

急性呼吸道感染病原体的临床检验诊断路径

童永清¹ 赵志军² 徐万洲¹ 郑红云¹ 顾剑¹ 李艳¹

¹武汉大学人民医院检验医学中心, 武汉 430060; ²宁夏回族自治区临床病原微生物重点实验室, 银川 750004

通信作者: 李艳, Email: climdc@163.com

【摘要】急性呼吸道感染居我国各类感染性疾病首位, 尤其是下呼吸道感染及其相关疾病是我国医疗和社会的沉重负担, 特别是新型冠状病毒肺炎造成了极大的损失, 因此急性呼吸道感染及时的诊断与鉴别诊断尤为重要。本文就呼吸道感染病原体临床检验诊断路径的规范化进行探讨, 以便提高疾病的正确诊断与分流, 有利于疾病的及时治疗。

【关键词】急性病; 呼吸道感染; 临床实验室技术

基金项目: 武汉大学医学部教学研究项目 (2019013)

DOI:10.3760/cma.j.cn 114452-20200316-00251

Clinical laboratory diagnostic pathway of acute respiratory pathogen infection

Tong Yongqing¹, Zhao Zhijun², Xu Wanzhou¹, Zheng Hongyun¹, Gu Jian¹, Li Yan¹

¹Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China;

²Ningxia Key Laboratory of Clinical and Pathogenic Microbiology, Yinchuan 750004, China

Corresponding author: LiYan, Email: climdc@163.com

【Abstract】 Acute respiratory tract infections ranks first in China for various infectious diseases. Lower respiratory tract infections and related diseases caused a heavy burden on China's medical care and society. In particular, COVID has caused great losses. This article discusses the standardization of clinical pathological diagnosis of respiratory pathogen infection, in order to improve the correct diagnosis of the disease and facilitate the timely treatment of the disease.

【Key words】 Acute disease; Respiratory tract infections; Clinical laboratory techniques

Fund program: Wuhan University College of Medicine Teaching Research Project (2019013)

DOI:10.3760/cma.j.cn 114452-20200316-00251

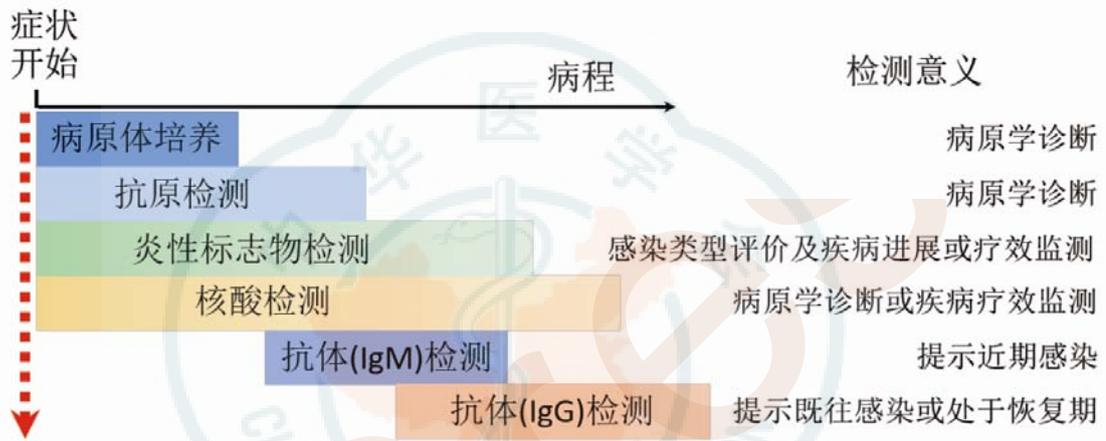
急性呼吸道感染 (acute respiratory tract infection, ARTI) 可发生于呼吸道的任何部位, 是最常见的感染性疾病之一, 尤其是下呼吸道感染或合并的下呼吸道感染, 是所有感染性疾病中的主要死因。各种生物体可引起 ARTI, 包括病毒, 细菌, 支原体、衣原体、真菌和寄生虫等, 病毒, 如流感病毒、合胞病毒、鼻病毒等, 是 ARTI 最常见的原因。可引起暴发流行或公共卫生事件的呼吸道病原体主要有: 流感病毒、中东呼吸综合征冠状病毒和新型冠状病毒等^[1-3]。

