

侵袭性肺部真菌感染的实验室检测方法

郭鹏豪, 廖康, 伍众文, 何宇婷, 陈怡丽, 刘敏

基金项目: 中山大学校级本科教学质量工程类建设项目(编号:80000-18832601)

作者单位: 510080 广州, 中山大学附属第一医院医学检验科

作者简介: 郭鹏豪(1984-), 男, 医学硕士, 副主任技师, 研究方向: 真菌的流行病学及耐药机制。E-mail: jackgph@163.com

通讯作者: 刘敏(1964-), 女, 大学本科, 医学学士, 主任技师, 研究方向: 感染及肿瘤标志物研究。E-mail: 13711694565@163.com



刘敏, 中山大学附属第一医院医学检验科主任, 中山大学医学检验学系主任。本科毕业于中山大学中山医学院医学系临床医学专业, 研究方向为感染及肿瘤标志物研究。担任广东省医师协会检验医师分会、医院协会临床实验室管理专委会、精准医学应用学会精准检测分会、生物工程学会临床实验室分会、预防医学微生物及免疫分会、医疗行业协会检验分会、健康管理学会检验分会副主任委员; 中国女医师协会检验分会常委; 广东省女医师协会检验分会主任委员; 中国医师协会检验医师分会委员。主要从事临床医学检验、教学和科研及临床实验室管理等方面的工作, 尤其是在感染、肿瘤标志物、自身免疫及产前筛查等方面有丰富的

经验。承担或参与国家自然科学基金项目、863子课题项目、广东省科技厅项目及广州市协同创新重大专项基金项目等多项课题, 发表SCI收录及中文核心期刊等论文数十篇。其中2020年在*BMJ*以第一作者发表*Use of personal protective equipment against coronavirus disease 2019 by healthcare professionals in Wuhan*, 在《中华检验医学杂志》上以通讯作者发表文章《不同方式灭活口咽拭子标本对2019新型冠状病毒实时荧光定量PCR检测结果的影响》, 参与的项目“新型冠状病毒肺炎综合防控诊治体系”获广东省科技进步一等奖。

[摘要] 近年来, 侵袭性肺部真菌感染的发病率逐年上升, 并逐渐成为导致患者死亡的重要原因之一。由于侵袭性肺部真菌感染临床表现缺乏特异性, 早期诊断困难, 且病情易被基础病掩盖, 造成误诊、漏诊而延误治疗。精准的实验室诊断是实现精准临床诊疗的前提和基础。该文对目前侵袭性肺部真菌感染常用实验室检测方法, 包括标本直接镜检、组织病理学检查、真菌培养、抗原检测、核酸检测等的诊断性能及注意事项进行介绍与评价, 从而提高临床医师及实验室人员对侵袭性肺部真菌感染实验室检测方法的认识。

[关键词] 侵袭性肺部真菌感染; 实验室; 检测方法

[中图分类号] R 446 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2021)03-0225-06

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.03.02

Laboratory detection methods of invasive pulmonary fungal infection GUO Peng-hao, LIAO Kang, WU Zhong-wen, et al. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

[Abstract] In recent years, the incidence rate of invasive pulmonary fungal infection (IPFI) has increased year by year, and has gradually become one of the important causes of death in the patients. Due to the lack of specificity of clinical manifestations of IPFI, early diagnosis is difficult, and the disease is easy to be masked by the underlying disease, resulting in misdiagnosis, missed diagnosis and delayed treatment. Accurate laboratory diagnosis is the premise and foundation of accurate clinical diagnosis and treatment. In this paper, we introduce and evaluate the diagnostic performance and precautions of commonly used laboratory detection methods for IPFI at present, including direct microscopic examination of specimens, histopathological examination, fungal culture, antigen detection and nucleic acid detection, so as to improve the understanding of clinicians and laboratory staff on the laboratory detection methods for IPFI.

