

herbal medicine for treating recurrent urinary tract infections in women[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 6(3):CD010446.

基因表达影响的研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2010, 12(5):265-266.

[16] 闫燕, 李妍怡, 高丽波. 复方中药对动脉粥样硬化形成中

(收稿日期:2018-02-06 修回日期:2018-05-22)

· 综 述 · DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 19. 043

艾滋病相关卡氏肺孢子菌肺炎的诊断进展^{*}

王惠秋, 李春华 综述, 吕圣秀[△] 审校

(重庆市公共卫生医疗救治中心放射科 400036)

关键词: 肺孢子菌肺炎; 艾滋病; 真菌感染; CT

中图法分类号: R512.91

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)19-2977-03

卡氏肺孢子菌肺炎(PCP)是由卡氏肺孢子菌引起的一种非典型肺炎,是艾滋病患者最为常见的机会性感染^[1]。过去卡氏肺孢子菌被归为原生生物,但是目前认为卡氏肺孢子菌属于真菌,科学家将其更名为 jirovecii 肺孢子菌,但是为了避免混淆,其缩写仍然沿用“PCP”^[2]。有研究表明,超过一半的免疫力正常的成人会再次感染卡氏肺孢子虫,但是绝大多数并不会发病,因此健康者成为病原菌的携带者和传播者^[3]。绝大多数 PCP 患者是因为各种原因破坏了机体的免疫系统,降低机体免疫力,进而导致了感染,比如艾滋病患者、使用免疫抑制药物的肾移植患者,以及白血病患者等免疫功能受损的人群,其中最主要的感染人群还是 T 细胞免疫功能严重受损的艾滋病患者^[4]。有关 PCP 的资料,多数也是来自艾滋病患者^[4-5]。卡氏肺孢子菌不能进行培养,过去通过纤维支气管镜下进行肺泡灌洗,显微镜下查找病原菌是诊断的金标准^[3,6]。但是纤维支气管镜检查是一种侵入性检查,可能引起严重的并发症,因此非侵入性检查显得非常重要。本文就艾滋病相关 PCP 的非侵入性诊断进展作一综述。现报道如下。

1 危险因素

健康人群极少患 PCP,但是肺孢子菌能够寄生在肺中,而不引起任何症状。事实上,超过 50% 的免疫力正常者都携带有该病原菌^[1]。绝大多数 PCP 患者都有严重的免疫功能缺陷,不能抵抗病原菌的入侵^[7]。约 40% 的 PCP 患者感染了人免疫缺陷病毒(HIV),或者发展为艾滋病^[4]。其余 60% 的 PCP 患者是因为其他原因导致的免疫缺陷,比如原发性免疫缺陷、器官移植、自身免疫疾病使用免疫抑制剂、血液恶性肿瘤以及干细胞移植等^[8-9]。研究发现,除了使用高剂量的糖皮质激素可以导致 PCP 外,16~20 mg/d 的泼尼松,使用 4~6 周就足以增加 PCP 的患病风险^[10]。另外一项研究表明,肾移植患者容易爆发 PCP,必须使用药物预防偶发的 PCP 和爆发性 PCP。

此外,住院期间要将这类 PCP 患者隔离起来,以防其将病原菌传播给其他患者^[11]。有研究显示,针对肺孢子菌预防性用药后,无人患 PCP。因此,对于高风险人群,不预防性用药,本身也是个危险因素。熟悉 PCP 的危险因素,不仅有助于对 PCP 的诊断,而且有助于对 PCP 的早期预防^[12]。

2 临床表现

PCP 的临床表现具有潜伏性、非特异性。对于艾滋病患者和非艾滋病患者,除了原发病的表现外,其肺部症状不尽相同。例如艾滋病患者倾向以亚急性、进行性呼吸困难起病,干咳或者少量痰,伴有低热和不适^[4-5]。然而,有 7% 的患者是没有症状的。相反,对于非艾滋病引起免疫功能不全的患者,起病更急,常伴随严重的呼吸困难、发热和寒战,一些患者甚至发病时就需要机械通气^[7]。在这些人群中,因呼吸衰竭导致的病死率高达 40%^[7]。严重的肺部症状可能与非艾滋病患者肺部炎性反应更加强烈有关^[13]。

3 诊 断

PCP 最重要的诊断前提是临床高度的重视和怀疑^[3]。在恰当的临床环境下,一个免疫功能受损患者出现新发呼吸困难、新发肺部症状,无论是否有影像学的发现,都应该进一步评估,特别是那些没有接受预防性治疗的患者。

