

Pneumonia por *Pneumocystis jiroveci* (PPC) em pacientes com SIDA atendidos em hospitais da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil

ANTONIO NERES NORBERG, PHD¹, CARLOS HENRIQUE MELO REIS, MSc²,
MARGARETH MARIA DE CARVALHO QUEIROZ, PHD³, PAULO CÉSAR RIBEIRO, MSc⁴,
EDWIN PILE, PHD⁵, RAIMUNDO WILSON DE CARVALHO, PHD⁶

RESUMO

Objetivos: Os autores investigaram a frequência de *P. jiroveci* em pacientes sororreagentes para o Vírus da Imunodeficiência Humana (AIDS) atendidos em hospitais de municípios da Baixada Fluminense, bem como, reconhecer aspectos do padrão epidemiológico da infecção por *P. jiroveci* nesses pacientes.

Método: Para a realização da pesquisa foram coletadas 266 amostras de lavado broncoalveolar de pacientes infectados pelo HIV atendidos em três hospitais da Baixada Fluminense, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Resultados: A infecção por *Pneumocystis jiroveci* foi diagnosticada em 26,3% das amostras, sendo 18% no sexo masculino e 8,3% no feminino. Os gêneros apresentaram frequências semelhantes (26,8% em homens e 25,3% em mulheres) ($\chi^2=0,07$; $p>0,05$) e ao considerar a infecção por faixas etárias, também não se constatou diferença significativa ($H=10,7$; $p<0,05$). Entre eles ainda foram encontrados oito casos de tuberculose representando 3% do total examinado.

Palavras chaves: *Pneumocystis jiroveci*; SIDA; Pneumonia.

Pneumocystis jiroveci pneumonia in patients with HIV infection from Hospitals of the Baixada Fluminense, Rio de Janeiro State, Brazil

SUMMARY

Objetives: The authors investigated the *P. jiroveci* prevalence and the epidemiological pattern of individuals with HIV infection and pulmonary infection concomitantly.

Method: Were collected 266 samples of bronchoalveolar lavage of the HIV infection patients from three hospitals from Baixada Fluminense, Rio de Janeiro State, Brazil.

Results: The overall prevalence of *Pneumocystis jiroveci* infection was 26.3%, been 18% in male and 8.3% in female. The sexes showed similar prevalence (26.8% in men and 25.3% in women) and considering the infection stratified by age category, except to female 10-15 years old group, all of them showed infection by the *P. jiroveci*. Both measurements without significant differences (among sex, $\chi^2=0,07$; among age category, $H=10,7$, $p>0,05$) respectively. From this survey eight cases of tuberculosis were diagnosed, representing 3.0% of the total examined.

Keywords: *Pneumocystis jiroveci*; AIDS; Pneumonia.

1. Pesquisador e docente, Universidade Iguazu (UNIG), Coordenador e docente dos cursos de Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas da Universidad Autónoma de Asunción (UAA), Paraguay.
2. Professor de Neurologia, Universidade Iguazu (UNIG). Diretor de Ensino e Pesquisa do Hospital Geral de Nova Iguazu, Ministério da Saúde, Nova Iguazu, Brasil.
3. Pesquisadora, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil. Docente, Universidade Iguazu e dos cursos de Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas Universidad Autónoma de Asunción (UAA), Paraguay.
4. Coordenador e docente do Curso de Odontologia, Universidade Iguazu (UNIG), Nova Iguazu, Brasil.
5. Pesquisador, Instituto Nacional de Investigação e Desenvolvimento Agrário (INIDA), Coordenador do Curso de Ciências Biológicas da Universidade de Cabo Verde, Praia, Cabo Verde.
6. Pesquisador, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil. Docente dos cursos de Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas da Universidad Autónoma de Asunción (UAA), Paraguay.

Recebido para publicação em 19 de setembro de 2008 Aceito para publicação em 14 de abril de 2009

O gênero *Pneumocystis* foi descrito originalmente por Chagas em 1909 em pulmões de cobaias. Na ocasião, Chagas acreditava que as estruturas observadas eram esquizogonias do *Trypanosoma cruzi*. Em 1912, o casal Delanoe e Delanoe encontrou as mesmas formas descritas anteriormente, porém em ratos capturados em Paris, concluindo se tratar de parasito banal então nomeado como *P. carinii*. Somente a partir de 1942 o parasito foi reconhecido como patógeno humano. De lá para cá foram surgindo novos casos progressivamente, explodindo a partir de 1980 com o surgimento do vírus da imunodeficiência humana. Em 1976 Jacob Frenkel concluiu que o agente em humanos era distinto daqueles encontrados em outros animais nomeando então o parasito como *Pneumocystis jiroveci*, observou ainda que o *Pneumocystis* isolado de pulmão humano não reagia com soro hiperimune de ratos infectados com *P. carinii*¹.

