

- [4] Ko DT, Hebert PR, Coffey CS, et al. [beta-Blocker therapy and symptom of depression, fatigue, and sexual function. JAMA, 2002, 288 (3): 351-357
- [5] Hale TM, Okabe H, Heaton JPW, et al. Antihypertensive drugs induce structural remodeling of the penile vasculature. J Urol,

- 2001, 166 (2): 739-745
- [6] Mikhailidis DP, Kan MA, Milionis HJ, et al. The treatment of hypertension in patients with erectile dysfunction. Curr Med Res Opin, 2000, 16 (suppl 1), s31-s36

文章编号: 1672-3384 (2007) -02-0050-05

肺部真菌感染诊断研究进展

【作者】 安毛毛 王睿

中国人民解放军总医院 (北京 100853)

【中图分类号】 R44

【文献标识码】 B

近 20 年来,随着器官移植免疫抑制剂的使用,癌症放疗化疗的增多,广谱抗菌药物的滥用和艾滋病的流行,免疫功能低下者不断增多。深部真菌感染作为一种并发症,感染率大幅上升,其中肺部真菌感染占深部真菌感染的首位,约 50%~60%侵犯支气管、肺,以念珠菌和曲霉菌最常见,其次为新型隐球菌和毛霉菌^[1,2]。肺部真菌感染临床表现无特异性,早期诊断困难,病情常被原发病掩盖,易被误诊、漏诊,延误治疗时机;重症患者病死率高,据报道未经治疗的肺部真菌感染患者的病死率达 30%~80%^[3]。因此,肺部真菌感染的早期诊断已经成为迫切需要解决的临床问题^[4]。近年来随着科学技术及实验手段的不断提高,由以往只靠痰液涂片、培养和组织病理学及影像学等检查手段来诊断肺部真菌感染的时期跨入免疫学、分子生物学检查的新时代,从而大大提高了肺部真菌感染的早期诊断率,也有利于临床合理使用抗真菌药物。

1 X 线诊断

X 线表现形态不一,典型的有以下几种类型^[5]:

①肺炎型:显示中下肺野小片或大片状阴影,可累及多个肺段或肺叶,少数呈节段性改变。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

包围,密度均匀,多见于隐球菌,组织胞浆菌等。

③曲霉菌球:由曲菌丝和纤维粘液混合而成,寄生在肺空洞内或囊状扩张的支气管内,呈圆形、椭圆形,曲菌球与囊腔之间形成半月形或新月形的透亮区,为曲菌感染的典型 X 线表现。④胸膜炎:病灶靠近胸膜或经血行播散侵犯胸膜所致,有胸腔积液或胸膜增厚等表现。⑤粟粒型:X 线或 CT 显示粟粒样病变,多以中下肺为主,大小不等。多见于组织胞浆菌、隐球菌和念珠菌等感染。

2 CT 诊断

肺部真菌感染可以分为单发病变、弥散性病变和肺内弥散性病变(播散性病变)。肺部真菌感染引起单发的肺部病变主要有^[6-8]:

①曲菌球:表现为薄壁空洞内伴球形病变的存在,并可随体位移动而变动,球与薄壁空洞间见新月征。病理基础为:曲菌丝、纤维、粘液混合成团,寄生在肺部的空洞病变内。它的存在是曲菌感染的可靠依据。②肿块或空洞:表现为单发肿块,可有小分叶,密度均匀,轻微增强,且可见浸润性改变。如果真菌致组织坏死形成脓肿,液化形成空洞,空洞多为薄壁,少见厚壁及结节状改变,空洞外壁较完整,此与脓肿、结核或癌性空洞不易鉴别。③单发性炎性实变灶:以肺段内斑片病灶为主,常并发薄壁空洞、支

气管扩张、结节灶。肺内弥散性病变主要表现为两肺弥漫实变灶，伴有结节、肿块、曲菌球、空洞及支气管扩张，肺间质改变少，薄层 CT 扫描有利于上述病变的显示^[9]。

3 肺部真菌感染传统的实验室诊断

3.1 涂片检查

取痰标本作涂片检查，操作简便，结果快速。正常人痰液内可有部分真菌的存在，故只有涂片找到致病性真菌才可以确定诊断，找到条件致病性真菌不应轻易诊断为肺部感染，还应结合临床其他方面方可考虑诊断，因此涂片检查对真菌诊断作用有限。支气管肺泡灌洗液、经纤支镜防污染毛刷或经环甲膜穿刺取出的标本进行直接涂片检查，对早期诊断肺部真菌感染有重要意义。

