

ARCHIVO HISTÓRICO



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín de la Escuela de Medicina**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de ciencias médicas**. El contenido del presente artículo, no necesariamente representa la actual línea editorial. Para mayor información visitar el siguiente

vínculo: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>

Infección pulmonar por *Pneumocystis carinii*: microorganismo, anatomía patológica y diagnóstico

DR. DAVID ODDO BENAVIDES
Departamento de Anatomía Patológica

Pneumocystis carinii es un microorganismo que se encuentra como saprófito en el tracto respiratorio humano y de otras especies animales (1). Sólo bajo condiciones especiales produce los cuadros infecciosos graves conocidos como neumonía plasmocelular, neumonía neumocística y *pneumocystosis* diseminada (1-4).

Si bien actualmente se conocen bastante bien su estructura y ultraestructura, así como también las lesiones anatómicas a las cuales se asocia, persisten dudas acerca de su ubicación taxonómica y ciclo biológico (1-5).

Desde 1984, aproximadamente, todo espécimen sospechoso de contener *Pneumocystis carinii* es estudiado en nuestro departamento dirigidamente, con una serie de técnicas histoquímicas, que incluyen: hematoxilina & eosina, Gomori-Grocott, Giemsa, toluidina O, tinción de Papanicolaou, la modificación de McCallum-Goodpasture de la tinción de Gram y algunas tinciones ácido-alcohol resistentes. También, empleamos microscopía electrónica de transmisión. Este estudio metódico nos ha permitido reunir casi una treintena de casos muy bien estudiados que constituyen una de las casuísticas más importantes del país.

Sobre la base de nuestro material y de la literatura científica actual pertinente, revisaremos a continuación algunos aspectos referentes al microorganismo, como su taxonomía, ciclo de vida, estructura y ultraestructura, así como algunos relacionados con el daño pulmonar que produce, incluidas las manifestaciones anatomopatológicas de la *pneumocystosis* pulmonar y su diagnóstico.

TAXONOMIA

La mayoría de los investigadores han aceptado que *Pneumocystis carinii* es un protista (1). Sin embargo, se han propuesto otras alterna-

tivas, entre las cuales destacan las que suponen que más bien correspondería a una reacción celular patológica, más específicamente a estructuras mitocondriales modificadas liposomalmente. También se ha sugerido que representan células reservorio de citomegalovirus (5-7). No obstante, las evidencias morfológicas nos inducen a aceptar que es un microorganismo de ubicación taxonómica no definida aún y con un ciclo de vida incompletamente conocido (1, 5).

Desde su descripción, se ha asumido la naturaleza protozoaria de *Pneumocystis carinii* (1), ligándole a varias órdenes y clases. Incluso, se ha postulado que se trata de un protozoo asociado con myxovirus (8), pero mayoritariamente se le consideró como un coccidio (1, 5) y luego dentro de un grupo innominado relacionado íntimamente con los microsporidios.

Debido al conocimiento parcial del ciclo de vida de *Pneumocystis carinii*, se ha tratado de incluirlo en varias clases de protozoos que en algún estado de su desarrollo forman quistes o esporas, tales como *Conidiosporidia*, *Sporozoa* y *Sarcodina* (9, 10). Sin embargo, los análisis morfológicos ultraestructurales no han demostrado la presencia de estructuras protozoarias distintivas, como los filamentos polares, plasmodios multinucleados, organelos de "complejo anterior" como anillos polares, conoides, micronemas y roptrias. Tampoco se han observado aparato de Golgi, órganos de locomoción, ni aparato fagocítico (9-11).

