



Pneumocystis carinii y neumocistosis

Julman R Cermeño Vivas¹.

¹Medicina Tropical y Micología Médica spenna@cantv.net

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 31 de Diciembre del 2000 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Pneumocystis carinii es un microorganismo oportunista, recientemente clasificado como un hongo unicelular atípico que puede producir infecciones en animales, es el responsable de neumonía (NPC) en el huésped inmunocomprometido y menos frecuente en infecciones extrapulmonares. La NPC ocurre en pacientes con afectación de la inmunidad celular como inmunodeficiencias congénitas, niños malnutridos, adultos sometidos a tratamiento inmunosupresor, pacientes transplantados, entre otros. Es la infección oportunista más común entre los pacientes infectados con Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) en el mundo occidental. La frecuencia es variable según países y oscila entre 30-43% de todas las infecciones oportunistas. El diagnóstico de NPC se basa en la visualización microscópica del hongo en muestras de biopsia pulmonar, lavado bronquioalveolar, esputo inducido, esputo espontáneo y lavado oral. Los métodos de biología molecular, Reacción en Cadena de la Polimerasa, (PCR), han incrementado la sensibilidad en muestras de esputo inducido con un número reducido de organismos. Como *P. carinii* puede presentarse en personas sanas, la observación de un escaso número de hongos en una muestra, no indica enfermedad. El tratamiento de elección es Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ), que puede administrarse tanto por vía oral como intravenosa. Dada la frecuencia y gravedad de la NPC se debe hacer tratamiento profiláctico en los pacientes infectados por el VIH, con riesgo de padecerla.

INTRODUCCIÓN

Pneumocystis carinii es un microorganismo oportunista recientemente clasificado como un hongo unicelular atípico, filogenéticamente relacionado con los hongos, ya que posee

similitudes ultraestructurales con la pared quística. Tiene mitocondrias con crestas lamelares y una forma redondeada que posee cuerpos intraquísticos que semejan aquellos de las ascosporas formadas por Ascomycetos. Su taxonomía es designada en el Phylum *Ascomycota*, clase *Ascomycetes*, orden *Sacharomycetales*. Puede producir infecciones en animales y es responsable de neumonía en el huésped inmunocomprometido (5,33,36).

Generalmente se describen dos formas del *P. carinii*: trofozoito y quiste. Los trofozoitos pueden medir de 2-4 µm. con tinción de Giemsa, el núcleo se observa rojizo y el citoplasma azul. El quiste es esférico, de pared gruesa y mide 5-6 µm de diámetro. Su forma madura presenta en su interior ocho cuerpos intraquísticos (esféricos, ovals o fusiformes) (9,19,30,34).

Es un organismo eucariótico con un tropismo para el crecimiento en el epitelio de las vías respiratorias de los mamíferos (5,6).

P. carinii fue descrito en 1909 en pulmones de cobayos por Carlos Chagas, quien creyó que era una forma de *Trypanosoma cruzi*. El descubrimiento fue confirmado un año después (1910) por Antonio Carini en pulmones de ratas. Ambos investigadores brasileños trabajaban con especies de *Trypanosoma* e inicialmente pensaron que se trataba de una nueva especie (30,35).

En 1912, los franceses Pierre y Marie Delanoe, lo encontraron en el pulmón de ratas de alcantarilla y por el análisis de sus características morfológicas llegaron a la conclusión de que no era *Trypanosoma*. Lo denominaron *Pneumocystis* por su tropismo en el pulmón y *carinii* en reconocimiento a uno de sus descubridores (35).

En 1942, la enfermedad fue reconocida por primera vez en el hombre (Van Der Meer y Brug), aunque su descubrimiento permaneció desconocido para el resto del mundo hasta que Vanek y Jirovec en Checoslovaquia y Giese en Alemania en 1952 y 1953, respectivamente, pusieron en claro que cierta neumonía intersticial en niños malnutridos, que se presentaba en forma de epidemias hospitalarias, frecuentes en esa época, era debida a *P. carinii*. Desde la década de los 50 hasta la actualidad se han descrito numerosos casos de *P. carinii* en todo el mundo, tanto en niños como en adultos (3,5,9,10,29,34).