[Key words] Invasive pulmonary fungal infection(IPFI); Laboratory; Detection methods

侵袭性肺部真菌感染指不包括真菌寄生和过敏所致的支气管肺部真菌感染,分为原发性和继发性两种类型^[1]。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应用、皮质类固醇激素的使用以及各种导管介入治疗等,使侵袭性肺部真菌感染的发病率呈现逐渐上升的趋势。由于肺部真菌感染临床表现常无特异性,早期诊断困难,且病情易被基础病掩盖,造成误诊、漏诊而延误治疗。正确、及时诊断肺部真菌感染依赖于实验室精准的检测结果。笔者现对肺部真菌感染常用的实验室检测方法,包括传统方法(直接镜检、真菌培养)、血清学检测[G 试验、曲霉菌抗原、隐球菌荚膜多糖抗原(cryptococcal polysaccharide capsule antigen, CrAg)、曲霉菌抗体]和核酸检测等进行介绍。

1 侵袭性肺部真菌感染的流行情况

目前我国学者报道的侵袭性肺部真菌感染的病原体分布具有一定的差异。闫晓培等^[2]报道在非移植患者中最常见的病原体是隐球菌、曲霉菌和毛霉菌。屈晶晶等^[3]报道在非重症监护室确诊肺真菌病患者中的前4位病原体分别为曲霉菌、隐球菌、毛霉菌和组织胞浆菌。北京协和医院一项长达15年,针对187例的肺真菌病组织病理学的回顾性分析^[4]结果显示:肺曲霉病85例(45.5%),肺隐球菌病51例(27.3%),肺毛霉病6例(3.2%),肺组织胞浆菌病3例(1.6%),肺念珠菌病3例(1.6%),肺孢子菌病2例(1.1%),不能明确分类37例(19.8%)。笔者所在单位中山大学附属第一医院从2019-01~2020-12临床诊断为侵袭性肺部真菌感染的患者198例,其中以曲霉菌为主,其次为新型隐球菌、马尔尼菲篮状菌等,具体分布见图1。其中马尔尼菲篮状菌的分离率高于国内目前的报道,这与该菌种的流行区域有关。

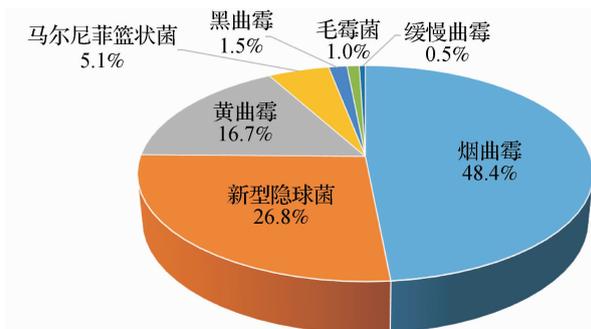
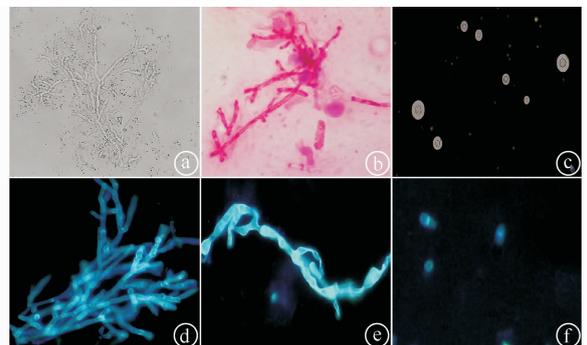


