

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Luis Alfonso Aguirre López

Químico Biólogo

Guatemala, Febrero de 2018

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Concentraciones de antígeno de *Histoplasma capsulatum* en orina y  
mortalidad en personas con VIH

INFORME DE TESIS

Presentado por  
Luis Alfonso Aguirre López

Para optar al título de  
Químico Biólogo

Guatemala, Febrero de 2018

## **JUNTA DIRECTIVA**

**Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda**

**Decano**

**Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A**

**Secretaria**

**MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo**

**Vocal I**

**Dr. Juan Francisco Pérez Sabino**

**Vocal II**

**Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera**

**Vocal III**

**Br. Andreina Delia Irene López Hernández**

**Vocal IV**

**Br. Carol Andrea Betancourt Herrera**

**Vocal V**

## **DEDICATORIA**

### **Acto que dedico:**

**A mis padres Luis Alfonso y Dora Beatríz**, por haberme formado desde pequeño para alcanzar metas grandes que honren el nombre de Dios y nuestra pequeña familia. Por enseñarme a discernir y a interpretar el mundo con criterio, corazón y fe.

**A José Alfonso (QEPD) y Victor Manuel (QEPD)**, por heredarme el legado más grande y por enseñarme a caminar siguiendo sus pasos, con el esfuerzo del trabajo y sabiduría.

**A mis hermanas, Karina, Paula** ese par de estrellitas que me han orientado y motivado a ser un ejemplo a seguir. Por recordarme que somos siempre tres, así de unidos.

**A Rubén López, Joel Cantoral y Renato González** por ser siempre mis compañeros en las buenas y malas ocasiones, por su amistad sincera y duradera. Por brindarme siempre de su tiempo para compartir y crear siempre momentos especiales rodeados de música y poesía.

**A Josselynn De León** Que sin importar la distancia y el tiempo, ha sido luz en los momentos más oscuros y motivación para continuar desarrollándome profesional y personalmente. Por ayudarme a entender la oscuridad y la complejidad de lo simple.

**A mi familia y amigos**, por su cariño y apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Universidad de San Carlos de Guatemala**, por ser mi casa de estudios y formarme como profesional.

**A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia**, a los catedráticos y al personal administrativo de esta honorable unidad académica por haberme brindado el conocimiento y experiencia necesarios para desempeñar la labor como Químico Biólogo al servicio de la población guatemalteca.

**A la Clínica Familiar Luis Ángel García y al Hospital General San Juan de Dios**, por su apoyo para desarrollar este estudio, así como su entrega profesional al servicio de los pacientes. Esta investigación contó con el respaldo de la Asociación de Salud Integral.

**A mis asesoras, Dra. Blanca Samayoa, Licda. Narda Medina y Licda. Brenda Guzmán**, por su conocimiento, apoyo incondicional y orientarme durante el desarrollo de esta investigación y amistad sincera.

**A mi revisor Dr. Roberto Flores**, por su apoyo, tiempo y paciencia para darme la orientación necesaria para perfeccionar mi tesis.

**A Dr. Eduardo Arathoon, Dr. Juan Carlos Pérez** y el equipo médico y enfermería de la Clínica Familiar por su guía y apoyo en el seguimiento de pacientes.

**A Antonieta Gregorio, Sonia Muralles, Edith Paniagua y Jorge Pineda**, por su apoyo en el laboratorio. Gracias por compartir tiempo y conocimiento conmigo.

**A Marvin Pineda y Héctor Aldana**, por su apoyo durante la recolección de datos.

## ÍNDICE

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| 1.INTRODUCCIÓN .....                                                | 8  |
| 2.ANTECEDENTES .....                                                | 10 |
| 2.1 Histoplasmosis.....                                             | 10 |
| 2.1.1. Generalidades .....                                          | 10 |
| 2.1.2. Epidemiología.....                                           | 10 |
| 2.1.3. Distribución .....                                           | 11 |
| 2.1.4. Presentaciones clínicas .....                                | 12 |
| 2.1.4.1. Histoplasmosis pulmonar aguda: .....                       | 12 |
| 2.1.4.2. Histoplasmosis cavitaria pulmonar crónica:.....            | 12 |
| 2.1.4.3. Mediastinitis granulomatosa.....                           | 12 |
| 2.1.4.4. Fibrosis mediastínica .....                                | 13 |
| 2.1.4.5. Histoplasmosis diseminada: .....                           | 13 |
| 2.2. Detección de histoplasmosis .....                              | 13 |
| 2.3. Detección de antígeno sérico y urinario .....                  | 14 |
| 2.4. Riesgo y mortalidad en personas con VIH e histoplasmosis ..... | 15 |
| 2.4.1.Factores de riesgo en la histoplasmosis.....                  | 15 |
| 2.4.2. Factores de riesgo clínico .....                             | 16 |
| 2.5. Carga de mortalidad por histoplasmosis en América. ....        | 17 |
| 2.6. Supervivencia en histoplasmosis y VIH .....                    | 18 |
| 2.6.1. Supervivencia asociada al tratamiento .....                  | 18 |
| 3. JUSTIFICACIÓN.....                                               | 19 |
| 4. OBJETIVOS .....                                                  | 20 |
| 4.1.General .....                                                   | 20 |
| 4.2.Específicos .....                                               | 20 |
| 5.HIPÓTESIS .....                                                   | 21 |
| 6.MATERIALES Y MÉTODOS.....                                         | 21 |
| 6.1.Universo .....                                                  | 21 |
| 6.2.Muestra .....                                                   | 21 |
| 6.3.Materiales .....                                                | 21 |

|                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 6.4. Software .....                                                                                          | 22 |
| 6.5. Métodos .....                                                                                           | 23 |
| 6.5.1. Detección de casos mediante la prueba de antígenos de <i>Histoplasma capsulatum</i><br>en orina. .... | 23 |
| 6.5.2. Identificación de casos .....                                                                         | 24 |
| 6.5.3. Análisis estadístico .....                                                                            | 25 |
| 6.5.3.1. Diseño de investigación .....                                                                       | 25 |
| 6.5.3.2. Recolección de datos: .....                                                                         | 25 |
| 6.5.3.3 Análisis descriptivo.....                                                                            | 26 |
| 6.5.3.4. Análisis de supervivencia: .....                                                                    | 26 |
| 6.5.3.5. Aspectos Bioéticos .....                                                                            | 27 |
| 7. RESULTADOS.....                                                                                           | 28 |
| 8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....                                                                             | 34 |
| 9. CONCLUSIONES .....                                                                                        | 37 |
| 10. RECOMENDACIONES .....                                                                                    | 38 |
| 11. BIBLIOGRAFÍA .....                                                                                       | 39 |
| 12. ANEXOS.....                                                                                              | 45 |

## 1. INTRODUCCIÓN

*Histoplasma capsulatum* es un hongo dimórfico que crece en suelos ricos en materia orgánica de las regiones tropicales y subtropicales de los diferentes continentes (Arenas, 2014). En América se ha observado que existen diversas áreas donde *H. capsulatum* puede desarrollarse en la forma micelial y consecuentemente, producir microconidios (Lopes, Tobón, Restrepo, Quieroz y Nucci, 2011). La exposición accidental a los conidios o fragmentos de micelio de este hongo provocan infecciones en poblaciones susceptibles, considerándose a la histoplasmosis como una enfermedad endémica de estas regiones (Torres, Romero, Santiago y Castro, 2011).

La histoplasmosis se presenta de diferentes maneras dependiendo del estado inmune del paciente, llegando a manifestar cuadros agudos y crónicos pulmonares así como complicaciones o formas diseminadas. En los pacientes con VIH, se ha encontrado una alta incidencia de esta enfermedad respecto a otras inmunosupresiones (Nacher, Adenis, Arathoon, Samayoa, Mercado et al., 2015). Esto se debe a la incapacidad del sistema inmune para montar una respuesta celular adecuada que permita controlar la infección progresiva (González y Tobón, 2006).

Se ha estimado que cerca de 9400 personas con VIH fallecen anualmente por histoplasmosis en el continente americano (Nacher et al., 2014) y se han reportado altas tasas de mortalidad, que oscilan entre 12-48% por esta enfermedad, en diversas áreas endémicas (Cáceres et al., 2014). Además, las probabilidades de sobrevida en pacientes a riesgo han sido poco estudiadas. Estudios de supervivencia asociados a terapia antifúngica con anfotericina B, han mostrado prolongación en el tiempo promedio de sobrevida respecto a personas que no recibieron tratamiento (Velásquez, Rueda, Velez, Aguirre y Gómez, 2010).

Una de las claves para asegurar el tratamiento es contar con pruebas diagnósticas eficientes, como la detección de antígenos de *Histoplasma capsulatum* en fluidos corporales. Esta prueba ha demostrado ser eficaz para el diagnóstico de la histoplasmosis progresiva diseminada en pacientes con VIH, con una sensibilidad de 81% y especificidad de 96%. Además de su uso diagnóstico, se ha demostrado que se produce un aclaramiento de las concentraciones de antígeno en suero y en orina luego de dos semanas de tratamiento (Hage et al., 2011). Esto demuestra que además de ser un ensayo desarrollado

con fines diagnósticos, puede ser usado para el monitoreo de tratamiento, entre otras aplicaciones.

A pesar de estos logros, aún no se han realizado estudios de supervivencia que asocien concentraciones de antígeno urinario con características clínicas y probabilidad de sobrevida de los pacientes. Por tal razón, este estudio tuvo como objetivo determinar la relación entre concentraciones basales de antígeno de *Histoplasma capsulatum* en orina y mortalidad en personas con VIH.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Histoplasmosis**

#### **2.1.1. Generalidades**

La histoplasmosis ha sido reconocida como una enfermedad causada por el hongo dimórfico *Histoplasma capsulatum* (Canteros, 2005). Esta micosis es una enfermedad endémica en diversas regiones de América y ocupa un lugar importante como enfermedad definitoria de fase SIDA (Reyes, 2009; Lopes et al., 2011). *H. capsulatum*, se encuentra en su estado miceliar en suelos con abundante materia orgánica en descomposición, humedad y temperaturas entre 8 y 25°C (Arenas, 2014; López, 2006). Produce dos tipos de conidios: los microconidios que son hialinos, con paredes arrugadas o lisas y los macroconidios que son redondos con proyecciones digitiformes en la superficie y de paredes gruesas. Estos últimos constituyen la forma de identificación mediante microscopía (Kurowski & Ostapchuk, 2002). La inhalación de estas microestructuras fúngicas constituye la forma en que se adquiere la infección (Fernández, Ilñait, Martínez, Perurena y Monroy, 2011).

#### **2.1.2. Epidemiología**

La histoplasmosis afecta principalmente a personas que tienen una inmunosupresión, incluyendo aquellas que viven con VIH. Se estima que en América cerca de 1.6 millones de pacientes viven con VIH, detectándose 24,000 casos nuevos de histoplasmosis diseminada al año y mueren 9600 pacientes (Nacher et al., 2014). Por lo anterior, se resalta la importancia del adecuado manejo de los pacientes, diagnóstico eficaz y tratamiento (Frola, Bermejo, Spadacinni, Guelfand y Pérez, 2013).

