

Elżbieta Gołąb

WSPÓŁCZESNA EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ *PNEUMOCYSTIS JIROVECII*CURRENT EPIDEMIOLOGY OF *PNEUMOCYSTIS JIROVECII* INFECTIONSZakład Parazytologii Lekarskiej
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny

STRESZCZENIE

Pneumocystis jirovecii jest oportunistycznym grzybem, który u osób z niewydolnym układem odpornościowym może wywoływać zapalenie płuc. Pomimo istotnego wzrostu wiedzy na temat *Pneumocystis* jaki nastąpił w ostatnich latach wiele zagadnień dotyczących epidemiologii jego zakażeń pozostaje jeszcze niewyjaśnionych. W pracy przedstawiono wyniki najnowszych badań dotyczących występowania *Pneumocystis jirovecii* w populacjach osób immunokompetentnych i osób z upośledzoną funkcją układu odporności oraz omówiono zagadnienia: zakażeń pierwotnych, dróg przenoszenia *Pneumocystis* i zjawiska kolonizacji. Zebrano również informacje dotyczące zakażeń *P. jirovecii* w Polsce.

Słowa kluczowe: *Pneumocystis jirovecii*, epidemiologia, zakażenia *P. jirovecii* w Polsce

ABSTRACT

Pneumocystis fungi has been recognized as causative agent of pneumonia in immunocompromised individuals. The epidemiology of *Pneumocystis* infection has been dynamically changing over the past two decades. In this review, the current understanding of factors contributing to the spreading of *Pneumocystis jirovecii* in immunocompetent and immunocompromised human populations is highlighted. Primary infections, routes of transmission and colonization issues are discussed. Data concerning *P. jirovecii* infections in Poland is also presented.

Key words: *Pneumocystis jirovecii*, epidemiology, *P. jirovecii* infection in Poland

WSTĘP

W latach 50. XX wieku stwierdzono, że wykrywany dotychczas tylko u zwierząt pierwotniak o nazwie *Pneumocystis carinii* może powodować u ludzi śmiertelne w skutkach zapalenie płuc (1, 2). W wyniku intensywnych badań przeprowadzonych w latach osiemdziesiątych odrzucono przekonanie o przynależności *Pneumocystis* do pierwotniaków i opierając się na cechach jego budowy genetycznej uznano go za reprezentanta grzybów (3, 4, 5). Badania molekularne wykazały następnie wysoki stopień zróżnicowania izolowanych organizmów, co spowodowało wyodrębnienie nowych gatunków w rodzaju *Pneumocystis*. Gatunek występujący u człowieka otrzymał nazwę *Pneumocystis jirovecii* a nazwa *P. carinii* jest obecnie właściwa dla jednego z gatunków spotykanych u szczurów laboratoryjnych (6, 7). Natomiast badania przeprowadzone z wykorzystaniem modeli zwierzęcych pozwoliły na sformułowanie istotnego dla epidemiologii wniosku, że gatunki *Pneumocystis* są specyficzne dla określonych żywicieli i że zakażenia krzyżowe nie są możliwe (8, 9, 10, 11, 12, 13, 14).

Infekcja *P. jirovecii* jest prawdopodobnie inicjowana przyłączeniem się form troficzných grzyba do

pneumocytów typu I (15). Na rozwój pneumocystozowego zapalenia płuc (PCP) narażone są osoby o znacząco obniżonej funkcji układu odpornościowego. Do czynników ryzyka należą: AIDS, nowotwory układu krwiotwórczego, wrodzone niedobory odporności, choroby narządowe leczone długotrwale środkami sterydowymi, kuracje immunosupresyjne biorców narządów. W grupie osób zagrożonych rozwojem pneumocystozy znajdują się również dzieci: przedwcześnie urodzone, noworodki dystroficzne, niemowlęta z wrodzonymi defektami immunologicznymi lub z niedożywieniem znacznego stopnia.

