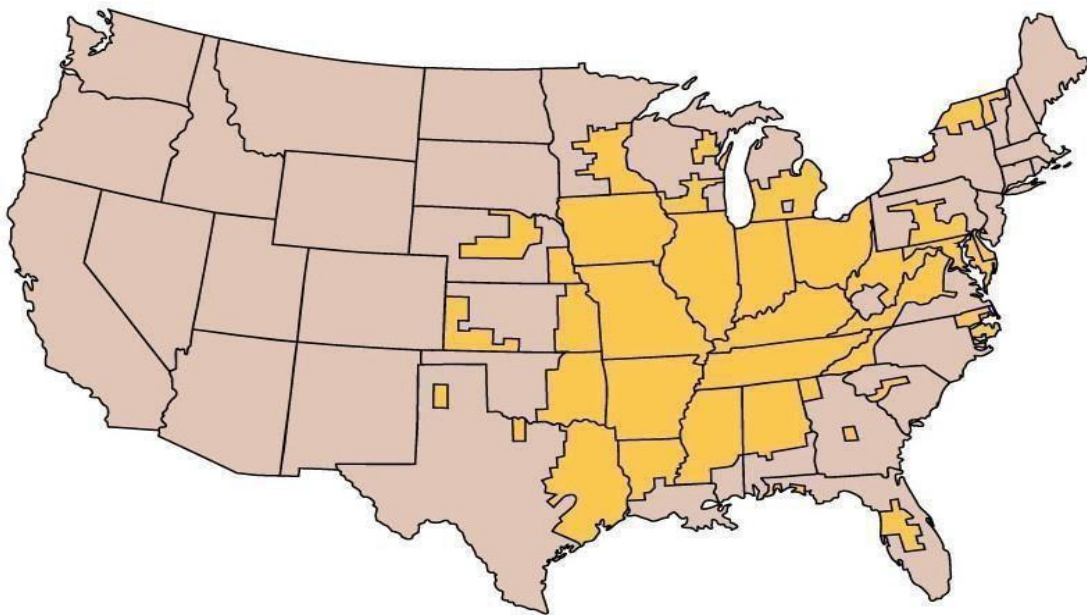
Consequentemente, quatro mil pessoas, incluindo 1.100 jovens com idades compreendidas entre os 15 e os 24 anos, contraem o VIH diariamente. Se as tendências actuais se mantiverem, 1,2 milhões de pessoas contrairão o VIH até 2025, o que representa o triplo do objetivo de 370.000 infecções adicionais para 2025. As consequências humanas de impedir os avanços na resposta ao VIH são alarmantes. Em 2021, 650 000 pessoas sucumbiram a causas relacionadas com o VIH, ou seja, uma morte por minuto. Dada a acessibilidade de medicamentos anti-retrovirais avançados e métodos eficientes de prevenção, deteção e tratamento de doenças infecciosas, estas mortes são evitáveis. Na ausência de medidas rápidas para travar a proliferação do vírus, as mortes relacionadas com o VIH continuarão a ser uma causa predominante de morte em muitos países <sup>(127)</sup>.

Em doentes imunocomprometidos com deficiências imunitárias celulares hereditárias ou genéticas, a histoplasmose causa uma morbilidade e mortalidade consideráveis. Em qualquer idade, é predominantemente letal sem tratamento adequado. Em 1987, o tipo extrapulmonar ou disseminado do VIH/SIDA surgiu como uma doença distinta após os primeiros casos terem sido relatados em 1982 nos EUA <sup>(1)</sup>. O objetivo desta dissertação é estudar a histoplasmose em pessoas imunocomprometidas, nomeadamente as suas causas, tipos e complicações, e alertar as autoridades de saúde para que a histoplasmose passe a ser uma doença de declaração obrigatória.

### 3. Histoplasmose

#### 3.1. Definição

A Histoplasmose é uma infecção causada por um fungo dimórfico que tem afinidade pelo sistema reticuloendotelial e sobrevive numa ampla gama de temperaturas ambientais entre (18° e 37°C) <sup>(3)</sup>. Existem duas variedades de *Histoplasma*, nomeadamente: *H. capsulatum* var. *capsulatum* - que causa a doença de *Darling* ou doença das cavernas; e *H. capsulatum* var. *duboisii* (Hcd) associado à histoplasmose africana<sup>3</sup>. A infecção por *H. capsulatum* é endémica no sul e centro dos Estados Unidos da América (EUA), especialmente no Ohio e nos vales do rio Mississipi, e na América Latina, enquanto *H. capsulatum* var. *duboisii* é endémico em África (principalmente na África subsariana e em Madagáscar) (Figura 1).



**Figura 1:** Áreas endémicas de histoplasmose nos EUA <sup>(3),(4)</sup>. **Fonte:** (CORREIA, 2015) <sup>(5),(3)</sup>.

A histoplasmose é considerada uma zoonose (morcegos e aves). Os dejectos destes animais melhoram as condições para o crescimento do microrganismo no solo, acelerando a esporulação <sup>(5)</sup>. O *Histoplasma* prefere solo húmido enriquecido com azoto proveniente de matéria orgânica em decomposição <sup>(5)</sup>. O processo de contaminação ocorre através da inalação de esporos que passam para os pulmões e a temperatura do hospedeiro permite-lhes passar à forma de levedura. As leveduras podem passar através dos gânglios linfáticos e espalhar-se para outros órgãos através da corrente sanguínea. É comum a propagação assintomática da doença para além dos pulmões. Quando a

imunidade celular diminui, pode haver reativação do foco silencioso de infecção adquirido anos antes, o que é um dos mecanismos propostos para justificar a ocorrência de infecção em áreas não endêmicas <sup>(6), (5)</sup>.

A introdução da terapia antirretroviral altamente eficaz (HAART) diminuiu a incidência de sintomas clínicos associados à histoplasmose; no entanto, esta continua documentada em 25-61% dos casos de infecção por VIH. Nas regiões endêmicas, a taxa de prevalência anual deste tipo de infecção é de aproximadamente 5% entre os doentes seropositivos, particularmente quando as contagens de células CD4+ descem abaixo das 150 células/mm<sup>3</sup>, uma condição que aumenta a probabilidade de progressão para uma doença sintomática grave <sup>(6)</sup>. A histoplasmose continua a ser uma das doenças mais comuns na América Latina entre os indivíduos com VIH, sendo responsável por uma taxa de mortalidade superior a 30% <sup>(3), (5)</sup>.

A histoplasmose é uma doença moderadamente prevalente em África; no entanto, a sua frequência exacta permanece indeterminada. A subestimação resulta principalmente da crença clínica insuficiente e do acesso restrito a testes adequados em áreas endêmicas <sup>(86)</sup>. Como parte desta investigação, será discutido que a histoplasmose africana tende a manifestar-se através de lesões na pele, tecidos subcutâneos e nódulos linfáticos <sup>(86)</sup>. Estas características contrastam com a histoplasmose convencional, que apresenta principalmente sintomas pulmonares. A histoplasmose africana não está geralmente ligada de forma significativa a imunodeficiências ou predisposições genéticas e ocorre frequentemente em pessoas imunocompetentes. Em indivíduos com VIH/SIDA avançado, os casos documentados são tipicamente generalizados e frequentemente associados a um mau resultado. A manifestação clássica da histoplasmose está mais frequentemente associada a fases graves da infecção por VIH/SIDA <sup>(86)</sup>.

### **3.2. Etiologia**

Em 1905, o patologista Samuel Darling foi responsável pela identificação e nomeação do agente causador da doença, designando-o por *H. capsulatum*. Desde então, a doença ficou também conhecida como "doença de Darling". Cerca de duas décadas mais tarde, foi possível isolar a levedura associada à histoplasmose, confirmando a sua natureza dimórfica <sup>(7)</sup>. O fungo *H. capsulatum* é dimórfico, adaptando-se como uma levedura quando exposto à temperatura do corpo humano e

assumindo a forma de um bolor em ambientes com temperaturas próximas de 25°C. Este microrganismo desenvolve-se em solos húmidos, particularmente aqueles enriquecidos com guano em decomposição. Enquanto os morcegos podem albergar o fungo no seu trato gastrointestinal, as aves são imunes aos seus efeitos devido à sua elevada temperatura corporal de cerca de 40°C. Nas zonas endémicas, os surtos da doença têm sido frequentemente associados a actividades de construção intensivas <sup>(7)</sup>.

*Histoplasma capsulatum*, um membro da família dos ascomicetos, tem dois tipos distintos de reprodução sexual, conhecidos como *tipos de acasalamento* "+" e "-". Na natureza, estes tipos mantêm geralmente um rácio de equilíbrio próximo de 1:1. No entanto, em amostras clínicas isoladas de pacientes, o tipo "-" tende a predominar, e as causas dessa assimetria ainda não são totalmente compreendidas. Na sua forma micelial, o fungo apresenta dois tipos de esporos que podem ser observados ao microscópio: os macroconídios, que têm entre 8 e 15 micrómetros de tamanho, e os microconídios, que medem entre 2 e 5 micrómetros. Estes últimos, devido ao seu pequeno tamanho, são considerados os principais agentes infecciosos, pois podem ser inalados e atingir os alvéolos pulmonares, iniciando o processo de infeção <sup>(7)</sup>.

Geneticamente, o *H. capsulatum* tem entre cinco e sete cromossomas, com variações genéticas que influenciam as manifestações clínicas da doença. Foram identificados oito clados principais, associados a diferentes regiões geográficas do mundo. Estas diferenças genéticas têm implicações clínicas relevantes. Os clados norte-americanos, por exemplo, raramente estão associados a manifestações cutâneas primárias, enquanto os clados sul-americanos estão frequentemente relacionados com essas manifestações. No caso do clado africano, destaca-se a variedade *H. capsulatum duboisii*, conhecida pelas suas características específicas, incluindo uma maior predisposição para afetar os tecidos cutâneos e subcutâneos <sup>(7)</sup>.

Após a inalação, os microconídios atingem os alvéolos pulmonares onde, devido à temperatura corporal, se transformam em leveduras unicelulares com um diâmetro entre 2 e 5 micrómetros. Este processo de transição, essencial para a sobrevivência do fungo no hospedeiro, é regulado por genes como o *Ryp1*, *Ryp2* e *Ryp3*. Uma vez nos alvéolos, os conídios aderem a proteínas integrinas, como as da família CD11-CD18, o que facilita a sua fagocitose por macrófagos e neutrófilos. A conversão para a forma de levedura pode ocorrer dentro destas células fagocíticas e varia em duração, de algumas horas a vários dias. A fase de levedura, caracterizada pela reprodução por gemulação de base estreita e, ocasionalmente, numa forma multipolar, é fundamental para a

patogenicidade da levedura.

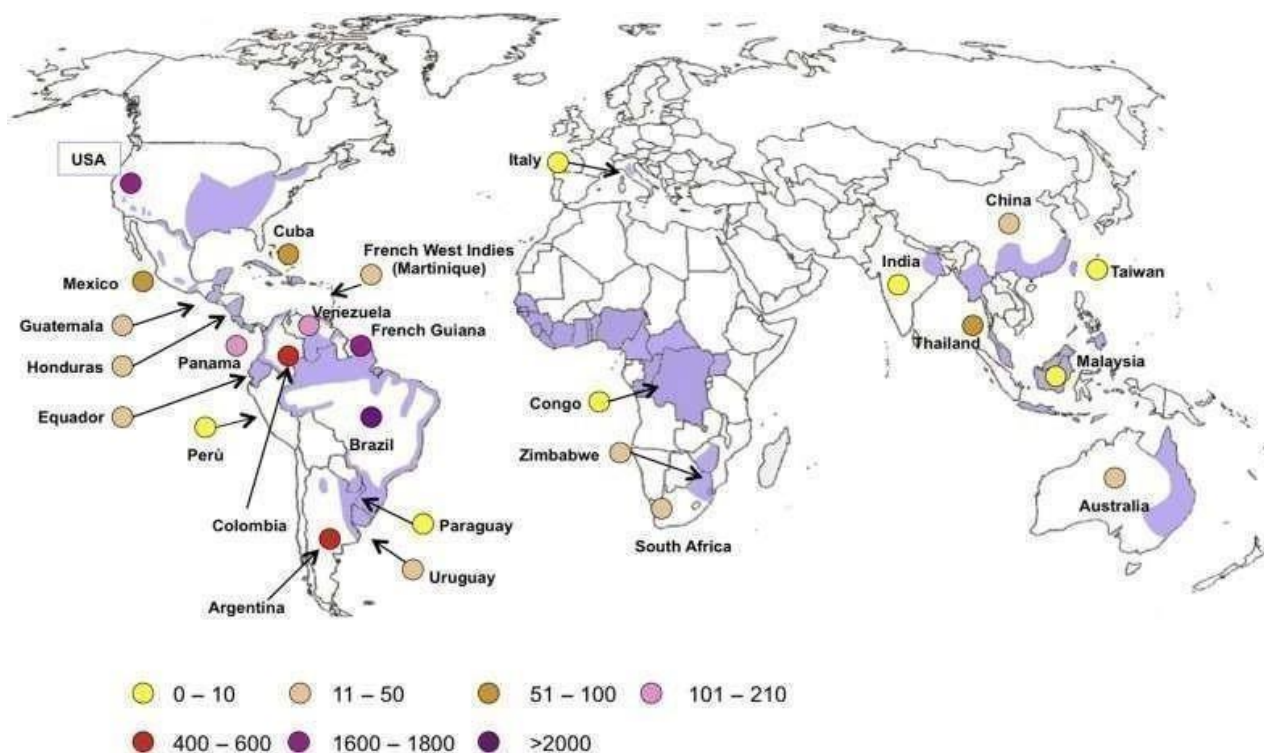
*H. capsulatum* <sup>(7)</sup>.

### 3.3. Epidemiologia

A histoplasmose está amplamente distribuída no continente americano. Também foram descritos casos em África, onde as duas variedades (*capsulatum* e *duboisii*) coexistem, e no Sudeste Asiático, particularmente na Tailândia, Malásia, Indonésia, Índia e Vietname <sup>(81), (1), (82)</sup>.

Entre 1938 e 2013, foram notificados mais de 100 surtos envolvendo aproximadamente 3000 casos em 26 estados e no território de Porto Rico. Os diferentes ambientes de exposição eram aviários ou projectos de construção. A presença de aves, morcegos ou seus excrementos foi relatada em 77% dos cenários de surto, e os ambientes de trabalho foram relatados em metade dos surtos. Em regiões endémicas e casos esporádicos, os diferentes ambientes são difíceis de identificar, uma vez que os sintomas se devem frequentemente à reativação da doença <sup>(7)</sup>.

Raramente foi diagnosticada na Europa, com exceção da Itália, onde foram observados poucos casos. Como veremos oportunamente nesta investigação, a variante *duboisii* ocorre apenas em áreas tropicais de África, com 70% dos casos provenientes de áreas endémicas para a micose <sup>(81)</sup>, e há relatos de casos de histoplasmose na África do Sul, Burkina Faso, Uganda e Tanzânia em doentes imunocomprometidos por vírus HIV <sup>(2)</sup>. A nível mundial, existem bolsas de endemicidade em todos os continentes. Mais de metade da população mundial vive potencialmente na região endémica de *H. capsulatum* <sup>(7)</sup> (Figura 2).



**Figura 2.** Distribuição geográfica do *H. capsulatum*. Fonte: (NELSON, 2017) <sup>(2)</sup>.

*Histoplasma var. capsulatum* (violeta) e *duboisii*, áreas sobrepostas (violeta + sombreado). Os círculos indicam o número de casos publicados de histoplasmose associada à SIDA. A maioria dos casos de doentes positivos de África são diagnosticados fora do continente (adaptado de WHEAT *et. al.*, 2016) <sup>(3)</sup>.

Tem uma elevada prevalência em certas zonas dos Estados Unidos (regiões central e sul do país, ao longo dos vales dos rios Mississipi e Ohio), México, Honduras, Guatemala, Nicarágua, Panamá, várias ilhas das Caraíbas (Jamaica, Porto Rico, Martinica e Cuba) e vários países da América do Sul, principalmente Venezuela, Colômbia, Peru, Brasil, Argentina e Uruguai (Figura 2).

Em Portugal, entre 2009 e 2015, foram descritos na literatura 10 casos de histoplasmose, a maioria dos quais diagnosticados na região de Lisboa e Vale do Tejo. Cinco casos correspondem à variedade africana (*H. capsulatum duboisii*) e os restantes à variedade americana (*H. capsulatum*). As publicações encontradas são sobretudo apresentações clínicas de interesse científico, algumas das quais referem casos com um período de latência de 40 anos após exposição em África <sup>(83)</sup>.

A histoplasmose não é uma doença de notificação obrigatória em Portugal, o que significa que os dados de internamento registados nos GDH reflectem principalmente casos graves resultantes de infecções primárias ou morbilidade associada. Embora os

GDH captem episódios de hospitalização em vez de dados de doentes individuais e apresentem alguma variabilidade na codificação entre hospitais, pode inferir-se que o número de hospitalizações por histoplasmose em Portugal permaneceu relativamente estável entre 2009 e 2015, com uma ligeira tendência decrescente durante este período (83).

A histoplasmose é causada pelo fungo *H. capsulatum*, que entra no organismo através da inalação de partículas contendo o fungo liberadas no ar durante o manuseio do solo ou de excrementos de animais, principalmente morcegos e aves como pombos e galinhas (60). Essa doença é mais comum em trabalhadores rurais, pois eles entram em contato freqüente e direto com solo, principalmente se tiverem alguma alteração no sistema imunológico, como um transplante ou HIV/AIDS, por exemplo, pois nesses casos o fungo consegue se multiplicar mais facilmente (60).

Em ambientes infectados, o microrganismo é inalado e afecta o corpo humano. Quando inalado, o fungo atinge os alvéolos pulmonares e entra na corrente sanguínea, espalhando-se pela circulação, o que permite que a infecção atinja vários órgãos, como o fígado, o baço e a medula óssea (61).

Os solos ricos em excrementos de aves e morcegos têm um elevado teor de azoto, que serve como fonte de nutrientes para o fungo *H. capsulatum* crescer na sua forma de micélio na natureza. Quando conídios ou fragmentos destes micélios presentes no solo são inalados pelo hospedeiro, aderem ao epitélio pulmonar, passando para a forma de levedura e iniciando assim a infecção, causando subsequentemente a doença conhecida como histoplasmose (62).

Actividades como a jardinagem, a limpeza de sótãos ou celeiros, a demolição de edifícios antigos e o revolvimento do solo estão associadas à infecção por *H. capsulatum* e contribuem para a disseminação das suas partículas infectantes. As correntes de ar podem transportar conídios durante quilómetros, expondo mesmo indivíduos que não estiveram perto ou tiveram contacto direto com áreas contaminadas (62).

Uma vez que esta doença apresenta, na maioria das vezes, um quadro clínico semelhante ao de outras infecções respiratórias, a interpretação do número de casos de histoplasmose notificados deve ter em conta a possibilidade de subdiagnóstico desta infecção fúngica. Por outro lado, uma vez que a cultura é o método de diagnóstico mais comum, a

frequentemente utilizado em diferentes unidades hospitalares, pode levar a resultados falsos negativos, possivelmente devido ao não cumprimento do tempo de incubação recomendado <sup>(83)</sup>.

Outros métodos de diagnóstico, como a pesquisa de anticorpos ou antígenos, bem como a detecção por métodos moleculares, ainda não são utilizados na maioria dos hospitais e têm de ser enviados para laboratórios de referência. Além disso, a falta de informação sobre micologia dada aos profissionais de saúde nas diferentes especialidades foi também apontada como uma das razões para o subdiagnóstico desta e de outras infecções fúngicas. De acordo com os últimos dados publicados pelo *Grupo de Trabalho da Confederação Europeia de Micologia Médica*, apenas 118 casos de histoplasmose foram notificados na Europa entre 1995 e 1999, o que sugere uma possível subnotificação ou subdiagnóstico <sup>(83), (84)</sup>.

### **3.3.1. Epidemiologia molecular**

Em 1986, VINCENT *et al* efectuaram estudos epidemiológicos de *H. capsulatum* utilizando o método RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*). Vinte e uma amostras de *H. capsulatum* isoladas de seres humanos e animais foram agrupadas em três clados, com base no polimorfismo do seu ADN mitocondrial (mtDNA) e ADN ribossómico (rDNA). O clado 2 foi formado por 14 amostras de *H. capsulatum* var. *capsulatum* isoladas da América do Norte e duas amostras de *H. capsulatum* var. *duboisii* de África; o clado 3 inclui 4 isolados da América Central e do Sul <sup>(41), (121)</sup>.

Em 1992, KEATH e colaboradores alargaram os conhecimentos sobre a epidemiologia molecular da histoplasmose em indivíduos imunocomprometidos. Foram estudados isolados de um surto epidémico de histoplasmose em indivíduos com VIH/SIDA em Nova Iorque, EUA, onde a histoplasmose não é endémica, com o objetivo de determinar se a histoplasmose destes doentes era o resultado da reativação endógena de uma infeção previamente adquirida. Para classificar os isolados, os autores utilizaram padrões RFLP do DNA mitocondrial (mtDNA) e outro de um fragmento de 1,85 kb obtido pela digestão do gene YPS-3 com a enzima *hindIII*. Tanto os isolados obtidos de doentes com VIH como os provenientes de outras fontes foram agrupados em diferentes clados <sup>(124), (41)</sup>.

SPITZER e colaboradores alargaram os estudos de tipagem de estirpes de *H. capsulatum* através de RFLP do seu mtDNA e rDNA, agrupando os isolados clínicos e

do solo em quatro clados <sup>(122)</sup>, <sup>(41)</sup>. Os clados 1 e 3 correspondem à classificação de VINCENT e colaboradores <sup>(121)</sup>, enquanto os isolados do solo, provenientes de sete localizações geográficas diferentes nos EUA, apresentaram perfis indistinguíveis da maioria dos *H. capsulatum* de doentes e foram, por conseguinte, incluídos no clado 2<sup>(122)</sup>. Apenas um isolado do solo da Florida representou o clado 4<sup>(41)</sup>.

Louis, Missouri, mostrou padrões de RFLP do mtDNA hibridizados com a sonda yps-3 idênticos aos observados na estirpe Down (Clade 1), isolada do mesmo local há vários anos <sup>(41)</sup>. Este fenómeno foi confirmado pelas características fenotípicas destes isolados, tais como a incapacidade deste isolado de causar histoplasmose pulmonar disseminada ou crónica em doentes imunocomprometidos, mas não em doentes seropositivos, foram agrupados no Clade 2, que também inclui a maioria dos isolados clínicos de diferentes regiões dos EUA<sup>(123),(41)</sup>.

Muniz e colaboradores, 2010, tiveram como objetivo explorar a diversidade dos isolados de *H. capsulatum* no Brasil, analisou isolados de solo, animais e humanos usando três métodos moleculares diferentes: M13 PCR *fingerprinting*, PCR-RFLP e análise da sequência parcial de quatro genes codificadores de proteínas (*Arf-ADP ribosylation factor*, *H-anti-H antigen precursor*, *Ole-delta-9 fatty desaturase* e *Tub1-alpha-tubulin*) para análise filogenética. Estas metodologias permitiram agrupar os isolados nos três principais grupos moleculares (tipos I, II e III), onde foi possível observar 85% de concordância por região <sup>(41)</sup>. Com os 15% restantes, não foi possível demonstrar um genótipo exclusivo para uma determinada região geográfica, sugerindo que a migração e viagens por outros estados foi uma provável fonte de infecção primária. No entanto, os isolados do estado do Rio de Janeiro foram agrupados em um clado, sugerindo um único grupo clonal circulando nesse estado. Neste estudo, as três metodologias utilizadas tiveram sensibilidades semelhantes <sup>(4)</sup>, <sup>(1)</sup>.

Os isolados do Panamá também foram incluídos no Clade 5, mas mostraram uma

perfil de mtDNA que constituiu o subclado 5<sup>a</sup>. Cinco amostras de isolados de *H. capsulatum* de doentes com VIH residentes em Nova Iorque e provenientes de Porto Rico foram agrupadas no clado 5, com base no polimorfismo revelado pela sonda yps-3. Estes isolados deram origem a dois padrões diferentes de mtDNA designados como subclados 5b e 5c. Além disso, um isolado de um doente residente no Missouri e proveniente da América Central foi subclassificado como 5d <sup>(124), (41)</sup>. Este estudo permitiu alargar as classificações anteriores. Foi também adicionado um sexto clado, obtido de um doente com VIH do Panamá que apresentava um perfil único. Além disso, foi sugerida a existência de reativação endógena em casos de histoplasmose associada ao VIH diagnosticados em áreas não endémicas <sup>(41)</sup>.

Várias análises filogenéticas por técnicas moleculares da ordem Onygenales forneceram dados sobre a relação taxonómica entre fungos dimórficos. Estudos iniciais baseados em genes que codificam a subunidade 18S do RNA ribossómico demonstraram uma relação filogenética muito próxima entre *H. capsulatum* e *Blastomyces dermatitidis*, utilizando três métodos moleculares, sequenciação de DNA ribossómico, avaliação de perfis de DNA nuclear ("melting profiles") e hidridização DNA/DNA, com a construção de uma árvore filogenética para esta ordem, em que um ramo abrange apenas o género *Histoplasma*, separando-o dos outros agentes de micoses sistémicas. Um estudo de 46 amostras do género *Histoplasma*, baseado na sequenciação de quatro genes que codificam as proteínas ARF, H ANTI, OLE e TUB, sugere que o *H. capsulatum* poderia ser considerado como 6 espécies em vez de 3 variedades <sup>(41)</sup>.

Um estudo realizado no Rio de Janeiro utilizando a técnica RAPD (*Random amplification of polymorphic DNA*) comparando cepas locais com cepas da América do Norte mostrou menos de 70% de similaridade entre os grupos. As cepas provenientes da mesma área geográfica apresentaram 100% de similaridade, sugerindo que os microconídios ecológicos desempenham um papel importante na adaptação e diferenciação do *Histoplasma*. Neste mesmo estudo, isolados de pacientes HIV+, em diferentes colecções de espécimes clínicos, mostraram os mesmos genótipos, possivelmente estes indivíduos foram parasitados por uma única população genética <sup>(125)</sup>.