En diferentes regiones de Estados Unidos, algunos reportes refieren reactividad a la histoplasmina entre el 5 y 50% de la población estudiada, con una prevalencia de 3.4 casos / 100,000 habitantes (Wheat, et al., 1981). En Brasil se estimó que la reactividad oscilaba entre 4.7% y 60% (Bezerra, Zancopé, & Brilhante, 2013). En Guatemala, para el año 2012, se reportó una proyección de 2,470 casos de histoplasmosis diseminada, con base en la prevalencia de la

enfermedad y la población estimada de personas viviendo con VIH para ese año. No obstante, el impacto real de las enfermedades micóticas oportunistas en el país, es desconocido (Herrera, Medina, Samayoa y Mercado, 2012). Actualmente se estima que cerca de un 13% de la población a riesgo desarrolla alguna de las manifestaciones clínicas de histoplasmosis (Nacher et al., 2014).

### **2.1.3. Distribución**

*H. capsulatum* es un hongo que habita en diferentes regiones a nivel mundial y se ha clasificado en tres variedades distintas dependiendo de su morfología: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* y *H. capsulatum* var. *farconiosum* (Lopes, 2006). Sin embargo, filogenéticamente se ha encontrado que existe un patrón de distribución en el que se han identificado 8 clados que corresponden a diferentes regiones del mundo (Fernández, et al., 2011). Los clados 1 y 2 pertenecen a América del norte; los 3 y 4 corresponden a la región centroamericana y el resto de Latinoamérica y los clados 5, 6, 7, y 8 refieren a Australia, Holanda e Indonesia, Eurasia y África respectivamente (Castañón, 2015). Es decir, que parece existir endemismo según la localidad o distribución en el planeta.

La histoplasmosis se observa como una de las infecciones oportunistas definitorias de SIDA más importantes, sobre todo por la alta tasa de mortalidad. Se caracteriza por ser la micosis diseminada más prevalente en Centroamérica y en el área central de Estados Unidos (Frola et al., 2013). Tanto epidemiólogos como especialistas en salud pública la consideran un problema ya que involucra el diagnóstico temprano de pacientes con VIH. Es común que en pacientes que se acercan a los servicios de salud con un estado inmune deteriorado, se manifiesten las formas clínicas más complejas y diseminadas de la infección (Lopes et al., 2011). Además, en estos casos se han encontrado tasas de mortalidad hasta casi del 50%, lo cual resulta preocupante (Velásquez et al., 2010).

#### **2.1.4. Presentaciones clínicas**

Las presentaciones clínicas de la histoplasmosis dependen del estado inmunológico del paciente así como de otros factores de riesgo (Alva, Vásquez, Frisancho, Yoza, & Yábar, 2010). Entre estas se encuentran las siguientes:

##### **2.1.4.1. Histoplasmosis pulmonar aguda:**

Esta presentación clínica se encuentra comúnmente en niños o adultos que se han expuesto a ambientes con concentraciones altas de microconidias de *H. capsulatum*. Se caracteriza por ser un síndrome inespecífico y habitualmente se trata de una infección auto-limitante (Kauffman, 2007). La mayoría de los casos suelen resolverse sin tratamiento; sin embargo, los casos severos deben ser tratados a causa del compromiso pulmonar que se presenta durante la enfermedad (Gorocica, Taylor, Alvarado, Pérez, & Lascurain, 2009).

##### **2.1.4.2. Histoplasmosis cavitaria pulmonar crónica:**

Habitualmente se presenta en pacientes de edad avanzada y se considera como consecuencia de enfisemas asociados directamente con la histoplasmosis pulmonar (García et al., 2008). Este cuadro se caracteriza por una inflamación intersticial producida por el hongo. Posteriormente ocurre un engrosamiento de las paredes de la sección apical de los pulmones, lo que genera fibrosis y necrosis del tejido y formación de cavidades. En los casos más severos, esta cavidad tiende a expandirse y tomar por completo todo un lóbulo pulmonar (Kauffman, 2007).

##### **2.1.4.3. Mediastinitis granulomatosa**

Es una complicación de la infección de los ganglios linfáticos del mediastino que ocurre tras una infección pulmonar. Esta se caracteriza por un agrandamiento exacerbado de ganglios linfáticos que se encuentran juntos y producen una necrosis caseosa (García et al., 2008). Se ha observado que esta masa de nódulos inflamados permanece así durante un tiempo prolongado y se forma un ambiente adecuado para las levaduras de *H. capsulatum* (Loyd, Tillman, & Atkinson, 1988).

#### **2.4.1.4. Fibrosis mediastínica**

Esta es una presentación rara de histoplasmosis. Al igual que la anterior, es una complicación de la histoplasmosis pulmonar donde la fibrosis causada por la infección suele abarcar áreas del mediastino. Posterior a esta presentación, es común que *H. capsulatum* invada los ganglios linfáticos (Davis, Pierson, & Loyd, 2001). Los principales mecanismos patológicos de esta forma involucran la fibrosis descontrolada frente a nódulos caseosos, dando como resultado el recubrimiento de nódulos, y otras estructuras. La enfermedad va avanzando progresivamente conforme los años y produce obstrucción de la vena cava superior, arterias pulmonares y bronquios (Loyd et al., 1988).

#### **2.4.1.5. Histoplasmosis diseminada:**

La principal vía de diseminación de *H. capsulatum* suele ser por vía hematógena, empleando el sistema retículo endotelial. Esta vía permite que el hongo se traslade a otros órganos y sistemas empleando macrófagos infectados (Colombo, 2013). Principalmente, esta diseminación se produce en los pacientes que se encuentran inmunosuprimidos y aquellos que son incapaces de montar una respuesta inmune mediada por células (Assi et al., 2013). Existen casos donde se han presentado focos de *H. capsulatum* viables que causaron reincidencia de la enfermedad y produjeron una situación similar a la tuberculosis (Kauffman, 2007; Bezerra et al., 2013; Alva et al., 2010). Además de lo anterior, se han descrito casos donde se encuentran manifestaciones gastrointestinales que han sido determinados por medio de autopsias (Goodwin, Shapiro, & Thurman, 1980).

## **2.2. Detección de histoplasmosis**

El diagnóstico regular de la histoplasmosis se realizaba mediante el uso de microscopía óptica y cultivo de muestras en agar Sabouraud y Mycosel, lo cual es considerado el estándar de oro para el diagnóstico de esta enfermedad (Kauffman, 2007). La combinación de estas técnicas, el cultivo y la microscopía óptica, permiten confirmar el diagnóstico frente a la sospecha de histoplasmosis (Arenas, 2014). A pesar de que estas metodologías son accesibles económicamente, presentan una sensibilidad baja ya que dependen de un observador capacitado y con experiencia

para identificar correctamente las levaduras de *H. capsulatum*, las cuales suelen ser confundidas con otros microorganismos como *Candida* spp, *Penicillium marneffrei*, *Leishmania* spp, *Pneumocystis jirovecii*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis*, entre otros (Muñoz, Cano, y González, 2013). El cultivo confirma el diagnóstico, sin embargo las colonias de *H. capsulatum* requieren de 7 a 15 días para desarrollarse, por lo que demora la fase diagnóstica de los casos (Kauffman, 2007).

Por ello, se han desarrollado ensayos cuyo principio es la detección anticuerpos producidos por el hospedero como una prueba de fijación de complemento (CF) o radioinmunoanálisis (RIA) (Gómez et al., 1999). Estas técnicas dependen del estado inmune del paciente en CF y RIA y suelen carecer de sensibilidad en pacientes inmunosuprimidos (Fernández et al., 2011). Como respuesta a este problema, se desarrolló la detección de antígenos de tipo polisacárido en sangre y orina (Wheat et al., 2000). Esta técnica ha demostrado una sensibilidad de hasta un 95% y es utilizada ampliamente en este tipo de pacientes (Muñoz, 2013).

### **2.3. Detección de antígeno sérico y urinario**

En contraste con otros principios inmunológicos, esta técnica ha sido preferida para su uso en pacientes inmunodeficientes, ya que no se limita la detección de los casos por el estado inmune del paciente (Kauffman, 2007). Sin embargo, la detección de antígenos de *H. capsulatum* ha sido más útil en pacientes infectados con VIH e histoplasmosis diseminada en comparación a otras presentaciones clínicas (Fernández et al., 2011). En este tipo de pacientes, el 95% ha presentado antigenuria y cerca del 50% antigenemia, mientras que en otros casos no tan severos, como la histoplasmosis pulmonar aguda, se ha detectado antigenuria en el 75% de los casos durante los primeros días de síntomas, después de la infección por exposición accidental a altas concentraciones de conidios (Durkin, Connolly & Wheat, 1997). Estas evidencias han sugerido que la prueba tiene alta capacidad diagnóstica en un tiempo relativamente corto, en las distintas presentaciones clínicas, en comparación con los métodos convencionales (Kaufman, 2007).

En pacientes con histoplasmosis diseminada progresiva concomitante a VIH, se encontró alta capacidad diagnóstica empleando la detección de antigenuria.

Scheel et al., (2012), demostraron que la prueba alcanzaba hasta 81% de sensibilidad y 96% de especificidad. Por otra parte, el impacto de la detección de antígenos urinarios, influye en el mejoramiento de la fase diagnóstica, ya que anteriormente se consideraba que la tuberculosis era la principal causa de muerte en pacientes con VIH en Guatemala. Tras la implementación de la prueba, se determinó que las evidencias clínicas, y los resultados del test conducían a la identificación de *H. capsulatum* (Nacher et al., 2014).

Además de la aplicación diagnóstica de la detección de antígenos séricos y urinarios, se ha avanzado a otros usos como una herramienta de seguimiento a la respuesta al tratamiento antimicótico. Un estudio realizado en pacientes VIH con histoplasmosis diseminada progresiva, reveló que se producía un aclaramiento progresivo del antígeno sérico y que las concentraciones de antígeno urinario y sérico disminuyeron más drásticamente en las primeras dos semanas de tratamiento con anfotericina B. Después de ese tiempo, se evidenció que el aclaramiento en suero se produce ligeramente más rápido que en orina (Hage et al., 2011).

Por otra parte, esta técnica puede ser fácilmente implementada en laboratorios de escasos recursos, lo que la hace atractiva para países en vías de desarrollo (Muñoz, 2013). Dada su importancia a nivel latinoamericano, actualmente se ha comenzado con el desarrollo de pruebas comerciales y se ha implementado en otros países (Cáceres et al., 2014).

## **2.4. Riesgo y mortalidad en personas con VIH e histoplasmosis**

### **2.4.1. Factores de riesgo en la histoplasmosis.**

Los factores de riesgo asociados a histoplasmosis se pueden abordar desde diferentes puntos de vista. En general, se ha descrito que la mayoría de casos se presentan por una exposición accidental a macroconidias de *H. capsulatum*. Este tipo de exposiciones se ha asociado a actividades como la limpieza de corrales de crianza de aves, áticos y graneros, exploración de cavernas y actividades de remoción de suelo y limpieza de puentes (Segura et al., 2008). Además de los factores conductuales y de estilo de vida, se han encontrado asociaciones algunas

características inherentes al paciente, tales como: personas del sexo masculino, recuentos de linfocitos TCD4 menores de 200 cel/mm<sup>3</sup> y ausencia de tratamiento antirretroviral (Nacher et al., 2014).