Pomimo istotnego wzrostu wiedzy na temat *Pneumocystis jirovecii*, jaki nastąpił w ostatnich latach, wiele zagadnień dotyczących epidemiologii jego zakażeń pozostaje jeszcze niewyjaśnionych. W pracy przedstawiono wyniki najnowszych badań dotyczących występowania *Pneumocystis jirovecii* w populacjach osób immunokompetentnych i osób z upośledzoną funkcją układu odporności oraz omówiono zagadnienia: zakażeń pierwotnych, dróg przenoszenia *Pneumocystis* i zjawiska kolonizacji. Zebrano również informacje dotyczące zakażeń *P. jirovecii* w Polsce.

ZAKAŻENIA PIERWOTNE

Wyniki badań serologicznych wskazują, że do pierwotnego zakażenia *P. jirovecii* dochodzi we wczesnym dzieciństwie (16, 17, 18, 19). U 85% dzieci chilijskich w wieku do 20 miesięcy zaobserwowano serokonwersję (20). W badaniach hiszpańskich przeciwciała posiadało 52% zbadanych dzieci sześciolletnich a odsetek zakażonych wzrastał z wiekiem: u dzieci 10 letnich wynosił 66% a u trzynastolatków 80% (21).

Dotychczas nie stwierdzono zespołu objawów charakterystycznych dla zakażeń pierwotnych u immunokompetentnych dzieci. Przyjęto, że zakażenia te mogą być asymptomatyczne lub przybiegać w postaci łagodnych infekcji układu oddechowego, którym towarzyszą objawy nieswoiste (22, 23). Według badań przeprowadzonych przez *Medrano* i wsp. około 20% dzieci może nie wykazywać objawów, natomiast w przypadkach objawowych najczęściej występują nieżyt nosa (27%) i zmiany osłuchowe w oskrzelach (18%) (24). *Larsen* i wsp. stwierdzili natomiast, że u małych dzieci stan kolonizacji DNA *P. jirovecii* dwukrotnie częściej występował przy epizodach schorzeń górnych niż dolnych dróg oddechowych (25).

Przez wiele lat uważano, że zakażenia nabyte w dzieciństwie utrzymują się przez całe życie w postaci latentnej ulegając reaktywacji w stanach spadku odporności organizmu. Jednak wyniki ostatnich badań świadczyć mogą o eliminacji *Pneumocystis* z płuc po przebytej infekcji. W badaniach grupy pacjentów poddawanych leczeniu przeciw PCP zaobserwowano spadek liczby osób, u których w kolejnych tygodniach od wprowadzenia kuracji wykrywano cysty *Pneumocystis* w płwocinie. W 2 tygodniu leczenia u 88% monitorowanych osób wyniki badania były pozytywne, natomiast w 6 tygodniu po rozpoczęciu kuracji tj. w 3 tygodniu od jej zakończenia, odsetek pacjentów dodatnich spadł do 24% (26). Nie stwierdzono reaktywacji wyeliminowanego zakażenia w doświadczeniach z użyciem modelu mysiego. Zakażone *Pneumocystis* myszy SCID, u których odbudowano odporność podając komórki śledziony eliminowały patogen z płuc po 28 dniach od wykonania zabiegu inokulacji. Ponowne obniżenie odporności poprzez zmniejszenie liczby komórek CD4 nie prowadziło do rozwoju pneumocystozy (27). Występowaniu przetrwałych infekcji pierwotnych w formie utajonej zaprzeczają także wyniki badania epidemiologicznego, w którym porównywano wzory genetyczne izolatów *P. jirovecii* uzyskanych od chorych na PCP w różnych miejscowościach USA. Przeprowadzona analiza nie wykazała powiązania genotypów *Pneumocystis* z miejscem urodzenia osób badanych pokazała natomiast korelację genotypów z miejscem, w którym prowadzono diagnostykę (28).

