

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2020. 24. 002

耶氏肺孢子菌不同病原学染色形态特征在 PJP 诊断中的效果评价^{*}

薛 婷¹, 王淑峰², 杜伟勤³, 卢 鸿², 张新日^{1△}

山西医科大学第一医院:1. 呼吸与危重症医学科;2. 检验科, 山西太原 030001;

3. 山西省吕梁市人民医院医学检验科, 山西吕梁 033000

摘 要:目的 比较耶氏肺孢子菌(*P. jirovecii*)不同病原学染色形态特征,分析其在肺孢子菌肺炎(PJP)诊断中的价值。**方法** 收集 1 例 PJP 患者的支气管肺泡灌洗液,制成涂片,运用不同病原学染色方法分别对其进行染色,分析、评价不同染色方法在 PJP 诊断中的效果。**结果** 革兰染色和抗酸染色可见透明空泡样结构;真菌荧光染色可见发出蓝色荧光的 *P. jirovecii* 包囊;HE 染色 *P. jirovecii* 包囊囊壁不着色,呈透明晕圈状,囊内可见 4~8 个囊内小体;Wright-Giemsa 染色和改良 Giemsa 染色可见圆形或卵圆形 *P. jirovecii* 包囊,囊壁不着色但折光性强,呈新月形,囊内可见 4~8 个囊内小体;改良 GMS 染色 *P. jirovecii* 包囊囊壁为深褐色或黑色,呈特征性括弧样结构,囊内小体不着色,中间有 1 条黑色褶皱或中心点状深染。**结论** HE 染色、Wright-Giemsa 染色、改良 Giemsa 染色、改良 GMS 染色均可用于确诊 PJP,但 HE 染色、Wright-Giemsa 染色、改良 Giemsa 染色对检验人员要求较高,而改良 GMS 染色的染色效果好,是临床确诊 PJP 的推荐病原学染色方法。

关键词:耶氏肺孢子菌; 病原学染色; 肺孢子菌肺炎; 改良 GMS 染色

中图分类号:R372

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)24-3557-05

Evaluation of the effect of different pathogenic staining morphological characteristics of *Pneumocystis jirovecii* in the diagnosis of PJP^{*}

XUE Ting¹, WANG Shufeng², DU Weiqin³, LU Hong², ZHANG Xinri^{1△}

1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine; 2. Department of Clinical Laboratory,

First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan, Shanxi 030001, China;

3. Department of Medical Laboratory, Lvliang People's Hospital, Lvliang, Shanxi 033000, China

Abstract: Objective To compare the morphological characteristics of different pathogenic staining of *Pneumocystis jirovecii* (*P. jirovecii*) and analyze its value in the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* (PJP). **Methods** A bronchoalveolar lavage fluid sample from a PJP patient was collected and then made smears. Used different pathogenic staining methods to stain them separately, analyzed and evaluated the effect of different staining methods in the diagnosis of PJP. **Results** Gram staining and acid fast staining showed clear vacuole-like structures. Fungal fluorescence staining showed the blue fluorescent *P. jirovecii* cyst. The cyst wall of *P. jirovecii* was not stained by HE staining, showed a transparent halo shape, and every cyst contained 4 to 8 intracystic bodies. Wright-Giemsa staining and modified Giemsa staining showed round or oval *P. jirovecii* cyst, the cyst wall was not stained but had strong refraction, showed crescent-shaped, and every cyst contained 4 to 8 intracystic bodies. The wall of *P. jirovecii* cyst was dark brown or black by modified GMS staining, showed a characteristic bracket-like structure, the intracystic bodies were not stained, and there was a black fold or deep staining in the center. **Conclusion** HE staining, Wright-Giemsa staining, modified Giemsa staining and modified GMS staining can be used to diagnose PJP. However, HE staining, Wright-Giemsa staining and modified Giemsa staining have higher requirements for inspectors. The modified GMS staining is effective, and it is recommended for clinical diagnosis of PJP.

