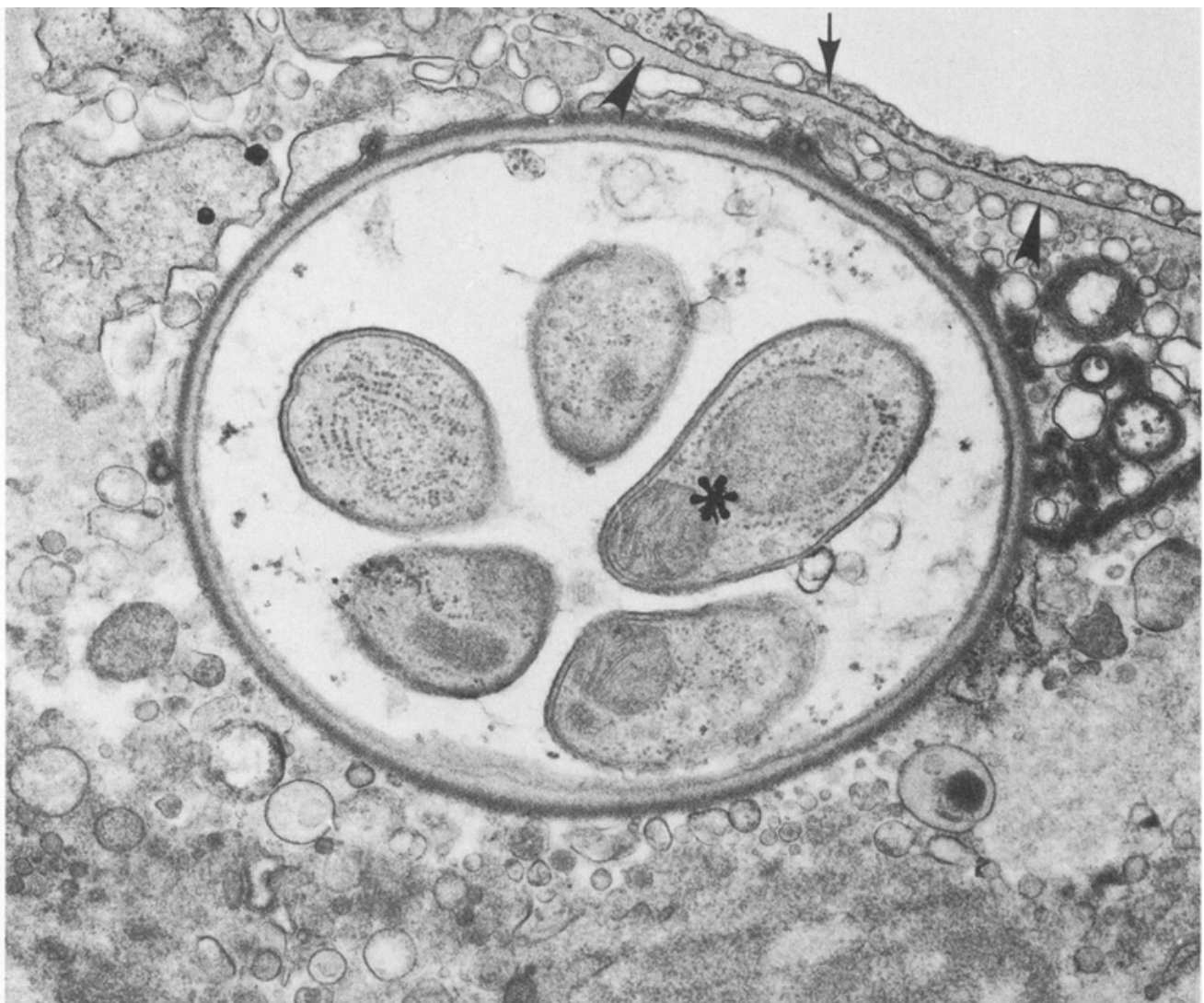


# NEUMONÍA POR PNEUMOCYSTIS JIROVECII

BOLETÍN CPC

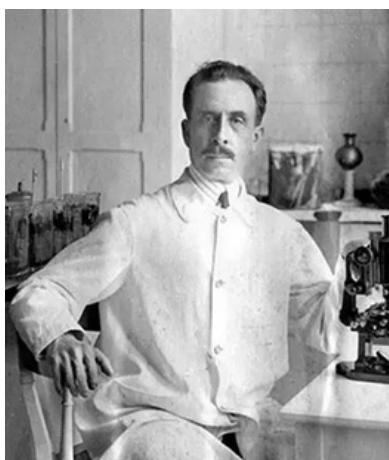


CENTRO DE PATOLOGÍA CLÍNICA  
2232-5406 | 2239-0691 | 9437-9482  
PROMOCIONYVENTAS@CPCHN.ORG



# NEUMONIA POR PNEUMOCYSTIS JIROVECI

La infección por *Pneumocystis jirovecii* ha sido considerada por mucho tiempo una enfermedad rara o infrecuente, en parte porque muchas veces no se incluye en el diagnóstico clínico diferencial y pasa desapercibida, o porque muchos laboratorios carecen de los medios adecuados de diagnóstico. Muchos de los casos informados son hallazgos post mortem. La neumocistosis tiene distribución universal.



**Carlos Chagas (1879-1934)**

## EVOLUCIÓN DE CONCEPTOS CLÍNICOS:

Ha transcurrido más de un siglo desde que Carlos Chagas, en 1908, observó en cortes histológicos de pulmones de ratas que utilizaba en sus investigaciones sobre la tripanosomiasis americana, la presencia de unas estructuras distintas al *Trypanosoma*, que él interpretó como estadios en el ciclo de vida del parásito. Poco después, haciendo experimentos similares, Antonio Carini también en Brasil, observó las mismas estructuras, pero consideró que se trataba de un organismo diferente, así que envió muestras al Instituto Pasteur en Paris, donde Pierre Delanoe y su esposa confirmaron que si se trataba de un organismo diferente y lo

