

• 点石成金 •

呼吸道病毒合并烟曲霉感染引起迁延性肺炎

倪丽君, 杨思敏, 万菲菲, 胡 靓[△]

同济大学附属东方医院南院检验科, 上海 200123

关键词: 迁延性肺炎; 烟曲霉; 人偏肺病毒; 宏基因组高通量测序

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.004

中图法分类号: R446.5; R561.1

文章编号: 1673-4130(2024)17-2067-05

文献标志码: B



点评专家 穆红



第一作者 倪丽君

肺炎按病程可分为急性、迁延性和慢性肺炎 3 种。迁延性肺炎的患者病程迁延不愈, 通常在 1~3 个月, 常发生在免疫功能低下的患者, 不规范的抗菌药物治疗或特殊病原体感染也可导致肺炎迁延不愈^[1]。而对于没有明显恶性、免疫性疾病及使用免疫抑制剂的老年患者, 由于病原体未明确而导致无法进行针对性治疗, 是病情迁延的重要原因之一。曲霉是环境中常见的真菌, 是一种条件性致病菌, 肺曲霉病多见于免疫功能受损、长期使用抗菌药物及免疫抑制剂的患者, 烟曲霉是曲霉中最常见的一种^[2]。曲霉的致病性不强, 但一旦发生深部感染, 往往导致患者治疗困难, 病死率高^[3]。本文报道了 1 例呼吸道病毒合并烟曲霉感染引起迁延性肺炎的患者, 对临床诊断思路进行分析, 旨在增强临床医务与检验人员对曲霉导致的迁延性肺炎的认识, 提高临床诊疗水平。

1 案例经过

1.1 临床资料 患者, 女性, 73 岁, 因“反复咳嗽咳痰伴间断发热 1 个月余”入院。患者入院前 1 个月无明显诱因下出现咳嗽咳痰, 伴间断发热, 体温最高 39 °C, 咳嗽呈间断性, 有痰不易咳出, 痰液呈白痰, 并伴有胸闷、气短、气促, 偶有呼吸困难, 于外院就诊诊断为“社区获得性肺炎”, 予头孢及左氧氟沙星抗感染治疗后症状无明显好转, 复查 CT 提示肺部感染较前无明显变化, 遂来本院就诊。

1.2 检查结果 入院查血常规: 白细胞计数 $2.09 \times 10^9/L$, 淋巴细胞计数 $0.93 \times 10^9/L$, 中性粒细胞计数 $1.00 \times 10^9/L$, 血红蛋白 114 g/L, 血小板计数 $192 \times 10^9/L$ 。胸部 CT 提示: 两肺散在炎症, 右下胸膜局部增厚, 两肺支气管局部扩张, 右肺中上叶肺大泡(图 1A), 查体双下肺可闻及少量湿啰音。

根据检查结果拟诊为: (1) 社区获得性肺炎非重症; (2) 2 型糖尿病; (3) 高血压 II 级很高危组; (4) 胆囊结石伴慢性胆囊炎。患者入院后经验性予以拉氧头孢钠 1.5 g(每 12 h 1 次)+左氧氟沙星 0.5 g(每天 1 次)静脉滴注抗感染治疗, 盐酸氨溴索口服溶液、硫酸特布他林雾化吸入化痰解痉平喘。用药 2 d 咳嗽、咳痰症状无明显好转, 胸闷气促加重, 体温正常。行肺泡灌洗术及相关检验, 术中镜下可见脓性分泌物(图 1B)。支气管镜肺泡灌洗液(BALF)细胞学检查: 外观无色, 微浑; 有核细胞计数 $899 \times 10^6/L$; 白细胞分类结果示, 中性粒细胞比例 52%, 淋巴细胞比例 11%, 巨噬细胞比例 37%(图 1C)。一般细菌涂片检查: 未找到细菌, 未找到真菌孢子和菌丝(图 1D)。血清半乳甘露聚糖试验(GM 试验) <0.5 , 阴性, BALF GM 试验为 1.554, 阳性。BALF 标本病原体宏基因组高通量测序(mNGS)检出烟曲霉、人类偏肺病毒(hMPV)及甲型流感病毒。

