

S3
2es



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

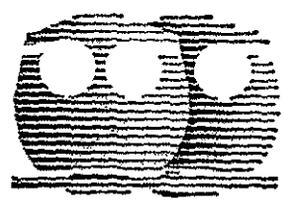
INFECCIONES POR

Pneumocystis carinii

TRABAJO MONOGRAFICO
DE ACTUALIZACION

Que para obtener el título de:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLÓGICA
p r e s e n t a
ALINA ORTIZ GUILLEN

L



México, D. F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

270549



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

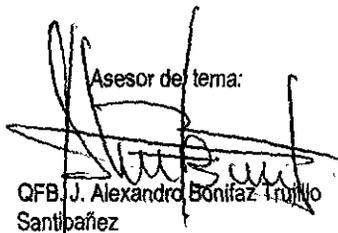
Jurado Asignado:

Presidente:	Prof. Abel Gutiérrez Ramos.
Vocal:	Prof. José Alejandro Bonifaz Trujillo.
Secretario:	Prof. Misael González Ibarra.
1er. Suplente:	Prof. Eduardo Bonilla Espinosa.
2º. Suplente:	Prof. Luciano Hernández Gómez.

Sitio donde se desarrolló el tema:

- Biblioteca de la Facultad de Química, UNAM.
- Hemerobiblioteca "José Joaquín Izquierdo". Facultad de Medicina, UNAM.
- Biblioteca "Valentín Gómez Farías". Facultad de Medicina, UNAM.
- Biblioteca del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Biblioteca del CINVESTAV del IPN.
- Biblioteca de la Torre de Investigación del Instituto Nacional de Pediatría.
- Biblioteca del Servicio de Dermatología del Hospital General de México, SSA.

Asesor de tema:


QFB. J. Alejandro Bonifaz Trujillo
Santibañez

Supervisor técnico


QFB. Javier Araiza

Sustentante


Alina Ortiz Guillén

A mis padres
... gracias.

A mis padres

Quienes con su apoyo y confianza,
han llenado mi vida y con su ejemplo
han motivado el logro de esta primera meta,
pero sobretodo, gracias por su gran amor.

A mis hermanos

Gracias por brindarme su apoyo y comprensión
a lo largo de toda mi carrera.

A Alejandro Bonifaz

Por haber puesto su confianza en mí para la
realización de esta investigación y por su contribución
en mi formación profesional.

Pero sobre todo, gracias a Dios
por permitirme la vida, y con ella mi
realización humana y profesional.

INDICE

Introducción	1
Objetivos	3
Definición	4
Antecedentes históricos	4
Aspectos epidemiológicos	6
Distribución geográfica	8
Hábitat y fuente de infección	8
Vía de entrada	9
Ocupación	10
Sexo y edad	10
Factores predisponentes	11
Patogenia	14
Agente etiológico y clasificación taxonómica	22
Aspectos clínicos	33
Neumonía por <i>Pneumocystis carinii</i>	33
Infecciones extrapulmonares	34
Infecciones óticas en pacientes con SIDA	38
Infecciones oftálmicas en pacientes con SIDA	39
Infecciones en el sistema nervioso central en pacientes con SIDA	40
Diagnóstico diferencial	41

Diagnóstico de laboratorio	44
Datos radiográficos	44
Toma de muestra y material utilizado para la detección de <i>P. carinii</i>	45
Espudo, lavado broncoalveolar y biopsia transbronquial	45
Biopsia pulmonar abierta	47
Tinciones y métodos de detección	49
Cultivos celulares	54
Pruebas inmunológicas	55
Tratamiento	56
Profilaxis	60
Riesgos de la profilaxis	63
Conclusiones	67
Bibliografía	68

INTRODUCCION

El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica de la neumocistosis, enfermedad causada por *Pneumocystis carinii*, para proporcionar información accesible y sencilla que permita ser un punto de referencia o de consulta para el diagnóstico y tratamiento de la misma, así como información sobre este microorganismo.

Pneumocystis carinii fue identificado por primera vez a principios de 1900, pero no fue reconocido como origen de enfermedad sino hasta después de la Segunda Guerra Mundial, cuando se encontró que era el causante de "neumonía de células plasmáticas intersticiales" en infantes prematuros o niños malnutridos que vivían en un orfanato. Después de un período de tres décadas, el interés en este microorganismo resurgió cuando se identificó como agente etiológico de neumonía en un grupo de pacientes, que tenían en común una depresión en el sistema inmune; en contraste a la inmunosupresión inducida por malnutrición o por enfermedad como sucedió en épocas pasadas, esta inmunocompetencia era debida a terapias designadas para tratar el cáncer o para prevenir el rechazo de injertos. Un interés mayor surgió cuando se reportaron en la década de 1980, un alarmante número de casos de neumonía por este microorganismo en individuos con inmunosupresión que después fue identificada como SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida). La neumonía por *P. carinii* fue observada con frecuencia en este tipo de pacientes y se convirtió en la causa primaria de morbilidad y mortalidad en ellos. Actualmente se observan, neumocistosis extrapulmonar con mayor frecuencia.

Por el interés de conocer un poco más a este microorganismo, se han hecho esfuerzos en la investigación para entender el ciclo de vida de éste, la patología de la infección y el desarrollo de

terapias efectivas y recientemente se han logrado progresos en algunas áreas, sin embargo, la imposibilidad de tener cultivos "*in vitro*", ha retrasado las investigaciones.

Uno de los más importantes resultados en las investigaciones de los años recientes, fue el conocimiento y reclasificación de *Pneumocystis carinii*, como un organismo más cercanamente relacionado con los hongos que con los protozoarios y establecer la posición adecuada podría proporcionar datos importantes para esclarecer algunos de los problemas desconcertantes que plantea el microorganismo, como su incapacidad para desarrollarse en cultivos "*in vitro*", aunque su posición tiene poca relevancia clínica; sin embargo, como las enfermedades pulmonares son comunes en los pacientes inmunosuprimidos, es necesario poner especial énfasis en el diagnóstico de laboratorio, las propiedades tintoriales del microorganismo en las citologías y muestras de interés, para poder proporcionar un diagnóstico adecuado.

Consideramos que la neumocistosis es una enfermedad actual y de un futuro inmediato, por lo que este tipo de revisiones nos permite tener información reciente y accesible.

OBJETIVOS

1. Realizar una revisión bibliográfica de las infecciones por *Pneumocystis carinii* en los últimos ocho años en diferentes revistas científicas, para la actualización del tema.
2. Sintetizar esta información, para tener una fuente bibliográfica sencilla para la consulta de los aspectos clínicos, clasificación taxonómica, diagnóstico de laboratorio y terapia para la neumonía por las diferentes variedades clínicas de neumocistosis.

INFECCIONES POR *Pneumocystis carinii*

DEFINICION

La neumonía por *Pneumocystis carinii* es una infección oportunista, anteriormente clasificada como parasitosis y en la actualidad como micosis profunda, que afecta a pacientes con una dañada inmunidad mediada por células como resultado de los siguientes procesos y enfermedades: inmunosupresión por trasplantes, cáncer y sobre todo asociada a la infección del virus de inmunodeficiencia humana (SIDA).^{1,2}

ANTECEDENTES HISTORICOS

En 1909, durante la investigación de la etiología de una nueva enfermedad que afectaba a trabajadores del ferrocarril en Brasil, Chagas identificó por primera vez el *Pneumocystis carinii*, describiéndolo como un peculiar quiste en los pulmones de cobayos infectados por *Trypanosoma cruzi*; él mismo propuso que estos microorganismos eran esquizontes pertenecientes al ciclo de vida de un protozooario, por lo que redefinieron el género como *Schizotrypanum*.

En el siguiente año, Carini publicó descripciones similares de un quiste en los pulmones de ratas infectadas con *Trypanosoma lewisi*; su trabajo e investigaciones adicionales proveen evidencias para apoyar la teoría de que el esquizonte era una forma en el ciclo de vida de *Trypanosoma*.

El quiste permaneció erróneamente clasificado como *Trypanosoma* hasta 1912, año en el cual, los esposos Delanões, revisaron preparados histológicos hechos por Carini y también algunos documentos; también realizaron una investigación hecha en ratas parisinas de alcantarilla infectadas, elucidando que este quiste tan peculiar era un microorganismo que no tenía relación con el *Trypanosoma*, por lo que llamaron a este nuevo organismo *Pneumocystis carinii*.

Después de este descubrimiento, Chagas y Carini retractaron su original conclusión y además aportaron información que sustentaba la investigación hecha por los esposos franceses.³

Chagas en 1911 describió la presencia de *P. carinii* en tejido pulmonar, aunque en un principio consideró que el microorganismo producía enfermedad en el ser humano, no fue sino hasta principios de la década de 1950 cuando se describió la enfermedad clínica. Los primeros informes sobre este trastorno como causa de lo que entonces se conocía como "neumonía de células plasmáticas intersticiales", se originaron en Europa central y era un padecimiento descrito en lactantes prematuros o debilitados de seis semanas a cuatro meses de edad; sin embargo, los investigadores norteamericanos en un inicio no aceptaron que el agente causal de la enfermedad fuera *P. carinii*. Casi todos los primeros pacientes notificados fueron lactantes, pero después se diagnosticó neumonía por dicho microorganismo en niños mayores y adultos. Cada paciente con la enfermedad tenía un estado reconocido de alteración en la capacidad de respuesta del huésped, lo cual dio lugar a la clasificación del microorganismo como un clásico oportunista.

Entre 1955 y 1967, se notificaron 130 casos en la literatura norteamericana, con pocas excepciones, hasta 1981, esta enfermedad continuó como una infección oportunista esporádica, que afectaba sobre todo a personas con tumores malignos hematológicos o linforreticulares, o que recibían tratamiento inmunosupresor.

A partir de 1981, se reportó un incremento en la incidencia de PPC (pneumonía por *P. carinii*) en pacientes enfermos previamente, que más tarde se llegó a conocer como síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).⁴

ASPECTOS EPIDEMIOLOGICOS

Después de la segunda guerra mundial, que dio lugar a escasez de alimentos y como consecuencia una desnutrición en los lactantes en Europa, provocó una epidemia de *P. carinii* en orfanatorios, la cual se abatió a finales de la década de 1950. El patrón que se observó después, consistió en casos esporádicos que se presentaron en sujetos con estados de inmunodeficiencia congénita o adquirida.³

Entre 1960 y 1970 se notificó un creciente grupo de casos de niños con leucemia linfática aguda y con tumores malignos linforreticulares. Investigaciones hechas concluyeron que estos grupos eran el resultado del uso más frecuente de quimioterapias intensivas, lo cual es consistente con la idea que el mecanismo patogénico fundamental en el desarrollo de PPC es la reactivación de una infección latente.⁵

En la década de 1980, la epidemiología se modificó en forma drástica al reconocer su presentación frecuente en individuos que padecían SIDA. Desde que los datos que describían la frecuencia de SIDA comenzaron a recolectarse y a notificarse, la neumonía por *P. carinii* de manera constante ha sido el

*diagnóstico índice más frecuente.*⁴ Al inicio de la epidemia, era la enfermedad con la cual iniciaba hasta el 60% de los casos y se consideraba que en algún momento de su evolución, el 80% de ellos la iba a padecer.

En México, el porcentaje que se informa de PPC en los pacientes con SIDA es menor con respecto a lo referido en otros países. El Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos de México (INDRE) informó 844 casos de PPC en 6914 pacientes con SIDA hasta el 31 de diciembre de 1991, equivalente al 12.2%. En una revisión de 5 años de la epidemia de SIDA en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán se informa 22% de PPC en los pacientes atendidos en esta institución, mientras que en el Hospital de Infectología del Centro Médico la Raza del IMSS, la incidencia varía del 13 al 51%. En una revisión de 177 autopsias de pacientes con SIDA en el valle de México, se encontró *P. carinii* en el 24% de los casos.⁶

Por otro lado, en dos trabajos internacionales⁷ efectuados en varias regiones geográficas, incluyendo México, se encontraron que alrededor del 73% de individuos VIH positivos presentaron anticuerpos contra *P. carinii*, determinados éstos por medio de inmunoelectrotransferencia. Esto indica que probablemente la exposición a *P. carinii* en mexicanos es similar al de otras partes del mundo; sin embargo, una de las posibles explicaciones para la baja frecuencia de PPC informada en México es la dificultad para identificar al microorganismo, lo que es imprescindible para establecer el diagnóstico específico de la enfermedad.

Los principales factores epidemiológicos, se describen a continuación:

DISTRIBUCION GEOGRÁFICA

La neumonía por *P. carinii* es una enfermedad cosmopolita, se ha reportado prácticamente en todos los continentes, sin embargo sobresalen: Estados Unidos, Canadá y Chile (en el continente Americano), Europa central y Sudáfrica.^{5,6,8}

Para esta enfermedad no se conoce una zona endémica bien delimitada, sin embargo, hay ejemplos de grupos ubicados geográficamente, que se encuentran localizados en zonas determinadas, esto probablemente indica que están más en contacto con el microorganismo.⁵

HABITAT Y FUENTE DE INFECCION

Recientemente se ha informado sobre la presencia de *P. carinii* en aire obtenido tanto de áreas urbanas como en rurales, mediante detección de DNA de este microorganismo por PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), usando sondas específicas para los genes que codifican la subunidad 26S del RNA ribosomal mitocondrial.⁹

Por otro lado, Casanova-Cardiel y colaboradores demostraron la presencia de DNA de *P. carinii* en agua proveniente de una laguna en un suburbio de New Jersey.¹⁰

VIA DE ENTRADA

En infecciones experimentales se ha demostrado que la ruta de infección primaria por *P. carinii* es pulmonar, y se supone que lo mismo sucede para humanos; esto hace sugerir que *P. carinii* se encuentra en material microscópico en el aire; sin embargo, aún no se ha determinado como reside en el ambiente y como entra en contacto con los individuos; pero la hipótesis mencionada anteriormente es apoyada por los siguientes informes:

La primera descripción de neumonía por *Pneumocystis carinii* como "neumonía de células plasmáticas intersticiales" en niños de guarderías y orfanatos de Europa posterior a la segunda guerra mundial, sugiere una propagación de esta enfermedad entre niños en estas instituciones.³ Otro "brote" fue observado en pacientes trasplantados o niños leucémicos que recibieron quimioterapia en EUA. En hospitales, se ha observado también en pacientes nefróticas que se atendieron en los mismos sitios donde recibieron atención pacientes con SIDA.⁵

La transmisión de *P. carinii* a través del aire también fue reportada Vogel y cols.¹¹ en ratones y monos rhesus, los cuales estaban infectados con el virus de inmunodeficiencia de simios (SIV) y que se encontraban en cuartos que compartían ventilación.