llamaron *Pneumocystis carinii*. Desde entonces se conoce que *Pneumocystis* habita en el tracto respiratorio de diversos roedores, en particular en las ratas, sin causar enfermedad. Chagas también vio estas mismas estructuras en cortes histológicos de pulmón, obtenidos en la autopsia de un niño malnutrido. En aquel entonces, se consideró que este organismo era un parásito sin importancia que se encontraba en roedores y otros mamíferos pequeños, pero nadie tuvo la curiosidad de saber si tenía importancia en la patología humana (1).



**Antonio Carini  
(1872-1950)**

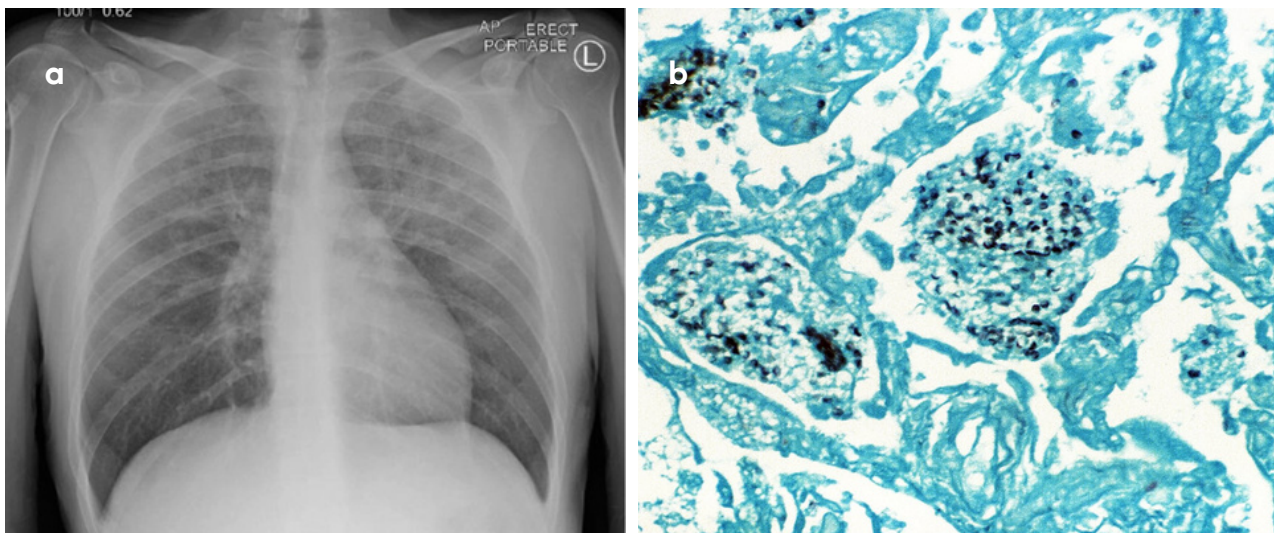
Pasaron varias décadas sin que se prestara atención a *Pneumocystis*, hasta que un poco antes y durante la segunda guerra mundial, en Europa, se comenzó a observar una forma de neumonitis que afectaba sobre todo a niños lactantes, en particular entre 8 y 12 meses de edad. Los más afectados eran niños prematuros y niños que habiendo nacido normalmente, habían desarrollado un estado debilitado por desnutrición. La enfermedad comenzaba en forma leve, con falta de deseo para comer, pérdida de peso, intranquilidad, a veces diarrea, sin fiebre, seguidos de dificultad progresiva para respirar, disnea severa y cianosis en el curso de una a dos semanas. Había alta mortalidad, pero algunos pacientes sobrevivían con el uso de una tienda de oxígeno. Los que se recuperaban tardaban más de un mes en salir del cuadro de distrés respiratorio.