考虑患者为呼吸道病毒合并烟曲霉感染, 停用头孢及左氧氟沙星, 调整抗菌药物用药方案为伏立康唑 200 mg(每 12 h 1 次)口服抗真菌治疗。用药 3 d 后, 患者咳嗽、咳痰、胸闷气促症状明显好转。复查患者各项实验室指标好转, 血常规示白细胞计数 $3.25 \times 10^9/L$, 中性粒细胞比例 55.0%, 淋巴细胞比例 35.1%, 血红蛋白 120 g/L, 血小板计数 $198 \times 10^9/L$, 生命体征平稳, 遂予以出院并继续口服伏立康唑 200 mg(每天 1 次), 后随访胸部 CT, 病灶逐步吸收中。

1.3 病原学特征 患者肺泡灌洗术后, BALF 同时

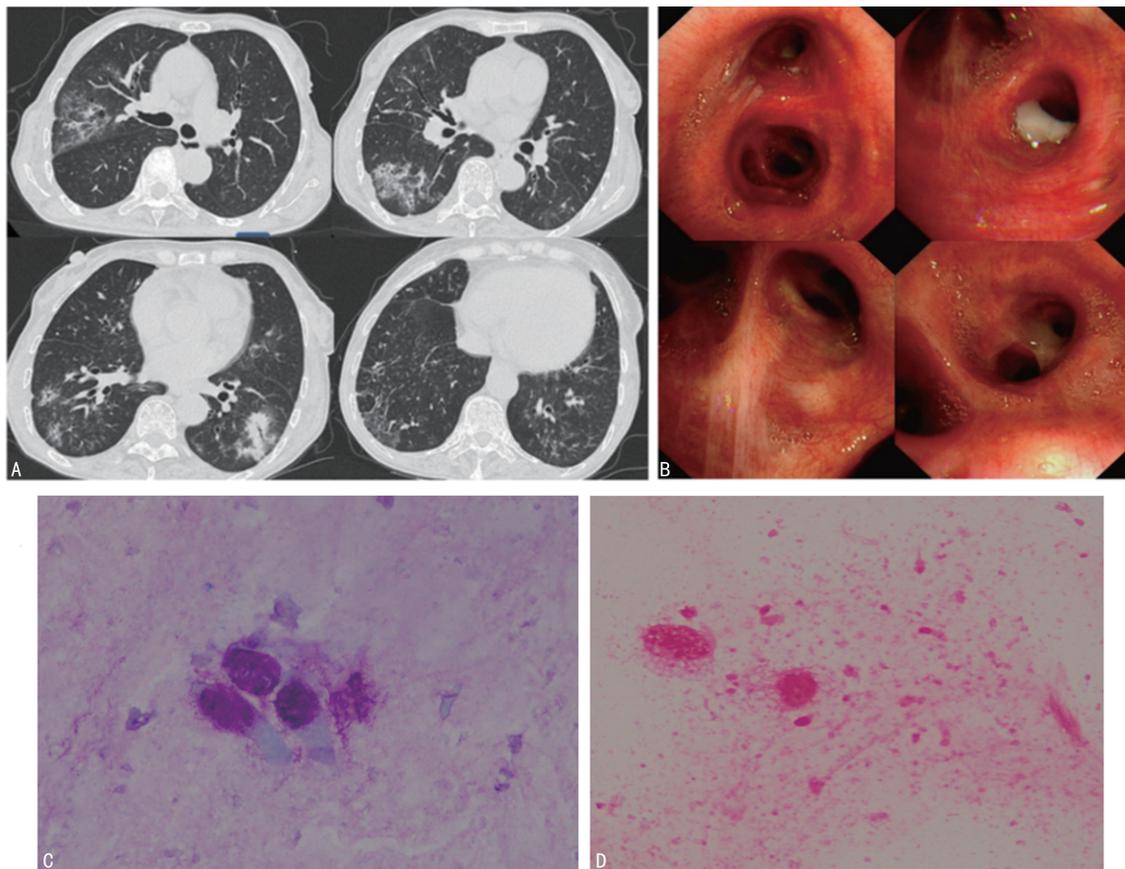
点评专家简介: 穆红, 主任技师, 硕士研究生导师, 教授, 天津市第一中心医院检验科主任, 国家临床重点专科及天津市临床重点学科带头人; 主要从事细菌耐药机制的研究, 医院内感染的分子流行病学研究, 分子诊断相关研究, 肿瘤细胞凋亡机制研究, 以及质谱技术在检验医学中的应用研究; 现任中华医学会检验分会常委、中国医师协会检验医师分会常委、天津市医学会检验分会主委等, 以及《中华检验医学杂志》《国际检验医学杂志》等编委; 主持及参与完成科研课题 30 余项, 发表学术论文 70 余篇, 参编专家共识 12 项, 参编专业书籍 5 部。

