

Zur Diagnostik der *Pneumocystis carinii*-Pneumonie bei AIDS-PatientenChristine Armbruster¹, Andreas Hassl² und Stefan Kriwanek³¹ 2. Interne Abteilung des Pulmologischen Zentrums der Stadt Wien, ² Klinisches Institut für Hygiene, Universität Wien und ³ I. Chirurgische Abteilung, Krankenhaus Rudolfstiftung Wien, ÖsterreichDiagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in AIDS-patients

Summary. *Background:* Based on the changing disease pattern of human immunodeficiency virus (HIV) associated pulmonary complications we conducted a prospective study in order to compare the value of laboratory tests in patients with *Pneumocystis (P.) carinii* pneumonia (PCP) and other pulmonary complications and of different identification methods of *P. carinii* in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in PCP patients.

Patients and methods: In 217 HIV-1-infected patients we evaluated the following parameters: platelets, serum lactat dehydrogenase (LDH), total serum protein (TP), hemoglobin (Hb), and CD4+ and CD8+ T-lymphocyte count. *P. carinii* was identified in BALF by May Grünwald Giemsa stain (MGG), direct immunofluorescence test (DIFT), and polymerase chain reaction (PCR). We correlated these parameters in patients with a presumptive diagnosis of PCP and compared them with those of patients suffering from other pulmonary complications.

Results: All patients underwent bronchoscopy. 55 patients (25.3%) had a presumptive diagnosis of PCP. The sensitivity values of MGG stain, DIFT, and PCR differed considerably (79.1%, 56.1%, and 65.9%, respectively), but specificity values did not (99.2%, 97.3%, and 98.2%, respectively) as well as accuracy values (93.8%, 86.2%, and 89.7%, respectively). The mean values of platelets, of LDH, and of total serum protein of PCP patients and those of patients with other pulmonary diseases differed statistically significant as well as the mean values of these parameters of PCP patients and those of patients with bacterial pneumonia. Logistic-regression analysis revealed the number of platelets and the amount of total serum protein as independent, significant prognostic factors. Moreover, each PCP patient had a CD4+ T-lymphocyte count of less than 200 cells/mm³ blood. The CD4/CD8 ratio of PCP patients was statistically significant lower than that of patients with bacterial pneumonia.

Conclusions: A detection of *P. carinii* in BALF is inevitable for a definitive diagnosis of a PCP. The most efficient identification method in this case is the MGG stain. Platelets, total serum protein, and CD4+ T-lymphocyte count should be included into the criteria for the presumptive diagnosis of PCP.

Key words: *Pneumocystis carinii* pneumonia, presumptive diagnosis, detection methods, laboratory tests, AIDS.

Zusammenfassung. *Hintergrund und Ziele:* Die Änderung des Spektrums pulmonaler Komplikationen im Rahmen der human immunodeficiency virus (HIV)-Infektion veranlaßte uns, die Wertigkeit von Laborparametern und des Erregernachweises in der bronchoalveolären Lavage (BAL) Flüssigkeit bei der *Pneumocystis (P.) carinii*-Pneumonie (PcP) in einer prospektiven Untersuchung zu evaluieren.

Patienten und Methoden: Bei 217 HIV-1-infizierten Patienten mit respiratorischen Symptomen wurden folgende Parameter ermittelt: Thrombozytenanzahl, Serumlactatdehydrogenase-Konzentration (LDH), Serum Totalprotein (TP), Hämoglobin (Hb) sowie die Anzahl CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten. Der Nachweis von *P. carinii* in der BAL-Flüssigkeit erfolgte mittels May Grünwald Giemsa (MGG)-Färbung, direktem Immunfluoreszenztest (DIFT) und Polymerasekettenreaktion (PCR). Die Parameter wurden mit der präsumtiven Diagnose einer PcP korreliert und mit jenen von Patienten mit anderen pulmonalen Erkrankungen verglichen.