3.2 培养鉴定

一般用痰液、支气管肺泡灌洗液、胸腔积液、血液、活检组织标本等作培养。但是痰标本必须是无污染痰液，采集的方法是：患者早晨用 1% 双氧水含漱数次，继之用清水漱口，然后用力咳嗽，从呼吸道深部咳出的新鲜痰，弃用第一口痰，留第二、三口痰立即送检。由于周围环境和空气中存在大量条件致病性真菌，极易污染痰标本，因此正常采集后应立即送检，并且 1 次痰涂片或痰培养阳性也不宜轻易做出诊断，一般连续 3 次痰涂片或培养阳性且为同一菌种时方可作出诊断。支气管肺泡灌洗液、胸腔积液、血液、活检组织标本培养出真菌可以作出诊断，并可做菌型鉴定，以利临床的诊断和治疗。

3.3 组织病理学检查

活检组织标本做组织病理学检查是诊断肺部真菌感染的重要方法，可通过经纤维支气管镜肺活检，经胸壁穿刺肺活检或开胸肺活检获取标本，做病理检查，若发现菌丝和孢子等真菌结构，结合特殊染色，即可确定真菌感染的诊断。

4 肺部真菌感染的早期诊断

4.1 真菌抗原检测

1-3, β -D-Glucan 葡聚糖是除隐球菌、毛霉菌

外，所有酵母菌及丝状真菌细胞壁上的一种成分，包括曲霉菌、念珠菌、镰刀霉、毛孢子菌、酵母菌、足分支菌等，能特异性激活 G 因子，从而激活鲎试验，此过程称为 G 试验^[10,11]。文献研究表明检测血 1-3, β -D-Glucan 葡聚糖水平可能是预示真菌感染的一项有效指标。Odabasi 等^[12]通过对 30 例健康者和 30 例念珠菌血症患者进行检测，确定血清 1-3, β -D-Glucan 葡聚糖水平 $\geq 60\text{pg/mL}$ 为阳性界值，其敏感性为 97%，特异性 93%，并以该界值为阳性标准检测了 283 例接受经验性抗真菌治疗患者的血标本，发现比临床确诊真菌败血症平均提早 10d。但是对于血液透析、使用血液制品（白蛋白、丙种球蛋白）和含有葡聚糖纱布等患者，1-3, β -D-Glucan 葡聚糖检测也有可能出现假阳性，即没有真菌感染的患者血液中也可能会出现 β -D-葡聚糖。

半乳甘露聚糖（GM）是曲霉菌细胞壁的一种成分，在侵袭性疾病过程中释放出来，所检测的抗原血症水平与组织侵袭程度及临床结局有关，此种抗原血症可以持续 1~8 周^[13]。众多研究认为检测血 GM 是早期诊断侵袭性肺曲霉病的一项有用指标，GM 阳性比临床确诊真菌败血症平均提早 6~14d^[11]。ELISA 方法检测血液中 GM 水平可用于临床肺部曲霉菌感染的早期诊断和监测^[14,15]，最近美国 FDA 已将 0.5 作为 GM 阳性的诊断界值。高危患者 1 次血液样本 ≥ 0.8 或连续 2 次 ≥ 0.5 就可以进行抢先抗曲霉菌治疗。界值 0.5 和 0.8 的敏感性均为 96.5%，特异性分别为 85.1% 和 97.3%^[16]。但值得注意的是，在某些情况下 GM 检测具有局限性：①在非粒细胞减少的患者中 GM 检测的敏感性较低，仅为 15%~30%^[11]，可能与循环血中 GM 被巨嗜细胞清除有关；②在实质性器官移植患者中 GM 检测不具有代表性，GM 检测在肝移植患者中敏感性为 55.6%，特异性为 93.9%^[17]，而肺移植患者中 GM 检测敏感性仅为 30%^[18]；③抗真菌药物能够降低血液中 GM 水平，故应在抗真菌药物应用前检测 GM 水平^[11,19]。另外 GM 检测也可能出现假阳性，文献研究表明血液系统恶性肿瘤、造血干细胞移植和实质性器官移