图1 2019-01~2020-12中山大学附属第一医院临床诊断侵袭性肺部真菌感染患者的病原体分布图

2 实验室检测方法

2.1 直接显微镜检查 直接显微镜检查是一种快速、性价比高的方法。采集痰、支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)、肺组织等标本,通过显微镜观察标本中是否存在真菌孢子及菌丝,同时根据孢子及菌丝的特点对于菌种的种属进行初步判定。直接镜检结果也能指导实验室选择最适合真菌体外生长的培养条件。目前最常用的染色方法包括氢氧化钾(KOH)湿片、革兰染色、六胺银染色、钙荧光白染色等^[5]。KOH湿片法通过对标本中的蛋白质成分进行消化,留下完整且更加明显的真菌细胞壁,从而将标本内的真菌与其他成分进行区分。六胺银染色通过将银离子沉积在胞壁上,把真菌染成黑色轮廓,背景呈淡绿色,较革兰染色更易识别且形态更加清晰,但操作相对比较复杂。钙荧光白染色通过荧光染料非特异性地与真菌细胞壁中的几丁质结合,在荧光显微镜下真菌菌体呈浅蓝或绿色,具有较高的敏感性。荧光抗体染色则可针对不同真菌种属进行特异性染色,对标本进行消化、富集以后再进行相应的染色,可提高直接显微镜检查的灵敏度。对于有条件的实验室建议开展钙荧光白染色或者荧光抗体的染色方法,提高检测的灵敏度。另外需要注意的是,处理患者标本时应采取全面的防护措施,在生物安全柜内进行标本的操作。临床标本直接涂片染色时真菌的显微镜下形态见图2。



①曲霉菌丝(KOH湿片); ②曲霉菌丝(革兰染色); ③新型隐球菌(墨汁染色); ④曲霉菌丝(钙荧光白染色); ⑤毛霉菌丝(钙荧光白染色); ⑥马尔尼菲篮状菌孢子(钙荧光白染色)

图2 临床标本直接涂片染色时真菌的显微镜下形态(×400)

2.2 组织病理学检查 组织病理是诊断真菌感染的金标准,应与微生物学检查密切结合^[5]。苏木素-伊红(HE)染色可用于筛查。如果HE染色后怀疑真菌,则可使用针对真菌特定结果的染色方法[碘酸-希夫(PAS)染色、GMS染色等]。PAS染色可使真菌染成鲜红色,GMS染色也可用于组织病理学检查,使真菌呈黑色。

2.3 真菌培养 从呼吸道标本中培养分离到真菌是诊断侵袭性肺部真菌感染的重要依据之一。目前已发表文献^[6-8]显示真菌培养的阳性率为56.0%~81.0%。对分离到的真菌可以通过如形态学、生化反应、质谱仪等技术进行准确的鉴定并进行药敏检测,从而为临床抗真菌药物的选择提供重要的依据。当怀疑有肺部真菌感染时,建议至少送检3个高质量的呼吸道标本进行培养。需要注意的是临床标本中真菌培养阳性并不一定代表侵袭性感染,区分呼吸道定植和侵袭性感染是相当困难的^[9,10]。当标本真菌培养的结果为阳性时,需要结合其他的检测指

标进行综合评估。在临床表现相符的情况下,从组织或者其他呼吸道标本中发现菌丝,且从同一标本中培养出大量的曲霉(或者从多个标本中检查出相同的菌种)预示侵袭性肺曲霉病。由于念珠菌可在口腔、呼吸道定植,有学者^[11]认为呼吸道标本无论单次还是多次阳性,无论菌落数多少,对诊断均无意义。国内一些学者^[12]则认为呼吸道标本合并真菌感染存在的危险因素时,在排除细菌感染的前提下,不能忽视多次下呼吸道分离出同一种念珠菌对诊断的价值。侵袭性肺部真菌感染常见病原体的菌落形态见图3。



①烟曲霉(沙氏平板,28℃培养3 d); ②新型隐球菌(沙氏平板,28℃培养5 d); ③马尔尼菲篮状菌(沙氏平板,28℃培养5 d); ④根霉菌(沙氏平板,28℃培养2 d)