En 1976, Frenkel propuso que los organismos *Pneumocystis* de los humanos fuesen llamados *Pneumocystis jirovecis*; sin embargo, esa nomenclatura no se ha usado ampliamente. Hughes y Gigliotti propusieron emplear el nombre *P. carinii* siguiendo la designación latina para el género del huésped, de modo que los organismos de los humanos y ratas se llamaran *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* (al menos 59 tipos diferentes) y *Pneumocystis carinii* f. sp. *rattus*, respectivamente (5,6,24).

DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

Definición

La neumocistosis es una infección causada por un hongo oportunista, *Pneumocystis carinii*, el cual produce típicamente neumonía intersticial en pacientes inmunocomprometidos y menos frecuentemente infección extrapulmonar (2,5,8,11,12,16,19).

Epidemiología

En 1981, la frecuencia de neumonía por *Pneumocystis carinii* en hombres homosexuales, aparentemente saludables, fue uno de los primeros factores que llevaron al reconocimiento de la

epidemia del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), que ha sido la causa principal de morbilidad en estos pacientes (25, 30).

La neumonía por *P. carinii* en los sujetos infectados con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), ha sido la enfermedad marcadora de SIDA más frecuente y la primera en la que se demostró la eficacia de la quimioprofilaxis. Esto representa un paradigma de la enfermedad susceptible de intervención farmacológica preventiva, dada su incidencia en grupos bien definidos e identificables, severidad y la existencia de agentes antimicrobianos activos, seguros y de fácil administración (4, 8,12).

Se admite que la mayoría de las personas se infectan por *P. carinii* en la infancia, el 75% antes de los 4 años en países desarrollados. Esta infección es asintomática, pero persisten formas quísticas en estado latente que se reactivan cuando se deprime la inmunidad celular. La alta prevalencia de anticuerpos antineumocistis presente en jóvenes, ha llevado a presuponer que la infección en adolescentes y adultos inmunosuprimidos es causada por la reactivación de las formas latentes (3,15,40). Además, se presume que *P. carinii* es un hongo ubicuo que normalmente está presente en el ambiente (6,7).

En el niño infectado por VIH, el número de CD4 no es indicador predictivo para la NPC. Los niños menores de 1 año con linfocitos CD4 < 1.500 tienen 90% de riesgo de padecer la enfermedad (5) .

La NPC ocurre en inmunodeprimidos con afectación de la inmunidad celular como inmunodeficiencias congénitas, niños malnutridos, adultos sometidos a tratamiento inmunosupresor, pacientes transplantados, entre otros. Es la infección oportunista más común entre los pacientes infectados con Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) en el mundo occidental. La frecuencia es variable según países y oscila entre 30-43% de todas las infecciones oportunistas (14-16,20).

Más de la mitad de los pacientes infectados con VIH han sufrido una NPC en algún momento de su evolución, aunque con tratamiento profiláctico el número de pacientes que desarrolla la enfermedad está disminuyendo (5,20, 21,39).

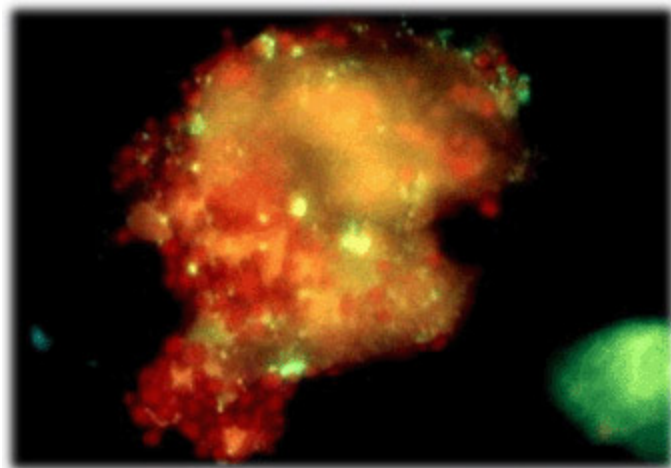


Foto N°1
Pneumocystis carinii (quistes y trofozoitos) en muestra de
esputo. Técnica de inmunofluorescencia directa. 912.5 X.