Algunos autores propusieron que *Pneumocystis carinii* no era un protozoo, si bien lo consideraban un microorganismo genuino, proponiendo que se trataba de una levadura, e incluso de una levadura infectada

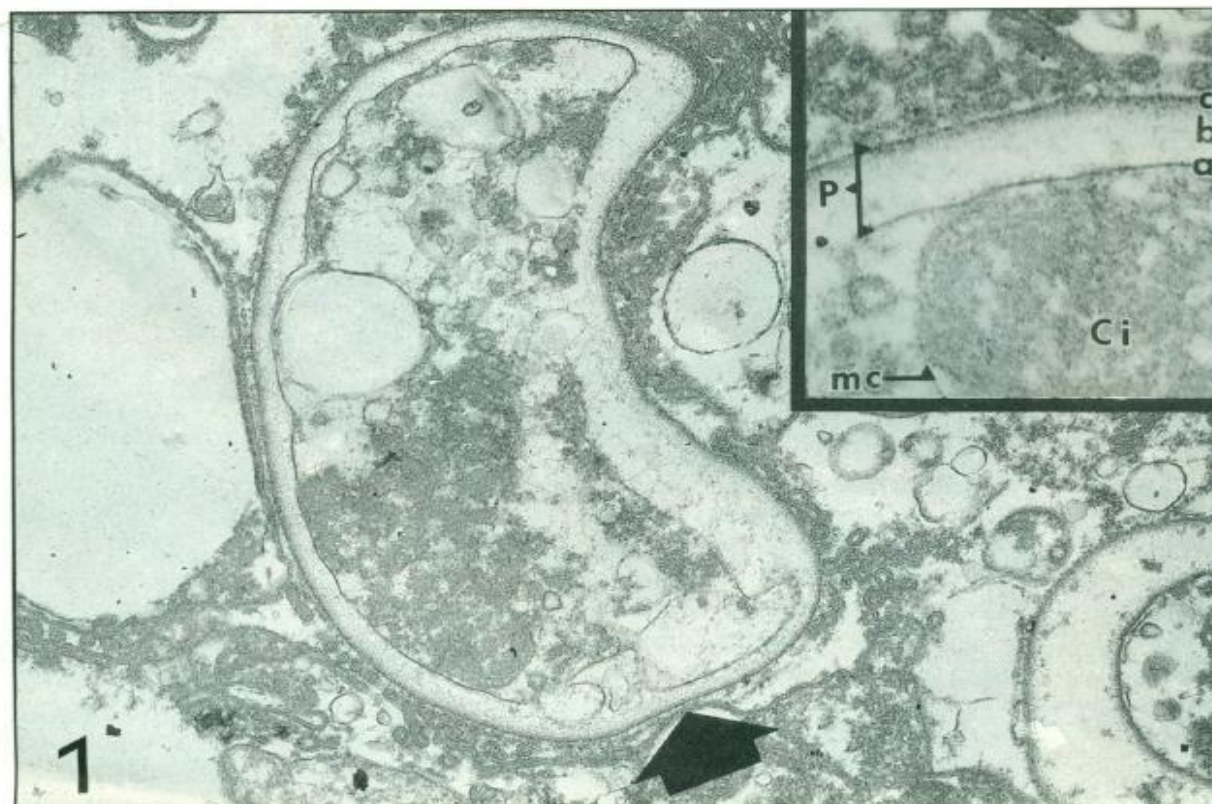


Figura 1. Quiste de *Pneumocystis carinii* (flecha). Microscopía electrónica de transmisión, X 11.300 aumento original. En el recuadro, se observa la gruesa pared del quiste (P), con sus tres estratos: interno (a), medio (b) y externo (c). Adyacente, un cuerpo intraquistico (Ci) y su pared (mc). Microscopía electrónica de transmisión, X 32.100 aumento original.

por virus del tipo influenza. Otros pensaron que se trataba de un microorganismo del tipo PPLO (12).

Los estudios morfológicos ultraestructurales, que de alguna manera han desvirtuado la naturaleza protozoaria de *P. carinii*, han concluido que estructuralmente éste es más parecido a un hongo levaduriforme atípico que a un protozoo, planteando con bases sólidas su naturaleza micótica (9, 10). Por otra parte, los análisis bioquímicos de la pared del quiste de *P. carinii* han demostrado que uno de sus principales componentes es un B-1, 3 glucano, el cual se encuentra frecuentemente en la pared celular de muchos hongos levaduriformes, elemento que es responsable de la impregnación positiva con la técnica de Gomori-Grocott (1, 13). Esta hipótesis es también apoyada por recientes estudios analíticos moleculares de la secuencia del ARN ribosomal de *P. carinii*, que han demostrado que ésta se acerca más a la de *Saccharomyces cerevisiae* que a la de los protozoos (1, 14).