Estudos com base em microscopia eletrônica e biologia molecular promoveram grande evolução no conhecimento sobre esse microrganismo. Atualmente, é considerado o agente etiológico da pneumocistose ou pneumonia intersticial plasmocelular, uma das principais doenças causadora de mortes em pacientes cujas funções imunes estão debilitadas. Tem sido descrita em indivíduos em todos os continentes do planeta, também denominada pneumonia por *Pneumocystis* (PPC)². Possui um curso natural altamente variado, na dependência principalmente do estado imunológico do hospedeiro. Prematuros, debilitados, ou crianças marasmáticas entre dois e seis meses de idade, podem apresentar um curso clínico insidioso, com diarreia crônica e perda de peso antes de desenvolver sintomas respiratórios. A apresentação da doença em crianças e adultos com imunossupressão de qualquer natureza pode ser tão grave e fatal quanto na síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), onde o aparecimento de sintomas é mais abrupto e progressivamente mais rápido.

Nos países industrializados, a doença ocorre quase que exclusivamente em pessoas com imunidade celular deficiente, em particular naqueles imunodeprimidos ou imunossuprimidos por ocasião de tratamento com imunossuppressores. Geralmente, na SIDA pediátrica, 40% dos pacientes apresentam infecção por *P. jiroveci*, sendo também considerado como um importante agente etiológico das pneumonias intersticiais em pacientes

com neoplasias pediátricas^{3,4}.

Apesar de reconhecida desde 1952⁵, os casos de pneumonia provocados por este agente raramente eram registrados. O primeiro registro ocorreu em um lactente de oito meses de idade com um quadro de pneumonia intersticial de células plasmocíticas⁶. A partir da constatação da associação freqüente com os casos de SIDA, começou a ser considerada de importância⁷, estimando-se que aproximadamente 80% dos pacientes portadores desenvolviam a doença, razão pela qual chegou a ser considerada uma das principais causas de mortalidade nos Estados Unidos da América. Na atualidade esses índices diminuíram com o uso da terapia antiretroviral combinada e profilaxia para pneumocistose quando indicada^{8,9}.

Verificar a presença de *P. jiroveci* em pacientes sororreagentes para o HIV, atendidos em hospitais dos municípios da Baixada Fluminense, bem como, reconhecer aspectos do padrão epidemiológico da infecção por *P. jiroveci* nesses pacientes, são os objetivos do presente manuscrito.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo descritivo retrospectivo foi realizado entre janeiro de 2000 e janeiro de 2002, em três hospitais municipais da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil: Hospital Universitário São José em Mesquita; Hospital Geral de Nova Iguaçu, em Nova Iguaçu e Hospital Adão Pereira Neves em Duque de Caxias; municípios da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil.

Participaram desta análise somente paciente com exame sorológico positivo para Elisa (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) e «Western blot», em duas análises de cada teste, totalizando 266 sororreagentes. Esses pacientes foram então submetidos à broncofibroscopia. Os pacientes foram submetidos à anestesia local (faringe, laringe e traquéia) e em seguida, sedados com benzodiazepínicos, para então ser instilado 120 ml de solução salina estéril em alíquotas de 20 ml até volume aspirado atingir um mínimo de 50 ml, após encunhamento em brônquio subsegmentar. Esse volume foi colocado em frasco de plástico estéril e encaminhado, sob refrigeração, ao laboratório da Universidade Iguaçu, para a pesquisa do microrganismo.

Os lavados broncoalveolares foram misturados em

Tabela 1
Distribuição dos casos de infecção por *Pneumocystis jiroveci* e por *Mycobacterium tuberculosis* associados com a SIDA, atendidos em hospitais de municípios da Baixada Fluminense, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Janeiro de 2000 a janeiro de 2002