Bartlett et al.¹² desarrollaron un método para detectar *P. carinii* en muestras de aire; el cual consistía en filtrar un volumen conocido de aire y después amplificar el ácido nucleico de *P. carinii* presente en el aire por medio de la reacción en cadena de la polimerasa y secuenciar los productos resultantes. Los resultados de este estudio demuestran que *P. carinii* puede ser detectado en el aire de cuartos donde

se encuentran ratas infectadas, o pacientes infectados y que la cantidad de aire puede afectar la recuperación de DNA de *P. carinii*.

Cabe señalar, que otra vía de entrada de *P. carinii* es la oral, ya que se ha demostrado su presencia en agua proveniente de una laguna en New Jersey,¹⁰ pero se desconoce que el padecimiento pueda iniciar a partir de esta vía.

OCUPACIÓN

La neumonía por *P. carinii* no presenta una tendencia o mayor frecuencia hacia una ocupación especial, y tampoco se tiene datos en donde se compruebe, que la actividad laboral de una persona sea importante para el desarrollo de la enfermedad.

SEXO Y EDAD

Con respecto al sexo, la neumonía por *P. carinii* se ha reportado tanto en hombres como en mujeres, sin datos o estudios que indiquen si existe alguna influencia del sexo para que se desarrolle la enfermedad.

Respecto a la edad, se ha reportado casos de PPC en lactantes, niños y adultos de todas las edades y no existen estudios más profundos que expliquen la incidencia, en las diferentes etapas de la vida, más bien están relacionados con sus factores predisponentes.⁵

En un estudio hecho por Genner y Settnes¹³ en pulmones obtenidos de autopsias para detectar PPC en los años de 1980-1983 en dos hospitales de Copenhague, mostraron que de 63 casos observados de PCP, 24 individuos eran hombres que tenían entre 54 y 57 años y, 39 mujeres las cuales fluctuaban entre 46 y 65 años de edad. El promedio de edad entre hombres y mujeres fue de 55 años.

FACTORES PRESISPONENTES

PPC es la infección oportunista más común entre individuos infectados por el virus de inmunodeficiencia adquirida. El 80% o más de los pacientes con SIDA no reciben profilaxis anti-PPC, por lo que desarrollarán PPC.¹⁴

Recientes avances en el manejo de PPC en pacientes con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), tienen como resultado una significativa reducción en la morbilidad y mortalidad asociada con esta enfermedad. Uno de los más importantes avances ha sido el reconocimiento que PPC puede ser prevenido en más pacientes que tienen el riesgo de desarrollar la enfermedad, mediante la administración oral de trimetoprim-sulfametoxazol o pentamidina en aerosol.

Las indicaciones para una profilaxis primaria (prevención de un primer episodio de PPC) ha sido claramente definida por un laboratorio. Estudios retrospectivos y prospectivos han mostrado que la cuenta de linfocitos CD4+ es un excelente predictor de riesgo para el desarrollo de PPC.

Estudios retrospectivos han dado a conocer que muchos pacientes han sido diagnosticados con PPC cuando la cuenta de sus linfocitos CD4+ es $<200 \text{ cel/mm}^3$. En una investigación de cuentas de CD4+, que se hizo entre los 60 días de diagnosticado PPC, la menor cuenta de CD4+ fue de 26 cel/mm^3 (rango, $1\text{-}365 \text{ cel/mm}^3$) y solamente 3 de 49 pacientes tuvieron cuentas de CD4+ mayores a 200 cel/mm^3 . De hecho, más pacientes (41 de 49) tuvieron cuentas de CD4+ menores a 100 cel/mm^3 .

En una investigación prospectiva y multicéntrica de SIDA, se estudiaron 1665 hombres, los cuales eran seropositivos para VIH y fueron observados durante 6 meses; estos hombres no recibieron profilaxis antineumocistis y muy pocos recibieron zidovudina. Alrededor de 1588 pacientes que tuvieron una cuenta de linfocitos CD4+ $>200 \text{ cel/mm}^3$, solamente uno de ellos desarrolló PPC en el transcurso de 6 meses. Específicamente, el riesgo de desarrollar PPC durante 6 meses fue de 0.5% para pacientes que tuvieron una cuenta de CD4+ de $201\text{-}350 \text{ cel/mm}^3$ y 0% para pacientes que tuvieron una cuenta de CD4+ $>350 \text{ cel/mm}^3$.

De pacientes que tuvieron una cuenta de CD4+ $<200 \text{ cel/mm}^3$, 8% desarrollaron PPC en los 6 meses de evaluación posterior y 18% desarrollaron PPC durante 1 año.

Estos estudios son la base para la recomendación de profilaxis primaria, esto es, cuando la cuenta de los linfocitos CD4+ de los pacientes decrece a $<200 \text{ cel/mm}^3$.¹⁵

Otro factor de riesgo importante se presenta en personas con tumores malignos hematológicos o linforreticulares que reciben tratamiento inmunosupresor. Estudios efectuados por Hughes y cols. en 1970 identificaron el grupo de alto riesgo para el desarrollo de neumonía por *P. carinii*: niños con leucemia linfocítica aguda y pacientes con enfermedad de Hodgkin, rhabdomyosarcoma, o síndrome de inmunodeficiencia combinada severa, los cuales tuvieron un promedio de ataque que excedía el 20% antes del uso sistemático de la profilaxis. También están reportados 10 casos de PPC en niños con leucemia linfocítica aguda en un período de 10 meses dentro de un hospital pediátrico.¹⁶ Asimismo, los pacientes con *P. carinii* y el personal del área de hematología/oncología, presentaron un alto grado de seropositividad al organismo que otros pacientes con leucemia linfocítica aguda, o el personal de otra área; sin embargo, un grupo de pacientes con PPC se localizó en el hospital de la ciudad de New York, que incluye cinco personas mayores de edad, los cuales tienen pocas anomalías inmunológicas demostrables.¹⁷

Entre los cánceres no hematológicos predisponentes a PPC se encuentran entre otros: carcinoma gastrointestinal, cáncer respiratorio superior, cáncer genital, mesotelioma pleural y fibrosarcoma pulmonar.¹³

Pacientes inmunosuprimidos por razones diferentes al SIDA, como lo son el trasplante de órganos, trasplante de médula ósea, terapias inmunosupresoras, uso de corticosteroides e infecciones crónicas tienen un alto riesgo de desarrollar PPC.¹⁹ La proporción de ataque de PPC para receptores de trasplantes se determinaron en 1980 e iban de 5 a 40%, dependiendo del órgano trasplantado; sin

embargo la neumonía por *P. carinii* sigue ocurriendo en grupos ajenos a éstos, con porcentajes altos de ataque debido al uso de agentes quimioterápicos o corticoides.

El desarrollo de fungemias en pacientes inmunosuprimidos es una realidad y existen informes acerca de la posibilidad de que estas infecciones sean adquiridas nosocomialmente. Además de que aumenta este riesgo el largo período de hospitalización que deben tener los pacientes con *P. carinii*.¹⁸

Los desórdenes inmunológicos también juegan un papel muy importante para el desarrollo de PPC, como ejemplos están la anemia hemolítica autoinmune, sarcoidosis, esclerodermia, etc.²⁰

También se han detectado una amplia gama de enfermedades como predisponentes a PPC entre las que se encuentran: cirrosis biliar, pancreatitis crónica, arteriosclerosis universal, mielofibrosis, apoplejía cerebral, meningitis purulenta, etc.¹³

PATOGENIA

La patogénesis de PPC se ha venido investigando desde hace varios años, y todavía los mecanismos básicos que permiten a *P. carinii* vivir y replicarse dentro de los espacios alveolares es poco conocido.²¹

Evidencia considerable aunque inferencial indica que la neumonía por *Pneumocystis carinii*, se debe a la exacerbación de la infección que se presentó en una etapa temprana de la vida y que probablemente se suprimió con facilidad por los mecanismos de defensa normales del hospedero.⁴ En los animales, sobre todo en ratas y ratones, la PPC se desarrolla a consecuencia de la administración de corticosteroides sin exposición evidente a fuentes exógenas de infección.²²

El principal punto a ser resuelto en la patogénesis de PPC, es el de los organismos latentes presentes en individuos enfermos. El modelo prevaleciente para la etiología de PPC en individuos adultos, sugiere que llegan a ser infectados en una edad temprana de su vida, y que los siguientes episodios de PPC son debidos a la reactivación de organismos latentes. Estudios en los que se han empleado diversos sistemas diferentes para la detección de antígeno y anticuerpo, han sugerido que la mayoría de los niños adquieren anticuerpos anti-*P. carinii* hacia los dos años de edad.²³ Esto ha llevado a la idea de que cuando se presenta neumonía en pacientes inmunosuprimidos, ésta es debida a reactivación de una infección asintomática adquirida durante la infancia.^{24,25}

La hipótesis de latencia está basada en muchas características de *P. carinii* y de PPC. Primero, datos sobre estudios en animales, han mostrado, que una vez adquirida, *P. carinii* puede ser transportado por animales sanos inmunocompetentes y que PPC puede ser provocada en animales semejantes por una supresión química de el sistema inmune.²⁶ Segundo, PPC ocurre en un pequeña parte de la población, sin embargo, la incidencia de la enfermedad puede ser alta en pacientes susceptibles, como son los pacientes con SIDA. De acuerdo a lo anterior, se sugiere un modelo de tres posibilidades:

1. *P. carinii* puede estar latente en casi todos los individuos,
2. *P. carinii* puede ser transportado de forma inaparente a otros pacientes
3. *P. carinii* puede ser un organismo de vida libre que puede ser un oportunista.

La hipótesis de latencia ganó apoyo, debido a que hubo una pequeña evidencia de que un amplio número de personas pueden actuar como transportadores de la enfermedad,²⁷⁻²⁹ y la incapacidad de *P. carinii* para crecer en medios de cultivo puede indicar, que no sea capaz de desarrollarse fuera de un hospedero mamífero. Un tercer factor que sugiere latencia es el hospedero específico de *P. carinii*, lo cual implica una coevolución de parásito y del mismo. Finalmente, llegó a ser claro que *P. carinii* posee un complejo sistema, que permite una alta frecuencia de variación de antígenos superficiales,^{30,31} lo cual es consistente con la idea que el organismo es designado a vivir por largos períodos en un hospedero inmunocompetente.

La hipótesis de que la neumonía por *P. carinii* es una recrudescencia de una infección latente, es contrarrestable por la rareza con la que se han encontrado los microorganismos en la necropsia de los pulmones de personas que mueren por estados no inmunosupresivos.⁴ Recientemente se ha tratado de detectar *P. carinii* en individuos sanos, utilizando la técnica de PCR; se ha detectado DNA de éste en tejidos de sujetos inmunocomprometidos, pero no pudo ser perceptible en tejido de sujetos sanos.³² Estos datos sugieren que *P. carinii* puede colonizar individuos que tienen su función inmune dañada, pero no puede colonizar a la gran mayoría de individuos sanos por un período largo de tiempo; sin embargo, el no haberse detectado microorganismos en individuos sanos no significa que no pueda estar presente en niveles muy bajos.

Hasta la fecha no se comprenden bien las anomalías específicas de las defensas del receptor que predisponen a la neumonía por *P. carinii*, sin embargo, al parecer los principales factores que intervienen son defectos en la inmunidad celular. Las ratas tratadas con corticosteroides son el modelo experimental en el cual se ha estudiado con mayor frecuencia la PPC sin embargo, en virtud de que estos medicamentos tienen múltiples efectos sobre las defensas del receptor además de deprimir la inmunidad celular, no ha sido posible determinar con precisión los componentes más importantes afectados. Con anticuerpos monoclonales contra receptores L3 y L4 (CD4) murinos, Shellito y col.³³ produjeron un modelo de neumonía por *P. carinii* en ratón, en el cual el único defecto radica en los linfocitos T ayudadores; esto indica que la disminución de estas células es con mucho el factor más importante que predispone a la infección por este microorganismo en la enfermedad con VIH.

Algunos estudios en los que se emplearon macrófagos de ratas, sugieren que son necesarios tanto el anticuerpo anti-*Pneumocystis* específico, como la función intacta del macrófago para que se ingiera y se destruya éste.³⁴ Los estados clínicos a los cuales se asocia con mayor frecuencia PPC, son aquellos en los que hay un predominio en la afección de los linfocitos T y en la expresión de la inmunidad celular. Sin embargo, los informes sobre PPC en los niños con agammaglobulinemia congénita o hipogammaglobulinemia sugieren la intervención de anticuerpos humorales.³⁵

Un aspecto importante de la historia natural de la infección con VIH, es la baja progresiva de los linfocitos CD4⁺³⁶; debido a que *P. carinii* no es un microorganismo en especial virulento, debe haber una inmunosupresión grave, sobretodo con reducción de linfocitos CD4⁺, para que éste ocasione la enfermedad. Masur ³⁷ y cols. examinaron las cuentas de linfocitos CD4⁺ en la circulación de pacientes infectados con VIH y relacionaron enfermedades diagnosticadas, en el tiempo en que se realizaron los recuentos. Los pacientes que se encontraron con neumonía por *P. carinii* tuvieron un recuento medio

de células CD4+ de 26/mm³ con un rango de 12 a 62.5/mm³. Sólo en dos de 46 episodios de esta neumonía, el número de células CD4+ fue mayor de 200/mm³.

La infección por VIH, además de producir disminución de los linfocitos CD4+, origina defectos en la célula B, que ocasionan anomalías en la producción de anticuerpos en circulación y cambia la función de los macrófagos alveolares; la función de éstos es alterada tanto por la infección viral directa de las células, como por una reducción en las citocinas activadoras de macrófagos, a causa de la baja del linfocito CD4+; por consiguiente, los pacientes con infección VIH avanzada, tienen considerables reducciones en todos los aspectos de las defensas del receptor, que se consideran necesarios para la supresión continua de *P. carinii*, y facilitan las condiciones necesarias para el surgimiento del microorganismo como causa de enfermedad pulmonar.

Existen interesantes aspectos sobre *P. carinii* que son conocidos, como el ser un parásito extracelular obligado y que aparece ligado a las células epiteliales alveolares Tipo I;³⁸ *P. carinii* permanece en la superficie del epitelio alveolar mediante un proceso que permite por oposición cerrar su membrana con la membrana de la célula Tipo I. Conceptos actuales sugieren que este proceso de reconocimiento y unión, puede ser mediado por proteínas adhesivas tales como la fibronectina o la vitronectina³⁹ y por ligandos manosa-dependientes.⁴⁰ *P. carinii* muestra glicoproteínas de superficie conocidas como gp116, las cuales parecen ser buenas candidatas para actuar como "proteínas de unión".³⁹ La función de gp116 puede ser crítica para el entendimiento de la neumonía por *P. carinii*. Al parecer, éste ataca primero al epitelio alveolar para el desarrollo de la infección. Si se puede interrumpir este proceso de ataque, puede surgir una nueva estrategia terapéutica para prevenir el desarrollo de la infección.