Ergebnisse: Alle Patienten unterzogen sich einer Bronchoskopie. Bei 55 Patienten (25,3%) wurde die präsumtive Diagnose einer PcP gestellt. Die Sensitivitäten der MGG-Färbung, des DIFT und der PCR wichen voneinander ab (79,1%, 56,1%, 65,9%), kaum jedoch die Spezifitäten (99,2%, 97,3%, 98,2%) und die Treffsicherheiten (93,8%, 86,2%, 89,7%). Die Werte der Thrombozyten, des LDHs und des TPs unterschieden sich signifikant zwischen PcP-Patienten und solchen mit anderen pulmonalen Komplikationen, sowie zwischen PcP-Patienten und Patienten mit bakterieller Pneumonie. Mittels logistischer Regressionsanalyse konnten die Thrombozytenanzahl und das TP als unabhängige, relevante prognostische Parameter ermittelt werden. Bei allen PcP-Patienten lag die Anzahl CD4+ T-Lymphozyten unter 200 Zellen/mm³. Die CD4/CD8-Ratio von PcP-Patienten lag signifikant unter derjenigen von Patienten mit bakterieller Pneumonie.

Schlussfolgerungen: Im Falle einer PcP ist der Nachweis von *P. carinii* in der BAL-Flüssigkeit für eine definitive Diagnose unumgänglich und am effektivsten mittels MGG-Färbung durchführbar. Die Thrombozytenanzahl, das Totalprotein, und die Anzahl CD4+ T-Lymphozyten sollten in die Kriterien der präsumtiven PcP-Diagnose aufgenommen werden.

Schlüsselwörter: *Pneumocystis carinii*-Pneumonie, präsumtive Diagnose, Erregernachweis, Laborparameter, AIDS.

Einleitung

Die *P. carinii*-Pneumonie (PcP) ist die häufigste Indexdiagnose für das acquired immunodeficiency syndrome (AIDS; 11). Während in den frühen Jahren der AIDS-Era der mikroskopische Nachweis von *P. carinii* eine unabdingbare Voraussetzung für eine Therapie darstellte [121], legten im Jahre 1992 die Centers for Disease Control (CDC) fest, daß eine präsumptive Diagnose mittels hauptsächlich klinischer Parameter für die Einleitung einer Behandlung ausreicht [3]. Unter dem Druck wachsender Patientenzahlen in den Jahren 1985-1990 und der Begrenzungen der Ressourcen im Gesundheitswesen entwickelte sich die Diagnostik einerseits in Richtung des Nachweises von *P. carinii* im induzierten Sputum 14, 51 und andererseits zum Einsatz von Laborparametern 16-81 und Lungenfunktionstests hin [9, 10]. Dies insbesondere deshalb, weil sich in der Praxis die präsumtive PcP-Diagnose nach CDC 131 als nicht ausreichend treffsicher erwies.

Ziel unserer prospektiven Untersuchung war es, die Wertigkeit von Laborparametern und des Erregernachweises in Bezug auf die präsumtive PcP-Diagnose zu evaluieren.

Patienten und Methoden

In den Jahren 1995/96 wurden konsekutiv 217 HIV-1-infizierte Patienten mit respiratorischen Symptomen untersucht und bei ihrem Ersterscheinen auf der Abteilung in die Studie aufgenommen. Kein Patient stand unter einer Prophylaxe gegen die PcP. Es wurden die Stammdaten erhoben und das Stadium der HIV-Infektion entsprechend der CDC-Klassifikation 131 ermittelt. 179 (82,5%) Patienten waren Männer, das mittlere Alter betrug 38 Jahre (18-69 Jahre). 122 Patienten waren homosexuell, 66 i.v.-drogenabhängig, 17 Patienten akquirierten die HIV-Infektion durch heterosexuellen Kontakt mit einem HIV-infizierten Partner, 2 Patienten durch kontaminierte Blutprodukte. Bei 10 Patienten konnte kein Risikoverhalten erhoben werden. Alle Patienten mit Ausnahme von 14 (Gruppe C₂) konnten der Gruppe C₃ zugeordnet werden 131.

