

## **Histoplasmose em Portugal: infeção rara?**

### *Histoplasmosis in Portugal: rare infection?*

Cristina Veríssimo, Helena Simões, Raquel Sabino

cristina.verissimo@insa.min-saude.pt

Unidade de Infecções Parasitárias e Fúngicas. Departamento de Doenças infecciosas, Instituto Nacional de Saúde Doutor. Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal.

#### **\_Resumo**

O *Histoplasma capsulatum* é o agente etiológico da histoplasmose, apresenta duas variedades com características epidemiológicas diferentes var. *capsulatum* e var. *duboisii* endémicas no continente americano e no continente africano, respetivamente. Nas últimas décadas têm sido descritos casos de histoplasmose na Europa e em países asiáticos como a China, onde esta infeção não é considerada endémica. A facilidade de movimentação das populações tem contribuído para alterar o padrão epidemiológico desta infeção. Este trabalho tem como objetivo analisar o número de casos registados em Portugal e chamar a atenção para a importância de melhor se conhecer a epidemiologia desta infeção no nosso país. A histoplasmose não é uma doença de declaração obrigatória, os casos de histoplasmose existentes resultam de diagnósticos clínicos observados no âmbito dos internamentos hospitalares. O número médio de episódios de internamento hospitalar referenciados nos Base de dados de Grupos de Diagnóstico Homogéneo durante o período de 2009 a 2014 foi de 23 episódios/ano. No mesmo período foram descritos na literatura dez casos de Histoplasmose em Portugal, tratando-se sobretudo de apresentações clínicas de interesse científico em que algumas se referem a casos com período de latência de 40 anos após exposição. Apesar de ser considerada uma doença rara na Europa, clínicos e microbiologistas devem estar em alerta e aumentar o seu conhecimento sobre a patogenicidade, os métodos de diagnóstico diferencial, o tratamento e a evolução do padrão epidemiológico desta e de outras infeções fúngicas.

#### **\_Abstract**

*Histoplasma capsulatum* is the etiologic agent of histoplasmosis; it has two varieties with different epidemiological features: var. *capsulatum* and var. *duboisii*, endemic in America and Africa, respectively. In the last decades, several cases of histoplasmosis have been reported in European and Asian countries like China, where this infection is not considered endemic. The continuous flow of populations around the world has contributed to the change the epidemiological pattern of this infection. This work aims to analyze the number of cases registered in Portugal and raise attention to the importance of a better understanding of the epidemiology of this infection in our country. Histoplasmosis is not a notifiable disease and therefore, the existing cases of histoplasmosis in our country result of clinical diagnosis in the context of hospital admissions. The average number of hospitalization episodes referenced in the Homogeneous Diagnostic Group Database during the period 2009-2014 was of 23 episodes/year. In the same period, ten cases of histoplasmosis were published. These publications are mostly clinical presentations of scientific interest, some of which describe histoplasmosis cases with a latent period of 40 years after exposure. Although considered as a rare disease in Europe, physicians and clinical microbiol-

ogists should be aware of this infection. An increased knowledge on the pathogenicity, methods of differential diagnosis, and treatment is, therefore, mandatory to understand the evolution of the epidemiological pattern of this and other fungal infections.

#### **\_Introdução**

O *Histoplasma capsulatum* é o agente etiológico da histoplasmose, um fungo que exhibe dimorfismo térmico, ou seja, no meio ambiente (temperatura de 15-20°C) apresenta a forma filamentosa e à temperatura do corpo humano (37°C) apresenta a forma de levedura.

Esta espécie tem duas variedades com características epidemiológicas diferentes, *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* e *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*.

*Histoplasma capsulatum* está amplamente distribuído no continente americano, sendo mais prevalente em países como a Venezuela, Equador, Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina (1). Nos países onde é endémico, a variedade *capsulatum* tem como reservatório natural o solo e dejetos de morcegos e aves (2).