Los primeros estudios de autopsia se hicieron en 1938, el cuadro histológico era una neumonitis, con infiltrado de células plasmáticas en el intersticio alveolar y presencia de un exudado fluido espumoso que llenaba los espacios alveolares, sin mención de ningún agente etiológico a pesar de haberse hecho estudios virológicos, bacteriológicos y micológicos. La enfermedad vino a conocerse como neumonitis o neumonía de células plasmáticas.

Fue hasta 1942 que Van der Meer y Brug describieron por primera vez la asociación de esta forma de neumonitis con *Pneumocystis*, en estudios post mortem de tres niños (2). En los siguientes diez años se publicaron más casos, estableciéndose claramente la relación etiológica (3,4). La dificultad para ver este organismo en el tejido pulmonar se debía a que los cortes histológicos sólo eran coloreados con hematoxilina y eosina, pero después, usando una técnica de coloración a base de sales de plata, se logró ver fácilmente el patógeno. (5)

Antes de 1956 se consideraba que esta infección solo afectaba a niños pequeños, pero pronto se describieron casos en adultos. Ya para 1960 se habían informado más de veinte, incluyendo infecciones subclínicas. Los pacientes afectados eran personas debilitadas por otras enfermedades como leucemia, linfoma, pacientes tratados con quimioterapia por cáncer o con corticosteroides e inmunosupresores por enfermedades autoinmunes o trasplante de órganos.

En aquellos años también se descubrió la asociación de *Pneumocystis* con muerte súbita en infantes, lo cual fué resumido años más tarde por Vargas y colaboradores (6).



**Figura 3.** (a) Radiografía de tórax que muestra patrón en vidrio esmerilado apical bilateral. La opacidad en vidrio esmerilado (ground-glass opacity también conocida como GGO) es un área nebulosa de aumento de la atenuación del pulmón con marcas bronquiales y vasculares preservadas. Este patrón ocurre cuando el aire en los pulmones se reemplaza con líquido, inflamación o tejido dañado. (b) Fotomicrografía de tejido alveolar infectado con *P. jirovecii* (tinción de plata y metenamina de Grocott). Los quistes de este hongo se encuentran dentro de los alvéolos junto con un exudado inflamatorio (capa roja). Las paredes del quiste están teñidas de negro con esta tinción plateada.