3.1 影像学诊断 尽管近 90% 的 PCP 患者 X 线胸片表现异常,但是其影像学表现不具有特异性,且 10%~15% 的 PCP 患者胸片可以表现正常^[14]。对于 CD4⁺T 细胞计数低于 200/mm² 的患者,其 X 线胸片通常表现为双侧肺部磨玻璃样改变、实变或者无实变,从肺门向周围延伸,少数表现为肺叶浸润、肺部结节、肺大泡以及气胸等^[14]。相对于 X 线胸片,高分辨率 CT 则更加敏感,应该用于临床怀疑 PCP 但胸片正常或者不确定的患者^[15]。CT 上征象主要包括以下几种:双肺对称弥漫分布的斑片影,从肺门向周围发展,预防用药者主要位于通气较差的上叶,未预防用

* 基金项目:重庆市卫生局面上项目(2012-2-241)。

△ 通信作者, E-mail: Lvshengxiu@163.com。

药者主要位于下叶;条索网格影常提示肺间质受累,分布位置与斑片影一致;肺大泡发生率约为 30%;肺大叶的实变影在非 HIV 感染的患者更常见,且发展迅速,肺部常因强烈的免疫反应而严重受损;肉芽肿结节,其中心部位可以出现空洞;其他征象还包括肺门纵隔淋巴结肿大、胸腔积液以及气胸等,均较为少见^[15-16]。在临床工作中,PCP 常需要和其他的感染相鉴别,比如巨细胞病毒感染,其他的细菌和真菌感染,因此临床需要借助其他的手段做鉴别诊断。

3.2 实验室诊断 当 T 细胞免疫功能抑制时,寄生于肺泡的肺孢子菌才能大量繁殖,对于免疫功能受损的患者,特别是艾滋病患者,需要计数 CD4⁺ T 细胞,如果计数低于 200/mm²,则具有提示作用^[17]。血液学检查表现为白细胞增高或者正常,与基础疾病相关。肺功能检查提示肺活量减低,肺弥散功能低于 70% 估计值;血气分析常常有低氧血症、呼吸性碱中毒。而血清学检查指标主要是一些非特异性的指标,具有提示作用。1-3-β-D 葡聚糖(BDG)是绝大多数真菌的细胞壁成分,虽然不具有特异性,但是 PCP 的患者血清 BDG 水平会明显上升。在一项对 295 例可疑 PCP 患者的回顾性研究中显示,同肺泡灌洗液(BAL)的镜检相比,以 31.1 pg/mL 水平的 BDG 为临界点,该实验的敏感度和特异度分别为 92.3% 和 86.1%^[18]。另外一项回顾性分析得出了同样的结论,血清 BDG 是 PCP 的一个可靠的诊断标记物^[19]。这些前期研究结果表明,在某些恰当的情况下,BDG 为 PCP 患者提供了一个非侵袭性的辅助检查手段,但是仍然需要进一步的确诊实验^[18-19]。NAKAMURA 等^[20]研究推荐用于 PCP 检测的另一个血清学指标是 II 型肺泡细胞表面抗原(KL-6),它是一种黏蛋白样的糖蛋白,表达于 II 型肺孢子菌和支气管上皮细胞。但是最近研究报道其假阳性率和检测水平不如 BDG 优异,并且事实上 KL-6 是一种更加广谱的肺泡上皮损伤标记物,可以在各种非真菌感染性肺部疾病中检测到,比如严重的肺结核、呼吸道合胞病毒支气管炎,甚至是间质性肺疾病等。因此,认为 KL-6 与肺损伤和上皮再生相关,也不能作为 PCP 的特异性指标^[21]。此外,检测血清中的抗体及补体等,由于缺乏较高的敏感度和特异度,不能用于 PCP 的诊断^[18,20]。

3.3 分子病理诊断 由于肺孢子菌不能进行培养,镜检测到病原菌是诊断的金标准^[3]。传统的检测肺孢子菌的方法是应用化学染色法,比如瑞氏-姬姆萨(Giemsa)染色法及六甲基四胺银(GMS)染色。Giemsa 染色可检出肺孢子菌包囊,内含 4~8 个囊内小体,囊壁为红色;GMS 对包囊的检测效果较好,囊壁染成灰黑色,但是不易与其他真菌鉴别;两种方法同时使用可以提高特异度。然而,目前实验室使用最为普遍的检测试剂是荧光偶联单克隆抗体,实验的敏感度取决于标本的类型(BAL、痰或者组织)、病原菌的数量以及实验人员操作熟练程度。化学染色法的优势在于

快捷、简便,可以检测其他感染的真菌,但是所得结果的可靠性在一定程度上取决于实验人员的操作熟练程度。而免疫荧光抗体优势在于敏感度高,结果解读简单、可靠,缺点是这种方法耗时长,可能出现非特异性染色。因此,临床上常推荐免疫荧光染色作为首选方法,再用第二种方法进行确认^[3,18]。