A infeção ocorre sobretudo por inalação de esporos em locais contaminados por *Histoplasma* (2), dando origem a um quadro assintomático ou a manifestações clínicas moderadas ou graves, semelhantes a pneumonia ou outras infeções respiratórias (3). Na maioria das situações, a cura é espontânea, sendo as formas mais graves da infeção consideradas raras nos indivíduos imunocompetentes. De facto, nos indivíduos imunocomprometidos, nomeadamente doentes com infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH), a manifestação sintomática, aguda e disseminada, da doença é mais frequente, constituindo um grupo de risco acrescido para esta infeção fúngica (4).

*Histoplasma capsulatum* variedade *duboisii* tem como reservatório natural o solo. É uma espécie endémica no continente africano, sendo a prevalência mais elevada na África subsariana, no Mali, Chade, Nigéria, República Democrática do Congo e Gana (5). O modo de transmissão ainda é pouco conhecido, mas a maioria dos casos tem sido associado à transmissão direta após traumatismo. As infeções são habitualmente localizadas, afetando sobretudo a pele, tecidos subcutâneos ou ósseos. A disseminação é rara, mas pode ocorrer principalmente em indivíduos infetados pelo VIH (5). A infeção por esta espécie apresenta um grande período de latência, estando descritos casos de infeção muitos anos após exposição (6).

O método laboratorial considerado “gold standard” para a confirmação da infeção por *Histoplasma* é a cultura de amostras biológicas (7). A sensibilidade do método cultural como teste de diagnóstico é fortemente influenciada pelo tempo de incubação e pelos meios de cultura utilizados. Está recomendado um período de incubação nunca inferior a três semanas (8) e a utilização conjunta do meio de Sabouraud dextrose com outros meios mais ricos, tais como BHI (*Brain Heart Infusion*), gelose de sangue ou de chocolate.

As culturas positivas devem ser manuseadas em câmara de segurança biológica, de acordo com o estabelecido para organismos BSL3. A identificação deve ser realizada com base na observação das características fenotípicas: fase leveduriforme (37°C) apresenta leveduras de pequenas dimensões (2-4 µm) com gemulação única de base estreita (*var. capsulatum*) e leveduras de grandes dimensões (8-15 µm) com gemulação única de base estreita (*var. duboisii*) (figura 1). A fase filamentosa (27°C) é idêntica em ambas as variedades e apresenta filamentos finos septados, hialinos e esporos de grandes dimensões (6-15 µm) com parede irregular ornamentada com projeções (morfologia típica do *Histoplasma*) (figura 2). É importante ressaltar que a

Figura 1: Leveduras de *Histoplasma capsulatum var. duboisii* - Exame direto a fresco de biópsia da amígdala (400X).

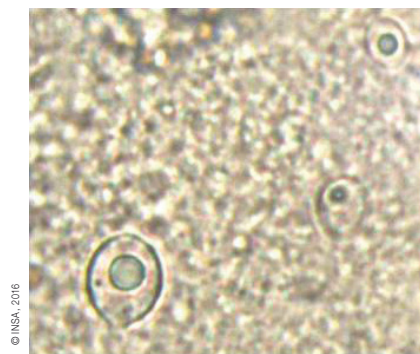
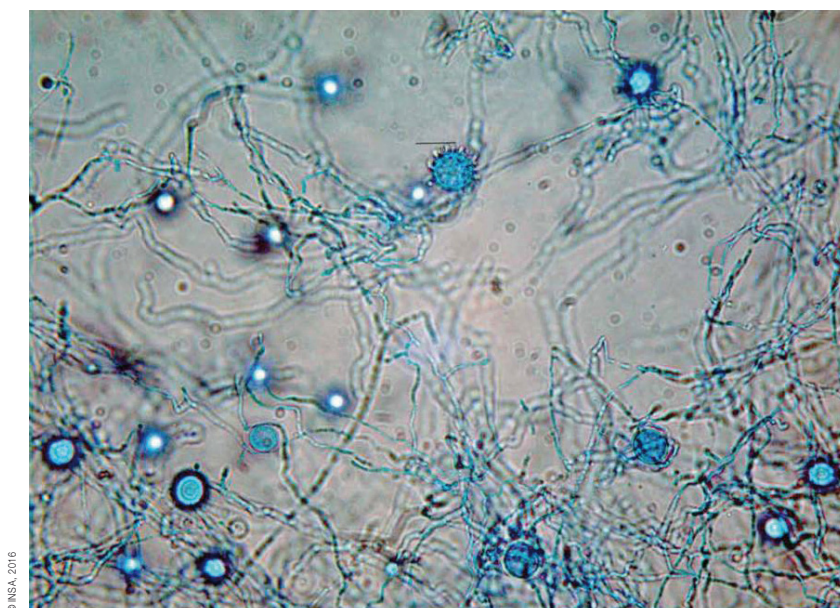