Parâmetros demográficos e clínicos de pacientes com HIV e histoplasmose de um estado brasileiro foram comparados com uma população similar nos EUA e com isolados sul-americanos. Neste estudo, a tipagem molecular do gene nuclear *YPS-3* revelou que os

isolados brasileiros se agruparam entre os clados 5 e 6 da América do Sul, e o RAPD mostrou perfis genéticos distintos em 20 isolados. Como os isolados dos Clados 5 e 6 estavam mais associados a lesões cutâneas na histoplasmose do que os isolados do Clado 2, sugeriu-se que as diferenças genéticas poderiam estar correlacionadas com a manifestação <sup>(41)</sup>.

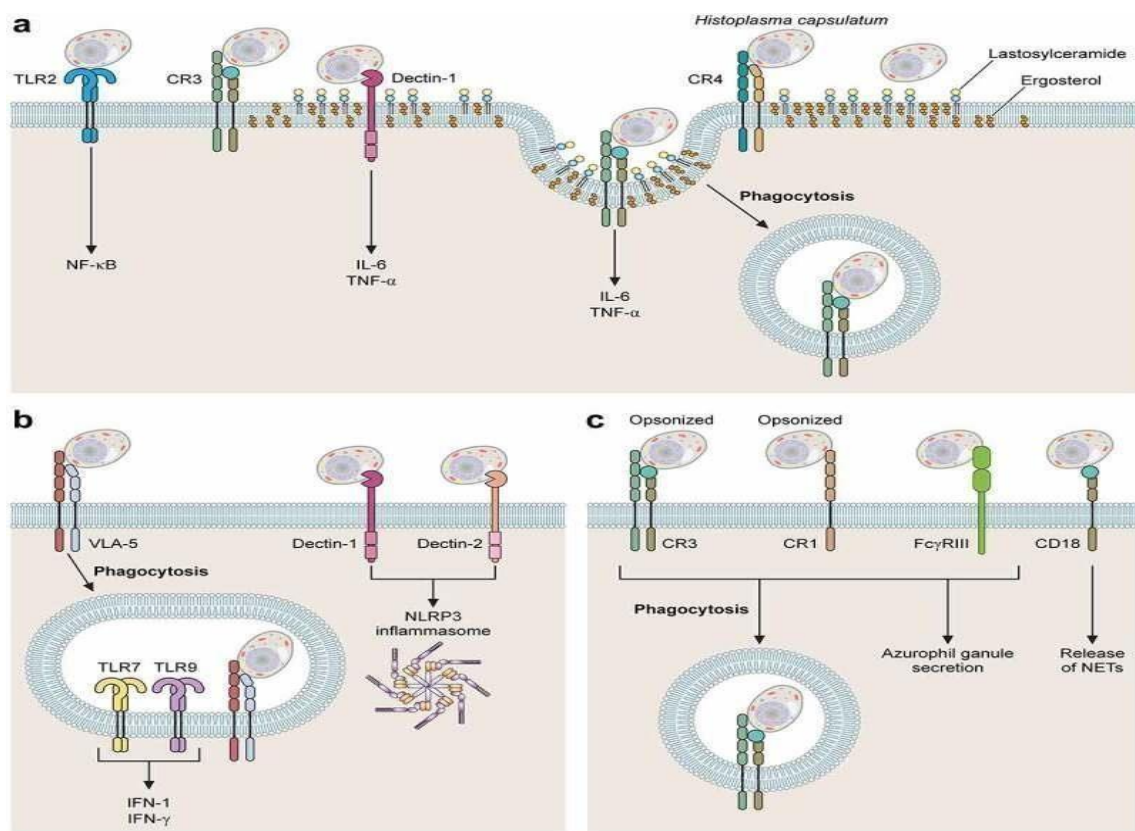
18 Foi efectuado um estudo filogenético de 137 espécimes de três espécies de seis continentes, utilizando a variação da sequência de ADN de genes que codificam quatro proteínas distintas. Foram descobertos oito clados. (i) Clado Norte-Americano 1; (ii) Clado Norte-Americano 2; (iii) Clado Latino-Americano Grupo A; (iv) Clado Latino-Americano Grupo B; (v) Clado Australiano; (vi) Clado Holandês (Indonésio?); (vii) Clado Eurasiático; e (viii) Clado Africano. O reconhecimento filogenético de espécies é possível para sete dos dois ramos devido ao seu isolamento genético. A única exceção foi a clade eurasiática, que foi incluída no grupo A do ramo latino-americano <sup>(41)</sup>.

Em todos os oito clados, foram detectadas estirpes distintas de *H. capsulatum*. Foram encontradas variedades de *Helicobacter capsulatum*, incluindo *H. capsulatum var. duboisii*, no clado africano. Verificou-se que três espécies filogenéticas albergavam treze isolados de *farciminosum*. Estes resultados lançam dúvidas sobre o significado evolutivo das três estirpes de *Histoplasma*. A importância de identificar populações distintas ou numerosos taxa taxonómicos não pode ser exagerada. A integração das taxas médias de substituição de genes codificantes com a análise filogenética indica que a radiação de *H. capsulatum* começou entre 3 e 13 milhões de anos atrás na América Latina <sup>(41)</sup>.

### **3.4. Patogénese**

A transmissão do *H. capsulatum* começa quando os microconídios ou partículas miceliais do fungo são ingeridos pelo hospedeiro. Quando estas partículas penetram nos alvéolos pulmonares, transformam-se em leveduras, uma forma mais adequada ao ambiente do corpo humano, devido a uma temperatura interna de 37°C. O processo de mudança pode ocorrer dentro do trato respiratório ou dentro das células do hospedeiro. A progressão da doença é influenciada pela capacidade do fungo de se adaptar ao ambiente do corpo humano e de se envolver com as capacidades do sistema imunitário inato <sup>(9)</sup>.

Após ser fagocitado pelos macrófagos, o *H. capsulatum* demonstra a capacidade de persistir e proliferar no interior dessas células, neutralizando as defesas imunológicas do hospedeiro. Posteriormente, o fungo pode atingir os gânglios linfáticos e entrar na corrente sanguínea, facilitando a sua disseminação para outros tecidos e órgãos, caracterizando a forma sistêmica e invasiva da histoplasmose. Sua disseminação é sustentada por mecanismos de virulência que interferem tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa <sup>(9)</sup>.



**Figura 3** - Principais receptores envolvidos no reconhecimento de *H. capsulatum* pelos fagócitos<sup>(9)</sup>.

**Fonte:** (VALDEZ *et. al.*, 2022) <sup>(9)</sup>.

A interação do *H. capsulatum* com os fagócitos envolve múltiplos receptores e mecanismos que desempenham papéis essenciais no reconhecimento e na resposta imunitária. Nos macrófagos, receptores como TLR2, CR3, CR4, Dectina-1 e LacCer reconhecem o fungo leveduriforme, ativando diferentes vias de sinalização. Em particular, o TLR2 e a Dectina-1 são fundamentais para a ativação do NF-kB, resultando

na produção de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 e o TNF- $\alpha$ . Durante a fagocitose, o recetor CR3 é dirigido para áreas específicas da membrana celular enriquecidas com lípidos.

Por outro lado, as células dendríticas utilizam receptores como o VLA-5, o CR3, a Dectina-1 e a Dectina-2 para mediar a interação com o fungo. O recetor VLA-5 é crucial no processo de fagocitose da levedura, enquanto o CR3 também contribui para a ingestão do fungo. Além disso, a Dectina-1 e a Dectina-2 activam o inflamassoma NLRP3, promovendo uma resposta inflamatória robusta.

Nos neutrófilos, o reconhecimento do *H. capsulatum* varia de acordo com a forma do fungo. Quando opsonizado, ele é identificado pelos receptores CR1 e CR3, enquanto a versão não opsonizada é reconhecida pelo Fc $\gamma$ RIII. Um aspeto importante é a liberação de NETs extracelulares de neutrófilos (NETs), que depende do recetor CD18, um elemento essencial na resposta imune ao fungo (Figura 3).

### **3.5. Patogénese e factores de risco em doentes infectados pelo VIH**

*O. H. capsulatum* tem uma ampla distribuição global e encontra-se especialmente em solos ricos em azoto, frequentemente enriquecidos com excrementos de aves e morcegos. Embora as aves não sejam susceptíveis de infeção ou colonização pelo fungo devido à sua elevada temperatura corporal, os seus excrementos proporcionam condições nutricionais ideais para o crescimento do fungo. Estudos indicam que o solo contaminado em locais anteriormente habitados por aves pode manter a presença do fungo durante mais de uma década, mesmo em ambientes urbanos <sup>(1), (55)</sup>.

Na maioria dos casos, a infeção por *H. capsulatum* começa com a inalação de microconídios ou fragmentos de hifas encontrados no solo contaminado. Quando chegam aos pulmões, estas estruturas convertem-se em leveduras devido às condições ideais proporcionadas pelo ambiente pulmonar. Em pessoas imunodeprimidas, a infeção também pode surgir através da reativação de focos latentes previamente estabelecidos <sup>(56), (1)</sup>. No interior do organismo, o fungo interage com diferentes células do sistema imunitário, incluindo macrófagos, neutrófilos e células dendríticas. Embora os neutrófilos e as células dendríticas sejam capazes de controlar ou eliminar o fungo, os macrófagos proporcionam um ambiente onde o *H. capsulatum* pode sobreviver e multiplicar-se. Este fungo adapta-se ao interior dos macrófagos, alterando o pH do ambiente intrafagossómico, assegurando a sua replicação. Este mecanismo permite

disseminação do fungo para órgãos como o fígado, o baço, a medula óssea e os gânglios linfáticos. A defesa contra esta infecção depende de uma resposta imunitária celular eficaz, sendo a imunidade celular particularmente importante para limitar a disseminação do fungo. Em indivíduos com imunossupressão grave, como os portadores de VIH, o risco de disseminação sistémica e de um desfecho fatal aumenta significativamente <sup>(1)</sup>.

Nas áreas endémicas, permanece a questão de saber se a histoplasmose sintomática é causada principalmente por uma nova exposição ao fungo ou pela reativação de infecções latentes. Ambas as situações são possíveis, embora algumas provas sugiram que os surtos em comunidades expostas estão frequentemente associados a reinfecções. Este facto é apoiado por radiografias ao tórax que revelam frequentemente gânglios linfáticos calcificados, um sinal de infecções anteriores. Estudos temporais, que incorporaram dados climáticos, indicaram que cerca de 70% dos casos de histoplasmose em pessoas com VIH em regiões endémicas podiam ser antecipados com base nas condições ambientais. Este padrão é reforçado pela clara sazonalidade observada nos casos notificados, sugerindo que, em áreas endémicas, as infecções sintomáticas resultam principalmente de novas exposições ao fungo, em vez de reactivações de infecções latentes <sup>(1)</sup>.

Foram identificados vários factores de risco para a histoplasmose, incluindo aspectos ambientais e profissionais e características individuais <sup>(1)</sup>.

A exposição a áreas contaminadas com guano de morcego ou de ave representa um risco significativo para a população em geral. Actividades como a exploração de grutas, o corte de madeira, o trabalho em locais de escavação ou a frequência de quintas e galinheiros estão entre as mais associadas à infecção. Em pessoas com VIH, foi demonstrada uma ligação significativa entre a exposição a galinheiros e o desenvolvimento de histoplasmose <sup>(57),(1)</sup>. Além disso, as profissões ou actividades que implicam o contacto com solo contaminado por excrementos de aves ou morcegos aumentam substancialmente o risco de contrair a infecção <sup>(58)</sup>.

Os factores do hospedeiro que aumentam o risco de desenvolver histoplasmose incluem uma contagem de células CD4 inferior a 200/mm<sup>3</sup>, níveis mínimos de CD4 (NADIR) inferiores a 50/mm<sup>3</sup>, contagens reduzidas de CD8 inferiores a 650/mm<sup>3</sup> e a ausência ou início recente (menos de seis meses) de terapêutica antirretroviral. Além

disso, a presença de infecções concomitantes, como o herpes simplex, e a ausência de terapia antifúngica sistêmica, como o fluconazol, estão também associadas a um risco acrescido, sendo o sexo masculino frequentemente identificado como um fator predisponente <sup>(58), (1)</sup>. Embora existam registros de transmissão de *H. capsulatum* através de transplantes de órgãos de doadores infectados, não existem provas que apontem para a transmissão direta de pessoa para pessoa <sup>(59), (1)</sup>.

### 3.6. Factores de virulência

O *H. capsulatum* é um fungo patogénico primário, capaz de causar desde infecções assintomáticas ou doenças pulmonares autolimitadas em indivíduos imunocompetentes até formas disseminadas graves em hospedeiros imunocomprometidos. Estas manifestações graves podem surgir após a inalação inicial do fungo ou através da reativação de infecções latentes, especialmente em indivíduos com imunossupressão grave, como aqueles com contagens de CD4 inferiores a 50 células/ $\mu$ L. No entanto, a doença disseminada também pode ocorrer em doentes com contagens de CD4 inferiores a 100 células/ $\mu$ L, sendo factores de risco adicionais condições como a D4 idiopática e a síndrome de imunodeficiência do adulto <sup>(63)</sup>.

Entre os principais factores de virulência do *H. capsulatum* encontra-se o pequeno tamanho dos seus esporos (2-3  $\mu$ m), que facilita a sua entrada nos alvéolos pulmonares. Este fungo dimórfico adapta-se ao ambiente do hospedeiro, mudando da forma filamentosa presente no ambiente para a forma de levedura no corpo humano. Essa transição, essencial para a sobrevivência e multiplicação do fungo, ocorre quando ele é fagocitado por macrófagos, permitindo sua replicação intracelular e eventual lise celular<sup>(4)</sup>.

A forma parasitária do fungo, observada em tecidos ou em cultura laboratorial a 37 °C, consiste em leveduras unicelulares com uma forma oval e uma única geminação, medindo entre 1 e 5  $\mu$ m. Esta morfologia é crucial para a capacidade do fungo de sobreviver e proliferar no interior das células do hospedeiro <sup>(5)</sup>.

O *H. capsulatum* utiliza vários factores de virulência para escapar ao sistema imunitário do hospedeiro. O termodimorfismo desempenha um papel central na transição para a forma de levedura, enquanto as proteínas adesinas, como a HPS60 e a HPS82, facilitam o reconhecimento pelo macrófago e a fagocitose subsequente. Além disso, moléculas como Eng1 ajudam a impedir que o,3-glucano da parede celular

interaja com o recetor Dectin-1 nos macrófagos, suprimindo assim a resposta. Outras moléculas, como a AGS1, regulam a produção de  $\alpha$ -1,3-glucano, conferindo ao fungo proteção contra os mecanismos de defesa do hospedeiro <sup>(5)</sup>.

As catalases (Cat B) e as superóxido dismutases (SOD3) desempenham um papel fundamental na neutralização das espécies reactivas de oxigénio geradas pelos fagócitos, enquanto os sideróforos permitem a absorção eficiente de ferro, que é essencial para o crescimento intracelular do fungo. Estes factores de virulência não só garantem a sobrevivência do *H. capsulatum* em ambientes hostis, como também modulam a resposta imunitária, tornando o fungo mais difícil de eliminar pelo organismo hospedeiro <sup>(5)</sup>. Ao mascarar a sua presença e ao reduzir a eficácia das defesas imunitárias, o *H. capsulatum* assegura a sua replicação e propagação, constituindo um desafio significativo para o controlo das infecções fúngicas em indivíduos vulneráveis.

### **3.7. Risco ambiental**

O desenvolvimento do *H. capsulatum* é fortemente condicionado por factores ambientais como a humidade, a temperatura e a composição química do solo. Este fungo desenvolve-se em ambientes com temperaturas médias anuais entre 22°C e 29°C, associadas a regiões tropicais e subtropicais, com humidade relativa entre 60% e 80%, e elevada precipitação anual entre 800 e 1200 mm. No entanto, foram documentados casos autóctones de histoplasmose em locais com características climáticas diferentes das condições consideradas ideais, o que sugere a adaptabilidade do fungo a novos contextos ecológicos <sup>(9), (65)</sup>.

Os solos onde o *H. capsulatum* é mais frequentemente encontrado têm um pH ácido, geralmente entre 5 e 10, e são ricos em compostos de azoto e fosfato, frequentemente associados à presença de matéria orgânica em decomposição, como o guano. A concentração do fungo ocorre em microfocos, localizados a profundidades de 5 a 15 centímetros abaixo da superfície do solo, em vez de se distribuir uniformemente <sup>(9)</sup>. A sua dispersão no ambiente é facilitada por actividades humanas, como escavações, construção e actividades recreativas, que geram partículas aerossolizadas contendo esporos de fungos. Estas partículas podem ser transportadas pelo vento, permitindo que os esporos sejam inalados mesmo por pessoas que não tenham tido contacto directo com a fonte de infeção <sup>(65)</sup>.

Os habitats naturais do fungo incluem ambientes húmidos e quentes, como

grutas, galinheiros, minas, edifícios abandonados e caves. Estudos realizados no século XX, incluindo as investigações de Emmons (1949) e Ajello (1964), estabeleceram uma ligação clara entre a presença do fungo e áreas habitadas por aves, especialmente galinhas. Embora as aves não sejam infectadas pelo fungo devido à sua elevada temperatura corporal, os seus excrementos proporcionam condições ideais para o crescimento do fungo no solo <sup>(9), (65), (66), (67)</sup>.

Outras espécies, como os pombos, também desempenham um papel importante na propagação do *H. capsulatum*. Nas zonas urbanas, estas aves podem transportar partículas fúngicas em partes do seu corpo, como as asas, as patas e os bicos, enquanto os seus locais de nidificação acumulam excrementos que favorecem a proliferação do fungo. Locais como telhados, parques urbanos e áreas próximas de edifícios abandonados têm frequentemente concentrações significativas do fungo <sup>(9), (68)</sup>.

Os morcegos, por sua vez, são considerados os principais reservatórios urbanos do fungo, principalmente em ambientes como cavernas e áreas urbanizadas. Estes mamíferos, que vivem em grandes colónias e têm um ciclo de vida longo (com algumas espécies a viverem até 20 anos), têm a capacidade de dispersar esporos viáveis a longas distâncias. O seu curto trato gastrointestinal permite que os esporos sejam excretados rapidamente e em grandes quantidades, facilitando a contaminação de ambientes como sótãos, lajes e parques urbanos, bem como de zonas periféricas com vegetação <sup>(3), (9), (68)</sup>.

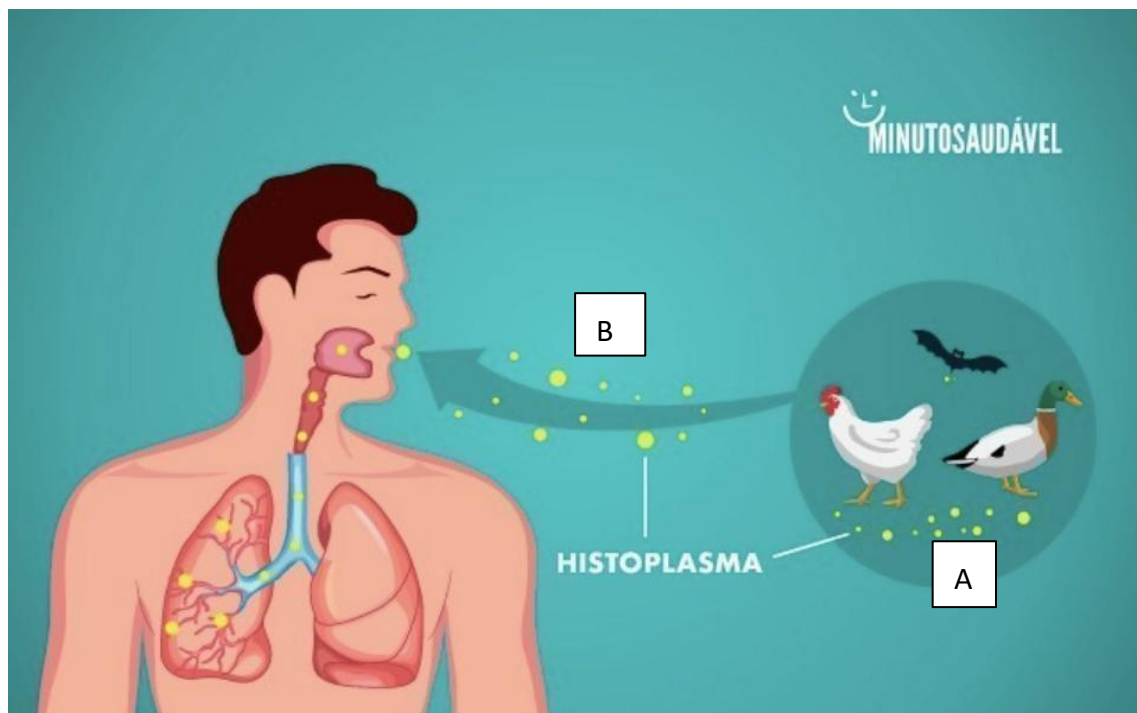
### **3.8. Transmissão**

O principal habitat do *H. capsulatum* é o solo, onde pode persistir durante longos períodos de tempo. Além disso, os morcegos são importantes repositórios persistentes do fungo, uma vez que os seus excrementos, tal como os das aves, criam um ambiente rico em nutrientes propício à proliferação da bactéria. O principal modo de transmissão é a absorção de microconídios presentes no ar, resultando na primeira contaminação dos pulmões (Figura 4). Em pessoas imunocompetentes, a infeção é tipicamente assintomática ou apresenta sintomas ligeiros e temporários, semelhantes aos da constipação comum ou da gripe<sup>(2)</sup>. Em alguns casos, podem permanecer calcificações residuais nos pulmões, formando nódulos semelhantes aos observados nas infeções por tuberculose.

No entanto, grupos demográficos específicos apresentam uma maior vulnerabilidade à variante disseminada da doença, incluindo bebés com menos de um ano, indivíduos com mais de 60 anos de idade e pessoas imunocomprometidas, como as que recebem tratamento

com corticosteróides, quimioterapia, receptores de transplantes de órgãos ou indivíduos contaminados com VIH (10).

Vários elementos afectam o avanço e a intensidade da infecção, incluindo a quantidade de esporos ingeridos e a condição imunológica do hospedeiro. Geralmente, a maioria das infecções é assintomática, particularmente em pessoas com um sistema imunitário forte e com uma exposição mínima ao fungo (10), (11).



**Figura 4 - Ciclo de infecção por *H. capsulatum*. Fonte: (Minuto Saudável)<sup>(61)</sup>.**

(A). Contaminação do solo com guano de aves e morcegos, um ambiente favorável ao crescimento dos fungos. (B). Inalação de microconídios infectados no ar.

Após a inalação, os conídios atingem os pulmões, onde desencadeiam uma resposta inflamatória inicial. Para escapar à ação dos fagócitos e sobreviver no meio intracelular, o *H. capsulatum* desenvolveu mecanismos adaptativos que asseguram a sua persistência e replicação (2).

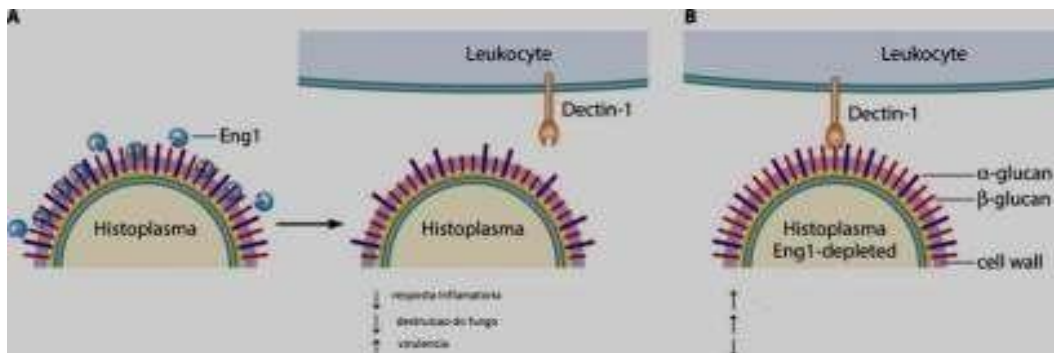
### **3.8.1. Resposta do hospedeiro devido à ação dos conídios:**

Quando inalados, os conídios de *H. capsulatum* passam pelas vias respiratórias superiores, onde encontram as primeiras barreiras defensivas do organismo. Estas barreiras físicas e mecânicas incluem a retenção pelos cílios do epitélio respiratório, a produção e eliminação de muco nasal e o reflexo da tosse, que actuam para impedir a

entrada de partículas nocivas. No entanto, devido ao pequeno tamanho dos conídios e a possíveis deficiências nestes mecanismos - especialmente em indivíduos imunocomprometidos - os propágulos conseguem chegar aos alvéolos pulmonares, onde desencadeiam a ativação da resposta celular inata <sup>(2)</sup>.

Em indivíduos imunodeprimidos, como os portadores do vírus da imunodeficiência humana (VIH), a eficácia das barreiras mecânicas e imunológicas é reduzida. Nestas condições, os conídios sobrevivem e atingem os pulmões, onde germinam entre 12 e 15 horas após a inalação, transformando-se na forma leveduriforme que é essencial para a patogenicidade do fungo <sup>(2)</sup>.

Os padrões moleculares associados aos agentes patogênicos (PAMPs) são moléculas que se encontram na superfície dos fungos, como o *H. capsulatum*. A histoplasmose baseia-se no  $\beta$ -glucano como o seu principal antigénio. Este desencadeia uma resposta inflamatória precoce quando é detectado pelos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) do sistema imunitário inato. Mas, para evitar esta identificação imunológica, o *H. capsulatum* concebeu um plano inteligente: produz uma camada extra de  $\alpha$ -1,3-glucano para cobrir o antigénio. Esta camada, como se mostra na Figura 5, inibe a eficiência da defesa do hospedeiro ao impedir que os receptores PRR detectem adequadamente o antigénio.



**Figura 5** Padrões moleculares associados aos agentes patogênicos de *H. capsulatum* <sup>(2)</sup>. **Fonte:** (VILANCULO, 2017) <sup>(2)</sup>.