部分 ARTI 患者临床病程迁延、并发症增多, 且检测项目有限, 病原学循证资料有限,

导致治疗不足与治疗过度，或治疗失败，患者及医疗机构负担重。因此，早期发现呼吸道感染的病原体对于改善个体患者的预后和预防疾病的传播至关重要^[4]。

一、ARTI 检测流程

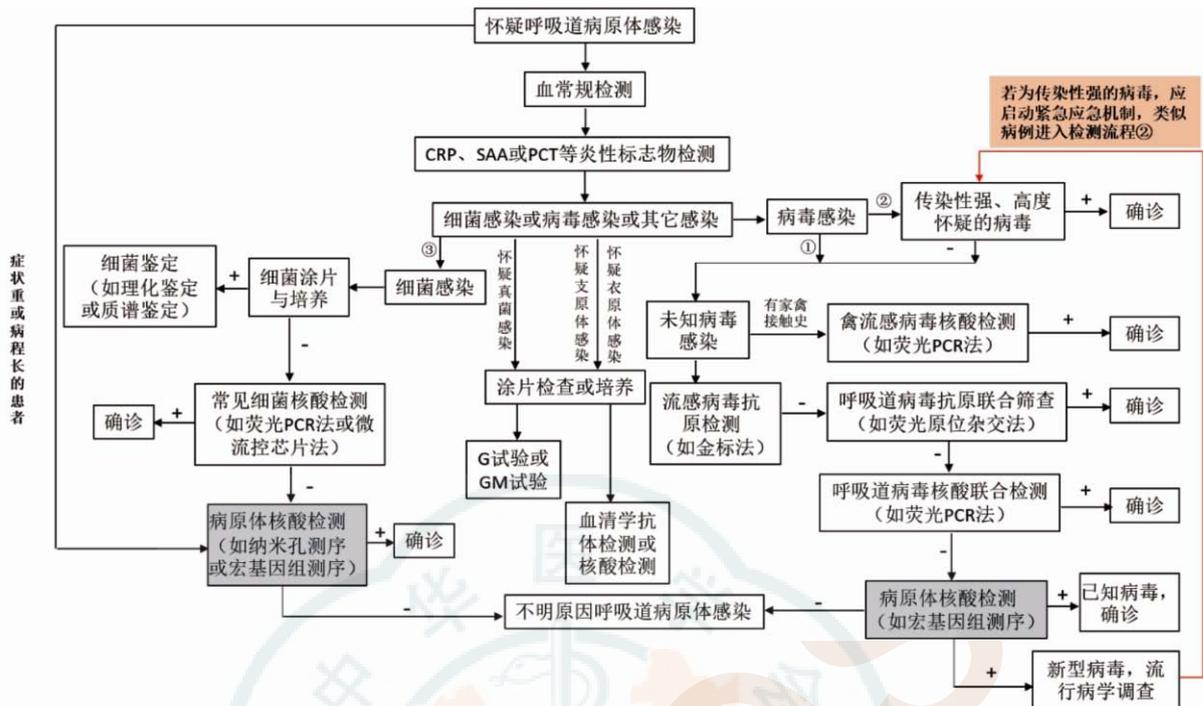
一般而言，上呼吸道感染主要以病毒为主，占 70%~80%^[5]，下呼吸道病原体较为复杂。呼吸道病原体感染后，早期临床症状不典型，如仅表现为发热、咳嗽或头痛等，此时可以进行病原体的培养、病原体抗原检测、炎性标志物检测及病原体核酸检测等，随着疾病进展，可以进行病原体的抗体检测，见图 1。因此，对怀疑呼吸道病原体感染的患者，应建立规范化的检测流程，便于临床快速查找病因。



注：按照红色箭头示意图从上至下根据病情发展进行检测

图 1 呼吸道感染疾病进程中临床实验室项目检测及临床意义示意图

1.ARTI 常规检测流程：由于呼吸道病原体感染较为复杂，疾病早期临床症状不典型，难以通过临床症状等进行有效的诊断，需要结合临床实验室检测结果进行判断。因此呼吸道病原体感染的患者，检测项目选择时往往需要结合季节、地域流行等特点，针对性地进行检查。通过临床症状结合临床实验室常规的检测项目如血常规、炎性标志物等初步区分感染类型，再逐步进行靶向检测，见图 2。考虑病毒感染时，应结合不同病毒的流行季节，进行针对性病毒检查，如流感病毒，结合患者的接触史，可以考虑禽流感病毒感染等。为确诊患者感染病原体的种类，必要时应该进行联合检测，优先选择可快速出报告的检验项目，再选择检测周转时间较长的检验项目，如先选择病毒抗原检测（如金标法或化学发光法等），再选择病毒核酸检测（如荧光定量聚合酶链反应法或微流控芯片法等）。呼吸道病原体感染，无论考虑是细菌感染还是病毒感染，如果临床实验室经过检测多种常见病原体后仍然为阴性的，有条件的实验室应该进行高通量测序，以便及时发现呼吸道感染的病原体。