Key words: *Pneumocystis jirovecii*; pathogenic staining; *Pneumocystis pneumonia*; modified GMS staining

^{*} 基金项目:山西省高等学校科技创新项目(2020L0201);中央引导地方科技发展专项资金项目(YDZX20191400002737);山西医科大学省级博士基金项目(SD1905);山西医科大学校级博士启动基金项目(XD1905)。

作者简介:薛婷,女,讲师,主要从事真菌、寄生虫分子流行病学及其致病机制研究。△ 通信作者,E-mail:ykdzxr61@163.com。

肺孢子菌是一种机会致病性真菌,具有显著的宿主特异性,感染人的肺孢子菌是耶氏肺孢子菌(*P. jirovecii*),可引起严重且致命的肺孢子菌肺炎(PJP)^[1]。近年来,随着高效抗反转录病毒治疗的开展与应用,人类免疫缺陷病毒(HIV)感染人群中 PJP 的发病率明显下降,但非 HIV 感染人群,如器官移植受者、进行放化疗的恶性肿瘤和自身免疫性疾病患者的 PJP 发病率逐年增高^[2-4],且 *P. jirovecii* 定植的现象在呼吸系统疾病患者中非常普遍。*P. jirovecii* 缺乏有效的体外培养体系是阻碍其致病性、病原学及流行病学研究进展的主要原因。近年来,随着分子生物学技术的飞速发展,诸如巢式 PCR、环介导恒温扩增技术等检测 *P. jirovecii* 基因的方法日渐增多^[5-8],但均无法区分 *P. jirovecii* 定植和感染状态,而病原学染色方法仍是确诊 PJP 的“金标准”。因此,本研究通过比较 *P. jirovecii* 不同病原学染色的形态特征,分析其在 PJP 诊断中的价值,期望为 PJP 的早期诊断提供有效的病原学检测方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者,男,51 岁,咳嗽、咳痰,伴气短、胸闷加重,于 2019 年 11 月 27 日入住山西医科大学第一医院呼吸与危重症医学科。实验室检测指标:二氧化碳分压 30.5 mm Hg,氧分压 60.8 mm Hg,淋巴细胞百分比 7.5%,淋巴细胞绝对值 $0.5 \times 10^9/L$,红细胞沉降率(ESR)65 mm/h,乳酸脱氢酶(LDH)699 U/L,CD4⁺T 细胞计数 1 mm^3 9 个,CD4⁺T 细胞/CD8⁺T 细胞 0.03,超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)129.17 mg/L,白细胞介素-6 81.57 pg/mL,降钙素原(PCT)0.161 ng/mL,HIV-1 抗体阳性。胸部 X 线片可见双肺纹理增多,局部纹理紊乱、模糊,两侧胸壁下可见条索状密度增高影。肺部 CT 可见双肺透亮度减低,小叶间隔增厚影及磨玻璃密度影,双肺下叶可见多发斑片状密度影,左肺下叶外基底段实性小结节影。行纤维支气管镜检查,收集肺泡灌洗液(BALF)送检,真菌荧光染色镜检可见 *P. jirovecii* 包囊。结合患者临床表现、实验室检查及影像学表现,考虑为 PJP。本研究通过山西医科大学第一医院伦理委员会批准(2019-K051),患者签署知情同意书。

1.2 主要试剂 快速革兰染色液(BA4012,珠海贝索生物技术有限公司),抗酸染色液(BA4091,珠海贝索生物技术有限公司),Wright-Giemsa 染色液(BA4017,珠海贝索生物技术有限公司),真菌荧光染色液(19091901,青岛市三凯医学科技有限公司),六次甲基四胺、四硼酸钠(辽宁永强医药器械化玻有限公司试剂厂),氯化金[A602526,生工生物工程(上海)股份有限公司]。