La infección por *P. carinii* es indicativa del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) en el 28% de los casos, en algunos países. El riesgo de NPC se ha correlacionado con una cantidad de células CD4 + circulantes de menos de 200×10^6 L (4,5, 13).

La letalidad de esta enfermedad es del 10-15% en el primer episodio y más elevada en los siguientes (4,24-27). El reservorio natural de *P. carinii* es desconocido. La infección de múltiples especies con este hongo sugiere que está ampliamente esparcida en el ambiente.

Estudios recientes han demostrado secuencias del ADN en esporas halladas en muestras del aire (6,23) .

La transmisión persona-persona no se ha documentado, sin embargo los grupos o brotes de infección sugieren que esto ocurre. Hallazgos recientes indican que la mayoría son de adquisición reciente a partir de una fuente de infección común (humana o ambiental) y que los seres humanos son importantes en el ciclo de transmisión del *P. carinii* (6)

El tracto respiratorio es la puerta de entrada para *P. carinii* y la infección primaria aparentemente está en el pulmón. Aunque la forma infecciosa de este hongo no es conocida, el cuerpo intraquístico o las pequeñas formas tróficas liberadas en el esputo pudieran constituir una forma infectante (15).

En Venezuela, hasta ahora, existen pocas investigaciones realizadas sobre NPC. Un estudio realizado en el estado Bolívar, durante el año 2000, demostró una prevalencia de neumocistosis en el 35% de pacientes inmunocomprometidos (n=40); el 25% tenían entre 15 y 25 años de edad. Similares resultados se demostraron en el Distrito Federal (1999), estos datos confirmaron una prevalencia de NPC en un 40% (12/30) con edades comprendidas entre 18-69 años (7,14).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La NPC se manifiesta por fiebre, disnea, tos, pérdida de peso e insuficiencia respiratoria. La exploración física evidencia taquipnea, taquicardia y afectación variable del estado general. La auscultación pulmonar puede ser normal o mostrar alteraciones en los ruidos respiratorios como bulosos y crepitantes (5,9,10,14).

Los datos del laboratorio son inespecíficos, los valores de LDH sérica típicamente están elevados y la gasometría arterial puede mostrar hipoxemia o hipocapnia. En la radiografía de tórax se observa un infiltrado pulmonar intersticial que afecta a campos medios y raramente pueden observarse imágenes de condensación alveolar, neumotórax, derrame pleural o neumatocoles (9,15).

Se debe sospechar de NPC en el paciente contagiado por el VIH con inmunosupresión avanzada ($CD4 < 200 \mu/L$) que no sigue un tratamiento profiláctico para esta infección. De igual manera, se debe presumir de los que manifiesten fiebre, pérdida de peso, fatigabilidad, tos y disnea que se han instaurado a lo largo de varias semanas (9,19,6,21) .

La infección extrapulmonar es poco frecuente (0,5% al 2,5%) y se ha relacionado con la profilaxis con Pentamidina en aerosol. Ocurre diseminación por vía hematógena a órganos vascularizados (nódulos linfáticos, bazo, hígado, glándulas adrenales, médula ósea, tracto gastrointestinal, corazón, ojos, piel, etc) (2,5,11,12,16).El compromiso extrapulmonar resulta con frecuencia asintomático. El microorganismo es capaz de diseminarse habitualmente, a partir de un foco pulmonar por vía linfohemática. (3,5).

DIAGNÓSTICO

Una dificultad importante en el estudio de *P. carinii* es la carencia de un método de cultivo in vitro del organismo (6,7).

P. carinii no crece en medios de cultivos ordinarios, por lo que el diagnóstico de NPC se basa en la visualización microscópica del hongo en muestras de biopsia pulmonar, lavado bronquioalveolar, esputo inducido, esputo espontáneo y lavado oral. Las tinciones con Metenamina argéntica (Gomori-Grocott) y con el azul de O Toluidina tiñen la pared de los quistes, mientras que la tinción de Giemsa la toman tanto los quistes como los trofozoitos (1,7,14,18,26,37-40).

