

Coinfección con *Pneumocystis jiroveci* y otros patógenos respiratorios

Co-infection of Pneumocystis jiroveci with other respiratory pathogens

Confecção com Pneumocystis jiroveci e outros patógenos respiratórios

► María de las Mercedes Romero¹, Mirta Robles², Raúl Prieto³, Amadeo Javier Bava⁴

¹ Bioquímica. Residencia de Microbiología. Hospital de Enfermedades Infecciosas "Francisco J Muñiz".

² Médica Microbióloga. Laboratorio de Microbacteriología. Hospital de Enfermedades Infecciosas "Francisco Javier Muñiz". Buenos Aires. Argentina.

³ Médico. Especialista en Enfermedades Infecciosas. Jefe de la Unidad de Cuidados Intensivos Respiratorios (UCIR). Hospital de Enfermedades Infecciosas "Francisco Javier Muñiz". Buenos Aires. Argentina.

⁴ Doctor en Medicina. Jefe de la Sección Parasitología. Hospital de Enfermedades Infecciosas "Francisco Javier Muñiz". Buenos Aires. Argentina.

Profesor de la Cátedra de Micología. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. La Plata. Pcia. de Buenos Aires. Argentina.

Resumen

Se evaluó la eventual asociación de *P. jiroveci* con otros patógenos respiratorios bacterianos, fúngicos y parasitarios, en 50 secreciones respiratorias obtenidas por lavado broncoalveolar, pertenecientes a pacientes con SIDA internados en la Unidad de Cuidados Intensivos Respiratorios del Hospital Muñiz. Las muestras fueron procesadas en los diferentes Laboratorios del Hospital Muñiz, consecutivamente, entre el 20 de noviembre de 2008 y el 1 de julio de 2010, y fueron positivas para la presencia de *Pneumocystis jiroveci* por microscopia en este Laboratorio. Los resultados obtenidos revelaron la presencia de co-infección en 7 (14%) de las muestras examinadas, cifra menor a la esperada, teniendo en cuenta el deterioro inmunológico de los pacientes evaluados. *Staphylococcus aureus* y *Acinetobacter* sp. fueron los patógenos bacterianos más frecuentemente aislados, mientras *C. neoformans* fue encontrado como único co-patógeno fúngico. *Mycobacterium tuberculosis*, otras micobacterias y parásitos no fueron identificados en las muestras evaluadas. El número de co-infecciones detectadas puede haber sido influido por la administración de tratamientos empíricos antimicrobianos, la no inclusión de estudios virológicos y el transporte inadecuado de las muestras. Las coinfecciones de *P. jiroveci* con otros patógenos respiratorios deberá tenerse en cuenta a la hora de establecer un adecuado tratamiento antiinfeccioso en los pacientes con SIDA y patología respiratoria.

Palabras clave: neumocitosis pulmonar * *Pneumocystis jiroveci* * infecciones pulmonares mixtas

Summary

The eventual co-infection of *P. jiroveci* with bacterial, fungal and parasitologic respiratory pathogens in 50 respiratory secretions, obtained by bronchoalveolar lavage, was evaluated. The samples belonged to AIDS patients treated at the Respiratory Intensive Care Unit of Muñiz Hospital.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

They were consecutively processed between 20/11/08 and 1/7/10 in different laboratories of Muñiz Hospital, resulting all of them positive for the presence of *Pneumocystis jiroveci* by microscopy in this Laboratory. The results obtained revealed co-infection in 7 (14%) of the evaluated samples, these values being lower than those expected, probably on account of the impaired immunologic status of the patients evaluated. *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter* sp. were the bacterial co-pathogens more frequently isolated; while *Cryptococcus neoformans* was encountered as the unique fungal co-pathogen. Neither *Mycobacterium tuberculosis* nor other mycobacterial or parasites were identified in the evaluated samples. Empiric antibiotic treatment, the absence of studies to detect viral pathogens, and inadequate handling of the samples could have decreased the number of co-infections detected. The co-infection of *P. jiroveci* with other respiratory pathogens must be taken into account at the time of evaluating an adequate anti-infective treatment in AIDS patients with respiratory disease.

