论著

DOI:10.16016/j.1000-5404.201501187

# 拟诊卡氏孢子虫和(或)巨细胞病毒性肺炎患者病原微生物学筛查及治疗策略

张 实,刘 刚,王美菊,李 琦 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院重症医学科)

[摘要] **目的** 通过病原微生物学筛查及对照实验两个方面,为拟诊卡氏肺孢子虫(pneumocystsis carinii pneumonia,PCP)和(或)巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)性肺炎患者寻找最佳诊疗策略。**方法** 192例拟诊患者肺组织标本及BALF标本微生物学镜检,ELISA检测患者血清CMV抗体;荧光定量PCR检测患者血清巨细胞病毒DNA含量。将仅CMV阳性和仅PCP阳性的患者分为两组,一组为覆盖PCP和CMV的联合治疗组,一组为仅覆盖PCP或CMV的单独治疗组,比较两组的住院时间及"14 d内病情缓解率"。**结果** 微生物学检验阳性患者共136人;其中仅CMV阳性17人;仅PCP阳性21人;PCP与CMV均阳性98人。联合治疗组住院时间显著短于单独治疗组($W=162.5$,$P=0.006$),联合治疗组"14 d内病情缓解率"显著高于单独治疗组($\chi^2=6.454$,$P=0.011$)。**结论** PCP与CMV混合感染多见,单独PCP或CMV一项感染少见;覆盖PCP和CMV的联合治疗效果更好。

[关键词] 肺孢子虫; 巨细胞病毒; 病原微生物筛查; 治疗策略

[中图法分类号] R446.5; R563.1 [文献标志码] A

# Microbial screening and therapeutic strategies for tentative diagnosis of *Pneumocystsis carinii* pneumonia and/or cytomegalovirus pneumonia

Zhang Shi, Liu Gang, Wang Meiju, Li Qi (Department of Critical Medicine, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 40037, China)

[**Abstract**] Objective To investigate optional therapeutic strategies for suspected *Pneumocystsis carinii* pneumonia (PCP) and/or cytomegalovirus (CMV) pneumonia by microbial screening and control experiment. Methods Microbial screening included 3 parts, which were microbiological microscopy for patients' lung specimens and bronchoalveolar lavage fluid (BALF), detection of serum CMV antibody by ELISA and detection of serum CMV DNA content by fluorescence quantitative PCR. The patients who were positive to only CMV or PCP were respectively divided into 2 groups, that is, the combined treatment group and the single treatment group (CMV or PCP as corresponded). The length of hospital stay and the remission rate after 14 days treatment were compared between the 2 groups. Results There were totally 136 positive patients, including 17 only positive to CMV, 21 only to PCP and 98 with double positive of PCP and CMV. The length of hospital stay were shorter in the combined treatment group than the single treatment groups ($W=162.5$, $P=0.006$). The remission rate were also obviously higher in the former than the latter groups ($\chi^2=6.454$, $P=0.011$). Conclusion It is quite common for mixed infection of PCP and CMV pneumonia, but rare for single infection. So, the combined treatments are more effective than the single one.

[**Key words**] *Pneumocystsis carinii* pneumonia; cytomegalovirus; microbial screening; therapeutic strategy

Corresponding author: Li Qi, E-mail liqioliver@sina.com

[通信作者] 李 琦, E-mail liqioliver@sina.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20150722.0956.016.html(2015-07-22)

机会性感染主要特点是在患者免疫力低下的时候发生的感染[1],卡氏肺孢子虫肺炎(pneumocystsis carinii pneumonia,PCP)与巨细胞病毒性肺炎(cytomegalovirus pneumonia,CMP)为常见的肺部机会性感染,尤其当患者 $CD4^+$ T 细胞计数少于 200/$mm^3$ 时,其感染的概率显著增加[2]。

