

我如何诊断和治疗造血干细胞移植后侵袭性真菌病

胡炯 王苓

上海交通大学医学院附属瑞金医院血液科骨髓移植病区 200025

通信作者:胡炯,Email:hj10709@rjh.com.cn

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.01.002

How I diagnose and treat invasive fungal diseases after hematopoietic stem cell transplantation

Hu Jiong, Wang Ling

Shanghai Institute of Hematology, Department of Hematology, Blood and Marrow Transplantation Center, Rui Jin Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Corresponding author: Hu Jiong, Email: hj10709@rjh.com.cn

一、病例

患者,男,59岁,确诊急性髓系白血病(AML)3年,NPM1和DNMT3A突变阳性。经标准一线化疗诱导及中/大剂量阿糖胞苷巩固治疗后,行同胞供者外周血造血干细胞移植(HSCT),移植后2年复发,骨髓原始细胞占0.290,流式免疫分型与初发时相同,本次入院行挽救强化化疗序贯单倍体HSCT。给予克拉屈滨+阿糖胞苷+依托泊苷化疗降低白血病负荷,化疗后的骨髓抑制期(-10 d)患者出现发热伴轻度畏寒,无咳嗽、咳痰,无胸痛和胸闷等不适,血常规示WBC $0.2 \times 10^9/L$ 、RBC $2.1 \times 10^{12}/L$ 、HGB 70 g/L、PLT $23 \times 10^9/L$,予亚胺培南西司他丁治疗,3 d后发热未见好转,降钙素原等非特异性感染指标持续阴性,血培养及定植菌监测并无阳性发现,联合利奈唑胺经验性治疗,发热逐渐好转,顺利完成移植预处理(氟达拉滨+静脉注射白消安)和干细胞回输。+5 d(2018-03-28)患者再次出现发热畏寒,伴头痛、口腔黏膜炎、呕吐和腹泻等新发症状,咳嗽少痰。停用利奈唑胺,应用头孢哌酮/舒巴坦联合替加环素治疗,预防性抗真菌治疗由氟康唑改为卡泊芬净静脉滴注(70 mg首剂后继以50 mg/d)。+6 d(2018-03-29)胸部CT平扫示右肺上叶大片实变灶伴渗出(图1A);血培养、痰培养等检查均无阳性发现,痰涂片抗酸杆菌阴性,血GM试验阴性,包括肺支原体、衣原体、军团菌、流感病毒、副流

感病毒等呼吸道病原体均阴性。降钙素原增高至2~3 $\mu\text{g}/L$ 。拟诊侵袭性肺曲霉病(IPA),加伏立康唑与卡泊芬净联合治疗。呼吸科会诊建议患者血PLT恢复至 $(40 \sim 50) \times 10^9/L$ 后再行支气管镜检+肺泡灌洗等进一步检查。+16 d(联合抗真菌治疗10 d后)复查胸部CT平扫提示原感染病灶边界较前清晰,范围明显缩小,考虑抗真菌治疗有效,继续原方案治疗。供者造血干细胞已逐渐植入,ANC、PLT稳步上升,+17 d行支气管镜检及肺泡灌洗术:支气管通畅,未见新生物,右上叶后段分泌物较多,黏膜轻度充血水肿。超声探头右肺上叶后段可见片状中高不均质回声病灶约2 cm,局部予刷检和活检。刷检涂片及灌洗液标本(BALF)培养无阳性发现,BALF-GM 5.244,BALF及肺活检组织分别送检高通量测序,回报曲霉菌属,检出序列分别为470(BALF)和7 503(肺活检组织)。活检后病理回报:“右肺上叶后段”见真菌菌落及坏死组织,确诊IPA。持续抗真菌药物治疗8周后(2018-05-24)复查胸部CT,病灶体积显著缩小(图1B)。停用卡泊芬净,予口服伏立康唑(200 mg每12 h 1次)出院后维持治疗,随访至移植后6个月(2018-09-24)胸部CT示结节进一步缩小并出现空气新月征(图1C)。

二、讨论

近年来,随着标准强烈诱导化疗、大剂量巩固化疗和HSCT的开展,血液病患者侵袭性真菌病

(IFD)发生率呈上升趋势。国内大样本观察性研究(CAESAR 研究)显示异基因 HSCT(allo-HSCT)后半年内,确诊和临床诊断 IFD 的累积发生率为 9.2%,显著高于自体 HSCT(auto-HSCT)和化疗人群,allo-HSCT 中 HLA 相合非血缘和亲缘半相合供者移植 IFD 发生率(13.2%)高于 HLA 相合亲缘供者移植,尤其重要的是确诊和临床诊断 IFD 患者的病死率(31.3%)显著高于整体 allo-HSCT 人群(16.2%)^[1-2]。因此临床上早期诊断 IFD 和相应积极治疗具有重要意义,本病例对 IFD 的临床诊断和治疗有以下启示:

1. IFD 诊断标准:对照 IFD 的诊断标准^[3](表 1),本例患者具有 IFD 高危因素:未缓解 AML、接受单倍体 HSCT 和粒细胞缺乏(粒缺)时间 > 14 d。临床表现为合理广谱抗生素治疗无效的粒缺伴发热,肺部 CT 影像学特征符合 IFD 临床标准(出现伴或不伴晕征的结节病灶或实变影),微生物学依据血清 GM 试验阴性,综合判断符合拟诊 IFD。后续随访中,通过支气管镜检和肺泡灌洗检查获得微生物学诊断依据,包括 BALF-GM 强阳性,诊断级别达到临床诊断。随后依据肺活检组织病理学检查回报证据,IFD 诊断达到确诊级别。

IFD 诊断级别是一个动态变化过程,早期 IFD 病变临床诊断、体征和影像学呈现非特异性,微生物学证据级别低,无法达到确诊或临床诊断标准。随着感染进展,影像学、微生物学和组织病理学等 IFD 证据级别逐步提升,IFD 诊断级别可以从最初的未确定 IFD 或拟诊 IFD,逐步提升至临床诊断 IFD 或确诊 IFD。因此对于临床考虑 IFD 患者,不能仅满足于简单初步拟诊和早期的抗真菌药物治疗,而应密切跟踪随访,争取获得更多更高级别的诊断依据,以指导临床治疗。

2. 临床特征结合 CT 与 IFD 诊断:本病例起病特点为难治性 AML 接受 HLA 半相合亲缘供者 allo-HSCT 后,在粒缺起始阶段出现发热,碳青霉烯类经验性治疗有效。移植后持续粒缺阶段再次发热,广

谱抗生素治疗后仍发热伴咳嗽、咳痰,无胸闷胸痛,查体未闻及干湿啰音,首次胸部 CT 平扫发现实变伴周围渗出病灶。基于广谱抗生素治疗下持续粒缺伴发热、CT 提示右肺上叶实变渗出(图 1A),但临床未闻及啰音,应考虑肺部 IFD,尤其是 IPA 可能。

IPA 早期无特异性临床症状和体征,近三分之一患者除发热外仅表现咳嗽少痰,无或轻度胸痛,且无明显体征。上述临床表现与 IPA 发病机制相关:曲霉菌通过空气传播,首先累及肺泡和细支气管,局部形成炎症。因此早期 CT 通常为非特征性表现:支气管管壁增厚、支气管扩张征、小叶中心型微小结节影、沿支气管血管束分布的斑片影和毛玻璃样改变等。在重度粒缺宿主中曲霉菌沿气道迅速侵犯肺部血管,导致肺血管梗死和肺组织坏死病灶或伴坏死组织周围出血渗出,相应形成典型伴或不伴“晕征”结节病灶。因此 IFD 发展过程的影像学特征可呈现曲霉菌气道侵袭与血管侵袭两个阶段的特点^[4-7]。

在本病例肺 CT 扫描发现异常时结合影像病变范围与部位,对比患者症状和体征的特点:肺部 CT 实变影/临床听诊无啰音;一般细菌感染导致肺部 CT 大片实变多为炎性渗出,而非坏死性病变,且临床较明显咳嗽和咳痰,听诊多伴有明显啰音,因此提示与常见细菌性肺炎的鉴别。结合患者临床 IFD 危险因素(广谱抗生素治疗仍有粒缺伴发热)等诊断要素,就能获得比较明确的诊断意见,即符合拟诊 IPA 的诊断条件。

在后续诊断和抗真菌治疗中,患者发热和咳嗽等症状逐步好转,相应胸部 CT 复查呈现一系列动态变化:结节病灶缩小伴渗出减少(图 1B)、结节进一步缩小并出现空气新月征(图 1C)。这与 IPA 治疗有效所呈现的影像学变化一致,即随着有效治疗,曲霉菌导致的肺部组织血管梗死、组织坏死和炎性渗出得到控制,晕征逐步消失,结节或实变病灶缩小。进而随着坏死组织吸收,在病灶中出现空气新月征或形成空洞。本病例符合 IPA 典型影像学

表 1 侵袭性真菌病(IFD)诊断级别和诊断要素^[3]

IFD 诊断级别	诊断要素			
	宿主因素	临床和影像学	GM/G 试验	确诊 IFD 微生物学标准
未确定 IFD	+	无或非特征性改变	-或+	-
拟诊 IFD	+	特征性改变	-	-
临床诊断 IFD	+	特征性改变	+	-
确诊 IFD ^a				+