ŹRÓDŁO ZAKAŻENIA I DROGI PRZENOSZENIA

Jak pokazały wyniki ostatnich badań pneumocystoza jest antroponozą, dlatego najczęściej źródeł *P. jirovecii* poszukuje się w populacji ludzi. Opisy ognisk PCP, które występowały wśród hospitalizowanych osób z obniżoną odpornością, na przykład wśród biorców organów i pacjentów z chorobą nowotworową, świadczą o przeniesieniu *Pneumocystis* drogą kropelkową z osoby chorej na osobę podatną na zakażenie (29, 30). Pacjenci z PCP mogą być źródłem zakażenia również dla osób immunokompetentnych, u których nie dochodzi do rozwoju choroby. *Miller* i wsp. stwierdzili obecność *P. jirovecii* u 24% pracowników służby zdrowia mających kontakt z zakażonymi wirusem HIV chorymi na PCP, wśród pracowników, którzy nie mieli kontaktu z chorymi odsetek zakażonych był znacznie niższy i wynosił 11% (31). Dotychczas nie udokumentowano przypadków przeniesienia *Pneumocystis* na osobę immunokompetentną z immunokompetentnej osoby z zakażeniem w postaci bezobjawowej. Jednak badania przeprowadzone na modelu mysim wykazały, że taka droga transmisji jest możliwa (32).

Rozważana jest również możliwość przezłożyskowego zakażenia płodu. Dotychczasowe badania tego sposobu transmisji, prowadzone z wykorzystaniem modeli zwierzęcych, nie dały jednoznacznych rezultatów. Nie stwierdzono przeniesienia *Pneumocystis* z zakażonej matki na płód u immunokompetentnych szczurów, a u szczurów z obniżoną odpornością stwierdzane było rzadko (33, 34). Przezłożyskowej drogi zakażenia nie zaobserwowano u myszy SCID natomiast donoszono o przypadkach takich zakażeń u immunokompetentnych królików (35, 36, 37). Jeszcze przed wystąpieniem epidemii AIDS sugerowano możliwość zakażeń wertykalnych u ludzi obserwując przypadki pneumocystozy u kilkudniowych noworodków (38). Następnie, w połowie lat dziewięćdziesiątych ukazało się doniesienie o przypadku zakażenia płodu od HIV- pozytywnej matki chorej na PCP, chociaż ostatecznie przypadek ten nie uzyskał potwierdzenia laboratoryjnego (39, 40). W bieżącym roku *Montes-Cano* i wsp. przedstawili wyniki badań materiału archiwalnego, który stanowiły utrwalone tkanki płucne 20 płodów poronionych w 28 +/- 8 tygodniu ciąży i 20 łożysk, pochodzące od immunokompetentnych kobiet, u których badano przyczyny poronienia. W zbadanych tkankach płucnych 7 (35%) płodów i w jednym (5%) łożysku wykryto DNA *P. jirovecii*. Wyniki badań *Montes-Cano* i wsp. mogą więc stanowić molekularne potwierdzenie występowania wewnątrzmacicznych zakażeń *P. jirovecii* u ludzi (41).

Obecność materiału genetycznego *P. jirovecii* w filtratach powietrza z pomieszczeń, w których przebywali

chorzy na PCP wskazuje na przenoszenie grzyba drogą powietrzną (42, 43). Jednak źródłem *Pneumocystis* znajdującego się w powietrzu nie muszą być chorzy. Ponieważ materiał genetyczny grzyba wykrywano w próbkach powietrza i wody pobranych z dala od siedzib ludzkich, niektórzy badacze rozważają możliwość istnienia formy *Pneumocystis*, która żyje wolno w środowisku zewnętrznym (42, 44, 45).

