

微生物检验在肺部曲霉菌感染诊断中的应用

石书凡

作者单位: 418000 湖南怀化, 怀化市第一人民医院检验科

通信作者: 石书凡, Email: 3183728342@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.02.004

【摘要】 目的 探讨微生物检验在肺部曲霉菌感染诊断中的应用。方法 选择 2019 年 12 月—2020 年 12 月怀化市第一人民医院收治的 77 例肺部曲霉菌感染患者作为研究对象。所有研究对象入院后均接受微生物检验, 包括血浆 1, 3- β -D-葡聚糖检验(G 试验)、痰培养、半乳甘露聚糖检验(GM 试验); 参照病理组织学诊断结果, 分析并比较不同微生物检验方法所得结果。结果 G 试验所得肺部曲霉菌的阳性检出率为 88.31% (68/77), 痰培养所得阳性检出率为 75.32% (58/77), GM 试验的阳性检出率为 97.40% (75/77), GM 试验阳性检出率明显高于 G 试验和痰培养方法阳性检出率, 差异均有统计学意义 [97.40% (75/77) 比 88.31% (68/77)、75.32% (58/77), 均 $P < 0.05$]。结论 相较于痰培养和 G 试验而言, GM 试验具有十分理想的检验效果, 有助于临床及时掌握肺部曲霉菌感染患者的实际病情, 为后续采取有效的治疗措施提供指导, 值得在临床推广应用。

【关键词】 微生物检验; 肺部感染; 曲霉菌

Application of microbiological test in diagnosis of pulmonary *Aspergillus* infection

Shi Shufan. Clinical Laboratory, Huaihua First People's Hospital, Huaihua 418000, Hunan, China

Corresponding author: Shi Shufan, Email: 3183728342@qq.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the application of microorganism test in the diagnosis of pulmonary *Aspergillus* infection. **Methods** The 77 patients with pulmonary *Aspergillus* infection admitted to Huaihua First People's Hospital from December 2019 to December 2020 were selected as research objects. All the patients underwent microorganism test after admission, including plasma 1, 3- β -D-glucan inspection (G test), sputum culture and galactomannan test (GM test). According to the results of pathological diagnosis, the results of different microbiological test methods were compared and analyzed. **Results** The positive rate of pulmonary *Aspergillus* by G test was 88.31% (68/77), the positive rate of sputum culture was 75.32% (58/77), and the positive rate of GM test was 97.40% (75/77). The positive rate of GM test was significantly higher than those of G test and sputum culture method [97.40% (75/77) vs. 88.31% (68/77), 75.32% (58/77), both $P < 0.05$]. **Conclusion** Compared with sputum culture method and G test, GM test has a very ideal testing effect, which is helpful to grasp the actual condition of patients with pulmonary *Aspergillus* infection in time, so as to provide guidance for subsequent effective diagnosis and treatment, and is worthy of widespread clinical popularization.

【Key words】 Microbiological test; Pulmonary infection; *Aspergillus*

肺部曲霉菌感染在临床中比较多见, 是一种发病率较高的感染性疾病, 可导致患者肺部啰音增多、持续高热、呼吸困难、咯血以及咳嗽。肺部曲霉菌可侵袭肺部血管, 破坏肺部组织, 引起严重的炎症反应, 甚至导致肺组织糜烂坏死, 危害患者生命安全^[1]。曲霉菌在自然界中广泛存在, 也可分布于空气中, 且生命力较强, 对环境具有良好的适应能力, 同时还能耐受高温, 因此人体一旦发生曲霉菌感染, 则容易造成范围较广的传播, 且很难彻底清除病原体^[2]。因此, 早发现、早诊断、早治疗, 帮助患者及时控制

