

周后 EBV-DNA 未转阴的影响因素包括使用干扰素与否、年龄以及初始 Ct 值等。

参考文献

[1] 崔强华,孙莉,吴琳,等. EB 病毒感染对儿童传染性单核细胞增多症 T 细胞亚群的影响[J]. 重庆医学,2017,46(25):3491-3493.

[2] 何启明,贾英姿,石正英. EB 病毒抗体检测在诊断 EBV 相关性传染性单核细胞增多症中的意义[J]. 实用临床医药杂志,2018,22(13):106-108.

[3] 黄琳琳,幸娟霞,邓文平. 反应性淋巴细胞、白细胞分类及 EB 病毒与儿童传染性单核细胞增多症的关系[J]. 检验医学,2018,33(8):727-729.

[4] 张敏杰,高玉芳,杨飞飞,等. 中国人群传染性单核细胞增多症患者抗 EB 病毒抗体阳性检出率的 Meta 分析[J]. 检验医学,2020,35(3):214-223.

[5] 张书婉,吴爽,徐蓓,等. 儿童传染性单核细胞增多症不同抗体模式下血浆 EB 病毒核酸检出率和载量的研究[J]. 山西医科大学学报,2018,49(12):1513-1516.

[6] 吴菲,刘森. EBV-CA IgM,EBV DNA 和异型淋巴细胞在

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.18.030

儿童传染性单核细胞增多症中的诊断价值[J]. 中华全科医学,2020,18(8):1341-1343.

[7] 刘晋丽,杨春霞. EB 病毒抗体检测在儿童传染性单核细胞增多症诊断中的应用[J]. 中国药物与临床,2019,19(11):1900-1901.

[8] 郑岚,程娟,潘秋辉,等. 抗 EB 病毒衣壳抗原 IgG 抗体亲和力诊断儿童传染性单核细胞增多症的价值及患儿免疫状态的变化[J]. 检验医学,2019,34(5):408-414.

[9] 雷宏涛,王杰民. EBV-IgM 与 EBV-DNA 检测在小儿传染性单核细胞增多症诊治中的应用价值[J]. 陕西医学杂志,2014,22(4):427-428.

[10] 陈新敏,梁华,郭燕,等. 异型淋巴细胞比例联合 EB 病毒抗体及核酸检测在儿童传染性单核细胞增多症辅助诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2021,42(4):501-503.

[11] 王坪河,梁维平. EBV 抗体联合 DNA 载量对儿童传染性单核细胞增多症的诊断价值分析[J/CD]. 现代医学与健康研究(电子版),2021,5(14):110-112.

(收稿日期:2022-01-14 修回日期:2022-07-15)

重庆市真菌形态学室间质量评价的建立及运行分析

王淑玲,张震,徐兰兰,颜令,廖璞[△]
重庆市人民医院检验科,重庆 400014

摘要:目的 分析重庆市 2019—2021 年开展的真菌形态学室间质量评价结果,了解目前重庆市实验室微生物人员的真菌形态学读片水平,提高重庆市实验室真菌鉴定能力。方法 重庆市临床检验中心制备发放真菌形态学图片标本,收集参加实验室上报的数据,对结果进行统计分析。结果 重庆市参加真菌形态学室间质量评价的实验室主要是三级和二级医疗机构实验室。2019—2021 年,参加的实验室由 28 家增加到 53 家,实验室合格率由 53.6% 上升到 94.3%。实验室对常见真菌读片完全符合率高于少见真菌。结论 经过 3 年时间运行,重庆市实验室真菌形态学读片水平提高,推动了实验室微生物人员对真菌形态学的重视和学习,能为临床提供准确的检查结果。

关键词:室间质量评价; 真菌形态学; 乳酸酚棉兰染色
中图法分类号:R446.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2022)18-2565-03