KOLONIZACJA

Po wprowadzeniu do badań nad *Pneumocystis* czułych technik molekularnych zakażenie zaczęto wykrywać także u ludzi niewykazujących objawów PCP. Stan, w którym obecności *Pneumocystis* w materiale z dróg oddechowych nie towarzyszą objawy PCP, nazwano kolonizacją; innymi, używanymi w piśmiennictwie, określeniami tego stanu są: nosicielstwo i zakażenie subkliniczne. Kolonizację *P. jirovecii* stwierdzano u 14–25% immunokompetentnych dzieci z objawami ostrej infekcji oddechowych lub z przewlekłymi chorobami płuc (25, 46, 47, 48). Natomiast dane dotyczące kolonizacji u immunokompetentnych osób dorosłych są rozbieżne. Część badaczy nie wykrywała DNA *P. jirovecii* w materiale pobranym od tej grupy osób, ale *Nevez* i *Medrano* w swoich badaniach stwierdzili kolonizację u 20% osób dorosłych z prawidłową funkcją układu immunologicznego (49, 50). Przypadki bezobjawowego zakażenia *P. jirovecii* wykrywano w grupie osób, HIV-ujemnych z obniżoną odpornością, z rozpoznaniem: szpiczaka, sarkoidozy, białaczki limficytowej i cukrzycy. W tej grupie pacjentów zauważono związek pomiędzy liczbą przypadków kolonizacji a spadkiem odporności: przy spadku liczby komórek CD4 poniżej 400 lub wartości stosunku CD4:CD8 poniżej 1, z 16 do 30 zwiększył się odsetek osób zakażonych (51). Wysoki odsetek nosicieli stwierdzono wśród osób z immunosupresją jatrogenną. *Maskel* i wsp. wykryli bezobjawowe zakażenie *P. jirovecii* u 44% wśród zbadanych chorych, których leczono prednisonem, natomiast *Helweg-Larsen* i wsp. stwierdzili kolonizację u 75% spośród osób otrzymujących kortykosterydy (52, 53). Podwyższone ryzyko zakażenia może być także związane z zaburzeniami odporności występującymi w trakcie ciąży. *Vargas* i wsp. wykryli *P. jirovecii* u 15 spośród 33 zbadanych kobiet w 3 trymestrze ciąży, ale nie stwierdzili zakażenia u żadnej z niebędących w ciąży 28 kobiet, które stanowiły grupę kontrolną (54).

Wśród osób zakażonych HIV poziom kolonizacji *Pneumocystis* waha się w granicach 30% do 70%. Dotychczas nie stwierdzono, aby u tych osób czynniki takie jak: występowanie incydentów PCP, stosowanie profilaktyki przeciw pneumocystozowej czy leków antyretrowirusowych miały wpływ na częstość występo-

wania zakażeń (55, 56). Wykazano natomiast, że ryzyko kolonizacji *P. jirovecii* znacząco wzrasta w przypadku palenia papierosów (56).

Badania obejmujące pacjentów z ostrymi i chronicznymi chorobami puc wykazały, że odsetek bezobjawowych zakażeń *Pneumocystis* w tej grupie może być w granicach od 2,6% do 35% (57, 58, 59). Za potencjalnie istotny uznano tu związek zakażeń *Pneumocystis* z występowaniem przewlekłego zapalenia oskrzeli lub przewlekłej obturacyjnej choroby płuc. Stwierdzono, że odsetek przypadków kolonizacji wśród tych chorych przekraczał 40% (60, 61). W ostatnio przeprowadzonych badaniach *Calderon* i wsp. wykryli kolonizację aż u 55% spośród zbadanych pacjentów z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc (62).

W aktualnie publikowanych pracach autorzy rozważają potencjalne skutki kliniczne stanu kolonizacji. Z badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych wynika, że kolonizacja prowokuje rozwój procesów zapalnych podobnych do tych, które są obserwowane w objawowym PCP (63). Nie można więc wykluczyć, że następstwem stanów zapalnych powodowanych przez *Pneumocystis jirovecii* u osób immunokompetentnych mogą być przewlekłe choroby płuc. Jednak uzyskanie jednoznacznych odpowiedzi na pytania dotyczące klinicznego i epidemiologicznego znaczenia zjawiska kolonizacji wymaga dalszych badań.

ZAKAŻENIA PNEUMOCYSTIS JIROVECII W POLSCE

Intensywne badania dotyczące pneumocystozy prowadzono w naszym kraju w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych XX wieku (64 - 70). To wówczas, w Państwowym Zakładzie Higieny opracowano test serologiczny do rozpoznawania przypadków PCP u ludzi. Test ten, umożliwił wykrywanie przeciwciał klas IgM oraz IgG przeciwko *Pneumocystis* i do czasów obecnych znajduje zastosowanie w diagnostyce pneumocystozy (71).