En resumen, actualmente se puede considerar a *P. carinii* como un microorganismo más probablemente de naturaleza micótica, del cual, en base a estudios de antígenos de superficie, existirían dos especies: *Pneumocystis carinii* propiamente tal y de origen animal y *Pneumocystis jiroveci*, de origen humano (1,15), hecho este último no generalizadamente aceptado.

CICLO DE VIDA

El ciclo de vida de *P. carinii* no es completamente conocido. En él se describen dos estructuras o estados principales: el trofozoito y el quiste, ambas de desarrollo extracelular, según la mayoría de los autores (1,16,17).

Los quistes serían la forma infectante, que se transmitiría aéreamente de un animal susceptible a otro, siendo adquiridos por inhalación. En condiciones favorables, el quiste se rompe en el alvéolo pulmonar, liberando ocho trofozoitos haploides, los que principalmente, por copulación, originan trofozoitos diploides, que se desarrollan adheridos a neumocitos tipo I, experimentando dos procesos meióticos que originan un prequiste con cuatro núcleos haploides. Un ulterior proceso

mitótico determina un quiste diferenciado con ocho núcleos haploides, el que luego de una partición citoplasmática, culmina con un quiste con ocho cuerpos intraquísticos, que está en condiciones de repetir el ciclo (1, 17).

ESTRUCTURA Y ULTRAESTRUCTURA

Dos son las variantes morfológicas más distintivas de *P. carinii*: el quiste y el trofozoito.

Quiste. Ultraestructuralmente son reconocibles cuatro estados quísticos: prequiste, quiste maduro, quiste roto y quiste vacío y colapsado. El quiste maduro e intacto es esférico y mide 4-6 μm de diámetro, de superficie totalmente lisa o ligeramente rugosa, con escasas proyecciones digitiformes o filopodios. Posee una gruesa pared de 0,1 a 0,3 μm de espesor, constituida por tres estratos: uno interno correspondiente a una membrana unitaria de 5 a 10 nm; uno medio ancho y electrolúcido, de 40-80 nm, y uno externo electrodensos de 20 a 50 nm. Los quistes contienen 1 a 8 cuerpos intraquísticos de 1 a 1,5 μm de diámetro, esféricos, semilunares o ameboideos, delimitados por una membrana unitaria que está en íntimo contacto con el estrato interno de la pared quística (5, 9, 10, 11) (Figura 1).

Trofozoito. Ultraestructuralmente se reconocen tres estados tróficos: una forma reproductiva, un trofozoito pequeño y un trofozoito grande. El trofozoito pequeño mide 1 a 2 μm , es ameboideo y de superficie muy rugosa, rica en filopodios. El trofozoito grande mide 3 a 8 μm y es pleomorfo. La pared del trofozoito mide 30 a 50 nm de espesor y está constituida por una membrana unitaria interna, una capa media más clara y una membrana unitaria externa (5, 11) (Figura 2).

PATOMORFOLOGIA DE LA PNEUMOCYSTOSIS

El órgano afectado, casi exclusivamente, es el pulmón, aunque cualquier órgano o tejido puede comprometerse, incluyendo especialmente a aquellos ricos en reticuloendotelio como ganglios linfáticos, bazo, hígado y médula ósea (4). También se ha descrito la infección diseminada (4, 18).