Es erfolgte die Bestimmung der Serumkonzentration der Lactatdehydrogenase (LDH, LDH optimiert, Lactat-Dehydrogenase EC1.1.1.2.2., UV-Test, Hitachi 717E, Boehringer Mannheim, Japan, Normwert: < 240U/l), des Totalproteins (TP, Biuret-Methode mit Probenleerwert, Hitachi 717E, Buchringer Mannheim, Japan, Normwert: > 6.5 g/dl), eines kompletten Blutbildes [Normwert des Hämoglobins (Hb): 12-14 g/dl, der Thrombozyten: 150-300 X 10⁹/l] und des zellulären Immunstatus mittels Durchflußzytometrie (FACS Prep, Becton Dickinson, San Jose, Kalifornien). Patienten mit akuten Leber- und Herzerkrankungen wurden nicht in die Studie aufgenommen.

Der Erreger wurde in der bronchoalveolären Lavage (BAL)-Flüssigkeit mittels May Grünwald Giemsa-Färbung (MGG), direktem Immunfluoreszenztest (DIFT) und Polymerasekettenreaktion (PCR) detektiert [11]. Definitionsgemäß galt die *P. carinii* als nachgewiesen, wenn sie mit mindestens einer der Methoden sicher identifiziert werden konnte.

Eine präsumtive Diagnose einer PcP wurde entsprechend den CDC-Empfehlungen 131 bei folgender Konstellation von Symptomen und Befunden gestellt: unproduktiver Husten, Belastungsdyspnoe, Thoraxübersichtsröntgen mit typischen Verschattungsmustern, arterielle Hypoxämie bei Fehlen sowohl einer vorbestehenden pulmonalen Erkrankung als auch einer bakteriellen Pneumonie.

Die Ergebnisse der Bestimmung der Laborparameter einschließlich des zellulären Immunstatus und des Erregers

nachweises wurden mit der präsumptiven Diagnose korreliert. Die definitive Diagnose einer PcP war charakterisiert durch einen positiven Erregernachweis bei Vorliegen einer präsumptiven PcP. Mit einer PcP-Therapie (Trimethoprim/Sulfamethoxazol: 20 mg Trimethoprim/kg Körpergewicht und Tag, oder Pentamidine-isodesonate 4 mg/kg Körpergewicht und Tag parenteral) wurde bei Vorliegen einer präsumptiven Diagnose nach der Bronchoskopie begonnen.

Die BAL-Flüssigkeit diente auch zur Diagnostik anderer pulmonaler Erkrankungen und wurde wie bereits beschrieben aufgearbeitet 1111. Bei gleichzeitigem Vorliegen einer PcP und einer anderen pulmonalen Manifestation wurde der Patient aus der Studie ausgeschlossen. Die Patienten wurden mindestens 6 Monate oder bis zu ihrem Tod nachbeobachtet. Bei der statistischen Analyse bedienten wir uns der Wilcoxon-Tests für independent samples, des Mantel-Haenszel-Tests und des 4-Felder-Tests 1121. Die Beurteilung der Aussagekraft einzelner Variablen für die Diagnose einer PcP erfolgte mittels logistischer Regressionsanalyse. Ein p-Wert < 0.05 gilt als statistisch signifikant.

Resultate

In Tabelle 1 sind die pulmonalen Erkrankungen der Patienten aufgelistet. Von den 217 bronchoskopierten Patienten lagen bei 163 Laborparametern, bei 148 auch ein zellulärer Immunstatus vor. Bei 43 der 45 Patienten mit einer präsumptiven PcP-Diagnose und Laborbefunden konnte der Erreger nachgewiesen werden und diese galten daher als definitiv an einer PcP erkrankt. Alle Bronchoskopie verliefen komplikationslos. Während die Sensitivitäten der MGG-Färbung, des DIFT und der PCR voneinander abwichen (79,1%, 56,1%, 65,9%), unterschieden sich die Spezifitäten (99,2%, 97,3%, 98,2%) und die Treffsicherheiten kaum (93,8%, 86,2%, 89,7%).

Die statistisch ermittelten Werte und die Wertigkeit der Laborparameter sind in Tabelle 2 und 3 aufgelistet. Die Anzahl CD4+ T-Lymphozyten lag bei allen PcP-Patienten unter 200 Zellen/mm³ Blut, während 10% der Patienten mit bakterieller Pneumonie mehr als 200 Zellen/mm³ aufwiesen. Während des Beobachtungszeitraumes starben 5 Patienten aufgrund eines Therapieversagens an einer PcP. Bei allen Patienten wurde diese intravital diagnostiziert und bei der Obduktion verifiziert.