PCP 与 CMP 除了起病条件相同之外,其临床特征与胸部影像学表现也十分相似。两者的主要临床症状为干咳、低热及呼吸困难,胸部影像学均表现为两肺弥散间质性病变(以磨玻璃样密度影为主)。虽然两者在影像学上也有一些不同点,比如 PCP 典型的气囊病变,CMP 典型的肺外周斑片状阴影。但 PCP 的气囊病变出现率仅为 30%,CMP 的外周斑片状阴影可能会由于病情进展而变得不典型,PCP 中、后期也有小叶内结节的出现[2]。而且,临床上的具体情况十分复杂,患者可能由于长期食欲减退而合并低蛋白血症及肺水肿,也可能由于免疫低下等因素而合并细菌、结核甚至真菌感染,这些因素将增加 PCP 及 CMP 临床拟诊和鉴别诊断的难度。病原微生物学检验近年来虽有很大进展,但一方面这些检验技术诊断敏感性不高[3-4];另一方面获取肺组织标本为有创检查,很多情况下患者不能耐受,而且延误治疗时间;同时有些检验方法需要较高水平的病理技术与经验,在我国绝大多数医院难以开展。因此,PCP 与 CMP 在临床上难以鉴别。然而,两者的治疗策略却是截然不同的,若两病未能及时治疗并控制病情进展,将加大患者死亡的风险。因此,对 PCP 和 CMP 的临床拟诊及抢先治疗十分关键。

一些学者表明,免疫功能低下患者发生机会性肺部感染,通常以肺孢子虫与巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)混合感染多见,单独肺孢子虫或单独 CMV 感染少见[5]。因此,当临床遇到该类患者时,覆盖 PCP 及 CMP 的联合治疗能否取得更好的效果亟待解答。本研究将从病原微生物检测及治疗效果两个方面来探讨该问题。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

192 例患者为本院 2010 年 7 月至 2014 年 5 月呼吸内科和(或)重症医学科住院患者。病例纳入标准:(1)免疫功能低下的患者,入院时 $CD4^+$ T 细胞计数少于 200/$mm^3$(包括器官移植、化疗、因自身免疫性疾病长期服用免疫抑制剂和大剂量激素激素等);(2)病程中出现原发病无法解释的干咳、发热及进行性呼吸困难;(3)未进行预防性抗 PCP 及 CMV 治疗;(4)胸部 CT 有如下特征:①双肺多发、弥散分布磨玻璃密度;②可有囊肿/气腔实变;③可有小叶中央微小结节;④可有小叶间隔及小叶内间隔增厚;(5)抗 PCP 和(或)CMV 治疗有效。

病例排除标准:(1)排除同时合并慢性阻塞性肺疾病、支气管哮喘、支气管扩张等肺部慢性疾病患者;(2)排除同时合并冠状动脉硬化性心脏病、扩张型心肌病、高血压型心脏病等心脏原发疾病;(3)排除同时合并肺结核及细菌性肺炎患者;(4)排除同时合并弥漫间质性肺炎、淋巴细胞间质性肺炎及过敏性肺炎等以“双肺弥散磨玻璃密度”为主要 CT 表现的其他各类肺部疾病。

### 1.2 标本收集

病理组织:内镜直视下考虑病变部位钳取组织,若无病变则于右肺中叶、左肺舌叶随机钳取支气管黏膜组织。

血清:未治疗前,取患者静脉血 4 mL,以 2 000 r/min 速度离心 20 min,取上清液分管装入 1.5 mL EP 管中,-80 ℃冰箱保存。

支气管肺泡灌洗液(bronchoalvoelar lavage fluid,BALF):所有患者按纤维支气管镜操作技术,将纤维支气管镜远端楔于病变所在的段支气管开口处,弥漫病变或未见病变则冲洗右中叶或左舌叶。注入室温生理盐水,每次 50 mL,共 2 次进行灌洗。以 50 ~ 100 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)负压吸引。回收 40% ~60% 的 BALF 再经双层无菌纱布过滤后以2 000 r/min 速度离心 10 min,取上清液分管装入 1.5 mL EP 管中,-80 ℃冰箱保存。