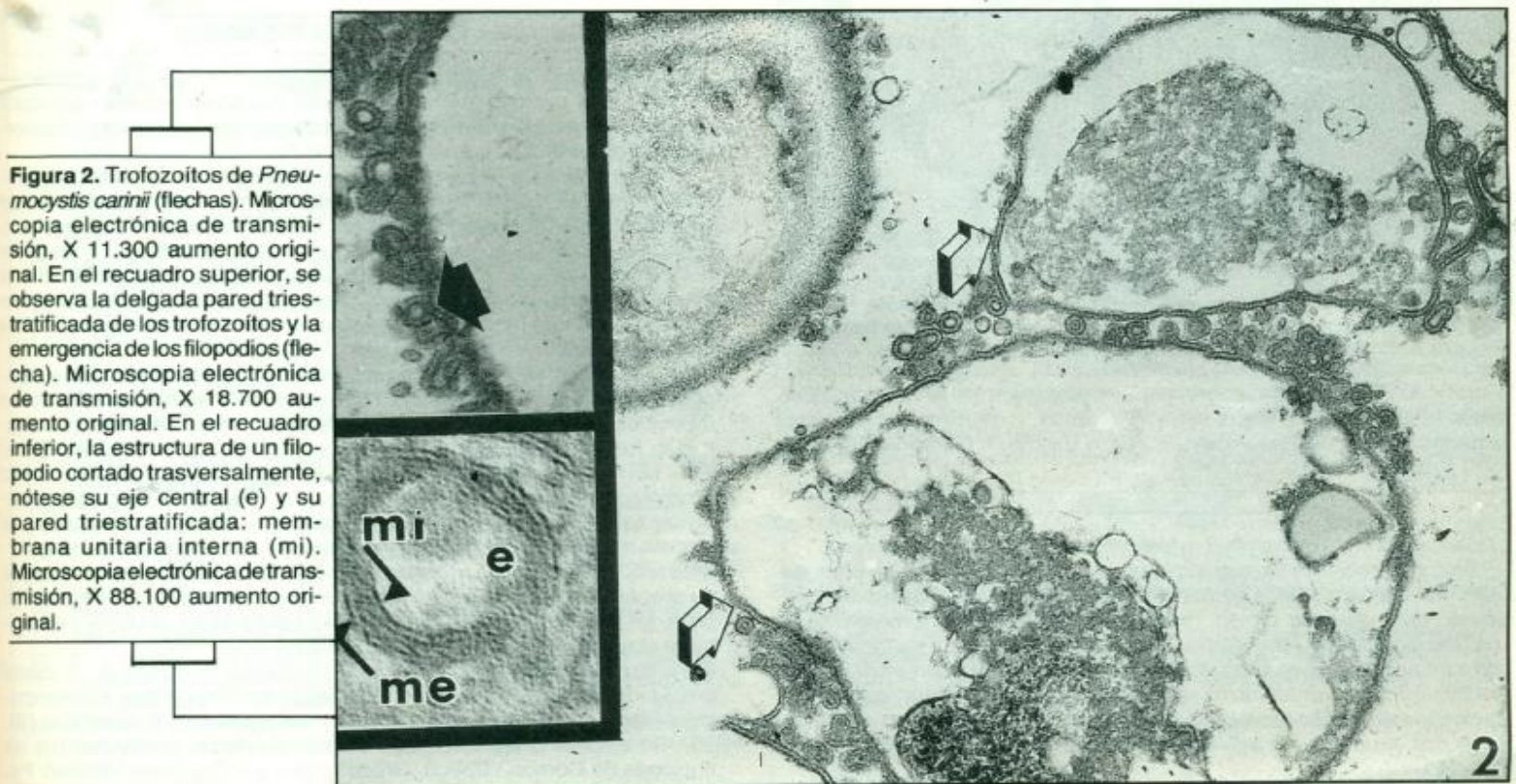


Figura 2. Trofozoitos de *Pneumocystis carinii* (flechas). Microscopía electrónica de transmisión, X 11.300 aumento original. En el recuadro superior, se observa la delgada pared triestratificada de los trofozoitos y la emergencia de los filopodios (flecha). Microscopía electrónica de transmisión, X 18.700 aumento original. En el recuadro inferior, la estructura de un filopodio cortado transversalmente, nótese su eje central (e) y su pared triestratificada: membrana unitaria interna (mi). Microscopía electrónica de transmisión, X 88.100 aumento original.

Se ha observado que el compromiso pulmonar por *P. carinii* presenta diversos sustratos anatomopatológicos, íntimamente relacionados con las condiciones basales de los pacientes afectados, describiéndose dos formas anatomoclínicas básicas: una presente en niños prematuros o desnutridos y otra descrita en pacientes inmunodeprimidos, ya sea oncológico o con SIDA (3, 4, 19).