Todos estos factores de riesgo mencionados se relacionan con las manifestaciones clínicas de la histoplasmosis de acuerdo a su presencia o ausencia. Por esta razón, para poder estandarizar y clasificar las manifestaciones clínicas, Goodwin, Lloyd & Prez (1981), propusieron una clasificación para uso clínico ante la sospecha de histoplasmosis. Este criterio indicaba que se podían encontrar casos asintomáticos frente a exposiciones leves, así como histoplasmosis pulmonar aguda frente a exposiciones altas al microorganismo en pacientes sin factores de riesgo asociados. De los factores de riesgo inherentes al paciente como el sexo y la edad, se comprende desde luego que la mayoría de pacientes que consultan por histoplasmosis, se exponen accidentalmente al hongo en edades productivas asociadas a ambientes agrícolas u otras actividades que involucran los diversos ambientes donde *H. capsulatum* es capaz de desarrollarse (Segura et al., 2008)

#### **2.4.2. Factores de riesgo clínico**

La resolución de un caso de histoplasmosis se fundamenta en el compromiso clínico que presenta un paciente (Kurowski & Ostapchuk, 2002). A nivel clínico, se ha demostrado que existen diversos factores que pueden estar relacionados a un mal pronóstico. Wheat et al., (2007), estudiaron en pacientes con SIDA la relación entre la creatinina mayor a 2.1mg/dL (OR= 9.5; IC<sub>95%</sub>= 1.7 – 52) y la albúmina menor de 3.5g/dL (OR= 4.8 IC<sub>95%</sub> 1-22) encontrando que en ambas circunstancias se presenta una asociación que se traduce en un factor de riesgo que conduce a una probabilidad de muerte más alta por fallo renal.

Un estudio realizado en Guyana Francesa por Couppie et al., (2004), reportó tres factores relacionados al mal pronóstico de pacientes con SIDA, que desarrollaron histoplasmosis diseminada progresiva: la presencia de disnea (OR = 18.7; IC<sub>95%</sub> = 4 - 97), recuento de plaquetas menor de 100.000 (OR= 18.9; IC<sub>95%</sub>= 4.4 – 88.4) y concentraciones de LDH,

superiores al doble del límite superior del rango normal (OR= 24.3; IC<sub>95</sub> % = 3 – 531).

Finalmente, un estudio en Brasil por De Francesco et al., (2006) identificó que concentraciones de hemoglobina menores a 8 g/dL, así como indicios de falla renal aguda e insuficiencia respiratoria, se relacionaron con un riesgo de mal pronóstico. Este mismo estudio, indicó que la elevación de la aspartato-aminotransferasa superior a 2.5 veces sobre el límite normal estaba relacionada con la muerte. Es posible que en los pacientes que presentan alguno de estos factores, la probabilidad de muerte a causa de histoplasmosis diseminada progresiva sea mayor que en pacientes que no los presentan.

Sin embargo, así como la presencia de estos factores afectan negativamente al paciente, también se ha determinado que el manejo adecuado de un paciente mediante el uso de terapia antirretroviral con Zidovulina, se comporta como un factor protector y disminuye el riesgo de desarrollo de enfermedad severa (OR 0.3 IC<sub>95</sub> % 0.1-0.7), mejorando el pronóstico de los casos. Lo anterior se explica mediante el restablecimiento de la respuesta inmune: al disminuir la carga viral, los linfocitos T vuelven a producirse significativamente, favoreciendo el montaje de una respuesta celular en el paciente (Wheat, Chetchotiskad & Williams, 2007).

## **2.5. Carga de mortalidad por histoplasmosis en América.**

En el continente americano se han realizado diversos estudios que reportan tasas de mortalidad entre 12 y 48% de casos asociados a histoplasmosis en pacientes con SIDA (Cáceres et al., 2012). Entre ellos, un estudio realizado en Estados Unidos reportó una mortalidad del 13% (Wheat et al., 2007). Chang, et al., (2005) indicaron que la tasa de mortalidad más alta se encontraba en Brasil, con un 48%. Posteriormente, Scheel et al., (2007) indicaron que en Guatemala se encontraba la segunda tasa de mortalidad más alta de América, con un 40% de los casos. Estos datos resultan preocupantes y demuestran la necesidad de un sistema de salud eficiente a través de diagnósticos y tratamientos oportunos para cumplir con el objetivo de mejorar la sobrevivencia y la calidad de vida del paciente (Samayoa, Mercado y Argueta, 2012).

## **2.6. Supervivencia en histoplasmosis y VIH**

### **2.6.1. Supervivencia asociada al tratamiento**

La supervivencia de los pacientes que presentan VIH se ha visto muy relacionada a factores clínicos, calidad y estilo de vida asociados, así como a factores externos, además de las enfermedades de base (Segura et al., 2008). Por esta razón, la presencia de infecciones oportunistas como la histoplasmosis, puede considerarse como un factor que reduzca el tiempo promedio de sobrevida significativamente. Al asociar estas circunstancias con las altas tasas de mortalidad descritas en América, se ha observado el impacto real que las enfermedades fúngicas oportunistas ya que se producen más muertes, en comparación con otras infecciones causadas por otros microorganismos (Herrera et al., 2012; Galisteu et al., 2014).

Es por esta razón que la efectividad de los sistemas de salud se ha evaluado mediante la disminución de las tasas de mortalidad específicas para infecciones fúngicas oportunistas. Sin embargo, son pocos los estudios publicados. Velásquez et al., (2010), demostraron el impacto del tratamiento para histoplasmosis con anfotericina B. En ese estudio se encontró una tasa de mortalidad del 4% y de 47.4% para los casos que no lo recibieron. Lo anterior se traduce a una supervivencia general de 23.2 meses a partir del diagnóstico de histoplasmosis. Además, para los casos en que los pacientes no recibieron ningún tipo de terapia, se reportó una supervivencia promedio de 12.8 meses. Esto contrasta significativamente cuando se observa una supervivencia promedio de 32 meses.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones oportunistas se consideran la mayor causa de morbilidad y mortalidad en pacientes que presentan infección por virus de inmunodeficiencia humana - VIH (Moges & Kassa, 2014). Entre ellas, se encuentran infecciones causadas por hongos, como las provocadas por *Histoplasma capsulatum*, el cual es considerado el principal causante de la mayoría de muertes en pacientes con VIH (Velásquez et al., 2010). Se ha estimado que existen aproximadamente 24,000 casos de histoplasmosis diseminada al año en el continente americano y con tasas de mortalidad hasta del 48%. Esta información ha pasado desapercibida, principalmente en las regiones donde esta enfermedad se considera endémica y sin acceso al diagnóstico y tratamiento (Nacher et al., 2014).

Herrera et al., (2012) encontraron que el 13% de la población a riesgo en Guatemala padecía de histoplasmosis y se encontró una mortalidad del 40%. Se clasificó como la segunda enfermedad oportunista más frecuente en personas con VIH luego de la tuberculosis (Samayoa et al., 2012).

Es por esta razón que actualmente, se emplea la detección de antígenos de *H. capsulatum* por medio de anticuerpos policlonales (Scheel et al., 2012). Este método ha sido eficiente en diferentes tipos de muestra (Jespersen et al., 2015). No obstante, su principal uso ha sido en el diagnóstico de pacientes con histoplasmosis diseminada (Kauffman, 2007). Además, la prueba ha sido empleada para el monitoreo de terapia antifúngica (Hage et al., 2011). Debido a que no se han explorado asociaciones posibles entre las concentraciones de antígeno detectadas, aspectos clínicos y probabilidades de sobrevivencia del paciente, el objetivo del estudio fue determinar si las concentraciones de antígeno basales de *Histoplasma capsulatum* en orina, tienen alguna relación con la muerte en personas con VIH.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1. General

Determinar la relación entre las concentraciones de antígeno basales, de *Histoplasma capsulatum* en orina y la mortalidad en personas con VIH.

### 4.2. Específicos

1. Describir las características demográficas y clínicas según la concentración de antígeno de *Histoplasma capsulatum* en orina, en personas con VIH.
2. Determinar la probabilidad de supervivencia de las personas con VIH, según el valor de la concentración de antígeno de *Histoplasma capsulatum* en orina.

## 5. HIPÓTESIS

Ho: No existe diferencia en la supervivencia de los pacientes según las concentraciones de antigenuria detectadas.

Ha: Existe diferencia en la supervivencia de los pacientes según las concentraciones de antigenuria detectadas.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Universo

Pacientes que asisten a la Clínica Familiar Luis Ángel García

### 6.2. Muestra

Pacientes que asistieron a la Clínica Familiar Luis Ángel García durante el período de 2012 a junio 2016 y se realizaron a la prueba de detección de antígeno de *H. capsulatum* en orina, en la que se obtuvo un resultado positivo.

### 6.3. Materiales

#### 6.3.1. Oficina

- Computadora
- Papel bond
- Lapiceros

#### 6.3.2. Laboratorio

##### 6.3.2.1. Equipo

- Bata
- Guantes
- Lentes
- Gradillas
- Pipetas

- Tips para pipetas de 2 µL a 20 µL
- Tips para pipetas de 100 µL a 1000 µL
- Placa de reacción ELISA
- Lector de placas ELISA
- Agitador rotativo de placas
- Agitador Vórtex
- Placas para ELISA de 96 pocillos

#### **6.3.2.2. Reactivos**

- PBS 0.01M, pH 7.2-7.4
- Anticuerpos policlonales
- Anticuerpo policlonal conjugado con peroxidasa de rábano
- Estándares para curva de calibración (de 0.4 a 25 ng/mL)
- Muestras Control
- Leche descremada en polvo
- Solución de lavado Tween 20 al 0.05%
- 3,3', 5,5'-tetrametilbenzadina
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M
- Muestras de orina
- Tubos falcon cónicos de 50mL
- Tubos falcon cónicos de 10mL

#### **6.4 Software**

- Microsoft Excell
- Microsoft Access
- Microsoft Word
- CDC Epi Info 7

## **6.5 Métodos**

### **6.5.1. Detección de casos mediante la prueba de antígenos de *Histoplasma capsulatum* en orina.**

#### **6.5.1.1 Preparación de placa:**

Comprende la rotulación de pozos para curva de estándar, controles intracorrida y muestras por triplicado.

#### **6.5.1.2 Preparar anticuerpo de captura:**

- Dispensar 3.1 mL de PBS en tubo falcon cónico y retirar 52 µL
- Agregar 52 µL de CApPAB
- Agitar en vórtex por 15 segundos
- Con la solución preparada inocular 100 µL por pozo de reacción.
- Cubrir plato y agitar por 2 horas
- Atemperar reactivos

#### **6.5.1.3. Preparación de solución de lavado y muestras para analizar**

- Agregar 0.5 mL de solución Tween 20 en 1L de PBS
- 30 minutos antes de terminar el tiempo de sensibilización de la placa. Hervir las orinas por 5 minutos
- Transcurridas las 2 horas de sensibilización, realizar lavado con la preparación de Tween 20, agregando 250 µL por pozo de reacción.
- Repetir lavado 6 veces.
- Secar plato con golpes sobre toallas de papel hasta que seque.