1.3 涂片制备 收集该患者 BALF,取 500 μL 经涂

片离心机离心后,制成涂片。以临床分离培养鉴定的近平滑假丝酵母菌(*C. parapsilosis*)作为对照,无菌接种环取血培养皿上的 *C. parapsilosis* 菌落配置成菌悬液,制成涂片。

1.4 染色方法

1.4.1 革兰染色 涂片自然干燥,染色前用酒精灯外焰加热固定。革兰染色步骤严格按说明书进行:(1)龙胆紫液染色 10 s,水洗,甩干;(2)碘溶液染色 10 s,水洗,甩干;(3)脱色液脱色 10~20 s,水洗,甩干;(4)沙黄溶液复染 10 s,水洗,自然干燥后油镜镜检。

1.4.2 抗酸染色 涂片干燥、固定。抗酸染色步骤严格按说明书进行:(1)石炭酸复红溶液染色 15 min,水洗,甩干;(2)酸性酒精溶液脱色至涂片无红色染料,水洗,甩干;(3)亚甲基蓝溶液复染 1 min,水洗,自然干燥后油镜镜检。

1.4.3 真菌荧光染色 涂片滴加 1 滴真菌荧光染色液,使染色液与标本充分结合,盖上盖玻片,滤纸吸取多余溢出的染色液,轻压盖玻片,荧光显微镜镜检。

1.4.4 HE 染色 涂片自然干燥,冰甲醇固定,HE 染色步骤如下:(1)苏木精水溶液染色 8 min;(2)于盐酸乙醇中分化 5 s;(3)自来水冲洗 30 min 后用蒸馏水冲洗 3 s;(4)乙醇伊红染色液染色 3 min;(5)于 95%和 100%乙醇中各脱色 5 min;(6)于二甲苯 I 和二甲苯 II 中各透明 5 min;(7)中性树胶封片后镜检。

1.4.5 Wright-Giemsa 染色 待涂片自然干燥后冰甲醇固定,滴加 Wright-Giemsa A 液 2~3 滴,染色 1~2 min,滴加等量 Wright-Giemsa B 液(pH=6.8),轻晃载玻片使 Wright-Giemsa A、B 液充分混匀,染色 2 h,水洗,自然干燥后油镜镜检。

1.4.6 改良 Giemsa 染色 待涂片自然干燥后冰甲醇固定,Giemsa 染液[pH 7.2 的磷酸盐缓冲液(PBS)20 倍稀释 Giemsa 原液]染色约 2 h,双蒸水洗 3 次,自然干燥后油镜镜检。

1.4.7 改良 GMS 染色 待涂片自然干燥后冰甲醇固定,改良 GMS 染色步骤如下:(1)过碘酸固定 5 min,双蒸水洗 3 次,甩干;(2)载玻片置于预热的加热板上,滴加 GMS 工作液,覆盖涂片,加热 3~5 min(此过程中避免 GMS 工作液干涸),直至涂片颜色变为深褐色,待冷却后双蒸水洗 3 次,甩干;(3)滴加氯化金溶液,15 s 后待涂片颜色变为灰白色时倾倒掉氯化金,双蒸水洗 3 次,甩干;(4)硫代硫酸钠固定 3 min,双蒸水洗 3 次,自然干燥后油镜镜检。

2 结果

如图 1A 和图 2A 所示,革兰染色和抗酸染色 *P. jirovecii* 包囊均不着色,可见透明空泡样结构。*C. parapsilosis* 革兰染色阳性,镜检可见典型蓝紫色

