

DOI:10.3969/j.issn.1671-9638.2018.01.020

· 综述 ·

侵袭性曲霉病危险因素及防控措施的研究进展

Risk factors and advances in prevention and control measures of invasive aspergillosis

王小红(WANG Xiao-hong),肖 喻(XIAO Yu),曹先伟(CAO Xian-wei)

(南昌大学第一附属医院,江西 南昌 330006)

(The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

[关键词] 侵袭性曲霉病;危险因素;防控措施;研究进展

[中图分类号] R519 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9638(2018)01-0082-05

近二十年来,随着造血干细胞移植、器官移植、侵袭性操作、化疗药物和免疫抑制剂等的广泛应用,导致临床患者免疫功能下降,出现深部真菌感染的风险随之增加。深部真菌感染的比例逐年增加,其中曲霉菌感染比例仅次于假丝酵母菌,位居第二位。侵袭性曲霉病(invasive aspergillosis, IA)不仅给患者带来身体上的痛苦,还增加了患者的经济负担。截至目前,尚未有完善的标准指南用来防治 IA,环境因素、患者自身的基础疾病、免疫功能下降等危险因素可以增加 IA 的发病风险,因此,分析引起 IA 的相关危险因素尤为重要。本文从 IA 的危险因素及防控措施方面进行以下综述,旨在为控制 IA 的发生提供支持依据。

1 危险因素

1.1 环境因素

1.1.1 病房空气 曲霉菌广泛存在于自然环境中,分布在我们生活的各个角落,如水、物体表面、未净化的空气通风系统及医院病房内的粉尘等。北京某三甲医院的骨髓移植病房、重症监护病房(ICU)和新生儿重症监护病房(NICU)空气采样培养结果显示,3个病区曲霉菌的菌落数分别为 7.73、8.94 和 13.19 CFU/m³;同时,对空气分离的曲霉菌与 3 个

病区患者分离的菌株进行对比分析,发现患者体内的菌株与空气中分离的菌株为同一基因型,说明临床患者感染的曲霉菌可能来源于病房环境中的空气^[1]。伊朗德黑兰的医院也进行了相似的研究,结果发现病房的空气中均检测出不同浓度的曲霉菌^[2-3]。另外,一些学者通过实验证明医院中未过滤的空气、通风系统及医院周围建筑粉尘中均含有大量的曲霉菌^[4]。真菌感染的流行不仅受周围环境的影响,不同地域也可以影响真菌的流行;另外,环境空气中真菌孢子的浓度呈季节性变化。西班牙马德里某医院对空气中曲霉菌浓度进行研究,结果显示,空气中的曲霉菌浓度呈季节性变化,春天时浓度较低(1.3 CFU/mm³),秋天时浓度较高(12 CFU/mm³)^[5]。曲霉菌能够在干燥的环境下存活几个月,主要是由曲霉菌的以下结构特征决定:(1)曲霉菌孢子体积小,其疏水性可以使其在空气中存活较长时间;(2)曲霉菌表面的棘刺可增加空气阻力;(3)曲霉菌能分泌一种疏水蛋白,该蛋白对曲霉菌在空气中生长形成新的孢子起着重要作用;(4)细胞表面的黑色素使其可以耐受紫外线的照射^[6]。以上这些特点为曲霉菌在空气中的传播提供了有利条件。普通人群每天都会吸入许多孢子,真菌孢子可以定植在呼吸道的黏膜中,当人体免疫功能低下时容易引起侵袭性感染。因此,空气传播可能是引起 IA 传播的主要方

[收稿日期] 2017-05-04

[作者简介] 王小红(1991-),女(汉族),湖北省黄冈市人,硕士研究生,主要从事假丝酵母菌流行病危险因素、耐药机制研究。
肖喻(1990-),男(汉族),湖北省荆州市人,硕士研究生,主要从事真菌感染相关研究。同为第一作者。