W latach 1955–1975 w polskim piśmiennictwie medycznym opisano 710 przypadków PCP u dzieci, 30% z nich zakończyło się zgonem (72). Natomiast w pracach ukazujących się od początku lat dziewięćdziesiątych, oprócz opisów infekcji u dzieci znajdują się też informacje o występowaniu *Pneumocystis* u osób zakażonych wirusem HIV. Jak wykazały badania retrospektywne PCP było przyczyną śmierci u 24% wśród 55 zbadanych osób z AIDS zmarłych w latach 1986–1994 (73). *Kamiński*, prowadząc *post mortem* badania pacjentów hospitalizowanych w Szpitalu Chorób Zakaźnych w Warszawie stwierdził PCP u 22 (11%) z 200 osób zmarłych z powodu AIDS w latach 1987–1999 (74). Natomiast w Klinice Chorób Zakaźnych w Gdyni

w okresie od 1988 r. do 2001 r. pneumocystoza była przyczyną śmierci u 16 (21,6%) spośród 74 zmarłych z AIDS (75). W naszym kraju w latach 2000–2002, wśród infekcji oportunistycznych i zachorowań na inne choroby wskazujące na AIDS, odsetek przypadków pneumocystozy wynosił średnio 12,1%; była to trzecia z najczęściej odnotowanych infekcji u osób zakażonych wirusem HIV (76). Obliczono, że w latach 2003–2007 PCP było trzecią z najczęściej występujących chorób wskazujących na AIDS w grupie późno testowanych HIV-pozytywnych pacjentów Kliniki Chorób Zakaźnych i Hepatologii PAM w Szczecinie (77).

Współczesne badania wskazują, że u około 20% dzieci w Polsce wieku od 10 do 24 tygodnia *P. jirovecii* może być przyczyną zakażenia układu oddechowego. Wykazała to analiza retrospektywna 503 wyników badań serologicznych, które przeprowadzono w Zakładzie Parazytologii Lekarskiej PZH w Warszawie. Wśród zbadanych były dzieci z różnych miejscowości w kraju, u których diagnozowano ostrą infekcję górnych i/lub dolnych dróg oddechowych. Przeciwciała klasy IgM, świadczące o świeżym zakażeniu, wykryto u 60 dzieci, a u 354 (70,4%) wykryto swoiste IgG potwierdzając wcześniejsze wystąpienie zakażenia (78). Według danych Kliniki Położnictwa i Perinatologii w Szczecinie, w roku 2007 PCP stanowiło 15% wszystkich przypadków infekcji nabytych po urodzeniu u noworodków hospitalizowanych w Oddziale Intensywnej Terapii (79). Nieco wyższy odsetek (17,9%) przypadków PCP stwierdzono wśród noworodków, które wymagały zastosowania mechanicznej wentylacji w trakcie hospitalizacji w latach 1999 - 2003 (80).

Badania przeprowadzone w oparciu o techniki molekularne wykazały, że kolonizacja *P. jirovecii* w Polsce może występować u 35–50% osób zakażonych wirusem HIV, podczas gdy odsetek przypadków kolonizacji u pacjentów HIV-ujemnych z ostrymi chorobami układu oddechowego i immunosupresją jatrogenną znajduje się w granicach 10%. Bezobjawowe zakażenia *Pneumocystis* stwierdzono też u 7% zbadanych osób immunokompetentnych z przewlekłymi chorobami płuc (81, 82).