卵圆形孢子,见图 1B;C. parapsilosis 抗酸染色阴性,镜检可见蓝色卵圆形孢子,见图 2B。图 3 为真菌荧光染色镜检结果,可见发出蓝色荧光的 P. jirovecii 包囊与 C. parapsilosis 孢子。HE 染色镜检结果显示,P. jirovecii 包囊囊壁不着色,呈透明晕圈状,囊内可见 4~8 个囊内小体,呈蓝紫色,见图 4A;C. parapsilosis HE 染色可见孢子呈紫红色,见图 4B。图 5A、5B 分别为 P. jirovecii 包囊 Wright-Giemsa 染色和改良 Giemsa 染色镜检结果,均可见圆形或卵圆形 P. jirovecii 包囊,囊壁不着色但折光性强,呈新月形,囊内可见 4~8 个囊内小体;改良 Giemsa 染色囊内小体核呈蓝色,囊内容物呈蓝紫色,周围可见呈紫红色的滋养体,而 Wright-Giemsa 染色囊内容物和囊内小体核均被染成红色。改良 Giemsa 染色 C. parapsilosis 孢子呈蓝色,见图 5C。改良 GMS 染色镜检结果显示,P. jirovecii 包囊囊壁为深褐色或黑色,呈特征性括弧样结构,囊内小体不着色,中间有 1 条黑色褶皱或中心点状深染,见图 6A;C. parapsilosis 孢子囊壁较厚,呈黑色或中心点状深染,见图 6B。

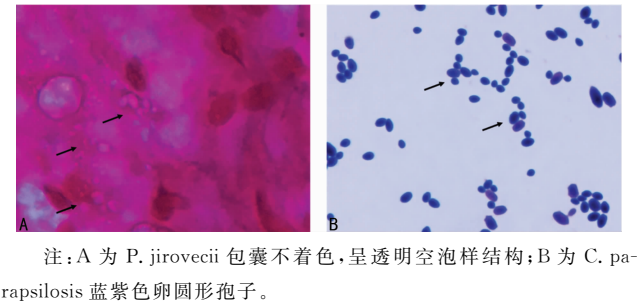


图 1 革兰染色结果(×1 000)

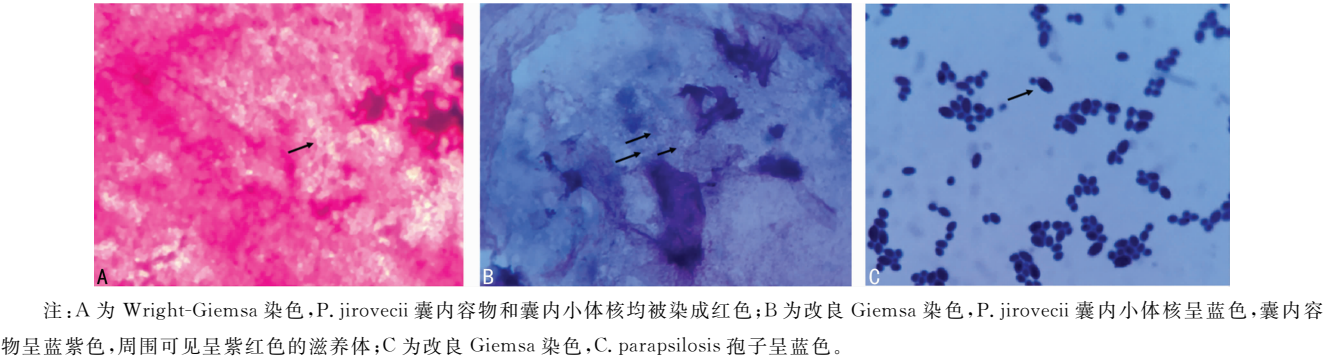


图 5 Wright-Giemsa 染色和改良 Giemsa 染色结果(×1 000)

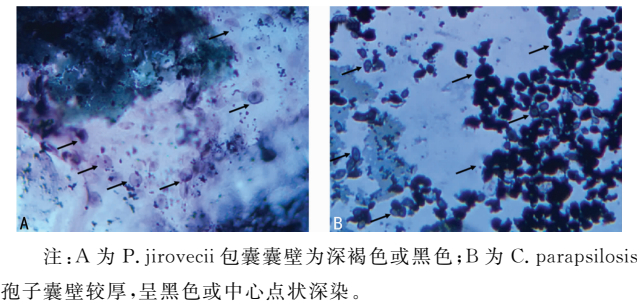


图 6 改良 GMS 染色结果(×1 000)