[通信作者] 曹先伟 E-mail:ndyfygk@163.com

式之一。

1.1.2 水 医院使用的水中也含有真菌及孢子,医院的配水系统中有很多丝状真菌,同时院外的管道水中也发现相同的菌株。采用分子生物学方法分析后发现,水中的曲霉菌与 IA 患者体内分离的病原菌具有同源性^[7]。中国某些医院也进行了医院水源的监测,发现患者体内定植或感染的曲霉菌与水中的曲霉菌有同源性^[1,3]。上述研究均显示水源可能是曲霉菌传播的一种媒介。因此,水源传播可能是 IA 传播的另一种方式。

1.1.3 物体表面 病房的地面、地毯、盆栽、床头桌、墙壁、患者身上的敷料、护士站操作台及治疗车的表面均检测出不同浓度的曲霉菌,通过分子生物学方法证实,上述物体表面检出的曲霉菌与患者体内分离的曲霉菌有同源性。但是,没有文献可以证实是物体表面的曲霉菌产生孢子传播至患者,还是定植在患者体内的曲霉菌传播至病房物体表面。同样,在病房通风口的表面也检测到较高浓度的曲霉菌,运用分子生物学的方法证实通风口处的曲霉菌与患者体内的曲霉菌有同源性^[8]。可能是由于通风口处的温度和湿度适合曲霉菌的生长,而且通风口也是容易被忽视的区域,导致大量的曲霉菌在通风口处定植。因此,病房中物体表面的曲霉菌也可能是 IA 病原菌的来源之一。

1.2 患者自身因素

1.2.1 患者中性粒细胞减少 中性粒细胞减少和细胞免疫缺陷是免疫系统功能下降的主要原因,免疫系统功能下降容易引起侵袭性真菌感染。中性粒细胞在控制感染的过程中扮演着重要角色,这些细胞对急性炎症反应的触发、反应,以及对真菌的清除起着非常重要的作用。中性粒细胞和单核细胞(巨噬细胞)能吞噬休眠的孢子,以呼吸暴发的方式抑制真菌在宿主体内生长。许多学者认为中性粒细胞减少维持的时间越长,中性粒细胞减少越明显,侵袭性真菌病的发生率越高。急性白血病患者真菌感染率与患者体内的白细胞相关,80%白细胞为中性粒细胞,真菌感染率与患者体内的中性粒细胞数量呈负相关;如果中性粒细胞数量下降至 $0.10 \times 10^9/L$,真菌感染的发生率会上升至 100%。另外,患者中性粒细胞减少持续的时间也是非常重要的因素,如果中性粒细胞减少持续 3 个星期,真菌感染的发生率为 60%。中性粒细胞不仅与真菌感染的发生率有关,还与细菌和真菌感染的恢复有关,患者长时间严重的中性粒细胞减少($0.10 \times 10^9/L$)可以引起极高

的致死率^[9-10]。引起中性粒细胞减少的原因很多,如肿瘤细胞毒性药物和放射治疗、自身免疫性疾病、HIV 感染、骨髓增生异常综合征、再生障碍性贫血、长期接受糖皮质激素治疗、骨髓干细胞移植等均可引起中性粒细胞减少。

1.2.2 患者体内铁过量 铁过量一般在需要大量输血的患者中出现,如骨髓增生异常综合征患者。铁对霉菌的生长和毒力起着重要的作用,而且铁过量可能会加重黏膜损伤和破坏患者自身的细胞防御系统。骨髓中铁过量是 IA 发生的一个重要危险因素,研究^[11]发现,部分 IA 患者出现骨髓铁增加。Ibrahim 等^[12]通过研究小鼠 IA 模型,比较两性霉素脂质体单独用药和与铁螯合剂地拉罗司联合用药的疗效,结果显示,地拉罗司单独用药或与两性霉素脂质体联合用药对小鼠 IA 均有效,地拉罗司单独用药不但可以延长 IA 小鼠的生存时间,还能增强两性霉素脂质体的抗真菌作用。体外试验结果显示,铁过量患者使用去铁酮和地拉罗司等新的铁螯合剂可以增加抗真菌药物活性。综上所述,高水平的骨髓铁是 IA 发生的一个独立危险因素。

