

PNEUMOCYSTIS CARINII

*Axel Rodolfo Santiago S.**

Resumen de la conferencia dictada en el VI Congreso Venezolano de Bioanálisis
y VI Jornadas Científicas de la SVBE
(aceptado para su publicación:)

Si profundizas lo suficiente hacia el núcleo de las cosas, tendrás ojos para ver lo invisible y oídos para oír lo inaudible.

P. Bosmans

Pneumocystis carinii fue descubierto en 1909 por Chagas, quien pensó que se trataba de una variante de un Trypanosoma. Posteriormente Delanões (1912-1914), demostró que era un género y especie distinto denominándolo *P. carinii* en honor al Dr. Carinii. A partir de este momento fue estudiado como una curiosidad médica y solo en 1940, cuando en Europa aparece una neumonía en prematuros y niños malnutridos, es tomado en cuenta ya que produjo una alta mortalidad en estos pacientes que no respondían a los antibióticos de la época. Caracterizaba este tipo de neumonía, la presencia en los alveolos pulmonares de sustancias "espumosas", además del engrosamiento de los tabiques inter-alveolares con infiltración por células inflamatorias sobre todo plasmocitos.

En los años 60, *P. carinii* es reconocido como uno de los causantes de neumonías en pacientes inmunocomprometidos y desde la aparición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), a comienzo de la década del 80, es catalogado como uno de los más importantes parásitos productor de neumonías en estos pacientes y en inmunocomprometidos no-SIDA, (pacientes transplantados, carcinomas, terapias inmunosupresivas, quimioterapias, etc.).

En los Estados Unidos para 1988 se estimaban 150.000 casos de neumonías por *P. carinii* y ya para finales del 92 estas cifras habían aumentado

considerablemente. El Centro de Control de Enfermedades Transmisibles, estima un millón de personas infectadas con VIH, el 80% de estos individuos podrán desarrollar neumonía por *P. carinii* durante su vida. No sabemos si estas cifras podrían disminuir en los próximos años. En nuestro país, aunque no existen cifras precisas, sabemos que el panorama es aproximadamente igual, según se desprende de reportes sobre este tipo de neumonía, en especial en los pacientes con SIDA.

Aunque la clasificación del parásito y su ciclo de vida todavía requieren ser investigados, la necesidad de un diagnóstico precoz es de extraordinaria importancia.

TAXONOMÍA

Desde hace muchos años se está debatiendo sobre la taxonomía de *P. carinii*. Recientes investigaciones sobre la ultraestructura del organismo sugieren que se acerca más a un hongo que a un protozario, aunque hoy en día sigue apareciendo en los textos de Parasitología como un probable protozario. La base de su cambio taxonómico a un hongo se sustenta en la secuencia del ARN ribosomal mensajero y la presencia de características estructurales de genes codificados por las enzimas dihidrofolato reductasa y timidilato sintetasa.

Estas características hacen pensar que *P. carinii* está más cerca de las levaduras y de los hongos que de los protozoarios. La coloración que toma con methenamina de plata ayuda a esta conclusión. Sin embargo, la susceptibilidad a los antibióticos y su morfología general lo siguen semejando a un parásito. Otros reportes señalan que existen reacciones cruzadas de *P. carinii* con antiseros policlonales preparados contra *Aspergillus sp.*, lo que soporta aún más la naturaleza fúngica de este organismo.

Según estas recientes investigaciones, necesitamos un número mayor de pruebas para concluir definitivamente que *P. carinii* pudiera ser considerado como un hongo.

* Jefe de la sección de Micología. Depto. Bioanálisis
Hospital Universitario de Caracas. Caracas. Venezuela
Laboratorio Clínico Microbiológico Loyola

CICLO DE VIDA

Como ya dijimos, el ciclo de vida de *P. carinii* tiene muchas controversias. Presenta un ciclo sexual y uno asexual (Fig. 1). Podemos resumir que el ciclo comienza luego de la ruptura de los quistes maduros, al quedar libres los cuerpos intracitoplasmáticos, se transforman en trofozoítos haploides y posteriormente en diploides por copulación. Estos últimos formaron nuevos quistes a través de un complicado proceso, donde juega un papel importante el "complejo sinaptonemal", en progresivas fases de meiosis. Se forman por división sucesiva, cuatro y ocho núcleos los cuales son envueltos internamente por la membrana plasmática, dando origen al quiste maduro con ocho cuerpos intraquísticos.

Además del ciclo sexual, puede desarrollarse un ciclo asexual por fisión binaria y por endogénesis de trofozoítos haploides y diploides de donde recomenzará un nuevo ciclo de vida.