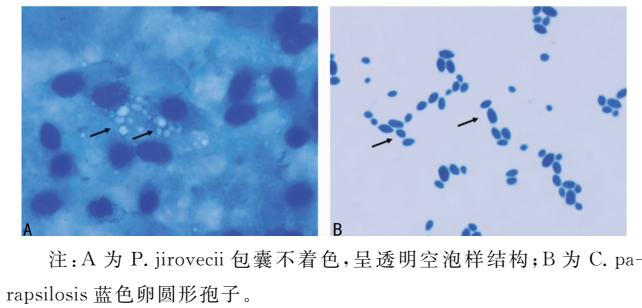


图 2 抗酸染色结果(×1 000)

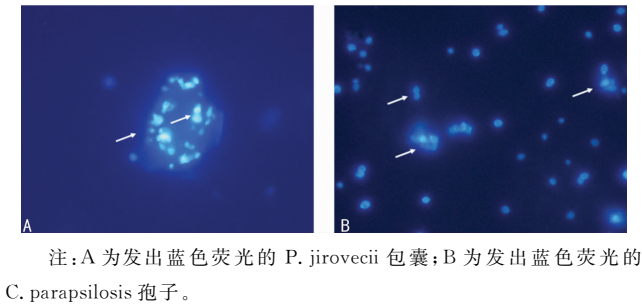


图 3 真菌荧光染色结果(×1 000)

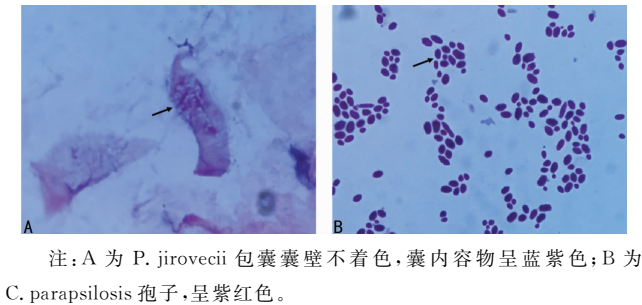
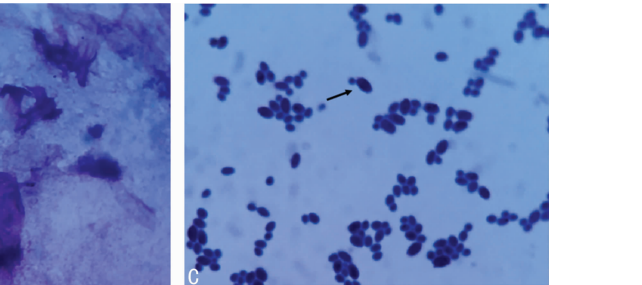


图 4 HE 染色结果(×1 000)



3 讨 论

P. jirovecii 缺乏可靠的体外培养体系,且临床实验室缺乏诊断 PJP 的有效方法和经验,加之痰液中 P. jirovecii 的检出率较低,因此 P. jirovecii 感染易被临床漏诊。

P. jirovecii 作为一种非典型真菌,革兰染色、抗酸染色的染色效果差。本研究发现,若 BALF 涂片在经革兰染色和抗酸染色发现有空泡样结构,应高度怀疑 P. jirovecii 感染,并进一步经真菌荧光染色初步判定。

真菌荧光染色是一种快速检测真菌感染的染色方法,其染色液中的荧光染料与真菌细胞壁成分结合,在紫外光激发下呈强荧光,通过荧光显微镜可观察真菌形态。该方法方便快捷,灵敏度高,在荧光显微镜下真菌形态清晰,可提高检出率,且对检验人员技术要求较低,便于临床快速诊断。虽然真菌荧光染色适用范围广,但检测 *P. jirovecii* 的特异度较差,本研究运用其分别对 *P. jirovecii* 和 *C. parapsilosis* 染色,荧光显微镜镜检结果显示,二者孢子呈现的荧光形态相似,容易混淆,因此真菌荧光染色对于 *P. jirovecii* 的检测特异度较低。