Figura 2: *Histoplasma capsulatum var. duboisii* - Fase filamentosa, após cultura a 27°C (400X).



confirmação da identificação requer a comprovação do dimorfismo térmico, ou seja a conversão da fase leveduriformes para a fase filamentososa. Este processo é muitas vezes moroso ou ineficaz, pelo que a identificação por métodos moleculares por sequenciação de genes conservados do genoma é a técnica preferencialmente utilizada.

Para além dos métodos culturais que comprovam infeção (3), o diagnóstico pode ser realizado por exame histológico com recurso a colorações específicas para fungos, tais como Grocott-Gomori methenamine-silver stain, Periodic Acid-Schiff (PAS), para observação de leveduras de pequenas dimensões, que podem ser intracelulares, no caso das infeções pelo *H. capsulatum* var. *capsulatum*, e para observação de leveduras de grandes dimensões, com gémula única de base estreita, no caso de *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii*.

Os biomarcadores, nomeadamente a pesquisa de anticorpos por técnicas de aglutinação/imunodifusão, apesar de não comprovarem infeção (7), podem ser utilizados para o diagnóstico da histoplasmose variedade *capsulatum*, para a qual apresentam uma sensibilidade de 99% (1).

A pesquisa de antigénio na urina demonstrou ser útil para o diagnóstico da histoplasmose, no entanto estão descritos resultados falsos positivos em doentes com outras infeções (paracoccidiose, blastomicose), quando estas são também endémicas na mesma região geográfica (3). Os métodos moleculares para a deteção de *Histoplasma* não estão comercializados em Portugal. No entanto, têm demonstrado ser uma metodologia de eleição para o diagnóstico desta e outras micoses (9).

Nas últimas década têm sido descritos casos de histoplasmose na Europa (10,11) e em países asiáticos como a China, onde esta infeção não é considerada endémica (12). A facilidade de movimentação das populações tem contribuído em muito para alterar o padrão epidemiológico desta e outras infeções. De facto, micoses endémicas como a histoplasmose, coccidiomicose e penicilliose marnefeii, têm vindo a emergir como uma ameaça grave para a saúde da população viajante e migrante (13,14).

Portugal é um dos países da Europa com uma taxa elevada de imigrantes provenientes da América do Sul, sobretudo do Brasil, e do continente africano. A guerra colonial e a independência das colónias portuguesas em África expuseram muitos portugueses a estes fungos endémicos, estando descritos alguns casos de infeção que se manifestaram 40 anos após exposição (6,15). De acordo com o sistema de vigilância epidemiológica da infeção VIH/SIDA foram registados oito casos de histoplasmose em doentes VIH entre 1983 e 2015 (16). Não sendo a histoplasmose uma doença de declaração obrigatória em Portugal, os casos existentes resultam de diagnósticos clínicos observados no âmbito dos internamentos hospitalares.

### \_Objetivos

Este trabalho tem como objetivo analisar o número de casos de Histoplasmose registados em Portugal e chamar a atenção para a importância de melhor se conhecer a epidemiologia desta infeção no nosso país.

