



Case Summary Case 1

ผู้นำเสนอ	พญ.กนกอร เลิศล้ำยอง	คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
ที่ปรึกษา	ผศ.พญ.กัญญา รัตนอมพัลลภ	คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

“A 45-year-old HIV-infected man with prolonged fever”

อาการสำคัญ ไข้เรื้อรังมา 2 เดือน

ประวัติปัจจุบัน

- 1 ปีก่อน มีไข้ หายใจเหนื่อย ไปรพ.ราชบุรี วินิจฉัย HIV with pneumocystis pneumonia, CD4=26 (3.6 %) หลังได้รับ cotrimoxazole ประมาณ 3 อาทิตย์ มีผื่นแพ้ยา จึงต่อยด้วยเป็น dapsone prophylaxis กินยาไม่สม่ำเสมอ
- 9 เดือนก่อน มีไข้ ปวดศีรษะ วินิจฉัย Cryptococcal meningitis รักษาด้วยAmphotericin B ต่อด้วยfluconazole กินยาไม่ต่อเนื่อง
- 6 เดือนก่อน เริ่ม AZT/3TC/NVP หลังกินยา 1 เดือนตามัว ตรวจพบ CMV retinitis ได้รับ ganciclovir IV อาการตามัวดีขึ้น เริ่มมี pancytopenia แบบเดิม แม่หยุดยา ganciclovir IV หลังทานยาต้านไวรัส 3 เดือน ผล CD4=10 (3.1%)
- 2 เดือนก่อน มีไข้ ปวดศีรษะ ไอแห้งนานๆ ครั้ง น้ำหนักลดจาก 65 kg เหลือ 59 kg ใน 1 เดือน จึงส่งปรึกษาแพทย์โรคติดเชื้อ

ประวัติยาปัจจุบัน: AZT/3TC/NVP 1 tab po q 12 hr, Dapsone 100 mg/d, Fluconazole 400mg/d, Azithromycin 1,000 mg/wk

Physical examination:

Vital sign: BT 37.1°C, PR 100/min, BP 130/104 mmHg, RR 20/min, SpO₂ 100% RA

General appearance: A middle aged Thai man, normosthenic built, good consciousness, mildly pale, no jaundice, no edema

HEENT: no oral thrush, no thyroid gland enlargement, no lymphadenopathy

Heart& lungs: within normal limit

Abdomen: no abdominal distension, liver & spleen not palpable, bimanual palpation negative, no CVA tenderness

Extremities: PPE both arms and legs

Nervous system: E4V5M6, motor power gr V all, intact CN and sensory, no stiffness of neck

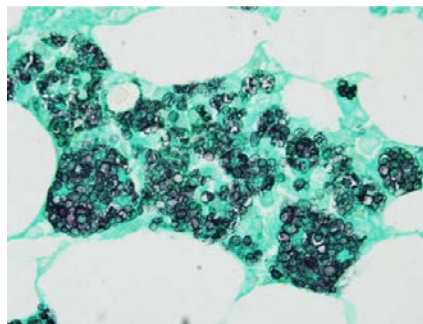


Pertinent investigations

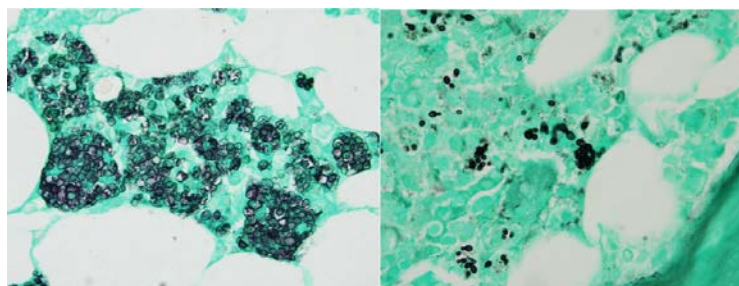
- CBC: Hb 10.6 g/dL, Hct 30.7 %, MCV 115 fL, WBC 2,900/mm³ (N 48.7%, L 34.6%, M 8.7%, E 6.6 %), platelet 328,000/mm³
- CXR: Bilateral interstitial infiltrations
- HIV Viral load < 40 copies/mL, CD4 = 32 cells/μL (2.95%)
- Bone marrow aspiration: hypocellular marrow, AFB-ve
- Bone marrow biopsy (GMS stain): Intracellular yeast cells without mucinous capsule, Small in size with frequent cup-shaped feature. Morphologically consistent with *Pneumocystis jiroveci*, mucicarmin stain -ve
- Bone marrow molecular identification: No bacterial DNA detected

Final diagnosis: *Pneumocystis jiroveci* involve bone marrow

Treatment: เปลี่ยน ARV เป็น TDF/3TC/EFV, เริ่มยา Clindamycin 2,700 mg/day และ Primaquine 30 mg/day เป็นเวลา 3 สัปดาห์