所有直接检测病原菌的方法都可能出现假阳性结果,分子诊断方法具有更高的敏感度和特异度,在肺孢子菌的诊断和鉴别诊断方面具有广阔的应用前景。由于巢式聚合酶链反应假阳性率较高,最近已经被实时定量聚合酶链反应(qPCR)所取代,qPCR 降低了污染概率,增高了特异度,实验结果更为可靠^[22]。目前 qPCR 主要的检测靶点包括热休克蛋白 70(HSP70)、二氢叶酸还原酶基因(DHPS)、二氢叶酸合酶基因(DHPS)以及细胞分裂周期基因 2(CDC2)等^[22-24]。ARCENAS 等^[24]发现基于 qPCR 技术检测肺孢子菌 CDC2 靶基因,其特异度高达 96.0%,不会和其他的病原体出现交叉反应,分析敏感度高达 5.6 copy/μL,但是如果基因拷贝数低于下限,会出现假阴性。检测标本可以使用痰液、BAL 或者肺组织^[21]。此外,mRNA 稳定性差,其表达具有实时性,通过反转录 PCR(RT-PCR)检测肺孢子菌 mRNA 的表达量,可以判断感染是否具有活动性,因此有学者推荐使用该方法作为病原微生物活性检测手段^[24]。

3.4 二代测序 二代测序(NGS)也称为高通量测序,是一系列测序技术的总称。该技术可以对 DNA 及 RNA 进行测序,相对于一代测序(Sanger 测序),其更加快捷、性价比更高,彻底改变了现有研究对基因组和分子生物学的认识,同时也对疾病的诊断做出了巨大的贡献,可以用于遗传疾病、肿瘤,以及感染性疾病的诊断^[25]。对于 PCP 的患者,通过对总 RNA 的测序后,和相应的基因库进行对比,可以检测病毒感染,同时也可以检测细菌、真菌的活性。当然,对于细菌、真菌以及 DNA 病毒,通过 DNA 深度测序,也可以进行诊断^[26]。对于诊断和鉴别诊断,使用 NGS 进行疾病的诊断,可以事半功倍。

4 小 结

PCP 是导致艾滋病患者死亡的主要原因之一,是免疫损伤患者的普遍并发症,对于该类患者出现肺部症状需要高度怀疑。如果对高危人群提前预防性用药,PCP 是可以预防的^[12]。但是一些 HIV 感染的患者,在诊断 HIV 感染之前,肺部症状可能是免疫抑制的首发表现,因此在临床工作中,掌握 PCP 的临床表现和影像特征非常重要^[3,18]。如果怀疑肺孢子菌感染,最为常用的诊断方法是痰液检查或者 BAL 的化学染色或者免疫荧光染色^[3]。近几年来,基于 PCR 的诊断技术越来越普及,并且许多的机构或者医院都具有这个检测条件^[24]。对于诊断、鉴别诊断困难的患者,应该考虑使用 NGS 来帮助确诊,以达到早期确诊的目的^[25-26]。