A figura ilustra os padrões moleculares associados aos *agentes patogênicos de H. capsulatum*, quando se ligam ao 1,3-glucano <sup>(2)</sup>.

### 3.9. Manifestações clínicas

A histoplasmose pode apresentar diferentes quadros clínicos, desde infecções assintomáticas a doenças graves, dependendo da extensão da infecção e da resposta

imunitária do hospedeiro. Os sintomas mais comuns incluem febre, tosse persistente, fadiga, mialgia, cefaleias e desconforto torácico. Em casos mais graves, podem ocorrer complicações como inflamação do pericárdio, obstrução dos brônquios, formação de nódulos pulmonares e fibrose mediastinal. Na forma disseminada, os sintomas dependem do órgão afetado, podendo atingir o sistema nervoso central, o trato gastrointestinal ou a pele, estando frequentemente associada a uma elevada taxa de mortalidade

(5),(6).

### **3.10. Aspectos clínicos da histoplasmose**

A infecção por *H. capsulatum* ocorre através da inalação de partículas do fungo no ar de ambientes contaminados, como solos ricos em matéria orgânica. Uma vez inalados, os conídios chegam aos pulmões e são fagocitados por células do sistema imunitário, como os macrófagos e os neutrófilos. Sob a influência de uma temperatura corporal de 37°C, o fungo converte-se na sua forma de levedura, desencadeando alterações inflamatórias que iniciam o processo de infecção <sup>(14)</sup>.

A histoplasmose é classificada como uma micose granulomatosa, caracterizada por diferentes manifestações clínicas que dependem da carga fúngica inalada e da capacidade de resposta imunitária do indivíduo. Estas manifestações podem variar desde formas assintomáticas, que são comuns em hospedeiros imunocompetentes, até formas pulmonares crônicas ou disseminadas, que afectam predominantemente indivíduos imunocomprometidos. As complicações mais graves incluem a inflamação do mediastino e a formação de tecido fibroso, que pode levar a disfunções graves do sistema respiratório <sup>(14), (16)</sup>.

## 4. Tipos de histoplasmose

### 4.1. Classificação com base nas manifestações clínicas e na gravidade

#### 4.1.1. Histoplasmose assintomática

A histoplasmose assintomática é a forma mais comum de infeção em indivíduos com sistemas imunitários competentes. Nesta condição, o doente não apresenta sintomas e o diagnóstico é muitas vezes feito por acaso, através de exames complementares como a TAC pulmonar, que pode mostrar reacções locais. Esta forma é geralmente identificada pela combinação de testes micológicos, histopatológicos e serológicos, que mostram uma resposta tecidual granulomatosa às partículas fúngicas (14, 17). A elevada frequência desta forma assintomática reflecte a capacidade do sistema imunitário para conter a infeção sem sinais clínicos óbvios (14).

#### 4.1.2. Histoplasmose pulmonar aguda

Quando o *H. capsulatum* infecta hospedeiros imunocompetentes, o resultado é a histoplasmose pulmonar aguda. Após um período de incubação de 7-21 dias, algumas pessoas podem apresentar sintomas ligeiros semelhantes aos da gripe, mas a maioria não os apresenta. Febre, calafrios, tosse seca, dor de cabeça, letargia e, em raras ocasiões, dispneia estão entre os sintomas mais prevalentes. Embora estes sintomas desapareçam frequentemente por si próprios no espaço de um ou dois meses, podem persistir ou mesmo agravar-se em casos raros ((18)).

Particularmente em pessoas que residem em regiões endémicas, as radiografias do tórax tiradas por doentes com este tipo de doença podem revelar uma coloração específica da pneumonite ou infiltração intersticial. Nos casos mais graves, pode formar-se uma infiltração retículo-nodular difusa como resultado de uma infeção pulmonar, que normalmente afecta as porções apical e posterior dos pulmões. Nos casos mais graves, a infiltração pode transformar-se em nódulos de maiores dimensões com padrões de "vidro despolido" e calcificação posterior. No entanto, o envolvimento pleural é raro(18)

Quando expostos a uma carga fúngica elevada, os sintomas podem progredir rapidamente para a síndrome de dificuldade respiratória aguda. Nestas situações, é essencial o diagnóstico diferencial com doenças como a pneumonia adquirida na comunidade, a gripe, a pneumonite alérgica, a sarcoidose e as infecções por *Pneumocystis jirovecii*. A história clínica do doente desempenha um papel crucial no

diagnóstico e deve incluir informações sobre a exposição recente a solo contaminado, limpeza de galinheiros, contacto com excrementos de morcego ou manuseamento de fertilizantes orgânicos não tratados. A identificação de surtos em áreas endémicas também pode ser um indicador importante para suspeitar desta forma de histoplasmose (18).

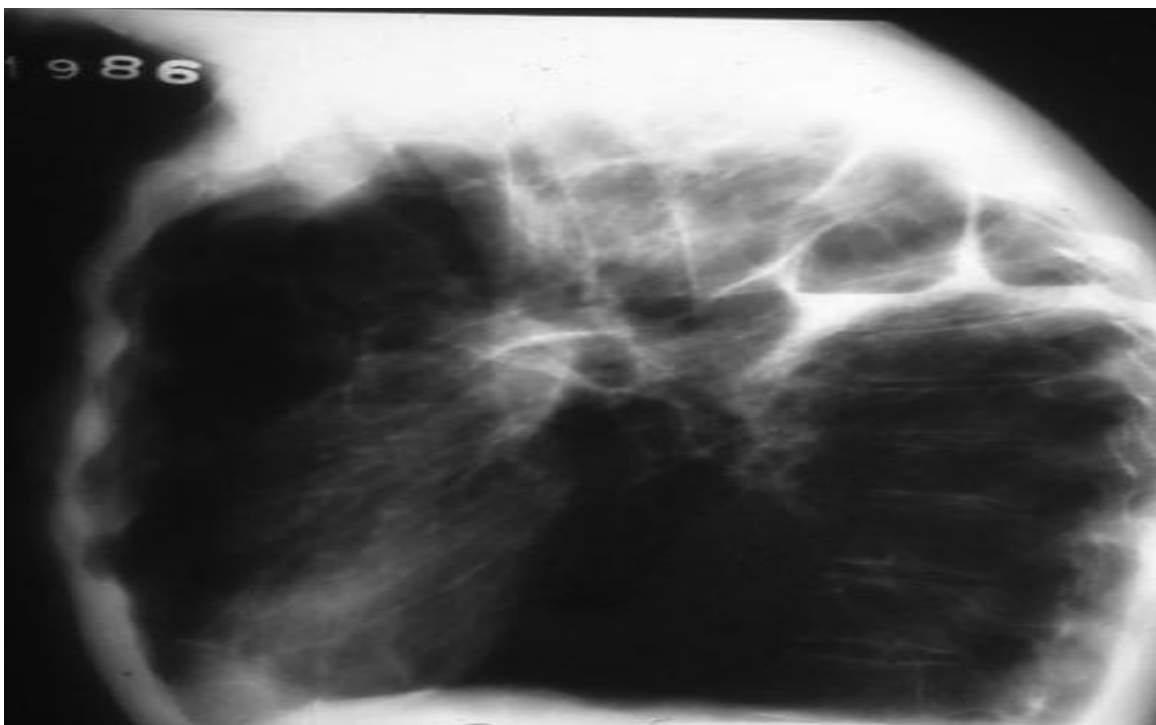


**Figura 6.** histoplasmose pulmonar aguda grave num homem que foi exposto a um grande inóculo de *H. capsulatum* enquanto limpava guano de aves e morcegos acumulado num pilar de uma ponte (19). **Fonte:** (KAUFFMAN, 2007)(19).

#### 4.1.3. Histoplasmose pulmonar crónica

A histoplasmose pulmonar crónica distingue-se de outras infecções fúngicas pela sua maior prevalência em pessoas idosas, frequentemente associada à presença de enfisema pulmonar. Esta condição raramente se desenvolve em indivíduos sem doenças pulmonares prévias. Estudos clássicos, como os realizados por Goodwin et al., identificaram que a inflamação intersticial causada pela infeção tende a ocorrer em áreas enfisematosas (19). Uma característica marcante é o espessamento das paredes pulmonares, muitas vezes seguido de necrose e fibrose, que pode resultar na formação de grandes cavidades persistentes. Em casos avançados, estas alterações fibrosas podem levar à perda de volume nos lobos superiores, acabando por consumir um lobo inteiro devido ao processo de necrose contínua. Nos lobos inferiores, presume-se que a fibrose intersticial seja causada pela disseminação de antigénios fúngicos para áreas adjacentes, embora esta hipótese ainda não esteja totalmente comprovada (Figura 7).

A perda de volume nos lobos superiores devido ao aumento da fibrose é exclusiva da histoplasmose crónica, na qual a necrose contínua aumenta o tamanho da cavidade, que pode consumir um lobo inteiro <sup>(19)</sup>. A libertação de antígeno fúngico em porções do pulmão é o mecanismo presumido, mas não verificado, para o desenvolvimento de fibrose intersticial nos lobos inferiores <sup>(19)</sup>.



**Figura 7.** Radiografia lateral do tórax de um doente com enfisema grave e doença grave de histoplasmose pulmonar cavitária crónica <sup>(19)</sup>. **Fonte:** (KAUFFMAN, 2007) <sup>(19)</sup>.

O espessamento pleural junto às lesões cavitárias nos ápices pulmonares é uma característica frequente da histoplasmose pulmonar crónica, embora os derrames pleurais sejam raros <sup>(20)</sup>. Em alguns casos, podem ser identificados gânglios linfáticos calcificados no mediastino. No entanto, a presença de linfadenopatia mediastínica ou hilar visível em radiografias é pouco frequente tipo de histoplasmose. De acordo com os dados de GOODIN *et al* <sup>(20)</sup>, num estudo que envolveu 228 doentes, não foi observada disseminação para outros órgãos.

WHEAT *et. al.* <sup>(13), (33)</sup> descreveram casos de doença pulmonar após um surto significativo de histoplasmose em Indianápolis, Indiana, na década de 1970. Nem todas as pessoas afectadas tinham antecedentes de doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) e 11% dos doentes apresentaram resolução das lesões cavitárias e alívio dos

sintomas após tratamento antifúngico. Apenas um doente desenvolveu histoplasmose disseminada, um desfecho raro nesta forma clínica. As diferenças entre os casos descritos por GOODIN *et. al.* (20) e WHEAT *et. al.* (13),(33) podem estar relacionadas à época da infecção e ao acesso aos serviços de saúde. Enquanto os pacientes estudados por Goodwin foram atendidos num hospital especializado em doenças do tórax e tinham condições pulmonares pré-existentes, os casos relatados por Wheat surgiram logo após um surto, o que pode ter levado a diagnósticos em fases mais precoces (19).

Os sintomas mais comuns desta forma clínica incluem fadiga, febre, suores noturnos, perda de peso, tosse persistente e, em alguns casos, hemoptise. Esta última pode ser ligeira, mas em situações graves, como o desenvolvimento de aspergilomas, pode tornar-se mais grave. Sem intervenção, a doença pode levar a uma insuficiência respiratória progressiva e, eventualmente, à morte. No entanto, a mortalidade está mais frequentemente relacionada com complicações estruturais pulmonares do que com a infecção ativa (19).

O diagnóstico diferencial desta patologia deve incluir infecções como a tuberculose e *as micobacterioses* não tuberculosas (*Mycobacterium avium* e *Mycobacterium kansasii*), bem como outras micoses endémicas como a blastomicose e a coccidioidomicose, para além de doenças não infecciosas como a sarcoidose (19).

#### **4.1.4. Histoplasmose disseminada progressiva (PDH)**

A histoplasmose disseminada progressiva (HDP) é uma manifestação grave e potencialmente fatal do *Histoplasma capsulatum*. É reconhecida como uma infecção oportunista no contexto do VIH/SIDA, e foi classificada pela Organização Mundial de Saúde como uma das condições definidoras da síndrome desde 1987 (64).

Esta forma ocorre devido à disseminação sistémica do fungo para além do pulmão, afectando múltiplos órgãos e tecidos. Pode resultar da reativação de uma infecção latente ou da disseminação de uma infecção recente. Os indivíduos mais vulneráveis incluem doentes imunocomprometidos, tais como doentes transplantados, indivíduos sob terapêutica prolongada com corticosteróides ou tratamento com agentes imunossuppressores, bem aqueles com contagens de CD4 inferiores a 150 células/ $\mu$ L (21).

O curso clínico da HDP pode ser classificado de acordo com o seu tempo de evolução e as suas manifestações clínicas e patológicas da seguinte forma forma aguda

com manifestações com menos de 15 dias de evolução, com falência múltipla de órgãos, coagulopatia, infiltração maciça dos tecidos pelo fungo e morte; forma subaguda com envolvimento principalmente da mucosa do trato intestinal e glândula adrenal, sintomas de aproximadamente 30 dias de evolução; e no outro extremo, uma forma crónica com diminuição da levedura contida em granulomas que muitas vezes são encontrados no fígado, com aproximadamente 3 meses de evolução<sup>(22),(21)</sup>.

A infeção do Sistema Nervoso Central (SNC) ocorre em 5 a 10% dos doentes com histoplasmose disseminada <sup>(69)</sup>. O reconhecimento, o diagnóstico e o tratamento da histoplasmose do SNC não estão bem caracterizados <sup>(69)</sup>. As características clínicas, os testes de diagnóstico adequados e os regimes de tratamento recomendados para a avaliação e tratamento da histoplasmose do SNC baseiam-se em relatos de casos e pequenas séries de casos de doentes <sup>(70), (69)</sup>. Estes estudos mostraram que as características clínicas mais comuns da histoplasmose do SNC consistem em meningite crónica <sup>(69)</sup>, lesões focais no cérebro ou na medula espinal, síndromes de AVC, encefalite e doentes imunocompetentes <sup>(69)</sup>.

A morbidade e a mortalidade parecem ser elevadas em doentes com histoplasmose do SNC, com elevadas taxas de recaída. Apesar de cursos prolongados de tratamento, a letalidade foi de 39%, com metade dos sobreviventes do SNC, 3 de 5 doentes morreram e 1 recidivou apesar do tratamento com desoxicolato de anfotericina B (AMB-D) seguido de fluconazol ou itraconazol <sup>(70)</sup>. Esta experiência mostra que o resultado pode ser mau nalguns doentes <sup>(69)</sup>.

#### **4.1.4.1. Grupos de doentes em risco de histoplasmose disseminada**

O início da histoplasmose disseminada está diretamente relacionado com o estado imunitário do hospedeiro. Se um doente com *H. capsulatum* não montar uma resposta imunitária celular eficaz contra o *H. capsulatum*, é mais provável que desenvolva sintomas durante a fase de disseminação aguda <sup>(19)</sup>. Este grupo inclui pessoas com VIH/SIDA, receptores de transplantes, doentes com neoplasias hematológicas e pessoas tratadas com corticosteróides <sup>(44)</sup>.

Os bebés, devido à imaturidade do seu sistema imunitário, são um grupo particularmente vulnerável, com um risco mais elevado de desenvolver formas graves da infeção. Além disso, os indivíduos que adquirem condições imunossupressoras anos depois de deixarem as áreas endémicas podem reativar uma infeção latente, resultando

em casos graves de histoplasmose disseminada<sup>45</sup>).<sup>(19)</sup>.

Os indivíduos que adquirem condições imunossupressoras muitos anos depois de terem estado em regiões endêmicas podem reativar infecções latentes por *Histoplasma capsulatum*, o que pode levar ao desenvolvimento de histoplasmose disseminada em formas graves<sup>(46)</sup>.<sup>(19)</sup>.

A epidemia de VIH/SIDA veio acrescentar uma nova dimensão à gama de doenças associadas à histoplasmose disseminada<sup>(47)</sup>.<sup>(19)</sup>. O risco é particularmente elevado em doentes com contagens de CD4 inferiores a 150 células/ $\mu$ L<sup>(19)</sup>. Antes da introdução de terapias anti-retrovirais eficazes, os estudos mostraram taxas significativas de histoplasmose subclínica em populações com VIH que vivem em áreas endêmicas. Entre os doentes com SIDA, a doença representava frequentemente um marco na progressão clínica da infeção. Com o advento da terapia antirretroviral, os casos de histoplasmose disseminada tornaram-se menos comuns em países como os Estados Unidos, embora ainda sejam uma preocupação em regiões como a América Central, onde continua a ser uma infeção oportunista relevante<sup>(48)</sup>.<sup>(19)</sup>.

Outras condições imunossupressoras também sublinham o papel crítico da imunidade celular na proteção contra a histoplasmose disseminada. Foram notificados casos graves em doentes tratados com antagonistas do fator de necrose tumoral, como o etanercept (*Enbrel*) e o infliximab (*Remicade*)<sup>(19)</sup>. As deficiências no recetor do interferão gama têm sido associadas a formas persistentes e recorrentes da doença. Além disso, a síndrome da hiperimmunoglobulina M, caracterizada por alterações nas células T e na produção de imunoglobulinas, também foi identificada como um fator de risco significativo para a histoplasmose disseminada<sup>(19)</sup>.

A histoplasmose crónica progressiva disseminada refere-se a uma infeção lentamente progressiva e, sem tratamento, frequentemente fatal, causada pelo *H. capsulatum*. Esta forma da doença é mais comum em pessoas idosas que, embora não tenham imunossupressão aguda, mostram uma incapacidade dos macrófagos para eliminar eficazmente o fungo<sup>(19)</sup>.<sup>(49)</sup>. Suspeita-se de um defeito específico na resposta imunitária celular a este agente patogénico. Ao contrário da forma aguda, que é rapidamente fatal em bebés e em doentes imunodeprimidos, a evolução da infeção crónica pode durar vários meses, mas continua a ser fatal sem intervenção terapêutica<sup>(19)</sup>.

Os sintomas comuns incluem febre, cansaço, perda de apetite e de peso. Durante o exame físico, podem ser observados sinais como o aumento do fígado e do baço (hepatoesplenomegalia), linfadenopatia, palidez e petéquias em casos de pancitopenia. Para além disso, é possível identificar ulcerações na mucosa oral, lesões cutâneas como úlceras, nódulos ou pápulas <sup>(19)</sup>.

As análises laboratoriais mostram frequentemente níveis elevados de fosfatase alcalina, pancitopenia, aumento da velocidade de sedimentação de Westergren, proteína C-reactiva elevada, níveis elevados de desidrogenase láctica e ferritina elevada. Nenhum destes resultados é específico da histoplasmose disseminada, mas são indicativos da doença em doentes com factores de risco conhecidos. A hipercalcemia é rara, mas pode ocorrer, semelhante à observada noutras doenças granulomatosas <sup>(19)</sup>.

Nas radiografias de tórax, os achados podem variar de normais a infiltrados reticulonodulares difusos. Devido às semelhanças de algumas manifestações com a sarcoidose, é crucial excluir a possibilidade de histoplasmose antes de estabelecer o diagnóstico definitivo de sarcoidose <sup>(19)</sup>.

O trato gastrointestinal é frequentemente afetado na histoplasmose disseminada, como indicado por estudos de autópsia, mas em muitos casos permanece assintomático ou manifesta-se com sintomas vagos, como desconforto abdominal <sup>(19)</sup>. Em doentes com VIH, os sintomas tendem a ser mais óbvios, incluindo dor abdominal recorrente e diarreia grave que pode levar a má absorção <sup>(51)</sup>. Estas manifestações podem simular outras infecções oportunistas relacionadas com a SIDA. O diagnóstico geralmente só é confirmado após a análise de biópsias obtidas por laparotomia ou colonoscopia, onde são identificadas leveduras típicas de *Histoplasma capsulatum*. O cólon é o mais frequentemente afetado, seguido do intestino delgado, e as lesões incluem ulcerações, formações polipóides, estenoses e, em casos graves, perfurações <sup>(19)</sup>.

Certas complicações são mais comuns na histoplasmose disseminada do que noutras infecções fúngicas. A doença de Addison, por exemplo, ocorre quando as glândulas supra-renais sofrem uma destruição extensa em consequência da infeção. Os sintomas incluem febre, mal-estar, hipotensão postural, náuseas e vômitos, frequentemente acompanhados de hipercalcemia, hiponatremia e eosinofilia. Os exames imagiológicos, como a tomografia computadorizada, podem revelar glândulas supra-renais aumentadas com áreas de necrose. A insuficiência suprarrenal, embora menos frequente

atualmente, era uma causa comum de mortalidade nas décadas passadas <sup>(19)</sup>

As lesões mucocutâneas são outro achado típico, especialmente em áreas como a língua, as gengivas, os lábios, a mucosa oral e a faringe. Estas lesões podem variar desde úlceras superficiais a massas verrucosas. Embora raras, foram relatadas lesões orais isoladas em pacientes sem outros sinais de infecção disseminada, mas são incomuns e devem ser tratadas como potenciais indicadores de doença disseminada<sup>(19)</sup>. Por exemplo, o envolvimento do trato genitourinário é frequente em autópsias de doentes com infecção disseminada, mas os sintomas clínicos são raros. Em casos isolados, foram registados abscessos testiculares e prostáticos, epididimite e ulcerações da bexiga. Muitas vezes, o diagnóstico só é confirmado após análise histológica ou biópsia, que revela as leveduras características <sup>(52)</sup>.

A infecção osteoarticular, embora rara, é uma manifestação possível da histoplasmose. Pode envolver articulações nativas ou protéticas, causando artrite séptica, ou apresentar-se como osteomielite. Também foram documentados casos como a síndrome do túnel cárpico, devido ao envolvimento dos tendões. O diagnóstico é geralmente estabelecido por cultura de material colhido durante a cirurgia ou de fluidos sinoviais

<sup>(53)</sup>, <sup>(19)</sup>. Por último, as infecções em locais menos comuns, como a vesícula biliar, a mama, o timo ou as glândulas salivares, são raras e, na maioria das vezes, apenas diagnosticadas em autópsias

<sup>(54)</sup>, <sup>(19)</sup>.

Os sintomas pulmonares não são geralmente a principal manifestação clínica na histoplasmose disseminada progressiva. Em alguns casos, pode haver uma tosse seca acompanhada por um padrão reticulo-nodular de tipo miliar nos exames imagiológicos, embora os estudos radiológicos possam mostrar resultados normais em quase metade dos casos <sup>(21)</sup>.

Entre os factores de risco associados à histoplasmose disseminada em doentes com VIH contam-se a hepatomegalia, contagens de CD4 inferiores a 75 células/ $\mu$ L e níveis de desidrogenase láctica cinco vezes superiores ao normal. O reconhecimento desta condição é crucial para melhorar as hipóteses de sobrevivência, especialmente em regiões com poucos recursos, onde o diagnóstico presuntivo é essencial. Nestes contextos, o diagnóstico diferencial deve incluir outras doenças, como a tuberculose disseminada e a leishmaniose visceral <sup>(23)</sup>, <sup>(21)</sup>. Nas pessoas que vivem com VIH/SIDA,

os sinais e sintomas da histoplasmose são inespecíficos, o que requer atenção à possibilidade de infecções oportunistas concomitantes. Entre as infecções mais comuns estão a tuberculose, a criptococose e a pneumocistose, que muitas vezes ocorrem simultaneamente <sup>(21)</sup>.

## **4.2. Classificação com base em factores específicos**

### **4.2.1. Histoplasmose oportunista**

Em regiões onde a doença é endémica, a infeção pode manifestar-se em associação com patologias como o VIH, lúpus eritematoso sistémico, leucemia, linfossarcoma, doença de Hodgkin ou qualquer outra condição que comprometa a imunidade celular, incluindo casos de doentes transplantados. O uso de corticosteróides e drogas citotóxicas aumenta significativamente o risco de desenvolvimento de histoplasmose disseminada. Nestes cenários, a micose pode surgir quer por reinfeção endógena, quer por uma nova infeção exógena. A febre é um sintoma constante e, em áreas endémicas, a possibilidade de micose deve ser considerada em indivíduos imunossuprimidos que apresentem febre de origem indeterminada. Outros sinais clínicos podem incluir uma tosse improdutiva ou inexistente, dispneia e alterações radiológicas nos pulmões, tais como infiltrados intersticiais difusos. Para além disso, são comuns a hepatomegalia, a esplenomegalia, a anemia, a leucopenia e a trombocitopenia <sup>(41)</sup>.

### **4.2.2. Histoplasmose africana**

Esta infeção fúngica, conhecida como histoplasmose africana, é causada pelo *Histoplasma capsulatum var. duboisii*. A micologia médica avançou rapidamente em África nos últimos 20 anos, o que pode explicar o facto de terem sido registados mais casos de histoplasmose em vários países africanos. A histoplasmose clássica é mais comum na África Austral e do Norte, enquanto a histoplasmose africana é mais comum na África Ocidental e Central. Embora ambas sejam prevalentes em África, a distribuição geográfica da histoplasmose africana limita-se principalmente ao continente. Os casos fora de África estão normalmente associados a um historial de viagens à região.