### \_Material e métodos

Para a pesquisa de casos de histoplasmose em Portugal foi feito um levantamento bibliográfico exaustivo, com recurso à base de dados PubMed (U.S. *National Library of Medicine*, NLM) e ao portal português B-on (Biblioteca do Conhecimento Online). Foram utilizados os seguintes termos de pesquisa: histoplasmose; histoplasma-Portugal; epidemiologia-histoplasmose-Portugal; portuguese-histoplasmosis.

Foi igualmente consultada a base de dados do sistema de vigilância epidemiológica da infeção VIH/SIDA relativamente às infeções por *Histoplasma capsulatum*, bem como os dados provenientes da rede laboratorial do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) no âmbito da vigilância laboratorial de infeções invasivas e subcutâneas (IFIs).

Foi ainda consultada a Base de dados de Grupos de Diagnóstico Homogéneo (GDH), disponibilizada pela Administração Central do Sistema de Saúde, sobre os episódios de internamento hospitalar do Sistema Nacional de Saúde (SNS), durante o período de 2009 a 2014.

## \_Resultados

Após pesquisa bibliográfica, reuniram-se todos os dados publicados na literatura científica relativos à histoplasmose em Portugal, cujos resultados se encontram sistematizados no **quadro 1**.

O número médio de episódios de internamento hospitalar referenciados nos GDH durante o período de 2009 a 2015 foi de 23 episódios/ano com número máximo de episódios registados em 2012 (n=33) e número mínimo em 2014 (n=16) (**tabela 1**).

## \_Discussão

De acordo com os recursos de informação utilizados foram descritos na literatura 10 casos de Histoplasmose entre 2009 e 2015, sendo a maioria 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 capsulatum*). As publicações encontradas são sobretudo apresentações clínicas de interesse científico em que algumas se referem a casos com período de latência

**Quadro 1:** ↓ Casos de histoplasmose em Portugal descritos na literatura entre 2009 e 2015.

Ano	Local diagnóstico	Espécie variedade	Tipo infeção	Patologia base	Naturalidade doente	Fonte/referência
2009	Lisboa	<i>H. capsulatum duboisii</i>	Localizada	nenhum	Guiné-Bissau	Vieira R (20)
2011	Lisboa	<i>H. capsulatum capsulatum</i>	Disseminada	HIV	Congo	Borges Costa J (18)
2012	Setúbal	<i>H. capsulatum capsulatum</i>	Disseminada	Transplantado renal	Portugal	Outerelo C (19)
2012	Lisboa	<i>H. capsulatum capsulatum</i>	Disseminada	HIV	Brasil	Carvalho D (23)
2013	Lisboa	<i>H. capsulatum duboisii</i>	Localizada	HIV	Portugal	Toscano C (6)
2013	Coimbra	<i>H. capsulatum capsulatum</i>	Localizada	Doente de hemodialise	Portugal	Marques N (22)
2014	Setúbal	<i>H. capsulatum capsulatum</i>	Disseminada	Transplantado renal	Portugal	Cardoso P (17)
2014	Paris, França	<i>H. capsulatum duboisii</i>	Localizada	nenhum	Portugal	Richaud C (15)
2015	Lisboa	<i>H. capsulatum duboisii</i>	Localizada	Doença hepática	Portugal	Lopes MJ (21)
2015	Coimbra	<i>H. capsulatum duboisii</i>	Localizada	não referido	Guiné-Bissau	INSA IFI 15

**Tabela 1:** ↓ Episódios de internamento hospitalar com diagnóstico de histoplasmose registados no GDH entre 2009 e 2014.

Ano	Norte	Centro	LVT	Alentejo	Algarve	Açores	Indeterminada	Total de episódios
2009	8	2	18	2	2	1	0	33
2010	7	3	5	1	1	0	1	18
2011	9	4	8	1	0	0	0	22
2012	4	3	14	1	1	0	0	23
2013	5	5	12	0	0	0	1	23
2014	6	3	7	0	0	0	0	16

de 40 anos após exposição em África. Não sendo a histoplasmose uma doença de declaração obrigatória em Portugal, os episódios de internamento registados nos GDH dão informação apenas sobre as situações graves da doença, resultante de infeções primárias ou de comorbilidade. Apesar dos GDH registarem episódios de internamento e não doentes e de existir alguma heterogeneidade na codificação dos mesmos entre hospitais, podemos assumir que o número de episódios de internamento em Portugal se tem mantido constante entre 2009 e 2015, observando um ligeiro decréscimo ao longo dos anos.