病情具有重要的临床意义。现阶段临床对肺部曲霉菌感染患者的诊断通常以微生物检验为主要参考, 但是采用不同的微生物检验方法, 其阳性检出率也会有所不同, 从而导致临床治疗效果出现较大差异^[3]。本研究以 77 例肺部曲霉菌感染患者作为研究对象, 对所有患者进行血浆 1, 3- β -D-葡聚糖试验 (1, 3- β -D-glucan test, G 试验)、痰培养以及半乳甘露聚糖试验 (galactomannan test, GM 试验), 比较不同方法所得检测结果, 旨在寻找最佳的微生物检验方法, 以供临床参考, 现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象与一般资料 选择 2019 年 12 月—2020 年 12 月本院收治的 77 例肺部曲霉菌感染患者作为研究对象,其中男性 44 例,女性 33 例;年龄 35~77 岁,平均(55.4±12.2)岁。所有患者经病理组织学检查诊断明确,41 例为侵袭型肺部曲霉菌感染,36 例为寄生型肺部曲霉菌感染。

1.1.1 纳入标准 ① 通过多次痰培养和影像学检查,结合患者临床症状以及病理组织学检查,证实为肺部曲霉菌感染;② 患者基础资料完整;③ 患者无其他肺部疾病。

1.1.2 排除标准 ① 合并其他器质性疾病;② 有神经系统疾病史;③ 存在其他感染性疾病;④ 近 6 个月内参与过其他研究。

1.1.3 伦理学 本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》的相关要求,并通过本院伦理审批(审批号:20210126),所有对患者的检测均获得过患者或家属的知情同意。

1.2 研究方法 所有研究对象在入院后均接受微生物检验。

1.2.1 G 试验 根据光学纤维支气管镜(纤支镜)操作规程,由专业医师进行操作,负压吸出清洁肺泡的生理盐水以获得受检者支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)作为检验样本。采用直接划线法接种于沙保罗平皿,在 34~36℃ 恒温环境中放置培养皿,持续孵育 24 h,观察培养皿中的菌落变化,详细记录菌落形态、颜色。然后在洁净的玻璃片上放置疑似曲霉菌标本,使用棉蓝染液进行染色处理,置于显微镜下仔细观察,如果菌丝分支间隔 45°,则判定为曲霉菌阳性。

1.2.2 痰培养 以患者痰液作为检验样本,采用直接划线法接种于沙保罗平皿,在 34~36℃ 恒温环境中放置培养皿,持续孵育 24 h,然后细致观察培养皿中菌落的形态和颜色变化。若观察到菌落有以下特征,则初步判定为曲霉菌阳性:① 呈黑色、放射圆柱状或放射状;② 呈绿色或黄褐色且表现为圆柱状或球形;③ 呈青灰色或灰黄色圆柱状。

1.2.3 GM 试验 所有患者空腹 8 h 后采集 5 mL 静脉血,以 3 000 r/min(离心半径为 5 cm)离心 10 min,留取血清,采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清中半乳甘露聚糖(galactomannan, GM)抗原,当结果>10.5 ng/L 时,判定为曲霉菌阳性。

1.3 观察指标 参照病理组织学检查诊断结果,分析并比较 G 试验、痰培养、GM 试验等不同微生物检验方法的阳性检出率。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行录入和处理。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以例数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。组间差异以 *P* 值进行判定,检验水准 α 设置为 0.05, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

3 种微生物检验方法所得结果中,GM 试验的阳性检出率最高,达到 97.40%(75/77);其次为 G 试验,阳性检出率为 88.31%(68/77);痰培养的阳性检出率最低,为 75.32%(58/77)。不同微生物检验方法结果比较差异均有统计学意义(均 *P*<0.05)。见表 1。

表 1 3 种微生物检验方法所得阳性检出率比较

检验方法	例数(例)	肺部曲霉菌感染[例(%)]		阳性检出率 [% (例)]
		侵袭型	寄生型	
GM 试验	77	40(51.95)	35(45.45)	97.40(75)
G 试验	77	38(49.35)	30(38.96)	88.31(68) ^a
痰培养	77	33(42.86)	25(32.47)	75.32(58) ^{ab}