| Faixa etária | Amostras examinadas | | | | | | | | | | | | |
|--------------|---------------------|------|-----|--------|------|----|-------|-----|-----|--------|---|-----|--|
| | PPC | | | | | | TB | | | | | | |
| | Homem | | | Mulher | | | Homem | | | Mulher | | | |
| Nº | + | - | Nº | + | - | Nº | + | - | Nº | + | - | | |
| 15-20 | 5 | 2 | 3 | 1 | - | 1 | 5 | - | 5 | 1 | - | 1 | |
| 21-25 | 17 | 3 | 14 | 8 | 2 | 6 | 17 | - | 17 | 8 | - | 8 | |
| 26-30 | 35 | 9 | 26 | 14 | 4 | 10 | 35 | 8 | 27 | 14 | - | 14 | |
| 31-35 | 46 | 14 | 32 | 22 | 6 | 16 | 46 | - | 46 | 22 | 2 | 20 | |
| 36-40 | 37 | 11 | 26 | 19 | 5 | 14 | 37 | - | 37 | 19 | - | 19 | |
| >40 | 39 | 9 | 30 | 23 | 5 | 18 | 39 | - | 39 | 23 | - | 23 | |
| Total | 179 | 48 | 131 | 87 | 22 | 65 | 179 | 8 | 171 | 87 | 2 | 85 | |
| % | | 26,8 | | | 25,2 | | | 4,5 | | | | 2,3 | |

igual volume de solução salina estéril para centrifugação durante 5 minutos/3000 rpm. Este procedimento foi repetido para assegurar a sedimentação das estruturas do agente. Do sedimento foram confeccionados esfregaços que foram corados pelo método do Giemsa. A positividade foi confirmada por meio da observação das amostras em microscópio ótico em aumento de 1000X. Para a positividade foi considerada a presença de pequenos corpos arredondados com núcleo único corado em violeta-avermelhado escuro e citoplasma azul claro. Pesquisou-se ainda no lavado broncoalveolar outros elementos fúngicos pela pesquisa direta e cultura em meio de Sabouraud -dextrose -Agar, mantidas em temperatura ambiente (25°C a 35°C) e avaliadas durante 30 dias. Para estabelecer diagnóstico diferencial com a tuberculose (TB), realizou-se pesquisa direta pela coloração de Ziehl-Neelsen e cultura em meio de Loewstein-Jensen incubada por 45 dias em temperatura de 35°C. Dosaram-se os níveis de linfócitos T CD₄ em apenas 153 dos 266 sororreatores devido a dificuldades administrativas dos hospitais envolvidos no estudo, sendo considerados níveis indicativos de PPC valores de CD₄ d 200/mm³.

Os dados obtidos foram comparados estatisticamente pelo programa BioEstat 4.0¹⁰ através do teste de Qui-quadrado (χ^2) para diferença da prevalência entre os gêneros e entre os níveis de CD₄, o teste de Kruskal-Wallis (H) para estabelecer diferenças da infecção

entre as faixas etárias e a correlação de Spearmam (RS) para avaliar a intensidade da infecção conforme a faixa etária. Considerou-se $p < 0,05$ como nível de significância.

Considerações éticas. Para a realização deste manuscrito foi solicitada a anuência verbal de cada um dos participantes e responsáveis legais no caso de menor de 18 anos, bem como, do parecer da comissão de ética da Universidade Iguazu, Nova Iguazu, Brasil.

RESULTADOS

Foram examinadas amostras de lavado brônquico de 266 pacientes portadores do vírus HIV, sendo 179 do sexo masculino e 87 do feminino, com faixas etárias entre 15 e 45 anos. Apurou-se prevalência geral de 26% (70 casos de PPC), sendo 8% no sexo feminino e 18% no masculino sem diferença estatística entre elas ($\chi^2 = 0,07$; $p > 0,05$). A infecção ocorreu em todas as faixas etárias também sem diferença estatística ($H = 10,7$; $p < 0,05$), entretanto, apurou-se correlação positiva, isto é, a prevalência da infecção aumenta conforme o aumento da idade ($r_s = 0,7$, $p > 0,05$). Todavia esta correlação foi insignificante entre os homens ($r_s = 0,77$, $p > 0,05$) e significativa entre as mulheres ($r_s = 0,8$, $p < 0,05$) (Tabela 1). Entre os que se avaliaram os níveis de linfócitos T (CD₄) (153), apenas 27 apresentaram níveis superiores a 200 mm³ e o restante (126) apresentaram

níveis inferiores. Todos os pacientes infectados por *P. jiroveci* (70) apresentaram níveis inferiores a 200/mm³. Dois pacientes com nível inferior foram considerados negativos para PPC e positivos para tuberculose ($\chi^2=141,8$; $p<0,05$). Os demais que apresentaram níveis inferiores (54) revelaram-se negativos tanto para PPC quanto outros fungos e tuberculose. Os outros oito casos de tuberculose ocorreram entre aqueles que apresentaram níveis superiores a 200 mm³. No total a prevalência da tuberculose entre os indivíduos HIV positivos foi de 3,7% sendo 4,5 entre os homens e 2,3 entre as mulheres.