注：①为常规病毒感染检测流程，②为高传染性病毒检测流程，③为细菌和其他非病毒感染检测流程。-表示检测为阴性，+表示检测为阳性，灰色框中为实验室自建检测方法

图 2 呼吸道感染性疾病临床实验室规范化检测流程示意图

2.特殊检测流程：以新型冠状病毒肺炎为例，早期通过传统检测策略无法找到确切的病原体，结合患病病史、影像学 and 检验医学相关检测项目，诊断为不明原因的病毒性肺炎，在病因未明确前可以按照图 2 中的①常规病毒感染检测流程进行检测。在病因明确后应按图 2 中②为高传染性病毒检测流程进行检测。图 2 中的红色箭头所示为这次新型冠状病毒感性的肺炎临床实验室检验的完整流程。在疾病诊治过程中，应随着病情的变化及时检测是否存在细菌等合并感染，可以按照图 2 中的③细菌和其他非病毒感染检测流程进行检测。2020 年 2 月 18 日国家卫生健康委办公厅发布的《关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案（试行第七版）的通知》（国卫办医函〔2020〕184 号文）对检测流程进行了简要的表述。

二、实验室检测项目及意义

呼吸道感染病原体临床实验室检测涉及众多的检测项目和检测方法，临床实验室在进行选择时应考虑其用途，见图 1。病原体培养、涂片检查是病原学诊断的重要手段，其缺点是阳性率不高，需要其他检测方法进行补充。炎性标志物早期反映机体感染的状态，还可用于疾病进展及疗效的监测等，但其缺点是不用于感染病原体的诊断。病原体抗原检测和核酸检测均可进行病原学诊断，有利于快速确定病原体的种类，但由于呼吸道感染病原体种类繁多，缺乏相应的检测试剂盒，易造成漏诊。病原体抗体检测主要针对特定的病原体检测，标本来源方便，能快速发现感染的病原体，缺点是无法用于疾病的早期诊断。

1.炎性标志物检测：呼吸道感染后，机体应激反应时会释放一系列炎症因子^[6]，如肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor- α , TNF- α ）、白细胞介素（interleukin, IL）-6、IL-10、C-

反应蛋白（C-reactionprotein, CRP）、血清淀粉样蛋白（serum amyloid A, SAA）和降钙素原（procalcitonin, PCT）等，这些炎性因子与随着临床进展变化而变化，见图3。临床实验室常用的炎性标志物有CRP、SAA和PCT等，检测炎性标志物有利于及时鉴别感染的类型。如CRP和SAA，一般在呼吸道感染后，CRP、SAA均升高，如果CRP升高较为明显，伴或不伴SAA升高，则表明为呼吸道细菌感染，如果CRP、SAA均升高，但SAA升高幅度更明显，则表明为呼吸道病毒感染。PCT一般只在细菌感染是升高，2h后可检测到，3~4h后PCT含量快速升高，12~48h达到并维持峰值^[7]。相对CRP和SAA等其他炎性标志物，由于PCT升高的水平相对更高，且与细菌感染的程度密切相关，其水平的变化可以反映治疗的效果，因此在细菌感染时，PCT的临床应用价值由于其他炎性标志物。如急诊科就诊的呼吸道感染患者，当PCT<0.25 ng/ml时，一般不考虑细菌感染，不建议给予抗生素治疗，当PCT介于0.25~0.5 ng/ml时，则怀疑为细菌感染，可以考虑给予抗生素治疗，当PCT≥0.5 ng/ml，则考虑为细菌感染，建议根据病情给予抗生素治疗（图3）^[7]。炎性标志物的检测也可以用于疾病严重程度监测和为疾病的治疗提供依据，如在COVID-19重症或危重症患者中，需要持续监测IL-6和CRP、PCT等炎性因子的变化^[8]。