2016 年 12 月 9 日,原国家卫生和计划生育委员会发布《关于提高二级以上综合医院细菌真菌感染诊疗能力的通知》,要求地方各级卫生行政部门要加强对二级以上综合医院细菌真菌感染诊疗能力建设的指导和监督,不断提高其细菌真菌感染诊疗水平。目前,真菌感染的发生率不断增加,实验室对真菌感染的检测方法主要有直接镜检、微生物培养、血清学实验和分子生物学检测。真菌的检测起步晚,真菌检测大多仍是通过形态学鉴定。感染性疾病的医疗诊治大多基于实验室的检测结果,这些结果可以影响临床诊断治疗。形态学往往是微生物检验人员的薄弱环

节,应培养微生物人员学习真菌形态学知识的兴趣,并保证检验质量。基于现状,重庆市临床检验中心率先开展了真菌形态学的室间质量评价(以下简称室间质评),并在重庆市初步实施,本研究通过对 2019—2021 年 3 次室间质评结果的分析,了解重庆市实验室真菌形态学读片能力和存在问题,以更好地为临床服务。

1 材料与方法

1.1 真菌菌落图片及镜下形态图片制作 收集临床工作中分离的典型菌株,接种于血平板、沙保罗琼脂培养基(SDA)及马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA),28℃或 35℃培养,培养时间根据真菌生长速度而不

[△] 通信作者,E-mail:liaopu2015@163.com。
网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20220818.1646.002.html\(2022-08-19\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1167.R.20220818.1646.002.html(2022-08-19))

同。用相机拍摄菌落形态和染色镜下典型图片,根据真菌特点选择革兰染色、乳酸酚棉兰染色、荧光染色、墨汁染色、生理盐水湿片、六胺银染色或临床标本 KOH 湿片,低倍镜或高倍镜下拍摄形态图片,图片刻录光盘。

1.2 室间质评方法 2019—2021 年开展 3 次室间质评,重庆市临床检验中心每次发放 5 个样品,重庆市参加室间质评的实验室按照通知信息收到读片并在规定日期前检测和上报。

1.3 评价方法 依据《CNAS-GL002:2018 能力验证结果的统计处理和能力评价指南》^[1],统计参评实验室对质评标本的测定结果与预期结果的符合程度。真菌读片鉴定种属均正确得 20 分(部分少见真菌例外),属正确部分符合得 10 分,其他不得分。总分≥80 分为合格。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行数据处理。计数资料以例数、百分率表示,比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 参加真菌形态学室间质评并上报数据的实验室数和合格率 2019—2021 年,参加该项目室间质量评价的实验室数从 28 家增加至 53 家,合格率从 53.6% 增加到 94.3%,见表 1。

表 1 参加真菌形态学室间质评的实验室数和合格率					
年份	参加 实验室数	回报数据 实验室数	合格 实验室数	不合格 实验室数	合格率 (%)
2019 年	28	28	15	13	53.6
2020 年	41	41	38	3	92.7
2021 年	53	53	50	3	94.3

2.2 参加真菌形态学室间质评的实验室构成和合格率 2019—2021 年,参加室间质评的实验室主要是综合性二、三级医院的实验室。二级医院实验室合格率由 50.0% 上升到 90.9%。在 2019—2021 年,三级医院实验室合格率均高于二级医院实验室,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 2 2019—2021 年参加真菌形态学室间质评的实验室构成和合格率				
年份	上报数据 实验室级别	合格 实验室数	不合格 实验室数	合格率 (%)
2019 年	三级医院	12	1	92.3 [*]
	二级医院	6	6	50.0
	中医院	1	1	50.0
	民营医院	0	1	0.0
2020 年	三级医院	16	0	100.0 [*]
	二级医院	17	2	89.5
	中医院	3	1	75.0

续表 2 2019—2021 年参加真菌形态学室间质评的实验室构成和合格率				
年份	上报数据 实验室级别	合格 实验室数	不合格 实验室数	合格率 (%)
2021 年	妇幼保健院	1	0	100.0
	民营医院	1	0	100.0
	三级医院	22	0	100.0 [*]
	二级医院	20	2	90.9
	中医院	5	1	83.3
	妇幼保健院	1	0	100.0
	民营医院	1	0	100.0
	第三方实验室	1	0	100.0