### 1.3 检测方法

患者肺组织标本及 BALF 标本微生物学镜检,制作肺组织切片及 BALF 涂片,采用瑞氏-姬姆萨(Giemsa)染色及六甲基四胺银(GMS)染色。ELISA 法检测患者血清 CMV 抗体;荧光定量 PCR 检测患者血清巨细胞病毒 DNA 含量。ELISA 及 PCR 检测试剂盒由上海沪尚生物科技有限公司提供。按照试剂盒说明书步骤进行操作。

满足以下条件即为 PCP 检验阳性:肺组织标本和(或)BALF 涂片镜检,发现肺孢子虫的滋养体和(或)孢囊。

满足以下条件之一即为 CMV 检验阳性:①CMV

血清抗体检测抗 CMV-lgM 阳性或抗 CMV-lgG 若呈4倍以上增高;②CMV 的 DNA 血清学检测阳性;③肺组织标本和(或)BALF 涂片中发现 CMV 包涵体。

### 1.4 治疗策略的探究

按照随机原则,将仅 CMV 检验阳性 17 例与仅 PCP 检验阳性 21 例患者分为两组:①联合治疗组:共 13 人,同时抗 PCP 及 CMV 治疗;②单独治疗组:共 25 人,根据病原微生物学检验结果,进行单独抗 CMV 治疗(10 人)及单独抗 PCP 治疗(15 人)。两组具体治疗方案:①单独抗 CMV 的治疗方案:(停用免疫抑制剂)+更昔洛韦(5~7.5 mg/kg,qd)+激素抗炎(甲泼尼龙 40 mg,qd)+增强免疫力(人免疫球蛋白 2.5 g,qd)+对症支持治疗;②单独 PCP 的治疗方案均为:(停用免疫抑制剂)+复方磺胺甲恶唑(甲氧苄啶 3.75~5 mg/kg,磺胺甲噁唑 18.75~25 mg/kg,qid)+增强免疫力(人免疫球蛋白 2.5 g,qd)+对症支持治疗;③联合治疗方案均为:(停用免疫抑制剂)+更昔洛韦(5~7.5 mg/kg,qd)+复方磺胺甲恶唑(甲氧苄啶 3.75~5 mg/kg,磺胺甲噁唑 18.75~25 mg/kg,qid)+激素抗炎(甲泼尼龙 40 mg,qd)+增强免疫力(人免疫球蛋白 2.5 g,qd)+对症支持治疗。其中 qd 为每天 1 次,qid 为每天 4 次。比较两组患者的住院时间及“14 d 内病情缓解率”,以评价不同治疗策略的疗效。两组患者在治疗过程中,未出现血象降低、肝肾功异常等药物严重毒副作用,少数患者出现恶心、呕吐等轻微药物不良反应,经对症处理后缓解。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计分析软件。经方差齐性检验,两组患者住院时间方差不齐($P<0.05$),故时间采用秩和检验。率的比较采用 $\chi^2$ 检验,如样本数小于 40,需采用确切概率检验。

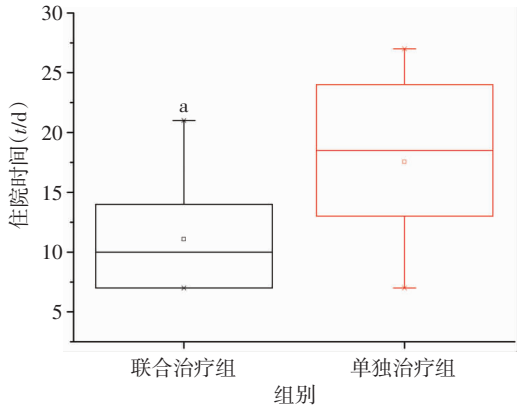
## 2 结果

### 2.1 微生物学检验结果

192 例拟诊患者中微生物学检验阳性共 136 人;其中仅 CMV 阳性 17 人;仅 PCP 阳性 21 人;PCP 与 CMV 均阳性 98 人。表明本研究纳入患者 PCP 与 CMV 混合感染多见,单纯 PCP 或单纯 CMV 感染均较少见。