Los mecanismos de unión no siempre son benéficos para los microorganismos de *P. carinii*. Los macrófagos alveolares probablemente representan el mecanismo de defensa primario contra éstos en los espacios alveolares, los macrófagos pueden fagocitar y destruir a los microorganismos; la unión de *P. carinii* a la superficie de los macrófagos alveolares parece ser que está mediada por proteínas adhesivas (fibronectina y vitronectina), mecanismos manosa-dependientes, receptores FC y probablemente componentes del complemento. Una vez que los microorganismos han sido fagocitados por los macrófagos alveolares son destruidos por radicales de oxígeno e intermediarios reactivos de nitrógeno derivados de los macrófagos.²¹

En el siguiente diagrama se ejemplifica el sistema defensivo primario contra *Pneumocystis carinii*.

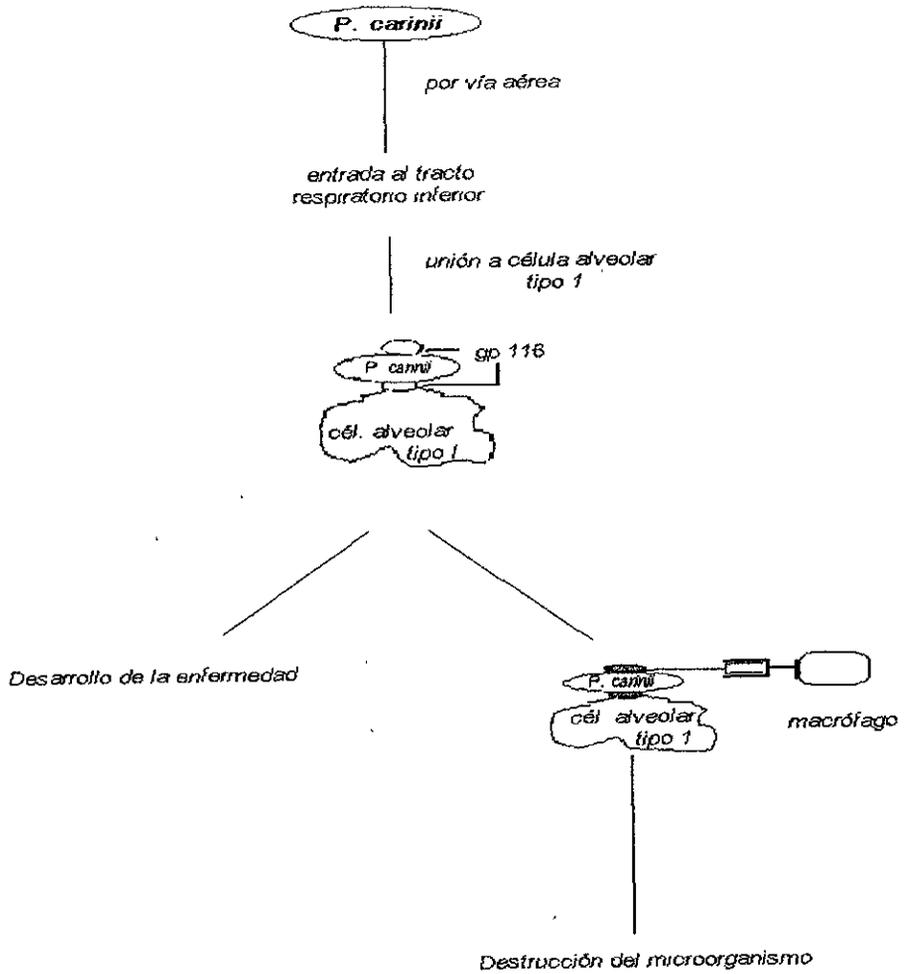


Figura 1. Sistema defensivo primario contra *P. carinii*

Además de la afección al pulmón, pueden ocurrir otros tipos de neumocistosis. Estas infecciones tienen una rara ocurrencia; sin embargo, el número de casos se ha incrementado en los últimos 5 años. Las infecciones extrapulmonares han sido encontradas principalmente en pacientes con SIDA.

Los mecanismos por los cuales se lleva a cabo la neumocistosis extrapulmonar todavía son confusos, pero es posible que estas infecciones provengan a partir de la infección primaria pulmonar de *P. carinii*, es decir, la reactivación de reservorios preexistentes (infección endógena indolente o colonización de niños y adultos sanos) o la diseminación de estos microorganismos a partir del pulmón por medio de la vía hematológica y/o linfática⁴¹

Denis et al.⁴² realizaron una investigación en ratas a las cuales se les administró un tratamiento inmunosupresor (prednisona, dexametasona) por 9-12 semanas y después se les puso en contacto con ratas infectadas con *P. carinii* durante 15-20 días y por último, después de 3 meses se les sacrificó. Los resultados que arrojó este experimento fueron los siguientes: *P. carinii* fue encontrado en pulmón, corazón, hígado, bazo y riñones; esto sugiere, que las infecciones extrapulmonares son muy frecuentes en animales de laboratorio; pero la frecuencia en humanos aún no puede ser estimada, esto debido al hecho de que muchas de las localizaciones de estas infecciones son asintomáticas y los métodos de diagnóstico no son muy sensibles. Este hecho es de suma importancia, debido a que puede extrapolarse con los pacientes, es decir, que un caso severamente inmunosuprimido (VIH) sin enfermedad activa, que tenga contacto con otro francamente activo puede generar PPC pulmonar o extrapulmonar. El establecimiento de las infecciones extrapulmonares son desconocidas, sin embargo, evidencia patológica sugiere que éstas ocurren por diseminación de los microorganismos por vía hematológica y/o linfática a partir del pulmón infectado. Los microorganismos de *P. carinii* se han localizado en vasos y capilares del pulmón y en nudos linfáticos. Muchos reportes de infecciones extrapulmonares sugieren que los microorganismos de *P. carinii* primero entran al pulmón, pero tienen

una gran dificultad para migrar desde los espacios alveolares.^{43,44} Estudios que se han hecho después de un tratamiento exitoso de un episodio de *P. carinii*, han demostrado una persistencia de éste en forma de quistes y trofozoitos en lavados broncoalveolares y en biopsias de pulmón. La reaparición de *P. carinii* está asociada con una declinación progresiva en la función pulmonar y esta propuesta representa la reactivación de una infección subclínica. Muchos pacientes con enfermedades extrapulmonares se les han encontrado microorganismos en las vías linfática y hematógena, por lo que se ha postulado que *P. carinii* tiene acceso a estas rutas solamente después de una suficiente destrucción del tejido por otras infecciones relacionadas con HIV y otras lesiones.

AGENTE ETIOLÓGICO Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

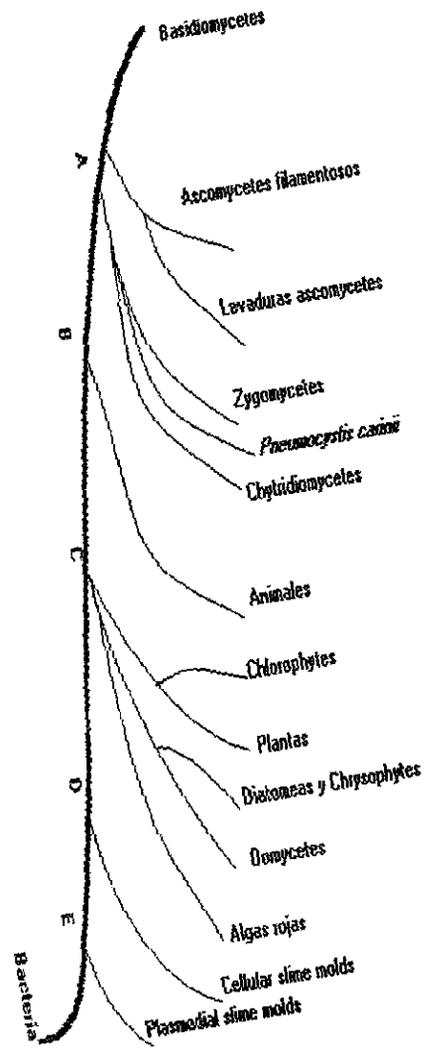
Ha persistido la confusión con respecto a la taxonomía de *P. carinii* que comenzó con su identificación inicial por Chagas como *Trypanosoma*. Aunque se conoce bastante sobre las características de *P. carinii*, los investigadores se han visto imposibilitados por la incapacidad de cultivar el microorganismo *in vitro*, en medios libres de células y mantener los cultivos en líneas celulares.⁴ Algunos investigadores han sugerido que *P. carinii* es un protozooario, mientras otros lo han clasificado como un hongo, sin embargo, a nivel celular y como organismo tiene características tanto de protozooario como de hongo. Investigadores han identificado algunas características de *P. carinii* similares a las de los protozoarios

como son: la apariencia ameboidiana de las pequeñas formas de este microorganismo; la presencia de filopodia y la fina estructura de la mitocondria y pared/membrana celular.⁴⁵

Otras evidencias que sustentan que **no** es un hongo, es la ausencia de crecimiento de este microorganismo en medios de cultivo para hongos y la aparente carencia de ergosterol en sus membranas; sin embargo hay hongos como *Rhinosporidium seeberi* y *Loboia lobo* que tampoco se han obtenido cultivados in vitro.⁴⁶, por último, se menciona la insensibilidad de *P. carinii* a la anfotericina B. De cualquier manera, ni la falta de crecimiento en cultivos axénicos, ni su insensibilidad a la anfotericina B son motivos para no conciliar a este microorganismo con una clasificación fúngica, esto debido a que algunos hongos son delicados en sus requerimientos para poder crecer⁴⁷ y algunos otros pueden adquirir resistencia a la anfotericina B a través de mutaciones que afectan al paso hacia la síntesis de ergosterol.

Entre las características que encierran a *P. carinii* dentro de los hongos, destacan la similitud entre el estado esporogénico y la probable formación de ascosporas, la escasez de organelos, el pobre desarrollo mitocondrial y la carencia de organelos invasivos. Estudios recientes sobre su ultraestructura han mostrado que la mitocondria tiene laminillas, la cual es consistente con la morfología fúngica⁴⁷, ya que los protozoarios la tienen en forma tubular. Las características de superficie de *P. carinii* también son similares a la de los hongos. El análisis de la secuencia de nucleóticos del rRNA pequeño y largo, muestra que *P. carinii* se desarrolla dentro del nudo A.⁴⁸

Figura 2. Arbol filogenético construido en base del rRNA 18S nuclear.



La designación fúngica de *P. carinii* en base a la secuencia de las subunidades de rRNA pequeño y grande fue corroborado por criterios moleculares. Por ejemplo, análisis comparativos de la secuencia de DNA mitocondrial de *P. carinii*, con algunas secuencias de hongos y protozoarios conocidos, revelaron una mayor similitud a los hongos (60%) que a los protozoarios (20%).⁴⁹ También se encontró que tenía el factor 3 de translación elongación (EF-3), que se considera como un marcador molecular específico de los hongos; esta secuencia de EF-3 resultó ser muy similar (57% de identidad en la secuencia de aminoácidos) a la de *Saccharomyces cerevisiae*.⁵⁰

Otro marcador genético molecular, que demuestra que *P. carinii* es más bien un hongo que un protozoario es su secuencia de genes altamente homólogos de la timidilato sintetasa y dihidrofolato reductasa (DHFR) con la de los hongos; esta secuencia fue observada en dos diferentes genes, localizados en dos diferentes cromosomas, como es el caso de *S. cerevisiae*, *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*; por el contrario en los protozoarios las secuencias que codifican a TS-DHFR están presentes en un solo gen.⁵¹ Pero por otro lado el análisis filogenético de el gen rRNA 5S, mostró una asociación de *P. carinii* con el grupo *Rhizopoda/Myxomycetes/Zygomycetes*, lo cual indica que este microorganismo está en el borde entre protozoario y hongo.

Por todas las razones anteriores, no se ha llegado a un acuerdo general sobre la clasificación taxonómica de *Pneumocystis carinii*, hasta que se hagan estudios que provean más información acerca de su ciclo de vida, división nuclear, química de su pared celular y la ruta de biosíntesis de lisina, así como las características ultraestructurales de sus componentes celulares, como lo es el complejo de Golgi. La carencia de un sistema de cultivo *in vitro* continuo, es el mejor obstáculo para el estudio exhaustivo de este microorganismo y para llegar a una conclusión sobre su taxonomía. Mientras tanto, la evidencia hasta ahora montada es que *P. carinii* tiene una relación filogenética más cercana a los hongos que a los protozoarios, o bien se puede considerar un microorganismo de transición.

Tabla 1. Principales características de *P. carinii*, que lo clasifican como hongo y las que comparte con los protozoarios.

Características de parásito	Características de hongo
1. Apariencia ameboidiana.	1. Similitud entre el estado esporogénico y la posible formación de ascosporas.
2. Presencia de filopodia.	2. Escasez de organelos.
3. Estructura de mitocondria y de la pared celular	3. Carencia de organelos invasivos.
4. Ausencia de crecimiento en medios de cultivos "in vitro" para hongos.	4. Presencia de laminillas en la mitocondria.
5. Carencia de ergosterol en la membrana.	5. Similitud en el DNA mitocondrial.
	6. Presencia del Factor 3 de translación elongación.
	7. Similitud en la secuencia de genes de la timidilato sintetasa y dihidrofolato reductasa.
	8. Similitud en la secuencia de β -tubulina.

Lundgren y cols.⁵² evaluaron la reactividad de anticuerpos monoclonales contra *P. carinii*; con una variedad de hongos; dos de estos anticuerpos monoclonales fueron provenientes del humano (Mabs 2G2 y 6B8) y un tercero fue derivado de *P. carinii* de rata (Mab 7D7). En este estudio 52 hongos y 6 protozoarios fueron evaluados por inmunofluorescencia. Los estudios demostraron que el Mab 7D7 reaccionó con 15 hongos pero con ningún protozoario, además que fue el único que reaccionó tanto con *P. carinii* proveniente de humanos como de ratas, sugiriendo que el antígeno identificado por este

microorganismo también puede infectar animales que son genéticamente inmunodeficientes, como lo es una inmunodeficiencia severa combinada (SCID) en ratones.

Diferencias estructurales en los niveles de proteínas de diferentes especies de hospederos, han sido demostrados por inmunotransferencia con anticuerpos monoclonales y por separación electroforética de isoenzimas.⁵⁴⁻⁵⁶ Las diferencias fenotípicas entre *Pneumocystis carinii* para diferentes especies de hospederos son los siguientes:

Tabla 2. Principales diferencias fenotípicas para los diferentes hospederos de *P. carinii*.