图3 侵袭性肺部真菌感染常见病原体的菌落形态图

2.4 血清学检测

2.4.1 1,3-β-D 葡聚糖检测(G 试验) 1,3-β-D 葡聚糖是真菌细胞壁的重要组成成分,除隐球菌属、接合菌以外的大部分真菌都可以通过G 试验进行检测,该试验被欧洲癌症研究和治疗组织/侵袭性真菌感染协作组和美国国立变态反应和感染病研究院真菌病研究组(European Organization for the Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group, EORTC/MSG)共识纳入为侵袭性真菌感染诊断的间接微生物学标准之一^[13]。血清G 试验被推荐为侵袭性真菌感染的筛选试验,但是阳性结果并不能明确是哪一种特定真菌的感染。该试验的阳性预测值和阴性预测值随着患者群体的不同而有差异。多次结果阳性或者检测结果远远超过阳性阈值时,阳性结果的置信度增加^[14];重复检测的阴性结果具有较好的阴性预测值。由于1,3-β-D-葡聚糖没有国际标准物质,不同厂家的试剂盒均需要使用自己的参考范围进行结果评价^[5]。另外,如透析用纤维素膜、免疫球蛋白、白蛋白、手术患者大量纱布暴露等可引起G 试验出现假阳性的结果^[15]。

2.4.2 CrAg 检测 CrAg 检测是一种简单有效、创伤小、灵敏度和特异度较高的诊断肺隐球菌病的技术,在肺隐球菌病的早期诊断、病情监测和预后判断中起到重要作用。荚膜多糖在菌体生长和繁殖过程中不断分泌到胞外,可以作为隐球菌感染的诊断依据。世界卫生组织建议当CD4 细胞 <100 个/ μl 时需监测血清CrAg^[16],若血清CrAg 阳性时,需对抗原的滴度进行定量检测。抗原滴度的降低是隐球菌感染治疗有效的指标。然而,抗原滴度有可能在非艾滋病患者治疗的初期下降,但在隐球菌完全清除以后一直保持较高的滴度水平^[17]。CrAg 检测方法包括乳胶凝集法、酶联免疫法和免疫侧向层析法(lateral flow immunochromatographic assays, LFA)。目前美国IMMY 公司的LFA 可通过血清、血浆、脑脊液标本检测新型隐球菌和格特隐球菌,其检测灵敏度和特异度在血清标本中分别为98%和100%^[18]。与乳胶凝集法和酶联免疫法相比,LFA 的灵敏度更高,同时具有廉价、操作简单的优点。白吉利地霉(*Geotrichum beigelii*)可导致假阳性的结果,而假阴性结果可能由于抗原浓度低或者高浓度(前带效应)所引起。

2.4.3 曲霉菌抗原检测 曲霉菌抗原的检测成分

是半乳甘露聚糖 (galactomannan, GM)。GM 是曲霉细胞壁上主要的多糖成分,其可在菌丝生长的过程中被释放出来。该试验被 EORTC/MSG 纳入免疫抑制患者中侵袭性曲霉菌病的诊断标准。GM 试验可采用血清、BALF、脑脊液标本,其诊断效能与基础人群、是否接受预防、诊断试剂等因素相关。血清 GM 在粒细胞缺乏的患者中其灵敏度显著高于非粒细胞缺乏的患者。血清 GM 单个样本阳性 (GM 结果 ≥ 0.7) 或者两个样本 ≥ 0.5 被认为有诊断价值^[19]。虽然 BALF GM 在临床应用中面临标准化的问题,但是目前的研究认为在侵袭性肺部真菌感染的诊断中 BALF GM 比血清 GM 更敏感^[20]。对于 BALF GM 的临界值在不同的文献中有不同的推荐,如 Zou 等^[21] 建议为 1.0,而 Heng 等^[22] 建议为 1.5。需要注意的是抗真菌治疗可显著降低血清 GM 试验的灵敏度^[23]。部分 β 内酰胺类抗生素 (如哌拉西林-他唑巴坦)、新生儿肠道内双歧杆菌定植、摄入含有 GM 的食物 (如谷类食物和牛奶) 以及一些非曲霉菌的菌种 (如马尔尼菲篮状菌、白地霉、无绿藻菌、组织胞浆菌) 会引起 GM 结果的假阳性。另外建议在治疗的过程中对 GM 进行动态检测,评估治疗的效果。若治疗期间,结果升高预示预后较差。但是,结果转阴,不能作为结束抗真菌治疗的孤立指标,应该结合影像、临床等综合评估。