注:^a确诊 IFD 不依赖患者宿主因素、临床和影像学表现;G 试验:(1,3)- β -D-葡聚糖试验;GM 试验:半乳甘露聚糖试验



A:移植后第6天(2018-03-29)右肺上叶大片实变灶伴渗出;B:持续抗真菌药物治疗8周后(2018-05-24)结节病灶缩小伴渗出减少;C:移植后6个月(2018-09-24)结节进一步缩小并出现空气新月征

图1 造血干细胞移植后侵袭性肺曲霉病患者肺部CT平扫结果

变化过程,也进一步反证了IPA临床诊断治疗的正确性。

3. 血清GM/G试验与IFD诊断:血清GM/G试验是IFD的微生物学证据,其中G试验是广谱真菌标志,GM是曲霉菌相对特异标志。GM/G试验适用于粒缺患者且阴性预测价值更高,是IFD诊断的重要构成要素^[8]。GM/G阳性提示至少为未确定IFD,如同时合并特异性影像学改变,则提示临床诊断IFD。

临床研究表明未接受抗霉菌治疗患者GM试验的敏感性为87.5%^[9],HSCT患者普遍接受预防真菌治疗,尤其是覆盖曲霉菌药物预防治疗,显著降低血清GM/G试验敏感性。而BALF在抗曲霉菌治疗前后其GM/G试验标志物水平并未发现显著降低^[10],因此BALF-GM试验可能具有更重要的临床意义。有研究表明BALF-GM以0.8为界值时敏感性及特异性分别为86.4%和90.7%(<0.5的阴性预测值为96.6%,>3的阳性预测值为100.0%)^[11]。目前临床上推荐界值为0.5,而本例患者接受抗真菌治疗后2周时BALF-GM仍达到5.244,强烈提示曲霉菌感染。

其他实验室检测手段如PCR,由于多数单位未实现标准化因此尚未在临床实践中常规应用^[12-13]。二代测序是精准治疗时代的产物,具有超高敏感性但也会带来背景混杂或污染病原体的困扰,需要综合多种检测手段进行分析和判断。本病例最终通过肺活检病理发现真菌菌丝获得确诊IFD依据。二代测序结果中BALF和活检组织标本均发现曲霉菌拷贝,但BALF中曲霉菌检出序列数低,而活检组织中曲霉菌序列数显著增高,通过二个不同标本序列数的显著差异,可排除曲霉菌在气道或肺泡的定植,而证实曲霉菌在肺组织中浸润。

4. 肺部曲霉菌感染的治疗:抗真菌治疗策略包括预防治疗、早期经验治疗、诊断驱动治疗和目标

治疗,分别对应不同的IFD患者^[3]:具有IFD高危因素但无临床感染患者(预防治疗),粒缺伴发热但无影像学 and 微生物学IFD依据患者(经验治疗),粒缺伴发热伴影像学 and (或)微生物学IFD依据,未达到临床诊断和确诊IFD级别(诊断驱动治疗)以及临床诊断和确诊IFD(目标治疗)。不同治疗策略针对不同特征人群,但治疗策略并不互相排斥,随着诊断治疗过程中IFD诊断依据的动态演变而相互转化。

例如本病例具有多项IFD高危因素,在移植层流病房全环境保护条件下接受allo-HSCT,因此给予氟康唑抗真菌预防治疗。随着临床出现广谱抗生素治疗下的持续粒缺伴发热,结合患者IFD高危因素(粒缺>10d),改用棘白菌素类药物进行经验性治疗。随着肺部影像学依据达到拟诊IFD级别,抗真菌治疗符合诊断驱动治疗策略。后续治疗过程中,随着GM试验结果和病理学证据的相继出现,患者IFD诊断级别依次提升至临床诊断和确诊,治疗策略进一步成为目标治疗。

IFD是HSCT患者重要致死性感染,指南推荐一线治疗以单药抗真菌治疗为主,如肺曲霉菌病治疗一线推荐药物为伏立康唑。近期更新的美国感染病学会(IDSA)指南不再对抗真菌药物的联合治疗,尤其是一线治疗失败、多种耐药菌和高危重症IFD患者联合抗真菌治疗也是重要的治疗策略^[14]。联合治疗的药物选择中棘白菌素类药物具有抑制真菌细胞壁(1,3)- β -D葡聚糖合成的机制,与唑类或两性霉素B类药物联合更具有优势。在一项关于抗真菌联合治疗确诊和临床诊断IFD血液病患者研究中,卡泊芬净+伏立康唑或卡泊芬净+两性霉素B脂质体联合治疗包括曲霉菌、接合菌和镰刀霉菌总有效率为80%和70%^[15]。本病例通过伏立康唑和卡泊芬净联合治疗,患者临床症状明显改善,影像学表现病灶明显缩小并空气新月征。