### 2.2 联合治疗与单独治疗疗效的比较

对两组患者的住院时间进行秩和检验。结果联合治疗组住院时间显著短于单独治疗组($W=162.5$,$P=0.006$),图 1。




a:$P<0.01$,与单独治疗组比较

**图 1 单独治疗组与联合治疗组住院时间的比较**

为评估两种治疗策略的治疗效果,本研究制定了一项指标“14 d 内病情缓解率”,其具体内容为:治疗 14 d 后,患者临床症状缓解(干咳减少,呼吸困难较前缓解),氧合指数显著改善(氧合指数提高 50 mmHg 及以上),伴或不伴肺部影像学提示肺部阴影较之前明显吸收。将两组患者的“14 d 内病情缓解率”进行 $\chi^2$ 检验,因样本数 <40 例,故采用确切概率检验。结果显示,联合治疗策略显著优于单独治疗($\chi^2=6.454$,$P=0.011$,表 1)。

**表 1 单独治疗与联合治疗疗效的比较**

| 方法 | 缓解数 | 无效数 | 合计 | 缓解率(%) |
|---|---|---|---|---|
| 单独 CMV 治疗 | 4 | 6 | 10 | 40.0 |
| 单独 PCP 治疗 | 7 | 8 | 15 | 46.7 |
| 单独治疗组(合计) | 11 | 14 | 25 | 44.0 |
| 联合治疗组(PCP 与 CMV) | 12 | 1 | 13 | 92.3[a] |
| 合计 | 22 | 16 | 38 | 57.9 |

a:$P<0.05$,与单独治疗组比较

## 3 讨论

卡氏肺孢子虫是一种重要的机会致病病原体,此虫常寄生于人和多种哺乳动物肺组织内,宿主免疫功能正常时处于隐性感染状态,当宿主免疫功能低下时,虫体大量繁殖,致病力增强,导致宿主出现临床症状,引起肺孢子虫肺炎。PCP 多见于各类先天或后天免疫机能低下个体,如早产儿、营养不良婴幼儿、先天性免疫缺陷者、长期应用免疫抑制剂药物和抗代谢治疗的肿瘤和器官移植患者,特别是艾滋病患者。据统计,未经药物预防的 AIDS 患者约 60% 在其病程的某一阶段或末期会发生或反复发生 PCP[6-7]。近年来,随着器

官移植和恶性肿瘤治疗的广泛深入开展,PCP的发生率呈逐年上升趋势[8]。任何年龄均可发生PCP,CD4+T计数<200/mm$^3$且未采取预防措施的患者,其感染PCP的风险将会增至9倍[9]。PCP主要临床表现为干咳(75%)、发热(75%)、呼吸困难(65%),Ⅰ型呼吸衰竭较常见[10]。临床检验方面:白细胞计数通常不升高,很多患者伴有乳酸脱氢酶(LDH)水平升高。有研究表明LDH水平有预后意义,治疗后仍旧升高的患者预后较差[10-11]。PCP的确诊目前主要依靠病原学检验,标本通常为肺组织切片及痰、BALF的涂片,GMS染色有助于显示包囊,Giemsa染色有助于发现滋养体[11-12]。PCP的治疗目前首选口服甲氧苄胺-磺胺甲恶唑或静脉注射喷他脒,临床上80%的病例可因及时治疗而好转(平均5 d)[13-14]。PCP目前不主张使用皮质醇激素,但有部分研究表明严重缺氧的PCP患者应用皮质醇激素可降低病死率[15]。