植患者假阳性率分别为 5%~14% 和 13%~20%^[18,20-23], 原因可以分为以下几种: ①与其他细菌或者真菌成分存在交叉反应; ②肠道中定植的曲霉释放 GM 进入血液循环; ③由于多种含谷物的食物中存在 GM 抗原, 而该抗原耐热, 所以食物中的 GM 抗原成分通过受损的肠黏膜进入血液循环导致出现抗原血症, 化疗的患者出现严重黏膜炎时更容易发生这种吸收; ④GM 与哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林/克拉维酸、氨苄西林、青霉素 V 有交叉反应, 故应用这些抗生素的患者会出现假阳性。

至于 1-3, β -D-Glucan 葡聚糖与 GM 检测哪一个更好, 目前尚无定论。Pazos 等^[24]对 40 例中性粒细胞减少的高危侵袭性肺曲霉病患者同时检测 1-3, β -D-Glucan 葡聚糖与 GM 水平, 比较两者的敏感性与特异性, 发现两者无差异。同时检测 BG 与 GM 对于识别假阳性十分有用, 两者同时阳性可明显提高肺部真菌感染的特异性。

4.2 分子生物学方法检测

分子生物学技术诊断真菌感染的优点是: ①早期快速确定真菌; ②可快速确定真菌的种属和类别; ③监测真菌对治疗的反应。其主要技术包括: ①核酸探针 (DNA probe)。DNA 探针是指能识别特异性碱基序列的一小段单链 DNA (或 RNA) 分子, 与被测定的核苷酸序列互补。通过 DNA - DNA 杂交, 可探查受检标本中有无某种真菌所特有的 DNA 片段, 以获得病原学诊断^[25]; ②聚合酶链反应 (PCR)。PCR 是体外核酸扩增技术, 可将病原体核酸扩增 10~100 万倍, 大大提高了检测的敏感性。近来用 PCR 检测真菌 DNA 片段的技术得到了迅猛的发展。用 PCR 扩增真菌的特异性 rDNA 片段, 特异性 100%, 敏感性亦高 (标本中含 15 个真菌即可检出), 且不易与其他真核细胞交叉扩增。若从正常的无菌部位扩增出该序列, 说明此处有真菌感染。Lass-Florl 等^[26]对已确诊和高度怀疑侵袭性肺曲霉病的 97 例患者进行了 PCR 检测, 确诊患者的肺组织标本敏感性为 100%, 治疗前的血标本敏感性为 66%, 治疗中为 55%。Kami 等^[27]通过检

测恶性血液病患者感染的血本来比较 RT-PCR、GM 和 1-3, β -D-Glucan 葡聚糖酶联免疫吸附法检测的敏感性, PCR 的敏感性为 79%, BG 为 67%, GM 为 58%。但 PCR 也存在假阳性的问题, 主要是标本采集时的污染造成的。有报道^[28]用 PCR 方法测定支气管肺泡灌洗液和尿液中的 DNA 片段有一定的假阳性。因此应用 PCR 诊断肺部真菌感染时应结合临床才能确诊。

4.3 侵袭性肺部真菌感染的临床诊断标准^[29]

2006 年中华医学会公布了我国侵袭性肺部真菌感染诊断标准, 主要包括以下 3 方面:

4.3.1 宿主因素 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 $> 10d$; 体温 $> 38^\circ C$ 或 $< 36^\circ C$, 并伴有以下情况之一: ①之前 60d 内出现过持续的中性粒细胞减少 ($> 10d$); ②之前 30d 内曾接受或正在接受免疫抑制剂治疗; ③有侵袭性真菌感染病史; ④患有艾滋病; ⑤存在移植物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。

4.3.2 临床特征 主要特征: ①侵袭性肺曲霉感染的胸部 X 线和 CT 影像学特征为: 早期出现胸膜下密度增高的结节实变影, 数天后病灶周围可出现晕轮征, 约 10~5d 后肺实变区液化、坏死, 出现空腔阴影或新月征; ②肺孢子菌肺炎的胸部 CT 影像学特征为: 两肺出现毛玻璃样肺间质病变征象, 伴有低氧血症。次要特征: ①肺部感染的症状和体征; ②影像学出现新的肺部浸润影; ③持续发热 96h, 经积极的抗菌治疗无效。