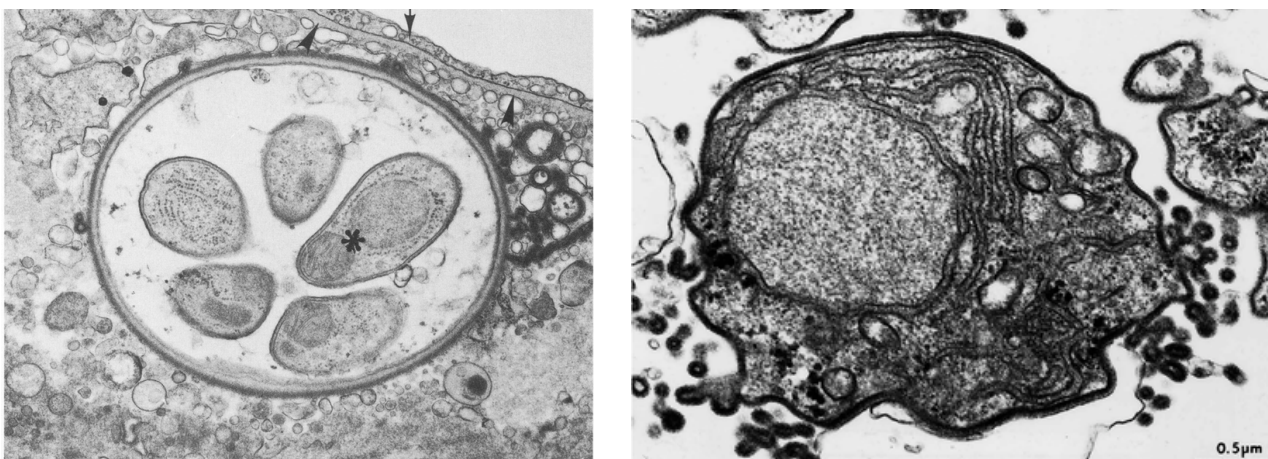
En la década de 1980 cambió la historia de esta infección. De ser un patógeno relativamente raro, poco conocido y esporádico, *Pneumocystis* se convirtió en una causa importante de muerte con capacidad epidémica, debido a su aparición en pacientes con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), este hecho lo testifican más de 6000 publicaciones entre 1981 y 2000.

Al inicio de la epidemia de VIH/SIDA la mortalidad por esta infección era superior a 50%, pero con el advenimiento de la terapia anti retroviral (HAART) y el tratamiento preventivo con Sulfametoxazol/Trimetoprim, la incidencia disminuyó considerablemente. El tema ha sido revisado recientemente. (7)

En contraste, el número de pacientes que no tienen VIH está aumentando y son personas susceptibles a *Pneumocystis*. Los síntomas de la *pneumocystosis* en adultos son inespecíficos, en los pacientes con infección VIH sigue un curso indolente, sub agudo y se presenta tardíamente, en comparación con el curso más rápido que sigue la enfermedad en pacientes sin VIH que tienen otras condiciones de inmunocompromiso e incluyen los siguientes: disnea progresiva, fiebre, tos no productiva, pérdida de peso, escalofríos y raramente hemoptisis, el examen físico pulmonar no es muy revelador, apenas se escuchan algunos estertores y roncus en la auscultación del paciente, pero otras veces es normal. La *pneumocystosis* es una de las coinfecciones que pueden encontrarse en pacientes con infección por SARS-CoV-2. (8)