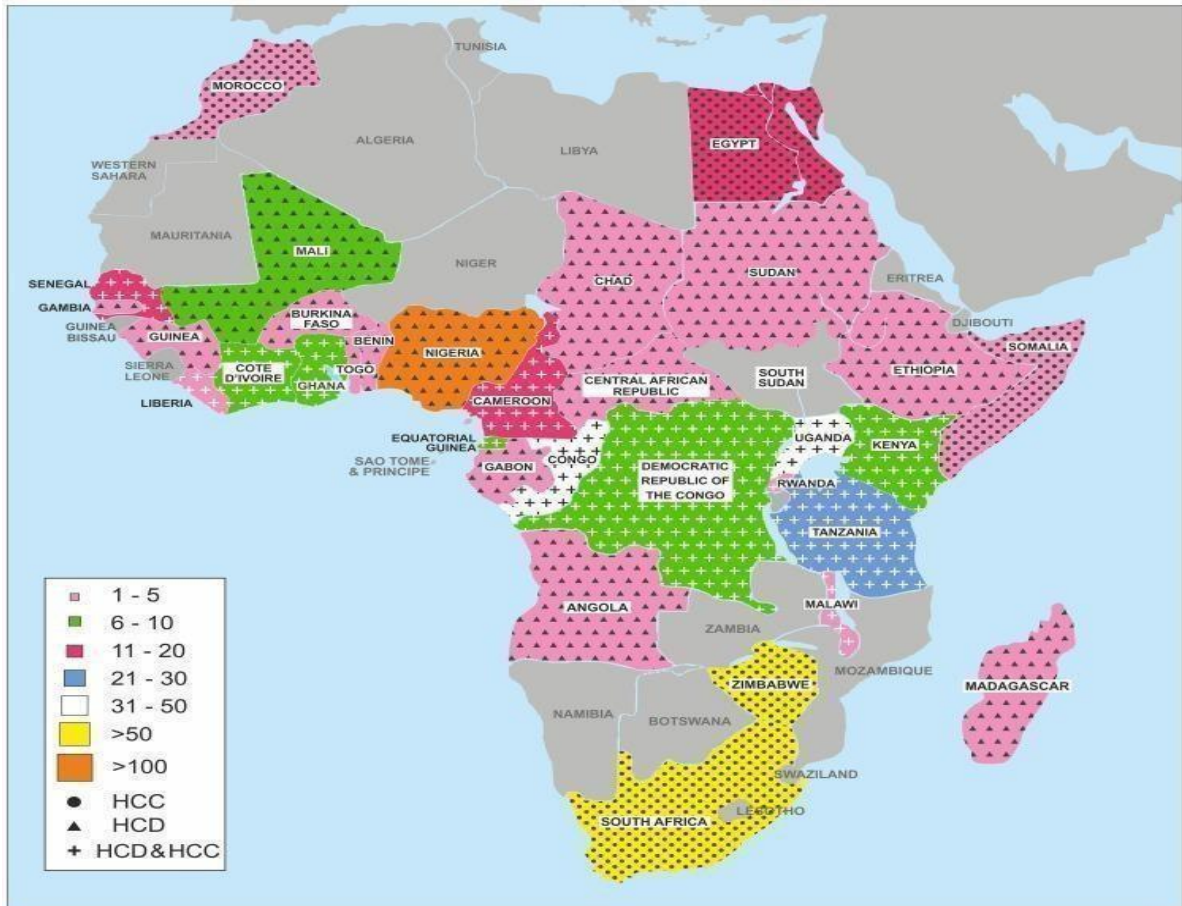
Embora existam diferenças clínicas e laboratoriais entre a histoplasmose africana e a clássica, a distinção entre as duas pode ser difícil (86).

Atualmente, a compreensão da histoplasmose em África enfrenta lacunas significativas, como o conhecimento limitado sobre a verdadeira prevalência, a diversidade genética das estirpes, os mecanismos de transmissão e as características genéticas específicas da histoplasmose africana. Há uma necessidade urgente de instrumentos de diagnóstico específicos para cada espécie e de uma maior adesão às terapias antifúngicas recomendadas. Estas questões representam áreas prioritárias para a investigação científica <sup>(86)</sup>.

#### **4.2.2.1. Epidemiologia da histoplasmose africana**

Cerca de 470 casos de histoplasmose africana foram documentados num estudo que abrangeu os anos 1952-2017. Do total de casos, 61% foram causados pela histoplasmose africana. Um total de 87% dos casos de histoplasmose africana eram da África Ocidental e Central. Foram notificados menos casos na África Oriental e Austral; nomeadamente, não se registaram casos na África do Sul, apesar do número significativo de casos de histoplasmose clássica no país <sup>(87)</sup>, <sup>(86)</sup>.

Em 2020, investigadores de 32 países africanos registaram 400 casos de histoplasmose africana, o que é consistente com a prevalência de *H. capsulatum* var. *duboisii* (Hcd) no continente. (Figura 8). Cerca de 29,8% dos casos foram diagnosticados fora de África, principalmente entre os africanos indígenas <sup>(88)</sup>, <sup>(86)</sup>. Dois grandes estudos envolvendo experiências retrospectivas centradas na República Democrática do Congo e no Togo registaram 36 (mais de 6 anos) e 17 (mais de 15 anos) casos, respetivamente <sup>(89)</sup>, <sup>(90)</sup>, <sup>(86)</sup>. Os testes de sensibilidade cutânea ao *Histoplasma* continuam a ser fundamentais para definir áreas endémicas ou histoplasmose subclínica <sup>(86)</sup>. Na Nigéria, um novo inquérito revelou uma positividade cutânea para *Histoplasma* de 4%<sup>(91)</sup>. A endemicidade de Hcc e Hcd em África e a reatividade cruzada estabelecida entre Hcc e Hcd em inquéritos de sensibilidade cutânea com histoplasmina representam um desafio na descrição da prevalência real das 2 variantes <sup>(86)</sup>.



**Figura 8:** Distribuição dos casos notificados de histoplasmose em África (1952-2017).

**Fonte:** (OLADELE, et. al., 2018).

Diferentes revisões de casos relataram que a histoplasmose afecta mais os homens, com rácios de homens para mulheres em média de 2:1 <sup>(89), (92), (88), (86)</sup>. Isto também é semelhante para os estudos de sensibilidade da pele à histoplasmina <sup>(91)</sup>. Todos os grupos etários podem ser afectados, tendo sido notificados casos entre os 13 meses e os 70 anos de idade <sup>(8)</sup>. A idade média dos casos registados varia entre 21 e 47 anos <sup>(84),(86),(88)</sup>. Tradicionalmente, a histoplasmose está associada a trabalhadores agrícolas, carpinteiros, envolvimento em actividades ao ar livre, tais como galinheiros, recolha de guano de aves ou de morcegos e viver em casas infestadas de morcegos <sup>(89),(8)</sup>.

A histoplasmose, especialmente a histoplasmose clássica, sobrepõe-se geralmente ao VIH e à tuberculose e é provável que tenha um peso significativo na África Subsariana <sup>(8)</sup>. Entretanto, a histoplasmose em África parece ter uma associação mínima com o VIH, embora existam dados limitados que o comprovem <sup>(93),(94),(86)</sup> e

tenham sido notificados alguns casos entre pessoas com VIH<sup>(95),(96),(86)</sup>, todos eles manifestados como doença disseminada. Esta observação é surpreendente, especialmente na histoplasmose disseminada progressiva <sup>(86)</sup>. Em apresentações pouco frequentes, a histoplasmose tem sido implicada na síndrome inflamatória de reconstituição imunitária em doentes com VIH <sup>(95), (92), (97)</sup>. Há casos de histoplasmose disseminada que ocorrem em doentes aparentemente imunocompetentes <sup>(98), (86)</sup>.

A histoplasmose epizoótica pode ocorrer em primatas não humanos, como cavalos, cães, babuínos e gatos. Em África, a Etiópia regista uma elevada prevalência de histoplasmose equina <sup>(99)</sup>. Embora a transmissão de humano para animal ou de animal para animal não tenha sido estabelecida, foi atribuído um caso recente à ocorrência de histoplasmose causada por Hcd num babuíno na América devido à importação de babuínos do Senegal <sup>(100)</sup>.

A fibrose mediastinal, em que o tecido fibrótico cresce em resposta a uma infeção fúngica, é outra consequência pouco comum, mas potencialmente devastadora. Esta doença pode causar sintomas como tosse persistente, falta de ar progressiva, dispneia e, em casos mais avançados, hemoptise crónica. Em algumas situações, podem também ocorrer granulomas calcificados, colapso pulmonar ou aumento dos gânglios linfáticos nas regiões hilar e paratraqueal. No entanto, nem todos os doentes com histoplasmose desenvolvem estas complicações. A progressão da doença depende de factores como a resposta imunitária do indivíduo, o tempo decorrido até ao diagnóstico correto e a implementação do tratamento adequado <sup>(14), (25), (26)</sup>.

#### **4.2.2.2. Vias de infeção da histoplasmose africana**

Como vimos, a via comum de infeção da histoplasmose é a inalação de microconídios e o subsequente desenvolvimento de lesões pulmonares. O domínio de manifestações cutâneas, subcutâneas e ósseas da histoplasmose entre os africanos evidencia alguma incerteza <sup>(86)</sup>. No entanto, tem sido amplamente sugerido que a Hcc e a Hcd partilham uma via de infeção semelhante com o fenómeno de inalação, mas podem propagar-se à pele, aos gânglios linfáticos ou aos ossos por disseminação hematogénea ou linfática <sup>(86),(102)</sup>. A via transcutânea após traumatismo também foi sugerida, especialmente no Hcd, e foi implicada em alguns relatos de casos sobre a deteção do desenvolvimento de lesões em locais de picada de agulha de acupuntura após banhos de lama e escarificação tribal <sup>(93)</sup>.

O período de incubação da levedura *Histoplasma* não é exatamente conhecido, mas o aparecimento de lesões foi relatado semanas ou vários anos após a exposição presumida <sup>(103)</sup>. O conhecimento sobre a resposta imunitária à histoplasmose, particularmente à infecção por Hcd, continua a ser pouco explorado e foram efectuados muito poucos estudos <sup>(86)</sup>.

#### **4.2.2.3. Manifestação clínica da histoplasmose africana**

A infecção pulmonar aguda ou crónica é um sintoma comum da histoplasmose clássica, de acordo com esta investigação. Por outro lado, as infecções da pele, dos gânglios linfáticos e dos ossos são as manifestações mais comuns da histoplasmose africana, em vez da doença pulmonar. Os sinais e sintomas podem variar consoante o sistema imunológico do doente e a quantidade de fungos no seu corpo. A histoplasmose está associada a elevadas taxas de morbilidade e de mortalidade em doentes imunocomprometidos. Alguns dos tipos pulmonares mais comuns podem assemelhar-se à tuberculose <sup>(86)</sup>.

Existem dois tipos principais de lesões cutâneas que foram amplamente documentadas no continente africano. Um é a doença disseminada, que se manifesta por múltiplas lesões cutâneas em diferentes locais, muitas vezes acompanhadas de envolvimento ósseo ou, em casos extremamente raros, de envolvimento de órgãos profundos. O segundo tipo são as lesões localizadas, que podem ser isoladas ou limitadas a certas áreas sem envolvimento sistémico. O diâmetro das lesões pode variar entre meio centímetro e oito centímetros <sup>(86)</sup>.

A histoplasmose pode causar complicações significativas, como a mediastinite granulomatosa, caracterizada por uma inflamação crónica do tecido mediastinal. Esta condição é atribuída a uma reação de hipersensibilidade retardada ao *Histoplasma capsulatum*. Embora a maioria dos casos permaneça assintomática durante anos, alterações como massas mediastínicas e gânglios linfáticos aumentados com necrose e calcificação são frequentemente detectadas em radiografias ao tórax <sup>(14)</sup>.

Tal como o eczema ou a psoríase, a histoplasmose pode causar lesões cutâneas que são papulares, nodulares ou ulcerativas (Figura 9). Os gânglios linfáticos inguinais, axilares e cervicais são locais particularmente comuns de envolvimento. Na forma disseminada da doença, os ossos também são frequentemente afectados, incluindo o crânio, as costelas, as vértebras, o fémur, o úmero, a tíbia e o pulso <sup>(93, 86)</sup>.

Nos casos de histoplasmose, as lesões nos órgãos internos são mais frequentes, embora possam aparecer isoladamente (104, 105, 86). Estas lesões desenvolvem-se continuamente, surgindo novas lesões enquanto as antigas cicatrizam, resultando em diferentes tamanhos e estádios de evolução (93).

É possível que as lesões mais pequenas curem sem supuração, mas as lesões maiores causarão um abscesso frio e mole. Uma única lesão está associada a um bom prognóstico (93). Se estiver presente linfadenopatia, esta é tipicamente superficial, limitada à área de drenagem linfática, ou generalizada em casos de doença disseminada, e ocorre frequentemente em conjunto com lesões cutâneas. Extremamente raramente, pode imitar o cancro, afectando órgãos internos (86), (101).



**Figura 9.** Mulher de 36 anos, seronegativa para o VIH, com nódulos de tamanhos variados, com umbilicação e úlcera. **Fonte:** (OCANSEY, 2022) (86).



**Figura 10.** Tamanhos variáveis de pápulas hipopigmentadas carnudas e nódulos como lesões coalescentes **Fonte:** (OCANSEY, 2022).

A Figura 10 mostra uma doente do sexo feminino com HIV, de 43 anos de idade, que desenvolveu úlceras secundárias, mais visíveis nos lábios superiores, nas bochechas e no nariz.

Os diferentes tipos de lesões epidérmicas, subcutâneas e, em particular, as lesões podem imitar outras doenças cutâneas prevalentes, tornando as manifestações clínicas da histoplasmose complexas. Da mesma forma, as infecções que afectam órgãos internos podem manifestar-se de forma semelhante a tumores, necessitando de procedimentos invasivos para confirmação do diagnóstico <sup>(86)</sup>.

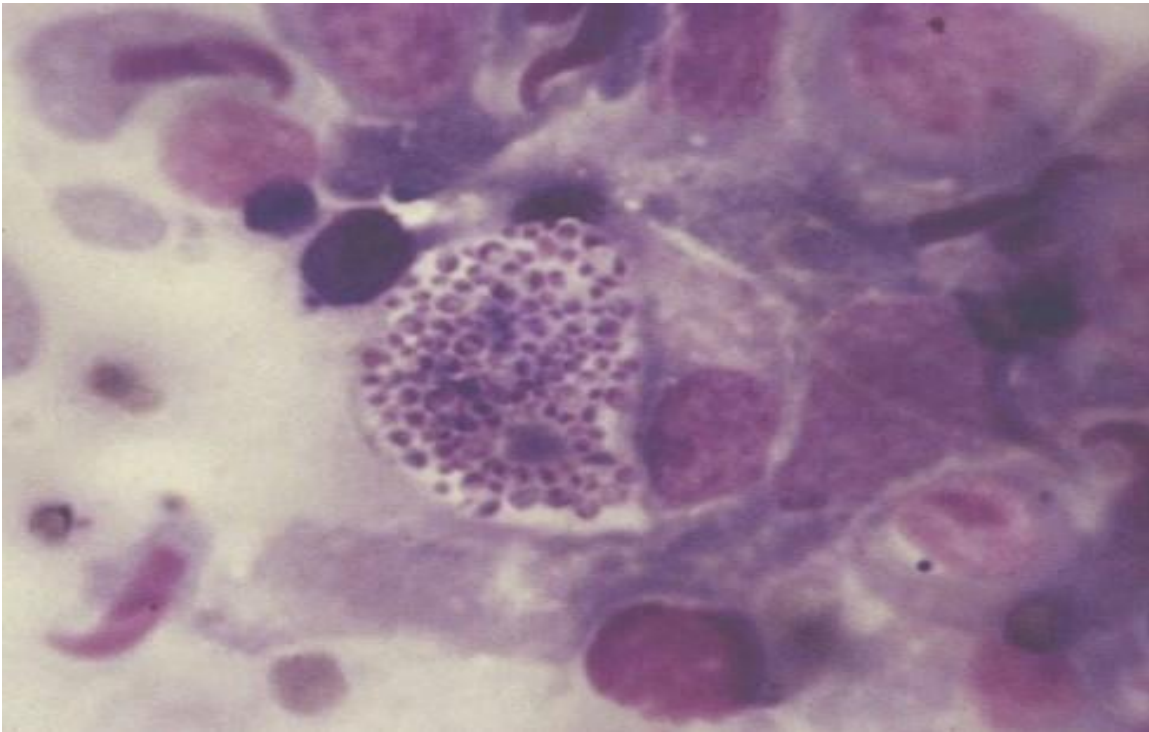
## 5. Diagnóstico da histoplasmose

### 5.1. Diagnóstico laboratorial da histoplasmose

O diagnóstico da histoplasmose é multifacetado, envolvendo a anamnese do paciente, a avaliação das manifestações clínicas e a identificação da espécie fúngica por meio de diversas técnicas laboratoriais <sup>(14, 27)</sup>. Os dados epidemiológicos desempenham um papel fundamental no processo diagnóstico, direcionando os médicos a considerar determinadas patologias <sup>(28)</sup>. É importante ressaltar que a histoplasmose é uma micose negligenciada, muitas vezes confundida com a tuberculose, o que contribui para o aumento da mortalidade associada. Portanto, a identificação precisa do agente etiológico é essencial para o prognóstico do paciente <sup>(14)</sup>.

A detecção do antígeno *de Histoplasma* na urina, no soro, no líquido cefalorraquidiano (LCR) e/ou na lavagem broncoalveolar (BAL) é atualmente o método de diagnóstico mais utilizado e sensível para a histoplasmose aguda. Este método tem maior sensibilidade na urina do que no soro, especialmente em doentes com co-infecção por VIH. Outros métodos de diagnóstico incluem a detecção de anticorpos, o exame direto e o exame cultural. No entanto, a detecção de anticorpos não é eficaz no diagnóstico da histoplasmose aguda, uma vez que estes demoram entre 2 e 6 semanas a serem produzidos pelo sistema imunitário do hospedeiro <sup>(4)</sup>.

A análise de *H. capsulatum var. capsulatum* revela leveduras intracelulares pequenas e ovais com um tamanho entre 2 e 5  $\mu\text{m}$ , frequentemente localizadas no interior de macrófagos e monócitos. Por outro lado, no caso do *H. capsulatum var. duboisii*, as leveduras são redondas ou ovais, significativamente maiores (7-15  $\mu\text{m}$ ), e podem ser encontradas tanto intra como extracelularmente <sup>(4)</sup>.



**Figura 11.** *H. capsulatum* var. *capsulatum*, leveduras intracelulares <sup>(4)</sup>. **Fonte:** (NELSON, 2017 <sup>(4)</sup>).

A figura 11 mostra leveduras intracelulares na infecção por *H. var. capsulatum*. O exame cultural foi abandonado devido à virulência do fungo, o que torna o seu manuseamento muito perigoso. A PCR pode ser utilizada para a detecção direta de colônias de *Histoplasma*, embora esta técnica não seja amplamente utilizada <sup>(4)</sup>. Os procedimentos laboratoriais convencionais que utilizam histologia e cultura (incluindo colorações específicas) constituem o padrão de ouro para o diagnóstico da histoplasmose. Embora muito específica, a cultura de *H. capsulatum* tem as suas limitações. O fungo pode demorar várias semanas a desenvolver-se, é necessária uma infraestrutura laboratorial de alto nível para manipular a cultura (nível de biossegurança 3) e o desempenho analítico do ensaio pode variar de acordo com a forma clínica (na histoplasmose pulmonar aguda, os resultados positivos variam entre 10 e 49%, na histoplasmose pulmonar crónica entre 17 e 40% e na histoplasmose disseminada progressiva entre 74 e 95% <sup>(7)</sup>).

Estudos indicam que a sensibilidade das culturas pode variar significativamente quando estas não são processadas corretamente. Por exemplo, a falta de centrifugação de lise nas hemoculturas reduz a eficácia do diagnóstico. Em geral, as hemoculturas têm uma sensibilidade de 77%, com variações entre 60% e 90% em doentes com VIH, mas

os resultados podem ser ainda mais baixos noutras condições. Nas amostras respiratórias, o desempenho das culturas é bastante limitado, variando entre 0% e 60%<sup>(80), (96)</sup>. Diferentes investigações mostraram diferentes sensibilidades a diferentes manifestações clínicas; por exemplo, na histoplasmose disseminada progressiva, 76% dos doentes mostram sensibilidade a leveduras com 2-4  $\mu\text{m}$  de forma oval e com um único botão de base estreita. Outras alternativas para o diagnóstico da histoplasmose incluem ensaios para a deteção de anticorpos específicos do hospedeiro contra antígenos de *Histoplasma*; para a deteção de antígenos de *Histoplasma* circulantes na urina, no soro e na lavagem broncoalveolar para a deteção de ADN fúngico<sup>(7)</sup>.

A deteção de anticorpos desempenha um papel importante no diagnóstico rápido de várias formas de infeção por *H. capsulatum*, mas é mais útil em doentes com histoplasmose pulmonar crónica ou aguda<sup>(7)</sup>. Dos diferentes métodos desenvolvidos para a deteção de anticorpos, a imunodifusão (ID) e a fixação do complemento (FC) são os mais utilizados e estão disponíveis em laboratórios de referência, bem como em vários laboratórios comerciais, a imunodifusão (ID)<sup>(7)</sup>. O teste é um método qualitativo que detecta precipitinas contra os antígenos das glicoproteínas H e M do *H. capsulatum* e é altamente sugestivo de histoplasmose ativa. Podem ser utilizados tanto o soro como o líquido cefalorraquidiano (LCR). As precipitinas do antígeno H são indicativas de doença ativa, embora sejam identificadas em menos de 20% dos casos<sup>(7)</sup>. A presença de precipitinas para os antígenos H e M é altamente sugestiva de histoplasmose ativa, independentemente dos resultados de outros testes serológicos<sup>(7)</sup>. O teste CF utiliza dois antígenos separados da histoplasmose e o diagnóstico baseia-se numa alteração de quatro vezes no título de anticorpos CF e é útil no diagnóstico de formas agudas, crónicas, disseminadas e meníngeas de histoplasmose<sup>(7)</sup>.

### **5.1.1. Diagnóstico da histoplasmose africana**

Os estudos imagiológicos são essenciais quando os pulmões ou os ossos estão envolvidos e podem também ser utilizados na monitorização da terapêutica ou na identificação de recaídas<sup>(102)</sup>. Os raios X, a ressonância magnética (RM) e a tomografia computadorizada (TC) têm sido documentados como úteis e utilizados em África<sup>(106), (107), (86)</sup>. Nos casos que envolvem o pulmão, os achados radiográficos comuns são opacidades difusas bilaterais, infiltrados pulmonares, nódulos, derrame

e cavitação nodular <sup>(104), (90)</sup>. Estes achados são comuns na TB e, tendo em conta o elevado fardo da TB em África, podem ser uma receita para um diagnóstico errado. A tomografia computadorizada pode ser necessária para confirmar achados radiológicos incertos ou demonstrar características invulgares, nódulos disseminados <sup>(86), (107)</sup>.

Os achados radiológicos que indicam um envolvimento ósseo precoce incluem uma diferenciação corticomedular reduzida da metáfise distal, reação periosteal espiculada, erosão cortical, múltiplas lesões calcificadas e não calcificadas dos tecidos moles, bem como múltiplas lesões osteolíticas com um bordo esclerótico <sup>(107)</sup>. Nas imagens ponderadas em T2, as lesões hiperintensas apresentam realce periférico. No entanto, as lesões ósseas aparecem hipointensas nas imagens ponderadas em T1, sem realce dos bordos após a administração de contraste <sup>(86)</sup>.

A microscopia direta é o método mais simples, mais comum e, na maioria dos casos, o único disponível para diagnosticar a histoplasmose em vários países africanos <sup>(86)</sup>. A preparação do esfregaço do exsudado ou do corrimento purulento é corada ou não corada com base nos recursos disponíveis <sup>(86)</sup>. As colorações utilizadas incluem Giemsa, azul de algodão lactofenol (LPCB) e prata metanolamina de Gomori (GMS). A utilização de hidróxido de potássio (KOH) também produz bons resultados <sup>(108)</sup>. As células de levedura, em particular as hcd, são comuns em material supurativo de lesões cutâneas, abscessos, seios nasais e lesões ósseas. Infelizmente, a microscopia direta pode não detetar com fiabilidade casos de histoplasmose, uma vez que a morfologia do *H. capsulatum* é semelhante à de outros fungos <sup>(86)</sup>.

Infelizmente, a maioria dos laboratórios africanos não possui o equipamento e os conhecimentos necessários para isolar *H. capsulatum* de amostras clínicas, um passo necessário para confirmar o diagnóstico de histoplasmose. Meios enriquecidos como o ágar Sabouraud Dextrose (SDA) e o ágar Brain Heart Infusion (BHI) permitem a cultura, embora o processo de crescimento seja lento e possa demorar até oito semanas <sup>(86)</sup>. É necessária a utilização de, pelo menos, uma cabina de segurança biológica de Clade II, devido ao facto de a histoplasmose ser uma infeção de Clade 3; no entanto, não foi documentado qualquer caso de histoplasmose adquirida em laboratório. A uma temperatura normal, as colónias Hcc e Hcd parecem idênticas ao microscópio e à superfície. Quando estas colónias são inoculadas em meios específicos, as formas miceliais são convertidas em leveduras maiores a 37°C <sup>(85)</sup>. Os meios adequados para a conversão incluem ágar sangue ou ágar BHI suplementado com cisteína ou glutamina

(85). *H. capsulatum* é geralmente considerada urease negativa, mas ocasionalmente também pode ser urease positiva <sup>(109)</sup>.

As características histopatológicas são consideradas semelhantes às da histoplasmose clássica e africana, mas podem assemelhar-se a outras infecções fúngicas, como a blastomicose e a criptococose. Em África, é o segundo método laboratorial mais utilizado para diagnosticar a histoplasmose. A análise histológica mostra aglomerados de células gigantes multinucleadas contendo células de levedura ovais com paredes de duplo contorno. Estas células de levedura apresentam frequentemente brotamento, com cicatrizes gémeas frequentemente observadas. Na *Hcd*, as células de levedura são maiores com paredes mais espessas em comparação com a *Hcc*. As células de levedura podem aparecer isoladas ou, por vezes, formar cadeias de quatro a cinco <sup>(86)</sup>. Tal como noutras infecções fúngicas, a coloração com hematoxilina-eosina (HE) pode ser insuficiente e recomenda-se a utilização de outras colorações, como o ácido periódico de Schiff (PAS) ou a prata metenamina de Grocott (GMS), para identificar as células de levedura. Deve ter-se o cuidado de evitar a identificação incorrecta de células de levedura *Hcd* como outros fungos, tais como espécies de *Cryptococcus* deficientes em cápsulas ou pequenas formas de espécies de *Blastomyces*. Uma reacção positiva com a coloração de mucicarmina pode distinguir as espécies de *Cryptococcus*, enquanto as espécies de *Blastomyces* são caracterizadas por botões únicos de base larga e uma aparência multinucleada com coloração PAS <sup>(86)</sup>.