Grocott Methenamine Silver “GMS” (oil immersion) – Positive



Pneumocystis jiroveci

Histoplasma capsulatum



Microbiology: *Pneumocystis jirovecii*

Phylum: *Ascomycota*

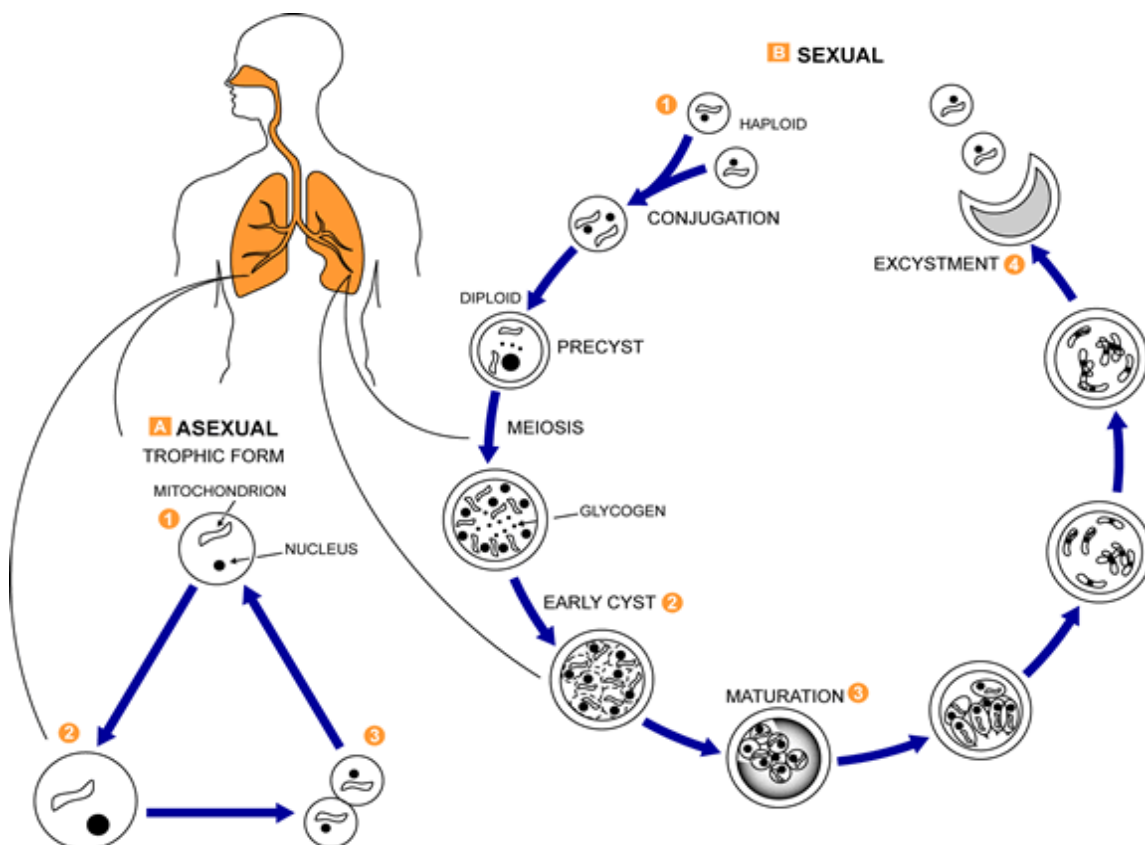
Family: *Pneumocystidaceae*

Genus: *Pneumocystis*

แต่ละ species มีความจำเพาะกับ host ได้แก่ *P. carinii* และ *P. wakefieldiae* พบในหนู rat, *P. murina* พบในหนู mice, *P. oryctolagi* พบในกระต่าย และ *P. jirovecii* พบในคน

ชื่อเดิม คือ *Pneumocystis carinii* และเคยถูกจัดอยู่ในเชื้อปรสิต (protozoa) ปัจจุบันจัดอยู่ในเชื้อรา ลักษณะเป็น yeast-like fungi ขนาด 4-8 μm เป็นทรงกลม หรือครึ่งทรงกลม (คล้ายถ้วยกาแฟ ; cup-shaped) อาจพบเป็น normal microbiota ในช่องปากของคน และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม คนปกติพบว่ามีภูมิคุ้มกันตั้งแต่เป็นเด็กอายุ 3-4 ปี แต่สามารถก่อโรคในคนที่มีความพร่องของภูมิคุ้มกันทั้ง humoral และ cellular immune response จึงพบก่อโรคในทารกคลอดก่อนกำหนด เด็กขาดอาหาร หรือทุโภชนา ผู้ป่วย HIV หรือได้รับสารกดภูมิคุ้มกัน หรือหญิงตั้งครรภ์ โดยจะพบเชื้อ colonize ในทางเดินหายใจ โดยไม่มีอาการก่อนจะนำไปสู่การติดเชื้อ หรือเป็นคนที่แพร่เชื้อไปสู่คนที่มีความพร่องของภูมิคุ้มกัน โดยแพร่เป็น airborne transmission