4.3.3 微生物学或组织病理学检查 微生物学检查: ①合格痰液经直接镜检发现菌丝, 真菌培养 2 次阳性 (包括曲霉属、镰刀霉属、接合菌); ②支气管肺泡灌洗液经直接镜检发现菌丝, 真菌培养阳性; ③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; ④支气管肺泡灌洗液或痰液中发现肺孢子菌包囊、滋养体或囊内小体; ⑤血液标本曲霉

菌 GM (ELISA) 检测连续 2 次阳性; ⑥血液标本真菌细胞壁成分 1-3, β -D-Glucan 葡聚糖 (G 试验) 连续 2 次阳性; ⑦血液、胸液标本隐球菌抗原阳性。

至少符合 1 项宿主因素, 肺部感染的 1 项主要或 2 项次要临床特征及 1 项微生物学检查依据, 临床上即可诊断侵袭性肺部真菌感染。

由于肺部真菌感染临床表现无特异性, 患者往往有基础病变, 同时伴有多重感染, 因此早期正确诊断肺部真菌感染仍是临床工作中的一个难题, 临床上遇到有下列情况时应该怀疑有肺部真菌感染的可能, 须详细询问病史并仔细体检和做相关的各种实验室检查: ①长期应用广谱抗生素和肾上腺皮质激素者; ②长期应用免疫抑制剂或抗癌放疗、化疗而出现肺部感染者; ③经常与稻草、家禽、牲畜接触而出现原因未明的肺部病变者; ④原有肺部疾病 (慢性支气管炎、肺炎等) 经足量抗生素治疗无效, 病情持续恶化者; ⑤体温持续不退, 或退后复升, 或体温退后病情仍恶化者; ⑥X 线或 CT 检查肺部出现新的病变, 或两中下野呈弥漫性斑片影, 或圆形块状影, 不能用一般细菌性或病毒性肺炎解释者。

目前, 临床上肺部真菌感染日益严重, 临床医生应该高度重视, 并及时综合临床表现、影像学及实验室检查做出早期诊断, 避免漏诊、误诊。

【参考文献】

- [1] 钱小顺, 朱元钰, 许文兵, 等. 127 例肺部真菌感染的临床分析. 中华结核和呼吸志, 2000, 23 (7): 417-419
- [2] 陈文彬. 深部真菌感染病原学诊断概述. 中国实用内科杂志, 2002, 22 (1): 5-6
- [3] 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 (5): 399-402
- [4] Verduyn Lunel FM, Meis JF, Voss A. Nosocomial fungal infections: candidemia. Diagn Microbiol Infect Dis, 1999, 34: 213-220
- [5] 崔祥琛, 王鸣岐, 萨藤三主编. 实用肺脏病学. 上海: 上海科学技术出版社, 1991, 286-289
- [6] Logan PM, Muller NL. CT manifestations of pulmonary aspergillosis. Crit Rev Diagn Imaging, 1996, 37: 1-37

- [7] Nagai H. Saprophytic and invasive pulmonary aspergillosis. Kekkaku, 1997, 72: 99-107
- [8] Won HJ, Lee KS, Cheon JE, et al. Invasive pulmonary aspergillosis: prediction at thin-section CT in patients with neutropenia—a prospective study. Radiology, 1998, 208: 777-782
- [9] Logan PM, Muller NL. High-resolution computed tomography and pathologic findings in pulmonary aspergillosis: a pictorial essay. Can Assoc Radiol J, 1996, 47: 444-452
- [10] Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K, et al. Plasma (1,3)- β -D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis, and cryptococcosis. J Clin Microbiol, 1995, 33: 3115-3118
- [11] Singh N, Paterson DL. Aspergillus infections in transplant recipients. Clin Microbiol Rev, 2005, 18: 44-69
- [12] Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, et al. Beta-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 (2): 199-205
- [13] Bretagne S, Marmorat Khuong A, M Kuentz, et al. Serum Aspergillus galactomannan antigen testing by sandwich ELISA: practical use in neutropenic patients. J Infect, 1997, 35: 7215
- [14] Williamson EC, Oliver DA, Johnson EM, et al. Aspergillus antigen testing in bone marrow transplant recipients. J Clin Pathol, 2000, 53: 362-366
- [15] Chumpitazi BF, Pinel C, Lebeau B, Ambroise-Thomas P, et al. Aspergillus Fumigatus antigen detection in sera from patients at risk for invasive aspergillosis. J Clin Microbiol, 2000, 38: 438-443
- [16] Karthaus M, Cornely OA. Recent developments in the management of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies. Ann Hematol, 2005, 84: 207-216
- [17] Fortun J, Martin-Davila P, Alvarez ME, et al. Aspergillus antigenemia sandwich-enzyme immunoassay test as a serodiagnostic method for invasive aspergillosis in liver transplant recipients. Transplantation, 2001, 71: 145-149
- [18] Husain S, Kwak EJ, Obman A, et al. Prospective assessment of Platelia Aspergillusgalactomannan antigen for the diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients. Am J Transplant, 2004, 4: 796-802