1.2.3 患者自身基础疾病 患者自身的基础疾病,如肺部疾病、肝疾病、糖尿病、血液系统疾病等可能导致发生 IA 的风险增加。中国有学者^[13]调查显示,侵袭性真菌病的患者常有以下基础疾病:糖尿病(15.8%)、慢性阻塞性肺疾病(13.3%)、恶性血液疾病(10.3%),IA 的发生可能与患者自身基础疾病相关。国外也有学者^[1,14]证明,慢性阻塞性肺疾病、血液疾病、严重的肝疾病、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染及器官移植等可能是引起 IA 发生的危险因素。因此,患者自身的基础疾病可能是 IA 发生的危险因素之一。

1.2.4 患者自身的其他危险因素 近年有学者研究^[15]证实,与先天性免疫和特异性免疫相关的一些基因突变可以引起侵袭性真菌病。有研究^[16-17]证明,侵袭性真菌病的发生与一些基因相关,已经发现 13 个免疫相关基因,其中 22 个单核苷酸多态性与烟曲霉菌的感染和预后有关,如调节白介素(IL-10)、细胞因子(IL-1 子)和细胞因子受体(TNF2R)的基因,Toll 样受体(TLRs)基因的多态性和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)基因的多态性。

IL-10 是一个调节炎症反应的细胞因子。目前认为与 IL-10 启动相关的基因有 ATA 和 ACC。有研究已经观察到 ACC 单体型与 IL-10 的下降有关,相比 IL-10 未降低的患者来说,ACC 单型的患者

侵袭性真菌病的发生率降低至原来的 1/9;而在有 ATA 单体型(与 IL-10 的上调有关)的患者侵袭性真菌病发生率则明显升高^[18]。

TLRs 是一类表达在免疫细胞表面的跨膜蛋白,主要通过几种衔接蛋白相互作用激活转录因子来调节炎症因子和特异性免疫。TLRs 的多态性可以增加侵袭性真菌病发生的风险。上皮细胞中 TLR2 和 TLR4 的缺失会使侵袭性真菌病的发生率增高,也有学者发现 TLR1 和 TLR6 的多态性可以出现类似的结果^[19]。

TNF- α 由吞噬细胞分泌,发生真菌感染时能够激活 T 淋巴细胞;TNF- α 是通过 TNFR1 激发促炎因子发挥作用。TNFR1 基因的多态性与 IA 感染有关,有学者^[20]已经证明 IA 患者 TNFR1 的 mRNA 表达量较非 IA 患者明显降低。纤溶酶原基因和甘露聚糖结合凝集素基因的多态性也是引起 IA 的基因因素。另外,与 IA 相关的还有 14 个编码细胞因子、趋化因子及其受体(CCL2、CCR1、CCR5、CCR7、CXCL10、ICAM-1、IFNG、IL-4、IL-6、IL-10、IL-12B、IL-18、SCYA20)^[21]。

2 防治措施

临床上确保住院患者生活在没有孢子的环境下是很难的,但我们可以通过采取相应的措施,尽量使住院患者 IA 发病率降至最低,可以从以下方面努力。

2.1 空气 医院环境空气中曲霉菌孢子浓度是 IA 的一个主要危险因素。因此,可以采取相应措施,控制环境空气中曲霉菌孢子的浓度,减少免疫功能不全或低下的患者曲霉菌暴露,降低患者 IA 的发生率,如应用高效粒子空气净化和层流的方式改善医院的空气质量^[21]。空气粒子净化器对大于 0.3 μm 直径的粒子是非常有效的,有效率高达 99.97%,病房中使用这种净化器后,空气中的曲霉菌浓度明显下降。有学者^[22]认为,可通过适当的限制病房空调的使用,降低曲霉菌浓度;还可将进行干细胞移植后的患者及严重中性粒细胞减少($<100 \text{ cells}/\text{mm}^3$)超过一周的患者转到特殊病房,特殊病房空气中的曲霉菌浓度需进行严格监测,当患者的中性粒细胞升至 $500 \text{ cells}/\text{mm}^3$ 以上时,可将其转移到普通病房;还可以通过加强病房环境曲霉菌的控制措施,如定期检查病房空调通气口,控制病房周围建筑施工等,将空气中的曲霉菌孢子浓度降至最低。有学者