2.4.4 曲霉菌抗体检测 曲霉 IgG 抗体是机体针对曲霉菌感染产生的特异性抗体。血清曲霉 IgG 抗体水平升高,通常提示曲霉菌感染。研究^[24] 显示慢性肺曲霉病 (chronic pulmonary aspergillosis, CPA) 患者中只有 26.0% 曲霉培养阳性,但 99.0% 的 CPA 患者存在曲霉菌特异性 IgG 升高。北京一项研究^[25] 指出,诊断 CPA 的曲霉特异性 IgG (丹娜) 的 Cut-off 值为 89.3 AU/ml 时,灵敏度和特异度分别为 78.6% 和 94.4%。此外,曲霉 IgG 抗体检测不仅对肺曲霉病的早期临床诊断具有重要意义,其血清水平的变化能够直观地反映阳性患者抗真菌治疗的疗效^[26]。2016 年,美国传染病学会 (Infectious Diseases Society of America, IDSA) 和欧洲临床微生物学及传染病学会 (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID) 与欧洲呼吸学会 (European Respiratory Society, ERS) 合作,发布了 CPA 诊断指南^[27,28]。这两项指南均建议将曲霉 IgG 抗体检测作为诊断 CPA 的关键指标。

2.4.5 核酸检测 应用多聚酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测真菌核酸相比传统的检测

方法有更高的敏感性。采用通用引物或特异性引物的设计既可以发现常见致病真菌 (曲霉菌、肺孢子菌),也可以发现少见或罕见真菌。以 real-time PCR 及相关技术为代表的分子诊断,已逐步成为感染性疾病诊断的重要方法,能提供更加快速的诊断,对于提早开始抗真菌治疗、改善患者预后及降低病死率有重要意义。PCR 技术检测 BALF 标本用于辅助诊断侵袭性肺曲霉菌病具有很好的潜力^[29,30]。以下三种情况均可作为诊断侵袭性真菌病的微生物学证据:(1) 血浆、血清或全血连续 2 次或以上 PCR 检测阳性;(2) BALF 2 次或以上重复 PCR 检测阳性;(3) 至少 1 次血浆、血清或全血 PCR 检测阳性和 1 次 BALF PCR 阳性。另外需要强调的是,实验室必须对标本处理、保存、DNA 提取和检测等全程标准化,并采取严格的防污染措施。

2.4.6 宏基因组测序 (metagenomics next generation sequencing, mNGS) mNGS 是一种可以直接从患者标本中进行泛核酸检测的方法,允许无差别检测所有微生物 (如细菌、病毒、寄生虫和真菌)、抗体、毒力因子,甚至宿主生物标志物等^[31]。对于呼吸道感染患者,若 3 d 内未通过传统实验室检查获得明确的病原学依据且经验性抗感染治疗无效,推荐留取呼吸道标本进行 mNGS 检测^[32]。肺组织 mNGS 对真菌感染的灵敏度为 57.1%,特异度为 61.5%;对真菌的阳性预测值为 44.4%,阴性预测值为 72.7%^[33]。标本的取样不规范,以及真菌细胞壁厚导致的 DNA 提取效率低,对 mNGS 在真菌检测中的灵敏度造成影响。对于呼吸道感染,mNGS 在细菌、真菌等病原体的检测中尚不能准确判断菌群定植或感染状态,仍需依赖临床医师结合患者病情进行进一步分析^[32]。综上,随着测序技术的进一步发展,以及更多的实践经验 and 评估,在未来尽管 mNGS 不太可能完全取代传统的病原体鉴定和抗生素敏感性检测,但必将为侵袭性肺部真菌感染提供更强的诊断能力。侵袭性肺部真菌感染诊断中不同实验室检测方法的特点见表 1。