DISCUSSÃO

Embora o objetivo do presente manuscrito não esteja relacionado com taxonomia, acha-se importante destacar que a menção do agente é feita considerando estudos recentes, assim o uso do acrônimo PPC reporta-se à Pneumonia por *Pneumocystis* spp., acomodando a espécie que infecta os seres humanos¹.

A dificuldade para o diagnóstico foi comentada por Hargreaves *et al.*¹¹, sugerindo a necessidade de se programar melhorias no diagnóstico, sendo que ao final somente poderia por meio do encontro do agente em tecido pulmonar ou nas secreções respiratórias. Neste manuscrito optou-se pela aplicação de lavados broncoalveolares realizados com solução salina estéril pela instilação e aspiração da solução. Como parâmetro foi considerado positivo a amostra que apresentasse em lâmina pequenos corpos arredondados com núcleo único corado em violeta avermelhado escuro e citoplasma azul claro, tal como os relatos de Arora *et al.*¹², que ainda consideraram o lavado supracitado como método ideal pela facilidade de aplicação e pela positividade através da observação das formas do parasito. Este método tem também a particularidade de poder ser aplicado em pacientes em diversas condições, sem a utilização de técnicas invasivas.

Nossos resultados demonstraram que pacientes imunologicamente comprometidos têm maior propensão à infecção^{1,7}. A PPC demonstrou ser uma complicação comum e também grave devido, principalmente, à falência respiratória desenvolvida que dificulta a troca gasosa e leva à debilidade orgânica.

Os dados de ocorrência conflitantes entre os diversos autores¹³⁻¹⁵ podem ser explicados se consideradas a

relação das formas de transmissão entre os diferentes níveis de vida sócio-econômicos, representada pelos diversos países em que foram desenvolvidos os levantamentos; e as diferentes épocas em que os trabalhos foram realizados. Contudo, não deve ser esquecida a necessidade de análises que incluam a biodiversidade genética, recentemente identificada; as diferenças étnicas do hospedeiro e as próprias técnicas de diagnóstico usadas¹⁶.

Em relação à transmissão, somente se corrobora a transmissão direta por meio de aerossóis devido à metodologia utilizada, embora o contato direto, propriamente dito, não deve ser descartado, nem a possibilidade de encontrar o agente em fômites.

Ahmad *et al.*¹⁷ encontraram taxas de mortalidade superior entre mulheres, fato que pode estar relacionado com a gravidez o que pode acarretar uma evolução fatal tanto para o conceito quanto para a mãe. Isto pode ser verificado indiretamente no presente manuscrito, muito embora o número de pacientes masculinos selecionados fosse significativamente superior, não foram indicadas diferenças significativas entre os gêneros, evidenciando percentual de infecção semelhante. Contudo os resultados também demonstraram um maior número de pacientes do sexo masculino coletados sem interferência dos valores relativos entre o número de infectados. Estes relatos refletem as indicações de exposição geral e desenvolvimento da doença após debilidade orgânica¹⁸, de certo indicando assim que realmente a infecção tem tendências transitórias, malgrado as exposições terem sido freqüentes durante suas vidas. Ratificam-se ainda, os relatos de Jedlovsky & Fleichman¹⁸, embora seus estudos não estivessem relacionados com o quadro clínico inicial da pneumonia em pacientes infectados pelo HIV, pode-se observar correlação positiva dos casos positivos com a idade. Demonstrando, desta forma, um maior número de casos nas idades mais avançadas, confirmando mais uma vez indicações feitas por Beard & Navim¹⁹, de que a debilidade orgânica, representada por redução do número de linfócitos T (CD₄) e a falta de açúcares e proteínas, são fatores importantes na epidemiologia da doença¹. Ressaltamos que neste estudo não foram incluídas crianças menores de 15 anos.

As formas de transmissão e o habitat natural do *P. jiroveci* ainda não estão esclarecidos, evidências atuais indicam a transmissão inter-humana como a principal

forma de disseminação do agente com contaminação ainda na infância, período em que o indivíduo torna-se portador assintomático¹. Como Beard *et al.*¹⁶ apontaram, a maioria dos casos de PPC não é resultado de infecção adquirida precocemente e sim de uma fonte relativamente comum, a transmissão por via inalatória. Demonstraram também a existência de transmissão interpessoal e evidenciaram a ocorrência do problema por reativação do agente ou por re-infecção, esses relatos também foram confirmados pelos resultados obtidos, o que nos leva às considerações de Stringer *et al.*² que sugeriram a possibilidade de haver reservatórios potenciais para *P. jiroveci* nas comunidades ou nos hospitais, neste caso, os pacientes com SIDA.