Life cycle





การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

เนื่องจาก *P. jirovecii* ไม่สามารถเพาะเลี้ยง (culture) การวินิจฉัยจึงเป็นการตรวจหาเชื้อโดยตรงด้วยการใช้กล้องจุลทรรศน์ (Microscopic direct examination) หรือ วิธีอณูโมเลกุล (Molecular methods)

สิ่งส่งตรวจ: เสมหะ oral wash, nasopharyngeal aspirate, bronchoalveolar lavage (BAL), Lung biopsy, tissue, lymph node

Microscopic direct examination: อาจย้อมด้วยสีต่างๆ วินิจฉัยด้วยการดูขนาดที่ใกล้เคียงกับเม็ดเลือด (4-7 μm) และลักษณะที่เป็น cup-shaped, crescent-shaped, kidney bean-shaped หรือ double parenthesis-shaped ดังนี้

Giemsa stain: เป็นการย้อม trophozoites (vegetative state) และ intracystic state (spore state) โดย nucleus จะติดสีน้ำเงินเข้มเป็นจุดๆ (dot-like nuclei) ส่วน cytoplasm ติดฟ้า อาจย้อมด้วย Wright stain, Diff-Quick (modified Wright stain) หรือ Papanicolaou stain

Gomori methenamine silver stain (GMS): เป็นการย้อม trophozoites โดยจะเห็นติดสีดำ

Fluorescence stain: เช่น toluidine blue O หรือ calcofluor white เป็นการย้อม cell wall โดย cellufLOUR ซึ่งเป็น active ingredient ของ calcofluor white จะจับกับ beta-linked polysaccharides เช่น chitin, cellulose ทำให้เห็นเชื้อติดสีเขียวหรือสีฟ้าซึ่งนิยมใช้ในการตรวจหาเชื้อราจากสิ่งส่งตรวจโดยตรง

Immunofluorescence stain เป็นการใช้ specific monoclonal antibody ทำให้การวินิจฉัยมีความจำเพาะมากขึ้น

มีการศึกษาเปรียบเทียบความไว ความจำเพาะ ของการย้อมสีที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ จากสิ่งส่งตรวจทางเดินหายใจ (Procop GW, J Clin Microbiol 2005; 43: 3333-5.) ได้ผลดังนี้

	Calcofluor white	Diff-Quick	GMS
ความไว (%)	73.8	48.4	76.9
ความจำเพาะ (%)	99.6	99.6	99.2
Positive predictive values (%)	98.0	96.9	96.2
Negative predictive values (%)	93.4	88.0	94.2

Molecular methods: โดยการตรวจหา DNA ด้วยวิธี PCR, real-time PCR หรือ loop-mediated isothermal amplification (LAMP)



มีการศึกษาเปรียบเทียบวิธีตรวจหา *P. jirovecii* ด้วย GMS, nested PCR และ LAMP จากผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกซึ่งเข้าได้กับ PCP จำนวน 185 ราย โดยเป็น

- ผู้ป่วย HIV ซึ่งมี CD4+ T cells น้อยกว่า 200 cells/mm³ จำนวน 64 ราย
- ผู้ป่วย non-HIV จำนวน 121 ราย ประกอบด้วย
 - : ผู้ป่วยเปลี่ยนถ่ายอวัยวะ จำนวน 66 ราย
 - : ผู้ป่วยมะเร็ง จำนวน 20 ราย
 - : ผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องอื่นๆ จำนวน 35 ราย

สิ่งส่งตรวจเป็น BAL และ induced sputum จำนวน 135 และ 50 ตัวอย่าง ตามลำดับ (Singh P, Molecular Biology International volume 2015, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/819091>) ได้ผลดังนี้

วิธีทดสอบ	Positive / total samples	% Positive
GMS	12/185	6.5
Nested PCR	41/185	22.2
LAMP	49/185	26.5

มีการศึกษาที่สามารถตรวจพบ PCP DNA จาก BAL ของผู้ป่วย non-HIV ที่ไม่มีอาการแสดงของ pulmonary PCP จึงเป็นไปได้ที่อาจพบ PCP เป็นเพียงเชื้อที่ colonize แต่จะสามารถพัฒนาเป็นเชื้อก่อโรคเมื่อผู้ป่วยมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือมีการกดภูมิคุ้มกันได้ (khodadadi H, Indian J Publ Health 2013; 42: 298- 305)