作者简介: 倪丽君, 女, 主管技师, 主要从事临床微生物检验研究。 [△] **通信作者,** E-mail: hu740646282@sina.com。

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240703.1020.002.html\(2024-07-03\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240703.1020.002.html(2024-07-03))

送检 mNGS 及微生物培养。BALF mNGS 鉴定结果:烟曲霉(624 reads)、hMPV(48 265 reads)、甲型流感病毒(34 reads)、甲型流感病毒 H3N2(23 reads),见图 2。BALF 标本离心富集接种于沙保弱平板,分别于 35 ℃ 和 28 ℃ 需氧环境培养,孵育 72 h 后沙保弱平板上可见絮状烟绿色菌落,生长情况见图 3A。乳酸酚棉兰染色镜检,镜下可见菌丝,末端顶囊见图 3 B、C。经中元 EXS 3000 全自动微生物质谱检测系统

进行鉴定为烟曲霉,鉴定分值为 2.23。体外药物敏感性试验参照美国临床和实验室标准协会(CLSI)推荐^[4],经微量肉汤稀释法药敏检测结果显示:阿尼芬净 <0.015 mg/L;卡泊芬净 <0.06 mg/L,野生型;米卡芬净 <0.008 mg/L;泊沙康唑 0.25 mg/L,敏感;伏立康唑 0.25 mg/L;艾沙康唑 0.5 mg/L,野生型;两性霉素 B 1 mg/L,野生型;伊曲康唑 0.5 mg/L,野生型。



注:A为胸部 CT 检测结果,可见两肺散在炎症,两肺支气管局部扩张,右肺中上叶肺大泡;B为肺泡灌洗术镜下结果,可见脓性分泌物;C为支气管镜 BALF 细胞学检查瑞氏染色结果($\times 1000$);D为支气管镜 BALF 一般细菌涂片检查革兰染色结果($\times 1000$)。

