

· 短篇论著 ·

痰标本真菌检验阳性结果的临床诊断价值

公衍文 李继霞 薛炼 胡成进

【摘要】目的 分析痰标本真菌涂片和培养阳性结果对侵袭性肺部真菌感染的诊断价值。**方法** 我院2506例患者送检的合格痰标本,均涂片镜检真菌孢子和菌丝,并做真菌培养。其中酵母样真菌进行半定量计数并经 VITEK 2 Compact 60 YST 卡鉴定;丝状真菌则主要根据形态学鉴定到种。所有痰标本真菌检测阳性结果分为以下四类:A为同一患者两次以上涂片均可见菌丝,且培养出同一种真菌;B为同一患者两次以上培养出同一种真菌,但涂片未见菌丝;C为单次涂片可见菌丝,真菌培养半定量 $\geq + + +$;D为单次真菌培养半定量 $\geq + + +$,但涂片未见菌丝。收集所有入选患者的临床资料,并按照“侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案)”进行分析。**结果** 共检出147例酵母样真菌,A组患者仅23例,其中11例(占47.83%,11/23)符合侵袭性肺部真菌感染的确诊或临床诊断标准;124例B、C、D组患者中只有1例同时血培养阳性,22例为拟诊患者,其余101例(占81.45%,101/124)均没有临床诊断的参考价值。36例痰标本丝状真菌检测阳性患者中,A组患者11例,其中7例(占63.64%,7/11)符合确诊或临床诊断标准,5例B组患者均符合拟诊标准,而20例单次检测阳性的C组和D组中仅有6例符合拟诊标准。**结论** 两次以上痰标本真菌检验阳性具有较高临床诊断价值,因此重复检验非常必要,而单次检验阳性临床诊断价值不大。丝状真菌阳性检测结果临床价值远高于酵母样真菌。

【关键词】 念珠菌属; 丝状真菌; 真菌感染; 痰

近年来由于造血干细胞移植(HSCT)、实体器官移植的广泛开展、高强度免疫抑制剂和大剂量化疗药物的应用、一些慢性病住院时间延长以及各种导管的体内介入、留置等,临床上侵袭性肺部真菌感染的发生率和病死率逐年增加^[1]。由于侵袭性肺部真菌感染的临床表现缺乏特异性,仅根据临床症状诊断非常困难,临床微生物学检验结果对侵袭性肺部真菌感染的早期诊断和及时治疗非常关键。痰标本真菌涂片和培养仍然是目前临床微生物室侵袭性肺部真菌感染检验的常规方法,虽然中国侵袭性肺部真菌感染工作组结合中国国情制订了我国侵袭性肺部真菌感染诊疗原则^[2],但在临床实际应用过程中,对痰标本真菌涂片和培养的临床价值依然存在争议。为此,我们回顾性分析了2010年1月至12月我院2506例患者送检痰标本真菌涂片和培养结果,并结合患者因素、临床特征以及病理和无菌体液培养结果等,对其临床价值进行了探讨,报道如下。

一、材料和方法

1. 标本来源:2010年1月至12月我院2506例患者送检的合格痰标本。主要来自血液科、呼吸科、重症监护科、保健科、血液净化科、神经外科、泌尿外科移植病区等住院患者,患者除原发病外多有肺部感染表现。

2. 真菌涂片与培养:所有痰标本均涂片,革兰染色后镜检,按照《全国临床检验操作规程》(第三版)标准判断标本是否合格,油镜下观察100个视野,记录正常菌群、细胞吞噬、可疑病原菌及真菌孢子和菌丝情况,并发初步报告。合格标本接种哥伦比亚血琼脂、万古霉素巧克力琼脂(35℃ 5% CO₂培养)、SDA琼脂(25℃培养)、麦康凯和念珠菌显色平板(35℃培养),培养基均购自济南百博生物技术公司,每日检查培养结果,5 d后无真菌生长报阴性。

3. 酵母样真菌半定量计数并鉴定:根据三区划线各区菌落数进行半定量计数(+ ~ + + + +),+ + +以上酵母样真菌根据平板显色和分纯后 VITEK 2 Compact 60 YST 卡(生物梅里埃公司产品)鉴定到种。

4. 丝状真菌形态学鉴定:根据菌落形态和透明胶带法乳酸酚棉蓝染色镜检所见分生孢子、产孢结构及顶囊等的形态、结构、数目等鉴定到种,必要时做小培养^[3]。

5. 所有真菌检验阳性结果均归类为以下四种情况:A为同一患者两次以上涂片均可见菌丝,且培养出同一种真菌;B为同一患者两次以上培养出同一种真菌,但涂片未见菌丝;C为单次涂片可见菌丝,真菌培养半定量 $\geq + + +$;D为单次真菌培养半定量 $\geq + + +$,但涂片未见菌丝。