提议,未净化的空气中曲霉菌最高浓度应不超过 $5 \text{ cells}/\text{mm}^3$,但也有其他学者推荐最高浓度应不超过 $10\sim 25 \text{ cells}/\text{mm}^3$,高效粒子空气净化器净化空气后,空气中曲霉菌的最高浓度应不超过 $0.1 \text{ cells}/\text{mm}^3$ ^[8]。

2.2 水 医院内用水可以成为曲霉菌传播的媒介之一,因此,医院内循环水系统的处理对减少曲霉菌病的发生有重要作用。医院病房内的浴室需要进行常规的消毒处理,包括浴室的墙壁和地板,可以降低水源中曲霉菌的浓度;但是,由于水源中的曲霉菌最低浓度至今无统一的标准,日常的水源监测并没有推荐对霉菌孢子进行监测。另外,高危患者的房间需要每日进行消毒,地板表面有溢出的液体均要立即清理。清洁工具可能携带粉尘和孢子残体,因此清洁工具不能继续清理其他地方^[22-23]。

2.3 药物预防 尽管通过对医院内水和空气采取的相应措施可有效地降低医院 IA 的发生率,但有些高危患者 IA 发生率仍未降低,因此,有学者推荐使用抗真菌药物预防高危患者 IA 的发生。有研究^[9]显示,接受过造血干细胞移植和化学治疗的患者预防性使用抗真菌药物后,侵袭性真菌病的患病率有所下降。虽然预防性使用抗真菌药物可以使 IA 发生率下降,但需要在综合评估预防用药的合理性、费用、抗真菌药物的有效性和毒性、抗真菌药物的诱导耐药等问题之后才使用。预防用药的维持时间没有统一的标准,目前主要根据患者的基本情况决定,如中性粒细胞减少症患者预防性用药的时间需依据中性粒细胞的数量 $>1000 /\mu\text{L}$ 确定^[11]。

2.4 铁过量治疗 目前,一些研究已证明在体外联合使用铁螯合剂(乳铁蛋白、环匹罗司)和去铁酮能够更有效地抑制曲霉菌的孢子增长,比单独使用两性霉素 B、酮康唑和氟康唑的效果好,美国食品药品监督管理局和欧洲药监局都已批准去铁酮作为临床用药^[24],为使用去铁酮相关的衍生物控制 IA 的发生、发展提供了新的治疗方向。

2.5 免疫治疗和疫苗 先天性免疫是通过 T 细胞介导来防御曲霉菌感染,特别是 Th1 细胞免疫应答产生对抗真菌的抗原。免疫功能低下患者发生 IA 的风险较高,主要由于各种原因(包括糖皮质激素治疗)导致自身 T 细胞的免疫功能下降。有学者^[25]证明小鼠注射曲霉菌孢子特异性的 Th1 细胞后转化产生 CD4^+ T 细胞能使小鼠 IA 发生率降低。另外,其他学者采用针对曲霉菌的特异性免疫治疗方法治疗那些接受造血干细胞的患者,患者的免疫功能得

到较快的恢复^[26]。最近,有学者^[27]提出新的免疫治疗方法,在患者尚未出现免疫功能不全或低下时的某个时间给予接种疫苗,可以有效地降低患者 IA 的发病率。严重免疫功能不全的患者在接受移植后一年内接种疫苗不能发挥有效作用,因此,新的免疫治疗方法对这些免疫功能不全患者效果不佳。但是,有学者^[28]已经通过动物模型证实在动物出现免疫功能不全或低下(中性粒细胞减少和糖皮质激素治疗)之前进行曲霉菌疫苗接种,实验动物 IA 的发病率明显下降,说明曲霉菌疫苗可能是将来防治 IA 的一种方法。