Diferencias estructurales	Diferencias funcionales
Muchas proteínas antigénicas no son iguales entre <i>P. carinii</i> para diferentes especies de hospederos.	<i>P. carinii</i> de un hospedero específico no crecerá si se inyecta dentro del pulmón de un diferente hospedero.
Los antígenos que son similares típicamente difieren electroforéticamente.	
Las isoenzimas difieren electroforéticamente.	

De tal forma, que una diferencia funcional fundamental parece clara: *P. carinii* de un hospedero específico es capaz de causar neumocistosis únicamente en éste. Muchos experimentos bien controlados han mostrado que microorganismos de *P. carinii* aislados de una especie de hospedero y después de haberlos inyectados en otra no pueden crecer dentro de su sistema respiratorio; los resultados muestran una de dos cosas, que un hospedero específico es estricto, o que los millones de microorganismos al ser inyectados dentro del sistema respiratorio son incapaces de transferirse a

través de diferentes especies; sin embargo, la especificidad de un receptor estricto de *P. carinii* no es universalmente aceptada. Estudios recientes muestran que cuando un nido de ratones son expuestos al aire de ratas con PPC, algunos muestran bajos niveles de infección; esta observación sugiere que los microorganismos de las ratas pueden colonizar a los ratones, pero no les provoca enfermedad. Reportes recientes indican que DNA de *P. carinii* ha aparecido en muestras de humanos, y por lo tanto este fenómeno sugiere que pueden ser infectados por el contacto con las ratas.⁵

Bartlett y cols.² realizaron un trabajo recientemente, orientado en una nueva propuesta taxonómica, fundamentada en que existen diferentes tipos de *P. carinii*, basados en las divergencias genéticas, que no llegan a determinar una nueva variedad, por lo que simplemente sugieren que son "formas" distintas. Por ejemplo;

P. carinii + sp f ("special form") + fuente de origen (*hominis*, *rattus*, *muris*, etc). Esta clasificación incluye los dos tipos de *P. carinii* encontrados en ratas y llamados como prototipo y variante o Pc1 y Pc2.

Tabla 3. Nomenclatura trinomial para *P. carinii*.

Organismo	Nombre
rata prototipo	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>carinii</i>
rata variante	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>rattus</i>
humano	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>hominis</i>
hurón	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>mustelae</i>
ratón	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>muris</i>

caballo	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>equi</i>
cerdo	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>suis</i>
conejo	<i>P. carinii</i> sp. f. <i>oryctolagi</i>

sp. f. se refiere a "special form".

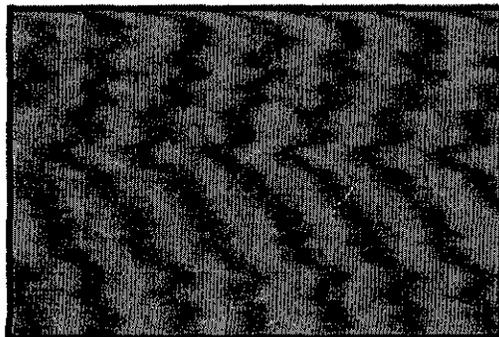
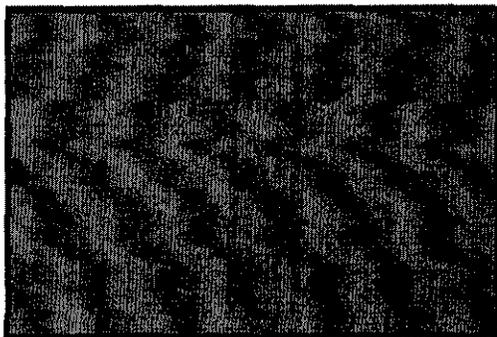
Estudios morfológicos sugieren que *P. carinii* tiene un ciclo de vida que comprende tres formas de desarrollo:

1. Quistes, que son formas esféricas o semilunares de 5 a 8 μm de diámetro;
2. Esporozoitos o cuerpos intraquisticos que sólo se encuentran dentro del quiste
3. Trofozoititos, que sólo se hallan fuera del quiste y que se consideran intermedios entre el esporozoito y el quiste.

La observación de un complejo sinaptonemal en un "prequiste prematuro", apoya la existencia de un ciclo reproductivo sexual.⁵⁷ Se considera que la infección puede ser transmitida vía aérea a través de partículas, sin embargo no han sido identificadas esporas, ni un ciclo de vida del microorganismo en el medio ambiente.

Debido a la clasificación incierta de *P. carinii*, el nombre de las estructuras de éste siguen persistiendo con nombres parasitológicos, es decir, como que *P. carinii* fuese un protozoario, y hasta que no se dilucidan sus características micóticas, la literatura seguirá reportando con estos términos.

FIGURA 4.



FIGURAS A Y B. Necropsia de pulmón. Alveolos parasitados por *P. carinii* (10x y 40x)

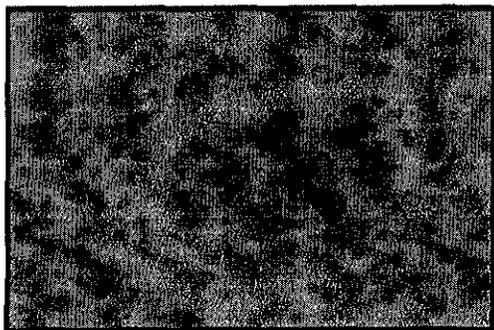


FIGURA C. Alveolo parasitado por *P. carinii*. Tinción de Grocott (50x)

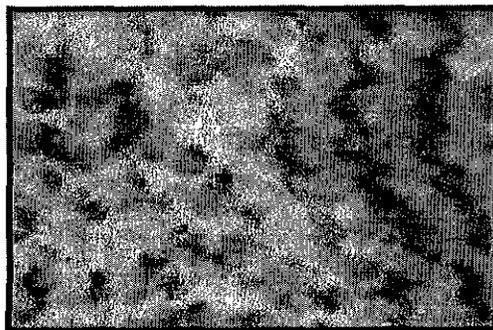


FIGURA D. "Quistes" de *P. carinii* en alveolo (100x)

La pared de los quistes, es la que tiene características más notables; está compuesta de tres capas, la capa externa es una membrana única, un espacio translúcido que está compuesto probablemente de β -glucano y por último una membrana plasmática interna.

Los trofozoitos tienen 2 a 5 μm de diámetro así como núcleos extracéntricos y citoplasma reticular. Con diferentes tinciones se pueden observar el tamaño y forma de estas formas del microorganismo, éstos usualmente muestran eosinofilia central con tinción basófila en la periferia. Ocasionalmente se pueden ver quistes aislados, la pared de éstos puede ser identificada como una estructura basófila circular contienen de 2 a 8 inclusiones eosinófilas que representan a los esporozoitos.⁵⁸ Algunas tinciones, como la metenammina argéntica y el azul de O-toluidina sólo tiñen la pared del quiste. La tinción de Giemsa modificada permite identificar los tres estados de *P. carinii*; los esporozoitos y el material nuclear de los trofozoitos aparecen violetas y su citoplasma se tiñe de azul y la pared de los quistes no se tiñe, sólo pueden observarse como imágenes negativas o "fantasmales" en la matriz de un racimo de trofozoitos; por el contrario en el material de Papanicolaou, la pared de los quistes aparece basofílica y los esporozoitos eosinofílicos, con esta tinción los trofozoitos son difíciles de identificar. Ghali et al.⁵⁹ estudiaron la fluorescencia patrón de *P. carinii* en este tipo de muestras y describieron los quistes de forma circular y algunos en forma de luna, los cuales son estructuras de 4-6 μm de diámetro, que emiten una fluorescencia brillante verdosa; muchos de estos quistes contienen dos cuerpos en imágenes de espejos, en forma de riñones con fluorescencia brillante, los cuales los interpretaron como esporozoitos; algunas veces 8 esporozoitos se pueden encontrar en un sólo quiste, pero estos investigadores nunca encontraron más de dos cuerpos reniformes por quiste. La tinción de Gram-Weigert también tiñe esporozoitos y trofozoitos pero no la pared quística.⁴

ASPECTOS CLINICOS

La neumonía por *P. carinii* es la principal infección que provoca este microorganismo, sin embargo, también se han reportado infecciones extrapulmonares, principalmente en oído, ojos, tracto gastrointestinal, hígado, bazo, etc.

Neumonía por *P. carinii*

La manifestación sintomatológica de la infección pulmonar por *P. carinii* es la de una neumonía muy severa, aguda y difusa, que puede cursar en forma acelerada o lenta hasta generar una insuficiencia respiratoria progresiva. Siempre debe ser sospechada en los pacientes que integren una población de "riesgo"; su índice de recurrencias es muy elevado entre los pacientes con SIDA que no reciben ninguna profilaxis medicamentosa. Si bien la neumonía por *P. carinii* es el diagnóstico índice más frecuente en este tipo de pacientes, en ellos por lo general se han detectado síntomas inespecíficos como fiebre, fatiga y pérdida de peso durante semanas a meses antes de desarrollar los síntomas respiratorios. Los síntomas más frecuentes de la neumonía por este microorganismo son fiebre, tos y disnea, que al principio suele ser de esfuerzo y después progresa a la ortopnea. La tos por lo general no es progresiva pero puede producir esputo en pacientes fumadores o que tienen bronquitis o neumonía bacteriana, así como neumonía por *P. carinii*. Los síntomas respiratorios pueden ser importantes o relativamente leves.¹³

Características macroscópicas:

Frecuentemente se dan cambios típicos en el pulmón, como son:

- Incremento en su firmeza
- Estasis y edema
- Zonas blancas/grises o rojas/café, y la aparición de zonas moteadas
- Disminución en la capacidad de aireación.

Características microscópicas:

- Poca presencia de material eosinofílico intra-alveolar
- Exudado intra-alveolar que contiene macrófagos y pocos neutrófilos
- Dilatación de los capilares alveolares, estasis y edema
- Incremento en el ancho alveolar
- Fibrosis difusa.

Infecciones extrapulmonares

Las localizaciones extrapulmonares de *P. carinii*, se van haciendo cada vez más frecuentes. Existen dos tipos de individuos con este tipo de infecciones:

- 1.-Pacientes con inmunodeficiencias no asociadas al SIDA
- 2.-Pacientes con SIDA

En un estudio de 50 casos de neumocistosis extrapulmonar, se encontró la siguiente información en los dos tipos de pacientes mencionados anteriormente:⁶⁰

Pacientes con inmunodeficiencias no asociadas al SIDA

De los 50 casos estudiados, 16 pertenecieron a este tipo de pacientes. Las inmunodeficiencias más frecuentes en estos pacientes fue la hipogammaglobulinemia, leucemia mieloide crónica, enfermedad de Hodgkin (linfomas), alinfoplasia tímica y trasplante renal; muchos de ellos presentaron síntomas de neumonía (un caso se presentó con pancitopenia) y la PPC fue diagnosticada en 14 de los 16 casos, al mismo tiempo que se diagnosticó la neumocistosis extrapulmonar. El diagnóstico de la infección extrapulmonar fue hecha antes de que los individuos murieran solamente en tres de los casos, en los 13 restantes el diagnóstico se hizo a partir de la autopsia.

Pacientes con SIDA

34 casos de neumocistosis extrapulmonar se encontraron en pacientes con SIDA. Las razones para hospitalización, incluyeron síntomas de neumonía en 14 de los 34 pacientes, de estos, 13 tuvieron PPC confirmada histológicamente. Otros tres pacientes también tuvieron PPC confirmada, pero las razones para su hospitalización fueron, esplenomegalia, neumotórax y necrosis de los dedos de los pies, respectivamente.

Los sitios de infección extrapulmonar en los dos tipos de pacientes fueron los siguientes:

Tabla 4. Sitios de infección extrapulmonar con *P. carinii* en 50 pacientes

Sitio de infección	No. de pacientes en el sitio de infección (%)	No. de pacientes infectados con VIH en el sitio de infección (n=34)	No. de pacientes con otras condiciones (n=6) en el sitio de infección
Nudos linfáticos	23 (46)	12	19
Bazo	18 (36)	12	14
Hígado	16 (32)	12	12
Médula ósea	13 (26)	8	11
Tracto gastrointestinal	9 (18)	8	7
Ojos	9 (18)	9	5
Glándula tiroidea	8 (16)	7	6
Glándula adrenal	8 (16)	6	8
Riñones	7 (14)	4	6
Vasos sanguíneos	6 (12)	4	5
Corazón	5 (10)	5	5
Páncreas	4 (8)	3	4
Canal auditivo externo	3 (6)	3	1
Pleura	2 (4)	2	2
Cerebro	2 (4)	1	2
Timo	2 (4)		2
Ureteres	1 (2)	...	1
Espacios linfáticos del cerebro	1 (2)	1	1

Diafragma	1 (2)	1	1
Oído medio/mastoideo	1 (2)	1	...
Pericarpio	1 (2)	1	1
Tejido retroperitoneal	1 (2)	...	1
Paladar	1 (2)	...	1

Para el diagnóstico de las infecciones extrapulmonares, se utiliza principalmente la examinación de biopsias de piel, aspiraciones y biopsias de tejido blando y médula ósea, material obtenido de endoscopia, biopsias coroidales y biopsias quirúrgicas. En la examinación patológica de los tejidos extrapulmonares infectados por *P. carinii*, se pueden encontrar numerosos nódulos, firmes, arenosos, de color rojo o bronce, de una variedad de tamaños, los cuales pueden estar parcialmente necróticos. Microscópicamente, estas lesiones consisten de masas de células, material espumoso (similar al que se ve en los alvéolos de pacientes con neumonía por *P. carinii*), calcificación focal y hemorragia; los quistes se pueden observar dentro de estas lesiones por medio de la tinción de Gomori metenamina de Plata.⁶¹

Infecciones óticas en pacientes con SIDA

Las infecciones óticas, frecuentemente se describen como una masa o pólipo, que puede encontrarse en cualquier región dentro del oído; se pueden hallar en el canal auditivo externo, o pueden obstruir el canal o sobresalir de éste y también se pueden encontrar de manera subyacente a la piel. Estas masas pueden atacar o perforar, la membrana del tímpano, que puede llegar a estar hinchada y eritematosa, o bien, esclerótica con reducción de la motilidad. En el oído puede haber una descarga serosanguinolenta, además de la masa o solamente la manifestación de la infección.⁶²

La infección del oído medio está frecuentemente asociada con células mastoideas. El pólipo presente en éste se describe parecido al tejido granuloso.⁶³

Principales características clínicas de infección ótica por *P. carinii*

Síntomas

- Dolor
- Hipoacusia
- Otorrea

Examen Físico

- Unilateral
- Pólipo en oído medio
- Masa en el canal auditivo externo
- Membrana del tímpano