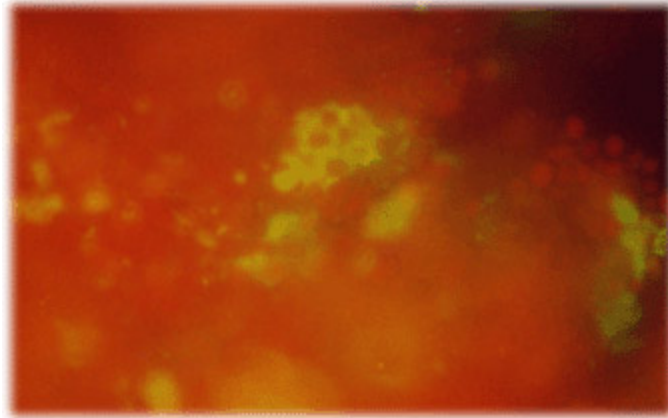


Foto N° 2
Pneumocystis carinii (imagen en panel, típica) en esputo.
Técnica de inmunofluorescencia directa. 912.5 X.

Raramente se puede ver *P. carinii* en el esputo espontáneo. De no visualizarse en el esputo inducido, se puede recurrir a técnicas más agresivas como el lavado broncoalveolar (sensibilidad 97%) y/o biopsia transbronquial (rendimiento de ambas 100%) (7,26,18).

La sensibilidad del diagnóstico mediante la técnica del esputo inducido es variable (45-78%). Los métodos de biología molecular como el de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), han incrementado la sensibilidad en muestras de esputo inducido con un número reducido de organismos. Asimismo, la

amplificación de PCR en muestras de suero y sangre han demostrado resultados contradictorios con sensibilidad variable (0-100%) (18,22,26,31) .

La Inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales tiñe a los trofozoitos y quistes de verde manzana. Esta es una técnica muy utilizada en la actualidad, la cual demuestra una buena sensibilidad y especificidad (superior al 95%) (1,7,30).

Un estudio realizado recientemente en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (Caracas, Venezuela), en 30 pacientes inmunocomprometidos con sintomatología de neumocistosis, demostró que la Inmunofluorescencia directa es una prueba idónea para el diagnóstico de *P. carinii* en el esputo espontáneo al compararla con la tinción de Gomori-Grocott (7) .

Actualmente, la demostración de *P. carinii* en muestras de enjuague bucal (solución salina estéril) representa una alternativa como método no invasivo (sensibilidad del 90%, usando PCR en las muestras de lavado o enjuague bucal) (18).

Como *P. carinii* se puede observar en personas sanas, la visualización de un escaso número de hongos en una muestra no indica enfermedad (9,12,30) .

TRATAMIENTO

El Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) es altamente eficaz en la profilaxis por *P. carinii* en el niño. La dosis es de 150 mg/m²/día de SMX por vía oral en una o dos tomas tres días a la semana que pueden ser seguidos o alternos. Es preciso monitorizar los efectos adversos.

En niños con intolerancia al TMP-SMZ se recomiendan aerosoles con Pentamidina a dosis de 300 mg. con 6cc de agua estéril con "Respigard IIR" o Pentamidina VEV mensualmente, cuando la

edad es superior a los 5 años. En los menores de 5 años, la dosis recomendada es de 4 mg/Kg.

Alternativa: dapsona (1 mg/Kg/día, máximo 100 mg/día).

Los corticoides están recomendados en niños con hipoxemia inferior a 70mm de Hg a dosis de 2 mg/Kg/día VEV en dos tomas durante 5 días, 1 mg/Kg/día durante otros 5 días y de 0,3 a 0,5 mg/Kg/día durante 10 días más (4,17).

En el adulto, Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) puede administrarse tanto por vía oral como intravenosa. La dosis es de 15-20 mg/Kg de peso/día administrado en 4 dosis, durante 21 días. Si se trata de una forma leve (sin insuficiencia respiratoria) y existe tolerancia digestiva, el medicamento debe administrarse vía oral.