Prewalencję zakażeń bezobjawowych wśród osób immunokompetentnych oszacowano na podstawie wyników badania na obecność DNA *P. jirovecii* wymazów z gardła pobranych od 148 immunokompetentnych osób z Warszawy. Osoby te wyselekcjonowano z grupy badanych w kierunku infekcji wirusowych górnych dróg oddechowych w różnym wieku. Stwierdzono, że spośród ogółu zbadanych 12,8% osób było nosicielami *Pneumocystis*. Dwunastu zakażonych (24,5%) wykryto w grupie dzieci w wieku od 1 do 6 roku życia, 5 (10,4%) w grupie osób w wieku od 60 do 85 lat a 2 (4%) w grupie dorosłych pomiędzy 20 a 45 rokiem życia. U dzieci zakażenie występowało częściej aniżeli u dorosłych

w młodszym wieku ($p = 0,003$) i u osób dorosłych łącznie ($p = 0,029$). Nie zaobserwowano powiązania częstości występowania *Pneumocystis* z płcią dzieci. Wykazano natomiast taki związek u osób dorosłych: odsetek zakażonych kobiet (12,5%) był istotnie wyższy od odsetka zakażonych mężczyzn (2%; $p = 0,004$). Powyższe badania potwierdziły występowanie wysokiego odsetka przypadków kolonizacji *Pneumocystis* wśród zdrowych dzieci. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że dzieci mogą być potencjalnym źródłem zakażenia dla osób, które mają z nimi częsty kontakt. Świadczyć o tym mógł istotnie wyższy odsetek wyników dodatnich wśród kobiet i w grupie osób w starszym wieku, które w polskich rodzinach najczęściej opiekują się małymi dziećmi (83).

Ostatnie badania wykazały, że mutacje punktowe genu kodującego syntetazę dihydropterynianową (DHPS) mogą powodować u *Pneumocystis jirovecii* powstawanie oporności na sulfonamidy. Wśród zbadanych 25 polskich izolatów *P. jirovecii* wykryto 2, które posiadały mutację punktową w kodonie 55 (Thr55Ala) genu DHPS. Izolaty z mutacją uzyskano od osób niezakażonych (1/10) i zakażonych (1/15) wirusem HIV. Zaobserwowany polimorfizm genu DHPS może wskazywać na powstawanie w Polsce szczepów *P. jirovecii* opornych na sulfonamidy (84).

PODSUMOWANIE

Rozwój technik molekularnych jaki nastąpił w ostatnich latach pozwolił na osiągnięcie znaczących postępów w badaniach nad *Pneumocystis* nadal jednak wiele zagadnień dotyczących epidemiologii jego zakażeń pozostaje niewyjaśnionych. Wciąż na przykład trwają dyskusje nad możliwymi drogami transmisji oraz rezerwuarem grzyba. Dane pochodzące ze świata oraz z Polski wskazują na częste występowanie bezobjawowego zakażenia *Pneumocystis* w populacji osób z prawidłowo funkcjonującym układem odpornościowym. Wyjaśnienia wymaga ich rola w procesie transmisji *Pneumocystis* w sytuacji stałego wzrostu liczebności grupy pacjentów z immunosupresją, narażonych na rozwój PCP. Natomiast w aspekcie danych wykazujących, że zakażenie w stanie bezobjawowym indukuje w immunokompetentnym organizmie intensywne procesy zapalne, prowadzone są badania nad znaczeniem tych procesów w rozwoju przewlekłych chorób układu oddechowego. Wysoka czułość i swoistość stosowanych obecnie technik molekularnych pozwala na badanie materiału pobieranego nieinwazyjnie co ułatwiło prowadzenie badań epidemiologicznych i rozszerzyło ich zakres. Jednak wysoka czułość metod diagnostycznych w połączeniu z brakiem charakterystycznych objawów choroby może sprawiać trudności przy różnicowaniu

etiologii zapalenia płuc u pacjentów będących nosicielami *Pneumocystis*. Dlatego uważa się, że kolejnym osiągnięciem prowadzonych obecnie badań będzie opracowanie metodyki umożliwiającej różnicowanie klinicznych stadiów zakażenia *P. jirovecii*.

PIŚMIENNICTWO

Piśmiennictwo u autora dostępne według numerów cytowania.

Otrzymano: 18. 05. 2009 r.

Zakwalifikowano do druku: 29.05.2009 r.

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Lek. wet. Elżbieta Gołąb

Zakład Parazytologii Lekarskiej

Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego- Państwowy

Zakład Higieny

Ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

Tel. 0 22 5421220

E-mail: egolab@pzh.gov.pl