### BIOLOGÍA DE *PNEUMOCYSTIS*:

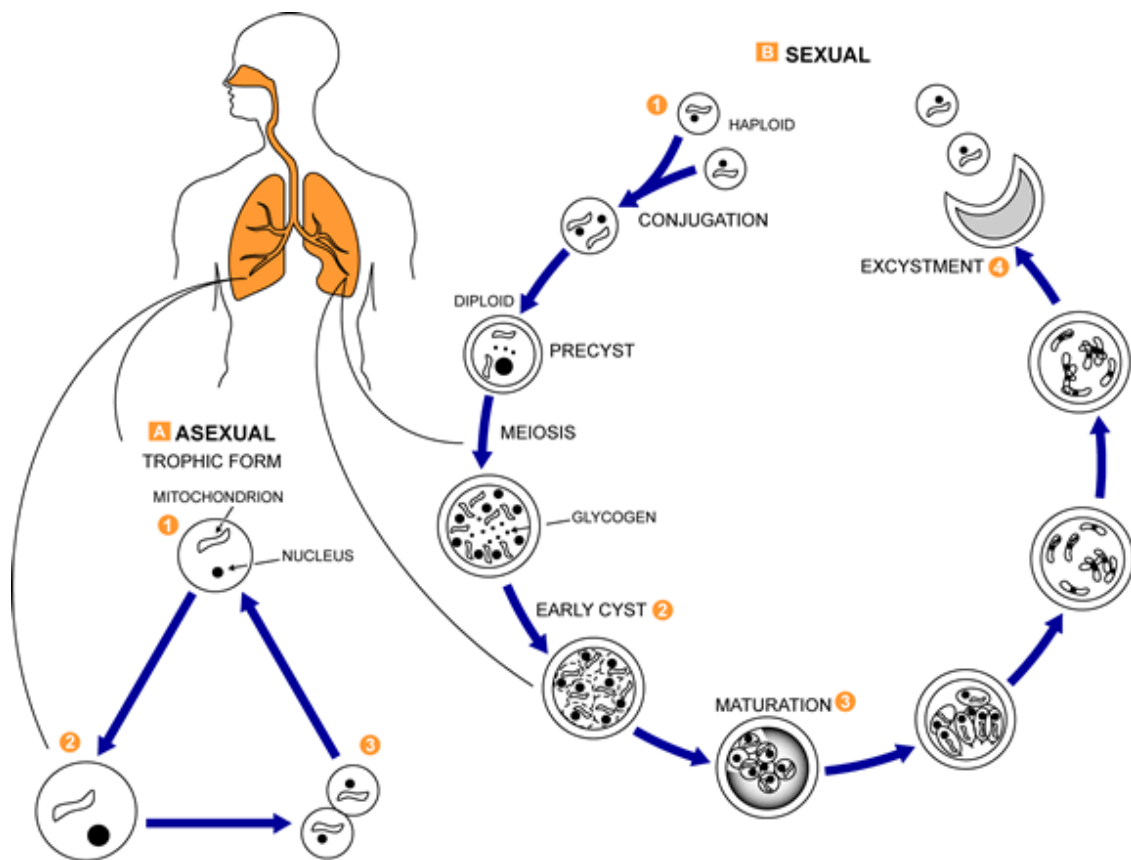
Por muchos años desde su descubrimiento en 1908, este organismo fue considerado un protozoo y por mucho tiempo se le llamó *Pneumocystis carinii*. Sin embargo, ya para la década de 1970 había dudas entre los taxónomos si más bien se trataba de un hongo y durante los siguientes 30 años se llevaron a cabo muchos estudios de diversa naturaleza, sobre todo genéticos, que concluyeron que este organismo es un hongo muy heterogéneo, en cierto modo atípico y que existen muchas especies, las cuales están asociadas en forma particular con diversos animales. (9)



**Figura 4.** (a) Acus (quiste) de *Pneumocystis jirovecii* (b) Forma vegetativa (trofozoíto) de *Pneumocystis jirovecii*

En 1999 Frenkel asignó la especie *P. carinii* a los organismos presentes en las ratas y la especie *P. jirovecii* a los que están presentes en humanos. *Pneumocystis jirovecii* puede encontrarse en la vía respiratoria de las personas desde etapas muy tempranas de la vida como residente inocuo y se vuelve patógeno cuando el paciente desarrolla condiciones debilitantes que permiten la proliferación del hongo. (10)

Todas las etapas del ciclo de vida de *Pneumocystis* se encuentran en los pulmones de los hospedadores afectados. Excepcionalmente estos organismos se diseminan a otros órganos como médula ósea, cerebro, ganglios linfáticos, tiroides, ojos y tracto GI. Se acepta que el ciclo de vida (figura 5) comprende una fase vegetativa o trófica mononuclear (trofozoíto en la vieja nomenclatura), de pared delgada, que se convierte en una fase quística de pared gruesa, donde ocurren varias divisiones en tres etapas, que llegan a formar 8 esporas. Estas dejan el quiste supuestamente por un poro preformado en la pared de este y se adhieren específicamente a las células epiteliales alveolares tipo I, para volver a formar un nuevo quiste. A las fases pre-quiste se les llamaba esporozoitos en la vieja nomenclatura. La terminología, basada en el antiguo concepto que *Pneumocystis* era un protozoo, ha cambiado, y ahora al quiste se le designa ascus. (11)



**Figura 5 .** Este es un ciclo de vida generalizado propuesto por John J. Ruffolo, Ph.D. (Cushion, MT, 1988) para las diversas especies de *Pneumocystis*. Estos hongos se encuentran en los pulmones de los mamíferos, donde residen sin causar una infección manifiesta hasta que el sistema inmunológico del huésped se debilita. Entonces puede producirse una neumonía, a menudo letal. **Fase asexual:** formas tróficas 1 se replica por mitosis 2 al 3. **Fase sexual:** las formas tróficas haploides conjugan 1 y producen un cigoto o esporocito (quiste temprano) 2. El cigoto sufre meiosis y posterior mitosis para producir ocho núcleos haploides (quiste de fase tardía) 3. Las esporas exhiben diferentes formas (como formas esféricas y alargadas). Se postula que el alargamiento de las esporas precede a la liberación de la caja de esporas. Se cree que la liberación se produce a través de un desgarro en la pared celular. Después de la liberación, la caja de esporas vacía generalmente colapsa, pero retiene algo de citoplasma residual 4. También se reconoce que existe una etapa trófica, donde los organismos probablemente se multiplican por fisión binaria. El organismo causa enfermedades en personas inmunodeprimidas. (Tomado del CDC)