#### **6.5.1.4. Preparación de curva estándar y procesamiento de muestras**

- Dispensar 90 µL de PBS por pozo donde se ubicará la curva estándar, blanco, conjugado y controles internos

- Dispensar 200  $\mu\text{L}$  de las muestras a analizar en cada pozo asignado.
- Dispensar 10  $\mu\text{L}$  del estándar asignado
- En el pozo de conjugado y blanco agregar 10  $\mu\text{L}$  de PBS
- Cubrir y agitar por 1 hora a 225RPM
- Preparar solución de leche descremada al 4% en PBS
- Preparar dilución 1: 5000 de conjugado con la solución de leche descremada al 4% preparada anteriormente
- Repetir el procedimiento de lavado con 250  $\mu\text{L}$  de PBS 6 veces cuando se haya completado el tiempo de agitación de la placa.
- Secar la placa
- Agregar 100  $\mu\text{L}$  de conjugado a todos los pozos de reacción, con excepción del pozo de blanco.
- Cubrir y agitar el plato por 30 minutos a 225 RPM
- Tras cumplido el tiempo de agitación, lavar y secar el plato con PBS y toallas de papel. Repetir 6 veces.
- Preparar solución TMP y dispensar 100  $\mu\text{L}$  a cada pozo de reacción.
- Cubrir e incubar en oscuridad la placa por 15 minutos.
- Agregar 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$
- Leer placa a 450nm en interpretar curva de reacción.
- Calcular CV y debe ser menor al 15% para la curva de reacción y menor del 10% para las muestras.

#### **6.5.2. Identificación de casos**

Los casos de histoplasmosis determinados fueron documentados a partir del resultado de la prueba de detección de antígenos en orina correspondientes a histoplasmosis. A partir de ello se generó una base de datos. Estos fueron clasificados de acuerdo a tres rangos de concentración expresados en ng/mL: Rango 1: 0.95 - 1.68; Rango 2: 1.69 - 3.64 y Rango 3: superior a 3.64. Se excluyeron a los pacientes que asisten a la clínica Familiar Luis Ángel García y que no se realizaron la prueba de antígenos urinarios.

En caso de contar con pruebas repetidas realizadas a pacientes, se tomaron como casos nuevos a partir de un año entre una muestra y su duplicado, a excepción en los que existió una prueba negativa con evidencia clínica sustancial para corroborar que se trata de casos distintos

### **6.5.3 Análisis estadístico**

#### **6.5.3.1 Diseño de investigación**

Estudio de supervivencia en una cohorte de pacientes con VIH que presentaron un diagnóstico positivo con la prueba de detección de antígeno de *H. capsulatum* en orina, desde el año 2012 al 2016.

No se considera el uso de consentimiento informado adicional al que se emplea en la Clínica Familiar Luis Ángel García, ya que se emplearán datos recodificados de manera retrospectiva únicamente. El estudio de antígenos de *H. capsulatum* en orina, fue un análisis realizado de rutina frente a la sospecha de la infección oportunista en los pacientes.

#### **6.5.3.2. Recolección de datos:**

Los datos registrados a partir del 2012 hasta Junio de 2016 fueron recuperados de las bases de datos almacenadas previamente. Estos se actualizaron con la información recopilada durante el año 2016 de enero hasta junio. Finalmente se realizó la selección de los registros con las variables seleccionadas a partir del formulario proporcionado a los pacientes durante el momento de consulta en donde se ejecutó la toma de muestra. Para el manejo de datos se emplearon Microsoft Access 2013, Excel 2013 y Microsoft Word 2013. Posteriormente, se ejecutó el análisis de datos mediante Epi Info 7.

#### 6.5.3.3 Análisis descriptivo

Se realizó el cálculo de frecuencias para la descripción de los pacientes al finalizar el seguimiento de 180 días posteriores a la fecha de diagnóstico de histoplasmosis. Además, se calcularon estadísticos de tendencia central como media, moda, mediana y rangos intercuartiles para las variables continuas. Luego se construyeron tablas que permitieron describir las variables demográficas (sexo, edad, origen, factores de riesgo asociados, terapia antifúngica) y características clínicas, así como hallazgos de laboratorio de la muestra.

#### 6.5.3.4. Análisis de supervivencia:

Se realizó un análisis de supervivencia a través de un análisis por el método de Kaplan-Meier (Martínez e Irala, 2009) con los datos que se almacenaron desde el año 2012. Se calculó la supervivencia en pacientes seguidos por periodos de 6 meses (180 días). Este dato se representó como la supervivencia acumulada en función del estimador de Kaplan-Meier que se describe con la siguiente fórmula:

$$S(t) = \prod_{ti < t} \frac{ni - di}{ni}$$

Donde “ni” representa el número de individuos a riesgo y “di” representa el número de sucesos y (Gramatges, 2002).

Lo anterior generó una tabla en la que se calculó probabilidad de supervivencia y probabilidad acumulada con una significancia de 0.05. Además, se emitió la gráfica de la función de supervivencia acumulada respecto al tiempo de seguimiento por año, con base en la función del estimador de Kaplan-Meier descrito.

Se consideraron casos de “fracaso” cuando se evidenció la muerte y se tomó como “censurado” en casos de abandono del estudio por parte del paciente, pérdida de contacto o cuando no se evidenció muerte al finalizar el seguimiento. De los casos censurados, se procedió a evaluar las concentraciones de antígeno

detectadas y se agruparon dentro de una clasificación única. Posteriormente, se realizó una comparación de tiempo promedio de supervivencia entre las personas fallecidas y vivas, organizados por los rangos de concentración de acuerdo a lo descrito en la identificación de casos. Además, se realizaron comparaciones para variables clínicas y hallazgos de laboratorio (nitrógeno de urea, creatinina, hemoglobina, aspartato aminotransferasa, alanino aminotransferasa, albúmina, recuento de CD4, carga viral, entre otras).

#### **6.5.3.5. Aspectos Bioéticos**

La identidad del paciente fue desconocida para el investigador y permaneció anónima, codificada mediante un número de record único, que es conocido exclusivamente por el Departamento de Investigación y Desarrollo de la Clínica Familiar Luis Ángel García. Además, la discreción en la información se respaldó legalmente, mediante un contrato de confidencialidad con validez legal, de acuerdo el decreto 27-2000, en el cual se establecen las bases para el manejo de pacientes con VIH. No se consideró ningún consentimiento informado adicional al solicitado al paciente al momento de captación por parte del Departamento de Psicología y Trabajo Social de la Clínica, ya que se desarrolló el estudio con una búsqueda retrospectiva de datos y no se realizaron ensayos directamente en el paciente. Ninguna de las partes que intervinieron en el estudio, declararon tener interés personal en la investigación y usar los datos y resultados para otros fines que el presente.

## 7. Resultados

Se recolectó información de 125 casos con resultado positivo para la detección de antígeno de *H. capsulatum* en orina. La población de estudio comprendió en su mayoría pacientes masculinos (73.6%) en edades de entre 19 a 66 años. De ellos el 82% se consideraron mestizos o ladinos y sólo un 18% mayas. De la muestra de estudio, el 59.2% (n=74) pertenecían a la región metropolitana del país. Se observó que el 32% (n=40) de las personas falleció durante el período de estudio (Ver Tabla 1).

**Tabla 1:** Descripción general de casos diagnosticados con histoplasmosis coinfectados con VIH de 2012 a 2016 (N=125)

| Características                                   | n   | %    |
|---------------------------------------------------|-----|------|
| Sexo                                              |     |      |
| Femenino                                          | 33  | 26.4 |
| Masculino                                         | 92  | 73.6 |
| Edad (años)                                       |     |      |
| 19-31                                             | 30  | 22.4 |
| 32-37                                             | 32  | 25.6 |
| 38-47                                             | 33  | 26.4 |
| 48-66                                             | 30  | 24.0 |
| Cohorte                                           |     |      |
| 2012                                              | 28  | 22.4 |
| 2013                                              | 26  | 20.8 |
| 2014                                              | 27  | 21.6 |
| 2015                                              | 26  | 20.8 |
| 2016*                                             | 18  | 14.4 |
| Etnia                                             |     |      |
| Ladino/mestizo                                    | 107 | 85.6 |
| Maya                                              | 18  | 14.4 |
| Procedencia del paciente                          |     |      |
| Metropolitano                                     | 74  | 59.2 |
| Interior                                          | 51  | 40.8 |
| Estado                                            |     |      |
| Vivos                                             | 85  | 68.0 |
| Fallecidos                                        | 40  | 32.0 |
| Concentración de antígeno de <i>H. capsulatum</i> |     |      |
| 0.95-1.68                                         | 33  | 27.0 |
| 1.69 – 3.64                                       | 29  | 23.7 |
| >3.64                                             | 60  | 49.2 |

\*= solo se recopilaban datos de enero de 2012 a junio 2016.

La clasificación de las concentraciones de antígeno de *H. capsulatum* detectadas en los pacientes se llevó a cabo por conveniencia a partir de la distribución de los resultados obtenidos.

En la Tabla 2 se describen los principales hallazgos clínicos documentados durante la anamnesis respecto a los signos y síntomas que refirieron los pacientes. El 63.2% (n=79) de los pacientes presentó un índice de masa corporal (IMC) normal y falleció el 32.9% (n=26) de ellos. Ninguno de los pacientes presentó obesidad. Además, el 78.4% (n=89) de las personas refirieron padecer síntomas respiratorios de algún tipo. El 40.8% (n=40) padeció tos de más de dos semanas de evolución y de ellos el 25% (n=10) falleció. El 21.4% (n=21) refirió trabajar en la remoción de tierra y de ese grupo falleció el 14.2% (n= 3). Al momento del diagnóstico, los pacientes fueron clasificados según la escala de Karnofsky, que mide de manera subjetiva el estado general de los pacientes y puede variar de acuerdo al criterio clínico (Nacher et al., 2015). La mayoría fueron ubicados en el rango de 60 a 80, es decir, pacientes que requerían algunos cuidados especiales. De los fallecidos solo el 2.3% (n=2) se les consideró entre el rango 10 a 30 al momento de diagnóstico pues acudieron moribundos al servicio de salud.

**Tabla 2:** Hallazgos clínicos reportados durante la anamnesis

| Hallazgos clínicos              | Concentración de antígeno de <i>H. capsulatum</i> (ng/mL) |      |            |     |                      |      |            |     |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------|------|------------|-----|----------------------|------|------------|-----|
|                                 | Rango 1<br>0.95-1.68                                      |      |            |     | Rango 2<br>1.69-3.64 |      |            |     |
|                                 | Vivos                                                     |      | Fallecidos |     | Vivos                |      | Fallecidos |     |
|                                 | n                                                         | %    | n          | %   | n                    | %    | n          | %   |
| Nutrición y complexión          |                                                           |      |            |     |                      |      |            |     |
| IMC (n= 125)**                  |                                                           |      |            |     |                      |      |            |     |
| <18                             | 8                                                         | 6.4  | 3          | 3.3 | 9                    | 6.4  | 3          | 3.3 |
| 18.5 – 24.9                     | 16                                                        | 12.8 | 6          | 4.8 | 11                   | 8.8  | 8          | 6.4 |
| Pérdida de peso (n=98)          | 7                                                         | 7.1  | 2          | 2.0 | 5                    | 5.1  | 2          | 2.0 |
| Anorexia (n= 98)                | 5                                                         | 5.1  | 3          | 3.1 | 6                    | 6.1  | 2          | 2.0 |
| Desnutrición (n= 98)            | 1                                                         | 1.0  | 2          | 2.0 | 2                    | 2.0  | 0          | 0   |
| Síntomas Respiratorios (n=98)   |                                                           |      |            |     |                      |      |            |     |
| Tos                             | 7                                                         | 7.1  | 4          | 4.1 | 9                    | 9.2  | 1          | 1.0 |
| Disnea                          | 3                                                         | 3.1  | 1          | 1.0 | 7                    | 7.1  | 0          | 0.0 |
| Expectoración                   | 3                                                         | 3.1  | 1          | 1.0 | 4                    | 4.1  | 0          | 0.0 |
| Actividades relacionadas (n=98) |                                                           |      |            |     |                      |      |            |     |
| Remoción de tierra              | 4                                                         | 4.1  | 1          | 1.0 | 5                    | 5.1  | 0          | 0.0 |
| Trabaja en demolición           | 1                                                         | 1.0  | 0          | 0.0 | 1                    | 1.0  | 0          | 0.0 |
| Visita cuevas                   | 0                                                         | 0    | 0          | 0.0 | 1                    | 1.0  | 0          | 0.0 |
| Karnofsky* (n=125)              |                                                           |      |            |     |                      |      |            |     |
| Moribundos/incapacitados        | 0                                                         | 0.0  | 0          | 0.0 | 1                    | 0.8  | 0          | 0.0 |
| Requiere cuidados               | 4                                                         | 3.2  | 2          | 1.6 | 4                    | 3.2  | 1          | 0.8 |
| Requiere algunos cuidados       | 22                                                        | 17.6 | 7          | 5.6 | 15                   | 12.0 | 10         | 8.0 |
| Tratamiento                     |                                                           |      |            |     |                      |      |            |     |
| Anfotericina B                  | 4                                                         |      | 2          |     | 1                    |      | 5          |     |
| Itraconazol                     | 19                                                        |      | 8          |     | 15                   |      | 9          |     |
| Fluconazol                      | 14                                                        |      | 7          |     | 12                   |      | 4          |     |