6. 临床资料收集分析:收集所有入选患者的临床资料,包括年龄、性别、病区、主要诊断和其他诊断以及各种宿主因素、主要临床特征和次要临床特征等,结合痰标本真菌检验结果,按照《侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案)》(以下简称“草案”)^[2],将患者划分为确诊、临床诊断、拟诊和其他等四组。

7. 统计学分析:所有真菌检验结果均输入 WHONET 5.4 软件进行统计分析。

二、结果

1. 痰标本酵母样真菌涂片及培养结果:共检出酵母样真菌147例,结果见表1。

2. 痰标本酵母样真菌涂片及培养临床价值分析:按照“草案”定义,根据患者因素、临床特征、微生物学或组织病理学依据,将入选患者分为确诊、临床诊断、拟诊及其他,结果见表2。共检出147例酵母样真菌,A组患者仅23例,其中11例(占47.83%,11/23)符合侵袭性肺部真菌感染的确诊或临床诊断标准;124例B、C、D组患者中只有1例同时血培养阳性、22例为拟诊患者,其余101例(占81.45%,101/124)均无临床诊断的参考价值。

表1 痰标本酵母样真菌涂片及培养结果

| 菌属 | A(例) | B(例) | C(例) | D(例) | 合计 | 百分比(%) |
|---------|-------|------|-------|-------|-----|--------|
| 白色念珠菌 | 14 | 5 | 47 | 20 | 86 | 58.50 |
| 热带念珠菌 | 6 | 2 | 9 | 10 | 27 | 18.37 |
| 光滑念珠菌 | 0 | 4 | 0 | 8 | 12 | 8.16 |
| 克柔念珠菌 | 1 | 1 | 2 | 3 | 7 | 4.76 |
| 其他酵母样真菌 | 2 | 1 | 7 | 5 | 15 | 10.20 |
| 合计 | 23 | 13 | 65 | 46 | 147 | |
| 百分比(%) | 15.65 | 8.84 | 44.22 | 31.29 | | 100.00 |

表2 痰标本酵母样真菌检测阳性的临床价值

| 项目 | A | | B | | C | | D | |
|------|----------------|--------|----|--------|----------------|--------|----|--------|
| | 例数 | 百分比(%) | 例数 | 百分比(%) | 例数 | 百分比(%) | 例数 | 百分比(%) |
| 确诊 | 2 ^a | 8.70 | 0 | 0.00 | 1 ^b | 1.54 | 0 | 0.00 |
| 临床诊断 | 9 | 39.13 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 |
| 拟诊 | 0 | 0.00 | 4 | 30.77 | 13 | 20.00 | 5 | 10.87 |
| 其他 | 12 | 52.17 | 9 | 69.23 | 51 | 78.46 | 41 | 89.13 |
| 合计 | 23 | 100.00 | 13 | 100.00 | 65 | 100.00 | 46 | 100.00 |

注:^a:同时从患者血液中分离出同一种酵母样真菌;^b:同时从患者血液中分离出同一种酵母样真菌,且连续多次G试验阳性

表3 36例丝状真菌阳性患者临床特征统计

| 项目 | 四种情况(例) | | | | 合计 | |
|------------|---------|--------|--------|---------|----|--------|
| | A(n=11) | B(n=5) | C(n=6) | D(n=14) | 例数 | 百分比(%) |
| 中性粒细胞持续减少 | 2 | 1 | 0 | 1 | 4 | 11.11 |
| 体温升高并伴其他情况 | 6 | 5 | 2 | 5 | 18 | 50.00 |
| 临床主要特征 | 3 | 3 | 0 | 0 | 6 | 16.67 |
| 肺部感染症状及体征 | 10 | 5 | 6 | 12 | 33 | 91.67 |
| 非特异性肺部浸润影像 | 8 | 2 | 4 | 8 | 22 | 61.11 |
| 持续发热 | 6 | 5 | 2 | 5 | 18 | 50.00 |
| 应用抗生素 | 11 | 5 | 6 | 14 | 36 | 100.00 |
| 应用抗真菌药物 | 7 | 5 | 2 | 4 | 18 | 50.00 |

表4 36例丝状真菌阳性检测的临床价值

| 项目 | A | | B | | C | | D | |
|------|----------------|--------|----|--------|----|--------|----|--------|
| | 例数 | 百分比(%) | 例数 | 百分比(%) | 例数 | 百分比(%) | 例数 | 百分比(%) |
| 确诊 | 1 ^a | 9.10 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 |
| 临床诊断 | 6 | 54.55 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 | 0 | 0.00 |
| 拟诊 | 0 | 0.00 | 5 | 100.00 | 2 | 33.33 | 4 | 28.57 |
| 其他 | 4 | 36.36 | 0 | 0.00 | 4 | 66.67 | 10 | 71.43 |
| 合计 | 11 | 100.00 | 5 | 100.00 | 6 | 100.00 | 14 | 100.00 |