Os imunoensaios desempenham um papel importante no diagnóstico da histoplasmose clássica, mas a sua utilização continua a ser pouco frequente em África. Testes como a imunodifusão e a imunofluorescência são ocasionalmente utilizados, mas carecem de fiabilidade e são frequentemente menos eficazes, particularmente em indivíduos imunocomprometidos <sup>(110), (111)</sup>. Estes testes também não conseguem distinguir entre *Hcc* e *Hcd*. Os componentes da parede celular fúngica, como o galactomanano (GM) e o beta-D-glucano (BDG), conhecidos pelas suas ligações beta-1,3 e beta-1,6, estão associados à fase micelial tanto do *Hcc* como do *Hcd*. No entanto, a utilidade diagnóstica de GM e BDG para a histoplasmose africana é incerta, uma vez que a sua aplicação tem sido limitada em comparação com a histoplasmose clássica. Em dois casos documentados de histoplasmose africana testados para a presença de *Aspergillus* GM, um apresentou um resultado positivo, enquanto o outro foi negativo <sup>(104), (112), (86)</sup>. Embora tenha sido sugerido que os actuais testes LFA e EIA comerciais

para *Histoplasma* GM também detectam *Hcd*, não existem atualmente estudos que o avaliem <sup>(86)</sup>.

As técnicas moleculares para identificar *Hcc* e *Hcd* são raramente utilizadas em África, exceto em investigação especializada ou em contextos de cuidados de saúde terciários. Estes métodos incluem PCR e sequenciação de produtos PCR. Num caso clínico raro, o *Hcd* foi detectado rapidamente - no prazo de 24 horas após a admissão hospitalar - utilizando a PCR e a sequenciação do ADN <sup>(96)</sup>.<sup>(86)</sup>.

Numa revisão de 110 casos de *Hcc* e *Hcd* diagnosticados localmente, a histopatologia foi utilizada em 96 casos (87,3%) como único método de diagnóstico ou combinada com outras abordagens, como a microscopia direta, a cultura ou a PCR. A microscopia direta foi aplicada em 34 casos (30,9%), sendo que 20 recorreram apenas a este método. O diagnóstico confirmatório através de cultura foi efectuado em 22 casos (20,0%), com resultados positivos em 17 através de análise fenotípica. A identificação molecular foi registada em apenas um caso, utilizando uma amostra de sangue periférico. Os diagnósticos histológicos foram ainda confirmados em quatro casos por PCR e em 12 casos por imunohistoquímica <sup>(86)</sup>.

### **5.1.2. Diagnóstico da histoplasmose do sistema nervoso central**

O diagnóstico é frequentemente atrasado devido ao facto de não se considerar a histoplasmose em casos de meningite crónica em que as culturas de rotina são negativas. A falta de familiaridade com os testes utilizados para diagnosticar a histoplasmose neste contexto também pode contribuir para o atraso no diagnóstico <sup>(69)</sup>. O *Histoplasma* pode ser isolado da cultura fúngica do líquido cefalorraquidiano (LCR) em apenas um quarto dos doentes, e a visualização da levedura é rara <sup>(7)</sup>, <sup>(1)</sup>. Um exemplo da dificuldade é fornecido por um caso em que as culturas do LCR foram negativas em 2 ocasiões com anos de intervalo, mas positivas 2 anos mais tarde, quando 30 ml de LCR foram cultivados <sup>(6)</sup>, <sup>(9)</sup>.

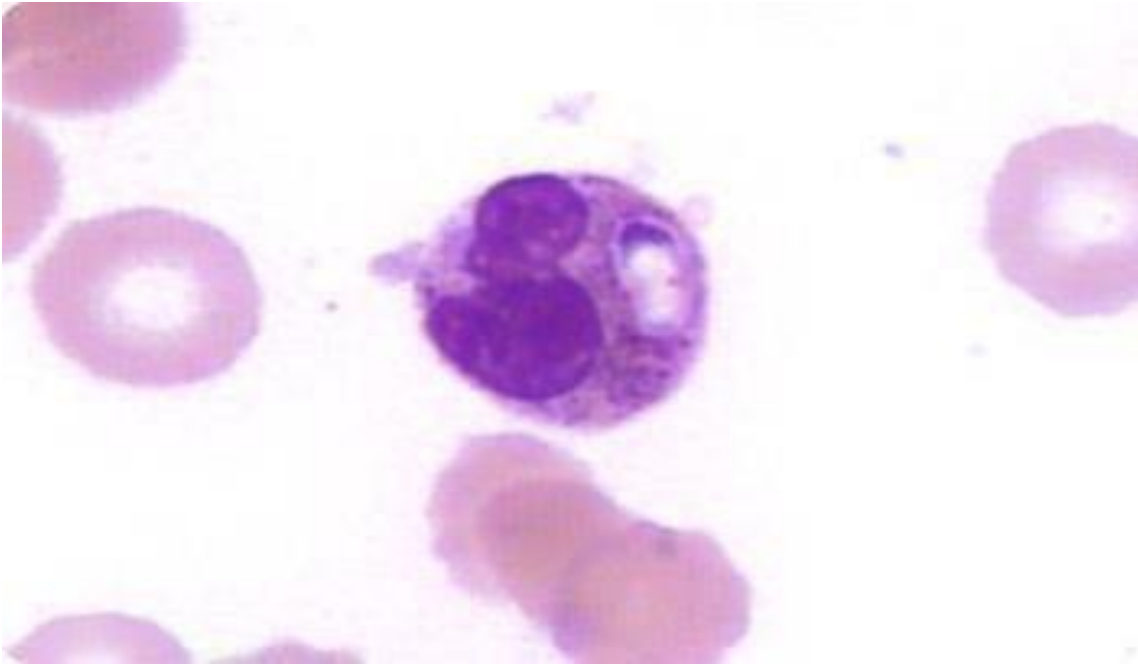
O método mais sensível para o diagnóstico da histoplasmose do SNC, com base no maior estudo de série de uma única instituição, inclui a utilização de testes para a deteção de anticorpos e antígenos no LCR <sup>(69)</sup>. Os anticorpos anti-histoplasma foram detectados no LCR por imunodifusão (ID) ou fixação de complemento (FC) em 50% dos doentes numa série, e até 90% dos doentes noutra estudo <sup>(71)</sup>.

## 5.2. Exame direto e cultural

Embora as manifestações da histoplasnose estejam bem descritas, o diagnóstico desta doença deve ser confirmado através de técnicas complementares como o exame direto e cultural, que inclui: diagnóstico histopatológico; diagnóstico serológico; diagnóstico molecular; teste cutâneo; teste do exoantígeno<sup>(72)</sup>; e teste de anticorpos<sup>(19)</sup>.

O exame direto e a cultura é uma das técnicas padrão-ouro utilizadas para a identificação do *H. capsulatum*, realizada através da visualização, isolamento e cultivo do fungo, por meio de exame direto e cultura, a partir de amostras biológicas do paciente, como amostras do trato respiratório, sangue, lavado broncoalveolar e outras. O parecer deve conter as características morfológicas do agente encontrado e a sugestão do tipo de fungo <sup>(14)</sup>.

O diagnóstico definitivo da histoplasnose requer o isolamento do *H. capsulatum* em meios de cultura específicos ou a visualização de formas semelhantes a leveduras do fungo em materiais biológicos <sup>(72)</sup>, <sup>(73)</sup>. Para o exame direto, as amostras biológicas mais frequentemente utilizadas são: expectoração, lavagem brônquica, líquido cefalorraquidiano, medula óssea e biópsias. Em esfregaços corados pelas técnicas de Giemsa e Grocott, o fungo *H. capsulatum* é visualizado sob a forma de leveduras como elementos arredondados ou ovais no interior de macrófagos <sup>(12)</sup>. No entanto, a visualização das leveduras de *H. capsulatum* é bastante difícil devido ao seu pequeno tamanho, e o teste é considerado de baixa sensibilidade (Figura 12).



**Figura 12.** *H. capsulatum* em forma de levedura no interior do neutrófilo. **Fonte:** (OLIVEIRA et. al., 2020<sup>(14)</sup>).

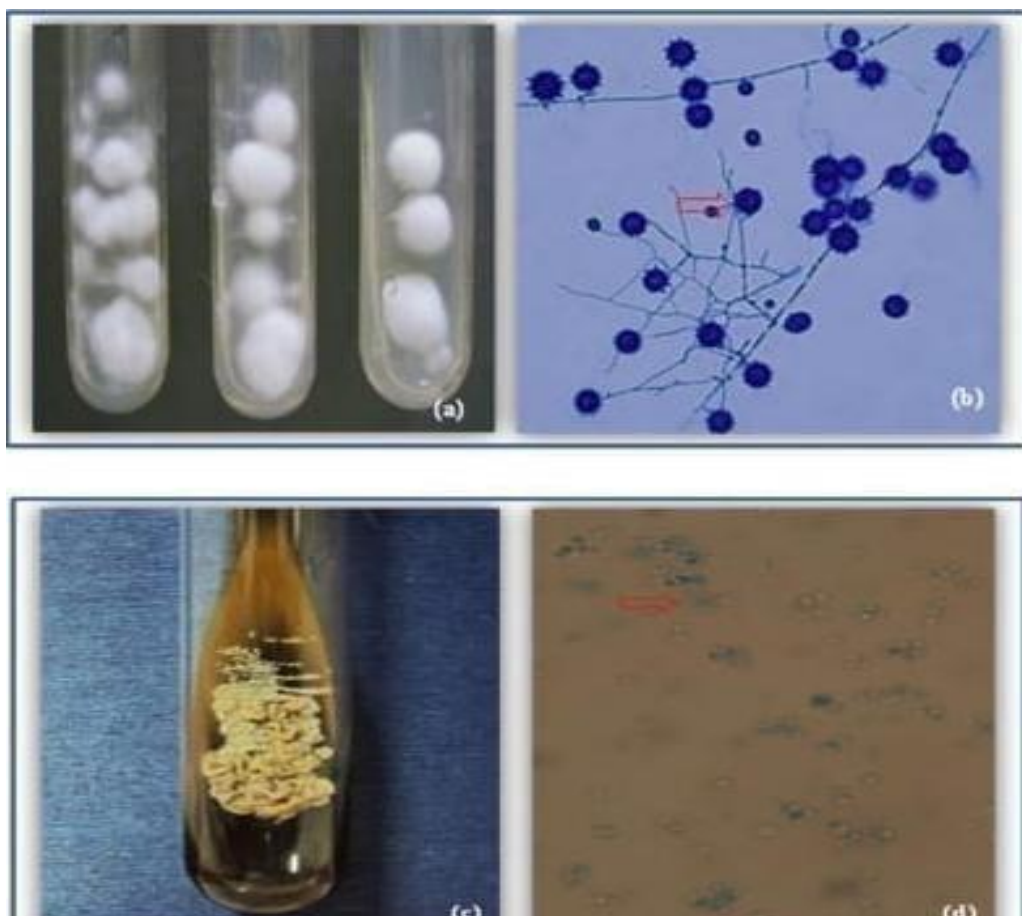
A cultura de *H. capsulatum* é considerada o método "padrão de ouro" para o diagnóstico da histoplasmose. Podem ser utilizados meios como o ágar batata, SDA com ou sem cloranfenicol e cicloheximida ou ágar BHI <sup>(72)</sup>, <sup>(19)</sup>. Quando cultivadas a 22-28°C, as colônias do fungo são inicialmente aveludadas, que com o tempo se tornam filamentosas, cotonosas, de cor branca, com micélio aéreo que tende a escurecer com o tempo (Figura 13a) <sup>(73)</sup>, <sup>(13)</sup>.

Microscopicamente, observam-se hifas delicadas, hialinas, septadas e ramificadas, apresentando microconídios pequenos, de aproximadamente 2 a 4, com paredes lisas, bem como uma grande quantidade de macroconídios tuberculados (ou mamilonados) conhecidos como estalagmosporos, medindo de 8 a 15 µm (Figura 13b) <sup>(19)</sup>, <sup>(72)</sup>. Estas estruturas podem ser confundidas com as de fungos saprófitas do gênero *Chrysosporium*, exigindo a confirmação do diagnóstico através da alteração da forma filamentosa para uma forma semelhante a uma levedura <sup>(12)</sup>.

A conversão *in vitro* para a forma de levedura pode ocorrer quando a cultura é incubada a 35,37°C em meios ricos em nutrientes, tais como ágar Sabouraud e ágar BHI suplementado com sangue, formando colônias brancas a castanhas com uma textura cremosa e uma superfície lisa ou rugosa (Figura 13c) <sup>(72)</sup>. No entanto, a conversão não ocorre

facilmente, dependendo de nutrientes especiais, da temperatura e das características fisiológicas das estirpes. Microscopicamente, observam-se células de levedura pequenas, redondas ou ovais, com um tamanho que varia de 1 a 4  $\mu\text{m}$  (Figura 13d) <sup>(73)</sup>, <sup>(72)</sup>.

Uma desvantagem da cultura de fungos como método de diagnóstico é o tempo prolongado necessário para identificar o agente etiológico, o que pode atrasar a introdução de medidas terapêuticas específicas. Além disso, a maioria dos doentes com uma forma assintomática ou ligeira da doença apresenta uma cultura negativa <sup>(73)</sup>. É importante ressaltar que todos os procedimentos que envolvem a manipulação de culturas de *H. capsulatum* são considerados de risco para os trabalhadores do laboratório e devem ser realizados em laboratórios com nível de biossegurança 3<sup>(72)</sup>.

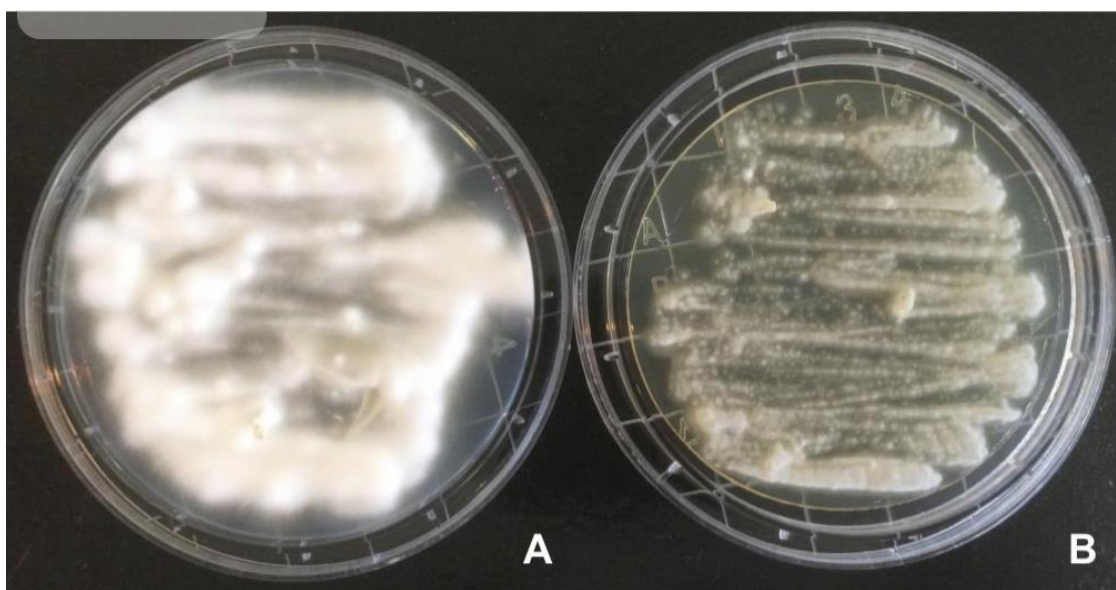


**Figura 13.** Aspeto macro e micromorfológico de *H. capsulatum*: (a) macromorfológico em SDA, mostrando colônia branca cotonosa; (b) aspeto micromorfológico em azul de algodão com lactofenol, mostrando macroconídios tuberculados (estalagmosporos); (c) forma leveduriforme a 35°C em ágar BHI suplementado com 5% de sangue de carneiro mostrando colônias de aspeto úmido, coloração branco-amarelada; (d) aspeto micromorfológico em azul de algodão com lactofenol, mostrando estrutura leveduriforme com gemulação. **Fonte:** (RIBEIRO, 2012) <sup>(72)</sup>.

É extremamente importante que o analista seja capaz de identificar que existe algo de anormal no interior de alguns neutrófilos do doente com histoplasmose, uma vez que estes achados podem passar despercebidos na altura da revisão das lâminas <sup>(14)</sup>.

A cultura é responsável por isolar e cultivar *H. capsulatum*. Em meios de cultura como o ágar Sabouraud, o ágar BHI e o ágar batata, encontram-se nutrientes específicos que, juntamente com condições de temperatura específicas, permitem que o agente fúngico cresça fora do seu habitat <sup>(14)</sup>.

A cultura é analisada em duas etapas: primeiramente, identifica-se a fase filamentosa do fungo, no meio de cultura a uma temperatura de 25° a 27°C, crescendo entre 15 e 30 dias, onde a macromorfologia da colónia mostra que esta tem uma cor branca, que com o passar dos dias pode assumir uma cor acastanhada, um aspeto cotonoso, uma superfície lisa, que pode transformar-se em filamentos (Figura 14 A)<sup>(30),(14)</sup>. Posteriormente, o dimorfismo conforma-se, em meio BHI ou ágar sangue a 37°C, e é possível observar colónias de cor branca a castanha, superfície lisa ou rugosa, brilhante e textura cremosa e húmida (Figura 14 B) <sup>(17),(14)</sup>.



**Figura 14.** Cultura de *H. capsulatum* em ágar Sabouraud. (A) - Colónia branca e cotonosa a 25°C. (B) - A levedura forma-se a 37°C como colónias de cor creme/acastanhada e aspeto húmido <sup>(14)</sup>. **Fonte:** (FURUIE, 2014) <sup>(31)</sup>.

A figura 14 mostra que esta técnica tem características precisas que, se observadas cuidadosamente, reduzem as hipóteses de erro. A cultura é uma técnica de referência e garante resultados satisfatórios na maioria dos casos. A sua desvantagem é a demora na obtenção dos resultados, que é de 6 semanas após o isolamento. Devido a

essa característica, essa técnica não é recomendada para pacientes graves, mas alguns laboratórios já possuem equipamentos que agilizam esse processo <sup>(14)</sup>.

### **5.2.1. Diagnóstico histopatológico**

A histopatologia, popularmente conhecida como biópsia, consiste na análise microscópica de tecidos como pele, mucosa, pulmões, medula óssea, fígado, entre outros, e é uma técnica segura, precisa e rápida, muito útil para o diagnóstico precoce e confiável de todas as formas clínicas da histoplasmose, principalmente em pacientes com a forma avançada desta micose <sup>(14)</sup>, <sup>(32)</sup>.

O diagnóstico histopatológico pode ser efectuado através da visualização de leveduras no interior das células do sistema fagocítico mononuclear, como os macrófagos e os monócitos, ou no exterior destas células. As leveduras aparecem como corpúsculos ligeiramente basófilos, esféricos ou ovais, rodeados por um lado claro delimitado por uma parede celular hialina muito fina <sup>(72)</sup>.

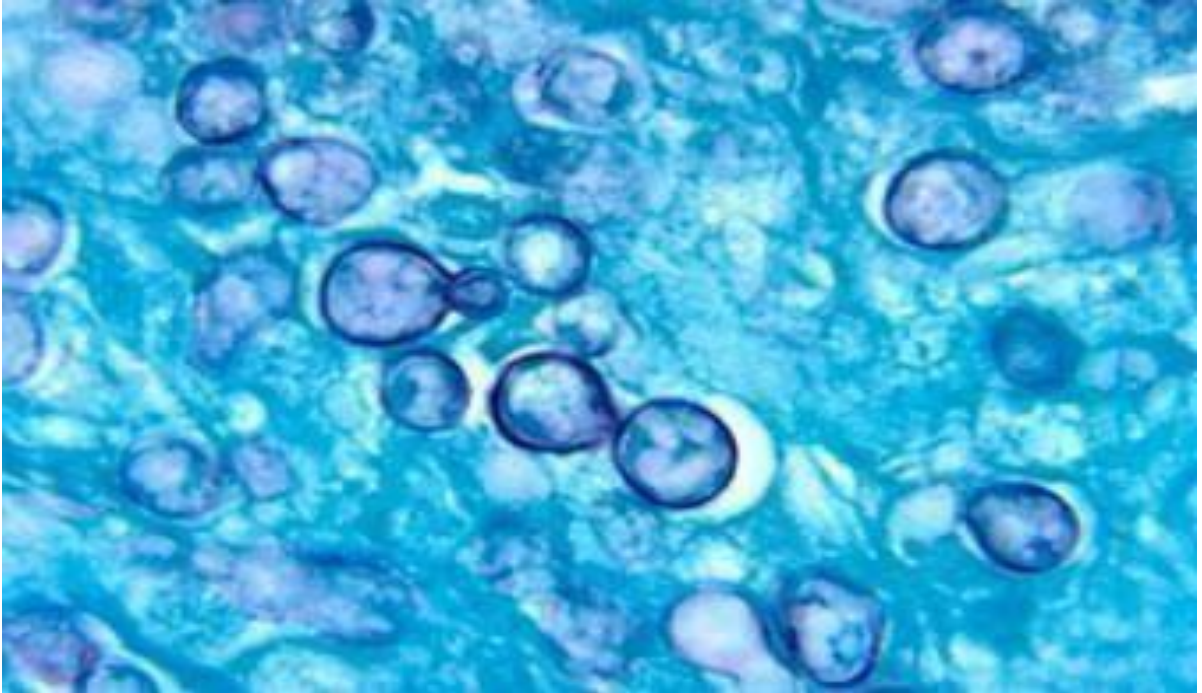
*O H. capsulatum* pode ser visualizado utilizando Giemsa e colorações especiais como a prata de Grocott-Gomori (GMS) e o ácido periódico de Schiff (PAS). A técnica da hematoxilina-eosina (HE), utilizada habitualmente na rotina, não permite a visualização de leveduras minúsculas. Portanto, o uso de colorações especiais como GMS e PAS são necessárias para a visualização adequada do fungo (Figura 15) <sup>(72)</sup> <sup>(7)</sup> <sup>(4)</sup>. De acordo com (LIEMANN *et. al.* 2005), a coloração GMS é considerada a melhor técnica porque oferece melhor contraste e frequentemente cora células fúngicas que são refractárias ao PAS <sup>(75)</sup>.

O exame histopatológico de vários tecidos (pulmões, gânglios linfáticos, fígado e medula óssea) revela a presença de granulomas com ou sem necrose caseosa em indivíduos imunocompetentes, enquanto que em indivíduos imunocomprometidos estão frequentemente presentes granulomas soltos, agregados linfo-histiocíticos ou apenas infiltrados mononucleares difusos <sup>(72)</sup>, <sup>(76)</sup>.

A leitura da biópsia pode ser complexa, devido à morfologia leveduriforme que pode dificultar a análise e a identificação do agente patogénico, exigindo analistas experientes <sup>(33)</sup>.

A estrutura das leveduras *H. capsulatum* é muito semelhante à de outros agentes patogénicos, o que pode levar a dificuldades de interpretação. Por conseguinte, é

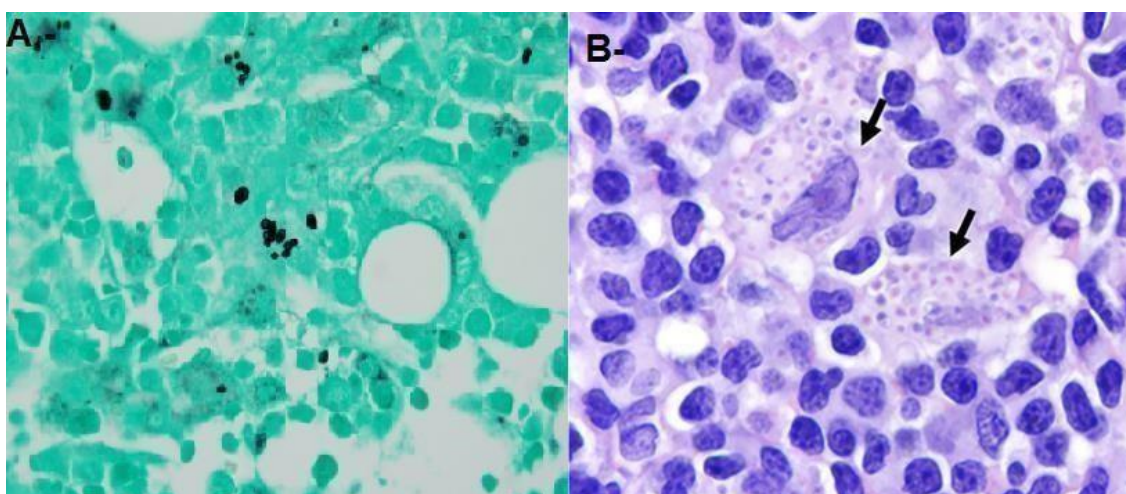
necessário efetuar o diagnóstico diferencial das leveduras *H. capsulatum* com *Candida glabrata*, *Penicillium marneffei*, *Pneumocystis jirovecii*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania donovani* e *Cryptococcus neoformans*. Por conseguinte, é importante estar familiarizado com a morfologia destes agentes patogénicos e as suas características de coloração utilizando diferentes métodos (66), (73), (72).



**Figura 15.** Aspeto histopatológico de amostra de medula óssea, mostrando *H. capsulatum* na forma de levedura (Grocott-Gomori). **Fonte:** (KAUFFMAN, 2009) <sup>(74)</sup>.

A histopatologia também pode ser utilizada para detetar a extensão dos danos nos tecidos. Na fase aguda, é frequente encontrar pequenos granulomas e infiltrados linfocitohistiocíticos no interstício e no espaço alveolar, ao passo que na fase crónica pode ser detectada uma inflamação progressiva acompanhada de necrose nos tecidos acima referidos <sup>(34), (15)</sup>.

É importante prestar atenção na leitura da amostra, pois o agente fúngico aparece de formas diferentes dependendo do tipo de amostra e da coloração utilizada. Na Figura 16 A), é possível observar uma forma oval, característica das leveduras, enquanto que na Figura 16 B), o agente fúngico encontra-se no interior dos histiócitos, fazendo com que estes apresentem um tamanho diferente <sup>(14)</sup>.



**Figura 16.** Aspeto histopatológico das biópsias da medula óssea e dos gânglios linfáticos: A - Biópsia da medula óssea corada com GMS, *H. capsulatum* sob a forma de leveduras intracelulares. B - Biópsia de gânglio linfático mostrando histiócitos aumentados e leveduras no interior <sup>(14)</sup>. **Fonte:** (JAIN *et. al.*, 2016) <sup>(26)</sup>.