注:与同年二级医院相比,^{*} $P<0.05$ 。

2.3 真菌形态学读片结果 2019—2021 年共发放 15 个标本,完全符合率在 32.1%~100.0%。实验室对常见真菌读片完全符合率高于少见真菌,如常见烟曲霉复合群完全符合率为 92.7%,黑曲霉复合群完全符合率为 96.2%;少见的阿萨希毛孢子菌完全符合率为 57.1%,镰刀菌属完全符合率为 82.1%,木霉属完全符合率为 83.0%。见表 3。

表 3 真菌形态学读片结果				
标本编号	预期结果	完全符合 实验室数	部分符合 实验室数	完全符合率 (%)
201921	新型隐球菌/隐球菌属	9	0	32.1
201922	杂色曲霉复合群	10	15	35.7
201923	阿萨希毛孢子菌	16	0	57.1
201924	镰刀菌属	23	0	82.1
201925	耶氏肺孢子菌	27	0	96.4
202021	尖端赛多孢菌	36	4	87.8
202022	烟曲霉复合群	38	2	92.7
202023	土曲霉复合群	36	4	87.8
202024	新型隐球菌/隐球菌属	41	0	100.0
202025	小孢根霉/根霉菌属	37	0	90.2
202121	须癣毛癣菌	49	1	92.5
202122	木霉属	44	0	83.0
202123	黑曲霉复合群	51	2	96.2
202124	链格孢属	53	0	100.0
202125	茄病镰刀/镰刀菌属	53	0	100.0

3 讨 论

在真菌病的诊治过程中,病原真菌的鉴定是至关重要的一环,对真菌病的成功治疗具有重要的指导价值。尽管分子生物学真菌鉴定方法具有快捷、精准的特点,但因成本费用所限,普及程度并不高,并且试剂盒之间存在很大差异^[2]。基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)应用于临床酵母菌菌

种鉴定且成效显著,但是由于丝状真菌的蛋白质提取难度大,所以 MALDI-TOF MS 在丝状真菌鉴定效能及应用程度受到影响^[3]。而真菌形态学鉴定方法试剂简单、费用低廉、开展方便,具有诊断的直观性^[4],故迄今为止,真菌形态学鉴定方法依然是临床实践中传统可靠的诊断方法,但也是微生物检验人员的薄弱环节。

目前重庆市开展真菌检测并参加真菌形态学室间质评的主要是三级和二级医疗机构实验室,三级医疗机构实验室符合率高于二级医疗机构实验,而二级医疗机构实验室符合率提高比较快。实验室重视程度和人员学习积极性在增加。