Segunda elección: Pentamidina 4 mg/kg/día VEV (máximo 300 mg/día), durante 21 días. Otras alternativas, en caso de intolerancia al TMP-SMZ o Pentamidina: Dapsona-Trimetoprim, primaquina-Clindamicina, Atavacuone (750 mg/8 horas, VO , 21 días).

Esteroides: se emplean cuando existe insuficiencia respiratoria moderada-grave (PaO_2 < 60 mmHg). La dosis recomendada es de 40 mg de prednisona cada 12 horas durante 5 días, seguida de una sola dosis diaria otros 5 días y luego 20 mg/día durante 10 días más.

En caso de progresar la insuficiencia respiratoria, se puede recurrir a apoyo ventilatorio.

La mortalidad de los enfermos ingresados por insuficiencia respiratoria es del 20-30% (4,17).

PREVENCIÓN

Dada la frecuencia y gravedad de la NPC se debe hacer tratamiento profiláctico en los pacientes infectados por el VIH con riesgo de padecerla.

La profilaxis se iniciará (y se mantendrá de por vida) en los adultos con recuento de células CD4+ <200 μl y en los que tengan fiebre inexplicable o candidiasis oral (profilaxis primaria), así como en los que hayan padecido de NPC previa (profilaxis secundaria).

Debido al alto riesgo y severidad de la NPC durante el primer año de vida y a las dificultades en el diagnóstico precoz de la infección por el VIH en niños, se recomienda la profilaxis en hijos de madre VIH+, entre 1 y 12 meses, con síntomas (encefalopatía, retraso ponderal, hepatoesplenomegalia, candidiasis oral) y/o $\text{CD4} < 1.500 \text{ mm}^3$, aunque se desconozca su situación frente al VIH. De igual manera, se le aconseja a todos los niños de esa edad infectados por el VIH.

En la Tabla N°1 se muestran las indicaciones de profilaxis de la neumonía por *P. carinii* en niños.

En la actualidad, no se puede recomendar, por falta de documentación, que los pacientes en situaciones de riesgo deban evitar el contacto estrecho con pacientes infectados de NPC (4).

Edad	Indicación
1 mes a 12 meses	Hijo de madre VIH+ sintomático Hijo de madre VIH+ con menos de 1500 CD ₄ / mm ³ Niño infectado por VIH
1 a 2 años	Niño infectado por VIH con <750 CD ₄ / mm ³
2 a 6 años	Niño infectado por VIH con <500 CD ₄ / mm ³
Mayor de 6 años	Niño infectado por VIH con <200 CD ₄ / mm ³
Cualquier edad	Niño infectado por VIH y neumonía por <i>P. carinii</i> previa