表 1 侵袭性肺部真菌感染诊断中不同实验室检测方法的特点

检测方法	特点
直接镜检	一种快速、性价比高的方法。传统的革兰染色、KOH 湿片染色灵敏度低。建议采用灵敏度高的钙荧光白染色,提高检出的阳性率。
真菌培养	可以对菌株进行准确鉴定和药敏检测。耗时长,容易出现污染。培养阳性时,建议连续送检,排除污染。
G 试验	可检测除隐球菌、接合菌以外的真菌感染,无种特异性。免疫球蛋白、白蛋白等血液制品可引起 G 试验假阳性。建议动态监测,观察结果的变化趋势。

续表 1

检测方法	特点
GM 试验	用于曲霉菌病的诊断。在肺曲霉菌病中 BALF GM 的灵敏度高于血清 GM。建议动态监测,观察结果的变化趋势。
隐球菌抗原检测	一种简单有效、创伤小、灵敏度和特异度较高的隐球菌病的诊断方法。在隐球菌病的早期诊断、病情监测和预后判断中起到重要作用。
曲霉菌抗体检测	血清曲霉 IgG 抗体水平升高,通常提示曲霉菌感染,尤其是对于 CPA 具有较高的诊断价值。
核酸检测; mNGS 技术	相比传统的检测方法有更高的敏感性,不需要培养,节省时间, mNGS 相比传统方法(G/GM 试验)可以精确区分物种,覆盖罕见真菌和其他类型病原体。

3 结语

精准的实验室检查是实现侵袭性肺部真菌感染精准诊疗的前提和基础。循证医学数据表明准确、早期的病原真菌实验室诊断,有利于尽早开始靶向性抗真菌治疗,对改善患者预后、降低病死率有显著作用。目前实验室除了传统的真菌涂片及培养等传统的方法外,血清学检测在临床的应用越来越广泛,标本中真菌的核酸检测在临床也逐渐开始应用。充分了解每种实验室检测方法的优缺点以及检测性能,可以更好地帮助诊断侵袭性肺部真菌感染。在临床工作中将传统的检测方法与血清学检测、核酸检测联合应用可显著提高侵袭性肺部真菌感染的检测灵敏度,更好地区分感染和定植,从而实现精准的诊断和治疗,改善患者的预后。

参考文献

[1] 中国侵袭性肺部真菌感染工作组. 侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案)[J]. 中国实用内科杂志, 2006, 26(21):1748-1751.

[2] 闫晓培,宗峰,赵新云,等. 非移植患者侵袭性真菌病 165 例病原谱和易感因素分析[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(7): 487-491.

[3] 屈晶晶,胡成平,顾其华,等. 侵袭性肺真菌感染的临床与病原学分析[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2012, 11(6):545-549.

[4] 王翠萍,邵汇琳,王澎,等. 组织病理学诊断的肺真菌病 187 例菌种分布的回顾性分析[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2021, 44(1):28-31.

[5] 王瑶,徐英春. 临床酵母样真菌实验室检查[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(10):765-769.

[6] Denning DW, Riniotis K, Dobrashian R, et al. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review[J]. Clin Infect Dis, 2003, 37 Suppl 3:S265-S280.

[7] Camuset J, Nunes H, Dombret MC, et al. Treatment of chronic pulmonary aspergillosis by voriconazole in nonimmunocompromised patients[J]. Chest, 2007, 131(5): 1435-1441.

[8] Nam HS, Jeon K, Um SW, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis: a review of 43 cases[J]. Int J Infect Dis, 2010, 14(6): e479-e482.

[9] Guinea J, Torres-Narbona M, Gijón P, et al. Pulmonary aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: incidence, risk factors, and outcome[J]. Clin Microbiol Infect, 2010, 16(7): 870-877.

[10] Solé A, Morant P, Salavert M, et al. Aspergillus infections in lung transplant recipients: risk factors and outcome[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(5):359-365.

[11] Massou S, Ahid S, Azendour H, et al. Systemic candidiasis in medical intensive care unit: analysis of risk factors and the contribution of colonization index[J]. Pathol Biol (Paris), 2013, 61(3):108-112.

[12] 刘又宁,余丹阳,孙铁英,等. 中国 1998 年至 2007 年临床确诊的肺真菌病患者的多中心回顾性调查[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(2):86-90.

[13] Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, 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.