HE 染色是病理组织石蜡切片最常用的染色方法,本研究对 BALF 涂片中 *P. jirovecii* 包囊使用 HE 染色,结果显示,*P. jirovecii* 包囊囊壁不着色,呈透明晕圈状,囊内可见 4~8 个囊内小体,呈蓝紫色,与鲁怀伟等^[9]的染色结果一致。Wright-Giemsa 染色是血液细胞学染色最常用的方法;改良 Giemsa 染色常用于细胞核和寄生虫的染色。本研究对 BALF 涂片中 *P. jirovecii* 包囊分别使用 Wright-Giemsa 和改良 Giemsa 染色,镜检结果显示,两种染色方法的染色背景有所区别,包囊结构特征与 HE 染色相似,均呈现 *P. jirovecii* 包囊的典型形态学结构,即囊壁不着色,囊内可见 4~8 个囊内小体;Wright-Giemsa 和改良 Giemsa 染色中 *P. jirovecii* 包囊囊壁不着色,易与其他真菌鉴别。但 Wright-Giemsa 染色可使 BALF 中细胞、黏液等其他物质着色,且 PBS 的 pH 值对细胞染色有很大影响,致使 *P. jirovecii* 包囊结构与背景中其他成分缺乏对比,难以区分;改良 Giemsa 染色对 PBS 的 pH 值进行了调整,可见 *P. jirovecii* 滋养体,较 Wright-Giemsa 染色检出率高。本研究运用改良 GMS 染色检测 *P. jirovecii* 与 *C. parapsilosis*,结果表明,尽管二者均着色,且均有中心点状深染形态结构,但 *C. parapsilosis* 孢子囊壁较厚,大小、形态均与 *P. jirovecii* 典型包囊有显著区别。改良 GMS 染色可使其他真菌的菌丝、芽孢等结构着色,但根据孢子大小、形态及孢子囊壁的厚薄均能与 *P. jirovecii* 典型包囊结构鉴别。

此外,当患者高度怀疑 PJP,但经病原学染色未找到 *P. jirovecii* 典型形态结构,或因无法耐受支气管肺泡灌洗致使无法获得 BALF 标本时,应结合患者 CD4⁺T 细胞计数、血清 LDH 等实验室指标进行判断。*P. jirovecii* 感染与 CD4⁺T 细胞的反应密切相关,CD4⁺T 细胞计数在判断艾滋病患者免疫系统抑制程度、PJP 疾病进展及临床诊疗方面具有重要的指导意义^[10-11]。血清 LDH 有助于 PJP 的辅助诊断,还可动态反映病情的进展和疗效^[12-13]。本研究中患者血清 LDH 水平增高,CD4⁺T 细胞计数降低。此外,

本研究中患者 PCT、hs-CRP、ESR 水平均增高,但这些指标缺乏特异性,因此应结合其他辅助检查及临床症状综合考虑^[14]。

由于本研究应用 *C. parapsilosis* 血培养皿纯培养物配置成菌悬液,而非存在 *C. parapsilosis* 的 BALF 制成涂片进行不同方法染色,因此有一定局限性,即本研究涉及的不同染色方法镜检结果因缺少 BALF 中细胞及黏液等其他物质的染色背景,*C. parapsilosis* 的轮廓和形态结构清晰可见,易于辨别。然而在实际检测中,大多数真菌经 HE、Wright-Giemsa、改良 Giemsa 染色后,其颜色与细胞、组织、其他物质背景颜色接近,尤其当真菌数量不多时,更不易区分。

