

· 综述与讲座 ·

侵袭性肺部真菌感染诊断进展

祁卉卉 金先桥

[中图分类号]R519 R379 [文献标识码]A [文章编号]1001-9057(2008)04-0229-03

[关键词] 侵袭性肺部真菌感染/诊断

近年来,随着人口老龄化、器官移植免疫抑制剂的使用,肿瘤放化疗,造血干细胞移植,超广谱抗生素和多种抗生素联合使用,皮质类固醇激素的应用以及各种导管介入治疗等,侵袭性真菌感染(invasive fungal infection, IFI)的发病率逐年上升,其中又以侵袭性肺部真菌感染(invasive pulmonary fungal infection, IPFI)最常见,大约占 50%~60%。更由于肺部真菌感染临床表现常无特异性,早期诊断困难,病情易被原发病掩盖,造成误诊、漏诊,而延误治疗;未经及时治疗的肺部真菌感染患者的病死率可高达 30%~80%^[1]。因此正确而及时的判断肺部真菌感染是当前临床上迫切需要解决的问题。

侵袭性肺部真菌感染的临床表现

IPFI 的临床表现缺乏特异性,多表现为发热、咳嗽、咳痰、咯血、胸闷、呼吸困难等。其中发热最常见,可表现为持续性高热或抗生素治疗热退后再发高热。有些还可以表现为体温过低。通常可伴有肺部实变体征。这些与肺部基础疾病及肺炎等难以鉴别,不能作为诊断依据。但伴有以下情形者我们要考虑真菌感染可能:①外周血中性粒细胞减少,中性粒细胞计数

$<0.5 \times 10^9/L$,且持续 >10 天;②体温 $>38^\circ\text{C}$ 或 $<36^\circ\text{C}$,并伴有以下情况之一。①之前 60 天内出现过持续的中性粒细胞减少(>10 天);②之前 30 天内曾接受过或正在接受免疫抑制剂治疗;③有侵袭性真菌感染病史;④有艾滋病史;⑤存在移植抗宿主病的症状和体征;⑥持续应用类固醇激素 3 周以上;⑦有慢性基础疾病,或外伤、手术后长期住 ICU,长期使用机械通气,体内留置导管,全胃肠外营养和长期使用广谱抗生素治疗等。

侵袭性肺部真菌感染的影像学表现

IPFI 肺部影像学改变通常也无特异性。但曲霉易侵犯肺小血管,造成出血性肺梗死,在肺外周近胸膜处形成肺结节或实变病灶。数天后病灶周围出血呈现晕轮征,10~15 天后肺结节病灶或肺实变区开始液化、坏死,影像学上表现为空腔阴影或新月征^[2]。上述典型的影像学特征在侵袭性肺曲霉感染早期常出现,可作为诊断 IPFI 依据。另外当两肺出现毛玻璃样肺间质病变征象时要考虑肺孢子菌肺炎的可能。

不同疾病及疾病的不同时期影像学表现不同。目前,国内外多数学者就典型的影像学改变已达成共识,并将其分为以下几种类型:①肺炎型,显示中下肺野小

作者单位:200003 上海,上海交通大学附属第一人民医院呼吸内科

参考文献

- [1] Shehon BK. Opportunistic fungal infections in the critically ill. Crit Care Nurs Clin North Am, 2000, 12: 323-340.
- [2] 吕玮,刘正印. 肺真菌感染. 见:蔡柏蔷,李龙芸主编. 协和呼吸病学. 北京:中国协和医科大学出版社, 2005. 672-683.
- [3] 何礼贤. 肺真菌病. 见:朱元珩,陈文彬主编. 呼吸病学. 北京:人民卫生出版社, 2004. 756-776.
- [4] 李静,陈正贤. 孢子丝菌病. 见:赵蓓蕾,施毅桑红主编. 现代肺部真菌病学. 北京:人民军医出版社, 2004. 128-133.
- [5] 吴鄂生,印洁. 念珠菌病. 见:赵蓓蕾,施毅桑红主编. 现代肺部真菌病学. 北京:人民军医出版社, 2004. 144-149.
- [6] 陈琼. 曲霉病. 见:赵蓓蕾,施毅桑红主编. 现代肺部真菌病学. 北京:人民军医出版社, 2004. 150-163.
- [7] Chen KY, Ko SC, Hsueh PR, et al. Pulmonary fungal infection: Emphasis on Microbiological Spectra, Patient Outcome, and Prognostic Factors. Chest, 2001, 120: 177-184.
- [8] 杜斌,张海涛,陈德昌,等. 3447 例尸检病例的深部真菌感染分析. 中华医学杂志, 1996, 76: 352-354.
- [9] 曾木英,纪小龙,谭汉君. 75 例深部真菌感染尸体解剖及临床分析. 北京医学, 1994, 16: 47-48.
- [10] 高德伟,张晓军,曾木兰,等. 38 例老年人肺部真菌感染临床病理分析. 解放军医学杂志, 1998, 23: 473-474.
- [11] 郝飞,阎衡,叶庆肖. 中华皮肤科杂志, 2003, 36: 441-442.
- [12] 曹彬,蔡柏蔷,王辉,等. 肺部真菌感染 152 例病原谱再评价. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30: 279-283.
- [13] 施毅. 肺隐球菌的诊断与治疗. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30: 806.
- [14] 施毅. 肺接合菌病的诊断与治疗. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30: 809-811.
- [15] 程德云,王慧. 放线菌病. 见:赵蓓蕾,施毅桑红主编. 现代肺部真菌病学. 北京:人民军医出版社, 2004. 231-238.
- [16] 何礼贤. 肺孢子菌肺炎的诊断与治疗. 中华结核和呼吸杂志, 2007, 30: 802-805.