\*La clasificación según la escala de Karnofsky se realizó al momento del diagnóstico. \*\*IMC normal: 18.5-24.9

En la tabla 3 se muestran los hallazgos de laboratorio estratificados por el estado del paciente (vivo o fallecido) a los 180 días después de la fecha de diagnóstico y la concentración detectada de antigenuria de *H. capsulatum*. Se identificó una asociación significativa entre la mortalidad de los pacientes y carga viral detectada de más de 1000 copias/mL). En las variables diagnósticas, se encontró una relación significativa entre la mortalidad y las alteraciones de marcadores de fallo hepático. Principalmente, la elevación de TGO en más de 2 veces el valor normal (OR= 2.8 IC<sub>95%</sub>: 1.1-7.6) y los niveles de LDH superiores a 3 veces el valor normal (OR= 2.5 IC<sub>95%</sub>: 1.1 – 6.3).

**Tabla 3:** Hallazgos de laboratorio de los pacientes diagnosticados con histoplasmosis coinfectados con VIH de 2012 a 2016

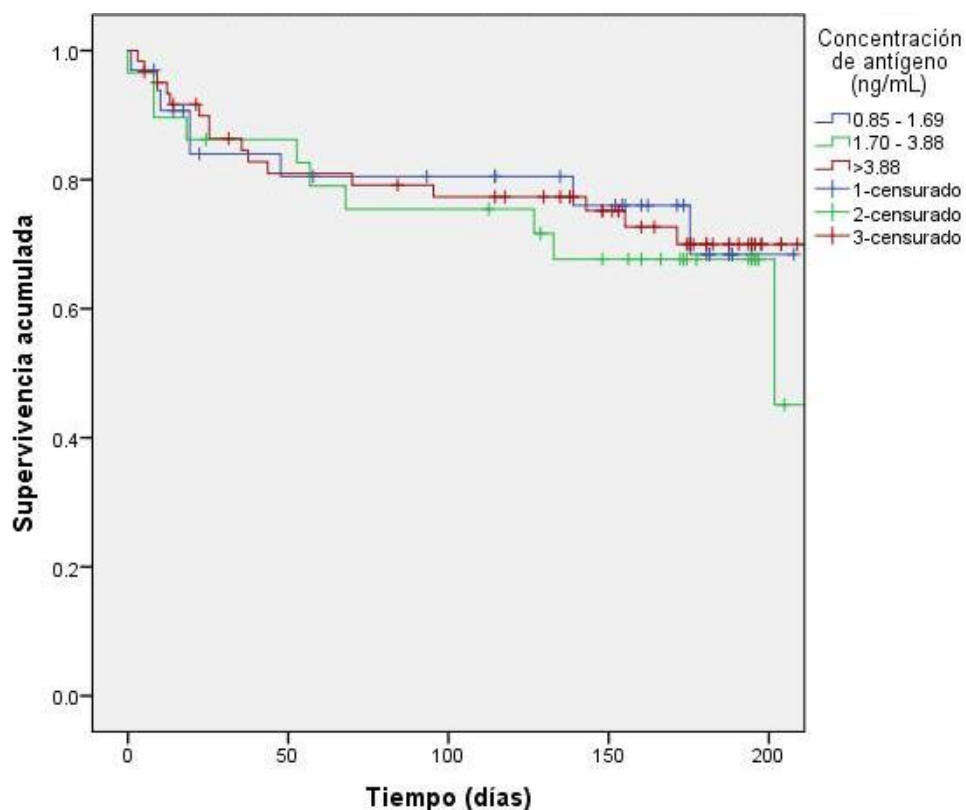
| Parámetro                       | Concentración de antígeno urinario de <i>H. capsulatum</i> (ng/mL) |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
|---------------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------|-----------|-------|----------------------|--------|-----------|-------|------------------|-----------|
|                                 | Rango 1<br>0.95-1.68                                               |        |           |       | Rango 2<br>1.69-3.64 |        |           |       | Rango 3<br>>3.64 |           |
|                                 | Vivo                                                               |        | Fallecido |       | Vivo                 |        | Fallecido |       | Vivos            | Fallecido |
|                                 | n                                                                  | %      | n         | %     | n                    | %      | n         | %     | n                | %         |
| Resultado de cultivo (n=90)     |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| Positivo                        | 7                                                                  | (7.7)  | 6         | (6.7) | 4                    | (4.4)  | 6         | (6.7) | 8                | (8.9)     |
| Negativo                        | 9                                                                  | (9.9)  | 3         | (3.3) | 11                   | (12.2) | 1         | (1.1) | 21               | (23.0)    |
| CD4 (cel/uL) (n=125)            |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| 0-100                           | 16                                                                 | (12.8) | 4         | (3.2) | 8                    | (6.4)  | 7         | (5.6) | 21               | (16.8)    |
| 101-200                         | 3                                                                  | (2.4)  | 3         | (2.4) | 8                    | (6.4)  | 3         | (2.4) | 11               | (8.8)     |
| 201-500                         | 5                                                                  | (4.0)  | 2         | (1.6) | 4                    | (3.2)  | 1         | (0.8) | 10               | (8.0)     |
| Carga Viral (copias/mL) (n=125) |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| 20 – 100                        | 5                                                                  | (4.0)  | 1         | (0.8) | 3                    | (2.4)  | 1         | (0.8) | 19               | (7.2)     |
| 101 – 1000                      | 3                                                                  | (2.4)  | 2         | (1.6) | 8                    | (6.4)  | 3         | (2.4) | 7                | (5.6)     |
| >1000                           | 16                                                                 | (12.8) | 4         | (3.2) | 9                    | (7.2)  | 10        | (8.0) | 16               | (12.8)    |
| BUN (n=63)                      |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| Normal                          | 9                                                                  | (14.3) | 2         | (3.0) | 9                    | (14.3) | 3         | (4.7) | 16               | (25.4)    |
| 2 veces el valor normal         | 2                                                                  | (3.0)  | 3         | (4.7) | 2                    | (3.0)  | 2         | (3.0) | 5                | (7.9)     |
| Creatinina (n= 62)              |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| Normal                          | 7                                                                  | (11.1) | 5         | (7.9) | 6                    | (9.6)  | 3         | (4.8) | 15               | (24.2)    |
| 2 o más veces el valor normal   | 4                                                                  | (6.4)  | 1         | (1.6) | 5                    | (8.1)  | 2         | (3.2) | 5                | (8.1)     |
| LDH (n=108)                     |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| Valor Normal                    | -                                                                  | -      | -         | -     | 2                    | (1.8)  | -         | -     | 1                | (0.9)     |
| 2 veces el valor normal         | 9                                                                  | (8.3)  | 2         | (1.8) | 9                    | (8.3)  | 5         | (4.6) | 26               | (24.1)    |
| 3 veces el valor normal         | 14                                                                 | (13.0) | 3         | (2.7) | 8                    | (7.6)  | 5         | (4.6) | 13               | (12.0)    |
| TGO (n=120)                     |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| Normal                          | 13                                                                 | (10.8) | 3         | (2.5) | 7                    | (5.8)  | 3         | (2.5) | 30               | (25.0)    |
| 2 veces el valor normal         | 5                                                                  | (4.1)  | 2         | (1.7) | 7                    | (5.8)  | 5         | (4.1) | 5                | (4.1)     |
| 3 veces el valor normal         | 6                                                                  | (5.0)  | 4         | (3.3) | 6                    | (5.0)  | 3         | (2.5) | 5                | (4.1)     |
| Hematocrito (n=84)              |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| 36-54 %                         | 9                                                                  | (10.7) | 3         | (3.5) | 9                    | (10.7) | 4         | (4.8) | 14               | (14.6)    |
| 18-35%                          | 8                                                                  | (9.5)  | 3         | (3.5) | 9                    | (10.7) | -         | -     | 12               | (14.3)    |
| Leucocitos (K/uL) (n=125)       |                                                                    |        |           |       |                      |        |           |       |                  |           |
| Recuento normal                 | 9                                                                  | (7.2)  | 2         | (1.6) | 4                    | (3.2)  | 6         | (4.8) | 8                | (6.4)     |
| < al recuento normal            | 13                                                                 | (10.4) | 4         | (3.2) | 15                   | (12.0) | 5         | (4.0) | 31               | (24.8)    |
| <2 veces el recuento normal     | 1                                                                  | (0.8)  | 3         | (2.4) | 1                    | (0.8)  | 1         | (0.8) | 3                | (2.4)     |

Análisis global: **Carga Viral:** OR=5.0 IC<sub>95%</sub>: 1.1-23.2. **TGO:** OR= 2.8 IC<sub>95%</sub>: 1.1-7.6 **LDH:** OR= 2.5

IC<sub>95%</sub>: 1.1 – 6.3

En la gráfica 1 se observó que la supervivencia de los pacientes se mantiene respecto a la concentración de antígeno detectada a los 180 días de observación.

**Gráfica 1.** Supervivencia acumulada según la concentración de antigenuria detectada (n=125)



Log-rank: 0.748 p: 0.688

Sin embargo, los pacientes que presentaron concentraciones entre 1.70 y 3.88 ng/mL tuvieron la menor supervivencia acumulada. Dada esta observación, se realizó el análisis con los datos de los pacientes que presentaron menores de 100 CD4, ya que en este grupo se esperaba un mayor riesgo de muerte, según los criterios clínicos establecidos (Wheat et al., 2000). De las variables analizadas de esta manera, se determinó que existían asociaciones significativas entre las concentraciones de antígeno urinario detectado, LDH y carga viral entre las personas vivas y fallecidas, tal como se describen en la tabla No. 4.