En niños prematuros o desnutridos, *P. carinii* produce una infección pulmonar que se manifiesta como una neumonía intersticial plasmocelular, difusa y bilateral. Macroscópicamente, los pulmones aparecen moldeados y totalmente hepatizados. Microscópicamente, hay un intenso infiltrado plasmocelular, el cual ensancha los septos alveolares; los espacios alveolares están llenos de exudado espumoso con fibrina y muchos microorganismos (3, 20).

En los pacientes inmunodeprimidos, ya sea con enfermedades neoplásicas, SIDA u otras condiciones, el compromiso pulmonar por *P. carinii* presenta una variedad de cuadros patomorfológicos, los que se han agrupado bajo la denominación de neumonía *pneumocystica* o *pneumocystosis* pulmonar hipóergica. Esta, a su vez, presenta una forma típica y varias formas llamadas atípicas (4, 19, 21).

La forma típica, usual o clásica de la *pneumocystosis* pulmonar tiene, macroscópicamente, un compromiso bilateral y difuso. Los pulmones aparecen moldeados, hepatizados, notablemente aumentados de peso, no crepitantes y al corte muy finamente esponjosos. A la observación microscópica, con tinciones corrientes, se aprecia un compromiso alvéolo-intersticial, el espacio alveolar está ocupado por exudado eosinófilo espumoso relativamente acelular, con abundantes microorganismos. Las células del revestimiento alveolar están hipertróficas y con núcleos grandes e hiper cromáticos, descritas por tanto como "displásicas". Los tabiques alveolares están engrosados por edema, con muy escaso o sin infiltrado inflamatorio redondocelular (4, 20, 22) (Figuras 3 y 4).

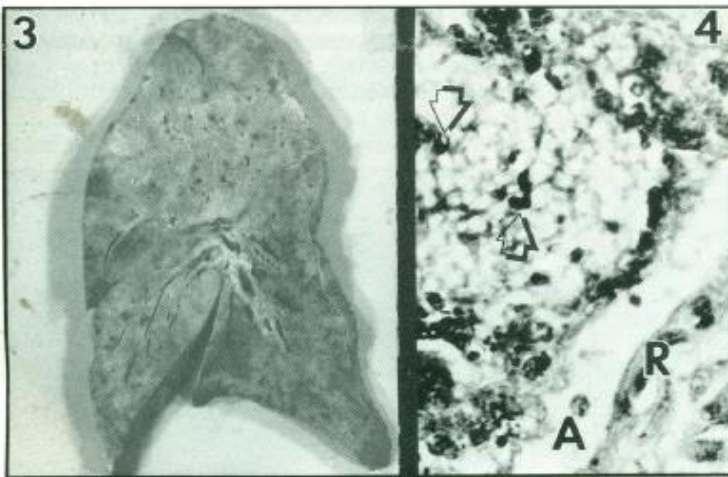


Figura 3. Pulmón hepatizado de una *pneumocystosis* usual.

Figura 4. *Pneumocystosis* pulmonar usual. Nótese el revestimiento alveolar prominente (R) y el espacio alveolar, material espumoso con algunos quistes de *Pneumocystis carinii* (flechas). Gomori-Grocott, X 500 aumento original.

Bajo el nombre de formas atípicas de *pneumocystosis* pulmonar, se agrupan varios modelos de daño anatomopatológico (Figuras 5 y 6) a saber: daño alveolar difuso, granulomas epiteloideos, exudativo con células gigantes multinucleadas de tipo cuerpo extraño, exudativo con descamación de macrófagos alveolares, productivo con infiltrado intersticial linfóide, productivo con fibrosis intersticial, alterativo con necrosis y excavación focal, con bronquiolititis obliterante, con calcificación del exudado intraalveolar, con masa endobronquial (4, 19, 20-22).

Estudios recientes han demostrado que cerca del 40% de los pacientes inmunodeprimidos con infección pulmonar por *P. carinii* tienen como sustrato anatomopatológico algunas de estas formas atípicas, especialmente un daño alveolar difuso (19). Por ende, resulta de la mayor importancia conocer y reconocer estas formas de *pneumocystosis* pulmonar atípicas para identificar en ellas, a través de las técnicas especiales correspondientes, a *Pneumocystis carinii*.