图 1 患者 CT 检查及 BALF 检验结果

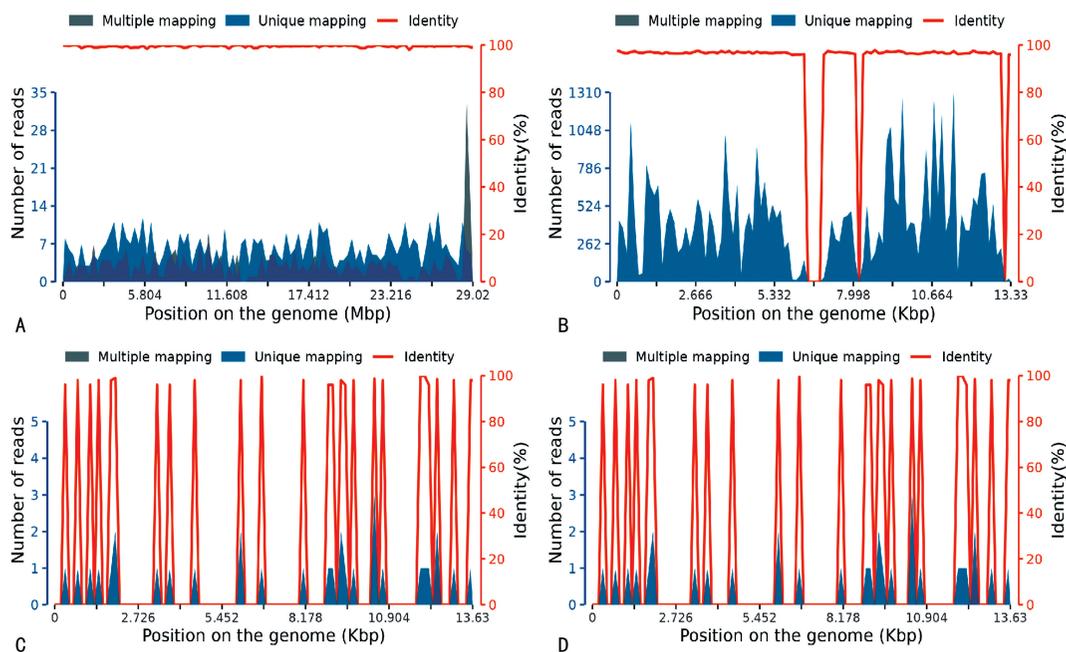
2 案例分析与讨论

迁延性肺炎的病因诊断较为重要,在排除因免疫相关性原因导致的病情迁延不愈外,应重视临床病原学的诊断^[5]。传统的病原学诊断包括直接涂片染色镜检、微生物培养、抗原/抗体检测和分子核酸检测等。而对于未知、培养要求高的特殊病原体的诊断,传统方法学检测敏感性不足,容易导致漏检、延误诊断,患者无法得到及时、有效的治疗,对患者造成不良的后果。随着微生物检测技术的发展,病原体 mNGS 在临床的运用愈发成熟,相较于传统检测方法,其高敏感性、特异性,以及对未知病原体全覆盖的优势给临床感染性疾病的诊断带来了很大帮助。早期诊断、精准用药可以尽早改善患者治疗结果及预后,同时减轻患者医疗费用负担,符合卫生经济学。得益于 mNGS 检测结果受抗菌药物暴露的影响较小,2023

年发布的《成人呼吸道感染病原诊断核酸检测技术临床应用专家共识(2023)》^[6]中明确指出,建议存在免疫缺陷、3 d 内未通过传统微生物检验明确病原体且经验性抗感染治疗无效的患者,考虑行以 DNA 测序为主的 mNGS 检测。

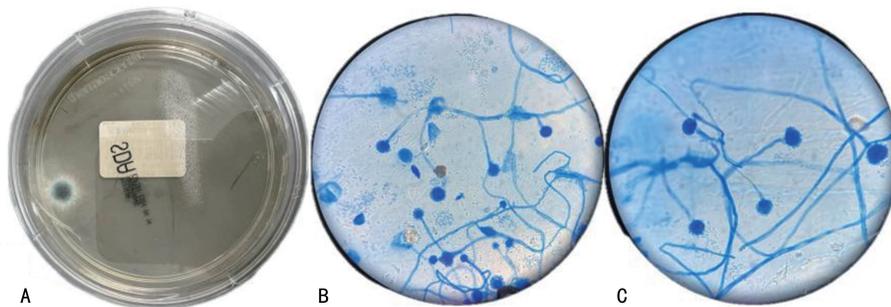
然而,得益于分子检测的快速检测、高灵敏度的同时,对比临床表现,其假阳性的情况也时有发生。分子检测在临床微生物的运用中,最大的弊端在于无法区分检出的是目标病原菌还是定植菌。因此,mNGS 的临床解读需引起重视,这需要临床医生和检验人员的沟通合作。同时,曲霉属腐生于植物、土壤等处,在环境中广泛存在,临床微生物实验室在分离到曲霉时,应根据标本情况、采样情况分析排除污染的可能。对肺曲霉病的临床诊断,需要结合患者临床表现、微生物学检验、分子诊断学检验及影像学检查

结果进行综合判断^[7]。



注:A 为烟曲霉;B 为 hMPV;C 为甲型流感病毒;D 为甲型流感病毒 H3N2;Multiple mapping 为多重匹配,Unique mapping 为特异性匹配,Identity 为置信度,Number of reads 为序列数,Position on the genome 为基因组上的位置。

图 2 BALF mNGS 检测病原体覆盖度



注:A 为沙保弱平板培养结果,可见烟曲霉生长;B、C 为烟曲霉乳酸酚棉兰染色结果($\times 400$),可见菌丝及末端顶囊。

图 3 BALF 真菌培养血孵育 72 h 后生长情况

本病例患者以无明显诱因的高热为初始症状,因未进行相关病原学检测,无法得到明确诊断,根据患者的症状及 mNGS 检测中低序列数的甲型流感病毒检出情况,推测患者以感染甲型流感病毒起病^[8],发病 3 d 后患者体温逐渐平稳,咳嗽咳痰症状逐渐加重且迁延 1 个月余,病程中复查影像学检查无明显好转,考虑患者在流感病毒感染后继发了其他细菌、真菌感染。患者为老年女性,有高血压、糖尿病病史,因疑似流感病毒感染及迁延性肺炎损伤患者肺泡上皮细胞,淋巴细胞计数明显降低,粒细胞减少,患者免疫功能受损。有研究指出,流感是侵袭性肺曲霉病的独立危险因素^[9]。由于患者 BALF 中曲霉菌菌量较少,BALF 标本直接涂片镜检未查见真菌孢子及菌丝,后根据患者本次入院后 BALF mNGS 检测及时报出了“烟曲霉、hMPV、甲型流感病毒”3 种疑似病原体,将检出情况反馈临床及微生物实验室。微生物实验室根据疑似病原体调整培养条件、延长培养时间,3 d 后,沙保弱琼脂平板上生长了 1 个曲霉菌落,同时根