综上所述,BALF 是检测 *P. jirovecii* 的最佳标本,当革兰染色和抗酸染色发现 BALF 中存在成堆排列的透明空泡样结构时,应高度怀疑 *P. jirovecii* 感染,并联合多种染色方法进一步确认。真菌荧光染色可快速检出 *P. jirovecii*,但难以与其他酵母样真菌鉴别;HE 染色、Wright-Giemsa 染色、改良 Giemsa 染色、改良 GMS 染色均可用于确诊 PJP,但 HE 染色、Wright-Giemsa 染色、改良 Giemsa 染色中 *P. jirovecii* 包囊结构与背景中其他成分缺乏对比、难以区分,对检验人员要求较高;改良 Giemsa 染色易于区分 *P. jirovecii* 与其他真菌结构,可用于 *P. jirovecii* 的筛选;改良 GMS 染色的染色效果良好,是临床确诊 PJP 的推荐病原学染色方法。此外,当临床高度怀疑 PJP,但病原学染色未见 *P. jirovecii* 典型结构时,可结合 LDH、CD4⁺T 细胞等检查结果及影像学表现综合判断。

参考文献

- [1] MA L, CISSE O H, KOVACS J A. A molecular window into the biology and epidemiology of *Pneumocystis* spp [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31(3): e00009-e00018.
- [2] CHEW L C, MACEDA-GALANG L M, TAN Y K, et al. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in patients with autoimmune disease on high-dose glucocorticoid [J]. *J Clin Rheumatol*, 2015, 21(2): 72-75.
- [3] MCALEESE J, MOONEY L, WALLS G M, et al. Risk of death from *Pneumocystis jirovecii* after curative-intent radiotherapy for lung cancer [J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2018, 30(12): e81-e82.
- [4] LE GAL S, TOUBAS D, TOTET A, et al. *Pneumocystis* infection outbreaks in organ transplantation units in France: a nation-wide survey [J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 70(10): 2216-2220.
- [5] YANG S L, WEN Y H, WU Y S, et al. Diagnosis of *Pneumocystis* pneumonia by real-time PCR in patients with various underlying diseases [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2020, 53(5): 785-790. (下转第 3564 页)

和 DNA 结合,使之变性失活,因此 MDA 常用于反映人体内脂质过氧化化的程度及细胞氧化损伤的程度^[9]。此外,MDA 可严重损伤肝细胞膜结构,导致肝细胞肿胀、坏死^[10]。SOD 是人体内自由基的重要清除剂,可防止生物膜过氧化引起的毒性作用^[11]。据报道,各类型肝病患者 SOD 水平均明显降低,且其与肝脏病理损伤严重程度有关^[12]。本研究结果显示,红背叶根还可以明显降低酒精性脂肪肝 L02 细胞模型的细胞上清液中 MDA 水平,明显提高 SOD 水平,提示红背叶根在酒精性脂肪肝离体细胞模型中具有抗脂质过氧化的作用。

本研究结果为红背叶根在酒精性脂肪肝中的临床应用提供了有力的数据支撑。但本研究的局限性在于使用的是体外实验模型,不能完全模拟体内的生理病理变化。

综上所述,红背叶根在酒精性脂肪肝细胞模型中具有保肝、降酶、抗脂质过氧化的作用,值得进一步临床试验验证后推广应用。

参考文献

[1] 赵天宇. 解析脂肪肝:肥胖饮酒是元凶,坚持锻炼能痊愈[N]. 北京科技报,2018-01-08(30).

[2] 沈海容,杨静雯,朱晓霞,等. 红背叶根提取物对 Con-A 致小鼠急性肝损伤的保护作用研究[J]. 辽宁中医杂志,2014,41(6):1266-1268.

[3] 杨静雯,沈海容,朱晓霞,等. 红背叶根不同提取物对 Con-A 致急性肝损伤小鼠治疗作用的初步研究[J]. 实用医学

杂志,2014,30(18):2894-2897.