Tabla 1
Indicaciones de profilaxis en NPC en niños

BIBLIOGRAFÍA

1. Anónimo. Direct immunofluorescent detection procedure for *Pneumocystis carinii* in respiratory tract specimens. Meridian Diagnost . 1996. pp 1-7.2.
2. Antigués A, Salas A, Amengual I, Serra E. Tiroiditis por *Pneumocystis carinii* en un paciente con infección HIV. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1998; 16 (4): 207-208.
3. Armbruster C, Hassl A, Kriswanek S. *Pneumocystis carinii* colonization in the absence of immunosuppression. *Scand J Infect Dis* 1997; 29: 591-593.
4. Arribas JR, Arrizabalaga J, Baraia J, Casado JL, Cosín J, Guerra L. et al. Prevención de las infecciones oportunistas en pacientes adultos y adolescentes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana en la era del tratamiento antirretrovírico de gran actividad. Recomendaciones del Grupo de estudio del SIDA (GESIDA)/Plan Nacional sobre el SIDA. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18: 457-468.
5. Bartlett M, Smith J. *Pneumocystis carinii*, an opportunist in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rew* 1991; 4(2): 137-149.
6. Beard CB, Carter JL, Keely SP, Huang L, Pieniazek NJ, Moura INC, et al. Genetic variation in *Pneumocystis carinii* isolates from different geographic regions: implications for transmission. *Emerging Infectious Diseases* 2000; 6: 265-271.
7. Borrelli K, Brito A, Rivas G, Panizo MM, Roldán Y. Diagnóstico de *Pneumocystis carinii*: Estudio comparativo entre Inmunofluorescencia directa y la coloración histológica de Gomori-Grocott. *Boletín SVM* 2000; 20: 46-52.
8. Calderón E, Medrano F, Cano S, Varela J. Neumonía por *Pneumocystis carinii* en toxicómana sin evidencia de infección por HIV *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996; 14(8):505.
9. Cermeño J, Sandoval M, Saab T, Mohaweché R, Rodríguez C, Mujica D, Musa M, et al. Las micosis en Venezuela. *Bol. Informativo Las Micosis en Venezuela* 1999; 33: 23-26.
10. Contini C, Villa M, Romani R, Merolla R, Delia S, et al. Detección of *Pneumocystis carinii* among children with chronic respiratory disorders in the absence of HIV infection and immunodeficiency. *J Med Microbiol* 1998; 47: 329-333
11. Corti M, Pérez R, Tezanos M, Cermelj M, Candela M, Schtirbu. Compromiso de la médula ósea por *Pneumocystis carinii* en un paciente con sida. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999; 17: 420-421.
12. Elvin K, Lidman CH, Tynell E, Linder E, Björkman A. Natural history of asymptomatic *Pneumocystis carinii* infection in HIV infected Patients. *Scand J Infect Dis*; 1994; 26: 643-651.

13. Fernandez P, Torres A, Miro J, Villegas C, Mallolas J, et al. Pronostic factors influencing the outcome in *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS. Thorax 1995; 50: 669-671.
14. Franeggy A, Ápice M, Cermeño JR, Hernández I. *Pneumocystis carinii* en muestras respiratorias en Centros Hospitalarios del estado Bolívar. [Tesis de Grado] Ciudad Bolívar. (Estado Bolívar): Universidad de Oriente; 2001.
15. García J, García R, López A, Alcaide F. Neumonía por *Pneumocystis carinii* e infección por el VIH, diagnóstico y tratamiento. Enferm Infecc Microbiol Clin 1998; 16 (1): 36-43.
16. Garcías-Gill D, Moreno J, Valls E, Vilardell J, Rimola A, Grande L, Roviva M. et al. Neumonía por *Pneumocystis carinii* en el receptor de transplante. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 14(5): 296 - 299.
17. Gilbert DN, Moellering RC, Sande MA. Guide to antimicrobial therapy 2000. 30th ed. (EEUU): Antimicrobial therapy, Inc; 2000..
18. Helweg-Larsen J, Jensen JS, Benfield T, Svendsen UG, Lundgren JD, Lundgren B. Diagnostic use of PCR for detection of *Pneumocystis carinii* in oral wash samples. J Clin Microbiol 1998; 36: 2068-2072.
19. Hennequin C, Page B, Roux P, Legendre C, Kreis H. Oubreak of *Pneumocystis carinii* pneumonia in a renal transplant unit. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1995; 14: 122-126.
20. Iribarren J, Arrizabalaga J, Arredondo F, Wichmann M, Oyarbide J, Huarte I. El enfermo de Sida de los noventa (I). Enferm Infecc Microbiol Clin 1994; 12 (8): 398 - 404.
21. Ittarat I, Asawamahsakda W, Bartlett M, Smith J, Meshnick S. Effects of atovaquone and other intibitors on *Pneumocystis carinii* dihydroorotate dehydrogenase. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39 (2): 325-328.
22. Jean W, Chatterton A, Joss W, Pennington T, Ho-Yen D. Usefulness of rat-derived antigen in the serodiagnosis of *Pneumocystis carinii* infection. J Med Microbiol 1999; 48: 681-687.
23. Kaneshiro ES. The lipids of *Pneumocystis carinii* 1998; 11: 27-41.
24. Laing R, Brettle R, Leen C, Hulks G. Features and Outcome of *Pneumocystis carinii* pneumonia according to risk category for HIV infection. Scand J Infect Dis 1997; 29: 57-61.
25. Looney WJ, Windsor JJ. *Pneumocystis carinii* infection in human immunodeficiency virus-positive patients. British Journal of Biomedical Science 1999; 56: 39-48.
26. Mallolas J, Vall M, Miro J, Gatell J, Xaubet A, Picado C, Jiménez de Anta M, et al. Diagnóstico de la neumonía por *Pneumocystis carinii* mediante esputo inducido. Enf Infec Microbiol Clin 1990; 8: 511-513.
27. Mallolas J, Zamora L, Gatell JM, Miró JM, Vernet E, Valls ME, Soriano E, García San Miguel J. Primary prophylaxis for *Pneumocystis carinii* pneumonia: a randomized trial comparing cotrimoxazole, aerosolized pentamidine and dapsone plus pyrimethamine. AIDS 1993; 7: 59-64.
28. Mathis A, Weber R, Kuster H, Spiech R. Simplified sample processing combined with a sensitive one-tube nested PCR Assay for detection of *Pneumocystis carinii* in respiratory specimens. J Med Microbiol 1997; 35 (7): 1691-1695.
29. Menéndez R, Mora H, Peris R. 1996. ¿Es útil el estudio del esputo en el diagnóstico etiológico de la neumonía adquirida en la comunidad?. Enferm Infecc Microbiol Clin 1996; 14(8):486 - 489.
30. Murray P, Baron E, Pfaller M, Tenover M, Tenover R. Manual of clinical microbiology. 7ª ed. Edit Hercourt Brace. S.A: Barcelona (España); 1999.