Diskussion

Während in den Jahren 1987-1989 die PcP mit 44,4% die häufigste pulmonale Komplikation bei unseren

Tabelle 1. Pulmonale Erkrankungen (N=217)

Art der Erkrankung	Anzahl (%)
Bakterielle Pneumonie	66(30.4)
Präsumtive <i>Pneumocystis carinii</i> -Pneumonie	55(25,3)
Pulmonale Tuberkulose (Mycobakterium tuberculosis, MOTT)	27(12.4)
CMV-Pneumonie	13(6.0)
Kaposi-Sarkom	11(5.0)
ARDS bei Sepsis	4(1.8)
Andere	41(18.9)

MOTT Atypische Mykobakterien (mycobacteria other than tuberculosis). CMV Cytomegalovirus, ARDS adult respiratory distress syndrome, unter "Andere" wurden Exazerbationen eines chronisch obstruktiven Atemwegsleidens, akute Bronchitiden und Lungenfibrosen subsummiert.

Tabelle 2. Laborparameter (x ± SD, in Klammer: Median)

Parameter	Patienten mit PcP n = 45	Patienten mit bakterieller Pneumonie n=39	p ¹	Patienten mit anderen pulmonalen Erkrankungen n=64	p ²
Hämoglobin (g/dl)	11.4 ± 1,7 (11,6)	10,82 ± 1,90 (10,5)	0,06	11.1 ± 1,8(11,1)	0,07
Thrombozyten (x 10 ⁹ /l)	149,2 ± 91,5 (172,5)	143,0 ± 65,1 (148,0)	0,01	131,8 ± 69,1 (120)	0,0005
Laktatdehydrogenase (U/l)	386,1 ± 159,7 (353)	310,7 ± 155,9 (285,0)	0,02	347,8 ± 203,2 (271)	0,02
Totalprotein (g/dl)	6,3 ± 1,0 (6,7)	7,51 ± 1,0 (7,40)	0,0003	7,0 ± 1,1 (7,0)	0,01
CD4+ T-Lymphozyten (Zellen/mm ³)	28,0 ± 32,1 (20)	73,2 ± 118,2 (20)	0,19	67,9 ± 104,4 (20)	0,29
CD4+ T-Lymphozyten (%)	5,5 ± 8,1 (3)	7,8 ± 9,3 (4,5)	0,08	6,5 ± 7,3 (3)	(1,18)
CD8+ T-Lymphozyten (Zellen/mm ³)	500,4 ± 476,1 (350)	495,7 ± 475,1 (310)	0,4	536,6 ± 465,1 (330)	(1,55)
CD8+ T-Lymphozyten (%)	64,6 ± 16,2 (67)	60,3 ± 17,3 (62,5)	0,24	60,5 ± 20,8 (66)	(138)
CD4/CD8-Ratio	0,11 ± 0,19 (0,05)	0,14 ± 0,12 (0,10)	0,03	0,13 ± 0,13 (0,1)	0,06

¹ p-Werte des Vergleichs von Patienten mit PcP mit jenen mit bakterieller Pneumonie; ² p-Werte des Vergleichs von Patienten mit PcP mit Patienten mit anderen pulmonalen Erkrankungen. Fett gedruckt: statistisch signifikante Unterschiede

Tabelle 3. Faktoren für die präsumtive PcP-Diagnose

Variable	95% Konfidenzintervalle		Wilcoxon-Test für independent samples p	Logistische Regressionsanalyse p
	Patienten mit PcP n=45	Patienten ohne PcP n=118		
Thrombozyten (x 10 ⁹ /l)	125,4-150,6	166,5-222,5	0,0005	0,002
Laktatdehydrogenase (U/l)	330,3-427,4	295,9-364,5	0,026	0,068
Totalprotein (g/dl)	6,5-7,1	7,1-7,5	0,01	0,046

Fett gedruckt: statistisch signifikante Unterschiede

AIDS-Patienten darstellte [9], ist sie jetzt im Einklang mit der Literatur [1] gegenüber anderen AIDS-assoziierten Erkrankungen (PcP-Häufigkeit: 25,3%) in den Hintergrund getreten. Diese Entwicklung ist auch anhand der österreichischen AIDS-Statistik nachvollziehbar (PcP als Indexdiagnose: 1991 70%, 1995 38%, Dr. JP Klein, persönliche Mitteilung).