Key words: pulmonary neumocystosis * *Pneumocystis jiroveci* * mixed pulmonary infections

Resumo

Avaliou-se a eventual associação de *P. jiroveci* com outros patógenos respiratórios bacterianos, fúngicos e parasitários, em 50 secreções respiratórias obtidas por lavagem broncoalveolar, pertencentes a pacientes com AIDS internados na Unidade de Cuidados Intensivos Respiratórios do Hospital Muñiz. As amostras foram processadas nos diferentes Laboratórios do Hospital Muñiz, em forma consecutiva, entre os dias 20 de novembro de 2008 e 1 de julho de 2010, e foram positivas para a presença de *Pneumocystis jiroveci* por microscopia neste Laboratório. Os resultados obtidos revelaram a presença de co-infecção em 7 (14%) das amostras examinadas, cifra menor à esperada, levando em consideração a deterioração imunológica dos pacientes avaliados. *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter* sp. foram os patógenos bacterianos mais frequentemente isolados; enquanto que *C. neoformans* foi encontrado como único co-patógeno fúngico. *Mycobacterium tuberculosis*, outras micobactérias e parasitas não foram identificadas nas amostras avaliadas. O número de co-infecções detectadas pode ter sido influenciado pela administração de tratamentos empíricos antimicrobianos, a não inclusão de estudos virológicos e o transporte inadequado das amostras. As co-infecções de *P. jiroveci* com outros patógenos respiratórios deverá ser levada em conta no momento de estabelecer um adequado tratamento anti-infeccioso nos pacientes com AIDS e patologia respiratória.

Palavras chave: pneumocistose pulmonar* *Pneumocystis jiroveci* * infecções pulmonares mistas

Introducción

La neumocistosis pulmonar (PCP) es una de las infecciones oportunistas más frecuentes en los pacientes con SIDA (1). En este laboratorio, en un estudio previo, se confirmó la presunción diagnóstica de PCP en cerca del 35% de las secreciones respiratorias remitidas para investigar la presencia de *Pneumocystis jiroveci* (*P. jiroveci*) pertenecientes a pacientes con SIDA internados en la Unidad de Cuidados Intensivos Respiratorios (UCIR) del Hospital Muñiz (2).

La muestra de elección para el diagnóstico de la PCP se obtiene por lavado broncoalveolar (LBA), y la aplicación de diversas técnicas microscópicas permite reconocer, los diferentes estadios del microorganismo causal (3-5).

La microscopia en fresco revela “exudados espumosos” en las muestras respiratorias, los cuales provienen

del alvéolo pulmonar y permiten el diagnóstico certero (6). Otras técnicas de microscopia se basan en coloraciones, como las de Giemsa, Azul de toluidina O o Grocott (5). La inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales posee mayor sensibilidad que las anteriores, aunque también implica mayores costos y equipamiento (7).

La susceptibilidad de los pacientes con SIDA a padecer infecciones por varios microorganismos (bacterias, virus, hongos y parásitos) en forma concomitante se relaciona con su severo compromiso inmunológico, lo cual sería igualmente aplicable a los episodios de PCP (8).

El propósito de este trabajo es determinar eventuales asociaciones del agente causal de la PCP, *P. jiroveci*, con otros patógenos respiratorios primarios o potenciales (exceptuando los virus), en los pacientes con SIDA y diagnóstico presuntivo de PCP internados en la UCIR del Hospital Muñiz.

Materiales y Métodos

Se evaluaron 49 secreciones respiratorias obtenidas por LBA, procesadas en forma consecutiva en los laboratorios de Parasitología, Micobacteriología, Micología y Bacteriología del Hospital Muñiz, entre el 20 de noviembre de 2008 y el 1 de julio de 2010. Todas ellas fueron positivas para la presencia de *P. jiroveci* por microscopia y pertenecían a pacientes con SIDA internados en la UCIR.

Fueron tenidos en cuenta los resultados obtenidos en los respectivos laboratorios para la investigación de parásitos (microscopia), hongos (microscopia y cultivos), bacterias potencialmente patógenas (cultivos) y micobacterias (microscopia y cultivos).

La presencia de *P. jiroveci* fue puesta de manifiesto por la visualización de exudados espumosos (patognomónicos de la PCP) en el examen en fresco del concentrado de los materiales remitidos (6). Con aquellas muestras que resultaron positivas se realizaron extendidos que se colorearon con una modificación rápida de la técnica de Grocott (9).

La coloración de Kinyoun se aplicó a la investigación de *Nocardia* sp. y ooquistes de *Cryptosporidium* sp. y *Cyclospora cayentaniensis*, todos ellos ácido-resistentes. Los resultados de los cultivos para la investigación de hongos y bacterias fueron obtenidos de las correspondientes historias clínicas.

La coloración de Ziehl-Neelsen y los cultivos en medios de Lowenstein-Jensen y con piruvato de sodio se aplicaron a los concentrados de los materiales previamente decontaminados y homogeneizados con el método de Petroff, para la investigación de micobacterias (10).