Tratando-se de uma doença que apresenta na maioria das vezes um quadro clínico semelhante a outras infeções respiratórias, a interpretação do número de casos de histoplasmose notificados deve ter em atenção a possibilidade de subdiagnóstico desta infeção fúngica. Por outro lado, sendo a cultura o método de diagnóstico mais frequentemente utilizado nas diferentes unidades hospitalares, pode dar origem a resultados falsos negativos, possivelmente devido ao não cumprimento do tempo de incubação recomendado. Outros métodos de diagnóstico, tais como a pesquisa de anticorpos ou de antígeno, bem como a deteção por métodos moleculares, não são ainda utilizados na maioria das unidades hospitalares, sendo necessário o envio, para laboratórios de referência. Acresce que, a pouca formação em Micologia dada aos profissionais de saúde nas diferentes especialidades tem sido também apontada como um dos motivos para o subdiagnóstico desta e de outras infeções fúngicas. De acordo com os últimos dados publicados pelo *European Confederation on Medical Mycology Working Group*, foram apenas declarados 118 casos de histoplasmose na Europa entre 1995 e 1999 (11), sugerindo uma possível subnotificação ou subdiagnóstico.

## Conclusão

Com o aumento da mobilidade intercontinental das populações aumenta também o número de indivíduos em risco para a infeção por fungos endémicos em alguns países do globo. Assim, e apesar de ser considerada uma doença rara na Europa, a suspeita clínica e consequente diagnóstico da histoplasmose começa a ser mais frequente pelo que devem ser desenvolvidos

sistemas de monitorização e vigilância desta infeção. Clínicos e microbiologistas devem estar em alerta e aumentar o seu conhecimento sobre a patogenicidade, os métodos de diagnóstico diferencial, o tratamento e a evolução do padrão epidemiológico desta e de outras infeções fúngicas.

## Agradecimentos:

Os autores agradecem à Doutora Cristina Furtado pelas sugestões e revisão científica do artigo e ao Doutor Carlos Dias e à Dra. Rita Roquette, do Departamento de Epidemiologia do INSA, pelo apuramento dos dados relativos aos internamentos hospitalares dos GDH.

## Referências bibliográficas:

- (1) Guimaraes AJ, Nosanchuk JD, Zancopé-Oliveira RM. Diagnosis of histoplasmosis. *Braz J Microbiol.* 2006;37(1):1-13. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863343/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863343/)
- (2) Bonifaz A, Vázquez-González D, Perusquia-Ortiz AM. Endemic systemic mycoses: coccidioidomycosis, histoplasmosis, paracoccidioidomycosis and blastomycosis. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2011;9(9):705-14.
- (3) Kauffman CA. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(1):115-32. Review. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1797635/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1797635/)
- (4) Loulergue P, Bastides F, Baudouin V, et al. Literature review and case histories of *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* infections in HIV-infected patients. *Emerg Infect Dis.* 2007 Nov;13(11):1647-52. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3375808/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3375808/)
- (5) Antinori S. *Histoplasma capsulatum*: more widespread than previously thought. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;90(6):982-3. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047757/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047757/)
- (6) Toscano V, Batista J, Carvalho R, et al. Imported african histoplasmosis by *Histoplasma capsulatum* var. *duboisii* in a HIV-2 infected patient. 6th Trends in Medical Mycology, Copenhagen, 2013. Poster. <http://repositorio.insa.pt/handle/10400.18/1813>
- (7) De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al.; European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group; National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/ Invasive Fungal Infections. Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis.* 2008;46(12):1813-21. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2671227/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2671227/)
- (8) Clinical and Laboratory Standards Institute. M54-A - Principles and procedures for detection of Fungi in clinical specimens: direct examination and culture (Approved Guideline, Oct. 2012).
- (9) Buitrago MJ, Bernal-Martinez L, Castelli MV, et al. Performance of panfungal- and specific-PCR-based procedures for etiological diagnosis of invasive fungal diseases on tissue biopsy specimens with proven infection: a 7-year retrospective analysis from a reference laboratory. *J Clin Microbiol.* 2014;52(5):1737-40. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3993636/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3993636/)
- (10) Warnock DW, Dupont B, Kauffman CA, et al. Imported mycoses in Europe. *Med Mycol.* 1998;36(Suppl 1):87-94.
- (11) Ashbee HR, Evans EG, Viviani MA, et al.; ECMM Working Group on Histoplasmosis. Histoplasmosis in Europe: report on an epidemiological survey from the European Confederation of Medical Mycology Working Group. *Med Mycol.* 2008;46(1):57-65.
- (12) Wang Y, Pan B, Wu J, et al. Detection and Phylogenetic Characterization of a Case of *Histoplasma capsulatum* Infection in Mainland China. *Am J Trop Med Hyg.* 2014;90(6):1180-3. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047751/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047751/)
- (13) Panackal AA, Hajjeh RA, Cetron MS, et al. Fungal infections among returning travelers. *Clin Infect Dis.* 2002;35(9):1088-95. <http://cid.oxfordjournals.org/content/35/9/1088.long>