2.6 其他防治方案 病房的地面、毛地毯、盆栽、护士操作台及通风口等物体表面可以吸附较多的曲霉菌和曲霉菌孢子,再加上患者自身的基础疾病导致免疫功能低下等,均可能是 IA 发生的潜在危险因素。因此,积极治疗患者的基础疾病,定期对病房物体表面进行清洁、消毒,减少物体表面的真菌孢子浓度,严格规范的无菌操作都可以较好地控制 IA 的发生。

3 小结

IA 患者一般自身免疫功能低下,且往往合并多种严重基础疾病,不仅需要花费很多医疗资源,并且治疗效果不佳。临床医护人员应重点预防 IA 的发生,在今后的研究工作中给予足够的重视。分析 IA 发生的危险因素,对预防和控制 IA 的发生有重要意义。我们应开展更多深入的研究,帮助临床医务人员制定完善的预防和控制措施,为控制 IA 的发生提供帮助。

[参考文献]

[1] Ao JH, Hao ZF, Zhu H, et al. Environmental investigations and molecular typing of *Aspergillus* in a Chinese hospital[J]. Mycopathologia, 2014, 177(1-2): 51-57.

[2] Azimi F, Naddafi K, Nabizadeh R, et al. Fungal air quality in hospital rooms: a case study in Tehran, Iran[J]. Environ Health Sci Eng, 2013, 11(1): 30.

[3] Alananbeh KM, Boquellah N, Kaff NA, et al. Evaluation of aerial microbial pollutants in Al-Haram Al-Nabawi during pilgrimage of 2013[J]. Saudi J Biol Sci, 2017, 24(1): 217-225.

[4] Guinea J, Peláez T, Alcalá L, et al. Outdoor environmental levels of *Aspergillus spp.* conidia over a wide geographical area[J]. Med Mycol, 2006, 44(4): 349-356.

[5] Falade TD, Syed Mohdhamdan SH, Sultanbawa Y, et al. In

vitro experimental environments lacking or containing soil separately affect competition experiments of *Aspergillus flavus* and co-occurring fungi in maize grains[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2016, 33(7): 1241-1253.

- [6] Hachem R, Gomes MZ, El Helou G, et al. Invasive aspergillosis caused by *Aspergillus terreus*: an emerging opportunistic infection with poor outcome independent of azole therapy[J]. J Antimicrob Chemother, 2014, 69(11): 3148-3155.
- [7] 江银辉, 张彪, 吴昌学, 等. 贵阳市 5 所医院呼吸科病房空气中曲霉菌种类及携带真菌病毒调查[J]. 贵阳医学院学报, 2016, 41(8): 907-910.
- [8] Schweer KE, Jakob B, Liss B, et al. Domestic mould exposure and invasive aspergillosis-air sampling of *Aspergillus spp.* spores in homes of hematological patients, a pilot study [J]. J Antimicrob Chemother, 2016, 54(6): 576-583.
- [9] Kargar M, Ahmadvand A, Ahmadvand M, et al. The prevalence of antifungal agents administration in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective study[J]. Int J Hematol Oncol Stem Cell Res, 2013, 7(3): 1-8.
- [10] Imbert S, Gauthier L, Joly I, et al. Aspergillus PCR in serum for the diagnosis, follow-up and prognosis of invasive aspergillosis in neutropenic and nonneutropenic patients[J]. Clin Microbiol Infect, 2016, 22(6): 562. e1-8.
- [11] Long N, Xu X, Qian H, et al. A putative mitochondrial iron transporter MrsA in *Aspergillus fumigatus* plays important roles in azole-, oxidative stress responses and virulence[J]. Front Microbiol, 2016, 7: 716.
- [12] Ibrahim AS, Gebremariam T, French SW, et al. The iron chelator deferiasirox enhances liposomal amphotericin B efficacy in treating murine invasive pulmonary aspergillosis[J]. J Antimicrob Chemother, 2010, 65(2): 289-292.
- [13] 何洪文, 刘于先, 曾飞凤, 等. 呼吸科与 ICU 侵袭性肺部真菌感染的临床观察[J]. 基层医学论坛, 2017, 21(2): 171-173.
- [14] Ozger S, Hizel K, Kalkanci A, et al. Evaluation of risk factors for invasive pulmonary aspergillosis and detection of diagnostic values of galactomannan and PCR methods in bronchoalveolar lavage samples from non-neutropenic intensive care unit patients[J]. Mikrobiyol Bul, 2015, 49(4): 565-575.
- [15] Weyda I, Lübeck M, Ahring BK, et al. Point mutation of the xylose reductase (XR) gene reduces xylitol accumulation and increases citric acid production in *Aspergillus carbonarius* [J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2014, 41(4): 733-739.
- [16] Dhingra S, Lind AL, Lin HC, et al. The fumagillin gene cluster, an example of hundreds of genes under *veA* control in *Aspergillus fumigatus* [J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77147.
- [17] Li Y, Yang H, Wu X. Pretreatment with TLR2 and TLR4 ligand modulates innate immunity in corneal fibroblasts challenged with *Aspergillus fumigatus* [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(6): 4261-4270.
- [18] Camargo JF, Bhimji A, Kumar D, et al. Impaired T cell re-