(收稿日期:2008-3-28)

(本文编辑:李庆宪)

片或大片状阴影,可累及多个肺段或肺叶,少数者呈节段性改变。此种多见于白色念珠菌和曲霉菌感染。②肿块型,显示炎性肿块、呈孤立病灶、类似肿瘤。炎性肿块由纤维包膜包裹,密度均匀,多见于隐球菌、组织胞浆菌等感染。③曲霉菌球,由曲霉菌丝和纤维黏液混合而成,寄生在肺空洞内或囊状扩张的支气管内,呈圆形、椭圆形,曲霉菌球与囊腔之间形成半月形或新月形的透亮区,这是曲霉菌感染的典型影像学表现。④胸膜炎,指病灶靠近胸膜或经血行播散侵犯胸膜所致,有胸腔积液和(或)胸膜增厚等表现,主要为白色念珠菌,其次为热带念珠菌感染。⑤粟粒型,X线或CT(MRI)显示粟粒样改变,以中下肺为主,大小不等,多见于组织胞浆菌、隐球菌和念珠菌等感染。

侵袭性肺部真菌感染的微生物学检查

1. 组织病理学检查:活检组织标本做病理学检查是诊断肺部真菌感染的重要方法及确诊依据。通过纤维支气管镜肺活检,经皮肺穿刺活检或开胸肺活检获取标本,做病理检查,有真菌侵袭和相应炎症反应与肺部损害的证据以及组织标本真菌培养阳性即可确定真菌感染的诊断。肺组织标本用组织化学或细胞化学方法可检出不同病原体,霉菌感染者可检出菌丝或球形体,酵母菌感染者可检出酵母菌细胞和(或)假菌丝,肺孢子菌感染者可发现肺孢子菌包囊、滋养体或囊内小体。

但是,组织病理学检查亦有一定的局限性。首先,取材多为创伤性操作,重症患者难以耐受。其次,病理结果受制于取材的准确性。再次,诊断过程耗时久不利于早期诊断。最后,培养结果的阳性率低。因此,现在多提倡结合分子技术,其中原位杂交技术以其迅速、敏感、相对特异的优点,为真菌病原体在组织中的鉴定、诊断提供了新的手段。

2. 涂片和培养鉴定:临床实际工作中,并非所有患者均能得到组织标本,故痰液、血液、胸液和支气管肺泡灌洗液的微生物学检查就成为诊断 IPF I 的重要依据之一。对于致病性真菌,培养阳性就可确诊,如合格痰液或支气管肺泡灌洗液直接镜检或培养新生隐球菌阳性,或发现肺孢子菌包囊、滋养体或囊内小体即有临床意义,因为在气道内很少有隐球菌和肺孢子菌的定植。但条件致病菌不同,正常人体内可有部分真菌定植,因此须连续多次从标本中找到并分离培养出同一种病原体才有临床意义,甚至在免疫功能正常的患者,经纤维支气管镜保护性毛刷取得的标本真菌培养阳性也可能为污染或定植,不能作为侵袭性感染的依据。另外,培养过程耗时长,结果阳性率低,不利于早期诊