参考文献

- [1] HUANG Y S, YANG J J, LEE N Y, et al. Treatment of pneumocystis jirovecii pneumonia in HIV-infected patients; a review[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2017, 15(9): 873-892.
- [2] STRINGER J R, BEARD C B, MILLER R F, et al. A new Name(Pneumocystis jiroveci) for Pneumocystis from humans[J]. Emerg Infect Dis, 2002, 8(9): 891-896.
- [3] SONG Y G, REN Y I, WANG X W et al. Recent advances in the diagnosis of pneumocystis pneumonia[J]. Med Mycol J, 2016, 57(4): E111-E116.
- [4] GUARNER J. Human immunodeficiency virus and fungal infections[J]. Semin Diagn Pathol, 2017, 34(4): 325-331.
- [5] WANG R J, MILLER R F, HUANG L. Approach to fungal infections in human immunodeficiency Virus-Infected individuals: pneumocystis and beyond [J]. Clin Chest Med, 2017, 38(3): 465-477.
- [6] EFRATI O, GONIK U, BIELORAI B, et al. Fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage for the evaluation of pulmonary disease in children with primary immunodeficiency and cancer[J]. Pediatr Blood Cancer, 2007, 48(3): 324-329.
- [7] MU X D, JIA P, GAO L, et al. Relationship between radiological stages and prognoses of pneumocystis pneumonia in non-AIDS immunocompromised patients[J]. Chin Med J(Engl), 2016, 129(17): 2020-2025.
- [8] BRAKEMEIER S, DUERR M, BACHMANN F, et al. Risk evaluation and outcome of pneumocystis jirovecii pneumonia in kidney transplant patients[J]. Transplant Proc, 2016, 48(9): 2924-2930.
- [9] STRICH J R, JERUSSI T D, WIESTNER A, et al. Pneumocystis jirovecii pneumonia in a treatment-naive patient with chronic lymphocytic leukemia [J]. Infect Dis Clin Pract (Baltim Md), 2016, 24(6): e86-e87.
- [10] CAPLAN A, FETT N, ROSENBAACH M, et al. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects; A comprehensive review; Infectious complications and vaccination recommendations[J]. J Am Acad Dermatol, 2017, 76(2): 191-198.
- [11] DE BOER M G, DE FIJTER J W, KROON F P. Outbreaks and clustering of Pneumocystis pneumonia in kidney transplant recipients; a systematic review[J]. Med Mycol, 2011, 49(7): 673-680.
- [12] WOLFE R M, PEACOCK J. Pneumocystis pneumonia and the rheumatologist; which patients are at risk and how can PCP be prevented[J]. Curr Rheumatol Rep, 2017, 19(6): 35.
- [13] KHAN B A, KHAN S, WHITE B, et al. Severe pneumocystis jiroveci pneumonia in a patient on temozolomide therapy; a case report and review of literature[J]. Respira Med Case Rep, 2017, 22(1): 179-182.
- [14] ADERAYE G, BRUCHFELD J, ASEFFA G A, et al. Pneumocystis jiroveci pneumonia and other pulmonary infections in TB smear-negative HIV-positive patients with atypical chest X-ray in Ethiopia[J]. Scand J Infect Dis, 2007, 39(11/12): 1045-1053.
- [15] CHOU C W, CHAO H S, LIN F C, et al. Clinical usefulness of HRCT in assessing the severity of pneumocystis jirovecii pneumonia a cross-sectional study[J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(16): e768.
- [16] RAJU S, GHOSH S, MEHTA A C. Chest CT signs in pulmonary disease a pictorial review[J]. Chest, 2017, 151(6): 1356-1374.
- [17] BRUNOT V, PERNIN V, CHARTIER C, et al. An epidemic of pneumocystis jiroveci pneumonia in a renal transplantation center; role of T-Cell lymphopenia [J]. Transplant Proc, 2012, 44(9): 2818-2820.
- [18] TASAKA S, HASEGAWA N, KOBAYASHI S, et al. Serum indicators for the diagnosis of pneumocystis pneumonia[J]. Chest, 2007, 141(4): 1173-1180.
- [19] LAHMER T, DA COSTA C P, HELD J A, et al. Usefulness of 1, 3 Beta-D-Glucan detection in non-HIV immunocompromised mechanical ventilated critically ill patients with ARDS and suspected pneumocystis jirovecii pneumonia[J]. Mycopathologia, 2017, 182(7/8): 701-708.
- [20] NAKAMURA H, TATEYAMA M, TASATO D, et al. Clinical utility of serum beta-D-Glucan and KL-6 levels in pneumocystis jirovecii pneumonia[J]. Int Med, 2009, 48(4): 195-202.
- [21] SAKAI M, KUBOTA T, OHNISHI H, et al. A novel lung injury animal model using KL-6-measurable human MUC1-expressing mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 432(3): 460-465.
- [22] MOODLEY B, TEMPIA S, FREAN J A. Comparison of quantitative real-time PCR and direct immunofluorescence for the detection of Pneumocystis jirovecii[J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0180589.
- [23] MONTESINOS I, DELFORGE M L, AJJAHAM F A, et al. Evaluation of a new commercial real-time PCR assay for diagnosis of Pneumocystis jirovecii pneumonia and identification of dihydropteroate synthase (DHPS) mutations[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2017, 87(1): 32-36.
- [24] ARCENAS R C, UHL J R, BUCKWALTER S P, et al. A real-time polymerase chain reaction assay for detection of Pneumocystis from bronchoalveolar lavage fluid[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2006, 76(3): 169-175.
- [25] FUKAMI M, MIYADO M. Next Generation sequencing and array-based comparative genomic hybridization for molecular diagnosis of pediatric endocrine disorders[J]. Ann Pediatr Endocrinol Metab, 2017, 22(2): 90-94.
- [26] CHARPENTIER E, GARNAUD C, WINTENBERGER C, et al. Added value of Next-Generation sequencing for multilocus sequence typing analysis of a pneumocystis jirovecii pneumonia outbreak1[J]. Emerg Infect Dis, 2017, 23(8): 1237-1245.