真菌形态学鉴定通过观察真菌在培养基上的生长速度、颜色和菌落质地,借助显微镜观察菌丝结构和孢子发生来鉴定真菌^[5]。重庆市临床检验中心从 2019 年开始建立并逐步完善真菌形态学室间质评体系,2019—2021 年 3 次室间质评图片覆盖了 10 个菌属,涉及了酵母菌、酵母样菌和丝状真菌。每种菌提供典型菌落形态(提供培养信息)、显微镜下典型特征和经典染色图片。真菌形态学室间质评考核了分枝分隔的透明菌丝;宽大、无隔、透明菌丝及暗色菌丝;瓶梗产孢的曲霉、木霉;孢子囊产孢的根霉;孔出产孢的链格孢属;环痕产孢的尖端赛多孢菌;关节孢子的阿萨希毛孢子菌和大、小分生孢子的须癣毛癣菌。而对这些形态的认知能力是临床微生物实验室真菌检测能力建设的基本要求^[6]。实验室人员对常见真菌的读片能力好于少见真菌。隐球菌引起的肺炎和脑膜炎,临床表现差异大及缺乏特异性,预后差,病死率高,需要检验科提供快速、准确的结果。临床标本中经典染色方法为墨汁负染,原始标本革兰染色也可看到宽大、不着色荚膜区。对新型隐球菌读片的第 1 次(201921 号)完全符合率为 32.1%,重庆市临床检验中心根据反馈结果采取相应的措施,第 2 次(202024 号)发放隐球菌,完全符合率为 100.0%。曲霉菌是实验室分离最多的丝状真菌,各实验室对常见烟曲霉复合群(202022 号)和黑曲霉复合群(202123 号)的读片完全符合率高,分别为 92.7%和 96.2%,土曲霉复合群(202023 号)完全符合率为 87.8%,少见的杂色曲霉复合群(201922 号)完全符合率仅为 35.7%。曲霉镜下鉴别点主要是通过菌落形态和分生孢子头结构加以区别^[7]。我国是农业大国,植物性外伤是发生真菌性角膜炎的主要因素,镰刀菌属是真菌性角膜感染的最常见病原菌^[8]。角膜刮取物涂片可查见菌丝,可根据培养菌落颜色、大小分生孢子形态、厚壁孢子有无进行种间鉴别,部分镜下难以区分时需要进行测序鉴定。2 次发放茄病镰刀复合群,完全符合率由 82.

1%升到 100.0%。201923 号标本目标真菌为阿萨希毛孢子菌,有 16 家实验室回报正确,另外有 11 家实验室回报热带念珠菌。阿萨希毛孢子菌属于毛孢子菌属,是一种条件致病菌,为酵母样真菌,可引起免疫缺陷患者各种机会性感染,镜下结构非常丰富^[9-10]。阿萨希毛孢子菌和热带念珠菌在 CHROMagar 念珠菌显色培养基上均显蓝色,但热带念珠菌革兰染色镜下只有芽生孢子和假菌丝,而阿萨希毛孢子菌可见真、假菌丝和芽生、关节孢子,可用于区分这两种真菌。

临床检测工作中,建立质量控制已是常态,但真菌形态学还没有制订标准。重庆市临床检验中心 3 次发放真菌形态学图片,微生物人员开始重视对真菌形态的学习,各实验室之间一致性和正确性逐渐提高。另外,微生物人员应加强对少见真菌的学习,这样才能更好地服务临床,这也是室间质评的目的所在。

参考文献

- [1] KUPSCH C, GRÄSER Y. Genome detection of dermatophytes: current findings from the external quality assessment test[J]. Hautarzt, 2019, 70(8): 627-637.
- [2] 中国合格评定国家认可委员会. 能力验证结果的统计处理和评价指南: CNAS-GL002[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2018.
- [3] 李颖, 徐英春. MALDI-TOF MS 在病原性丝状真菌鉴定中的应用进展[J]. 中国真菌学杂志, 2017, 12(6): 378-381.
- [4] 张曼, 徐英春, 王瑶, 等. 临床微生物检验诊断报告模式专家共识[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(12): 937-939.
- [5] 王端礼, 李若瑜, 王晓红. 孢子发生在真菌菌种鉴定中的作用[J]. 中国真菌学杂志, 2007, 2(2): 65-67.
- [6] 杨启文, 倪语星, 林丽开, 等. 临床微生物实验室真菌检测能力建设基本要求专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(7): 514-528.
- [7] 王端礼. 医学真菌学实验室检验指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 264-283.
- [8] 金丽丽, 秦晓怡, 陈鹏飞, 等. 温州某医院 258 例真菌性角膜炎诊疗分析[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2020, 22(12): 928-933.
- [9] 叶丽, 高灵素, 丁美琪, 等. 阿萨希毛孢子菌致白血病患者血流感染 1 例[J]. 中国真菌学杂志, 2021, 16(2): 125-127.
- [10] SUBRAMANIAN A, SHEELA D, ABRAHAM G, et al. Trichosporon asahii infection associated with glomerulonephritis in a diabetic patient[J]. Med Mycol Case Rep, 2021, 35: 15-17.