断,近年来该方面研究进展较少。

3. 真菌抗原检测:1,3- β -D 葡聚糖(BG)存在于念珠菌、曲霉等真菌细胞壁中,能特异性激活成分中的凝血因子G因子,从而激活凝血试验,此过程也称为G试验。多项研究表明,BG在IFI临床表现出现之前就已经高于正常值呈阳性,但如果是真菌定植,则G试验呈阴性^[4]。目前市场上有两种试剂盒,即Fungitec-G试剂和Glucatell试剂,前者判断标准为20 pg/ml,而后者判断标准的争议较多^[3-5],目前推荐使用的判断标准为60 pg/ml^[6]。不同的真菌感染其BG值不同^[7],如念珠菌感染者血清平均BG值为755 pg/ml;曲霉感染者平均BG值为1103 pg/ml;镰刀霉感染者平均BG值为1652 pg/ml,故可以依据BG值初步判断病原体。Pazos等^[4]对血浆1,3- β -D-葡聚糖检测的诊断价值研究结果显示,其敏感性、特异性分别为87.5%、89.6%,血浆水平随病情轻重而动态变化,对判断病情和疗效有一定意义。但需要注意的是,隐球菌由于细胞壁没有1,3- β -D 葡聚糖成分,G试验则呈假阴性;接合菌感染也可呈假阴性。而静脉使用白蛋白或 γ -球蛋白时G试验可呈假阳性。

曲霉半乳糖甘露聚糖抗原(GM)是真菌细胞壁上的一种多聚抗原,在曲霉侵犯组织早期就释放入血,可在临床症状和影像学改变尚未出现前1周左右表达阳性^[8],对高危患者连续动态监测(每周2次)具有早期诊断价值。临床常用ELISA法检测GM。在欧洲,早有试剂盒Platelia Aspergillus作为商品出售,但对其检测价值众说纷纭。大量研究发现在曲霉菌感染早期用ELISA法测定血液半乳糖甘露聚糖的敏感性和特异性存在波动性,多介于40~100%之间。Pfeiffer^[9]等综合分析了27份临床调查资料后得出其敏感性和特异性的均值分别为71%和89%,而对于造血干细胞移植术后的患者其早期诊断价值明显优于实体器官移植者。不同观察群体诊断价值不同,不同的判断界值诊断价值也不同。近几年来,关于判断界值I的选择也是研究的重点之一,不同的界值产生不同的诊断效果,较低的界值意味着较高的敏感性和较低的特异性。Platelia Aspergillus试剂盒说明书推荐的判断界值I为1.5,但各研究单位实际运用的界值为1.0~0.5。Verweij^[10]等在寻求理想I值时研究发现当I取0.5时,可获得97.4%的敏感性和90.5%的特异性,建议统一将I值定为0.5。目前欧美国家均赞同这一观点,将I值设为0.5。尽管I取0.5时有较高的诊断价值,但少部分患者仍有假阳性出现,这多与使用半合成抗生素^[11]、食用牛奶制品等有关,同时新生隐球菌感染也可以出现假阳性。在标本选择中,除了血液标本可检测GM外,

其他体液如支气管肺泡灌洗液、尿液、脑脊液等也可检测。动物及临床研究均发现在支气管肺泡灌洗液中可较早检测到半乳糖甘露聚糖^[12,13],但支气管肺泡灌洗液检测 GM 阳性并不能排除真菌定植可能^[14]。另外,对 GM 的检测,除了常用的 ELISA 试剂盒外,近期有人提出用乳胶凝集法,并证明两者有相同的特异性,而后者有较高的敏感性^[15],但孰优孰劣仍在进一步研究中。

目前,对血液或组织液标本中真菌细胞壁成分 BG 和 GM 的检测,是诊断侵袭性真菌感染的重要依据之一。G 试验和 GM 试验的出现使得早期诊断成为可能,在 IPFI 的诊断中占据重要地位。但其并非尽善尽美,在少部分患者中出现的假阳性和假阴性成为主要限制它们使用的原因,故 Pazos 等^[3]建议将两者联合使用以更有有效的诊断侵袭性曲霉感染(invasive aspergillosis, IA)。

4. 分子生物学方法:近年来随着分子生物学的迅速发展,已有聚合酶链反应(PCR)扩增、分子探针、限制性酶切片长度多态性分析(RFLP)、DNA 指纹图谱、随机扩增 DNA 多态性(RAPD)等方法,用于深部真菌病的诊断和分型研究,形成了以 PCR 技术为基础的一系列分子诊断方法,包括二步法、巢式和实时 PCR 技术等。Lass-Florl 等^[16]对已确诊和高度怀疑侵袭性肺曲霉病的 97 例患者运用 PCR 进行检测,确诊患者的肺组织标本敏感性为 100%,血标本敏感性治疗前为 66%,治疗中为 55%。Kami 等^[17]检测恶性血液病患者感染的血标本得出 RT-PCR、GM 和 G 试验的敏感性分别为 79%、58% 和 67%。较传统检测方法,PCR 技术具有敏感性高,特异性强,快捷、方便,重复性好的优点。但是其操作过程易受污染,不能判断活菌和死菌,不能区别感染和定植,假阳性的存在等使其运用受限制,临床诊断价值有待进一步研究。