注:^a:肺穿刺组织病理检出曲霉1例

3. 痰标本丝状真菌涂片及培养结果:共检出丝状真菌36例,主要是烟曲霉(29例),其他包括黄曲霉(4例)、黑曲霉(2例)和毛霉(1例)。常见患者因素、临床特征及抗菌药物应用情况见表3。

4. 痰标本丝状真菌涂片及培养临床价值分析:结果见表4。36例痰标本丝状真菌检测阳性患者中,A组患者11例,其中7例(占63.64%,7/11)符合确诊或临床诊断标准,5例B组患者均符合拟诊标准,而20例单次检测阳性的C组和D组中仅有6

例符合拟诊标准。

三、讨论

如何正确评价实验室检验结果一直是困扰临床的一个问题,临床微生物学检验尤其如此。痰标本作为目前国内临床微生物学实验室最常见的标本,由于呼吸道正常菌群,包括真菌的存在,其临床意义颇多争议。

“草案”将“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)”定义为侵袭性肺部真菌感染的微生物学证据之一,并将微生物学证据作为侵袭性肺部真菌感染诊断的其中一环,有其积极意义,但并没有明确痰标本酵母样真菌阳性检测的临床意义。痰标本分离的酵母样真菌中念珠菌占绝大多数,这是因为念珠菌是人类口腔正常定植菌,20%~55%正常人痰中可分离出少量念珠菌(+~++)。念珠菌性肺炎和肺脓肿的感染途径主要为吸入,即定植于口腔或上呼吸道的念珠菌,在机体免疫防御机制减弱时,被吸入至下呼吸道及肺泡;其次为血源性播散,但确诊的念珠菌肺炎非常少见,需要组织病理学依据^[4]。本组患者共检出147例酵母样真菌,A组患者仅23例,其中11例(占47.83%,11/23)符合侵袭性肺部真菌感染的确诊或临床诊断标准;124例B、C、D组患者中只有1例同时血培养阳性,22例为拟诊患者,其余101例(占81.45%,101/124)均没有临床诊断的参考价值。本组酵母样真菌检测结果以单次检测阳性(C组和D组)最多见(占75.51%,111/147),提示临床痰标本中酵母样真菌明显增多多是由于存在不同程度的菌群失调。符合确诊或临床诊断标准的A组患者(占47.83%,11/23)远高于其他各组(表2),但这些患者多伴有细菌感染,没有病理学证据确认以上次要临床症状是由酵母样真菌还是细菌感染所致,其中3例同时血培养阳性,提示2次以上痰标本酵母样真菌检测(包括菌丝和培养)阳性具有一定临床价值,需进一步寻找有无全身播散(如念珠菌血症)的可能。

36例痰标本丝状真菌检测阳性患者中,A组患者11例,其中7例(占63.64%,7/11)符合确诊或临床诊断标准,5例B组患者均符合拟诊标准,而20例单次检测阳性的C组和D组中仅有6例符合拟诊标准。患者大多存在肺部感染症状和体征,抗生素应用率达100%,抗真菌药物应用率也达50%,尤其是连续两次培养阳性患者(A组和B组),抗真菌药物应用率达75%(表3)。由于相关病理检查少,且侵袭性感染时曲霉等局限于受累器官生长繁殖,很难从血培养中检出,因此确诊的侵袭性曲霉感染病例很少,仅1例经肺穿刺组织病理检出曲霉。有6例出现侵袭性肺曲霉感染的胸部X线和CT影像学特征,均见于A组和B组患者,也提示重复检验的必要性。36例痰标本丝状真菌检测阳性和147例酵母样真菌检测阳性的患者中符合确诊、临床诊断或拟诊标准的分别占50%和23.13%(表2,4),提示痰标本丝状真菌阳性检测临床意义远大于酵母样真菌。

参 考 文 献

- [1] Menzin J, Meyers JL, Friedman M, et al. Mortality, length of hospitalization, and costs associated with invasive fungal infections in high-risk patients. *Am J Health Syst Pharm*, 2009, 66: 1711-1717.
- [2] 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.
- [3] 王端礼, 李若瑜, 王爱平, 等. 医学真菌学实验室检验指南. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [4] Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis*, 2009, 48: 503-535.

(收稿日期: 2011-11-16)

(本文编辑: 戚红丹)

公衍文, 李继霞, 薛炼, 等. 痰标本真菌检验阳性结果的临床诊断价值[J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2012, 6(7): 1886-1888.

中 华 临 床 医 生 杂 志