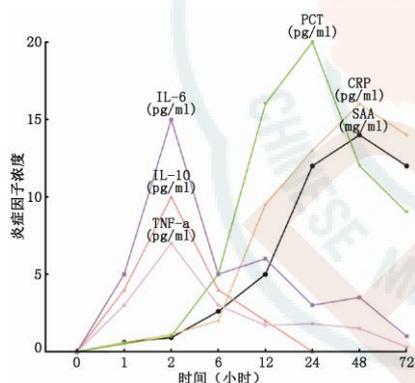


图3 呼吸道感染时患者血浆或血清中炎性标志物变化趋势图

2.病原体抗原检测：呼吸道病原体感染早期，即可以进行相关病原体抗原的检测^[9]，如考虑为流感病毒感染时，可进行甲型流感和乙型流感病毒快速抗原检测（如金标法或荧光原位杂交等），在该项目检测为阴性时，可进行呼吸道病毒抗原联合筛查（如荧光原位杂交法），同时可以检测7种病毒（甲型流感病毒，乙型流感病毒，副流感病毒1型/2型/3型，合胞病毒和腺病毒）。若怀疑为真菌感染时，可检测曲霉菌抗原，如1,3-β-D葡聚糖检测（G试验）和半乳甘露聚糖检测。

3.病原体核酸检测：呼吸道病原体感染早期，进行传统微生物检测时可同步病原体核酸检测，当前病原体核酸检测大多数采用的荧光定量PCR或微流控芯片等检测技术。根据临床实验室的条件可以开展病原体的单项检测或联合检测。如仅怀疑为EB病毒感染时，可进行EB病毒的核酸检测（荧光PCR法）。如仅考虑为病毒感染，无法确定类别时，可以进行核酸联合检测，如呼吸道病毒核酸联合检测（如毛细管电泳法），同时可以检测的病毒有甲型流感病毒，甲型流感病毒H1N1型，甲型流感病毒H3N2型，乙型流感病毒，副流感病毒

1 型/2 型/3 型/4 型, 呼吸道合胞病毒 A 型/B 型, 鼻病毒 A 型/B 型/C 型, 冠状病毒 229E 型/NL63 型/HKU1 型/OC43 型, 偏肺病毒 A1 型/A2 型/B1 型/B2 型, 腺病毒 B 型/C 型/E 型和博卡病毒 1 型/2 型/3 型/4 型, 若患者有明确的禽类接触史, 可进行禽流感病毒核酸检测。对怀疑为肺炎支原体或沙眼衣原体, 可以进行肺炎支原体或沙眼衣原体的核酸检测。若常规病原体检测为阴性, 但临床高度怀疑为病原体感染时, 可以采用高通量测序技术进行检测, 如基于宏基因组的高通量测序和纳米孔的高通量测序。纳米孔测序技术主要用于检测细菌、真菌、衣原体和支原体的感染, 由于其检测速度快, 可以在 24~48 h 内获得检测结果, 具有较好的临床应用前景, 其缺点是无法检测未知病毒^[10]。而基于宏基因组测序几乎可以检测所有病原体, 但由于其操作复杂, 报告周期一般需要 5~7 d, 临床应用受到一定局限^[11]。

4. 抗体检测:对于呼吸道病原体感染病程超过 7~10 d 以上的患者, 可以进行相关病原体的抗体检测^[12]。如采用间接荧光免疫法检测血清中的病原体抗体免疫球蛋白 M, 包括嗜肺军团菌、肺炎支原体、Q 热立克次体、肺炎衣原体、腺病毒、呼吸道合胞病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒和副流感病毒 1 型/2 型/3 型等。有些病原体抗体出现比较早, 如新型冠状病毒特异性抗体 IgM 可在起病后 3~5 d 出现, 可选择化学发光或胶体金等方法检测。由于病原体感染后, 抗体产生较晚(窗口期一般为 2 周至 3 月), 因此不利于疾病的早期诊断, 但对于反复感染或病程较长的患者, 检测病原体抗体还是具有较好的临床应用价值。