据曲霉染色特点^[10]进行乳酸酚棉兰染色镜检查见曲霉菌丝及孢子,在参考分子检测结果后排除微生物实验室污染可能。影像学肺部 CT 检测可见胸膜增厚、肺大泡,可能为患者肺部长炎症未控制导致。根据 2020 年欧洲癌症治疗研究组/真菌研究组教育和研究共同体(EORTC/MSGERC)发布的侵袭性真菌病诊断指南指导,结合临床表现、影像学及实验室检测结果,患者“肺曲霉病”诊断明确^[11]。侵袭性真菌病真菌学检查指南中指出,怀疑曲霉感染时,建议进行 BALF 培养,培养时推荐离心取沉淀物接种,怀疑丝状真菌时培养时间为 4 周^[12]。同时,进行 BALF GM 试验以诊断是否为侵袭性真菌感染。GM 是曲霉生长时分泌的一种多糖抗原标志物,是早期感染的指标。检测标本类型为血清、BALF、脑脊液和胸腔积液标本。根据《侵袭性真菌病真菌学检查指南》,针对呼吸科等非血液病患者,BALF GM 试验效果优于血清 GM 试验^[12],疑似肺曲霉病患者优选 BALF 进行 GM 试验,作为侵袭性肺曲霉病诊断的辅助手段,帮助区

分培养阳性是定植还是感染^[13]。本例患者第 1 次 GM 试验为阴性,在分子生物学检测结果提示下,行 BALF GM 试验,结果为阳性。尽管 GM 试验在肺曲霉病的诊断中阳性率不足,但仍是肺曲霉病早期诊断的重要辅助检查之一^[14]。

hMPV 于 2001 年在荷兰首次从 1 例儿科患者分离,hMPV 发病无规律性,主要在儿童中致病,也可感染成人和免疫功能低下的患者。由 hMPV 感染引起的疾病的临床特征从轻微的上呼吸道感染到危及生命的严重细支气管炎和肺炎。有研究表明,hMPV 感染可以引起儿童哮喘症状急性加重,会加重成人尤其是老年人慢性阻塞性肺疾病病情,但目前该病仍无有效的治疗药物及疫苗^[15]。本例患者入院后咳嗽咳痰症状无好转,同时出现了胸闷气促加重,根据分子生物学检测结果,推测患者的呼吸道症状加重由肺曲霉病继发 hMPV 感染所致。

本病例为老年女性,疑似在感染甲型流感病毒后继发了烟曲霉感染,因未能早期诊断,导致患者肺炎迁延不愈,后期检出烟曲霉和 hMPV 混合感染。该患者本次入院后因及时送检相关病原学检测,通过调整抗菌药物使用及精准治疗,最终患者好转出院。本文回顾性分析了该例患者的诊疗过程,强调了早期病原学诊断在迁延性肺炎治疗中的重要性,以及临床与实验室及时沟通合作对感染性疾病早期诊断的指导意义。该案例提示检验人员应提高微生物实验室的检测能力,以便临床上合理使用抗菌药物,从而有效预防迁延性肺炎的发生,守护人类健康。

【案例点评】

该病例介绍了 1 例多年糖尿病史的老年女性迁延性肺炎患者,该患者因呼吸道病毒感染起病,经 1 个月迁延继发丝状真菌感染,病例病程清晰,经抗菌药物治疗无效,通过常规检测、微生物培养、形态学、影像学检查、GM 试验及 mNGS 等技术不断完善诊断,最终确诊为呼吸道病毒伴烟曲霉菌感染,遂调整治疗方案为使用伏立康唑进行抗真菌治疗,患者病情逐步好转。