En el laboratorio de Bacteriología se efectuó el estudio microscópico, previa coloración de Gram, a los concentrados para determinar su celularidad y contenido bacteriano; luego fueron evaluados cuantitativamente por cultivo en agar sangre de carnero y agar chocolate. Las bacterias potencialmente neumopatógenas fueron jerarquizadas según el tipo y celularidad presentes en la microscopia y la concentración de unidades formadoras de colonias ($>10^4$ UFC/mL) desarrolladas.

Resultados

En 7 (14%) de los materiales investigados se identificó algún co-patógeno respiratorio: *Staphylococcus aureus* (n=3), *Acinetobacter* sp. (n=2) y *Klebsiella pneumoniae* (n=1) entre las bacterias y *Cryptococcus neoformans* (n=1) entre los hongos.

La microscopia para micobacterias y parásitos (examen en fresco y diferentes coloraciones) de las muestras fue negativa en todos los casos, así como los cultivos para hongos y micobacterias.

Discusión y Conclusiones

La elevada prevalencia de la PCP entre los pacientes con SIDA y el profundo deterioro inmunológico de estos pacientes, sugiere la existencia de infecciones respiratorias mixtas, las cuales fueron estimadas en alrededor del 10% en estudios previos, tanto por estos autores (11) como por otros (12).

En el estudio realizado en este laboratorio hubo, sin embargo, diferencias cualitativas con el actual, respecto de la asociación de *P. jiroveci* con *M. tuberculosis* y otras bacterias como *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (11).

La gravedad de presentación de la PCP obliga al tratamiento empírico de estos pacientes, que son diagnosticados en base a sus características clínicas, radiológicas y de laboratorio. Otras veces, el diagnóstico etiológico no se realiza, ante la imposibilidad de obtener secreciones respiratorias mediante LBA. Estos tratamientos, en general de amplio espectro, pueden ocasionalmente tener actividad sobre otros patógenos respiratorios que eventualmente pueden acompañar a *P. jiroveci*, disminuyendo las posibilidades de su recuperación.

Respecto de la metodología de diagnóstico de la PCP empleada en este laboratorio, la misma ha resultado rápida, económica, se encuentra al alcance de laboratorios de baja complejidad y se ha mostrado eficaz en la identificación de *P. jiroveci* en los pacientes internados en este Hospital (2) (11). Cuando se comparó la microscopia en fresco con la inmunofluorescencia directa en estos mismos materiales, los resultados obtenidos fueron similares (6). Cabe recordar que, teniendo en cuenta el tipo de pacientes asistidos en el Hospital Muñiz, por lo general inmunodeprimidos y portadores de múltiples infecciones, la metodología elegida es aquella que posee mayores posibilidades de visualizar una amplia gama de microorganismos y no únicamente a *P. jiroveci* (2).

La inmunodepresión severa de los pacientes con SIDA, en particular los internados en la UCIR, favorece la asociación de procesos infecciosos, los cuales eventualmente pueden incluir a *P. jiroveci*. No obstante, la microscopia de las secreciones respiratorias remitidas a este laboratorio para el diagnóstico de PCP, sólo esporádicamente muestran asociación de *P. jiroveci* con otros patógenos respiratorios y/o sistémicos (ya sea parásitos, bacterias u hongos), sugiriendo que la misma es rara.

Mootsikapun *et al.* (12) hallaron una coexistencia de infecciones pulmonares del 10,5%, siendo la asociación de *P. jiroveci* y *C. neoformans* la más frecuente.

En el presente estudio, el porcentaje de coinfecciones podría haber sido mayor, de haberse incluido en él estudios virológicos de los materiales, teniendo en cuenta la importancia de las infecciones virales (13).

Se agrega a ello el hecho de que, probablemente, los tratamientos antibióticos empíricos realizados en estos

pacientes previo a la toma de la muestra, así como la remisión de la misma a los laboratorios en forma incorrecta, pueden ser causa de resultados falsamente negativos.

Ewig *et al.* (8), al estudiar patógenos bacterianos en 40 secreciones respiratorias de pacientes con SIDA obtenidas por LBA, establecieron que las coinfecciones no parecen ser cofactores relevantes en la mortalidad de los pacientes portadores, pero sí que el diagnóstico de las mismas favorece su tratamiento inmediato.