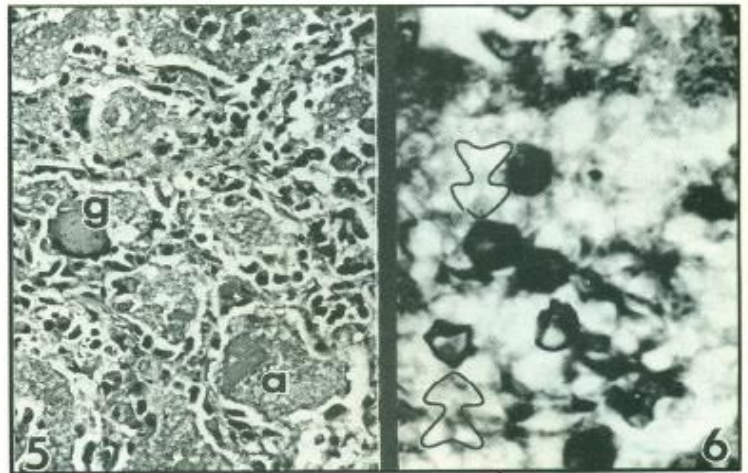


Figura 5. *Pneumocystosis* pulmonar, forma atípica. Nótese las células gigantes (g) en los espacios alveolares junto al material espumoso (a). Hematoxilina & eosina, X 200 aumento original.

Figura 6. Quistes de *Pneumocystis carinii* (flechas) en los espacios alveolares, de una *pneumocystosis* pulmonar, forma atípica. Gomori-Grocott, X 1.250, aumento original.

DIAGNOSTICO DE LA INFECCION PULMONAR

El diagnóstico de certeza de *pneumocystosis* exige la demostración de su agente etiológico. En ausencia de métodos de cultivo prácticos y de pruebas serológicas confiables, el diagnóstico es actualmente morfológico (20, 22, 23).

El diagnóstico de *P. carinii* puede establecerse en muestras obtenidas por métodos no invasivos, por tanto habitualmente rápidos, como es esputo inducido, lavado bronquial, lavado broncoalveolar, cepillado bronquial, material aspirado con aguja fina o aspirado endotraqueal (24). El diagnóstico también puede hacerse en muestras obtenidas a través de técnicas invasivas, por tanto más lentas, como la biopsia transbronquial, la biopsia quirúrgica a cielo abierto y, por último, en la autopsia (22-24).

Independientemente de la técnica histoquímica empleada para identificar alguno de los estados morfológicos de *P. carinii*, la positividad de estos exámenes varía ampliamente según el tipo de muestra a examinar. La positividad del examen del esputo inducido varía del 15% al 78% (24), la positividad del cepillado es del 41%-82% y la del lavado y cepillado broncoscópico es del 64% al 100% (24). La biopsia transbronquial provee un diagnóstico en el 53% al 100% de los casos y la biopsia a cielo abierto tiene una positividad cercana al 100% (24).

El rendimiento de las muestras citológicas también se ve influido por su preparación: en improntas la positividad es del 88%, en frotis es del 58%, en filtrados es del 34%, en blocks celulares es del 80% y en material obtenido con "Cytospins" es del 43% (24).

Ya sea en muestras citológicas o en muestras de tejido, *P. carinii* puede identificarse a través de técnicas histocitoquímicas e inmunocitoquímicas, destinadas a demostrar formas quísticas y trofozoíticas (20, 25). Se emplean para evidenciar formas quísticas, principalmente las tinciones de Gomori-Grocott, Grocott, toluidina O y Gram-Weigert. Pa-

ra formas trofozoíticas y cuerpos intraquísticos se utilizan las tinciones de Cresil-violeta, May-Grünwald-Giemsa, tinciones del tipo Romanovsky como Giemsa, Wright-Giemsa y Diff-Quik (20, 22, 24, 26, 27).