迁延性肺炎的病因诊断十分关键,在排除因免疫相关性原因导致的病情迁延不愈外,应对患者进行充分的病因学诊断,方可做出正确的治疗。而迁延性肺炎中侵袭性真菌感染的发病率、病死率均较高,且具有与其他病原感染相似的临床表现,极易造成误诊,因此正确使用真菌培养和鉴定、抗原和抗体检测、分子生物学检测等检验技术至关重要。

该病例的诊治过程充分证明了感染性疾病病原体的检测,尤其是多病原体感染及少见病原体感染时,多种检测方法联合应用的必要性。传统微生物检测存在对人员要求高、灵敏度不足等问题,而且易漏诊;影像学及免疫学检测只能作为间接证据;mNGS 等分子生物学检测方法灵敏度高,检测时间短,但存在排除污染、定植微生物等问题。因此,在病原体未知的情况下,多种检测方法联合应用可以弥补以上检

测技术的不足。

(点评专家:穆红 天津市第一中心医院检验科)

参考文献

- [1] 王莹,黄英,李渠北,等. 支气管肺泡灌洗术在儿童迁延性肺炎诊治中的作用[J]. 临床儿科杂志,2011,29(2):118-121.
- [2] WASSANO N S,GOLDMAN G H,DAMASIO A. *Aspergillus fumigatus*[J]. Trends Microbiol,2020,28(7):594-595.
- [3] KOSMIDIS C,DENNING D W. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis [J]. Thorax, 2015, 70 (3): 270-277.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts CLSI document M27M44S [M]. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI,2022.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 中国成人医院获得性肺炎与呼吸机相关性肺炎诊断和治疗指南(2018 年版) [J]. 中华结核和呼吸杂志,2018,41(4):255-280.
- [6] 中华检验医学培训工程专家委员会,中华医学会呼吸病学分会. 成人呼吸道感染病原诊断核酸检测技术临床应用专家共识(2023)[J]. 协和医学杂志,2023,14(5):959-971.
- [7] 中国医师协会血液科医师分会,中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第六次修订版)[J]. 中华内科杂志,2020,59(10):754-763.
- [8] 张梦怡,李岚舒,黄维金,等. 甲型流感病毒 H3N2 抗原进化研究进展[J]. 中华微生物学和免疫学杂志,2023,43(6):479-484.
- [9] SCHAUWVLIEGHE A F A D,RIJNDERS B J A,PHILIPS N,et al. Invasive aspergillosis in patients admitted to the intensive care unit with severe influenza:a retrospective cohort study[J]. Lancet Respir Med, 2018, 6(10): 782-792.
- [10] 中国医药教育协会真菌病专业委员会,国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京大学第一医院),国家血液疾病临床医学研究中心(北京大学人民医院). 侵袭性真菌病实验室诊断方法临床应用专家共识[J]. 中华内科杂志,2022,61(2):134-141.
- [11] DONNELLY J P,CHEN S C,KAUFFMAN C A,et al. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium[J]. Clin Infect Dis,2020,71(6):1367-1376.
- [12] 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会,中华医学会检验医学分会临床微生物学组,中华医学会微生物学和免疫学分会微生物学组. 侵袭性真菌病真菌学检查指南[J]. 中华检验医学杂志,2023,46(6):541-557.
- [13] ULLMANN A J,AGUADO J M,ARIKAN-AKDAGLI S,et al. Diagnosis and management of aspergillus diseases; executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline[J]. Clin Microbiol Infect,2018,24 Suppl 1: e1-e38.

(下转第 2075 页)

• 点石成金 •

AITL 化疗后进展成 AML-pCT 的案例分析*

王明雪¹, 刘芸歧², 聂萃¹, 周燕¹, 鄢文燕¹, 李维^{1△}
重庆市第四人民医院: 1. 检验科; 2. 血液科, 重庆 400014

关键词: 血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤; 急性髓系白血病; 细胞毒性药物

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.005

中图法分类号: R446.1; R733.7

文章编号: 1673-4130(2024)17-2071-05

文献标志码: B



点评专家 张伶



第一作者 王明雪

血管免疫母细胞性 T 细胞淋巴瘤(AITL)是外周 T 细胞源的比较罕见的恶性侵袭性肿瘤,占非霍奇金淋巴瘤的 1%~2%^[1]。AITL 初次诊断较困难,但目前尚未确立针对 AITL 的一线标准治疗方案或最佳治疗方案^[2]。近年来,较多的肿瘤患者应用细胞毒性药物的治疗后,可能进展成细胞毒治疗后急性髓系白血病(AML-pCT)。本文报道的患者为老年男性,因反复腹痛、发热就诊于本院,完善检查后明确诊断为 AITL,在使用环磷酰胺、地塞米松化疗药物规律抗肿瘤治疗后进展为 AML-pCT。本文将从患者的实验室检查、疾病的诊疗和转归入手,结合文献对此类罕见病进行分析,以提高检验人员对此类疾病的认识和甄别,同时警示检验同行加强自身能力建设,与临床医生及时有效地进行沟通,促进患者及早康复。

