Discusión: En el contexto del aumento de la prevalencia de *S. aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad, la necesidad de antimicrobianos alternativos para el tratamiento de infecciones de piel y tejidos blandos por este agente, clindamicina aparece como una buena opción, debido a su buena disponibilidad administrada por vía oral y buena distribución en este tipo de tejidos. La resistencia a clindamicina es variable según el área geográfica. El método de dilución confirma la importancia del efecto inóculo con lectura a las 48 horas. Para laboratorios que utilizan el sistema automatizado Vitek 2 que

deseen aumentar la sensibilidad podrían testear las cepas resistentes a eritromicina pero sensibles a clindamicina, que muestren resistencia inducible negativo, con otro método alternativo como D-test.

Andrea Sakurada Z.

Laboratorio de Microbiología Hospital Clínico

Universidad de Chile

Comité de infecciones Intrahospitalarias Complejo

Asistencial Dr. Sótero del Río.

***Pneumocystis* en autopsias en la población general.**

Pneumocystis colonization is highly prevalent in the autopsied lungs of the general population.

Ponce CA, Gallo M, Bustamante R, Vargas SL. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 347-53.

Introducción. El desarrollo de la biología molecular y su aplicación en el diagnóstico de enfermedades ha permitido contar con métodos muy sensibles, como es el caso de la reacción en cadena de la polimerasa anidada. Mediante esta técnica se ha logrado detectar pequeñas poblaciones de *Pneumocystis jirovecii* en hospederos inmunocompetentes, que no hubiera sido posible encontrar mediante otros métodos utilizados habitualmente en el diagnóstico de neumonía por *Pneumocystis* (PCP). Esta técnica de amplificación de ADN ha sido utilizada en estudios epidemiológicos para detectar *Pneumocystis* en muestras respiratorias no invasoras (hisopados nasales, enjuague orofaríngeo, aspirado nasofaríngeo y expectoración entre otros) de individuos inmunosuprimidos e inmunocompetentes sin PCP clínica, condición conocida como estado de portador, colonización o infección subclínica. Sin embargo, pese al inherente tropismo pulmonar de *Pneumocystis* y a la correlación directa encontrada entre el número de microorganismos identificados a partir de muestras obtenidas por procedimientos no invasores ("muestras no invasoras") versus muestras pulmonares en modelos animales inmunosuprimidos, la identificación de ADN de *P. jirovecii* en muestras respiratorias no invasoras de individuos inmunocompetentes no ha demostrado predecir compromiso pulmonar. Por esto se necesitan estudios de autopsias para caracterizar la incidencia real de colonización pulmonar por *P. jirovecii* en la población general. Estudios previos de incidencia en adultos inmunocompetentes han mostrado resultados muy diferentes, con un rango que va desde 0% en esputo inducido e hisopado nasal, hasta 20% en un estudio que utilizó enjuague orofaríngeo. Estos resultados dispares se repiten en estudios realizados en niños. A diferencia de otros microorganismos que pueden crecer en cultivos, el tipo, calidad, cantidad y número de muestras estudiadas -junto a la técnica de procesamiento- son críticos para detectar cargas pequeñas de *Pneumocystis*. Esto toma gran relevancia en el estudio de hospederos immuno-

competentes, en quienes *Pneumocystis* se replica en bajo número y tiende a hacerlo en *clusters*. Variaciones en los factores mencionados podrían explicar las diferencias en la incidencia de colonización reportadas. Esta posibilidad motivó a los autores de este estudio a probar la hipótesis que *Pneumocystis* coloniza los pulmones de adultos sanos. Para esto aumentaron la cantidad de tejido pulmonar a estudiar mediante RPC anidada e inmunofluorescencia, bajo la hipótesis secundaria que el análisis de más tejido pulmonar con técnicas de concentración es necesario para alcanzar el umbral de sensibilidad del ensayo utilizado.

Método. Entre mayo de 2005 y noviembre de 2008, los autores obtuvieron en forma prospectiva, muestras de pulmón provenientes de autopsias de individuos que murieron sin haber sido hospitalizados y cuya causa de muerte motivó una autopsia de acuerdo a la ley chilena (muerte violenta o no esperada en la vía pública). Estas personas no tenían condiciones inmunosupresoras conocidas ni tampoco se demostró enfermedad pulmonar en el examen macroscópico de anatomía patológica. Las muestras fueron obtenidas del lóbulo superior derecho (LSD) y representaron ~3% del peso total del lóbulo mencionado. A partir de las muestras de tejido pulmonar se extrajo ADN usando QIAamp DNA Mini kit® (Qiagen). El mismo procedimiento se realizó con tejido hepático para detectar contaminación cruzada. Para la detección de ADN de *Pneumocystis* se utilizó una RPC anidada que detecta y amplifica un gen mitocondrial común a todas las especies de *Pneumocystis*. En la segunda etapa de la RPC se usaron partidores específicos de *P. jirovecii*. En esta etapa también se utilizaron muestras conocidas sin *P. jirovecii* y además β -globina humana para detectar contaminación cruzada e inhibidores de ADN respectivamente. Además se realizó un análisis microscópico de las muestras de pulmón mediante tinción inmunofluorescente (IF) (MeriFluor kit®; Meridian Biosciences). Los microscopistas fueron ciegos para el resultado de la RPC.