CMV也是机会致病病原体,且为免疫抑制患者最常见的致命性并发症之一,其病原体CMV属疱疹病毒亚科,为双链DNA病毒,通过体液传播。人类是CMV的唯一宿主,人群中CMV感染率较高,健康成人血清CMV IgG抗体阳性率可达50%以上,但大多呈无症状的隐性感染[16]。初次感染后可终身携带,当机体免疫力低下时,CMV可被激活从而导致严重疾患,一旦出现重症CMP,死亡率>65%,早期治疗可明显降低病死率[17]。CMP的高发人群与PCP相同,均为各种原因导致免疫功能低下的患者:AIDS、实体器官移植或造血干细胞移植、免疫功能未发育成熟的胎儿、使用免疫抑制剂或长期大剂量使用激素的患者,CD4$^+$T计数<200/mm$^3$也是CMP的危险因素[17-18]。CMP的主要临床表现有干咳、呼吸困难、发热,部分患者有迁移性关节痛。肌肉酸痛、腹部胀气、直立性低血压及发绀。实验室检验可有外周血粒细胞下降[17,19]。CMP确诊仍需依靠病原微生物学检验,目前临床已经推广的检验方法包括微生物学镜检、血清病毒DNA定量分析及血清病毒抗体检验[20-21]。CMP的治疗主要包括抗病毒、增强免疫力及其他对症支持治疗,适当的皮质醇激素抗炎也被不少专家推荐[21-22]。

综上所述,PCP与CMP及时治疗容易缓解,若发展到后期预后会十分凶险。然而,两者具有相同的发病基础,相似的临床表现及难以区分的影像学征象,在实际临床工作中难以鉴别。病原微生物学检验虽然可以明确诊断,但其制约因素和影响因素过多,可能会造成治疗的延误和临床判断的失误。因此,遇到该类患者,可以优先考虑覆盖PCP与CMP的联合治疗。本研究从病原微生物学筛查及对照实验两个方面验证了该临床经验的科学性。

本实验136名病原微生物学检验阳性患者中,有17名仅CMV阳性及21名仅PCP阳性,其余均为双阳性。即便是CMV或PCP检验阴性的病例,也可能由于系统误差,而导致另一种病原菌未能检出。因此不难看出,免疫抑制状态下的肺部机会性感染,以PCP与CMV混合感染为主,仅PCP或仅CMV的单项感染少见。同时,本研究将仅CMV阳性和仅PCP阳性的患者分为联合治疗组和单独治疗组,通过对住院时间及"14 d内病情缓解率"两项指标的统计学分析,表明对于该类患者,覆盖PCP和CMP的联合治疗效果更好,应该被推荐。

因免疫功能低下所导致的机会性肺炎中,还有结核、真菌、细菌等其他病原微生物;然而,最常见的仍是PCP与CMV,并且最难以鉴别的也是PCP及CMV[23]。其余病原菌感染都有其特色的临床表现及影像学表现,比如细菌感染患者多伴有血象及感染标志物的升高,结核复发患者的胸部CT有新生的小叶内结节、实变内空洞和(或)树芽征等[24]。因此,临床医生如果遇到以"免疫功能低下"+"突发干咳、低热、呼吸困难"+"双肺弥漫间质性病变"为主要表现的患者,可以首先考虑PCP合并CMP,并根据临床拟诊结论予以抢先联合治疗,降低患者的病死率,让患者获益。

**参考文献:**

[1] Lange B, Neumann S, Hirsch H H, *et al*. Prevention of infections in immune deficiency[J]. Dtsch Med Wochenschr, 2014, 139(40): 1999-2002.

[2] Huber L C, Isenring B D, Schuurmans M M. Diagnosis, therapy and prevention of respiratory virus infections in lung transplant recipients[J]. Praxis (Bern 1994), 2014, 103(8): 453-459.

[3] Coelho L, Veloso V G, Grinsztejn B, *et al*. Trends in overall opportunistic illnesses, Pneumocystis carinii pneumonia, cerebral toxoplasmosis and Mycobacterium avium complex incidence rates over the 30 years of the HIV epidemic: a systematic review[J]. Braz J Infect Dis, 2014, 18(2): 196-210.

[4] Musallam N, Bamberger E, Srugo I, *et al*. Legionella pneumophila and Pneumocystis jirovecii coinfection in an infant treated with adrenocorticotropic hormone for infantile spasm:

case report and literature review[J]. J Child Neurol, 2014, 29(2): 240-242.