注:GM 试验为半乳甘露聚糖检验,G 试验为 1,3-β-D-葡萄糖糖检验;与 GM 试验比较,^a*P*<0.05;与 G 试验比较,^b*P*<0.05

3 讨论

曲霉菌是自然界中较常见的真菌,同时也是诱发呼吸道感染的致病菌,而且还会严重侵袭人体肺部和脑部。由于曲霉菌广泛分布于空气中,加之其具有顽强的生命力、优良的适应性以及耐高温等特点,极易大范围传播,如果不及时加以控制,曲霉菌便会进一步破坏肺部血管,引起严重的肺部炎症,危害患者生命安全。因此,临床需要及时对肺部曲霉菌感染进行准确诊断,以便采取针对性治疗措施,减缓病情的进展速度,达到改善患者预后的目的。

有研究显示,空气中的每个曲霉菌菌体内都存在上千个孢子,这些孢子能够进行无性繁殖,产生无性孢子。当接触这些微生物后,孢子会进入人体,定植于肺部并不断生长繁殖,导致组织溃烂坏死,损伤患者肺功能,甚至因为肺功能衰退而危及生命^[4]。

肺部曲霉菌感染一般可分为寄生型和侵袭型两种,寄生型肺部曲霉菌感染主要表现为咯血、咳嗽;侵袭型肺部曲霉菌感染通常表现为呼吸困难、持续高热不退^[5]。因此,临床在治疗肺部曲霉菌感染患者时需要根据实际症状体征给予相应的干预措施,

从而有助于改善预后。目前临床常用卡泊芬净和伏立康唑治疗侵袭型肺部曲霉菌感染,若用药后效果欠佳,则考虑手术治疗。而对寄生型肺部曲霉菌感染患者则需要针对患者实际咯血情况,直接进行手术或给予联合用药治疗,以确保患者疗效满意^[6]。与其他疾病比较,肺部曲霉菌感染的发病率虽然不高,但是多数患者发病后的临床症状并不十分典型^[7]。在肺部肿瘤、支气管扩张、支气管哮喘等疾病患者中,肺部感染曲霉菌的风险较高,且临床治疗期间患者需长期使用激素类药物,可能会加重症状,而通过加强 CT 扫描观察可发现肺部阴影模糊,呈片状,故而早期进行有效诊断,这对于挽救患者生命至关重要^[8]。目前对肺部曲霉菌感染的研究报道较少,由于缺乏高效的检验技术以及大众对该疾病认知度较低,使得治疗效果并不令人满意,因此亟需探索一种高效的诊断技术,帮助临床制定有效的治疗方案。

目前,临床常用微生物检验方法诊断肺部曲霉菌感染,本研究对常用方法进行比较分析,结果显示 G 试验的阳性检出率为 88.31%,痰培养的阳性检出率为 75.32%,GM 试验的阳性检出率为 97.40%,不同检验方法所得结果比较差异均有统计学意义。

既往临床常用痰培养方法对肺部曲霉菌感染患者进行诊断,对采集的痰液进行细菌微生物培养,可从中分离获得病原菌,作为初步诊断依据^[9]。但痰培养的阳性检出率较低,有待进一步对操作进行优化,提高检出率^[10]。G 试验属于真菌检测试验,在现代临床中得到广泛的应用,可检验真菌的细胞壁成分,进而判定曲霉菌阳性,在早期诊断深部真菌感染中,G 试验备受青睐^[11]。GM 试验操作期间主要检测半乳甘露聚糖,不仅可以良好地反映出患者肺部实际感染状况,而且还能在临床治疗中多次进行检验操作,具有良好的可重复性;GM 试验结果有助于医务工作者掌握患者实际病情发展状况,从而为后期治疗方案的调整提供可靠的参考依据^[12]。李美丽^[13]研究中观察分析了 162 例肺部曲霉菌患者的微生物检验结果,发现 GM 试验对侵袭型肺部曲霉菌感染的检出率为 77.05%,对寄生型肺部曲霉菌感染的检出率为 75.25%;G 试验对侵袭型肺部曲霉菌感染的检出率为 63.93%,对寄生型肺部曲霉菌感染的检出率为 58.42%;痰培养对侵袭型肺部曲霉菌感染的检出率为 31.15%,对寄生型肺部曲霉菌感染的检出率为 44.55%。以上与本研究结果相符,因此认为 GM 试验准确度较 G 试验、痰培养更高。侯振钢^[14]