**Tabla 4:** Descripción de casos de histoplasmosis en pacientes con recuentos de CD4 menor o igual a 100 cel/mL (n=66)

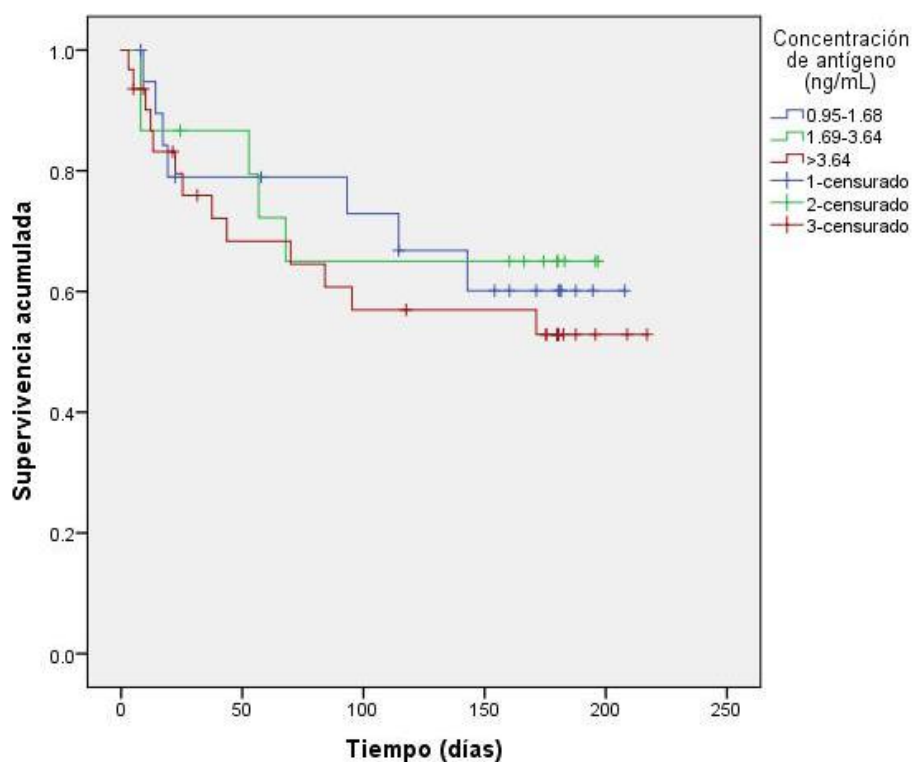
| Parámetro               | Concentración de antígeno de <i>H. capsulatum</i> |        |           |       |                  |        |           |        |              |           |
|-------------------------|---------------------------------------------------|--------|-----------|-------|------------------|--------|-----------|--------|--------------|-----------|
|                         | Rango 1                                           |        |           |       | Rango 2          |        |           |        | Rango 3      |           |
|                         | 0.95-1.68 (n= 20)                                 |        |           |       | 1.69-3.64 (n=15) |        |           |        | >3.64 (n=31) |           |
|                         | Vivo                                              |        | Fallecido |       | Vivo             |        | Fallecido |        | Vivos        | Fallecido |
|                         | n                                                 | %      | n         | %     | n                | %      | n         | %      | n            | %         |
| LDH*                    |                                                   |        |           |       |                  |        |           |        |              |           |
| Valor normal**          | -                                                 | -      | -         | -     | -                | -      | -         | -      | -            | -         |
| 2 veces el valor normal | 6                                                 | (11.6) | 1         | (2.3) | 5                | (6.9)  | 2         | (4.6)  | 15           | (13.9)    |
| 3 veces el valor normal | 10                                                | (18.6) | 3         | (6.9) | 3                | (4.6)  | 5         | (9.3)  | 6            | (4.6)     |
| Carga Viral*            |                                                   |        |           |       |                  |        |           |        |              |           |
| 20 – 100                | 3                                                 | (5.3)  | -         | -     | -                | -      | -         | -      | 12           | (12.3)    |
| 101 – 1000              | 1                                                 | (1.7)  | 1         | (1.7) | 1                | (1.7)  | -         | -      | 2            | (3.4)     |
| >1000                   | 11                                                | (19.3) | 4         | (5.3) | 7                | (12.3) | 7         | (12.3) | 2            | (3.4)     |

\*Variables con significancia estadística a altas concentraciones de antígeno. **LDH:** OR= 20.2 (IC<sub>95%</sub>= 2.7 – 144.3). **Carga viral:** OR= 10.1 (IC<sub>95%</sub> = 1.6 - 61.5). \*\*Ningún paciente presentó valores normales de LDH.

De acuerdo a lo descrito en la tabla 4 y el cálculo de riesgo realizado, se encontró que los pacientes con recuentos de TCD4 menores a 100 cel/mL tenían 20 veces más riesgo de morir cuando presentaban valores superiores a 2 veces el valor normal de LDH y concentraciones de antígeno urinario de *H. capsulatum* superior a 3.64 ng/mL (p = 0.001). En este mismo grupo de personas, se encontró que las personas con cargas virales superiores a 1000 copias/mL tenían 10 veces más riesgo de morir respecto a los que tuvieron valores entre 20 a 100 copias/mL.

En la gráfica 2 se presenta la supervivencia acumulada de pacientes con recuentos de CD4 menores a 100 cel/mL. No se observó una diferencia significativa en cada uno de los grupos, según la concentración de antígeno (Rangos 1, 2 y 3). Los pacientes presentaron tiempos promedio de supervivencia de 150, 141 y 137 días respectivamente. Aunque existía una tendencia a disminuir el promedio, conforme el aumento en la concentración de antígeno detectada, no se encontró una asociación significativa con la mortalidad.

**Gráfica No. 2:** Supervivencia acumulada en pacientes con recuentos de CD4 menores a 100 cel/mL según antigenuria de *H. capsulatum* detectada (n=66)



**Log Rank:** 0.603 p: 0.740

Al finalizar el análisis de datos no se encontró asociación directa entre mortalidad de los pacientes y rangos de concentración de antígeno urinario de *H. capsulatum* detectadas en pacientes coinfectados con VIH e *H. capsulatum*. Sin embargo, se observaron altas concentraciones de LDH en pacientes que murieron por esta coinfección (anexo 1), principalmente en aquellos con concentraciones de antígeno urinario de *H. capsulatum* superiores a 3.64ng/mL como se observó en la Tabla 4.

## VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio se encontró que la mayor parte de la población en estudio la constituyeron pacientes masculinos (73.6%), en edades de entre 19 a 66 años, que es la edad productiva y reproductiva de la población guatemalteca. De acuerdo con lo documentado, estas dos características se relacionan con el grupo de personas más afectado por infecciones oportunistas en Latinoamérica, particularmente la población laboralmente activa y expuesta accidentalmente a la infección (Meihack, García, Alvarez y Flores, 2011). Por otra parte, la mayoría de pacientes provenían de la región metropolitana del país (59.2%) y el 40.8% provenían del interior de la república. La mayoría de pacientes del interior, fueron referidos a la Clínica Familiar para su evaluación diagnóstica y tratamiento. Se observó alta mortalidad - 40 personas (32%)- de los 125 casos documentados en este estudio lo que concuerda con las tasas de mortalidad de 15-40% asociadas a coinfección de histoplasmosis en pacientes con VIH (Cáceres et al., 2012).

Dentro de los hallazgos clínicos documentados, se observó un índice de masa corporal (IMC) normal en el 63.2% de los pacientes, el cual fue cambiando conforme el deterioro de los pacientes. 38 pacientes refirieron anorexia y fallecieron 13 de ellos (34.2%). En este estudio no se encontró una asociación significativa entre marcadores de complexión (IMC) y mortalidad (Tabla 2). Wheat & Kauffman han documentado que la mortalidad en pacientes con VIH e histoplasmosis puede deberse no solo a la escasa ingesta alimentaria, sino también al deterioro citológico que pueden causar *H. capsulatum* y VIH a la mucosa gastrointestinal. Además de anorexia y pérdida de apetito, en todos los casos se observó fiebre y malestar general, que corresponden al cuadro clínico inespecífico para la mayoría de casos de histoplasmosis diseminada (Wheat et al., 2000).

La prueba de detección de antígeno urinario de *H. capsulatum* es la mejor técnica para el diagnóstico de pacientes que manifiestan formas diseminadas de la enfermedad. Sin embargo, es posible detectar antigenuria en casos de histoplasmosis pulmonar aguda producida por alta exposición a conidios (Jespersen et al., 2015; Kauffman, 2007). En este estudio se observó que 98 pacientes refirieron algún problema respiratorio, de los cuales 40 personas (40.8%) indicaron poseer tos por más de dos semanas. Estas últimas manifestaron un cuadro pulmonar agudo, identificando la presencia de *H. capsulatum* mediante prueba de antígenos urinarios.

Aunque no fue el objetivo principal del estudio el determinar las causas de infección, se encontró que el 28.6% (30 personas) de los casos participó en actividades relacionadas con remoción de tierra (demolición, visita de cuevas) habiendo fallecido el 14.2% (n=3). La incidencia de histoplasmosis puede variar respecto a brotes estacionales (temporada seca o lluviosa) a lo largo del tiempo (Wheat et al., 2007) y a la distribución del hongo en las diferentes regiones del país (Samayoa et al., 2012). Se debe considerar que la remoción de tierra es parte de las actividades laborales más frecuentes en la población latinoamericana (Fernández et al., 2011).

Los datos de los pacientes fueron recibidos con una clasificación en la escala de Karnofsky determinada por el médico al momento del diagnóstico inicial. La mayoría de pacientes se les clasificó en el rango de 60 a 80, por lo que requirieron cuidados especiales, y solo el 1.6% (n= 2) se consideró en el rango 10 a 30, por tratarse de pacientes moribundos. Este índice permitió considerar esquemas de tratamiento apropiados según las necesidades e historial clínico de los pacientes

Por otro lado, se observó mayor mortalidad en pacientes con carga viral mayor a 1000 copias/mL en el 83% de fallecidos. Adicionalmente, se encontró que el 52.8% (n=66) de los pacientes tenían recuentos de linfocitos TCD4 inferiores a 100 cel/mL. Hage et al., (2011) documentaron que el diagnóstico temprano de coinfección de VIH e *H. capsulatum* garantiza un pronóstico favorable en pacientes con recuentos de TCD4 mayores a 500 cel/mL, y carga viral indetectable, lo que puede contribuir a disminuir la morbilidad en casos de infecciones oportunistas (Adenis, Aznar, & Couppié, 2014).

En este estudio se observó que los pacientes con carga viral mayor a 1000 copias/mL y recuentos de TCD4 menores a 100cel/mL, tuvieron 5 veces más riesgo de fallecer (Tabla 3). Estos hallazgos correlacionan con la descripción de las poblaciones más propensas a morir, según los criterios clínicos establecidos (Wheat, et al., 2000). Dadas estas circunstancias, se realizó un nuevo análisis de datos considerando a los pacientes con recuentos de TCD4 menores a 100 cel/mL por el riesgo que suponen estas condiciones (Goodwin et al., 1981; Wheat et al., 2000). Se encontró que 66 pacientes no solo poseían recuentos menores a lo normal sino también niveles de LDH superiores al doble o triple de lo normal, lo que sí puede asociarse a mal pronóstico o muerte, según se observa en la Tabla 4 ( $p < 0.001$ ).

En los casos de histoplasmosis diseminada, es importante mencionar que *H. capsulatum* posee tropismo por tejidos con mayor reserva del lactato deshidrogenasa (cerebro, corazón, hígado). No obstante, el hongo se puede diseminar a órganos y tejidos inespecíficos (Wheat et al., 2007). Se ha documentado que la elevación de este marcador hepático (LDH) se asocia a histoplasmosis en el diagnóstico diferencial de tuberculosis pulmonar y neumonía por *Pneumocystis jirovecii* (Corcoran, Al-Abdely, Flanders, Geimer, & Patterson, 2000).