值得重视的是,本例患者经过长期抗真菌维持

治疗(约7个月),病灶仍未完全吸收。一般认为治疗确诊IFD疗程通常较长,至少在12周或以上。应覆盖治疗至临床症状、体征和影像学改变完全恢复。在移植病例中,如IFD患者合并急性或慢性GVHD,为防止IFD复燃,通常治疗可能进一步延长,如GVHD控制且免疫抑制剂停用或减量至低水平维持剂量。实际临床工作中,部分IFD患者影像学异常可持续存在,如残留未吸收的结节病灶和(或)纤维条索组织等。对于上述患者,临床症状控制、无活动性GVHD和大剂量免疫抑制药物治疗条件下,持续抗真菌治疗后影像学病灶无显著变化,且PET-CT检查提示无活动性感染(SUV值正常),可谨慎停药并密切随访。本病例也将择期进一步评估停药的可能性。

三、小结

通过本例HSCT合并IPA的病例分析,回顾分析血液病合并IFD的诊治要点:①IFD诊断需结合患者宿主因素、临床诊断要素(影像学)和微生物学依据等综合分析判断;②IFD诊断级别和相应治疗策略随IFD诊断依据呈动态变化;③HSCT患者的抗真菌药物治疗疗程应充分考虑患者IFD的治疗反应和移植后免疫状态,数周乃至数月的足疗程抗真菌治疗是确保临床疗效的重要前提。

参考文献

- [1] Sun Y, Meng F, Han M, et al. Epidemiology, management, and outcome of invasive fungal disease in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation in China: a multicenter prospective observational study [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015, 21(6): 1117-1126. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.03.018.
- [2] Gao L, Sun Y, Meng F, et al. Antifungal prophylaxis of patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in China: a multicenter prospective observational study [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9(1):97. DOI: 10.1186/s13045-016-0305-y.
- [3] 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(第五次修订版)[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56(6): 453-459. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2017.06.015.
- [4] Oliveira-Coelho A, Rodrigues F, Campos A, et al. Paving the way for predictive diagnostics and personalized treatment of invasive aspergillosis [J]. *Front Microbiol*, 2015, 6:411. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00411.
- [5] Nucci M, Nouér SA, Cappone D, et al. Early diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in hematologic patients: an opportunity to improve the outcome [J]. *Haematologica*, 2013, 98(11):1657-1660. DOI: 10.3324/haematol.2013.094359.
- [6] Stanzani M, Sassi C, Lewis RE, et al. High resolution computed tomography angiography improves the radiographic diagnosis of invasive mold disease in patients with hematological malignancies [J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(11):1603-1610. DOI: 10.1093/cid/civ154.
- [7] Bergeron A, Porcher R, Sulahian A, et al. The strategy for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis should depend on both the underlying condition and the leukocyte count of patients with hematologic malignancies [J]. *Blood*, 2012, 119(8):1831-1837; quiz 1956. DOI: 10.1182/blood-2011-04-351601.
- [8] Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical practice guideline for the management of Candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America [J]. *Clin Infect Dis*, 2016, 62(4):e1-50. DOI: 10.1093/cid/civ933.
- [9] 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]. *J Infect Dis*, 2004, 190(3):641-649. DOI: 10.1086/422009.
- [10] Petraitiene R, Petraitis V, Bacher JD, et al. Effects of host response and antifungal therapy on serum and BAL levels of galactomannan and (1→3) - β- D- glucan in experimental invasive pulmonary aspergillosis [J]. *Med Mycol*, 2015, 53(6): 558-568. DOI: 10.1093/mmy/myv034.
- [11] D'Haese J, Theunissen K, Vermeulen E, et al. Detection of galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid samples of patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis: analytical and clinical validity [J]. *J Clin Microbiol*, 2012, 50(4):1258-1263. DOI: 10.1128/JCM.06423-11.
- [12] Arvanitis M, Ziakas PD, Zacharioudakis IM, et al. PCR in diagnosis of invasive aspergillosis: a meta-analysis of diagnostic performance [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(10):3731-3742. DOI: 10.1128/JCM.01365-14.
- [13] Imbert S, Meyer I, Palous M, et al. Aspergillus PCR in bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis and prognosis of aspergillosis in patients with hematological and non-hematological conditions [J]. *Front Microbiol*, 2018, 9:1877. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01877.
- [14] Patterson TF, Thompson GR, 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):e1-1e60. DOI: 10.1093/cid/ciw326.
- [15] Candoni A, Caira M, Cesaro S, et al. Multicentre surveillance study on feasibility, safety and efficacy of antifungal combination therapy for proven or probable invasive fungal diseases in haematological patients: the SEIFEM real-life combo study [J]. *Mycoses*, 2014, 57(6):342-350. DOI: 10.1111/myc.12161.

(收稿日期:2018-11-04)

(本文编辑:刘爽)