- sponsiveness to interleukin-6 in hematological patients with invasive aspergillosis[J]. *PLoS One*, 2015, 10 (4): e0123171.
- [19] Koldehoff M, Beelen DW, Elmaagacli AH. Increased susceptibility for aspergillosis and post-transplant immune deficiency in patients with gene variants of TLR4 after stem cell transplantation[J]. *Transpl Infect Dis*, 2013, 15(5): 533 - 539.
- [20] Yoon CS, Kim DC, Lee DS, et al. Anti-neuroinflammatory effect of aurantiamide acetate from the marine fungus *Aspergillus sp.* SF-5921: inhibition of NF-kappaB and MAPK pathways in lipopolysaccharide-induced mouse BV2 microglial cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 23(2): 568 - 574.
- [21] Homma T, Kato A, Bhushan B, et al. Role of *Aspergillus fumigatus* in triggering protease-activated receptor-2 in airway epithelial cells and skewing the cells toward a T-helper 2 Bias [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 54(1): 60 - 70.
- [22] Bonnal C, Leleu C, Brugière O, et al. Relationship between fungal colonisation of the respiratory tract in lung transplant recipients and fungal contamination of the hospital environment[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0144044.
- [23] Biedunkiewicz A, Kowalska K, Schulz L, et al. Mycological monitoring of selected aquatic ecosystems in the context of epidemiological hazards. Drinking water [J]. *Ann Parasitol*, 2014, 60 (3): 191 - 198.
- [24] Nazik H, Penner JC, Ferreira JA, et al. Effects of iron chelators on the formation and development of *Aspergillus fumigatus* biofilm [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59 (10): 6514 - 6520.
- [25] Diaz-Arevalo D, Kalkum M. CD4(+) T cells mediate Aspergillosis vaccine protection[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1625: 281 - 293.
- [26] Jolink H, Hagedoorn RS, Lagendijk EL, et al. Induction of *A. fumigatus*-specific CD4-positive T cells in patients recovering from invasive aspergillosis[J]. *Haematologica*, 2014, 99 (7): 1255 - 1263.
- [27] Blyth CC, Gilroy NM, Guy SD, et al. Consensus guidelines for the treatment of invasive mould infections in haematological malignancy and haemopoietic stem cell transplantation, 2014 [J]. *Intern Med J*, 2014, 44(12b): 1333 - 1349.
- [28] Champer J, Diaz-Arevalo D, Champer M, et al. Protein targets for broad-spectrum mycosis vaccines: quantitative proteomic analysis of *Aspergillus* and coccidioides and comparisons with other fungal pathogens [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1273: 44 - 51.

(本文编辑:孟秀娟、左双燕)