对照观察了 57 例侵袭型肺部曲霉菌感染患者的微生物检验结果,显示 GM 试验检出 18 例阳性,阳性检出率为 31.58%,与临床诊断高度一致。为进一步提高阳性检出率,临床可以同时进行多种微生物检测,确保患者治疗方案更加科学、合理。

综上所述,在肺部曲霉菌感染患者中,GM 试验的阳性检出率较 G 试验、痰培养更高,有助于指导临床及时诊断并给予有效治疗,值得推广借鉴。

利益冲突 作者声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 NAZIK H, KOTTA-LOIZOU I, SASS G, et al. Virus infection of *Aspergillus fumigatus* compromises the fungus in intermicrobial competition [J]. *Viruses*, 2021, 13 (4): 686. DOI: 10.3390/v13040686.
- 2 李庆玲. 肺部曲霉菌感染的微生物检验方法与临床意义分析 [J]. *中国社区医师*, 2020, 36 (31): 115-116. DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2020.31.055.
- 3 RUBIN J, TOWBIN R B, SCHAEFER C M, et al. Invasive pulmonary *Aspergillosis* [J]. *Appl Radiol*, 2020, 49 (6): 46-48.
- 4 AMICH J, MOKHTARI Z, STROBEL M, et al. Three-dimensional light sheet fluorescence microscopy of lungs to dissect local host immune-*Aspergillus fumigatus* interactions [J]. *mBio*, 2020, 11 (1): e02752-19. DOI: 10.1128/mBio.02752-19.
- 5 姚慧娟,付世东,李冬. 肺癌患者化疗期间肺部真菌感染病原菌分布及使用伊曲康唑的疗效观察 [J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2019, 26 (12): 1444-1447. DOI: 10.13455/j.cnki.ejcor.2019.12.09.
- 6 黄猛,黎国喜,陈天全. 支气管肺泡灌洗液 1, 3-β-D 葡聚糖检测(G 试验)、半乳甘露聚糖检测(GM 试验)对早期诊断侵袭性肺部真菌感染的诊断价值 [J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24 (6): 992-995. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2019.06.007.
- 7 关尚,徐涛,翁杏华,等. 肺部曲霉菌感染的微生物检验与临床诊治分析 [J]. *吉林医学*, 2019, 40 (5): 971-972. DOI: 10.3969/j.issn.1004-0412.2019.05.018.
- 8 刘利华,李建美,董海新,等. 支气管肺泡灌洗液 GM 试验联合血清 GM 试验对侵袭性肺曲霉病的诊断价值 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 11 (3): 331-335. DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2019.03.014.
- 9 刘利华,张玉芹,董海新,等. 痰真菌培养联合半乳甘露聚糖试验对侵袭性肺曲霉病的诊断价值 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2018, 25 (2): 189-193. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2018.02.018.
- 10 LASS-FLÖRL C. How to make a fast diagnosis in invasive aspergillosis [J]. *Med Mycol*, 2019, 57 (Suppl2): S155-S160. DOI: 10.1093/mmy/myy103.
- 11 李睿,任然,熊大迁. 真菌葡聚糖检测对血液恶性肿瘤患者早期深部真菌感染的诊断效能 [J]. *实用检验医师杂志*, 2016, 8 (3): 142-145. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.03.005.
- 12 刘行仁,邓菲,冯静,等. 血清曲霉菌半乳甘露聚糖抗原检测在侵袭性肺部曲霉菌感染治疗中的应用 [J]. *西部医学*, 2017, 29 (9): 1237-1240, 1246. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2017.09.012.
- 13 李美丽. 肺部曲霉菌感染的微生物检验与临床诊治分析 [J]. *中国卫生工程学*, 2017, 16 (1): 103-104.
- 14 侯振钢. GM 试验在肺部侵袭性曲霉菌感染的早期诊断及评价 [J]. *当代医学*, 2015, 21 (15): 19-20. DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2015.15.011.

(收稿日期: 2021-01-22)

(本文编辑: 邵文)