### 5.2.2. Diagnóstico serológico

Os ensaios serológicos melhoram a identificação da histoplasmose e facilitam a obtenção de resultados mais rápidos, o que é particularmente vantajoso dada a natureza demorada da cultura de fungos para *H. capsulatum*. Os testes serológicos são cruciais para a deteção de infecções agudas e recentes ou de doenças infecciosas persistentes. Os principais métodos serológicos utilizados para diagnosticar a histoplasmose incluem o teste de fixação do complemento, a imunodifusão dupla e o radioimunoensaio. No entanto, estas abordagens apresentam várias limitações, incluindo o potencial para reacções cruzadas com outros fungos responsáveis por micoses sistémicas, como a blastomicose, a coccidioidomicose, a paracoccidioidomicose e a aspergilose.

Este método é utilizado para reconhecer a histoplasmose e avaliar a evolução do tratamento do doente. Além disso, garante resultados num curto espaço de tempo, não é invasivo e apresenta um desempenho satisfatório <sup>(35)</sup>, <sup>(14)</sup>.

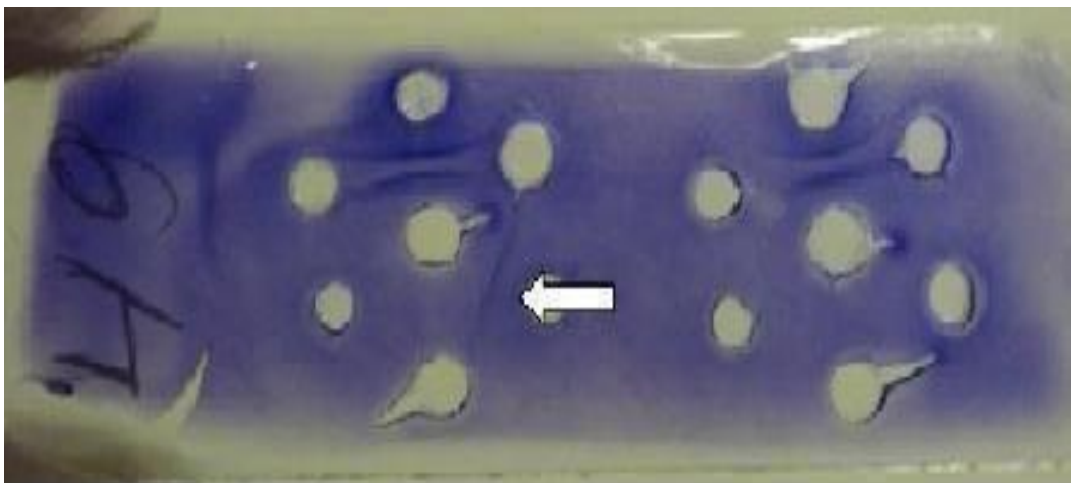
Na histoplasmose, o diagnóstico serológico baseia-se na deteção de anticorpos anti-H e anti-M. Estes anticorpos podem ser identificados utilizando histoplasmina, que compreende um extrato antigénico derivado da fase de levedura do fungo. Os constituintes primários da histoplasmina que provocam uma resposta de anticorpos são os antigénios C, M e H. O antigénio C é um hidrato de carbono (galactomanano) que provoca reacções cruzadas com várias espécies de fungos. O antigénio M funciona como uma catalase, enquanto o antigénio H funciona como uma beta-glucosidase, participando ambos na remodelação da parede

celular e na aquisição de nutrientes. Os antígenos M e H são os componentes padrão utilizados nos ensaios de imunodifusão dupla e de fixação do complemento. A detecção das precipitinas M e H é considerada definitiva para o diagnóstico da histoplasmose.

Foram utilizadas técnicas de detecção de antígenos, especialmente quando a detecção de anticorpos é improvável. Isto acontece em indivíduos imunocomprometidos com infecções disseminadas que apresentam uma resposta imunitária inadequada. A identificação de antígenos de *H. capsulatum* pode ser realizada com os métodos de radioimunoensaio ou ELISA e é normalmente utilizada em indivíduos com histoplasmose aguda e histoplasmose disseminada grave. As vantagens da utilização destes testes incluem a identificação precoce dos doentes durante a infeção, antes da detecção da seroconversão <sup>(72)</sup>.

Os testes cutâneos intradérmicos de histoplasmose são amplamente utilizados em estudos epidemiológicos, mas não para o diagnóstico de histoplasmose. O teste produz um resultado positivo, indicado por uma induração de 5 mm ou mais, 48-72 horas após a administração intradérmica de 0,1 ml de antígeno de Histoplasma <sup>(73), (72)</sup>.

O teste de imunodifusão dupla é habitualmente utilizado e envolve um método qualitativo baseado numa reação de precipitação, detectando anticorpos séricos após interação com o complexo histoplasmina, composto pelos antígenos C, M e H, em que este complexo representa o *H. capsulatum* (Figura 17) <sup>(14)</sup>. Esta abordagem apresenta uma especificidade de cerca de 100% e uma sensibilidade que varia entre 70% e 100%, revelando-se altamente eficaz no diagnóstico de episódios agudos e prolongados de histoplasmose, com resultados positivos aceitáveis observados entre 2 e 6 semanas após a contaminação fúngica.



**Figura 17.** Resultado positivo da imunodifusão; a seta mostra a precipitação da linha M. **Fonte:** (OLIVEIRA *et. al.*, 2020) <sup>(14)</sup>.

A Figura 17 indica que é necessário um maior escrutínio para observar e discernir a linha de precipitação gerada na resposta, uma vez que a sua aparência ténue pode escapar à atenção do analista <sup>(14)</sup>.

**Western Blotting ou Análise de Proteínas** O immunoblot é um imunoensaio utilizado para a identificação precoce de anticorpos circulantes no soro de um doente, gerados em resposta aos antigénios M e/ou H que constituem o complexo histoplasmina. Este teste apresenta uma especificidade de cerca de 94,9% e uma sensibilidade de aproximadamente 94,1%, produzindo uma exatidão de 94,5% e fornecendo resultados num curto espaço de tempo. Esta abordagem é utilizada para diagnosticar formas agudas e crónicas de micose e serve como alternativa à imunodifusão.

A reação de fixação do complemento envolve a identificação de anticorpos em amostras de tecido de uma pessoa e deve ser realizada duas a seis semanas após a infeção. Este teste avalia a relação entre o antigénio *do H. capsulatum* e o anticorpo presente no soro de doentes com histoplasmose, juntamente com a ativação do sistema do complemento. O teste de fixação do complemento apresenta uma especificidade que varia entre 70% e 80%, no entanto a sua sensibilidade depende do estágio de desenvolvimento da substância fúngica, sendo o estágio micelial cerca de 78,2% e o estágio leveduriforme aproximadamente 94,3%. A identificação das fases pulmonares agudas e crónicas da histoplasmose é crucial, com uma taxa de positividade de cerca de 90%. A eficácia desta técnica diminui em 50% em doentes com sistema imunitário comprometido <sup>(41)</sup>.

No que diz respeito aos métodos de deteção de antigénios, o radioimunoensaio é utilizado para identificar e quantificar o nível de antigénios *de H. capsulatum* na amostra biológica de um indivíduo; é dispendioso, fornece resultados rápidos e apresenta uma excelente sensibilidade e especificidade. Esta abordagem é altamente valiosa para detetar a forma disseminada da histoplasmose (95%), uma vez que esta fase é caracterizada por níveis elevados de antigénio, ao contrário das outras (48%). É benéfica para os indivíduos que estão a receber tratamento e é aconselhada numa base contínua para identificar potenciais recaídas. Uma observação importante é que, na doença crónica, os níveis de antigénio podem ser negativos <sup>(14), (42)</sup>.

A técnica ELISA, baseada no princípio do ensaio de imunoabsorção enzimática, distingue-se entre os métodos serológicos por detetar e quantificar quantidades mínimas de antigénios *de H. capsulatum* em amostras de pacientes, servindo como alternativa ao radioimunoensaio. Trata-se de um método simples e altamente reproduzível que reduz o

tempo necessário para obter resultados, facilitando o diagnóstico precoce, acelerando o tratamento dos doentes e reduzindo assim a taxa de mortalidade associada à histoplasmose. Com uma especificidade de 90% a 97% e uma sensibilidade de 80% a 100%, é também utilizado para identificar esta infecção fúngica nas suas formas aguda, crónica e, mais importante, disseminada <sup>(14)</sup>.

Entre as técnicas serológicas utilizadas para a deteção da histoplasmose, o Western blotting é a mais fiável e produz os resultados de diagnóstico mais exactos. A abordagem ELISA é a preferida entre as técnicas de pesquisa de antígenos devido à sua especificidade superior e à diminuição da incidência de resultados falsos positivos <sup>(14)</sup>.

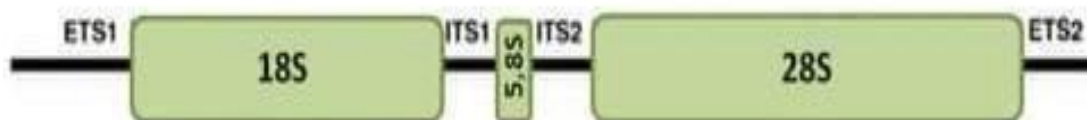
O teste cutâneo avalia a reação dos doentes com histoplasmose à injeção dérmica de proteínas fúngicas (HMIN) <sup>(73)</sup>. Algumas investigações indicam que esta metodologia pode ser utilizada no diagnóstico de doenças primárias, sintomáticas ou assintomáticas causadas por *H. capsulatum* em doentes imunocompetentes <sup>(73)</sup>, <sup>(115)</sup>. Atualmente, o teste HMIN é utilizado predominantemente para fins de estudo e não para aplicações terapêuticas <sup>(73)</sup>. O teste cutâneo de HMIN é especialmente valioso em pesquisas epidemiológicas realizadas em regiões não endémicas entre pessoas que viajam esporadicamente para áreas endémicas ou durante surtos. Estudos epidemiológicos realizados no Brasil comprovaram a eficácia deste teste <sup>(116)</sup>. O teste cutâneo foi recentemente considerado eficaz num estudo epidémico na Universidade do Texas, associado a operações de construção no campus que invadiram áreas anteriormente florestadas e estavam próximas de um importante santuário de aves.

### **5.2.3. Diagnóstico molecular**

Várias abordagens moleculares têm sido utilizadas como alternativas para o diagnóstico rápido da histoplasmose. A vantagem das abordagens moleculares, particularmente quando se utiliza diretamente a amostra clínica, é a redução do tempo necessário para a identificação do micróbio e a diminuição do risco de exposição do pessoal do laboratório à bactéria, dado o seu nível de biossegurança 3.

Foram utilizados vários alvos em procedimentos de PCR para detetar *H. capsulatum*. O ADN ribossómico (rDNA) é um dos mais frequentemente utilizados. A unidade compreende uma sequência repetitiva de três secções de genes (18s, 5.28S) e duas regiões espaçadoras intergênicas (ITS). A região ITS, situada entre 18S e 28S, compreende dois segmentos, ITS1 e ITS2, divididos por uma área conservada, 5.8S

(Figura 18). Esta região apresenta um grau de variação moderado, o que a torna adequada para a identificação do género e/ou da espécie, especialmente quando se demonstra polimorfismo em *H. capsulatum* (77),(72).



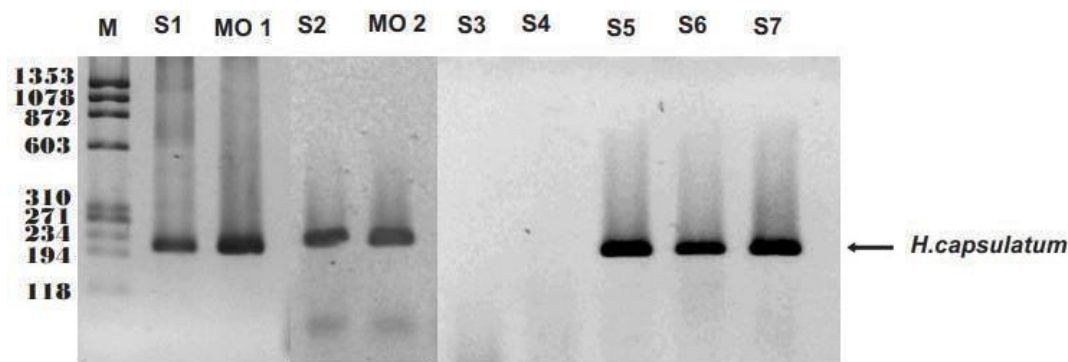
**Figura 18.** Representação esquemática da organização do cluster de genes do DNA ribossomal nuclear, mostrando as regiões ITS e as subunidades 18S, 5.8S e 28S. **Fonte:** (RIBEIRO, 2012) (72).

O rDNA tem sido utilizado para identificar *H. capsulatum* devido à sua grande sensibilidade, uma vez que existem várias cópias no genoma (72). No entanto, foram identificadas frequências elevadas de resultados falsos positivos quando se utiliza a área 18S rRNA como alvo (78), (72). Este facto indica a necessidade de utilizar uma região-alvo adicional para obter uma abordagem PCR com maior especificidade (72). Consequentemente, numerosos estudos utilizaram técnicas de Nested PCR, Seminested PCR ou Multiplex PCR para a deteção de *H. capsulatum*, visando não só a região DNAr, mas também loci específicos, por exemplo, o gene que codifica a proteína Hc100, uma proteína de 100 kDa vital para a sobrevivência de *H. capsulatum* nas células humanas, e o gene que codifica o antígeno M de *H. capsulatum*, uma glicoproteína fúngica que estimula as respostas imunitárias humoral e celular. A capacidade de sobrevivência do *H. capsulatum* nas células humanas e o gene que codifica o antígeno M do *H. capsulatum*, uma glicoproteína fúngica que estimula as respostas imunitárias humoral e celular. Consequentemente, a identificação de novas sequências-alvo para proporcionar uma abordagem com elevada especificidade e sensibilidade é crucial para a deteção imediata da histoplasmose.

Uma abordagem proeminente dos testes genéticos é a PCR em tempo real. O método de PCR em tempo real oferece vantagens notáveis no que respeita à duração da análise e à prevenção da contaminação cruzada. O material é testado sem abrir os tubos, o que minimiza consideravelmente a possibilidade de contaminação. Além disso, os resultados podem ser vistos e medidos através de software integrado no termociclador, eliminando a necessidade de gel de agarose ou poliacrilamida.

A figura 19 ilustra que um dos alvos para a identificação de *H. capsulatum* através da

reação em cadeia da polimerase (PCR) é o ADN ribossômico nuclear (rDNA), conhecido pela sua elevada sensibilidade e múltiplas cópias de genes. É composto por três secções de genes: 18S, 5.28S e 28S, juntamente com as regiões espaçadoras intergênicas (ITS1 e ITS2) situadas entre as regiões 18S e 28S. A região 5.28S apresenta uma variância moderada e é altamente eficaz na identificação de géneros e espécies.



**Figura 19.** Detecção de *H. capsulatum* em amostras de sangue e medula óssea utilizando o método PCR. M: Marcador de peso molecular em pares de bases (pb), S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7: Amostras de sangue periférico dos respetivos doentes, MO 1, MO 2: Amostra de medula óssea. A seta mostra os produtos de PCR de *H. capsulatum* (210 pb) <sup>(14)</sup>. **Fonte:** (OLIVEIRA *et. al.*, 2020) <sup>(14)</sup>

Como se mostra na Figura 19(14), a reação em cadeia da polimerase é um método sofisticado que pode detetar o código genético do agente fúngico utilizando pares de bases de marcadores moleculares. Os resultados são obtidos em cerca de 3 horas, o que o torna altamente benéfico para a deteção rápida de doenças <sup>(80)</sup>.

A aplicação da técnica de PCR padrão para a deteção direta de *H. capsulatum* em amostras de tecido humano fixadas em formalina foi recentemente comprovada. A abordagem demonstrou uma sensibilidade significativa, capaz de detetar ADN de *H. capsulatum* em concentrações tão baixas como picogramas por microlitro (pg/ $\mu$ L) nestas amostras, afirmando assim a sua eficácia no diagnóstico da doença <sup>(72)</sup>.

#### 5.2.4. Testes de exoantigénios

Os exoantigénios são essenciais para a identificação imunológica de infeções fúngicas e para abordar questões taxonómicas. A maioria dos fungos gera antigénios distintos que facilitam uma identificação precisa <sup>(73)</sup>. Os exoantigénios são macromoléculas

imunogénicas solúveis sintetizadas pelos fungos durante as suas fases iniciais de desenvolvimento <sup>(118)</sup>. A abordagem tradicional dos exoantígenos, que emprega o ensaio de imunodifusão para a identificação das proteínas H e M, provou ser um instrumento eficaz para o reconhecimento imunológico da forma micelial do *H. capsulatum* atípico, distinguindo este fungo de vários fungos saprófitas dos géneros *Arthroderma*, *Chrysosporium*, *Corynascus* e *Renispora*. Esta abordagem é trabalhosa e pode produzir resultados negativos erróneos <sup>(73)</sup>.

Dado que os ensaios de imunoabsorção enzimática apresentam uma sensibilidade superior em comparação com os procedimentos de precipitação e que as tecnologias baseadas em ácidos nucleicos demonstram uma maior especificidade em relação aos testes imunológicos, foram concebidos e avaliados métodos alternativos para a identificação rápida de *H. capsulatum*. Os ensaios Dot-blot e immunoblotting foram avaliados em comparação com os procedimentos convencionais para a deteção de macromoléculas solúveis específicas da espécie geradas por *H. capsulatum* em cultura. As réplicas de culturas de *H. capsulatum* com 5 a 7 dias de idade, cultivadas em caldo BHI, serviram como fonte de exoantígenos. Após 24 horas de esterilização com tómerosal, os exoantígenos foram extraídos do sobrenadante através de concentração e analisados utilizando técnicas de dot-blot e immunoblot contra soro homólogo de coelho anti-*H. capsulatum*. Estes exoantígenos foram adicionalmente avaliados por imunodifusão. Todos os isolados examinados foram identificados com precisão como *H. capsulatum* utilizando estas várias abordagens <sup>(73)</sup>. Os imunoensaios demonstraram uma sensibilidade superior (12/12 - 100%) em comparação com a ID (4/12 - 33%) <sup>(118)</sup>, <sup>(73)</sup>

### **5.3. Melhorias nos métodos de diagnóstico da histoplasmose**

As abordagens supramencionadas para o diagnóstico da histoplasmose apresentam vantagens e desvantagens, necessitando de uma avaliação exaustiva por parte de cientistas e profissionais da área microbiana. O estado imunológico do doente e a aparência da doença afectam a eficácia do teste de diagnóstico. Por conseguinte, nem todos os testes mencionados são universalmente acessíveis, o que complica o diagnóstico e o tratamento de pessoas com histoplasmose. Os esforços em curso para melhorar ou criar testes de diagnóstico aumentarão as capacidades de diagnóstico. Estes ensaios necessitarão de validação em diversas populações globais antes da sua implementação em diagnósticos regulares.

Em resposta à elevada incidência de histoplasmose associada ao VIH/SIDA, foram tomadas iniciativas para criar novos métodos de deteção de antígenos com maior sensibilidade e especificidade <sup>(73)</sup>. Os anticorpos monoclonais são agentes altamente específicos que identificam um determinante antigénico singular. A descrição destes produtos químicos pode fornecer informações sobre a sua especificidade para um antígeno fúngico individual. A aplicação destes reagentes no diagnóstico pode aumentar a eficácia dos métodos de deteção de antígenos e anticorpos <sup>(73)</sup>.

A utilização de proteínas recombinantes *de H. capsulatum* pode melhorar o desempenho do teste através da utilização de antígenos específicos, contornando assim misturas antigénicas complexas, inadequadamente descritas e não normalizadas, ao mesmo tempo que minimiza as interações actuais nos métodos de deteção de anticorpos e antígenos.

A importância do diagnóstico molecular tem aumentado devido à sua simplicidade de implementação e eficácia. A necessidade de uma técnica rápida e precisa para identificar os agentes patogénicos fúngicos tornou-se crucial devido ao aumento significativo das doenças fúngicas. Além disso, o diagnóstico rápido de deteção precoce é crucial para identificar a doença antes da manifestação de sintomas clínicos e, subsequentemente, avaliar o tratamento com base na apresentação clínica do doente <sup>(73)</sup>. A aplicação da PCR com iniciadores mais específicos pode permitir a deteção precoce da contaminação *por H. capsulatum* em amostras clínicas, incluindo biópsias, sangue, expectoração e líquido cefalorraquidiano (LCR) <sup>(73)</sup>.

Está a ser desenvolvida uma técnica inovadora de rastreio rápido para a deteção de sequências de agentes patogénicos fúngicos. Os progressos na biologia molecular, juntamente com as bases de dados de sequências fúngicas melhoradas e a ampla acessibilidade dos dados de sequências microbianas, sugerem que a tecnologia Luminex pode oferecer um ensaio rápido e eficaz para identificar *H. capsulatum* em amostras clínicas. Este método utiliza um ensaio de hibridação baseado em microesferas, em que os alvos de ADN biotinilado gerados por PCR são aplicados a uma mistura de microesferas contendo sondas específicas da espécie. Para obter uma deteção precisa da histoplasmose, a criação e o aperfeiçoamento de sondas para esta tecnologia são cruciais, facilitando avaliações de diagnóstico mais precisas e fiáveis <sup>(73)</sup>.

## **6. Prevenção e tratamento**

## 6.1. Prevenção

Evitar a exposição em regiões endêmicas é um desafio. Nestas regiões, os indivíduos seropositivos devem abster-se de comportamentos que representem um risco de infecção. A profilaxia com itraconazol (200 mg/dia) é administrada a indivíduos com contagens de células CD4+ <150 células/mm<sup>3</sup> que correm o risco de exposição profissional. Os Estados Unidos são a única nação a fornecer diretrizes abrangentes sobre a exposição no local de trabalho ou no exterior para salvaguardar os trabalhadores susceptíveis à histoplasmose <sup>(1)</sup>.

Artigos recentes expressaram apreensões relativamente a passageiros imunodeprimidos. Estes doentes representam um grupo demográfico crescente de viajantes, seja por motivos profissionais ou recreativos. Os indivíduos com uma profunda deficiência imunitária celular, como a infecção avançada pelo VIH, correm o maior risco de contrair infecções microbianas. Um exame completo numa clínica de viagens para doentes imunocomprometidos que visitam zonas tropicais garante a compreensão dos perigos específicos relacionados com fungos e outras doenças. Mesmo anos depois de as pessoas imunocomprometidas regressarem a casa, uma pneumonia febril grave, talvez não documentada teleologicamente, com ou sem lesões cutâneas ou citopenia, deve suscitar ceticismo em relação a infecções fúngicas adquiridas durante a viagem <sup>(1)</sup>. Um nódulo subcutâneo confinado pode ser potencialmente atribuído a uma infecção fúngica. Por fim, é essencial que os especialistas em doenças infecciosas conheçam bem os sintomas prevalentes, os riscos e os fungos que podem induzir uma infecção fúngica durante a viagem <sup>(126), (1)</sup>.

## 6.2. Tratamento

Começar com anfotericina B, de preferência na forma lipossómica, e depois seguir com solução de itraconazol para uma melhor absorção do medicamento do que as cápsulas. A dose inicial recomendada é de 200 mg de 8 em 8 horas até se atingirem rapidamente níveis terapêuticos <sup>(21)</sup>. A medicação de manutenção deve ser continuada com uma dosagem mais baixa até que determinados requisitos de descontinuação sejam cumpridos em doentes com VIH ou até que a recuperação da imunossupressão por outras causas seja conseguida; o período mínimo de tratamento é de um ano. Se a imunossupressão não puder ser reduzida ou se ocorrer uma recorrência apesar do tratamento, esta será permanente. Uma versão lipídica da anfotericina B é prescrita para a histoplasmose pulmonar aguda. A dose sugerida é de 3-5 mg três vezes por dia

durante três dias, seguida de 200 mg duas vezes por dia durante doze semanas <sup>(13)</sup>.

Em casos de histoplasmose disseminada, o tratamento recomendado é de 3 mg/kg diários de anfotericina B lipossómica durante 1-2 semanas, seguido de 200 mg três vezes por dia de itraconazol durante 3 dias e, finalmente, 200 mg duas vezes por dia durante um mínimo de 12 semanas. Evitar a utilização de equinocandinas no tratamento da histoplasmose, uma vez que são ineficazes contra o *H. capsulatum* <sup>(6)</sup>, <sup>(5)</sup>.

A maior parte da informação sobre os tratamentos da histoplasmose africana provém de casos individuais que seguiram as mesmas diretrizes farmacológicas da histoplasmose clássica, de acordo com a IDSA. Como primeira linha de defesa, a IDSA recomenda uma dose de 40 mg/kg de itraconazol ou anfotericina B. A maioria das nações africanas não tem acesso a esta última, que é preferida para doentes com infecções graves e disseminadas de VIH/SIDA <sup>(113)</sup>. A diretriz tem sido utilizada com sucesso em casos de histoplasmose africana, apesar da sua formulação original para a histoplasmose clássica <sup>(86)</sup>. A utilização de itraconazol, fluconazol e, mais recentemente, posaconazol no tratamento da histoplasmose em África foi documentada em experiências clínicas. A disponibilidade, o custo e, por vezes, a capacidade de gerir ou avaliar a tolerância são os principais factores que afectam o protocolo, que varia entre os clínicos <sup>(86)</sup>.

A Infectious Diseases Society of America (IDSA) recomenda que os doentes com histoplasmose do sistema nervoso central iniciem o tratamento com AMB-L e depois continuem com itraconazol durante pelo menos um ano. Esta recomendação baseou-se no facto de o AMB-L, em vez do AMB-D, ter melhorado os resultados clínicos e aumentado a mortalidade em doentes com VIH/SIDA com histoplasmose disseminada. A sugestão baseou-se nos exemplos acima mencionados e no mau prognóstico da histoplasmose do sistema nervoso central <sup>(69)</sup>. Quando a contagem de CD4 de um doente atinge 150 células/mL, a carga viral desce abaixo das 400 cópias/mL e os testes de antígeno na urina são negativos, o tratamento para o VIH pode ser interrompido <sup>(21)</sup>.