Infecciones oftálmicas en pacientes con SIDA

Existe una gran uniformidad en la presentación, historia clínica y resultados físicos de los casos reportados de infecciones oftálmicas. La coroiditis por *P. carinii*, generalmente es asintomática, y ocurre dentro del contexto de diseminación de neumonía por este microorganismo en pacientes con SIDA. Frecuentemente la infección es descubierta incidentalmente durante la examinación de rutina oftalmológica, que se hace durante el tratamiento por retinitis causada por citomegalovirus o por sarcoma de Kaposi conjuntival.⁶⁴

En el lado posterior de la retina se han visto múltiples placas color blanco-amarillento, de 0.5 a 2 discos de diámetro y puede haber una mínima respuesta inflamatoria dentro del cuerpo vítreo. Las lesiones pueden ser unilaterales o bilaterales. Por medio de microscopía electrónica, se puede observar una típica vacuola, con exudado eosinofílico espumoso con quistes que se observan por medio de la tinción de Gomori.⁶⁵

Principales características clínicas de coroiditis por *P. carinii*

Síntomas

- No hay disminución en la agudeza visual
- Visión borrosa
- Destellos de luz

Examen físico

- Bilateral o unilateral
- Múltiples placas amarillo-biancas
- Lesiones múltiples
- Mínima o nula respuesta inflamatoria

Infecciones en el sistema nervioso central (SNC) en pacientes con SIDA

Existe un reporte hecho en 1997 por Bartlett y Hulette,⁶⁶ en el cual de 109 pacientes con SIDA y además con neumocistosis extrapulmonar, siete de ellos tuvieron neumocistosis en el sistema nervioso central. De estos siete pacientes, 3 habían presentado neumonía por *P. carinii*. Las principales características en estos siete pacientes fueron las siguientes:

Síntomas

- Confusión mental
- Desorientación
- Cefalea
- Somnolencia
- Náuseas

La neumocistosis del SNC no fue sospechada en ninguno de los pacientes antes de su muerte; y las autopsias revelaron las siguientes lugares neuroanatómicos de localización de *P. carinii*:

- Corteza cerebral
- Meninges
- Glándula pituitaria
- Putamen
- Vasos sanguíneos

La neumocistosis del sistema nervioso central fue asociada con otras infecciones neurológicas y con meningitis criptococal; lo que sugiere que estas infecciones puedan causar alteraciones en la arquitectura vascular y en el flujo, con la subsecuente localización de *P. carinii* en el SNC durante la fase hematógica, hecho que soporta la idea de diseminación de este microorganismo por vía hematógica.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Desde la aparición en 1981, de los primeros casos descritos de SIDA, han surgido complicaciones pulmonares, que son extremadamente frecuentes en este tipo de pacientes, y que representan un porcentaje importante en la morbilidad y mortalidad en ellos. Muchas de estas complicaciones son tratables y su pronóstico está relacionado con su rápida detección y apropiado tratamiento.

Existen infecciones por diversos microorganismos que pueden simular un cuadro de neumocistosis, e incluso pueden asociarse a *P. carinii* en los pacientes inmunocomprometidos; por eso es necesario investigar su presencia mediante pruebas de laboratorio específicas para su detección.

Las complicaciones pulmonares, se presentan en pacientes inmunocomprometidos, los cuales pueden dividirse en dos grandes grupos, los pacientes con SIDA y aquellos que son deficientes por otras razones; las complicaciones en estos dos grupos de individuos son diferentes.

Los principales microorganismos detectados en pacientes con SIDA que pueden simular un cuadro de neumocistosis son los siguientes, y aparecen por orden de importancia:

1. Cytomegalovirus
2. Micobacterias atípicas (*M. avium*, *M. kansasii*)
3. *Mycobacterium tuberculosis*
4. *Cryptococcus neoformans*
5. Virus Herpes simplex
6. *Coccidioides immitis*
7. *Histoplasma capsulatum*

En pacientes con inmunodeficiencias no asociadas al SIDA, el diagnóstico diferencial es más extenso y complicado. Las complicaciones más comunes son:

1. Neumonía viral
2. Neumonía fúngica

3. *Edema inespecífico*
4. Hemorragia inespecífica

El diagnóstico diferencial de las infecciones atípicas o extrapulmonares son las siguientes:

Infecciones óticas

1. *Infecciones bacterianas*
2. *Infecciones virales*
3. Perforaciones quirúrgicas en el tímpano

Infecciones oftálmicas

1. *Infecciones por citomegalovirus*
2. *Sarcoma de Kaposi*
3. *Procesos malignos (cáncer)*
4. *Infecciones virales*

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

DATOS RADIOGRÁFICOS

En los pacientes con síntomas respiratorios, el estudio diagnóstico inicial suele ser una radiografía torácica, que proporciona información útil para orientar las valoraciones siguientes. La radiografía puede mostrar anomalías que tienen pocas posibilidades de ser ocasionadas por un proceso oportunista como hiperinsuflación pulmonar, por asma o consolidación focal compatible con neumonía bacteriana piógena (aunque ésta puede ser oportunista). Las imágenes radiográficas de las infecciones oportunistas son inespecíficas, aunque los datos radiográficos hacen posibles algunos diagnósticos.

La neumonía por *P. carinii* con mucha frecuencia produce infiltración intersticial difusa, que afecta a todas las porciones pulmonares de manera bastante uniforme.

Pueden verse diversas variaciones en la imagen básica:

- La infiltración puede tener una distribución heterogénea en todo el pulmón
- Puede tener aspecto millar.

Esta enfermedad produce consolidación difusa y focal del espacio aéreo, sobre todo a medida que el trastorno se agrava. Se ha observado cambios quísticos o neumatoceles, sobre todo durante el proceso de cicatrización, y puede tener lugar la cavitación en lesiones nodulares preexistentes. Son raros los derrames pleurales y la adenopatía intratorácica, que en algunos pacientes es probable que se deba a otro proceso.

Diversos estudios muestran que la extensión y distribución de anomalías parenquimales en las radiografías torácicas son útiles en el diagnóstico diferencial. Los pacientes con SIDA, que muestran opacificación parenquimal difusa, un diagnóstico de PPC puede sugerirse con un alto grado de confianza. En pacientes con inmunodeficiencias no asociadas al SIDA y con PPC, el resultado más común en las radiografías es la opacificación parenquimal menor, mostrándose en una zona definida.⁶⁷

TOMA DE MUESTRA Y MATERIAL UTILIZADO PARA LA DETECCIÓN DE

P. CARINII

El dramático incremento de PPC en pacientes con SIDA, ha provocado una demanda hacia los laboratorios clínicos microbiológicos de un diagnóstico rápido, confiable y de bajo costo. Los exámenes para detectar *P. carinii*, en muestras como esputo y lavado broncoalveolar, minimizan la necesidad de utilizar procedimientos invasivos como lo es, la biopsia transbronquial.

Espuito, lavado broncoalveolar y biopsia transbronquial

Aunque los pacientes con PPC a menudo se quejan de tos, raras veces producen esputo útil para el examen; sin embargo, pueden obtenerse especímenes adecuados al hacer que los pacientes inhalen,

mediante un nebulizador ultrasónico un vapor de solución salina al 3 por ciento. El examen del esputo inducido cuando se tiñe con la técnica de Grocott, que es una modificación del método de Gomori metenamina nitrato de plata, es una técnica no invasiva para la detección de *P. carinii*.¹

Muchos estudios han revelado la gran utilidad de la broncoscopia con instrumento de fibra óptica, en la evaluación de infecciones oportunistas de el pulmón en pacientes con SIDA. Estos estudios han demostrado que, para la detección de microorganismos patógenos pulmonares, las muestras obtenidas broncoscopialmente tienen una alta confiabilidad. Los tres procedimientos broncoscópicos más utilizados son: el lavado broncoalveolar (LBA), la biopsia transbronquial y el cultivo (que en el caso de *P. carinii* no es utilizado). La broncoscopia con instrumento de fibra óptica es considerada el procedimiento de elección para el diagnóstico de PPC, su sensibilidad es considerada como el 100%, cuando el lavado broncoalveolar y la biopsia transbronquial son utilizados en conjunto; sin embargo, algunos investigadores han dicho que el lavado broncoalveolar es la única modalidad para detectar a *P. carinii*; sin embargo, Weldon-Linne y cols.⁶⁸ demostraron que el LBA es más sensible que la biopsia transbronquial (97.8% vs 83.6%), de 92 casos, 90 fueron detectados por el LBA y en 80 casos, la biopsia transbronquial fue negativa o inadecuada en 13 casos. Estos resultados sugieren que tanto LBA como la biopsia transbronquial son procedimientos adecuados para el diagnóstico de PPC.

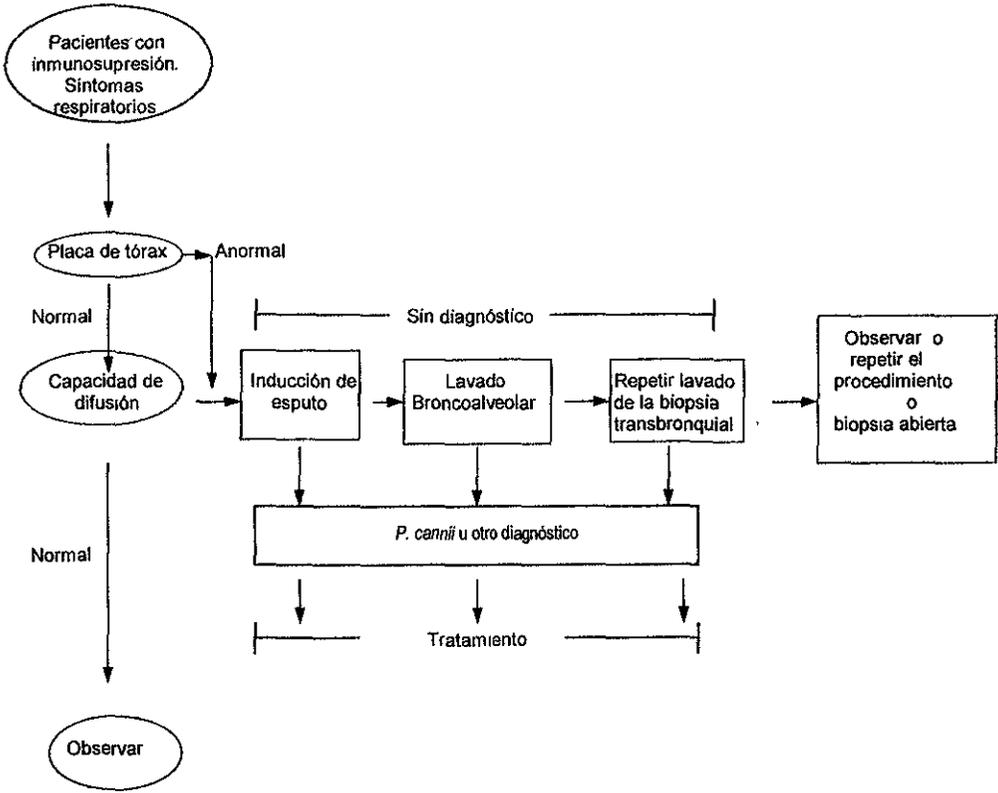
Por consiguiente, como rutina en pacientes con SIDA comprobado o no confirmado, se realiza examen del esputo, pero en quienes no se encuentra *P. carinii* en éste, sólo se realiza lavado broncoalveolar. Si este procedimiento no establece el diagnóstico, se vuelve a realizar el lavado y se lleva a cabo una biopsia transbronquial para investigar otras infecciones.

Biopsia pulmonar abierta

La biopsia pulmonar abierta en pacientes con SIDA debe reservarse para varias situaciones raras; a saber:

1. Un paciente con enfermedad pulmonar progresiva, en quien la inducción del esputo y un examen broncoscópico realizado con cuidado junto con el lavado broncoalveolar y la biopsia transbronquial no fueron diagnósticos.
2. Un enfermo con una coagulopatía no corregible, en quien el lavado no ha sido diagnóstico.
3. Pacientes que requieren ventilación mecánica, en quienes la biopsia, el lavado o ambos procedimientos, no han sido diagnósticos. Incluso en estas situaciones, puede indicarse otro procedimiento broncoscópico antes de la biopsia pulmonar abierta. De ser posible, el médico debe esperar hasta contar con los resultados de las valoraciones microbiológicas de los especímenes iniciales antes de realizar una biopsia abierta.⁴

Figura 5. Flujograma de secuencia de estudios diagnósticos para la valoración de pacientes en quienes se sospecha neumonía por *Pneumocystis carinii*.



TINCIONES Y MÉTODOS DE DETECCIÓN

Los métodos de detección utilizados para la identificación de *P. carinii* son las tinciones histológicas, microscopía de fluorescencia y tinciones inmunofluorescentes.

Una variedad de técnicas son utilizadas para la identificación de *P. carinii*. La tinción de Gomori melenamina de plata (**GMP**) es la más empleada y se considera el "estándar de oro"; sin embargo, ésta es una técnica muy laboriosa y cara, por lo que se han buscado tinciones alternativas entre las que destacan la tinción modificada de Giemsa (**Diff-Quik**) y la de azul de toluidina modificada (**ATM**).

Las tinción de GMP y de ATM tienen la característica de que sólo tiñen la pared del quiste de *P. carinii* y no detectan los trofozoítos, que pueden estar tanto libres como en forma de cuerpos intraquisticos; en cambio, la tinción de Diff-Quik (DQ) tiñe los trofozoítos y permite identificar la pared del quiste, que se tiñe en forma negativa y se observa como un halo claro alrededor de los cuerpos intraquisticos. Las tinciones de ATM y DQ tienen la ventaja de que requieren un tiempo corto de preparación y son de bajo costo. La desventaja que presenta la técnica de DQ es que se tiñe el fondo, principalmente en muestras de esputo; lo que dificulta la distinción de *P. carinii*, por lo que para esta técnica es necesario personal con un alto grado de experiencia.⁶⁹

Casanova-Cardiel y cols.⁶ en México realizaron una comparación de dos tinciones (ATM y DQ), realizadas en lavado broncoalveolar obtenido de ratas a las que se le indujo la infección, y también se utilizó la tinción de plata como estándar de oro. En los resultados, esta tinción mostró *P. carinii*, en 15

de las 20 muestras obtenidas, con la tinción de DQ hubo una especificidad de 100% pero 27% de sensibilidad y con ATM la sensibilidad fue del 93%, pero la especificidad de 80%, y a pesar que se ha informado que la tinción con DQ puede ser más útil, para la identificación de este microorganismo, en este trabajo resultó ser menos sensible que la tinción de ATM y Casanova-Cardiel sugiere la conveniencia de usar la tinción de plata para garantizar los resultados, a pesar de su mayor costo y tiempo.