[5] Kizilarslanoglu M C, Aksoy S, Yildirim N O, *et al*. Temozolomide-related infections: review of the literature[J]. J BUON, 2011, 16(3): 547-550.

[6] Stern A, Green H, Paul M, *et al*. Prophylaxis for Pneumocystis pneumonia (PCP) in non-HIV immunocompromised patients[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, 10: CD005590.

[7] Capocci S, Lipman M. Respiratory infections in HIV-infected adults: epidemiology, clinical features, diagnosis and treatment[J]. Curr Opin Pulm Med, 2013, 19(3): 238-243.

[8] Maschmeyer G, Carratala J, Buchheidt D, *et al*. Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients (allogeneic SCT excluded): updated guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO)[J]. Ann Oncol, 2015, 26(1): 21-33.

[9] Costiniuk C T, Fergusson D A, Doucette S, *et al*. Discontinuation of Pneumocystis jirovecii pneumonia prophylaxis with CD4 count <200 cells/μL and virologic suppression: a systematic review[J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28570.

[10] Lowe D M, Rangaka M X, Gordon F, *et al*. Pneumocystis jirovecii pneumonia in tropical and low and middle income countries: a systematic review and meta-regression[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e69969.

[11] 孙培培, 童朝晖. 肺孢子菌肺炎的诊断和治疗进展[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2012, 35(10): 775-776.

[12] Hayes G E, Denning D W. Frequency, diagnosis and management of fungal respiratory infections[J]. Curr Opin Pulm Med, 2013, 19(3): 259-265.

[13] Church J A, Fitzgerald F, Walker A S, *et al*. The expanding role of co-trimoxazole in developing countries[J]. Lancet Infect Dis, 2015, 15(3): 327-239.

[14] Tu G W, Ju M J, Xu M, *et al*. Combination of caspofungin and low-dose trimethoprim/sulfamethoxazole for the treatment of severe Pneumocystis jirovecii pneumonia in renal transplant recipients[J]. Nephrology (Carlton), 2013, 18(11): 736-742.

[15] Gilroy S A, Bennett N J. Pneumocystis pneumonia[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2011, 32(6): 775-782.

[16] ten-Berge I J, van-Lier R A. The interaction between cytomegalovirus and the human immune system[J]. Immunol Lett, 2014, 162(2 Pt B): 141-144.

[17] Fernandez-Ruiz M, Kumar D, Humar A. Clinical immune-monitoring strategies for predicting infection risk in solid organ transplantation[J]. Clin Transl Immunology, 2014, 3(2): e12.

[18] Lucin P, Mahmutefendic H, Blagojevic-Zagorac G, *et al*. Cytomegalovirus immune evasion by perturbation of endosomal trafficking[J]. Cell Mol Immunol, 2015, 12(2): 154-169.

[19] Roman A, Manito N, Campistol J M, *et al*. The impact of the prevention strategies on the indirect effects of CMV infection in solid organ transplant recipients[J]. Transplant Rev (Orlando), 2014, 28(2): 84-91.

[20] Gullett J C, Nolte F S. Quantitative nucleic acid amplification methods for viral infections[J]. Clin Chem, 2015, 61(1): 72-78.

[21] Tong L X, Worswick S D. Viral infections in acute graft-versus-host disease: a review of diagnostic and therapeutic approaches[J]. J Am Acad Dermatol, 2015, 72(4): 696-702.

[22] Soderberg-Naucler C. Treatment of cytomegalovirus infections beyond acute disease to improve human health[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2014, 12(2): 211-222.

[23] Masur H, Brooks J T, Benson C A, *et al*. Prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: Updated Guidelines from the Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health, and HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America[J]. Clin Infect Dis, 2014, 58(9): 1308-1311.

[24] Prevention Committee of the Japanese Society for Tuberculosis; Treatment Committee of the Japanese Society for Tuberculosis. Treatment guidelines for latent tuberculosis infection[J]. Kekkaku, 2014, 89(1): 21-37.

(收稿:2015-02-24;修回:2015-04-26)

(编辑 邓强庭)