(下转第 41 页)

降钙素鼻喷剂经过模拟运输和使用条件后,含量明显下降,最终含量进口药大于95%,国产药接近95%。降钙素C含量也符合规定。

3 讨论

3.1 国产与进口鼻喷剂每瓶主药含量、每瓶总嗽次均符合规定(YBH05252003, 鲑鱼降钙素鼻喷剂标准, 国家食品药品监督管理局)。国产鼻喷剂的有效喷量比进口鼻喷剂有效喷量高40%,按照产品价格/单位有效剂量计算,国产药品比进口药品具有较高的性能价格比。

3.2 经过40℃恒温加速实验,国产与进口鼻喷剂含量变化不明显,有关物质变化不规律,两者均符合质量标准规定。经过模拟运输及使用条件,国产药和进口药两者含量均有所下降,提示产品在运输过程中应该严格按照“冷藏链”的要求,保证药物

的储存条件,避免药效降低。另外,在药物使用过程中,药师应该提醒患者,药物开始使用后,按照药品说明书中的条件储存和使用,国产药品在开始使用后4星期内用完,进口药品应该在2星期内用完。药品如果长时间打开而不使用,药效将会下降。在药品说明书规定时间内使用可以保证有效剂量。

【参考文献】

- [1] 甄健存. 骨质疏松症的药物治疗与评价. 中国新药杂志, 1997, 6 (1): 33
- [2] Brown JP, Josse RG, et al. 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. CMAJ, 2002, (Suppl.10): S1-S34
- [3] British Pharmacopoeia commission. British pharmacopoeia [S]. 2002 Edition. London; the stationery office, 2002, 2141

(上接第53页)

- [19] Marr KA, Balajee SA, McLaughlin L, et al. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. J Infect Dis, 2004, 190: 641-649
- [20] Kwak EJ, Husain S, Obman A, et al. Efficacy of galactomannan antigen in the Platelia Aspergillus enzyme immunoassay for diagnosis of invasive aspergillosis in liver transplant recipients. J Clin Microbiol, 2004, 42: 435-438
- [21] Rohrich P, Sarfati J, Mariani P, et al. Prospective sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for serum galactomannan: early predictive value and clinical use in invasive aspergillosis. Pediatr Infect Dis J, 1996, 15: 232-237
- [22] Maertens J, Verhaegen J, Demuyneck H, et al. Autopsy-controlled prospective evaluation of serial screening for circulating galactomannan by a sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for hematological patients at risk for invasive aspergillosis. J Clin Microbiol, 1999, 37: 3223-3228
- [23] 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
- [24] Pazos C, Ponton J, Del Palacio A. Contribution of (1→3)-beta-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
- [25] Richardson MD, Kokki MH. New perspectives in the diagnosis of systemic fungal infections. Ann Med, 1999, 31 (2): 327
- [26] Lass-Flörl 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
- [27] 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 (9): 1504-1512
- [28] Yamakami Y, Hashimoto A, Tokimatsu I, et al. PCR detection of DNA specific for aspergillus species in serum of patients with invasive aspergillosis. J Clin Microbiol, 1996, 34 (10): 2464-2468
- [29] 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 (8): 697-700