31. Ortona E, Margutti P, Tamburrini E, Mencarini P, Visconti E, Zolfo M, Siracusano A. Detection of *Pneumocystis carinii* in respiratory specimens by PCR-solution hybridisation enzyme-linked immunoassay. J Clin Microbiol 1997; 35: 1589-1591.
32. Panizo M, Reviákina V, Vázquez C. Diagnóstico de *Pneumocystis carinii*: Comparación entre las técnicas inmunológicas e histológicas. Sección de aislamiento viral INH "RR". Caracas - Venezuela. 2000.
33. Powers CN. Diagnosis of infectious diseases: a cytopathologist's perspective. Clin Microbiol Reviews 1998; 11: 341-365.
34. Salfelder K. Las Protozoonosis en el Hombre. Atlas en color. Editorial Arte; 1985.
35. Stager C, Fraire A, Kim H, Estrada R, Davis J, et al. Modification of the Fungi-Fluor and the genetic systems fluorescent antibody methods for detection of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage specimens. Arch Pathol Lab Med 1995; 119: 142-147.
36. Stringer SL, Stringer JR, Blaise MA, Walzer PD, Cushion MT. *Pneumocystis carinii*: sequence from ribosomal RNA implies a close relationship with fungi. Exp Parasitol 1989; 68: 450-461.
37. Sukura A, Ukkola T, Linder E, Lindberg L. Ultrastructural localization of monoclonal antibodies against *Pneumocystis carinii*. APMIS. 1994; 102: 901-907.
38. Tuncer S, Ergüven S, Kocagöz S, Ünal S. Comparison of cytochemical staining, immunofluorescence and PCR for diagnosis of *Pneumocystis carinii* on sputum samples. Scand J Infect Dis 1998; 30: 125-128.
39. Villuendas C, Remacha A., Echávarri B, Lezcano A, Omeñaca M, Arazo P, Bello S. et al. Neumonía diagnóstica por broncoscopia en paciente HIV - Positivos. Enferm Infecc Microbiol Clin 1995; 14(5): 314 - 316.
40. Wazir J, Brown I, Martin-Bates E, Coleman D. EB9, a new antibody for the detection of trophozoites of *Pneumocystis carinii* in bronchoalveolar lavage Specimens in AIDS. J Clin Pathol 1994; 47: 1108-1111.