Es interesante señalar que *P. carinii* entra en contacto con la superficie de las células del tracto respiratorio (células epiteliales Tipo I) y por invaginación de la membrana de dichas células, penetra y se desarrolla.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

La presentación clínica de la enfermedad dependerá del paciente involucrado. Originalmente descrita en Europa esta neumonía afectaba a niños malnutridos; en Estados Unidos se observaba en pacientes leucémicos y con inmunodeficiencias congénitas, todos estos pacientes

presentaban un proceso neumónico agudo, rara vez con compromiso de otros órganos de la economía. En el caso de pacientes con SIDA, además de estas manifestaciones clínicas, podemos encontrar infecciones extrapulmonares. Un porcentaje de los pacientes transplantados pueden desarrollar neumonías por *P. carinii* (1-6 meses post-transplante), reduciéndose el número de casos con el uso de trimetoprimisulfametoxazole. En general el paciente sufre de intensa disnea y taquipnea, abundante sudoración, cianosis y/o palidez del cuerpo, tos seca, con aumento poco marcado de la temperatura. La muerte se produce por asfixia o insuficiencia cardíaca.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

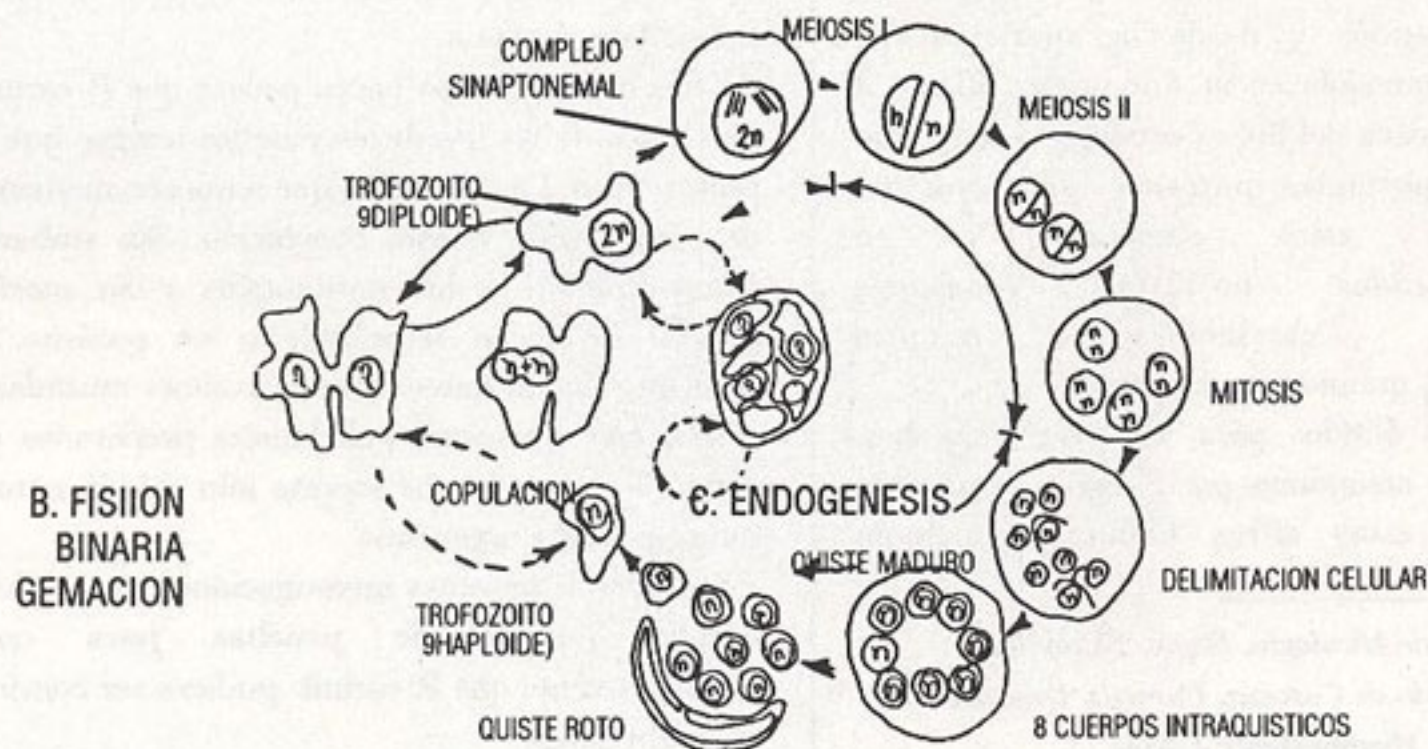
Recolección de la muestra

Como en todo diagnóstico Microbiológico el éxito del mismo dependerá de una buena muestra clínica. En un principio el diagnóstico de *P. carinii*, era realizado por medio de biopsias pulmonares. Muestras de lavado bronquioalveolar, lavados bronquiales y aspirados transtraqueales, son los utilizados con más frecuencia en los últimos años. No obstante, el esputo seriado puede ayudar al diagnóstico de esta neumonía, a pesar de que los resultados obtenidos son menos precisos.