Las tinciones de hematoxilina & eosina y *Papanicolaou* se emplean rutinariamente en los estudios histológicos y citológicos, respectivamente. Su mayor valor consiste en la orientación diagnóstica que pueden proporcionar, ya que suelen demostrar fácilmente el material espumoso, presente frecuentemente en la *pneumocystosis* (11, 20). La tinción de Papanicolaou observada bajo luz ultravioleta al microscopio de fluorescencia permite observar quistes de *Pneumocystis carinii*, pues en estas condiciones aparecen autofluorescentes (22).

Si bien se dispone de la serie de técnicas antes mencionadas para poder identificar alguno de los estados de *Pneumocystis carinii*, su rendimiento en la identificación del agente es variable y se ve influido por varios factores dependientes de la técnica misma y fundamentalmente de la expedición y experiencia de los observadores. Según nuestra experiencia, y de acuerdo a la de la mayoría de los autores, el mejor rendimiento se obtiene con la impregnación argéntica de Gomori-Grocott, cuya positividad es cercana al 90% (11, 24). En orden decreciente de positividad le siguen, según las publicaciones recientes, el Cresil-violeta con 78%, Diff-Quik con 70%, *Papnicolaou* y *Papanicolaou* con luz ultravioleta con 55%, Gram-Weigert con 40% y Giemsa con sólo 29% (24) (Figura 7).

Las técnicas inmunohistoquímicas con anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos o cromógenos, contra los diversos estados de *P. carinii*, han proveído de un método rápido y altamente confiable para la identificación de este agente, en especial de muestras escasas o muy contaminadas, así como también cuando su diagnóstico diferencial, desde un punto de vista morfológico, se torna muy difícil. Sin embargo, no se ha demostrado que puedan reemplazar a las técnicas histoquímicas ni que acorten significativamente el lapso requerido para hacer el diagnóstico (25).

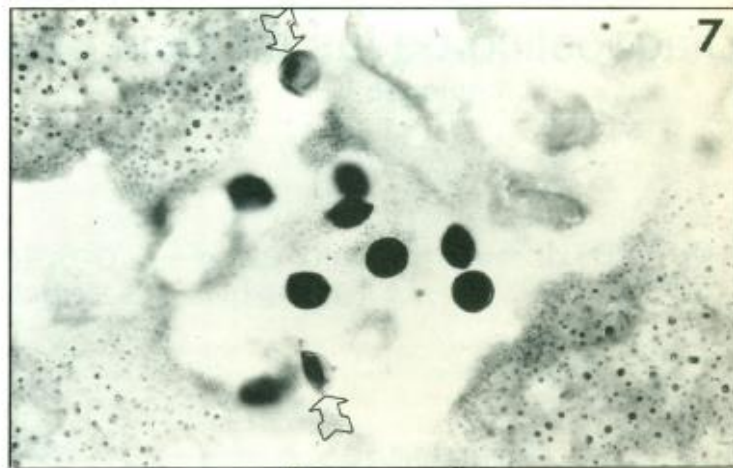


Figura 7. Quistes de *Pneumocystis carinii* en muestra citológica. Las flechas indican dos formas colapsadas típicas. Gomori-Grocott, X 500 aumento original.