Otras tinciones muy empleadas son la de **Papanicolaou** y la de hematoxilina y eosina (**H&G**). La primera es la más común en muestras citológicas, tiñe a los esporozoítos y trofozoítos de un color azul pálido al igual que la H&G, pero no pinta la pared de los quistes.^{70,71}

La espuma alveolar (FACs) que acompaña a los quistes de *P. carinii*, también se toma como diagnóstico de PCP. Estas observaciones son fácilmente detectadas por medio de la tinción de Papanicolaou. En 318 muestras de lavado broncoalveolar revisadas por Schumann y Swensen⁷⁰, demostraron que la tinción de Papanicolaou de FACs es un sensible indicador para la presencia de *P. carinii*. y que puede ser una técnica menos complicada para realizar un diagnóstico, comparada con la tinción de Gomori metenammina de plata. Al comparar sus resultados con los de otros investigadores se obtuvo un resultado semejante.⁷²⁻⁷⁴

Tabla 5. Sensibilidad de las tinciones de Papanicolaou y Gomori Metanamina de Plata para la detección de *P. carinii*

Autores	Año	LBAs positivos			% de sensibilidad en las tinciones	
		Total de <i>P. carinii</i>	Tinciones Pap	GMP	Pap	GMP
Greaves y Strigle 71	1985	30	30	30	100	100
Dugan y cols 72	1988	29	25	29	86	100
Stanley y cols 73	1988	21	21	20	100	95
Schumann y Swensen 74	1991	65	63	58	97	89
Total		145	139	137	96	94

Pap= papanicolaou

GMS= Gomori metenamina de plata

Una variedad de técnicas de inmunofluorescencia (IF) se han aplicado a partir del desarrollo de anticuerpos anti-*P. carinii* de ratón; y pueden ser aplicables tanto en forma directa (DFA) como indirecta (IFA). Estas técnicas tienen la ventaja que identifican a los microorganismos de manera rápida y fácil, además que el tiempo de preparación es entre 1-2 horas. La apariencia de *P. carinii* en estas tinciones varía de acuerdo a la especificidad del anticuerpo monoclonal utilizado; algunos de estos anticuerpos son específicos para quistes, y otros para todas las formas, es decir: quistes, trofozoítos y esporozoítos. Debido a la variabilidad que puede presentar el microorganismo en las tinciones y la presencia de fondo fluorescente, la interpretación de estas técnicas requieren de personal que tenga un cierto grado de experiencia técnica y esté familiarizado con la morfología del microorganismo.⁶⁹

Al realizar la comparación de cuatro métodos de detección de *P. carinii*, Cregan y cols.⁶⁹ obtuvieron los siguientes resultados:

De 100 muestras colectadas, 50 eran de esputo y 50 de lavado broncoalveolar, todas estas muestras fueron teñidas con las siguientes tinciones:

-Diff-Quik, Grocott (modificación de la técnica de Gomori metenamina de plata), inmunofluorescencia directa e indirecta.

-58% de las muestras fueron positivas, de las cuales, 74% eran de esputo y 42% de lavado broncoalveolar.

-La sensibilidad para la detección de *P. carinii* en esputo fue de 92% con la tinción de Grocott, 97% con inmunofluorescencia directa, 97% con inmunofluorescencia indirecta y 92% con DQ.

-En lavado broncoalveolar la sensibilidad fue de 86% con la tinción de Grocott, 90% con DFA, 86% con IFA y 81% con DQ.

Tabla 6. Sensibilidad de las tinciones de Diff-Quik, Grocott, Inmunofluorescencia directa e inmunofluorescencia indirecta en la detección de *P. carinii*.

		Muestras positivas para <i>P. carinii</i>				
		%	Sensibilidad Diff-Quik	(%) en Grocott	Tinciones IFA	Tinciones DFA
Total de muestras	100	58				
Esputo	50	74	92	92	97	97
Lavado broncoalveolar	50	42	81	86	86	90

IFA= Inmunofluorescencia indirecta
DFA=Inmunofluorescencia directa

De los cuatro métodos evaluados en este estudio, la tinción de Diff-Quik fue la menos sensible, seguida de la inmunofluorescencia indirecta, los otros dos métodos se acercan al 100% de especificidad. Estos cuatro métodos fueron más sensibles en muestras de esputo que en las de lavado broncoalveolar; estos resultados probablemente debidos a que LBA es utilizado más frecuentemente para la evaluación de casos difíciles, como es en pacientes que previamente han tenido un diagnóstico negativo en muestras de esputo o en un anterior LBA; o en pacientes que están recibiendo una terapia con antibióticos profilácticos; en estos pacientes es más difícil la detección de una gran cantidad de microorganismos; por esta razón es recomendable utilizar técnicas de tinción que detecten tanto trofozoítos como quistes.

La sensibilidad de la técnica de DQ en esputo es baja, sin embargo, puede ser incrementada por el uso de anticuerpos monoclonales y la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR); en contraste, los métodos convencionales de DQ y ATM, son eficientes en muestras de lavado broncoalveolar, en pacientes que reciben profilaxis. En estos pacientes, la estructura de *P. carinii* puede cambiar, y la enfermedad puede no diagnosticarse, si únicamente se basa en la presencia de quistes; por este motivo se han empleado nuevas técnicas como inmunofluorescencia, PCR y la tinción de fungifluor.

La inmunofluorescencia directa y PCR se caracterizan por una alta especificidad y pueden ser utilizados para determinar un diagnóstico en pacientes con PPC no confirmada, y en los cuales es necesario verificarlo, o en el caso que haya una discrepancia en los resultados obtenidos por los métodos de Diff-Quik y fungifluor en muestras de lavado broncoalveolar. ⁷⁵

CULTIVOS CELULARES

El modelo de rata para desarrollar una neumonía por *P. carinii* es muy utilizado para obtener información acerca de agentes terapéuticos, que pueden ser utilizados para combatir esta enfermedad; sin embargo, los resultados encontrados en ratas, no pueden extrapolarse de manera segura a los humanos, ya que se ha encontrado, que los resultados de terapias en humanos no concuerdan con los encontrados experimentalmente. Debido a esta situación, se han hecho progresos, al cultivar células derivadas de ratas con PPC, pero aún así, los problemas permanecen ya que no hay reproducibilidad entre laboratorios y la cuantificación de crecimiento *in vitro* de este microorganismo no es exacta; por esto, ha habido una tendencia a cultivar células humanas contaminadas con *P. carinii*, y el problema que presenta esta técnica es que se forman agregados de células, por lo que no se puede cuantificar de manera individual a los trofozoítos y quistes, ni su viabilidad, lo que sí se puede hacer de manera más fácil en cultivos de células derivadas de ratas.

Blumenfeld y Griffiss⁷⁶, realizaron cultivos de *P. carinii* en una línea celular humana (A549), la cual fue inoculada con fluido broncoalveolar proveniente de individuos con VIH y PPC; este sistema es una modificación de otro reportado,⁷⁷ en el que se confirma el crecimiento de *P. carinii* en células derivadas de ratas con PPC.

Se ha investigado la detección de *P. carinii*, en un sistema "in vitro", consistente en una línea celular de epitelio humano (A-549) inoculada con células mononucleares infectadas, provenientes de sangre periférica de personas con VIH y con PPC confirmada y no. El cultivo fue tomado diariamente y se

evaluó la presencia de *P. carinii* por las tinciones de Giemsa e inmunofluorescencia. El microorganismo fue aislado de 98 (95.1%) de 103 cultivos provenientes de pacientes con PPC y de 45 (66.1%) de 68 cultivos provenientes de pacientes con PPC no confirmada, después de las 72 horas de la inoculación. Este sistema ha mostrado que *P. carinii* puede crecer, pero se ha visto que es inadecuado para producir un gran número de microorganismos, así como también no se puede mantener al microorganismo vivo por un período largo de tiempo.⁷⁸

PRUEBAS INMUNOLÓGICAS

Métodos no invasivos son necesarios para la rápida detección de *P. carinii* en la práctica; por lo que se han propuesto dos métodos serológicos para la detección de anticuerpos contra *P. carinii*. Uno de ellos depende de la detección de anticuerpos de *P. carinii* por los métodos de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) y Western blot. El otro método depende de la detección de antígenos circulantes por medio de contrainmunolectroforesis y el método de "sandwich" de ELISA.

La propuesta de estos dos métodos serológicos fue hecha por Ishimaru y cols.,⁷⁹ quienes aislaron a los trofozoítos de muestras de lavado broncoalveolar provenientes de ratas con PPC, por medio de filtración y centrifugación en gradiente de Percoll. Los quistes fueron aislados del pulmón de ratas infectadas por medio de un proceso de digestión, utilizando colagenasa y hialuronidasa, seguido por centrifugación en gradiente de Percoll. Los componentes antigénicos de los trofozoítos fueron

comparados con los de los quistes por medio de inmunotransferencia; en los trofozoítos fueron encontradas bandas de 90,000 Da y otras de menor masa molecular, y en los quistes se encontraron bandas de 110,000, 50,000 y 45,000 Da. La banda de 50,000 Da, no fue identificada cuando suero de conejo antitrofozoito preabsorbido con suero de rata anti-*P. carinii* fue utilizado para inmunotransferencia. Estos resultados sugieren que la molécula de 50,000 Da es el antígeno de mayor circulación en ratas infectadas con *P. carinii*, los cuales son consistentes con los encontrados por Walzer y cols.⁸⁰ quienes reportaron que el título de anticuerpos para el antígeno de 50,000 Da de *P. carinii* fue el más elevado durante la primera fase de infección por *P. carinii* en ratas.

P. carinii puede encontrarse de manera obicua en las personas, y la mayoría de las personas sanas pueden tener anticuerpos contra este microorganismo, consecuentemente, la detección directa de antígenos circulantes de *P. carinii* es esencial, sin embargo, este tipo de métodos son poco utilizados por los laboratorios, debido a que su sensibilidad y especificidad no ha sido lo suficientemente alta, una de las razones de este problema, es que las características de los antígenos circulantes permanece incierta.

TRATAMIENTO

Si bien se utilizaron muchos agentes para tratar la neumonía por *P. carinii*, ninguno dio resultado hasta 1958, cuando Ivady y Paldy⁸¹ comenzaron los estudios con la pentamidina. En 1967, en la Unión

Americana se contó con este medicamento a través del Servicio de Medicamentos para Enfermedades Parasitarias del "National Communicable Disease Center" y se utilizó en forma sistemática en el tratamiento de PPC. En 1971, Kirby y cols.⁸² comunicaron el tratamiento satisfactorio con pirametamina y sulfadiazina en dos de tres pacientes con este trastorno; sin embargo, ninguno de los cuatro enfermos tratados antes con estos agentes había sobrevivido, y han sido pocas las experiencias posteriores con esta combinación. Hughes y cols.⁸³ en 1974 demostraron por primera vez que la combinación de trimetoprima (TMP) y sulfametoxazol (SMX) era eficaz en el tratamiento y la prevención de PPC en ratas tratadas con cortisona; estudios clínicos subsiguientes comprobaron la utilidad de esta combinación en el hombre. En la actualidad tanto el trimetoprim-sulfametoxazol como el isotionato de pentamidina están aprobados para el tratamiento de la enfermedad.

La antibioticoterapia con la asociación trimetoprim-sulfametoxazol es de primera elección en el tratamiento y prevención de la neumocistosis humana. Es un medicamento de muy bajo costo y parece brinda una protección excelente, pero no está libre de efectos colaterales, como hepatitis y neutropenia.

La pentamidina puede administrarse por vía intravenosa, 1 o 2 veces por mes (4mg/kg/mes) o bien por vía inhalatoria. La administración y la dosificación del fármaco por esta vía no están bien establecidos; existen discusiones sobre el tamaño de las partículas nebulizadas y la eficacia de los distintos sistemas de nebulización. Por lo complicado de su manipulación, algunos de ellos requieren la presencia de personal médico convenientemente entrenado que asista al paciente. La hipotermia, la hipoglucemia, la nefrotoxicidad y la intolerancia gástrica son efectos colaterales cuya intensidad es equiparable a la eficacia de la droga y lamentablemente, limitan su aplicación. Para la vía inhalatoria, las reacciones

adversas más terribles pueden ser los espasmos bronquiales como también la posibilidad de que favorezca la activación y diseminación de una infección tuberculosa subclínica

Los resultados de estudios clínicos que compararon la diamino difenil sulfona (DDS) con otros protocolos de tratamiento parecen demostrar que brinda una buena protección y la toxicidad asociada no parece demasiado severa (metahemoglobinemia, hiperpotasemia).

Estos y otros esquemas terapéuticos y profilácticos (como las asociaciones entre pirimetamina-sulfadoxina y clindamicina-primaquina) se siguen evaluando en estudios multicéntricos, tanto en lo que hace a su dosificación y forma de administración más adecuada como a sus efectos colaterales y toxicidad potencial.

Walzer y cols.⁸⁴ desarrollaron un nuevo sistema para clasificar los medicamentos antimicrobianos, el cual realizaron durante 7 años de experiencia; este sistema es un simple y cuantitativo método para comparar las actividades de medicamentos antimicrobianos contra *P. carinii*, y puede proporcionar información de ayuda en el desarrollo de nuevos medicamentos anti-*P. carinii* y establecer procedimientos estándares para su evaluación. El sistema demostró una jerarquía en la actividad anti-*P. carinii*, no sólo entre las clases de componentes, sino también la misma clase de droga. Las sulfonaminas, sulfonas y diaminas fueron los agentes más activos, algunos nucleósidos de purina y nitrofuranos mostraron actividad prometedora y muchos antiparasitarios, antifúngicos, antibacterianos y drogas antivirales fueron inactivos.

Debido a que *P. carinii* es casi seguro un hongo, las drogas utilizadas contra el tratamiento de micosis han sido consideradas para su uso en el tratamiento de neumocistosis. Los medicamentos antifúngicos, tienen como blanco principal los esteroides, estos medicamentos actúan a nivel de la formación del ergosterol o bien, interfiriendo la síntesis de los esteroides fúngicos finales; Contini y cols.⁸⁵ tratan de

explicar en una hipótesis frágil, que *P. carinii* contiene grandes cantidades de colesterol, pero no de ergosterol, y la falta de éste puede explicar porque este microorganismo no es susceptible a antibióticos polienos ordinarios y a agentes antifúngicos azólicos.

Seis drogas antifúngicas de derivados imidazólicos fueron examinadas para observar su actividad contra *P. carinii* en cultivos celulares y animales; ninguna de éstas fueron efectivas en ratas infectadas, y solamente el miconazol mostró escasos efectos en el cultivo, el cual tenía una alta concentración de microorganismos viables. El análisis de las membranas celulares de los microorganismos de los cultivos, mostró que el ergosterol que es el blanco de esta clase de agentes antifúngicos estuvo ausente, solo que la falta de efecto de estos agentes es racional.⁸⁶ Sin embargo, medicamentos como la terbinafina, que es una alilamina antifúngica, ha sido estudiada en ratas con PPC, y se ha encontrado que "in vitro", es un inhibidor más potente de quistes de *P. carinii*, que trimetoprim-sulfametoxazol y pentamidina; el resultado en ratas con PPC y tratadas con terbinafina es muy parecido al encontrado en las tratadas con TMP-SMZ, pero la supervivencia de animales fue mayor con TMP-SMZ que con terbinafina. La efectividad de la terbinafina a diferencia de otros medicamentos antifúngicos, es que actúa a nivel del escualeno 2,3 epoxidasa, incrementando la cantidad de escualeno en las células fúngicas, y la acumulación de éste conduce a un rompimiento de la membrana celular de los microorganismos.