Dos 153 pacientes que se avaliou os níveis de linfócitos T (CD₄) 126 (82.4%) apresentaram níveis inferiores a <200/mm³ e todos os portadores de PPC apresentaram níveis inferiores. Entre os diagnósticos diferenciais, foram diagnosticados dez casos de tuberculose, a partir do final do século passado e no início do atual, esta doença vem aumentando suas ocorrências, principalmente, entre crianças portadoras do vírus, neste manuscrito, relatam-se apenas casos a partir da idade de 15 anos, assim sendo entre as faixas estudadas a prevalência foi de 3,7%. Dois apresentavam tuberculose atípica associado a níveis inferiores a 200 linfócitos CD₄/mm³ indicando estágio avançado da infecção por HIV¹⁹.

REFERÊNCIAS

1. Deitze R, Moussallem TM. Infecção por *Pneumocystis carinii*. In: Lopes AC. *Tratado de Clínica Médica*. 2006; 3: 4150-5.
2. Stringer JR, Beard CB, Miller RF, Wakefield AE. A new name (*Pneumocystis jiroveci*) for *Pneumocystis* from humans. *Emerg Infect Dis*. 2002; 8: 891-6.
3. Matsumoto T, Carvalho WB, Hirschhemeir MR. *Terapia intensiva pediátrica*. 2ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu; 1999. p. 669-85.
4. Finberg L. *Saunders Manual de Clínica Pediátrica*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan; 2002. p. 365-71.
5. Zaitz C, Campbel I, Marques SA, Ruiz LRB, Sousa VM. *Compêndio de micologia médica*. Rio de Janeiro: Ed. Medsi; 1998. p. 309-33.
6. Luisi A. Pneumonia pneumocística. *Mat Inf São Paulo*. 1960; 19: 157-8.
7. Hoffman AGD, Lawrence MG, Ognibene FP. Reduction of pulmonary surfactant in patients with human immunodeficiency virus and *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Chest*. 1992; 102: 1730-6.
8. Abrams EJ. Infections and other clinical manifestations of HIV disease in children. *Pediatr Clin North Am*. 2000; 47: 79-108.
9. Dworkin MS, Hanson DL, Navin TR. Survival of patients with AIDS, after diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia, in the United States. *J Infect Dis*. 2001; 183: 1409-12.
10. Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL, Santos AS. BioEstat 4.0. Aplicação estatística nas áreas das ciências biológica e médica. Brasília: Sociedade Civil Mamirauá; 2005. 272 pp.
11. Hargreaves NJ, Kadzakumania O, Phiris S, Lee CH, Tang K, Salaniponi FM, *et al.* *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients being registered for smear negative pulmonary tuberculosis in Malawi. *Trans R Soc Med Hyg*. 2001; 95: 402-8.
12. Arora SC, Mudaliar YM, Lee C, Michell D, Iredel J, Lazarus R. Non-bronchoscopic bronchoalveolar lavage in the microbiological diagnosis of pneumonia in mechanically ventilated patients. *Anaesthesiol Inten Care*. 2002; 30: 11-20.
13. Lambertucci JR, Rayes AA, Nunes F, Landazuri-Palacios JE, Nobre V. Fever of undetermined origin in patients with the acquired immunodeficiency syndrome in Brazil: report on 55 cases. *Rev Inst Med Trop*. 1999; 41: 27-32.
14. Stoehr A, Arasteh K, Staszewk S, Brochmeyer N, Albrecht H, Mertenskötter T, *et al.* *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in the Federal Republic of Germany in the era of changing antiretroviral therapy -IDKF 13- German AIDS Study Group. *Eur J Med Res*. 1999; 4: 131-4.
15. Ruffini DD, Madhi SA. The high burden of *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in African HIV-infected children hospitalized for severe pneumonia. *AIDS*. 2002; 16: 105-12.
16. Beard BC, Carter JL, Keely SP, Huang L, Pieniazek NJ, Moura INS, *et al.* Genetic variation in *Pneumocystis jiroveci* isolates from different geographic regions: Implications for transmission. 2002. <http://www.cdc.gov/nicdod/eid/6:/beard.htm>.
17. Ahmad H, Metha NJ, Manikal VM, Lamoste TJ, Chapnick EK, Lutwick, Sepkowitz DV. *Pneumocystis jiroveci* pneumonia in pregnancy. *Chest*. 2001; 120: 666-71.
18. Jedlovsky V, Fleischman JK. *Pneumocystis jiroveci* pneumonia as the first presentation of HIV infection in patients older than fifty. *AIDS Patient Care STDS*. 2000; 14: 247-9.
19. Barnes PF, Lakely DL, Burman WJ. Tuberculosis in patients with HIV infection. *Inf Clin North Am*. 2002; 16: 107-226.