[4] 张红锋,杨慧萍,王耀发. 乙醇和软脂酸诱导的脂肪肝离体细胞模型[J]. 华东师范大学学报(自然科学版),2002,46(4):88-95.

[5] 罗爱莲,程胜邦,沈磊,等. 紫茉莉提取物对乙醇诱导 L-02 肝细胞损伤的影响[J]. 大理大学学报,2016,1(10):5-8.

[6] XIU F W, MIN Y. Relationship between alcohol consumption and clinical manifestation of patients with fatty liver:a single-center study[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int,2011,10(3):276-279.

[7] 林春兰,蒋建伟,严玉霞,等. 茶多酚对酒精诱导的小鼠肝脂质过氧化和血清 ALT 活性变化的影响[J]. 中国病理生理杂志,2003,19(1):110-112.

[8] ZAKHARI S. Overview: how is alcohol metabolized by the body[J]. Alcohol Res Health,2006,29(3):245-254.

[9] 胡静,陈新祥,胡剑峰,等. 姜黄素对乙醇诱导的人 L-02 肝细胞氧化损伤的保护作用研究[J]. 医学理论与实践,2013,26(1):3-4.

[10] 肖碧跃,赵国荣,贺又舜,等. 理脾护肝调脂丸对脂肪肝大鼠肝脏 MDA、SOD 影响的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):230-231.

[11] 王君明,崔瑛,季莉莉,等. 超氧化物歧化酶参与肝损伤的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):265-269.

[12] 周艳丽,张磊,刘维. 白芍总苷对雷公藤多苷片所致小鼠急性肝损伤保护作用的实验研究[J]. 天津中医药,2007,24(1):61-63.

(收稿日期:2020-03-20 修回日期:2020-09-10)

(上接第 3560 页)

[6] GOTERRIS L, MANCEBO-FERNANDEZ M A, AGUILAR-COMPANY J, et al. Molecular diagnosis of Pneumocystis jirovecii pneumonia by use of oral wash samples in immunocompromised patients: usefulness and importance of the DNA target[J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(12):e01287-e01319.

[7] WANG D D, ZHENG M Q, ZHANG N, et al. Investigation of Pneumocystis jirovecii colonization in patients with chronic pulmonary diseases in the people's republic of China[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2015, 10: 2079-2085.

[8] SANTOS C R, DE ASSIS A M, LUZ E A, et al. Detection of Pneumocystis jirovecii by nested PCR in HIV-negative patients with pulmonary disease[J]. Rev Iberoam Micol, 2017, 34(2):83-88.

[9] 鲁怀伟,胡晓文,徐微,等. 不同染色方法对肺孢子菌的诊断作用比较[J]. 临床输血与检验,2012,14(2):147-148.

[10] MANSHARAMANI N G, BALACHANDRAN D, VERNOVSKY I, et al. Peripheral blood CD4⁺ T-lymphocyte counts during Pneumocystis carinii pneumonia in immu-

nocompromised patients without HIV infection [J]. Chest,2000,118(3):712-720.

[11] SAEED N K, FARID E, JAMSHEER A E. Prevalence of opportunistic infections in HIV-positive patients in Bahrain:a four-year review (2009—2013)[J]. J Infect Dev Ctries,2015,9(1):60-69.

[12] ESTEVES F, CALE S S, BADURA R, et al. Diagnosis of Pneumocystis pneumonia:evaluation of four serologic biomarkers[J]. Clin Microbiol Infect,2015,21(4):e379.

[13] VOGEL M, WEISSGERBER P, GOEPPERT B, et al. Accuracy of serum LDH elevation for the diagnosis of Pneumocystis jiroveci pneumonia[J]. Swiss Med Wkly,2011, 141:13184.

[14] CORSONELLO A, PEDONE C, BATTAGLIA S, et al. C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) as inflammation markers in elderly patients with stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD)[J]. Arch Gerontol Geriatr, 2011, 53(2):190-195.

(收稿日期:2020-03-18 修回日期:2020-09-26)