A interação entre o itraconazol e a rifampicina torna difícil o tratamento simultâneo da tuberculose e da histoplasmose. É possível prolongar o tratamento da tuberculose acrescentando um azol adicional (posaconazol ou isavuconazol) ao regime padrão, ou substituir a rifampicina por uma fluoroquinolona (moxifloxacina ou

levofloxacina).

Mesmo em pessoas com o sistema imunitário debilitado, como as que têm VIH avançado, a histoplasmose pode ser tratada eficazmente com medicação antifúngica. As diretrizes recomendam 1-2 semanas de anfotericina B intravenosa para casos graves e moderadamente graves de histoplasmose disseminada, seguidas de itraconazol para uma duração cumulativa de tratamento de 1 ano, sendo que a escolha do medicamento antifúngico depende da gravidade clínica da doença. As doenças ligeiras a moderadas são as únicas em que o itraconazol oral é utilizado para tratar <sup>((63))</sup>.

Quando comparada com a anfotericina B normal, a anfotericina B lipossômica tem uma melhor taxa de resposta e uma melhor taxa de sobrevivência. O início imediato da medicação antirretroviral para a terapêutica da histoplasmose é provavelmente recomendado com base na experiência com *Talaromyces marneffe*, embora a necessidade de o fazer não seja clara <sup>(63)</sup>.

## 7. Esforços realizados na luta contra a histoplasmose

Em 1987, a Organização Mundial de Saúde e os Centros de Controlo e Prevenção de Doenças reconheceram a histoplasmose disseminada como um tipo específico de VIH/SIDA. Este foi um sinal crucial de que a doença era perigosa. A epidemiologia, a classificação e a terapêutica da histoplasmose disseminada associada ao VIH percorreram um longo caminho nas últimas décadas. Em 2017, a Organização Mundial de Saúde reconheceu a histoplasmose como uma das principais doenças oportunistas e uma das principais causas de morte em doentes com VIH/SIDA em estado avançado, sobretudo em regiões hiperendémicas. Como medicamento para a histoplasmose e outras doenças fúngicas, o itraconazol faz agora parte da "Lista Modelo de Medicamentos Essenciais de 2017", de acordo com a Organização Mundial de Saúde. Dado o seu estatuto de não patenteado e a disponibilidade de numerosos fabricantes de genéricos, o itraconazol oferece esperança às nações com recursos limitados que procuram tratamento para a histoplasmose <sup>(63)</sup>.

Para reunir informações sobre testes *in vitro* acessíveis para doenças críticas, como a histoplasmose, e para avaliar as evidências para a sua potencial inclusão na Lista de Diagnósticos Essenciais (EDL) Modelo da Organização Mundial de Saúde, o GAFFI e os seus numerosos parceiros organizaram um simpósio em abril de 2018. Nas regiões endémicas, o painel de peritos enfatizou a necessidade de descobrir o antigénio de *Histoplasma* como uma ferramenta de diagnóstico. Em países não endémicos, pode ser utilizado como primeiro teste para casos de histoplasmose adquirida. A Organização Mundial de Saúde (OMS) incluiu o teste do antigénio de *Histoplasma* na 2.<sup>a</sup> edição da Lista de Medicamentos Essenciais (EDL) em 2019, na sequência de estudos que demonstraram a utilidade dos testes <sup>(63)</sup>.

Em março de 2019, foi introduzida a meta "100% até 2025" no âmbito da Declaração de Manaus sobre a Histoplasmose nas Américas e nas Caraíbas. De acordo com os resultados, todos os países devem ter acesso a testes rápidos de histoplasmose (antigénio ou reação em cadeia da polimerase) e as formulações públicas de itraconazol, padrão (desoxicolato) e lipídicas de anfotericina B devem estar disponíveis a nível mundial até 2025. Precisamos de alargar esta iniciativa para cobrir mais áreas com taxas elevadas de malária <sup>(63)</sup>.

A histoplasmose é uma grave preocupação clínica e de saúde pública nos países de baixo e médio rendimento, onde provoca doenças graves nos doentes com VIH/SIDA,

apesar de a medicação antirretroviral ter sido amplamente utilizada em todo o mundo. Ao avaliar um doente com uma doença aguda e uma infecção por VIH/SIDA, é crucial ter sempre em mente a histoplasmose disseminada. Os subdiagnósticos ou diagnósticos incorrectos da histoplasmose podem ser mitigados se mais médicos forem sensibilizados para esta doença. Se todos tivessem acesso a técnicas de diagnóstico rápidas e precisas e a antifúngicos que salvam vidas, o tempo necessário para diagnosticar a infecção poderia ser drasticamente reduzido, levando a melhores resultados de tratamento e a taxas de sobrevivência mais longas<sup>(63)</sup>.

## 8. CONCLUSÃO

A infecção por *H. capsulatum* resulta em várias síndromes clínicas que dependem do estado imunológico, da integridade das vias respiratórias e do tamanho do inóculo. A variante mais grave, a forma disseminada progressiva, constitui um desafio clínico significativo em doentes infectados com VIH, devido à sua elevada taxa de mortalidade na ausência de tratamento e à semelhança dos seus sinais e sintomas com outras infecções, em particular a tuberculose.

O peso real da histoplasmose permanece desconhecido, baseando-se apenas em estimativas e não em provas concretas. A histoplasmose continua a ser uma preocupação de saúde pública na era HAART, particularmente entre as pessoas infectadas pelo VIH. Na maioria das áreas endémicas, fora das instalações de investigação ou de referência para o diagnóstico da histoplasmose, a doença é muitas vezes erradamente identificada como tuberculose ou completamente ignorada. Continuam a ser necessários estudos específicos para melhorar a compreensão, o diagnóstico e o tratamento dos doentes infectados com *H. capsulatum*.

Tem havido um aumento gradual das infecções por histoplasmose a nível mundial; no entanto, a doença continua a ser negligenciada e subdiagnosticada em certos países, particularmente em África. Esta doença coloca problemas significativos tanto para os doentes imunocomprometidos como para os não imunocompetentes, resultando em taxas elevadas de morbilidade e mortalidade. Alguns sintomas podem passar despercebidos e resolver-se espontaneamente sem intervenção farmacológica. As várias formas de histoplasmose apresentam sinais e sintomas quase idênticos, incluindo febre elevada, artralgia, arrepios, desconforto torácico, cansaço e tosse, entre várias outras manifestações.

Alguns sintomas são tratados com medicamentos como a anfotericina B, o cetoconazol, o fluconazol ou o itraconazol, entre outros. A doença é frequentemente diagnosticada através de testes laboratoriais, efectuados em instalações bem equipadas que utilizam tecnologia avançada e que contam com técnicos qualificados e experientes. São ainda necessários avanços significativos no diagnóstico laboratorial de muitas formas de histoplasmose, incluindo a histoplasmose africana. As iniciativas podem incluir uma normalização e validação abrangentes das tecnologias existentes baseadas na PCR.

É essencial definir o rendimento do diagnóstico para diferentes tipos de espécimes em conjunto com as circunstâncias clínicas. A melhoria dos conhecimentos e da formação do pessoal de saúde, juntamente com a promoção de investigação adicional em regiões endêmicas, é essencial para melhorar o prognóstico atual da histoplasose. Foram criados, validados e estão cada vez mais acessíveis novos testes laboratoriais, diminuindo assim o tempo necessário para o diagnóstico e o início da terapêutica, o que pode reduzir significativamente a morbidade e a morte.

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. ADENIS, Antoine A.; AZNAR, Christine; COUPPIÉ, Pierre (2014). **Histoplasmose em pacientes infectados pelo HIV: Uma revisão dos novos desenvolvimentos e lacunas remanescentes**. *Current Tropical Medicine Reports*, **1**, 119-128. [Internet]. [Acedido em 07 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40475-014-0017-8>.
2. VILANCULO, Nelson António Munjovo (2017). **Deteção Molecular de *Pneumocystis jirovecii* e *H. capsulatum* em Pacientes Infectados pelo HIV no Hospital Central de Maputo, Moçambique**. Dissertação de Mestrado apresentada ao curso de Ciências da Saúde do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas da Fiocruz-Brasil. [Internet]. [Acedido em fevereiro de 2023]. Disponível em: [https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/27426/nelson\\_vilanculo\\_ini\\_mest\\_2017.pdf?sequence=2](https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/27426/nelson_vilanculo_ini_mest_2017.pdf?sequence=2).
3. **Histoplasmose - CDC**. [Internet]. [Acedido em 07 de janeiro de 2023]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/histoplasmosis/>.
4. **Endemic Areas - Histoplasmosis**. [Internet]. [Acedido em 08 de janeiro de 2023]. Disponível em: [http://clades.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap24/24-18\\_Histoplasmose.jpg](http://clades.midlandstech.edu/carterp/Courses/bio225/chap24/24-18_Histoplasmose.jpg).
5. CORREIA, Estela de Jesus Guerreiro Batista Pinheiro (2015). **Infecções Fúngicas em Doentes com VIH/SIDA**. Dissertação de Mestrado em Análises Clínicas, Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia. [Internet]. [Consultado em 22 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/20772/1/Monografia.pdf>.
6. **Guidelines for Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Infected Adults and Adolescents**. [Internet]. [Acedido em 25 de março de 2023]. Disponível em: <https://clinicalinfo.hiv.gov/en/guidelines/hiv-clinical-guidelines-adult-and-adolescent-opportunistic-infections/histoplasmosis?view=full>.
7. AKRAM, Sami M.; KOIRALA, Jonak (2023). **Histoplasmose**. *Centro Nacional de Informação Biotecnológica*. [Internet]. [Acedido em 10 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448185/>.
8. OLIVEIRA, Dáfinne Gonçalves et al. (2020). **Aspectos clínicos e laboratoriais da histoplasmose: uma revisão de literatura**. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, vol. **9**, no. **7**, p. 7. [Internet]. [Acedido em 22 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4353>.

9. VALDEZ, Alessandro F.; MIRANDA, Daniel Zamith; GUIMARÃES, Allan Jefferson; NIMRICHTER, Leonardo; NOSANCHUK, Joshua D. (2022). **Patogenicidade e virulência de *H. capsulatum* - Um organismo multifacetado adaptado a ambientes intracelulares.** *Virulence*, **13**(1), pp. 1900-1919. *PubMed*. [Internet]. [Consultado em 1 de dezembro de 2022]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36266777/>.
10. ROSSINI, Thais Ferrarelli; GOULART, Letícia Silveira (2006). **Histoplasmose clássica: uma revisão.** *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, **38**(4), pp. 275-279. [Internet]. [Consultado em 15 de dezembro de 2022]. Disponível em: [https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/08/RBAC\\_Vol.38\\_n4-Completa.pdf](https://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2016/08/RBAC_Vol.38_n4-Completa.pdf).
11. CARVALHO, Beatriz Tavares Costa; NUDELMAN, Víctor; CARNEIRO-SAMPAIO, Magda Maria Sales (1998). **Mecanismos de defesa contra as infecções.** *Jornal de Pediatria*, **74**(Supl. 1), S1-S11. [Internet]. [Consultado em 17 de dezembro de 2022]. Disponível em: <https://www.jped.com.br/en-pdf-X2255553698028550>.
12. OLIVEIRA, Analyanne Najla Silva de (2017). **Histoplasmose clássica: uma revisão bibliográfica.** Trabalho de Conclusão de Curso da Graduação em Farmácia, Universidade Federal da Paraíba. [Internet]. [Acessado em 1 de maio de 2023]. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/3694/1/ANSO07122017.pdf>.
13. WHEAT, L. Joseph et al. (2007). **Clinical Practice Guidelines for the Management of Patients with Histoplasmosis: 2007 Update by the Infectious Diseases Society of America.** *Clinical Infectious Diseases (CID)*, **45**(7), pp. 807-825. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 2 de março de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17806045/>.
14. OLIVEIRA, Dáfinne Gonçalves et al. (2020). **Aspectos clínicos e laboratoriais da histoplasmose: uma revisão de literatura.** *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, **9**(7), pp. 1-26. [Internet]. [Consultado em 19 de abril de 2023]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i7.4353>.
15. LIMA, Marinus de Moraes et al. (2012). **Histoplasmose disseminada com cavitação pulmonar miliar e envolvimento laringotraqueobrônquico em paciente imunocompetente: relato de caso.** *Revista Brasileira de Clínica Médica*, **10**(1), pp. 61-64. [Internet]. [Consultado em 19 de abril de 2023]. Disponível em: <http://files.bvs.br/upload/S/1679-1010/2012/v10n1/a2672.pdf>.
16. AZAR, Marwan M.; HAGE, Chadi A. (2017). **Diagnóstico laboratorial para histoplasmose.** *Journal of Clinical Microbiology*. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 4 de abril de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28275076/>.
17. SILVA, Thaísa Cristina (2013). **Perfil epidemiológico dos pacientes com histoplasmose disseminada associada à AIDS em Goiânia-GO.** Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás. [Internet]. [Acessado em 07 de abril de 2023]. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/3728/5/Dissertação%20-%20Thaísa%20Cristina%20Silva%20-%202014.pdf>.
18. TOBÓN, Ángela María; GÓMEZ, Beatriz L. (2021). **Histoplasmose pulmonar.** *Micopatologia*, **186**(5), pp. 697-705. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 12 de abril de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34498137/>.
19. KAUFFMAN, Carol A. (2007). **Histoplasmose: uma atualização clínica e laboratorial.** *Clinical Microbiology Review*, **20**(1), pp. 115-132. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 18 de março de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17223625/>.
20. GOODWIN, R. A.; LOYD, J. E.; PREZ, R. M. Des (1981). **Histoplasmose em hospedeiros normais.** *Medicine (Baltimore)*, **60**(4), pp. 231-266. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 08 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7017339/>.
21. LÓPEZ, Luisa; TOBÓN, Ángela; CÁCERES, Diego; CHILLER, Tom; LITVINTSEVA, Anastacia; GADE, Lalitha; GONZÁLEZ, Ángel; GÓMEZ, Beatriz (2023). **Aplicação de ensaios de PCR em tempo real para o diagnóstico de histoplasmose em tecidos humanos FFPE usando três alvos moleculares.** *Journal of Fungi*, **186**(5), pp. 697-705. *PubMed*. [Internet].

- [Acedido em 15 de dezembro de 2024]. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10381543/>.
22. MYINT, Thein; LEEDY, Nicole; CARI, Evelyn Villacorta; WHEAT, L. Joseph (2020). **Histoplasmose associada ao HIV: Perspectivas atuais.** *HIV/AIDS - Investigação e Cuidados Paliativos*, **12**, pp. 113-125. [Internet]. [Acedido em 2 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/HIV.S185631>.
  23. NACHER, Mathieu; ADENIS, Antoine; ABOUD, Philippe; DJOSSOU, Felix; DEMAR, Magalie; EPELBOIN, Loï; COUPPIÉ, Pierre (2020). **Pacientes com HIV que morrem em tratamento anti-tuberculose: as infecções não diagnosticadas ainda são um problema na Guiana Francesa?** *BMC Research Notes*, **13**: 209. *PubMed Central*. [Internet]. [Acedido em 1 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7149834/>.
  24. SPEC, Andrej; CONNOLLY, Patricia; MONTEJANO, Rocio; WHEAT, L. Joseph (2018). **Atividade in vitro do isavuconazol contra isolados resistentes ao fluconazol de *Histoplasma capsulatum*.** *Medical Mycology*, **56**(7), pp. 834-837. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 18 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29253204/>.
  25. STROCK, Stephen B. et al. (2015). **A mediastinite fibrosante que complica a histoplasmose prévia está associada ao antígeno leucocitário humano DQB1 04:02 - um estudo de controle de caso.** *BMC Infectious Diseases*, **15**: 206. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 9 de abril de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25940591/>.
  26. JAIN, Neeraj; CHAUHAN, Udit; PURI, Sunil Kumar; AGRAWAL, Sachin; GARG, Lalit (2016). **Mediastinite fibrosante: quando suspeitar e como avaliar?** *BJR Case Reports*, **2**(1). *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 27 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30364448/>.
  27. AKRAM, Sami M.; KOIRALA, Jonak (2018). **Histoplasmose.** *StatPearls*. [Internet]. [Acedido em 7 de abril de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448185/>.
  28. ADENIS, Antoine; NACHER, Mathieu; HANF, Matthieu; VANTILCKE, Vicente; BOUKHARI, Rachida; BLACHET, Rachida; DEMAR, Magalie; AZNAR, Christine; CARME, Bernard; COUPPIÉ, Pierre (2014). **Tendências de mortalidade precoce e incidência da histoplasmose associada ao VIH: Da negligência à prioridade.** *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases (PLoS Negl Trop Dis)*. [Internet]. [Acedido em 3 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003100>.
  29. TOBÓN, Ángela María (2012). **Protocolo para o estudo e manejo da histoplasmose.** *Infectio*, **16**(Suppl 3), pp. 126-128. [Internet]. [Acedido em 3 de março de 2023]. Disponível em: [https://revistainfectio.org/P\\_OJS/index.php/infectio/article/view/584/564](https://revistainfectio.org/P_OJS/index.php/infectio/article/view/584/564).
  30. KANDI, Venkataramana; VAISH, Ritu; PADMAVALI, Palange; BHOMAGIRI, Mohan Rao (2016). **Histoplasmose pulmonar crônica e seu significado: uma doença fúngica sistêmica sub-relatada.** *Cureus*, **8**(8): 751. *PubMed Central*. [Internet]. [Acedido em 8 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5037059/>.
  31. FURUIE, Jason Lee (2014). **Desenvolvimento de uma sonda cadeado para o diagnóstico molecular de *H. capsulatum* baseado na técnica de amplificação em círculo rolante (RCA).** Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná. [Internet]. [Acessado em 19 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/41838/R%20-%20D%20-%20JASON%20LEE%20FURUIE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
  32. MELLO, Luciane dos Santos (2019). **Abordagem soroepidemiológica e multifatorial da histoplasmose: Uma revisão sistemática.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia e Parasitologia Aplicadas do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense. [Internet]. [Acessado em 20 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/bitstream/handle/1/9290/Dissertação%20de%20Mestrado%20-%20Luciane%20Mello%20%28versão%20pós%20defesa%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

33. TRIGO, Lawrence J. et al. (2016). **Histoplasmose**. *Clínicas de Doenças Infecciosas da América do Norte*, **30**(1), pp. 207-227. Elsevier. [Internet]. [Acedido em 20 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.009>.
34. ZANOTTI, Paola et al. (2018). **Histoplasmose disseminada como apresentação de AIDS: relato de caso e revisão abrangente da literatura atual**. *Journal Mediterrâneo de Hematologia e Doenças Infecciosas*, **10**(1). [Internet]. [Acedido em 20 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4084/MJHID.2018.040>.
35. ARECHAVALIA, Alicia et al. (2017). **Utilidade de um kit ELISA na detecção do antígeno de *H. capsulatum* em pacientes com SIDA**. *Revista de Patologia Tropical*, **46**(2). [Internet]. [Consultado em 1 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/rpt.v46i2.47418>.
36. ALMEIDA, Marcos de Abreu et al. (2016). **Validação de western blot para ensaio de detecção de anticorpos contra *H. capsulatum***. *BMC Infectious Diseases*, **16**: 87. PubMed. [Internet]. [Acedido em 18 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1427-0>.
37. PASSOS, Angela Noronha et al. (2014). **Ensaio imunológico empregado para a elucidação de um surto de histoplasmose em São Paulo, SP**. *Revista Brasileira de Microbiologia*, **45**(4), pp. 1357-1361. PubMed. [Internet]. [Acedido em 18 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1517-83822014000400028>.
38. ALMEIDA, Marcos de Abreu (2014). **Validação do ensaio de imunoabsorção enzimática (Western Blot) para o diagnóstico da histoplasmose**. Dissertação apresentada ao Curso de Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas. [Internet]. [Acessado em 19 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/14284>.
39. MINEO, José Roberto; SILVA, Maraisa Cristina; BRÍGIDO, Penha Helena Maria Caleiro Acerbi (2016). **Manual Ilustrado de Práticas Laboratoriais em Imunologia**. Editora da Universidade Federal de Uberlândia, pp. 47-55. [Internet]. [Consultado em 19 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/29635/1/ManualIlustradoPráticas.pdf>.
40. FALCI, Diego R.; HOFFMANN, Elias R.; PASKULIN, Diogo D.; PASQUALOTTO, Alessandro C. (2017). **Histoplasmose: revisão**. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **21**(1), pp. 7-11. PubMed. [Internet]. [Acessado em 25 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.09.012>.
41. DEVIA-FANDIÑO, Estefânia; ECHEVERRI-RODRÍGUEZ, Carolina; CARDONA-ARIAS, Jaiberth; GONZALEZ, Ángel (2016). **Deteção de antígeno no diagnóstico de histoplasmose: uma meta-análise do desempenho diagnóstico**. *Mycopathologia*, **181**(3-4), pp. 197-205. PubMed. [Internet]. [Acedido em 24 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11046-015-9965-3>.
42. STANCARI, Regina Célia Arantes (2013). **Determinação de teste ELISA para *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.* em amostras de água bruta**. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, **72**(3), pp. 234-238. [Internet]. [Acessado em 7 de março de 2023]. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/32923/31754>.
43. FREIFELD, A. G.; IWEN, P. C.; LESIAK, B. L.; GILROY, R. K.; STEVENS, R. B.; KALIL, A. C. (2005). **Histoplasmose em receptores de transplante de órgãos sólidos num grande centro de transplante universitário do Meio-Oeste dos EUA**. *Transplant Infectious Disease*, **7**(3-4), pp. 109-115. PubMed. [Internet]. [Acedido em 30 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1467-8365.2005.00105.x>.
44. ODIO, C. M.; NAVARRETE, M.; CARRILLO, J. M.; MORA, L.; CARRANZA, A. (1999). **Histoplasmose disseminada em bebês**. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, **18**(12), pp. 1065-1068. [Internet]. [Acedido em 30 de janeiro de 2023]. Disponível em: [https://journals.lww.com/pidj/Abstract/1999/12000/Disseminated\\_histoplasmosis\\_in\\_infants.7.aspx](https://journals.lww.com/pidj/Abstract/1999/12000/Disseminated_histoplasmosis_in_infants.7.aspx).
45. MANDELL, W.; GOLDBERG, D. M.; NEU, H. C. (1986). **Histoplasmose em pacientes com a síndrome da imunodeficiência adquirida**. *The American Journal of Medicine*, **81**(6), pp. 974-

978. [Internet]. [Acedido em 14 de março de 2023]. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(86\)90390-6](https://doi.org/10.1016/0002-9343(86)90390-6).
46. JOHNSON, P. C.; KHANDORI, N.; NAJJAR, A. F.; BUTT, F.; MANSELL, P. W.; SAROSI, G. A. (1988). **Histoplasmose disseminada progressiva em pacientes com AIDS**. *The American Journal of Medicine*, **85**(2), pp. 152-158. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 14 de março de 2023]. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(88\)80334-6](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(88)80334-6).
47. GUTIERREZ, Maria Eugénia; CANTON, Alfredo; SOSA, Nestor; PUGA, Esther; TALAVERA, Leyda (2005). **Histoplasmose disseminada em pacientes com SIDA no Panamá**. *Clinical Infectious Diseases*, **40**(8), pp. 1199-1202. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 14 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/428842>.
48. REDDY, P.; GORELICK, D. F.; BRASHER, C. A.; LARSH, H. (1970). **Histoplasmose disseminada progressiva observada em adultos**. *The American Journal of Medicine*, **48**(5), pp. 629-636. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 14 de março de 2023]. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(70\)90014-8](https://doi.org/10.1016/0002-9343(70)90014-8).
49. WHEAT, L. J. et al. (1990). **Disseminated histoplasmosis in the acquired immune deficiency syndrome: clinical findings, diagnosis, treatment, and review of the literature**. *Medicine*, **69**(6), pp. 361-374. [Internet]. [Acedido em 18 de fevereiro de 2023]. Disponível em: [https://journals.lww.com/mdjournal/Citation/1990/11000/Disseminated\\_Histoplasmosis\\_in\\_the\\_Acquired\\_Immune.4.aspx](https://journals.lww.com/mdjournal/Citation/1990/11000/Disseminated_Histoplasmosis_in_the_Acquired_Immune.4.aspx).
50. FRISKEL, E.; KLOTZ, Stephen A.; BARTHOLOMEW, William; DIXON, Anita (2000). **Two unusual presentations of urogenital histoplasmosis and a review of the literature**. *Clinical Infectious Diseases*, **31**(1), pp. 189-191. *Oxford Academic*. [Internet]. [Acedido em 23 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/313904>.
51. BURKE, D. G.; EMANCIPATOR, S. N.; SMITH, M. C.; SALATA, R. A. (1997). **Histoplasmose e doença renal em doentes com SIDA**. *Clinical Infectious Diseases*, **25**(2), pp. 281-284. *Oxford Academic*. [Internet]. [Acedido em 12 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/514556>.
52. GOLDANI, Luciano Z.; KLOCK, Clóvis; DIEHL, Ada; MONTEIRO, Ane C.; MAIA, Ana Luiza (2000). **Histoplasmose da tireoide**. *Journal of Clinical Microbiology*, **38**(10), pp. 3890-3891. [Internet]. [Consultado em 14 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.38.10.3890-3891.2000>.
53. MOQUET, Olivier; BLANCHET, Denis; SIMON, Stéphane; VERON, Vicent; MICHEL, Myriam; AZNAR, Christine (2012). **Histoplasma capsulatum em Caiena, Guiana Francesa**. *Mycopathologia*, **174**, pp. 331-334. *Springer Link*. [Internet]. [Consultado em 12 de abril de 2023]. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11046-012-9550-y>.
54. HANF, Matthieu; ADENIS, Antoine; COUPPIÉ, Pierre; CARMÉ, Bernard; NACHER, Mathieu (2010). **Histoplasmose associada ao VIH na Guiana Francesa: infecção recente ou reativação?** *AIDS*, **24**(11), pp. 1777-1778. [Internet]. [Acedido em 16 de abril de 2023]. Disponível em: [https://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2010/07170/HIV\\_associated\\_histoplasmosis\\_in\\_French\\_Guiana\\_.20.aspx](https://journals.lww.com/aidsonline/Fulltext/2010/07170/HIV_associated_histoplasmosis_in_French_Guiana_.20.aspx).
55. MCKINSEY, David S. et al. (1997). **Prospective study of histoplasmosis in patients with human immunodeficiency virus: incidence, risk factors, and pathophysiology**. *Clinical Infectious Diseases*, **24**(6), pp. 1195-1203. [Internet]. [Acedido em 18 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/513653>.