[14] Hanson KE, Pfeiffer CD, Lease ED, et al. β -D-glucan surveillance with preemptive anidulafungin for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a randomized pilot study[J]. PLoS One, 2012, 7(8):e42282.

[15] Zhang SX, Wiederhold NP. Yeasts[J]. Microbiol Spectr, 2016, 4(4).

[16] Mourad A, Perfect JR. The war on cryptococcosis: a review of the antifungal arsenal[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2018, 113(7): e170391.

[17] Lu H, Zhou Y, Yin Y, et al. Cryptococcal antigen test revisited: significance for cryptococcal meningitis therapy monitoring in a tertiary Chinese hospital[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(6):2989-2990.

[18] Nalintya E, Kiggundu R, Meya D. Evolution of cryptococcal antigen testing: what is new? [J]. Curr Fungal Infect Rep, 2016, 10(2): 62-67.

[19] Maertens JA, Klont R, Masson C, et al. Optimization of the cutoff value for the Aspergillus double-sandwich enzyme immunoassay[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(10):1329-1336.

[20] He H, Ding L, Sun B, et al. Role of galactomannan determinations in bronchoalveolar lavage fluid samples from critically ill patients with chronic obstructive pulmonary disease for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis: a prospective study[J]. Crit Care, 2012, 16(4):R138.

[21] Zou M, Tang L, Zhao S, et al. Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e43347.

[22] Heng SC, Morrissey O, Chen SC, et al. Utility of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan alone or in combination with PCR for the diagnosis of invasive aspergillosis in adult hematology patients:

- a systematic review and meta-analysis[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2015, 41(1):124-134.
- [23] Marr KA, Laverdiere M, Gugel A, et al. Antifungal therapy decreases sensitivity of the *Aspergillus* galactomannan enzyme immunoassay [J]. *Clin Infect Dis*, 2005, 40(12):1762-1769.
- [24] Jhun BW, Jeon K, Eom JS, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic pulmonary aspergillosis[J]. *Med Mycol*, 2013, 51(8):811-817.
- [25] Ma X, Wang K, Zhao X, et al. Prospective study of the serum *Aspergillus*-specific IgG, IgA and IgM assays for chronic pulmonary aspergillosis diagnosis[J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19(1):694.
- [26] Li H, Rui Y, Zhou W, et al. Role of the *Aspergillus*-specific IgG and IgM test in the diagnosis and follow-up of chronic pulmonary aspergillosis[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10:1438.
- [27] Patterson TF, Thompson GR 3rd, Denning DW, et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America[J]. *Clin Infect Dis*, 2016, 63(4): e1-e60.
- [28] Denning DW, Cadranet J, Beigelman-Aubry C, et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management[J]. *Eur Respir J*, 2016, 47(1):45-68.
- [29] Luong ML, Clancy CJ, Vadnerkar A, et al. Comparison of an *Aspergillus* real-time polymerase chain reaction assay with galactomannan testing of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in lung transplant recipients[J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 52(10):1218-1226.
- [30] Kawazu M, Kanda Y, Goyama S, et al. Rapid diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis by quantitative polymerase chain reaction using bronchial lavage fluid[J]. *Am J Hematol*, 2003, 72(1):27-30.
- [31] 孙波, 郑光辉, 高阳, 等. 宏基因组技术在感染性疾病中的应用[J]. *中国临床新医学*, 2021, 14(1):19-22.
- [32] 《中华传染病杂志》编辑委员会. 中国宏基因组学第二代测序技术检测感染病原体的临床应用专家共识[J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(11):681-689.
- [33] Li H, Gao H, Meng H, et al. Detection of pulmonary infectious pathogens from lung biopsy tissues by metagenomic next-generation sequencing[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2018, 8:205.
- [收稿日期 2021-02-26][本文编辑 吕文娟 余军]

本文引用格式

郭鹏豪, 廖康, 伍众文, 等. 侵袭性肺部真菌感染的实验室检测方法[J]. *中国临床新医学*, 2021, 14(3):225-230.