Die veränderte Häufigkeit von PcP und die größere Erfahrung mit dieser Erkrankung veränderte die Wertigkeit von Diagnoseverfahren: klinische Parameter, das Thoraxübersichtsröntgen und die arterielle Blutgasanalyse wurden zur Definition einer präsumtiven PcP-Diagnose herangezogen und Kostenanalysen unterschiedlicher diagnostischer Vorgangsweisen vorgenommen [131].

Unsere Studie zeigt in Übereinstimmung mit anderen Untersuchungen [7, 14], daß der Erregernachweis in der BAL-Flüssigkeit einen schnellen und sicheren Weg zur Diagnose einer PcP darstellt. Die MGG-Färbung ist dabei eine besonders kostengünstige und rasche Nachweismethode. Die Bronchoskopie dient zusätzlich der Diagnostik anderer pulmonaler Komplikationen [151] und ist bei einer erfolglosen empirischen Therapie und negativem Erregernachweis im induzierten Sputum (IS) indiziert [4, 16]. Basierend auf diesen Überlegungen und der bekannten niedrigen Sensitivität konventioneller Färbemethoden im IS [14, 51] fand dieses nicht Eingang in unsere Diagnostik.

Einige der überprüften Laborparameter haben in den letzten Jahren eine deutliche Veränderung ihres Stellen-

wertes erfahren. Während Zaman et al. [161] die Messung der Serum-LDH-Konzentration noch als Screeningtest und Verlaufparameter empfahl, wird sie in mehreren Publikationen entweder als unbrauchbar für die Prognose einer PcP beschrieben [1171], bloß als Teil eines Untersuchungspaketes erwähnt [1181], oder ganz außer Acht gelassen [119]. Die LDH-Konzentration lag allerdings bei unseren PcP-Patienten signifikant über derjenigen anderer Patienten und kann daher, wie die Ergebnisse unserer Studie zeigen, wie die Thrombozytenanzahl und das SerumTP einen Hinweis auf das Vorliegen einer PcP liefern. Ihre Bedeutung als Prognoseparameter [1171] wurde von uns nicht untersucht. Die Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse wiesen die Thrombozytenanzahl und das Serum-TP als unabhängig, relevante prognostische Parameter für eine PcP aus, während die LDH-Konzentration lediglich einen Trend liefert. Das Auftreten einer PcP bei mehr als 200 CD4+ T-Lymphozyten/mm³ Blut ist sehr unwahrscheinlich [18, 20, eigene Resultate]. Basierend auf diesen Ergebnissen sollten die Thrombozytenanzahl, das Serumtotalprotein und die Anzahl CD4+ T-Lymphozyten Eingang in die Kriterien der präsumtiven PcP-Diagnose finden.

Danksagung

Wir danken Prof. Dr. H. Aspöck für seine Hilfestellung bei der Planung der Studie und Frau Dr. D. Kiss für die Unterstützung bei der Datenerhebung.