artigos breves\_ n. 5

- (14) Fujio J, Nishimura K, Miyaji M. Epidemiological survey of the imported mycoses in Japan. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi*. 1999;40(2):103-9.  
[www.jstage.jst.go.jp/article/ijmm1990/40/2/40\\_2\\_103/\\_pdf](http://www.jstage.jst.go.jp/article/ijmm1990/40/2/40_2_103/_pdf)
- (15) Richaud C, Chandesris M-O, Lanternier F, et al. Imported African Histoplasmosis in an Immunocompetent Patient 40 Years after Staying in a Disease-Endemic Area. *Am J Trop Med Hyg*. 2014;91(5):1011-4. [www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4228866/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4228866/)
- (16) Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. Infeção por VIH/SIDA em Portugal: situação a 31 de dezembro de 2014. Lisboa: INSA, 2015. (Documento SIDA; 146).  
<http://repositorio.insa.pt//handle/10400.18/2448>
- (17) Figueiredo, PC, Pinto-Marques P, Freitas J. Histoplasmose disseminada: apresentação endoscópica. *J Port Gastrenterol*. 2014; 21(4): 167-8.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpg.2013.11.005>
- (18) Borges-Costa J, Marques T, Sacramento-Marques M, et al. Progressive disseminated histoplasmosis as a presentation of AIDS in a patient from the Congo: the role of skin biopsy, 2011. *Trop Doct*. 2011;41(4):251-2.
- (19) Outerelo C, Nortadas R, Gouveia R, et al. Gastrointestinal presentation of disseminated histoplasmosis a transplant recipient. *Port J Nephrol Hypert*. 2012;26(3): 213-6.  
[www.scielo.mec.pt/pdf/nep/v26n3/v26n3a05.pdf](http://www.scielo.mec.pt/pdf/nep/v26n3/v26n3a05.pdf)
- (20) Vieira R, Botelho MM, Lima C, et al. Intra-abdominal abscess: a clinical manifestation of african histoplasmosis. *J Mycol Med*. 2009;19(2):134-7.
- (21) Lopes MJ, Batista J, Trigo D, et al. Histoplasmose africana: apresentação atípica 40 anos após exposição. 14º Encontro Nacional de Atualização em infeciologia, Porto, 2015. Poster
- (22) Marques N, Lebre A, Marques F, et al. Isolated oral histoplasmosis presenting as Fever of unknown origin in a Portuguese hemodialysis patient. *Mycopathologia*.2013;176(1-2):89-93.
- (23) Carvalho D. Histoplasmosis not only a Tropical Disease. *Circulo de Conferencias de Microbiologia, HSM, Lisboa, 2012. Apresentação oral.*