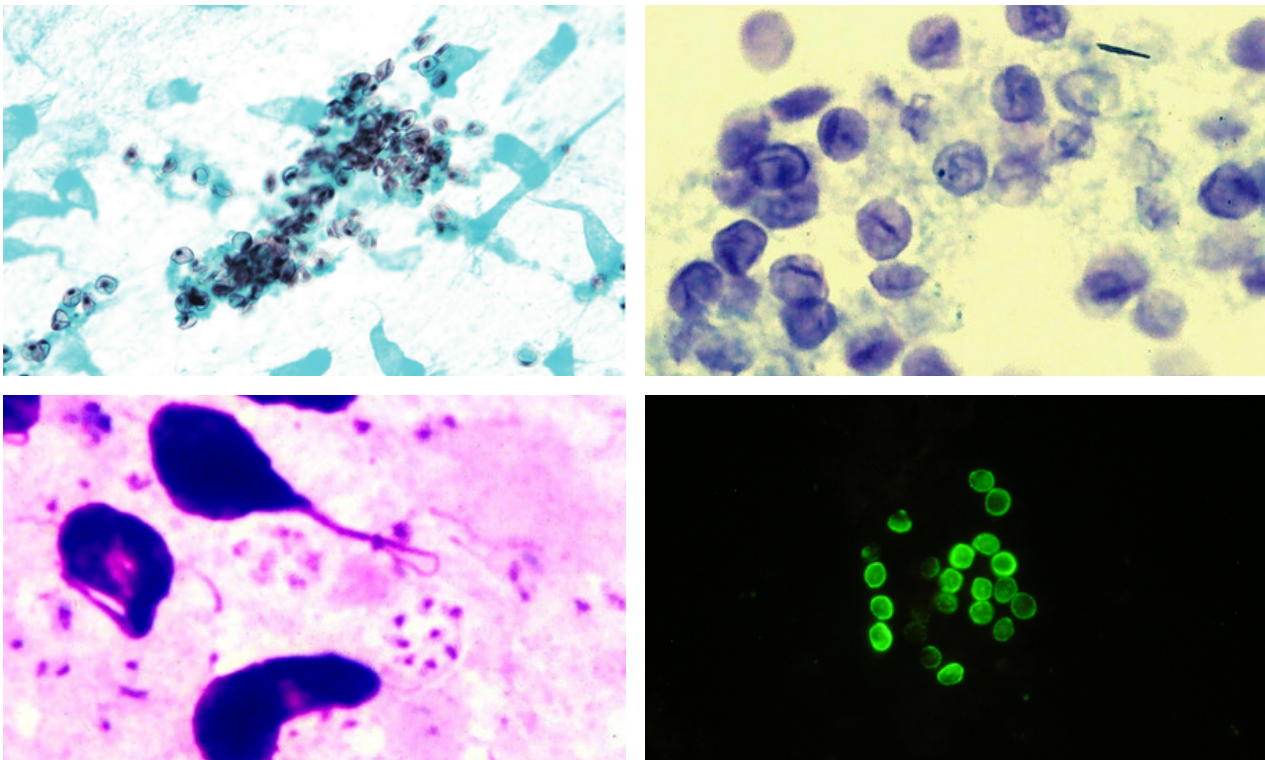
**MÉTODOS MORFOLÓGICOS PARA VER *PNEUMOCYSTIS*:**

*Pneumocystis jirovecii* usualmente se detecta en líquido de lavado bronquio-alveolar, biopsia pulmonar transbronquial o en muestras de esputo inducido utilizando diversos colorantes con microscopía de luz o por fluorescencia o inmunofluorescencia. Los métodos más sofisticados como microscopía de interferencia de fases, microscopía electrónica o inmuno microscopía electrónica solo se usan en investigación.