Tabla 7. Características de los esquemas terapéuticos y profilácticos de la neumocistosis

Principales características	<i>Trimetoprim-Sulfametoxazol</i>	<i>Pentamidina</i>	<i>Diamino difenil sulfona (DDS)</i>	Asociaciones en estudio	
				<i>Pirimetamina-Sulfadoxina</i>	<i>Clindamicina-Primaquina</i>
Costo	Económico	Moderado	Económica	En estudio	En estudio
Eficacia	Muy eficaz	Permite la diseminación extrapulmonar	Eficaz	En estudio	En estudio
Toxicidad	Efectos colaterales adversos frecuentes en pacientes con SIDA	Reacciones de broncoconstricción	Puede causar toxicidad	Puede ser tóxica	Puede ser tóxica

PROFILAXIS

La neumonía por *P. carinii* no sólo es la causa de muerte más frecuente en los pacientes con SIDA, sino que además es el principal motivo de internación de estos pacientes en las unidades de cuidados

intensivos. La incidencia de PPC disminuyó después de 1988, con el uso de profilaxis primaria y secundaria (pentamidina en aerosol, TMP-SMZ y DDS) contra este microorganismo, no se conoce que estos regímenes profilácticos alteren la replicación del virus de inmunodeficiencia humana o la función inmune del individuo, ni que protejan contra otras enfermedades relacionadas con el SIDA, excepto la toxoplasmosis. Se estima que 7 a 20% de los pacientes pediátricos que adquirieron el VIH en el período perinatal, en independencia de su sexo, origen racial o grupo de riesgo al cual pertenezca la madre, padecerá una neumocistosis en el curso del primer año de vida. Gran parte de ellos morirá a causa de la primoinfección por *P. carinii*, y casi la totalidad (90%), de los que logren superar el episodio inicial morirá cuando se presente una recurrencia de la neumocistosis. Más de 50% de estos casos corresponden a lactantes de muy pocos meses (3 a 6 meses), esto obligará a iniciar la profilaxis contra *P. carinii* en etapas muy precoces de la vida; pero los candidatos a recibir esta medicación deberán ser identificados con cuidado entre los niños potencialmente infectados con VIH, mediante el diagnóstico de la infección prenatal en la madre o la identificación de los niños expuestos tan pronto como sea posible luego del nacimiento. En los hijos de mujeres con SIDA, se evaluará el riesgo de neumocistosis, en el que se incluye un recuento de linfocitos T CD4+ para decidir la medicación profiláctica.

En la actualidad, y en el caso especial del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, se recomienda iniciar la profilaxis contra *P. carinii*, en todo paciente que presente un recuento de linfocitos T CD4+ menor a 200.

La terapia con zidovudina ha sido probada para reducir la incidencia de PPC, presumiblemente debido a sus efectos anti-retrovirales; estudios posteriores demostraron que pacientes con un historial de PPC, que han recibido zidovudina pero no una profilaxis específica contra esta enfermedad, siguen teniendo el riesgo (66%) de desarrollar PPC en los siguientes 12 meses; sin embargo, aunque todos los

pacientes con alto riesgo de desarrollar PPC recibieran terapia antiretroviral como lo es con zidovudina o danosina, el tratamiento solo con estos medicamentos no provee un alto grado de protección.

Trimetoprim-Sulfametoxazol (TMP-SMZ) y pentamidina en aerosol han mostrado ser efectivos agentes profilácticos contra PPC. La efectividad de TMP-SMZ en la profilaxis primaria en pacientes con SIDA, fue demostrada en un estudio con 60 pacientes con sarcoma de Kaposi, los cuales al azar, recibieron terapia oral con este medicamento (160mg de trimetoprin y 800 mg de sulfametoxazol dos veces al día) y otros no la recibieron.¹⁵

- Episodios iniciales de PPC ocurrieron en cuatro (13%) de 30 pacientes inicialmente asignados a recibir terapia con TMP-SMZ, contra 16 (53%) de 30 pacientes asignados a no recibir terapia profiláctica.
- Ninguno de los pacientes, que recibió terapia profiláctica (0 de 30) desarrolló PPC.
- La terapia con TMP-SMZ fue discontinuada para 5 pacientes (17%), debido a toxicidad; 4 de estos pacientes desarrollaron PPC después de los 5 meses de discontinuarla.

Este estudio estableció este régimen, similar a uno desarrollado por Hughes y cols.⁸⁷ para una población pediátrica oncológica, puede tener un alto grado de eficacia para pacientes con SIDA. Como profilaxis secundaria, TMP-SMZ parece tener también un alto grado de eficacia.

La pentamidina en aerosol ha mostrado ser eficiente tanto en la profilaxis primaria como en la secundaria para PPC. En un estudio prospectivo llevado a cabo en Suiza e Italia, 223 pacientes con cuentas de linfocitos menores a 200 cel/mm³, pero no una historia de PPC, fueron elegidos al azar para recibir placebo o pentamidina en aerosol. La incidencia de PPC fue de 27.2% por año para el grupo que recibió placebo comparado con 8.6% para el grupo que recibió pentamidina en aerosol. En la profilaxis

secundaria, este medicamento resultó ser significativamente más efectivo en la dosis de 300 mg una vez al mes que en la dosis de 30 mg administrada dos veces al mes.

Algunos estudios han mostrado que TMP-SMZ provee protección contra toxoplasmosis cerebral; y es lógico crear la hipótesis que TMP-SMZ puede proveer protección contra patógenos respiratorios como son *Streptococcus pneumoniae* o *Haemophilus influenzae* o contra patógenos gastrointestinales como lo es *Salmonella*, pero aún se desconoce si esta protección se lleva a cabo.

Riesgos de la profilaxis

Es bien conocido que TMP-SMZ en forma oral, es la causa más frecuente de reacciones adversas en pacientes con SIDA, sin embargo, las razones no son conocidas; las más comunes son: leucopenia, granulocitopenia, fiebre, prurito y elevados niveles de transaminasas; estas reacciones raramente amenazan la vida, y las dosis profilácticas pueden mantenerse aún sobre los bajos niveles de toxicidad. Pero es importante reconocer que la fiebre, granulocitopenia y otras anomalías no pueden ser atribuidas automáticamente a TMP-SMZ, ya que existen otras causas frecuentes para desarrollar estos procesos, incluyendo infecciones oportunistas, neoplasias, otras drogas y el VIH por sí mismo.

La pentamidina en aerosol provoca tos y dificultad al respirar en 20%-30% de los pacientes; estas reacciones de broncoconstricción pueden disminuirse o prevenirse con la administración de un β -2-

agonista como albuterol. Estas reacciones raramente son suficientes para discontinuar el tratamiento con pentamidina en aerosol.

La pentamidina en forma parenteral puede causar hipoglucemia, pancreatitis y disfunción renal; sin embargo, estos fenómenos han sido raramente observados en pacientes que reciben pentamidina en aerosol.

Los pacientes que han recibido pentamidina en aerosol son considerados un potencial para contaminar el ambiente con pentamidina, o con organismos infecciosos que pueden estar en las secreciones pulmonares; y pueden atentar contra la salud de los trabajadores, los cuales pueden inhalar y absorber droga que puede estar en el ambiente por la utilización del nebulizador o por el paciente por exhalación; sin embargo, no hay información que sugiera la posibilidad de toxicidad o efectos teratogénicos.

Determinar hoy en día quién entre los miles de pacientes que reciben tratamientos con agentes quimioterapéuticos o corticoides, están en riesgo de adquirir PPC es crucial. La pregunta de fondo acerca de cualquier recomendación de profilaxis es: ¿cuántos pacientes deben necesariamente recibir profilaxis para prevenir un solo caso, y cuáles son las consecuencias de la enfermedad si no se previene?

El uso de corticosteroides es la asociación habitual en las series actuales y todos los informes de neumonía por *P. carinii* en pacientes con SIDA, como fue mostrado por Yale y Limper, en sus series, en las cuales, 91% de los pacientes recibieron corticosteroides, en forma idéntica a la proporción de casos que habían recibido el mismo tratamiento en un informe anterior de la Clínica Mayo, y similar a las proporciones de otras series. En el informe actual, la dosis y duración de 20 a 56 mg de prednisona por 9 a 16 semanas (dependiendo de la enfermedad subyacente), es aproximada al esquema utilizado en

pacientes en el Centro de Cáncer Memorial Sloan-Kettering, donde 113 pacientes recibieron corticoides una dosis media máxima de 80 mg de prednisona por una duración promedio de tres meses.

Desafortunadamente, las series no han examinado el uso de corticosteroides de manera prospectiva o en un estudio de casos control. Por tanto, no se dispone de información adicional acerca de por qué la neumonía por *P. carinii* se desarrolla en un paciente con cáncer, pero no en otro que está recibiendo corticoides en dosis idéntica para una situación similar. Determinar cualquier riesgo adicional es crucial en el control de *P. carinii* debido a que esto permite enfocar la terapéutica profiláctica para ser administrada a pacientes que la necesitan y evitándola en los miles que, a pesar del tratamiento con corticosteroides, no se ven en riesgo.

Sólo una escasa proporción de la literatura trata la pregunta central de cuánto corticosteroide es demasiado. En una interesante revisión de infecciones oportunistas que ocurrieron en 23 pacientes con síndrome de Cushing endógeno, los investigadores encontraron que los niveles de cortisol plasmático matutino fueron más altos entre los pacientes en que se desarrolló PPC en comparación con otras infecciones oportunistas como criptococosis o aspergilosis; este hallazgo sugiere que es necesaria una inmunosupresión relativamente mayor para que ocurra PPC.⁸⁸

La siguiente pregunta obvia es, debido a que la profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol es casi 100% eficaz, ¿Por qué no simplemente proporcionar esta profilaxis a todos los pacientes con enfermedades neoplásicas, trasplantes de órganos, o situaciones inflamatorias que reciben corticosteroides u otros tratamientos, en particular debido a que *P. carinii* en pacientes con SIDA está asociada con alta mortalidad? Aunque esta propuesta es atractiva a primera vista, se puede argumentar mucho contra una profilaxis amplia.

1. En los informes originales de Hughes y cols, se observó que trimetoprim-sulfametoxazol es bien tolerado y asociado a un bajo grado de mielosupresión.
2. La actividad antibacteriana de TMP-SMZ puede crear un problema adicional. Se ha administrado profilaxis para *P. carinii* a un gran número de pacientes que estuvieron recibiendo quimioterapia, en dichos pacientes, la hospitalización por neutropenia y fiebre resulta muchas veces complicada debido a que TMP-SMZ suele alterar los resultados de los hemocultivos.

Así que, ¿a quién debe darse profilaxis? Yale y Limper la sugieren en pacientes que reciben tratamiento diario prolongado con corticosteroides sistémicos. Sepkowitz⁸⁹, ha recomendado que cualquier paciente con alteración inmunológica subyacente, como la contraída por la quimioterapia, trasplante o en una enfermedad inflamatoria, que recibe el equivalente a por lo menos 20 mg de prednisona por día por más de un mes, debe recibir profilaxis. En contraste, la profilaxis es innecesaria en pacientes que reciben dosis idénticas de corticosteroides que no tienen alteraciones inmunológicas subyacentes como los casos con asma.

CONCLUSIONES

➤ *Pneumocystis carinii* es un microorganismo oportunista, que provoca neumocistosis en individuos inmunosuprimidos por diversas causas, primordialmente asociada a SIDA y, en menor proporción: malnutrición, uso de terapias designadas al cáncer o paciente trasplantado.

➤ La neumonía por *Pneumocystis carinii* puede ser una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en pacientes con SIDA, aunque su incidencia ha disminuido debido al empleo de profilaxis primaria y secundaria.

➤ *Pneumocystis carinii* es un microorganismo de transición, clasificado actualmente como hongo por sus características morfológicas, y sobre todo por compartir secuencias genéticas con el grupo de los hongos más que con el de los protozoarios.

➤ El diagnóstico de *Pneumocystis carinii* se basa fundamentalmente en demostrar al microorganismo en tinciones especiales, las más útiles, metenamina de plata, modificada de Giemsa y Papanicolaou. El apoyo inmunológico es de suma importancia para el diagnóstico, las pruebas más utilizadas son inmunofluorescencia directa, inmunofluorescencia indirecta y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), todas ellas específicas para *P. carinii*.

➤ Los tratamientos de elección para la neumocistosis son fundamentalmente a base de: trimetoprim-sulfametoxazol y pentamidina.

BIBLIOGRAFIA

1. Carmichael A, Bateman N, Nayagam M. **Examination of induced sputum in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.** *Cytopathology* 1991; 2:61-66.
2. Bartlett M, Cushion MT, Fishman JA, et al. **Revised nomenclature for *Pneumocystis carinii*.** *J Euk Microbiol* 1994; 41:121-122.
3. Armengol CE. **A historical review of *Pneumocystis carinii*.** *JAMA* 1995; 276:747-750.
4. Sande MA, Volberding PA. **Manejo médico del SIDA.** In Philip C. Hopewell MD. **Neumonía por *Pneumocystis carinii*.** 2ª edición. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México, DF. 1992; 215-247.
5. Stringer JR, Walzer PD. **Molecular biology and epidemiology of *Pneumocystis carinii* infection in AIDS.** *AIDS* 1996; 10:561-571.
6. Casanova-Cardiel JL, Cedillo R, Garduño G, Muñoz O. **Comparación de dos tinciones en la detección de *Pneumocystis carinii*.** *Rev Invest Clín* 1996; 48:443-447.

7. Smulian AG, Sullivan DW, Linke MJ, et al. **Geographic variation in the humoral response to *Pneumocystis carinii***. J Infect Dis 1993; 167:1243-1247.
8. Carrol E, Russell PF, Jung RC. **Parasitología Clínica. In Otros esporozoa: toxoplasma, sarcocystis, pneumocystis**. Barcelona, 1ª edición. Salvat Editores. 1974; 237-39.
9. Wakefield AE. **DNA sequences identical to *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* in samples of air spora**. J Clin Microbiol 1996; 34:1754-9.
10. Casanova-Cardiel LJ, Leibowitz MJ. **Presence of *Pneumocystis carinii* DNA in a pound water**. J Euk Microbiol 1997; 44:28S.
- 11.-Vogel P, Miller CJ, Lowenstine L, Lackner AA. **Evidence of *Pneumocystis carinii* pneumonia in simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques**. J Infect Dis 1993; 168:836.
12. Bartlett MS, Lee C, Lu J, et al. ***Pneumocystis carinii* detected in air**. J Eukaryot Microbiol 1994; 41:75S.
13. Genner J, Settles O. **Pathological characteristics for the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia**. APMIS. 1990; 98:1098-1104.