56. HAJJEH, R. A. et al. (2001). **Multicenter case-control study of risk for histoplasmosis in human immunodeficiency virus-infected persons.** *Clinical Infectious Diseases*, **32**(8), pp. 1215-1220. [Internet]. [Acedido em 18 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/319756>.
57. SINGH, N. et al. (2012). **Infecções fúngicas derivadas de doadores em receptores de transplantes de órgãos: diretrizes da Sociedade Americana de Transplantação, Comunidade de Prática de Doenças Infecciosas.** *American Journal of Transplantation*, **12**(9), pp. 2414-2428. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 19 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2012.04100.x>.
58. **Histoplasmose: o que é, sintomas, causas e tratamento.** *Tua Saúde*. [Internet]. [Acedido em 19 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.tuasaude.com/histoplasmose/>.
59. **Histoplasmose: o que é, sintomas, prevenção, tratamento.** *Minuto Saudável*. [Internet]. [Acessado em 19 de março de 2023]. Disponível em: <https://minutosaudavel.com.br/histoplasmose/#causas>.
60. TRISTÃO, Gabriel Brum (2018). **Estudo da homeostase do cobre no fungo *Histoplasma capsulatum*.** Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. [Internet]. [Acessado em 19 de março de 2023]. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/9384/5/Tese%20-%20Gabriel%20Brum%20Tristão%20-%202018.pdf>.
61. BONGOMIN, Felix; RICHARD, Kwizera; DENNING, David W. (2019). **Colocando a histoplasmose no mapa de recomendações internacionais para pacientes com doença avançada do HIV.** *Journal of Fungi*, **5**(3), p. 80. *PubMed Central*. [Internet]. [Acedido em 23 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof5030080>.
62. LIMPER, Andrew H.; ADENIS, Antoine; LE, Thuy; HARRISON, Thomas (2017). **Fungal infections in HIV/AIDS.** *The Lancet Infectious Diseases*, **17**(11), pp. 334-343. *PubMed*. [Internet]. [Acedido em 23 de março de 2023]. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(17\)30303-1](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(17)30303-1).
63. FERREIRA, Bianca da Silva (2015). **Histoplasmose disseminada em pacientes com AIDS: características clínico-epidemiológicas e análise espacial em um hospital de referência de uma metrópole do Centro-Oeste brasileiro.** Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. [Internet]. [Acessado em 23 de março de 2023]. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/7701/5/Dissertação%20-%20Bianca%20da%20Silva%20Ferreira%20-%202015.pdf>.
64. AIDÉ, Miguel Abidon (2009). **Capítulo 4 - Histoplasmose.** *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, **35**(11), pp. 1145-1150. [Internet]. [Acessado em 24 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.jornaldepneumologia.com.br/details/14/pt-BR/capitulo-4---histoplasmose>.
65. AJELLO, Libero (1964). **Relação de *H. capsulatum* com habitats de aves.** *Relatórios de Saúde Pública*, **79**(3), pp. 266-270. *PubMed Central*. [Internet]. [Consultado em março de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1915414/>.
66. HOFF, Gerald; BIGLER, William J. (1981). **O papel dos morcegos na propagação e disseminação da histoplasmose: uma revisão.** *Journal of Wildlife Diseases*, **17**(2), pp. 191-196. [Internet]. [Acedido em 1 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-17.2.191>.
67. TRIGO, Joseph et al. (2018). **Histoplasmose do sistema nervoso central.** *Medicine (Baltimore)*, **97**(13), e0245. *PubMed Central*. [Internet]. [Acedido em 9 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010245>.
68. NYALAKONDA, Harita; ALBUERNE, Marisol; HERNANDEZ, Lia Patricia Suazo; SARRIA, Juan C. (2015). **Síndrome da imunodeficiência adquirida por histoplasmose no sistema nervoso central.** *The American Journal of the Medical Sciences*, **351**(2), pp. 177-186. [Internet]. [Acedido em 9 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2015.11.016>.

69. SCHESTATSKY, Pedro; CHEDID, Márcio F.; AMARAL, Olavo B.; UNIS, Gisela; OLIVEIRA, Flávio M. (2006). **Histoplasmose isolada do sistema nervoso central em hospedeiros imunocompetentes: uma série de 11 casos.** *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, **38**(1), pp. 43-48. [Internet]. [Acedido em 6 de janeiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00365540500372895>.
70. RIBEIRO, Joyce Fonteles (2012). **H. capsulatum var. capsulatum: taxa de conversão in vitro, detecção do gene ryp1 e estudo da diversidade genética dos STIRPs brasileiros.** Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Médica, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará. [Internet]. [Consultado em 4 de fevereiro de 2023]. Disponível em: [https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/4825/1/2012\\_tese\\_jfribeiro.pdf](https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/4825/1/2012_tese_jfribeiro.pdf).
71. GUIMARÃES, Allan Jefferson; NOSANCHUK, Joshua. D.; ZANCOPÉ-OLIVEIRA, Rosely Maria. M. (2006), *Diagnóstico da Histoplasmose, Braz. J. Microbiol.*, v. 37, no. 1, pp. 1-13. [Internet], [Acedido em 6 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000100001>.
72. KAUFFMAN, Carol A. (2009). Histoplasmose, *Clin. Chest. Med.* 30(2): 217-25, PubMed [Internet]. [Acedido em 12 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2009.02.002>.
73. LEIMANN, Beatriz Consuelo Quinet *et. al.* (2005). Histoplasmose em um centro brasileiro: formas clínicas e laboratoriais, *Rev. Iberoam Micol.*, PubMed, 22(23): 141-6. [Internet]. [Acessado em 12 de fevereiro de 2023]. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1130-1406\(05\)70027-9](https://doi.org/10.1016/s1130-1406(05)70027-9).
74. MUNÓZ, Cesar *et. al.* (2010). Validação e Aplicação Clínica de um Método Molecular para Identificação de *H. capsulatum* em Espécimes Humanos na Colômbia, América do Sul. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 17(1): 62-67, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 1 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11046-021-00588-4>.
75. JIANG, Bingdong; BARTLETT, Marilyn; ALLEN, Stephen D.; SMITH, James W.; WHEAT, L. Joseph; CONNOLLY, Patricia A.; LEE, Chao-Hung (2000). Typing of *H. capsulatum* Isolates Based on Nucleotide Sequence Variation in the Internal Transcribed Spacer Regions of rRNA Genes, *Journal of Clinical Microbiology*, 38(1): 241-245, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 8 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.38.1.241-245.2000>.
76. BIALEK, Ralf; FEUCHT, Antje; AEPINUS, Christian; JUST-NÜBLING; ROBERTSON, Valerie; KNOBLOCH, Jürgen; HOHLE, Rolf. (2002). Avaliação de dois ensaios de PCR nascentes para detecção de DNA de Histoplasma capsulatum em tecido humano, *Journal of Clinical Microbiology*, 40(5): 1644-7, PubMed [Internet]. [Acedido em 12 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/jcm.40.5.1644-1647.2002>.
77. ELÍAS, Nahuel Alejandro; CUESTAS, María Luján; SANDOVAL, Macarena; POBLETE, Gabriela; LOPEZ-DANERI, Gabriela; JEWUCHOWICZ, Virginia; LOVANNITTI, Cristina; MUJICA, María Teresa (2012). Identificação rápida de *H. capsulatum* diretamente deculturas por PCR multiplex, *Mycopathologia*, 174(5-6): 451-6, PubMed [Internet]. [Consultado em 15 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11046-012-9567-2>.
78. SIMON, Stephane; VERON, Vicente; BOUKHARI, RACHIDA; BLANCHET, Denis; AZNAR, Christine (2010). Detection of *H. capsulatum* DNA in human samples by real-time polymerase chain reaction, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, vol. 66, issue 3, páginas 268-273, Science Direct. [Internet]. [Acedido em 15 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.10.010>.
79. FERREIRA, Marcelo Simão; Borges, AÉRCIO Sebastião (2009). Histoplasmose, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42(2), Internet]. [Consultado em 15 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200020>.
80. MACLNNES, Rebecca; WARRIS, Adília (2021). Histoplasmose pediátrica 2000-2019: uma revisão de 83 casos, *Journal of Fungi*, 7 (6): 448, PubMed Central, [Internet]. [Acedido em 15 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof7060448>.

81. VERÍSSIMO, Cristina; SIMÕES, Helena; SABINO, Raquel (2016). Histoplasmoze em Portugal: uma infeção rara? *Boletim Epidemiológico – Observações*, nº 16, 2ª série, Artigos Curtos, nº 5, pp. 20-25. [Internet]. [Acedido em 15 de março de 2023]. Disponível em: [http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/3891/1/Boletim\\_Epidemiologico\\_Observacoes\\_N16\\_2016\\_artigo5.pdf](http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/3891/1/Boletim_Epidemiologico_Observacoes_N16_2016_artigo5.pdf).
82. ASHBEE, H. R. *et. al.* (2008). Histoplasmosis in Europe: report on an epidemiological survey from the European Confederation of Medical Mycology Working Group, *Medical Mycology*, volume 46, Issue 1, pp. 57-65, Oxford Academic, [Internet]. [Consultado em 17 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13693780701591481>.
83. GAGO, C. Valero; MONTEIRO, M. C.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; BUITRAGO, M. J.(2018). African histoplasmosis: new clinical and microbiological insights, *Medical Mycology*, volume 56, número 1, páginas 51-59, Oxford Academic. [Internet]. [Acedido em 18 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myx020>.
84. OCANSEY, Bright K., *et. al.* (2022). Histoplasmoze em África: Perspectivas actuais, lacunas de conhecimento e prioridades de investigação, *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 16(2): e0010111, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 20 de março de 2023]. Disponível em: [10.1371/journal.pntd.0010111](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0010111). OLADELE, Rita O.; AYONALOWO, Olusola O.; RICHARDSON, Malcolm D.; DENNING, David W. (2018). Histoplasmoze em África: Uma doença emergente ou negligenciada. *Plos Neglected Tropical Diseases*, 12(1): e0006046, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 18 de abril de 2023]. Disponível em: [10.1371/journal.pntd.0006046](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006046).
85. DEVELOUX, M.; AMONA, F. M.; HENNEQUIN, C. (2021). Histoplasmoze causada por *H. capsulatum var. duboisii*: A Comprehensive Review of Cases From 1993 to 2019, *Clinical Infectious Diseases*, volume 73, Issue 3, 1 pp.543-549, Oxford Academic. [Internet]. [Acedido em 18 de abril de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1304>.
87. DARRÉ, Tchín; SAKA, Bayaki; MOUHARI-TOURÉ, Abas; DORKENOO, Améyo Monique; AMÉRGBOR, Koffi; PITCHE, Vincent Palokinam; NAPO-KOURA, Gado, (2017). Histoplasmoze por *H. capsulatum var. duboisii* Observado no Laboratório de Anatomia Patológica de Lomé no Togo, *Journal of Pathogens*, PubMed Central, [Internet]. [Acedido em 18 de abril de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/2F2323412>.
88. PAKASA, Nestor; BIBER, Asaf; NSIANGANA, Samuel; IMPOSO, Désiré; SUMAILI, Ernest; MUHINDO, Hypolite; BUITRAGO, Maria J.; BARSHACK, Iris; SCHWARTZ, Eli. (2018=). Histoplasmoze Africana em Pacientes HIV-Negativos, República Democrática do Congo, *Centros de Controlo e Prevenção de Doenças*, Vol. 24, No. 11. [Internet]. [Consultado em 20 de abril de 2023]. Disponível em: [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/11/18-0236\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/11/18-0236_article).
89. OLADELE, Rita O.; TORIELLO, Conchita, *et. al.* (2018). Histoplasmoze subclínica prévia revelada na Nigéria usando o teste cutâneo de histoplasmina, *PLoS One*, 13(5=: e0196224. [Internet]. [Acedido em 20 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196224>.
90. VALERO, C.; GAGO, S.; MONTEIRO, M. C.; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A.; BUITRAGO, M. J. (2017). Histoplasmoze africana: novos conhecimentos clínicos e microbiológicos, *Medical Mycology*, Vol. 56, Issue 1, pp. 51-59. [Internet]. [Acedido em 22 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myx020>.
91. MUSOKE, Florence (2001). Histoplasmoze espinal africana simulando espondilite tuberculosa, *African Health Sciences*, 1(1): 28-29, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 22 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2704456/>.
92. DIADIE, S.; DIATTA, B. *et. al.* (2016). [Histoplasmoze multifocal devido a *H. capsulatum var. duboisii* em um paciente senegalês de 22 anos sem imunodepressão comprovada]. *J. Mycol. Med.*, Sep; 26(3): 265-70, PubMed [Internet]. [Consultado em 26 fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.03.004>.
93. GUGNANI, H. C. (2000). Histoplasmoze em África: A review, *The Indian Journal of Diseases &*

- Allied Sciences*, Vol. 42, pp. 271-277, Google Academic. [Internet]. [Consultado em 26 de fevereiro 2023]. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Harish-Gugnani/publication/8131601\\_Histoplasmosis\\_in\\_Africa\\_a\\_review/links/5f0352f045851550508dd3b0/Histoplasmosis-in-Africa-a-review.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Harish-Gugnani/publication/8131601_Histoplasmosis_in_Africa_a_review/links/5f0352f045851550508dd3b0/Histoplasmosis-in-Africa-a-review.pdf).
94. PELLATON, Cyril; CAVASSINI, Matthias, *et. al.* (2009). *H. capsulatum* var. *duboisii* infection in a patient with AIDS: rapid diagnosis using polymerase chain reaction- sequencing, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, Vol. 4, Issue1,
  95. pp. 85-89, Science Direct. [Internet]. [Acedido em 19 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.01.001>.
  96. SACOOR, Mohamed F. (2017). Histoplasmosse cutânea disseminada com envolvimento laríngeo em um cenário de síndrome inflamatória de reconstituição imunológica, *South African Journal of HIV Medicine*, Vol. 18, No. 1, [Internet]. [Acedido em 19 de fevereiro de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.4102/sajhivmed.v18i1.693>.
  97. MINTA, D. K.; SYLLA, M. *et. al.* (2014). Première observation malienne d'histoplasmosse africaine disséminée à prédominance osseuse chez um enfant VIH négatif. Revue de la littérature Malian first observation of disseminated Arican histoplasmosis with predominant bone localizations in an HIV-negative child in Bamako (Mali). Revisão da literatura, *Journal de Mycologie Médicale*, vol. 24, Issue 2,
  98. pp. 152-157, Science Direct. [Internet]. [Acedido em 07 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2013.08.001>.
  99. AMENI, Gobena (2006). Epidemiologia da histoplasmosse equina (linfagite epizoótica) em cavalos de corrida na Etiópia. *The Veterinay Journal*, Vol. 172, Issue 1,
  100. pp. 160- 165, Science Direct. [Internet]. [Acedido em 07 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.02.025>.
  101. HENSEL, M.; HOFFMAN, A. Rodrigues; GONZALES, M.; OWSTON, M. A.; JR., E. J.(2019) Análise filogenética de *H. capsulatum* var *duboisii* em babuínos de arquivado em tecido fixado em formalina e embebido em parafina, *Medical Mycology*, 57(2): 256-259, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 09 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1093%2Fmmy%2Fmmy003>.
  102. KONAN, Landry; DROGBA, Landry; BRAHIMA, DOUKOURE; MESFIN, Fassil B.(2020). Um caso de abscesso cerebral de *Histoplasma duboisii* e revisão da literatura, *Cureus*, 12 (2): e6984, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 09 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.7759%2Fcureus.6984>.
  103. TSIODRAS, Sotirios; DROGARI-APIRANTHITOU, Miranda, *et. al.* (2012). Um Tumor Cutâneo Incomum: Histoplasmosse Africano após Mudbaths: Relato de caso e revisão, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86(2): 261-263, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 09 de março de 2023]. Available from: <https://doi.org/10.4269%2Fajtmh.2012.11-0557>.
  104. RICHAUD, Clémence; CHANDESRIS, Marie-Olivia, *et. al.* (2014). Relato de Caso: Histoplasmosse Africana Importada em um Paciente Imunocompetente 40 Anos após Permanecer em uma Aera Endêmica da Doença, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 91(5), pp. 1011-1014, Google Scholar. [Internet]. [Acedido em 09 de março de 2023]. Disponível em: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=d0425a892e2488e9273378cc45072478a29370f1>.
  105. RÉGNIER-ROSENCHER, E.; DUPONT, B., *et. al.* (2014). Tarde ocorrência de *Histoplasma duboisii* cutaneous and pulmonary infection 18 years after exposure, *Journal de Mycologie Médicale*, Vol. 24, Issue 3 pp. 229-233, Google Scholar. [Internet]. [Acedido em 09 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.08.001>.
  106. GUMBS, Milton A.; GIRISHKUMAR, Hanasoge, *et. al.* (2000). Histoplasmosis of the small bowel in patients with AIDS, *Postgraduate Medical Journal*, Vol. 76, Issue 896, Google

- Scholar. [Internet]. [Acedido em 12 de março de 2023]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/pmj.76.896.367>.
107. PACCOUD, Olivier; NERVO, Marine, *et. al.* (2021). Histoplasmoses cerebral por *H. capsulatum var. duboisii* em um paciente sem imunodeficiência conhecida, *Journal of Travel Medicine*, Vol. 28, Issue 1, pp. 1-3, PubMed. [Internet]. [Acedido em 12 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jtm/taaa167>.
108. ESTEVES, Cátia; COSTA, Francisco Rego, *et. al.* (2016). Histoplasmoses africana, *Ata Radiológica Portuguesa*, n.º 109, Vol. XXVIII, pp. 51-54, Google Scholar. [Internet]. [Acedido em 14 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.25748/arp.10627>.
109. LOULERGUE, Pierre; BASTIDES, Frédéric, *et. al.* (2007). Literature Review and Case Histories oh *H. capsulatum var. duboisii* Infections in HIV-infected Patients, *Emerging Infectious Diseases*, 13(11): 1647-1652, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em março 12, 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.3201%2Fid1311.070665>.
110. SHARMIN, Shahana; OHORI, Akira, *et. al.* *H. capsulatum* variedade duboisii, isolado no Japão a partir de um doente ugandês infetado pelo VIH. (2003). *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi*, 44(4): 299-306, PubMed [Internet]. [Acedido em 12 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.3314/jjmm.44.299>.
111. GARCIA-GUÑÓN, A.; TORRES-RODRÍGUEZ, J. M.; NDIRONGARTE, D. Torangar; CORTADELLAS, F.; LABRÍN, L. (2009). Disseminated histoplasmosis by *H. capsulatum var. duboisii* in a paediatric patient from the Chad Republic, Africa, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28, 697-699, PubMed, Springer Link. [Internet]. [Acedido em 12 de março de 2023]. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-008-0668-2>.
112. ARLET, J. B.; FURCO-MAZZANTINI, A.; HUERRE, M.; NEUVILLE, S.; MOLINA, J. M. (2004). Infeção por histoplasmoses africana com envolvimento peritoneal, *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 23, 342-344, PubMed, Springer Link. [Internet]. [Acedido em 19 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10096-003-1089-x>.
113. THERBY, A.; POLOTZANU, O.; KHAU, O.; Monnier, S.; BELAN, A. Greder; ELOY, O. (2014). [Ensaio de galactomanano de Aspergillus para o tratamento de histoplasmoses devido a *H. capsulatum var. duboisii* em pacientes infectados pelo HIV: educação de um caso clínico], *Journal de Mycologie Médicale*, Vol. 24, Issue 2, pp. 166-170, PubMed, Science Direct. [Internet]. [Acedido em 19 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2014.01.002>.
114. KNEALE, Matthew; BARTHOLOMEW, S. Jennifer; DAVIES, Emma; DENNING, David. W. (2016). Acesso global à terapia antifúngica e seu custo variável, *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 71, Issue 12, pp. 3599-3606, PubMed [Internet]. [Consultado em 20 de março de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jac/dkw325>.
115. GONÇALVES, Daniel; FERRAZ, Catarina; VAZ, Luisa (2013). Posaconazol como terapia de resgate na histoplasmoses africana, *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 17(1): 102-105, PubMed Central. [Acedido em 20 de março de 2023]. Disponível em: [10.1016/j.bjid.2012.06.027](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2012.06.027).
116. TORRES-RODRÍGUEZ, J. M.; RIBAS-FORCADELL, E.; GASCÓN, J.; LÓPEZ-JODRA, O.; ESPASA, M. (2000). [Utilidade diagnóstica do teste intradérmico com histoplasmina em áreas não endémicas de histoplasmoses], *Rev. Iberoam Micol.* Sep; 17(3): 97-101, PubMed [Internet]. [Acedido em 02 de abril de 2023]. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15762801/>.
117. DIÓGENES. M. J. N.; GONÇALVES, H. M. G.; MAPURUNGA, A. C. P.; ALECAR, K. F.; ANDRADE, F. B.; NOGUEIRA-QUEIROZ, J. A. Reações ao histoplasma e à paracoccidioidina na Serra de Pereiro (Ceará-Brasil) (1990). *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 32(2), Scielo. [Internet]. [Acessado em 02 de abril de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0036-46651990000200009>.
118. LUBY, James P.; SOUTHERN, Paul M., *et. al.* (2005). Recurrent Exposure to *H. capsulatum* in Modern Air-Conditioned Buildings, *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 41, Issue 2,

- pp. 170-176, Oxford Academic. [Internet]. [Acedido em 02 de abril de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1086/430907>. REISS, E.; OBAYASHI, T.; Orle, K.; YOSHIDA, M.; ZANCOPE-OLIVEIRA, R. M. (2000).
119. Non-culture based diagnostic tests for mycotic infections, *Medical Mycology*, 38, Suppl. 1,  
120. pp. 147-159, [Internet]. [Acedido em abril 02, 2023]. Disponível em [https://academic.oup.com/mmy/articleabstract/38/Supplement\\_1/147/1026172](https://academic.oup.com/mmy/articleabstract/38/Supplement_1/147/1026172).
121. HAMILTON, A. J.; BARTHOLOMEW, M. A.; FENELON, L.; FIGUEROA, J.; HAY, R. J.(1990). Preparation of monoclonal antibodies that differentiate between *H. capsulatum* variant *capsulatum* and *H. capsulatum* variant *duboisii*, *Tropical Medicine and Hygiene*, Vol. 84, Ed., 3, pp. 425-428, Oxford Academic. [Internet]. [Acedido em 02 de abril de 2023]. Available from: [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(90\)90347-H](https://doi.org/10.1016/0035-9203(90)90347-H).
122. DEEPE Jr. G. S.; DUROSE, G. G. (1995). Atividade imunobiológica do antígeno H recombinante de *Histoplasma capsulatum*, *Infection and Immunity*, 63(8): 3151-3157, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 04 de abril de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1128%2Fiai.63.8.3151-3157.1995>. VINCENT R. D.; GOEWERT Robert; GOLDMAN W. E.; KOBAYASHI G. S.; LAMBOWITZ
123. Alan M.; MEDOFF Gerald (1986). Classificação de isolados de *H. capsulatum* por polimorfismos de fragmentos de restrição. *Journal of Bacteriology*. 1986; 165, p. 813- 818 [Internet]. [Acedido em 04 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC214500/pdf/jbacter00214-0159.pdf>.
124. SPITZER, Eric D.; LASKER, Brent A.; TRAVIS, Sharon J.; KOBAYASHI, George S.;MEDOFF, Gerald (1989). Use of Mitochondrial and Ribosomal DNA Polymorphisms to Classify Clinical and Soil Isolates of *Histoplasma capsulatum*, *Infection and Immunity*, vol. 57, no. 5, pp. 1409-1412, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 04 de maio de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1128%2Fiai.57.5.1409-1412.1989>.
125. SPITZER, E. D.; KEATH, E. J.; TRAVIS, S. J.; PAINTER, A. .; KOBAYASHI, G. S.;MEDOFF, G. (1990). Variantes sensíveis à temperatura de *H. capsulatum* isoladas de pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida, 162(1): 258-61, *J. Infect Dis.* PubMed. [Internet]. [Acedido em 05 de maio de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/162.1.258>.
126. KEATH, E. J.; KOBAYASHI, G. S.; MEDOFF, G. (1992). Tipagem de *Histoplasma capsulatum* por polimorfismos de comprimento de fragmentos de restrição num gene nuclear, *Journal of Clinical Microbiology*, 30(8): 2104-2107, PubMed Central. [Internet]. [Acedido em 05 de maio de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1128%2Fjcm.30.8.2104-2107.1992>.
127. MUNIZ, Mauro de Medeiros; PIZZINI, Cláudia Vera; PERALTA, José Mauro; REISS, Errol; ZANCOPE-OLIVEIRA, Rosely M. (2001). Genetic Diversity of *H. capsulatum* Strains Isolated from Soil, Animals, and Clinical Specimens in Rio de Janeiro, State, Brazil, by a PCR-Based Random Amplified Polymorphic DNA Assay, *Journal of Clinical Microbiology*, 39(12): 4487-4494, PubMed Central. [Internet]. [Acessado em 05 de maio de 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1128%2FJCM.39.12.4487-4494.2001>.
128. LORTHOLARY, Olivier; CHARLIER, Caroline; LEBEAUX, David; LECUIT, Marc;CONSIGNY, Paul Henri (2013). Infecções fúngicas em viajantes imunocomprometidos, *Doenças Infecciosas Clínicas*, vol. 56, 6, pp. 861-869. Oxford Academic. [Internet]. [Consultado em 06 de maio de 2023]. Disponível em:<https://doi.org/10.1093/cid/cis935>.
129. ONUSIDA - Relatório global sobre o VIH 2022. [Internet]. [Acedido em 07 de maio de 2023]. Disponível em: <https://unaids.org.br/2022/08/a-resposta-global-da-aids-esta-ameacada/>.