Es importante señalar que muchos casos de neumonías por *P. carinii* no excluyen la presencia de otras infecciones oportunistas, sobre todo en los pacientes con SIDA, por esta razón el estudio microbiológico completo debe realizarse cuando se sospeche de algún otro agente causal.

CICLO DE VIDA DEL PNEUMOCYSTIS CARINII

A. CICLO SEXUAL



Procesamiento de la muestra, escogencia de la metodología diagnóstica.

Hasta el presente, solo la demostración del organismo por medio de coloraciones de preparaciones en láminas, concluye el diagnóstico. Muchas coloraciones han sido utilizadas para este fin, la sensibilidad y especificidad varía de una a otra, solo la experiencia de cada laboratorio puede decidir cual es la mejor. el método más utilizado es el de methenamina de plata de Gomori, sin embargo las coloraciones de Giemsa, Gram, Calcofluor, Papanicolaou, Naranja de acridina y otras, han sido utilizadas por ser rápidas y ofrecer buenos resultados. La incorporación de Inmunofluorescencia Directa ha permitido obtener resultados más rápidos y con una alta sensibilidad, demostrando el organismo de una manera fácil por el característico brillo verdoso que adquiere. El uso de anticuerpos monoclonales para la detección directa del organismo a partir de muestras biológicas permitiría aumentar la especificidad y sensibilidad del diagnóstico de *P. carinii*. Algunos reportes se han hecho confirmando que esta metodología podría ser superior a las antes mencionadas.

INMUNODIAGNÓSTICO

La respuesta específica del huésped, celular o humoral contra *P. carinii* hasta el presente ha sido poco dilucidada. Muy poca información existe sobre la naturaleza antigénica del organismo o de la respuesta del hospedero. Esto puede ser debido a la dificultad de su aislamiento en los tejidos y de su aislamiento en medios tradicionales.

Respuesta inmune humoral

Varias técnicas han sido desarrolladas para el estudio de la respuesta por anticuerpos. Las más utilizadas son la Inmunofluorescencia Indirecta, ELISA y Fijación de Complemento, detectando sobre todo Ig G. Aunque los resultados no son excelentes, la detección de antígenos solubles de *P. carinii* en el suero de los pacientes puede ser de gran valor ya que permitiría una aproximación con metodología rápida al diagnóstico de la enfermedad, incluyendo la detección de Ig M.

Respuesta Inmune Celular

Aunque puedan existir anticuerpos circulantes contra *P. carinii* y los mecanismos de inmunidad celular son importantes, no sabemos con claridad cual es el papel de este tipo de respuesta contra el organismo. Se supone que los Linfocitos T y sus mecanismos de inmunidad protegerían contra el desarrollo de *P. carinii*, hecho que explicaría las neumonías subclínicas; los macrófagos

también intervendrían en estos mecanismos de defensa. Otros factores que ayudan al huésped son el Sistema de Complemento y los Leucocitos Polinorfonucleares.

En individuos inmunocompetentes la respuesta celular y humoral es requerida para una adecuada defensa del hospedero contra *P. carinii*, como actúan estos mecanismos todavía no está totalmente establecido. El cultivo in vitro así como también mayor información sobre el comportamiento in vivo del hospedero debe permitir en un futuro un mejor conocimiento sobre la biología de este organismo tan controversial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Felegie T.P.; Pasculle A.W.; Dekker A. Recognition of *Pneumocystis carinii* by Gram stain in impression smears of lung tissue. *J Clin Micro* 20 (6):1190-1191, 1984.
2. Graves D.C. Immunological studies of *Pneumocystis carinii*. *J. Protozool.*, 36(1):60-69, 1989.
3. Lunogren B.; Kovacs J.A.; Nelson N.N.; Stock F.; Martínez A.; Gill V.J. *Pneumocystis carinii* and *Esperific fungi* have a common epitope, identified by monoclonal antibody. *J Clin Micro* 30(2):391-395, 1992.
4. Stratton N.; Hryniewicki J.; Aarnaes S.L.; Tan g.; de la Maza L.M.; Peterson E.M. Comparison of Monoclonal antibody and calcofluor white stain for the detection of *Pneumocystis carinii* from respiratory specimens. *J Clin Micro* 29(3): 645-647, 1991.
5. Thomson R.B.; Smith T.S. Acridine orange staining of *Pneumocystis carinii* *J Clin Micro* 16 (1):191-192, 1982.6. Waldron M.A.; Fislunan J.A.. *Pneumocystis carinii*: Advances in diagnosis. *Clin Micro. Newsletter.* 14(21):161-168, 1992.
7. Walter P.D. Symposium: Historical perspectives on *Pneumocystis carinii*. *J. Protozool.* 36(1):39-41, 1989.
8. Yoshida Y. Ultrastructural studies of *Pneumocystis carinii*. *J. Protozool.* 36(1):53-60, 1989.