A pesar de que en este grupo de pacientes no se encontró ninguna asociación entre mortalidad y concentraciones de antígeno de *H. capsulatum* en orina (Gráfica 2), se evidenció que las personas con concentraciones de antígeno superiores a 3.64ng/dL, recuentos inferiores a 100 cel/mL y LDH superior a dos veces el valor normal, tenían 20 veces más riesgo de morir que aquellos sin estas características (Tabla 4). La muerte de los pacientes se puede predecir como producto de tales factores en un cuadro severo de histoplasmosis diseminada (Wheat et al., 2000). Este estudio confirma que la mortalidad de los pacientes con VIH e histoplasmosis, no puede ser atribuible únicamente a la detección de altas concentraciones de antígeno urinario de *H. capsulatum*.

## 9. CONCLUSIONES:

- La población de estudio comprendió en su mayoría pacientes masculinos (73.6%) en edades de entre 19 a 66 años que provenían de la región metropolitana. El 82% se consideraron mestizos o ladinos y sólo un 18% mayas. Del total de casos registrados, falleció el 32% después de 180 días de la fecha de diagnóstico de histoplasmosis.
- La sola prueba de antígeno urinario de *H. capsulatum*, no es suficiente para predecir o anticipar la muerte de un paciente con VIH. Una alta carga de antígenos tampoco es significativa para predecir la muerte del paciente.
- Los pacientes con VIH que acudieron a la Clínica Familiar y murieron durante los 180 días de seguimiento, coinciden en 4 factores principales: alta carga de antígeno urinario de *H. capsulatum* (superior a 3.64ng/mL), valores anormales de LDH (generalmente mayores al valor normal 180UI/L), recuentos bajos de linfocitos T CD4 (inferiores a 100 cel/mL) y alta carga viral (superior a 1000 copias/mL).
- Uno de los principales factores de riesgo en la adquisición de histoplasmosis por los pacientes, fue la remoción de tierra como actividad laboral. 21.4% de la población de estudio indicó participar en estas actividades agrícolas y de demolición. De ellos falleció el 14.2%
- A pesar de que la desnutrición es causa de muerte en pacientes coinfectados con VIH e *H. capsulatum*, no se encontró una asociación significativa entre la mortalidad e índice de masa corporal de los pacientes.
- La mayoría de la población de estudio, acudió a la Clínica Familiar en muy mala condición respecto recuentos de CD4 y carga viral. Esto evidencia la necesidad de un diagnóstico oportuno de VIH e infecciones oportunistas e implementación de estrategias de manejo y prevención de infecciones.

## 10. RECOMENDACIONES

- Implementar un estudio prospectivo que involucre a pacientes con diagnóstico negativo y positivo de histoplasmosis para estimar con mayor exactitud el impacto de la mortalidad de los pacientes afectados por *H. capsulatum*.
- Considerar un estudio de tamizaje para histoplasmosis donde se pueda incluir una población más grande con el objetivo de incrementar la precisión de los resultados obtenidos.
- Analizar las probabilidades de mortalidad asociadas a los factores de riesgo, tomando en cuenta todas las pruebas disponibles para el tamizaje de histoplasmosis como PCR, detección de anticuerpos y la presencia de otras infecciones oportunistas.
- Considerar la exploración de áreas endémicas y geolocalización de casos en Guatemala para esclarecer la distribución de *H. capsulatum*, y determinar las poblaciones que presentan más riesgo de exposición al hongo en el país.
- En este estudio se empleó la metodología recomendada por el CDC (Center for Disease Control and Prevention) para la detección de antígenos urinarios, pero se recomienda utilizar un kit comercial por reproducibilidad, precisión y practicidad, como herramienta de tamizaje para la realización de estudios posteriores.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

- Adenis, A., Aznar, C., & Couppié, P. (2014). Histoplasmosis in HIV-Infected patients: A review of new developments and remaining Gaps. *Current Tropical Medicine Reports*, 17 (2), 216-223
- Adenis, A., Nacher, M., Hanf, M., Barsuko, C., Dufour, J., Huber, F., ... Couppie, P., (2014). Tuberculosis and Histoplasmosis among Human Immunodeficiency Virus- Infected Patients: A comparative study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90 (8)., 1447-1453.
- Allevato, M., Negroni, R., & Galimberti, R. (2007). Antifúngicos: Ayer, hoy y Mañana. *Terapia y Dermatología*, 38 (3)., 78-85.
- Alva, E., Vásquez, J., Frisancho, O., Yoza, M., & Yábar, A. (2010). Histoplasmosis colónica como manifestación diagnóstica de SIDA. *Revista de gastroenterología, Perú*, 30 (2)., 163-166.
- Arenas, R. (2014). *Micología Médica Ilustrada* (5ta. ed.). México, D.F.: Mc.Graw Hill.
- Assi, M., Martin, S., Wheat, J., Hage, C., Freifeld, A., Avery, R., ... Bradley, J., (2013). Histoplasmosis after solid organ transplant. *Clinical Infectious Disease.*, 57 (11)., 1542-1549
- Bezerra, F., Zancopé, M., Brilhante, R., & et al. (2013). Histoplasmin Survey in HIV-Positive patients: Results from an endemic area in Northeastern Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 55 (4)., 261-265.
- Cáceres, D., Gomez, B., Restrepo, A., & Tobón, M. (2012). Histoplasmosis y sida: Factores de riesgo clínicos y de laboratorio asociados al pronóstico de la enfermedad. *Infectio*, 16 (12), 128-132.
- Cáceres, D., Scheel, C., Tobón, A., Alhquist, A., Restrepo, A., Bramdt, ... Gómez, B., (2014). Validation of an Enzyme Linked Immunosorbent Assay, that detects *Histoplasma capsulatum* Antigenuria in Colombian patients with AIDS for diagnosis and follow up during Therapy. *Clinical and Vaccine Immunology*, 16 (6).,1364-1368.
- Calderón, E., Varela, J. & Medrano, F., (2004). Epidemiology of Pneumocystis carinii pneumonia in southern Spain. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 18 (5)., 657-678.
- Canteros, C., Iachini, R., Rivas, C., Maradiaga, J., Galarza, R., Sniderman, L., ... Davel, G., (2005). Primer Aislamiento de *Histoplasma capsulatum* de murciélago urbano *Eumops bonariensis*. *Revista Argentina de Micología*, 37. (7)., 46-56.

- Castañón, R; (2015). Histoplasmosis. Recursos de micología. Recuperado de: <http://facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/histoplasmosis.html>
- Colella, M., Mata, S., & Hartung, C., (2007). Identificación de *Histoplasma capsulatum* en muestras clínicas mediante la técnica de PCR en dos rondas. *Kasmera*, 35 (2)., 156-163.
- Colombo, A. (2013). *Histoplasmosis Fact Sheet*. Global Action Fund For Fungal Infections.
- Corcoran, G. Al-Abdely, H. Flanders, C., Geimer, J & Patterson, T. (2000) Markedly elevated serum lactate dehydrogenase levels are a clue to the diagnosis of disseminated histoplasmosis in patients with AIDS. *Clinical Infectious Disease*. 24(5)., p. 942-944.
- Davis, A., Pierson, R., & Loyd, J. (2001). Mediastinal fibrosis. *Seminars of Respiratory Infections*, 16 (2)., 119-130.
- de Bedout, C., Ayabaca, J., & Vega, R. (2003). Evaluación de la Susceptibilidad de especies de *Candida* al fluconazol por método de difusión en disco. *Biomédica*, 12 (8)., 31-37.
- Durkin, M., Connolly, P., & Wheat, K. (1997). Comparison of Radioimmunoassay and Enzyme-Linked immunoassay Methods for detection of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* Antigen. *Journal of Clinical Microbiology*, 35 (12)., 152-159.
- Fernández, C., Ilanait, M., Martínez, G., Perurena, M., & Monroy, E. (2011). Una actualización de histoplasmosis. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 63 (6)., 189-205.
- Frola, C., Bermejo, V., Spadacinni, L., Guelfand, L., & Pérez, H. (2013). Impacto de Histoplasmosis Diseminada En Pacientes HIV Positivos. *actualizaciones en SIDA e Infectología*, 21 (10)., 37-41.
- Galisteu, K., Ventura, L., da Cruz, A., Shiesari, A., Bernardi, C., Franco, C., ... Damtas, L., (2014). Opportunistic infections among individuals with HIV-1 in the highly active antiretroviral therapy era at a Quaternary Level Care Hospital. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 48 (12)., 149-156.
- García, E., Velasco, M., Gascón, J., Corachán, M., Mejías, T., & Torres, J. (2005). Infección por *Histoplasma capsulatum* en un grupo de cooperantes en Guatemala. *Enfermedades infecciosas, Microbiología clínica*, 44 (16)., 567-570.
- García, M., García, J., M, P., Álvarez, F., Martinez, A., & Sánchez, A. (2008). Histoplasmosis pulmonar crónica en un paciente no inmunodeprimido, residente 10 años antes en una zona endémica. *Archives of Bronconeumology*., 14 (4)., 631-639.
- González, Á. y Tobón, A. (2006). Infecciones micóticas oportunistas en pacientes con VIH/SIDA. *Infectología y Micología médica experimental*, 10 (2)., 279-288.

- Goodwin, R., Loyd, J., & Prez, R. (1981). Histoplasmosis in normal hosts. *New Journal of Medicine Baltimore*, 11 (4)., 231-36.
- Goodwin, R., Shapiro, J., & Thurman, G. (1980). Disseminated Histoplasmosis: Clinical and Pathologic correlations. *Medline Baltimore*, 59 (12)., 1-13.
- Gorocica, P., Taylor, M., Alvarado, N., Pérez, A., & Lascurain, R. Z. (2009). The interaction between *Histoplasma capsulatum* cell wall carbohydrates and host components: relevance in the immunomodulatory role of histoplasmosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 104 (3)., 492-496.
- Gramatges, A. (2002). Aplicación y técnicas del análisis de supervivencia en las investigaciones clínicas. *Revista Cubana Hematología Inmunología Hemoterapia*, 18(2)., 125-139.
- Hage, C., Kirsch, E., Stump, T., Kauffman, C., Goldman, M., , ... Draddley, J., (2011). Histoplasma Antigen Clearance during Treatment of Histoplasmosis in Patients with AIDS Determined by Quantitative Antigen Enzyme Immunoassay. *Clinical And Vaccine Immunology*, 18 (10)., 256-262.
- Hernández, F., Córdova, E., Manzano, P., R, L., Mora, E., & López, R. (2003). Frecuencia de micosis en pacientes inmunosuprimidos de un hospital regional de la Ciudad de México. *Salud pública de México*, 45 (8)., 455-460.
- Herrera, R., Medina, N., Samayoa, B. & Mercado, D. (2012). Burden of serious fungal infections in Guatemala. *Global Action Fund For Fungal Infections*, 1 (8)., 160-165.
- Horn, D., Neofytos, D. & Anaissie, E., (2009). Epidemiology and outcomes of Candidemia in 2019 patients: Data From The Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. *Clinical Infectious Diseases*, 48 (15)., 1695-1703.
- Jespersen, D., Harring, J., Mandrekar, J., Mathew, J., & Binnicker, J., (2015). Evaluation of a *Histoplasma capsulatum* Galactomannan Urinary Antigen Enzyme Immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*, 54 (6)., 270-273.
- Johnson, C., Prigge, J., Warren, A., & McEwen, J. (2003). Characterization of an alternative oxidase activity of *Histoplasma capsulatum*. *Yeasts*, 20 (9)., 381-388.
- Kauffman, C. (2007). Histoplasmosis: A clinical and laboratory update. *Clinical Mycrobiology Reviews*, 20 (5)., 115-132.
- Koepsell, S., Hinrichs, S., & Iwen, P. (2012). Applying Real Time PCR Assay for *Histoplasma capsulatum* to Clinically Relevant Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Human Tissue. *Journal of Clinical Microbiology*, 50 (4)., 342-349
- Kurowski, R., & Ostapchuk, M. (2002). Overview of histoplasmosis. *American Family Physician*, 66 (12)., 2247-2252.