El diagnóstico morfológico diferencial de *P. carinii*, cuando se emplea la técnica de Gomori-Grocott, debe considerar a elementos como hematíes, núcleos desnudos y detritos celulares, así como otros agentes infecciosos como hongos levaduriformes, incluidos *Torulopsis glabrata*, *Candida spp*, *Histoplasma Capsulatum* y *Cryptococcus*, además de elementos parasitarios como esporas de *Nosema spp* (11, 20, 22, 28).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Gutiérrez, Y. The biology of *Pneumocystis carinii*. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6:203-211.
- Gadjusek, D.C. *Pneumocystis carinii*. Etiologic agent of interstitial plasma cell pneumonia of premature and young infant. *Pediatrics* 1957; 19:543-565.
- Dutz, W. *Pneumocystis carinii* pneumonia. En: Sommers, ShC: *Pulmonary Pathology decennial, 1966-1975*. New York, Appleton-Century-Crofts, 1975; 217-257.
- Gal, A., Koss, M., Strigle, S., Angritt, P. *Pneumocystis carinii* infection in the acquired immune deficiency syndrome. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6:287-299.
- Bedrossian, C. Ultrastructure of *Pneumocystis carinii*. A review of internal and surface characteristics. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6:212-237.
- Beautyman, W. *Pneumocystis carinii* is an endogenous liposomally modified mitochondrion. *Med Hypotheses* 1983; 10:281-289.
- Wang, N.S., Huang, S.W., Thurlbeck, W.M. Combined *Pneumocystis carinii* and cytomegalovirus infection. *Arch Pathol* 1970; 90:529-535.
- Vawter, G.F., Uzman, B.G., Edlow, J.B. et al. Electron microscopic and histochemical studies of *Pneumocystis pneumonia*. *Am J Pathol* 1968; 52:17a-18a.
- Vavra, J., Kucera, K. *Pneumocystis carinii* Delanoe, its ultrastructure and ultrastructure affinities. *J Protozool* 1970; 17:643-483.
- Haque, A., Plattner, B., Cook, R.T., Hart, M.W. *Pneumocystis carinii*. Taxonomy viewed by electron microscopy. *Am J Clin Pathol* 1987; 87:504-510.
- Oddó, D., Vial, M.T., Henríquez, A. *Pneumocystis carinii*. Estudio con microscopía óptica y electrónica en 16 pacientes. *Rev Med Chile* 1990; 118:269-274.
- Timmel, H. Morphologischer Beitrag zum *Pneumocystis* problem. *Zentralbl Allg Pathol* 1981; 102:439-448.
- Matsumoto, Y., Matsuda, S., Tegoshi, T. Yeast glucan in the cyst wall of *Pneumocystis carinii*. Meeting of the Society of Protozoologist, Bristol, England, July 1988: 18-21 (Abstr).
- Edman, J.C., Kovacs, J.A., Masur, H. et al. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature* 1988; 334:519-522.
- Frenkel, J.K. *Pneumocystis jiroveci* sp from man: Morphology, physiology and immunology in relation to pathology. *Natl Cancer Inst Monogr* 1976; 43:13-27.
- Yoneda, K., Waltzer, P.D. Interaction of *Pneumocystis carinii* with host lungs: An ultrastructure study. *Infect Immun* 1980; 29:692-703.
- Matsumoto, Y., Yoshida, Y. *Advances in Pneumocystis biology*. *Parasitol Today* 1986; 2:137-142.
- Matsuda, S., Urata, Y., Shiota, T. et al. Disseminated infection of *Pneumocystis carinii* in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. *Virchow Arch, A Cell Pathol* 1989; 414:523-527.
- Luna, M., Cleary, K. Spectrum of pathologic manifestations of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with neoplastic diseases. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6:262-272.
- Mierowitz, R.L. *Pneumocystis carinii* pneumonitis. En: Mierowitz, R.L. *The pathology of opportunistic infections*. New York, Raven Press 1982: 213-223.
- Saldana, M.J., Mones, J.M. Cavitation and other atypical manifestations of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6:273-286.
- Oddó, D. Parasitosis en inmunodeprimidos. *Diagnóstico anatomopatológico. Parasitología al Día* 1987; 11:19-26.
- Armstrong, D., Gersten, M. Laboratory diagnosis of fungal and parasitic diseases in patient with neoplastic disease. En: *Klastersky, J. Infections in cancer patients*. New York, Raven Press, 1982: 55-71.
- Bedrossian, C., Mason, M., Gupta, P. Rapid cytologic diagnosis of *Pneumocystis carinii*: A comparison of effective techniques. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6:245-261.
- Linder, J., Radio, S. Immunohistochemistry of *Pneumocystis carinii*. *Semin Diagn Pathol* 1989; 6:238-244.
- Musto, L., Flanagan, M., Elbadawi, A. Ten minutes silver stain for *Pneumocystis carinii* and fungi in tissue. *Arch Pathol Lab Med* 1982; 106:292-294.
- Pintozzi, R.L., Bleck, L.J., Nanos, S. The morphologic identification of *Pneumocystis carinii*. *Acta Cytol* 1979; 23:35-39.
- Young, R.C., Bennett, J.E., Chu, E.W. Organisms mimicking *Pneumocystis carinii*. *Lancet* 1976; 13:1082-1083.