综上所述,IPFI 早期诊断困难,究其原因如下:临床表现不典型,为基础疾病或药物治疗掩盖或混淆;合格标本获取不易,危重病人难以承受侵入性检查;继发性感染常呈双重感染或复合感染,难以定主次;实验室检查手段有限,并有时效性;结果评判困难,难以确定病原体。针对这一问题,2006 年中国侵袭性肺部真菌感染工作组参照欧美国家相关指南并结合国情,反复讨论后制定出 IPFI 的诊断和治疗标准(草案)^[18]。草案指出 IPFI 的诊断由宿主因素、临床特征、微生物学检查和组织病理学四部分组成,并将诊断过程分为确诊(prove)、临床诊断(probable)及拟诊(possible)三个级别,为临床诊断提供指南。作为 IPFI 诊断核心的微生物学检查是近年研究的重点,G 试验、GM 试验的出现和分子生物学方法的完善为早期诊断提供可能,但

是假阳性和假阴性的存在降低其使用价值,如何克服这些缺点将是今后研究的重点。

参考文献

- [1] 刘正印,盛瑞媛,李旭丽,等. 院内真菌感染 149 例分析. 中华医学杂志, 2003, 83: 399-402.
- [2] Kami M, Kishi Y, Hamaki T, et al. The value of the chest computed tomography halo sign in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: an autopsy based retrospective study of 48 patients. *Mycoses*, 2002, 45: 287-294.
- [3] Pazos C, Ponton J, Palocio AD. Contribution of (1-3)- β -D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microbiol*, 2005, 43: 299-305.
- [4] Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, et al. β -D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cutoff development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome. *Clin Infect Dis*, 2004, 39: 199-205.
- [5] Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, et al. Evaluation of a (1-3)- β -D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol*, 2005, 43: 5957-5962.
- [6] Hope WW, Walsh TJ, Denning DW. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis. *Lancet Infect Dis*, 2005, 5: 609-622.
- [7] Zeichner LO, Alexander BD, Kett DH, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1-3)- β -D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in human. *Clin Infect Dis*, 2005, 41: 654-659.
- [8] Maertens J, Verhaegen J, Lagrou K, et al. Screening for circulating galactomannan as a noninvasive diagnostic tool for invasive aspergillosis in prolonged neutropenic patients and stem cell transplantation recipients: a prospective validation. *Blood*, 2001, 97: 1604-1610.
- [9] Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 2006, 42: 1417-727.
- [10] Verweij PE, Masson C, Klont R, et al. Optimisation of the cut-off value of the Platelia Aspergillus ELISA. 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Nice France, 2006, s277.
- [11] Walsh TJ, Shoham S, Petraitene R, et al. Detection of galactomannan antigenemia in patients receiving piperacillin-tazobactam and correlations between in vitro, in vivo, and clinical properties of the drug antigen interaction. *J Clin Microbiol*, 2004, 42: 4744-4748.
- [12] Hope WW, Kruhlak MJ, Lyman CA, et al. Pathogenesis of *Aspergillus fumigatus* and the kinetics of galactomannan in an in vitro model of early invasive pulmonary aspergillosis: implications for antifungal therapy. *J Infect Dis*, 2007, 195: 455-466.
- [13] Meersseman W, Lagrou K, Maertens J, et al. Galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid: a tool for diagnosing aspergillosis in intensive care unit patients. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177: 1-2.
- [14] Becker MJ, Lugtenburg EJ, Cornelissen JJ, van der Schee C, Hoogsteden HC, de Marie S. Galactomannan detection in computerized tomography-based bronchoalveolar lavage fluid and serum in hematological patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis. *Br J Haematol* 2003; 121: 448-57.
- [15] Keutgen X, Hachem R, Jiang Y et al. A comparison of galactomannan-ELISA and a newly developed galactomannan-LATEX test in the serologic diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematologic malignancies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007, 26: 655-658.
- [16] Lass-Florl C, Gunsilius E, Gastl G, et al. Clinical evaluation of Aspergillus-PCR for detection of invasive aspergillosis in immunosuppressed patients. *Mycoses*, 2005, 48 (Suppl 1): S12-S17.
- [17] Kami M, Fukui T, Ogawa S, et al. Use of real-time PCR on blood samples for diagnosis of invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis*, 2001, 33: 1504-1512.
- [18] 中华内科杂志编辑委员会. 侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案). 中华内科杂志, 2006, 45: 697-700.

(收稿日期: 2008-03-28)

(本文编辑: 李庆宪)