Utilizando frotis secados al aire, se pueden usar la coloración de Grocott-Gomori, la coloración con azul de toluidina, la coloración de Giemsa o la coloración de Violeta de Cresilo (12,13).

Un método de mucha aceptación es el uso de calcofluor blanco, una sustancia fluorescente que se adhiere a la pared del ascus ("quiste"), pero se necesita un microscopio de fluorescencia.

La técnica de inmunofluorescencia directa para el diagnóstico de la infección por *Pneumocystis* viene siendo usada desde los años de 1970, es una técnica para demostrar el hongo en forma más rápida y sensible que algunas técnicas de coloración. (14,15) También ha sido descrita una técnica de inmunofluorescencia indirecta, pero es más compleja. 16



**Figura 6 .** (a) Forma vegetativa (trofozoíto) coloración de Grocott. (b) Forma vegetativa (trofozoíto) coloración con Azul de Toluidina. (c) Ascus (quiste) coloración de Giemsa. (d) Formas vegetativas (trofozoítos) por inmunofluorescencia.

Estos métodos han sido evaluados comparativamente por varios investigadores. Las coloraciones a base de sales de plata, el calcofluor blanco y la inmunofluorescencia permiten ver los asci (singular: ascus) del hongo ("quistes" en la vieja terminología). La mayoría de los autores consideran que los métodos a base de sales de plata y la coloración con azul de toluidina tienen alta sensibilidad y especificidad, así como alto valor predictivo positivo y negativo, en la práctica son usados como métodos primarios a menos que se pueda efectuar la técnica de inmunofluorescencia. El método a base de sales de plata es más elaborado que la coloración con azul de toluidina. El método de inmunofluorescencia usando anticuerpos monoclonales tiene alta sensibilidad y especificidad.

Las coloraciones de Giemsa y similares como Wright-Giemsa y Diff-Quick colorean las formas tróficas ("trofozoitos") y los "esporozoitos". Estas coloraciones tienen una sensibilidad y especificidad intermedias con un valor predictivo negativo de apenas cerca de 70%.

En términos generales, los resultados de diferentes estudios comparativos de los exámenes directos muestran bastante variación y enfatizan en la calidad de las muestras, su procedencia y la experiencia del observador. En promedio y en orden decreciente de efectividad se recomienda primero inmunofluorescencia directa, seguida de coloraciones de plata o calcofluor, luego azul de toluidina y por último Giemsa y similares. Cuando sea posible se debe usar más de un procedimiento.

### **MÉTODOS MOLECULARES PARA LA DETECCIÓN DE *P. JIROVECI***

En los últimos 40 años se han incorporado técnicas de genética molecular para la detección de *P. jirovecii* usando muestras de esputo expectorado, estos exámenes son una alternativa para evitar los métodos invasivos de obtención de muestras, pero no todos los laboratorios tienen disponible esta tecnología. Dada la gran variedad de técnicas propuestas, aún se necesita más experiencia para conocer mejor la sensibilidad y especificidad de estos métodos, así como sus valores predictivos positivo y negativo. (17) Hasta hace poco, ninguno de estos ensayos había sido aprobado por la agencia FDA de los E.U. para uso diagnóstico rutinario. (15) Por su alta sensibilidad, los métodos moleculares pueden detectar organismos que están presentes como colonizantes habituales del tracto respiratorio.

### **SEROLOGÍA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA NEUMONIA POR *P. JIROVECI***

Se han descrito múltiples antígenos, incluyendo antígenos naturales y antígenos sintéticos recombinantes, para la detección de anticuerpos IgG, IgA e IgM en el suero de los pacientes, solo un estudio con la técnica de enzoinmunoensayo (ELISA) ha demostrado una sensibilidad de 100% y especificidad de 81% en 88 pacientes. (18) Sin embargo, otros estudios destacan algunas limitaciones de esta metodología (15).

### **OTROS MÉTODOS:**

La citometría de flujo es un método altamente sensible, confiable y rápido para el diagnóstico de neumonía por *P. jirovecii*. (19)

Beta D Glucano (BG) es un constituyente del ascus de *P. jirovecii* y de muchos otros hongos patógenos. Se han desarrollado varios métodos para la detección de este componente de la pared celular en el suero sanguíneo. Es un marcador inespecífico, pero de alta sensibilidad (91-96%), tanto en pacientes VIH+ como VIH-.