该案例邀请了重庆医科大学检验医学院张伶教授进行点评。

1 案例经过

1.1 临床资料 老年患者,年龄 69 岁,男性,入院前 10 多天无明显诱因出现脐周隐痛,持续数分钟,可自行缓解,疼痛无明显规律,与进食及体位改变无关,外院腹部彩超提示腹腔多发淋巴结肿大,为求进一步治疗,于 2022 年 7 月 13 日首次就诊于本院。既往 20 多

年诊断为原发性高血压 2 级很高危,4 年多前诊断为冠状动脉粥样硬化性心脏病,否认其他家族性遗传病史。

1.2 首次入院诊疗经过 入院后针对患者淋巴结肿大,完善相关检查,其中血常规:红细胞计数(RBC) $3.79 \times 10^{12}/L \downarrow$,血红蛋白(Hb) $111.0 \text{ g/L} \downarrow$,血小板计数(Plt) $129 \times 10^9/L$ 。血 β_2 -微球蛋白(β_2 -MG) $6474.0 \mu\text{g/L} \uparrow$ 。白细胞介素 2 受体 $>7500.0 \text{ IU/mL} \uparrow$ 。C 反应蛋白(CRP) $21.80 \text{ mg/L} \uparrow$ 。浅表器官彩超:双侧颈部、腋窝、腹股沟异常淋巴结肿大。全腹部、胸部、盆腔增强 CT:纵隔、双侧腋窝、肝胃间隙、肝门区、腹膜后、肠系膜及双侧髂血管旁多发淋巴结显示,部分增大。

在住院期间,患者于 7 月 15 日突发高热,伴畏寒寒战。急查血常规、降钙素原(PCT),提示感染加重。先后予以头孢唑肟及莫西沙星抗感染治疗,但患者每日仍反复发热,体温波动在 $36.0 \sim 40.3 \text{ }^\circ\text{C}$ 。EB 病毒 DNA 检测:EB 病毒 $70057.21 \text{ copy/mL} \uparrow$,EB 病毒 DNA 定量检测 $1.51 \times 10^3 \text{ IU/mL}$ 。游离轻链 Kappa+Lambda(血液):游离 Kappa 轻链 $77.9 \text{ mg/L} \uparrow$,游离 Lambda 轻链 $92.6 \text{ mg/L} \uparrow$ 。游离轻链 Kappa+Lambda(尿液):游离入轻链 $899.0 \text{ mg/L} \uparrow$,游离 Kappa 轻链 1720.0 mg/L 。Coomb's 试验:直接 Coomb's 试验阳性(+)。进一步完善结核杆菌抗体检测、1,3- β -D 葡聚糖试验(G 试验)/半乳甘露聚糖试验(GM 试验)、血液疟原虫检测、输血前检查、血培养、血尿免疫固定电泳、甲/乙流感病毒、叶酸、维生素 B₁₂、网织红细胞、肥达试验均未见异常,骨髓穿刺涂片、左颈部淋巴结穿刺活检和骨髓流式细胞术检测均未见明显异常。但患者反复发热原因不明,结合以上检查结核感染证据不足,淋巴瘤不能除外,考虑 EB 病

* 基金项目:重庆市卫生健康委员会“重庆市中青年高端人才工作室”项目(ZQNYXGDRCGZS2019008);重庆市科卫联合医学科研项目青年项目(2024QNXM055)。

点评专家简介:张伶,医学博士,博士生导师,重庆医科大学特聘教授、“钱惠教学名师”;主要研究方向为白血病的发病机制与临床检验。

作者简介:王明雪,女,主治检验医师,主要从事血液形态学及血液病 MICM 综合诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail: liwei0111@

163.com。

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240711.1503.003.html>(2024-07-11)