Literatur

1. Jacobson LP, Kirby AJ, Polk S, Phair JP, Besley DR, Saab AJ. et al (1993) Changes in survival after acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): 1984-1991. Am J Epidemiol 138: 952-964
12. Coleman DL, Dudek PM, Luce JM, Golden JA, Gold WM, Murray JF (1983) Diagnostic utility of fiberoptic bronchoscopy in patients with *Pneumocystis carinii* pneumonia and the acquired immunodeficiency syndrome. Am Rev Respir Dis 128: 795-799
13. CDC (1992) 1992 Revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. MMWR 41: RR17, 1-19
14. Chouaid C, Roux P, Lavard J, Poirot JL, Housset B (1995) Use of the polymerase chain reaction technique on induced sputum samples for the diagnosis of *Pneumocystis pneumonia* in HIV-infected patients. A clinical and cost-analysis study. Am J Clin Pathol 104: 72-75
15. Bigby TD, Margolskee D, Curtis JL, Michael PF, Sheppard D, Hadley WK. et al (1986) The usefulness of induced sputum in the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Am Rev Respir Dis 133: 515-518
16. Zaman MK, White DA (1988) Serum lactate dehydrogenase levels and *Pneumocystis carinii* pneumonia. Diagnostic and prognostic significance. Am Rev Respir Dis 137: 796-800
17. Freedberg KA, Tosteson AN, Cotton DJ, Goldman L (1992) Optimal management strategies for HIV-infected patients who present with cough or dyspnea: a cost-effective analysis. J Gen Intern Med 7: 261-272
18. Sheikh S, Bakshi SS, Pahwa SG (1996) Outcome and survival in HIV-infected infants with *Pneumocystis carinii* pneumonia and respiratory failure. Pediatric AIDS and HIV-infection 7: 155-163
19. Armbruster C, Köhn H, Kapfhammer G, Vetter N (1994) Wertigkeit von Lungenfunktionstests und nuklearmedizinischer Untersuchungen beim opportunistischen Infektionen der Lunge im Rahmen des AIDS. Einfluß des Rauchens und des i.v.-Drogenabusus. Atemw-Lungenkrkh 9: 515-519
20. Montaner JSG, Zala C (1995) The role of the laboratory in the diagnosis and management of AIDS-related *Pneumocystis carinii* pneumonia. Bailliere's Clin Infect Dis 2: 471-485
2. Armbruster C, Pokieser L, Haßl A (1995) Diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia by bronchoalveolar lavage in AIDS-patients: comparison of Diff-Quik-, Fungifluor stain, direct immunofluorescence test and polymerase chain reaction. Acta Cytol 39: 1089-1093
3. Armitage P, Berry G (1991) Statistical inference In: Armitage P, Berry G (eds) Statistical methods in medical research. Blackwell Scientific Publications, London Edinburgh Boston Melbourne Paris Berlin Vienna, pp 115-131
4. Chouaid C, Housset B, Leheau B (1995) Cost-analysis of four diagnostic strategies for *Pneumocystis carinii* pneumonia in HIV-infected subjects. Eur Respir J 8: 1554-1558
5. Huang L, Hecht FM, Stansell JD, Montanti R, Hadley WK, Hopewell PC (1995) Suspected *Pneumocystis carinii* pneumonia with a negative induced sputum examination. Is early bronchoscopy useful? Am J Respir Crit Care Med 151: 1866-1871
6. Armbruster C, Drlicek M (1995) Herpes simplex Virus Typ 11-Infektion als exophytisch wachsender endobronchialer Tumor. Wien Klin Wochenschr 107: 344-346
7. Tu JV, Biem HJ, Detsky AS (1993) Bronchoscopy versus empirical therapy in HIV-infected patients with presumptive *Pneumocystis carinii* pneumonia. A decision analysis. Am Rev Respir Dis 148: 370-377
8. Bauer T, Ewig S, Hasper E, Rockstroh JK, Luderitz B (1995) Predicting in-hospital outcome in HIV-associated *Pneumocystis carinii* pneumonia. Infection 23: 272-277
9. Kuhlman JE (1996) Pneumocystic infections. The radiologists perspective. Radiology 198: 623-635
10. Smith AI, Pigott PC (1996) HIV and respiratory disease. MJA 164: 425-428
11. Phair J, Munoz A, Detels R, Kaslow R, Rinaldo C, Saab A, et al (1990) The risk of *Pneumocystis carinii* pneumonia among men infected with human immunodeficiency virus type 1. N Engl J Med 322: 161-165

Korrespondenz: Dr. Christine Armbruster, 2. Interne Abteilung des Pulmologischen Zentrums der Stadt Wien, Sanatoriumstraße 2, A-1140 Wien, Österreich.
e-mail: andreas.hassl@univie.ac.at

(Eingegangen am 15. Dezember 1997, angenommen am 22. April 1998.)