La enzima deshidrogenasa láctica (LDH) se encuentra significativamente elevada en el suero de pacientes con neumonía por *P. jirovecii*, tiene una sensibilidad de 61 a 91% y una especificidad de 36 a 52% pero solo tiene valor en pacientes VIH+. Se han evaluado otros marcadores bioquímicos. (15)

## REFERENCIAS

1. Hughes WT. Historical Overview, cap. 1 en: Walzer PD, Cushion MT, Eds. Pneumocystis Pneumonia, 3 ed. New York, Marcel Dekker, 2005: 1-37.
2. Van der Meer MG, Brug SL, Infection a Pneumocystis chez l'homme et chez les animaux. Ann Soc Belg Med Trop, 1942; 22:301-309.
3. Vanek J, Jirovec O, Lukes J. Interstitial plasma cell pneumonia in infants. Ann Pediatr 1953, 180:1-21.
4. Gajdusek DC. Pneumocystis carinii: etiologic agent of plasma cell pneumonia of premature and young infants, Pediatrics 1957; 9:543-553.
5. Grocott RC. A stain for fungi in tissue sections and smears using Gomori's methenamine silver nitrate technique. Am J Clin Path 1955; 25:975-979.
6. Vargas SL et al. Association of primary Pneumocystis carinii infection and sudden infant death syndrome. Clin Inf Dis 1999; 29:1489-1493.
7. Sax PE, 2021 <https://www.uptodate.com/contents/clinical-presentation-and-diagnosis-of-pneumocystis-pulmonary-infection-in-patients-with-hiv>.
8. Thomas Jr. CF, Limper AH, 2021 [https://www.uptodate.com/contents/treatment-and-prevention-of-pneumocystis-pneumonia-in-hiv-uninfected-patients?topicRef=3704&source=see\\_link](https://www.uptodate.com/contents/treatment-and-prevention-of-pneumocystis-pneumonia-in-hiv-uninfected-patients?topicRef=3704&source=see_link).
9. Scott P. Keely, James R. Stringer. Nomenclature and Genetic Variation of Pneumocystis, cap. 2 en Ibid 1.
10. Frenkel JK. Pneumocystis pneumonia, an immunodeficiency-dependent disease (IDD): A critical historical overview. J Eukariot Microbiol 1999; 46(5):89S-92S.
11. Dei-Cas E. Pneumocystis: Celular Structure. Cap. 3 en: ibid. 1, 61-94.
12. Chalvadjian AM, Grawe LA. A new procedure for the identification of Pneumocystis carinii cysts in tissue sections and smears. J Clin Path. 1963; 16:383-384.
13. Walzer B, Kim CK, Cushion MT. Pneumocystis carinii. En: Walzer PD, Genta RM. Eds. Parasitic Infections in the Compromised Host. New York: Marcel Dekker, 1989:83-78.
14. Kyum Lim S, Eveland WC, Porter RJ. Direct fluorescent antibody method for the diagnosis of Pneumocystis carinii Pneumonitis from sputa or tracheal aspirates from humans. Appl Microbiol 1974; 27:144-149.
15. Bateman M, Oladele R, Kolls JK. Diagnosing Pneumocystis jirovecii pneumonia: A review of current methods and novel approaches Med Mycol. 2020; 58:1015-1028.
16. Kovacs JA et al. Diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia: Improved detection in sputum with use of monoclonal antibodies. New Engl J Med. 1988; 318: 589-593.
17. Fauchier T, Haseine L, Gari-Toussaint M, Casanova V, Marty PM, Pomares C. Detection of Pneumocystis jirovecii by Quantitative PCR to Differentiate Colonization and Pneumonia in Immunocompromised HIV-Positive and HIV-Negative Patients. J Clin Microbiol. 2016; 54(6):1487-1494.
18. Tomás AL et al. Serological diagnosis of pneumocystosis: production of a synthetic recombinant antigen for immunodetection of Pneumocystis jirovecii. Sci Rep, 2016; 6:36287.
19. Barbosa J. Et al Specific detection of Pneumocystis jirovecii in clinical samples by flow cytometry. En: O'Connor I, Glynn B. Eds. Fungal diagnostics: Methods and Protocols. Totowa, N.J. Humana Press; 2013:203-211.