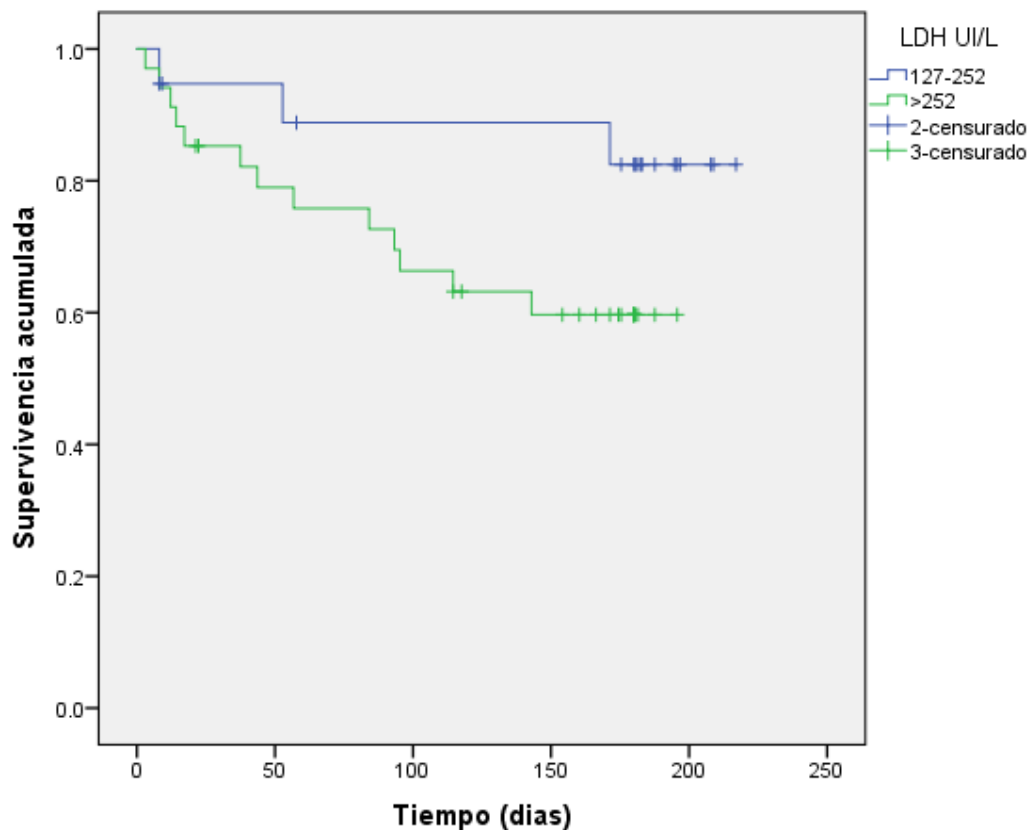
- Llanos, E., & Ojeda, P. (2009). Histoplasmosis pulmonar crónica. *Revista colombiana de neumología*, 16 (2) 143- 148.
- Lopes, A., Tobón, A., Restrepo, A., Quieroz, F., & Nucci, M. (2011). Epidemiology of endemic systemic fungal infections in Latin America. *Medical Mycology*, 1 (49), 785-798.
- López, C. (2006). Dimorfismo y patogenia de *Histoplasma capsulatum*. *Revista Argentina de Microbiología*, 38 (2)., 235-242
- Loyd, E., Tillman, B., & Atkinson, J. (1988). Mediastinal Fibrosis complicating histoplasmosis. *Medline, Medicine Baltimore*, 67 (5)., 265-310.
- Martínez, M., & Irala, J. (2009). Análisis de supervivencia y análisis multivariado. In J. Arceo, J. Ornelas, & S. Dominguez, *Manual de Medicina basada en la evidencia* (pp. 128-149). Bogotá: Manual Moderno.
- Mayer, J., Doubek, M., Doubeck, J., Horký, D., Scheer, P., Stépánek, ... Atkins, A., (2002). Reduced Nephrotoxicity of Conventional Amphotericin B Therapy after minimal Nephroprotective Measures: Animal Experiments and Clinical Study. *The Journal of Infectious Diseases*, 18 (5)., 135-142
- Meihack, W., García, E., Alvarez, B. y Flores, R., (2011). *Perfil epidemiológico del VIH Guatemala, 2011*. Guatemala: Reporte Ciudad de Guatemala: Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Universidad del Valle de Guatemala. (s.n.).
- Missal, T., Lodge, J., & McEwen, L., (2004). Mechanisms of resistance to oxidative and nitrosative stress: Implications for fungal survival in Mammalian hosts. *Eukaryotic cell*, 13 (4), 379-388.
- Moges, N., & Kassa, G. (2014). Prevalence of Opportunistic Infections and Associated Factors among HIV Positive Patients tanking Anti-Retroviral Therapy in DebreMarkos Referral Hospital, Northwest Etiopia. *Journal of AIDS and Clinical Research*, 5 (9), 1-6.
- Muñoz, C., Cano, L., & González, A. (2013). Detección e identificación de *Histoplasma capsulatum* por el laboratorio: de los métodos convencionales a las pruebas moleculares. *Infectio*, 14 (1) 132-136.
- Nacher, M., Adenis, A., Arathoon, E., Samayoa, B., Mercado, D., ... Restrepo, A., (2015). Disseminated histoplasmosis in Central America and South America, the invisible elephant: the lethal blind spot of international health organizations. *AIDS*, 30 (3)., 167-170.
- Nacher, M., Adenis, A., Aznar, C., Blanchet, D., Vantilcke, V., ... Couppie, P., (2014). How Many Have Died from Undiagnosed Human Immunodeficiency Virus-Associated Histoplasmosis, A Treatable Disease? Time To Act. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90 (3)., 125-133.

- Nacher, M., Adenis, A., Blanchet, D., Vantilcke, V., Demar, M., & Basurko, C. (2014). Risk Factors for Disseminated Histoplasmosis in a Cohort of HIV-Infected Patients in French Guiana. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 28 (3), 235-240.
- Nucci, M., Queiroz, F., Tobón, A., Restrepo, A., & Colombo, A. (2010). Epidemiology of Opportunistic Fungal Infections in Latin America. *Clinical Infectious Diseases*, 51(5), 561-570.
- Panizo, M., Reviákina, V., y Navas, T., 2008). Neumocistis en pacientes venezolanos: Diagnóstico y Epidemiología. *Revista Iberoamericana de Micología*, 226-231.
- Samayoa, B., Mercado, D., Argueta, D., Lau, D., Gómez B., Tobón, a., ... Arathoon, E., (2012). Disseminated histoplasmosis before and after the implementation of urine antigen detection ELISA in an HIV clinic in Guatemala. *ICCAC*.
- Scheel, C., Samayoa, B., Herrera, A. M., Benjamin, L., Reed, Y., Hart, J., ... Gómez, B., (2012). Development and Evaluation of an Enzyme Linked Immunosorbent Assay to detect *Histoplasma capsulatum* Antigenuria in immunocompromised patients. *Clinical Vaccine and Immunology*, 16 (6), 852-858.
- Segura, L., Rojas, M., Pelaez, N., Shor-Posner, G., RosaRe, D., ... Baum, K., (1997). Disseminated Histoplasmosis and Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection: Risk Factors in Guatemala. *Correspondence*, 18 (5), 343-346.
- Sifuentes, J., Corzo, D., & Ponce, A. (2012). Epidemiology of invasive fungal infections in Latin America. *Current Management of Fungal Infections*, 16 (2), 23-24.
- Taylor, R., & Dobrovolny, C. (1960). The distribution of histoplasmin sensitivity in Guatemala. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 10 (s.n.), 125-130
- Tobón, M. (2012). Histoplasmosis study and management protocol. *Infectio*, 16 (6), 126-128.
- Torres, J., Romero, H., Santiago, A., y Castro, R. (2011). Dosis mínima infectante de la fase micelial de *Histoplasma capsulatum* var *capsulatum* en ratones Balb/c. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 31(1), 225-230
- Velásquez, G., Rueda, Z., Velez, A., Aguirre, D., y Gómez, R. (2010). Histoplasmosis en pacientes con SIDA. Un estudio de cohorte en Medellín, Colombia. *Infectio*, 14 (7), 99-106.
- Wheat, J., & Kauffman, C. (2000). Histoplasmosis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 17(5), 236-240.
- Wheat, J., Chetchotisakds, B., Connolly, P., Shutt, K., & Hajjeh, R. (2007). Farctors Associated with Severe Manifestations of Histoplasmosis in AIDS. *Clinical Infectious Diseases*, 81 (16), 178-184.

- Wheat, J., Sarosi, G., McKinsey, Hammil, R., Bradsher, R., Johnson, P., ... Kauffman C., (2007). Practice Guidelines for the Management of Patients with Histoplasmosis. *Clinical Infectious Diseases*, 30 (8)., 160-168.
- Wheat, J., Wheat, P., Connolly, M., Kleiman, K., Supparatpinyo, L., Nelson, K., ... Wheat, L., (1997). Cross-Reactivity in *Histoplasma capsulatum* variety *capsulatum* Antigen Assays of Urine Samples from Patients with Endemic Mycoses. *Clinical Infectious Diseases*, 24.
- Wheat, L., Salma, T., Eitzen, H., kohler, R., French, M., ... Beisecker, J. (1981). A large urban outbreak of Histoplasmosis: Clinical Features. *Ann, Intern Med*, 18 (8)., 331-337.

## 12. ANEXOS

**Anexo 1:** Supervivencia según concentraciones séricas de LDH en pacientes con recuentos de CD4 menores a 100 cel/mL



**Descripción:** Log Rank: 7.21 p: 0.001. En el anexo 2 se observó la diferencia en la probabilidad de supervivencia según lo encontrado para las personas cuyos valores de CD4 al momento del diagnóstico eran menores a 100 cel/mL. Se estimó un tiempo de supervivencia promedio de 193 días para los pacientes con valores de LDH entre 127 a 252 UI/L y 110 días para las personas con concentraciones superiores a 252UI/L

**Br. Luis Alfonso Aguirre López**  
**Autor**

**Licda. Blanca Samayoa, MSPH, DrPH<sup>candidate</sup>**  
**Asesora**

**Licda. Brenda Judith Guzmán Coronado**  
**Asesora**

**Licda. Narda Gabriela Medina Samayoa**  
**Asesora**

**Licda. Alba Marina Valdés de García, MSc.**  
**Directora de Escuela**

**Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda**  
**Decano**