Resultados. Se estudiaron 77 muestras de pulmón

correspondientes a 59 hombres y 18 mujeres. La edad mediana de muerte fue 44,1 años (rango, 5,1-88,0 años; promedio 43,3 años). La mayoría de las muertes fueron accidentales o violentas (58) y hubo 19 causas de muerte médicas, la mayoría infartos agudos al miocardio. Mediante análisis microscópico se descartó la presencia de neumonía al momento del fallecimiento. Los resultados de los controles de contaminación cruzada (muestras de hígado) fueron negativos en todos los casos. En las muestras de pulmón estudiadas mediante RPC convencional (de un paso) no se detectó ADN de *Pneumocystis* en caso alguno. Cuando las mismas muestras fueron estudiadas con RPC anidada se detectó la presencia de ADN de *P. jirovecii* en 50 (64,9%) casos. La mediana de muestras por paciente fue 7 y la mediana de la proporción de muestras positivas por paciente fue 43%. En los casos negativos se repitió la RPC anidada en muestras de tejido adicional (nuevamente 3% del peso de LSD) y tampoco se logró amplificar material genético de *P. jirovecii*. En 55 pacientes que murieron por causas violentas se realizó análisis microscópico con tinción IF además de la RPC anidada. En todos los individuos en quienes se había amplificado ADN de *P. jirovecii* (34) se identificaron formas de este microorganismo. Mediante tinción IF, el número de formas encontradas fue bajo y la proporción de muestras positivas por paciente fue menor que cuando se utilizó RPC anidada. El análisis histológico mediante tinción de hematoxilina-eosina de las muestras de tejido en las cuales se encontró *P. jirovecii* fue normal.

Discusión. El estudio demostró que es frecuente encontrar *P. jirovecii* en pulmones de personas que al momento de morir eran teóricamente inmunocompetentes y no tenían enfermedad pulmonar conocida. Este hallazgo es concordante con el concepto que la población adulta participa en la circulación de este microorganismo y son un importante reservorio del mismo. El mismo hallazgo, también permite plantear que los adultos pueden desarrollar infecciones o bien reactivaciones de infecciones

latentes con carácter leve, asintomáticas, con cargas bajas del microorganismo, que lo hacen difícil de detectar por medio de técnicas convencionales y muestras no invasoras. Por otra parte, el hecho de no encontrar *Pneumocystis* en un porcentaje importante de los individuos estudiados podría reflejar que los adultos son capaces de eliminar la infección y también permite plantear que muchos de los episodios de enfermedad asociada a *Pneumocystis* son re-infecciones más que reactivaciones, hecho reportado previamente en pacientes infectados con VIH. El significado clínico de la presencia de *Pneumocystis* en individuos asintomáticos no ha sido aclarado. El estudio resumido sugiere que *Pneumocystis* puede colonizar pulmón sin generar enfermedad significativa debido al hallazgo de formas del microorganismo en tejidos histológicamente normales. Sin embargo, otros estudios han relacionado la presencia de *P. jirovecii* y enfermedad pulmonar, por ejemplo en pacientes con EPOC^{1,2}. La investigación que actualmente se realiza en el tema nos permitirá eventualmente aclarar, entre otras cosas, la relevancia del hallazgo de *Pneumocystis* en diferentes tipos de pacientes, facilitando la interpretación de resultados que hasta ahora no tienen respuesta definitiva.

Referencias

- 1.- Calderón E J, Rivero L, Respaldiza N, Morilla R, Montes-Cano MA, Friaiza V, et al. Systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease who are colonized with *Pneumocystis jirovecii*. Clin Infect Dis 2007; 45: e17-e19.
- 2.- Calderón E J. *Pneumocystis* infection: Seeing beyond the tip of the iceberg. Clin Infect Dis 2010; 50: 354-6.

Rafael Araos B.

Infectología

Clínica Alemana de Santiago/

Hospital Padre Hurtado