14. Leibovitz E, Pollack H, Moore T, et al. **Comparison of PCR and standard cytological staining for detection of *Pneumocystis carinii* from patients with or at high risk for infection by human Immunodeficiency virus.** J Clin Microbiol 1995; 33:3004-7.
15. Kovacs JA, Masur H. **Prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients infected with human immunodeficiency virus.** CID 1992; 14:1005-9.
16. Ruebush TK, 2D, Weinstein RA, Baehner RL, et al. **An outbreak of pneumocystis pneumonia in children with acute lymphocytic leukemia.** Am J Dis Child 1978; 132:143-8.
17. Jacobs JL, Libby DM, Winters RA et al. **A cluster of *Pneumocystis carinii* pneumonia in adults without predisposing illnesses.** N Engl J Med 1991; 324:246-50.
18. Kontoyiannis DP, Rubin RH. **Infection in the organ transplant recipient. An overview.** Infect Dis Clin North Am 1995; 9:811-22.
19. Logan MP, Primack SL, Staples C, et al. **Acute lung disease in the immunocompromised host. Diagnostic accuracy of the chest radiograph.** CHEST 1995; 108:1283-87.

20. Walzer PD, Perl DP, Krogstad DJ, et al. ***Pneumocystis carinii* pneumonia in the United States: Epidemiology, diagnostic, and clinical features.** Ann Intern Med 1974; 80:83-93.
21. Martin WJ. **Pathogenesis of *Pneumocystis carinii* pneumonia.** Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1993; 8:356-57.
22. Walzer PD, Powell RD Jr, Yoneda K. **Experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia in different strains of cortisonized mice.** Infect Immun 1979; 24:939.
23. Peglow SL, Smulian AG, Linke MJ, et al. **Serologic responses to *Pneumocystis carinii* antigens in health and disease.** J Infect Dis 1990; 161:296-306.
24. Hughes WT. ***Pneumocystis carinii* pneumonia.** N Engl J Med 1977; 297:138-3.
25. Hughes WT. ***Pneumocystis carinii* pneumonitis.** N Engl J Med 1987; 317:1021-3.
26. Cushion Mt. **Transmission and epidemiology.** In *Pneumocystis carinii* pneumonia, 2nd edn. Edited by Walzer PD. New York. Marcel Dekker. 1994. 123-140.
27. Meuwissen JH. **Infections with *Pneumocystis carinii*.** Natl Cancer Inst Monogr 1976; 43:133-6.

- 28.Sedaghatian MR, Singer DB. ***Pneumocystis carinii* in children with malignant disease.** Cancer 1972; 29:772-7.
- 29.Settnes OP, Genner J. ***Pneumocystis carinii* in human lungs at autopsy.** Scand J Infect Dis 1986; 18:489-496.
- 30.Wada M, Sunkin SM, Stringer JR, Nakamura Y. **Antigenic variation by positional control of major surface glycoprotein gene expression in *Pneumocystis carinii*.** J Infect Dis 1995; 171:563-1568.
- 31.Sunkin SM, Stringer JR. **Traslocation of surface antigen genes to a unique telomeric expression site in *Pneumocystis carinii*.** Mol Microbiol 1995; 19:283-295.
- 32.Peters SE, Wakefield AE, Sinclair K, et al. **A search for *Pneumocystis carinii* post-mortem lungs by DNA amplification.** J Pathol 1992; 166:195-8.
- 33.Shellito J, Suzara VV, Blumenfeld W, et al. **A new model of *Pneumocystis carinii* infection in mice selectively depleted of helper-T lymphocytes.** J Clin Invest (in press) 1990.

34. VonBehren LA, Pesanti EL. **Uptake and degradation of *Pneumocystis carinii* by macrophages in vitro.** Am Rev Respir Dis 1978; 118:1051.
35. Burke BA, Good RA. ***Pneumocystis carinii*.** Medicine 1973; 52:23.
36. Moss AR, Bacchetti P, Osmond D, et al. **Seropositivity for HIV and development of AIDS or AIDS-related condition. Three year follow-up of the San Francisco General Hospital cohort.** Br Med J 1988; 296:745.
37. Masur H, Ognibene FP, Yarchoan R, et al. **CD4 counts as predictors of opportunistic pneumonias in human immunodeficiency virus (HIV) infection.** Ann Intern Med 1989; 111:223.
38. Yoneda K, Walzer PD. **Attachment of *Pneumocystis carinii* to Type I alveolar cells studied by freeze-fracture electron microscopy.** Infect Immun 1983; 40:812-5.
39. Pottratz ST, Paulsrud JS, Smith S, Martin WJ. ***Pneumocystis carinii* attachment to cultured lung cells by pneumocystis gp 120, a fibronectin binding protein.** J Clin Invest 1991; 88:403-7.

40. Limper AH, Pottratz ST, Martin WJ. **Modulation of *Pneumocystis carinii* adherence to cultured lung cells by a mannose dependent mechanism.** J Lab Clin Med 1991; 118:492-499.
41. Dieterich DT, Lew EA, Bacon DJ, et al. **Gastrointestinal pneumocystis in HIV-infected patients on aerosolized pentamidine: Report of five cases and literature review.** Am J Gastroenterol 1992; 87:1763-1768.
42. Denis CM, Cailliez JC, Delcourt P. **Does *Pneumocystis carinii* remain infectious in the bloodstream?** J Euk Microbiol 1994; 41:86S.
43. Matsuda S, Urata Y, Shiota T, et al. **Disseminated infection of *Pneumocystis carinii* in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome.** Vichows Arch 1989; 414:523-7.
44. Yoneda K, Walzer PD, Richey CS, Birk MG. ***Pneumocystis carinii*: Freeze fracture study of stages of the organism.** Exp parasitol 1982; 53:68-76.
45. Yoshikawa H, Morioka H, Yoshida Y. **Freeze fracture localization of filipinsterol complexes in plasma -and cyto- membranes of *Pneumocystis carinii*.** J Protozol 1987; 34:131.

46. Levy Mg, Meuten DJ, Breitschwerdt EB. **Cultivation of *Rhinosporidium seeberi* in vitro: Interaction with epithelial cells.** *Scientia* 1986; 234:474-6.
- 47.-Ruffolo JJ, Cushion MT, Walzer PD. **Ultrastructural observations of life cycle stages of *Pneumocystis carinii*.** *J protozol* 1989; 36:535-545.
- 48.-Edman JC, Kovacs JA, Masur H et al. **Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi.** *Nature* 1988; 334:519-22.
- 49.-Pixley FJ, Wakefield AE, Banerji S, Hopkin JM. **Mitochondrial gene sequences show fungal homology for *Pneumocystis carinii*.** *Mol Microbiol* 1991; 5:1347-51.
- 50.-Ypma-Wong Mf, Fonzi WA, Sypherd PS. **Fungus-specific translation elongation factor 3 gene present in *Pneumocystis carinii*.** *Infect Immun* 1992; 6:1903-11
- 51.Edman JC, Sogin ML. **Molecular phylogene of *Pneumocystis carinii*.** In: Walzer PD. ***Pneumocystis carinii** pneumonia.* New York: Marcel Decker. 1994:91-105.
- 52.Lundgren B, Kovacs JA, Nelson NN, et al. ***Pneumocystis carinii* and specific fungi have a common epitope, identified by a monoclonal antibody.** *J Clin Microbiol* 1992; 30:391-5.

53. Li J, Edlin T. **Phylogeny of *Pneumocystis carinii* based on β -tubulin sequence.** J Eukaryot Microbiol 1994; 41:97S.
54. Bauer NL, Paulsrud JR, Bartlett MS, et al. **Monoclonal antibodies to *Pneumocystis carinii* organisms obtained from rats, ferrets, and mice are antigenically different.** Infect Immun 1993; 61:1315-1319.
55. Linke MJ, Smulian AG, Yoshihara P, Walzer PD. **Production and characterization of monoclonal antibodies specific for the major surface glycoprotein of *Pneumocystis carinii*.** J Eukaryot Microbiol 1994; 41:995-1005.
56. Mazars E, Odberg-Ferragut C, Durand I, et al. **Genomic and isoenzymatic markers of *Pneumocystis* from different host species.** J Eukaryot Microbiol 1994; 41:1045.
57. Matsumoto Y, Yoshida Y. **Sporogony in *Pneumocystis carinii*: synaptonemal complexes and meiotic nuclear divisions observed in precysts.** J Protozol 1984; 31:420-428.
58. Wehlek K, Blanke M, Koenig G, Pfitzer P. **The cytological diagnosis of *Pneumocystis carinii* by fluorescence microscopy of Papanicolaou stained bronchoalveolar lavage specimens.** Cytopathology 1991; 2:113-120.

59. Ghali VS, García RL, Skolon J. **Fluorescence of *P. carinii* in Papanicolaou smears.** Hum Pathol 1984; 15:907-9
60. Raviglione MC. **Extrapulmonary pneumocystosis. The first 50 cases.** Rev Infect Dis 1990; 12:1127-1137.
61. Donald WN, Clement MJ, Safrin S. **Extrapulmonary pneumocystosis: Clinical features in human immunodeficiency virus infection.** Medicine-Baltimore 1990; 69:392-398.
62. Wasserman L, Haghighi P. **Otic and ophthalmic pneumocystosis in acquired immunodeficiency syndrome. Report of case and review of the literature.** Arch Pathol Lab Med 1992; 116:500-3.
63. Smith MA, Hirschfield LS, ZahtzG, Siegal FP. ***Pneumocystis carinii* otitis media.** Am J Med 1988; 85:745-746.
64. Macher AM, Bardenstein DS, Zimmerman LE, et al. ***Pneumocystis carinii* choroiditis in a male homosexual with AIDS and disseminated pulmonary and extrapulmonary *P. carinii* infection.** N Engl J Med 1987; 316:1092.

65. Freeman WR, Gross JG, Labelle J, et al. ***Pneumocystis carinii* choroidopathy.**
Arch Ophthalmol 1989; 107:863-867.
66. Bartlett JA, Hulette C. **Central nervous system pneumocystosis in a patient with AIDS.** CID 1997, 25:82-5.
67. Logan MP, Primack SL, Staples C, et al. **Acute lung disease in the immunocompromised host. Diagnostic accuracy of the chest radiograph.**
CHEST 1995; 108:1283-7.
68. Weldon-Linne CM, Rhone DP, Bourassa R. **Bronchoscopy Specimens in adults with AIDS. Comparative yields of cytology, histology and culture for diagnosis of infectious agents.** CHEST 1990; 98:24-8.
69. Cregan P, Yamamoto A, Lum A, et. al. **Comparison of four methods for rapid detection of *Pneumocystis carinii* in respiratory specimens.** J Clin Microbiol 1990; 28:2432-6.
70. Schumann GB, Swensen JJ. **Comparison of papanicolaous stain with the gomori methenamine silver (GMS) stain for the cytodiagnosis of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage (BAL) fluid.** Clinical Microbiology and Clinical Chemistry 1991; 95:583-586.

71. Naimey GL, Wuerker RB. **Comparison of histologic stains in the diagnosis of *Pneumocystis carinii***. Acta Cytol 1995; 39:1124-7.
72. Greaves TS, Strigle SM. **The recognition of *Pneumocystis carinii* in routine Papanicolaou-stained smears**. Acta Cytol 1985; 29:714-6.
73. Dugan JM, Avitabile AM, Rossman MD, et al. **Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia by cytologic evaluation of Papanicolaou-stained bronchial specimens**. Diagn Cytopathol 1988; 4:106-112.
74. Stanley MW, Henry MJ, Iber C. **Foamy alveolar casts: diagnostic specificity for *Pneumocystis carinii* pneumonia in bronchoalveolar lavage fluid cytology**. Diagn Cytopathol 1988; 4:112-115.
75. Armbruster C, Pokieser L, Hassl A. **Diagnosis of *Pneumocystis carinii* Pneumonia by bronchoalveolar lavage in AIDS patients. Comparison of Diff-Quik, Fungifluor stain, Direct Immunofluorescence Test and Polymerase chain reaction**. Acta cytol 1995; 39:1089-1093.
76. Blumenfeld W, Griffiss M. **In vitro differentiation of human-derived *Pneumocystis carinii***. J Clin Microbiol 1989; 27:480-485.

77. Cushion MT, Walzer PD. **Growth and serial passage of *Pneumocystis carinii* in the A549 cell line.** Infect Immun 1984; 44:245-251.
78. Contini C, Mastrantonio S, Romani R, et al. **Evidence of *Pneumocystis carinii* in cell line cultures infected with peripheral blood mononuclear cells isolated from AID patients with *P. carinii* pneumonia.** J Med Microbiol 1995; 42:394-8.
79. Ishimaru T, Shimono N, Sawae Y, Niho Y. **Purification of *Pneumocystis carinii* Trophozoites and Identification of Their Circulating Antigens.** J Clin Microbiol 1992; 30:3263-7.
80. Walzer PD, Stanforth D, Linke MJ, Cushion MT. ***Pneumocystis carinii*: immunoblotting and immunofluorescent analyses of serum antibodies during experimental rat infection and recovery.** Exp Parasitol 1987; 63:319-328.
81. Ivady G, Paldy L, Koltay M, et al. ***Pneumocystis carinii* pneumonia.** Lancet 1967; 1:616.
82. Kirby HB, Kenamore B, Guckian JL. ***Pneumocystis carinii* treated with pyramethamine and sulfadiazine.** Ann Intern Med 1971; 75:505.

83. Hughes WT. **Treatment of *Pneumocystis carinii* pneumonitis.** N Engl J Med 1976; 295:726.
84. Walzer PD, Foy J, Steele P, White M. **Treatment of experimental pneumocystosis: review of 7 years of experience and development of a new system for classifying antimicrobial drugs.** Antimicrob Agents Chemother 1992; 36:1943-1950.
85. Contini C, Colombo D, Cultrera R, et al. **Employment of terbinafine against *Pneumocystis carinii* infection in rat models.** British Journal of Dermatology 1996; 134:30-32.
86. Bartlett MS, Queener SF, Shaw MM, et al. ***Pneumocystis carinii* is resistant to imidazole antifungal agents.** Antimicrob Agents Chemother 1994; 38:1959-1961.
87. Hughes WT, Kuhn S, Chaudhary S, et al. **Successful chemoprophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonitis.** N Engl J Med 1991; 324:1079-1083.
88. Sepkowitz KA. **Profilaxis para neumonía.** Infectología 1996; 5:192-194.