三、结语和展望

流行病学表明, 年幼的儿童、老年人以及心脏, 肺部或免疫系统受损的患者呼吸道病原体感染严重疾病的风险最高^[13-14]。在儿童中, 15%~25% 的肺炎由呼吸道合胞病毒引起, 15% 由副流感病毒引起, 7%~9% 由腺病毒引起, 呼吸道合胞病毒感染是 5 岁以下儿童住院最常见的原因。在老年人中, 呼吸道病毒感染引起高达 26% 的住院治疗社区获得性肺炎, 同时非典型病原体在呼吸道感染近年来有增加趋势。在我国肺炎发病率高, 在各种致死病因中居前 5 位, 是我国 5 岁以下儿童的发病数及死亡数均居疾病之首, 肺炎是我国 65 岁以上老年人疾病死亡的首位^[15]。因此, 建立呼吸道感染病原体的临床检验诊断路径势在必行, 同时需要定期收集病原谱及耐药性的流行病学资料, 根据病原体的流行趋势增加检测项目, 调整呼吸道感染病原体的临床检验诊断路径中的检测内容, 进而提高病原体检出率, 同时重视混合感染, 采用联合检测, 增加检测的准确性和可靠性, 为临床病原体感染及时准确地诊断提供依据。COVID-19 疫情实践表明, 临床实验室应加强学科建设, 尽可能增加检测项目, 提高检测能力, 完善呼吸道感染病原体的临床检验诊断路径, 为临床呼吸道疾病的诊疗提供及时准确的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Lei H, Tang JW, Li Y. Transmission routes of influenza A(H1N1)pdm09: analyses of in-flight outbreaks[J]. *Epidemiol Infect*, 2018,

- 146(13):1731-1739.DOI:10.1017/S0950268818001772.
- [2] Al-Omari A, Rabaan AA, Salih S, et al.MERS coronavirus outbreak: Implications for emerging viral infections[J].Diagn Microbiol Infect Dis,2019,93(3):265-285.DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.10.011.
- [3] Reeves JJ, Hollandsworth HM, Torriani FJ, et al.Rapid Response to COVID-19: Health Informatics Support for Outbreak Management in an Academic Health System[J].J Am Med Inform Assoc,2020,ocaa037. DOI:10.1093/jamia/ocaa037.
- [4] 中华医学会呼吸病学分会.肺部感染性疾病支气管肺泡灌洗病原体检测中国专家共识(2017年版)[J].中华结核和呼吸杂志,2017,40(8):578-583.DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2017.08.007.
- [5] 中华医学会,中华医学杂志社,中华医学会全科医学分会,等.急性上呼吸道感染基层诊疗指南(实践版·2018)[J].中华全科医师杂志,2019,18(5):427-430.DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-7368.2019.05.006.
- [6] Lin TL, Chen WW, Ding ZR, et al.Correlations between serum amyloid A, C-reactive protein and clinical indices of patients with acutely exacerbated chronic obstructive pulmonary disease[J].J Clin Lab Anal,2019, 33(4):e22831.DOI: 10.1002/jcla.22831.
- [7] Bartoletti M, Antonelli M, Bruno Blasi FA, et al.Procalcitonin-guided antibiotic therapy: an expert consensus[J].Clin Chem Lab Med,2018, 56(8):1223-1229. DOI:10.1515/cclm-2018-0259.
- [8] Sun D, Li H, Lu XX, et al.Clinical features of severe pediatric patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan: a single center's observational study[J].World J Pediatr,2020,1-9. DOI:10.1007/s12519-020-00354-4.
- [9] Bjarnason A, Westin J, Lindh M, et al.Incidence, etiology, and outcomes of community-acquired pneumonia: a population-based study[J].Open Forum Infect Dis,2018, 5(2):ofy010. DOI: 10.1093/ofid/ofy010.
- [10] Deamer D, Akeson M, Branton D.Three decades of nanopore sequencing[J].Nat Biotechnol,2016,34(5):518-524.DOI: 10.1038/nbt.3423.
- [11] Suda W, Ogata Y, Nishijima S.Analysis of human microbiome using NGS.Clin Calcium,2018,28(9):1274-1281.
- [12] Landry ML.Immunoglobulin M for acute infection: true or false?[J].Clin Vaccine

- Immunol,2016, 23(7):540-545.DOI:10.1128/CVI.00211-16.
- [13] Mortality GBD, Causes of Death C.Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015[J].Lancet,2016, 388(10053):1459-1544. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31012-1.
- [14] Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al.A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology[J].Clin Infect Dis,2018,67(6):e1-e94.DOI: 10.1093/cid/ciy381.
- [15] Ning G, Wang X, Wu D, et al.The etiology of community-acquired pneumonia among children under 5 years of age in mainland China, 2001-2015: a systematic review[J].Hum Vaccin Immunother,2017,13(11):2742-2750.DOI: 10.1080/21645515.2017.1371381.

(收稿日期: 2020-03-16)

(本文编辑: 武昱)