Por su parte, Castro *et al.* (14) encontraron, entre 1995-2004, sólo 17 pacientes co-infectados con *P. jiroveci* y *M. tuberculosis* en un estudio retrospectivo de 2.651 pacientes con SIDA. Los pacientes vistos por los autores, al igual que los referidos en esta serie, poseen recuentos bajos de linfocitos T CD4+ (< 100 células/ μ L, datos no publicados), lo cual es un marcador indirecto de su deterioro inmunológico y de la posibilidad cierta de padecer múltiples infecciones oportunistas. Mientras que la PCP se manifiesta clínicamente cuando estos recuentos son < 200 linfocitos TCD4+/ μ L, otras infecciones fúngicas y parasitarias se evidencian con valores aún más bajos.

Por lo antes expuesto, se podría concluir que los resultados obtenidos representan un porcentaje menor al real de infecciones respiratorias mixtas en los pacientes evaluados, que incluyen a *P. jiroveci* como agente causal. No queda claro el porqué de la falta de asociación con otros patógenos respiratorios, y seguramente se requiere de estudios más precisos para aportar claridad a este enigma.

El número de co-infecciones detectadas puede haber sido influido por los tratamientos empíricos antimicrobianos, la no inclusión de estudios virológicos y el posible transporte inadecuado de las muestras.

Para el laboratorista que procesa este tipo de muestras es importante tener en cuenta la eventual coexistencia de patógenos, ya que el estudio microbiológico no concluye con la visualización de *P. jiroveci*. El médico ha de tenerla en cuenta al momento de establecer un adecuado tratamiento anti - infeccioso en los pacientes con SIDA y patología respiratoria.

CORRESPONDENCIA

DRA. MARÍA DE LAS MERCEDES ROMERO
Diagonal 77, N° 690
1900 - La Plata - BUENOS AIRES - Argentina
E-mail: mecharomero@gmail.com

Referencias bibliográficas

1. Wazir JF, Ansari NA. *Pneumocystis carinii* infection. Update and clinical review. Arch Pathol Lab Med 2004; 128: 1023-7.
2. Lehmann E, De Vedia L, Prieto R, Bava AJ. *Pneumocystis jiroveci* en secreciones respiratorias de pacientes con SIDA internados en cuidados intensivos respiratorios. El Muñiz Hoy 2006; 4: 75-8.
3. Kroe DM, Kirsch CM, Jensen WA. Diagnostic strategies for *Pneumocystis carinii* pneumonia. Semin Resp Infect 1997; 12: 70-8.
4. Turner D, Schwarz Y, Yust I. Induced sputum for diagnosing *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV patients: new data, new issues. Eur Respir J 2003; 21: 204-8.
5. Baughman RP. Current methods of diagnosis. In: Walter, PD, ed. *Pneumocystis carinii* Pneumonia. New York: Marcel Dekker; 1994: 381-401.
6. Bava AJ, Cattaneo S, Bellegarde E. Diagnosis of pulmonary pneumocystosis by microscopy on wet mount preparations. Rev Inst Med Trop S Paulo 2002; 44: 279-82.
7. Aslanzadeh J, Stelmach PS. Detection of *Pneumocystis carinii* with direct fluorescence antibody and calcofluor white stain. Infection 1996; 24: 248-50.
8. Ewig S, Bauer T, Schneider C, Pickenhain A, Pizzulli L, Loos U, *et al.* Clinical characteristics and outcome of *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-infected and otherwise immunosuppressed patients. Eur Respir J 1995; 8: 1548-53
9. Bava AJ. Coloración rápida para la identificación de quistes de *Pneumocystis carinii* en materiales respiratorios. Acta Bioquím Clín Latinoam 2003; 37: 189-92.
10. Ghosh HK, Cobb M, Pacey DP, Conklin S. Experience with a simplification of the Petroff method for laboratory diagnosis of mycobacteria in sputum. Pathology 1978; 10: 257-61.
11. Bava AJ, Robles M, Prieto R. Asociación de *Pneumocystis jiroveci* con otros patógenos respiratorios en el lavado broncoalveolar. Salud (i)Ciencia 2008; 16(4): 431-3.
12. Mootsikapun P, Chetchotisakd P, Intarapoka B. Pulmonary infections in HIV infected patients. J Med Assoc Thai 1996; 79: 477-85.
13. Bozzette SA. Impact of *Pneumocystis carinii* and *Cytomegalovirus* on the course and outcome of atypical pneumonia in advanced human immunodeficiency virus disease. J Infect Dis 1992 ; 165: 93-8.
14. Castro JG, Manzi G, Espinoza L, Campos M, Boulanger C. Concurrent PCP and TB pneumonia in HIV infected patients. Scand J Infect Dis 2007; 39: 1054-8.

Aceptado para su publicación el 4 de enero de 2011