·指南与共识·

侵袭性真菌病真菌学检查指南

中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会　中华医学会检验医学分会临床微生物学组　中华医学会微生物学和免疫学分会微生物学组
通信作者：王辉，Email：whuibj@163.com

【摘要】 侵袭性真菌病是感染病学、微生物学、临床药学等学科共同的焦点。欧洲癌症研究与治疗组织和真菌研究小组教育与研究联合会诊断标准中，确定诊断和极似诊断对应有不同的真菌学检查。中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会、中华医学会检验医学分会临床微生物学组、中华医学会微生物学和免疫学分会临床微生物学组组织专家制定指南，就真菌侵入人体导致的血流感染、肺部感染、中枢神经系统感染、眼部感染、胸腔腹腔感染、关节感染等的适应证、适用样本、检测技术、结果解释和会诊等真菌学信息给出了共识性推荐意见，包括了常见的念珠菌、曲霉、毛霉、肺孢子菌、隐球菌、马尔尼菲篮状菌、镰刀菌、赛多孢等，为该病的临床诊治防控和真菌学检查提供帮助。

【关键词】 念珠菌病；　隐球菌病；　曲霉病；　毛霉病；　肺孢子菌感染；　诊疗准则

Guidelines on mycology examination of invasive fungal diseases

Clinical Microbiology Society of the China Association for the Promotion of International Exchange in Healthcare, Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, Clinical Microbiology Group of the Microbiology and Immunology Society of the Chinese Medical Association
Corresponding author: Wang Hui, Email: whuibj@163.com

【**Abstract**】 Invasive fungal disease (IFD) is the common focus in infectious disease, microbiology, clinical pharmacology, and other related fields. According to the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group Education and Research Consortium (EORTC/MSGERC) guidelines, the definite and probable diagnosis of IFD requires the corresponding mycological examination. To further aid in the diagnosis and management of IFD, the Clinical Microbiology Society of the China Association for the Promotion of International Exchange in Healthcare, Clinical Microbiology Group of the Laboratory Medicine Society of the Chinese Medical Association, along with the Clinical Microbiology Group of the Microbiology and Immunology Society of the Chinese Medical Association, convened a group of experts to develop guidelines and gave consensus recommendations on the indications, applicable specimens, detection techniques, result interpretation, consultation and other mycological information pertaining to various types of fungal infections. These infections include but are not limited to those affecting bloodstream, lungs, central nervous system, eyes, thoracic and abdominal cavities, joints, caused by fungi such as *Candida*, *Aspergillus*, Mucor, *Pneumocystis*, *Cryptococcus*, *Marneffei*, *Fusarium*, *Sedosporium*, and others.

【**Key words**】 Candidiasis; Cryptococcosis; Aspergillosis; Mucormycosis; Pneumocystis infections; Practice guideline

侵袭性真菌病（invasive fungal disease，IFD）即侵袭性真菌感染（invasive fungal infection，IFI），病死率高，是国际、国内关注的焦点[1]。近期世界卫生组织发布优先真菌病原清单是国际关注的集中

DOI：10.3760/cma.j.cn114452-20230126-00046
收稿日期　2023-01-26　　**本文编辑**　武昱
引用本文：中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会，中华医学会检验医学分会临床微生物学组，中华医学会微生物学和免疫学分会微生物学组. 侵袭性真菌病真菌学检查指南[J]. 中华检验医学杂志，2023，46(6)：541-557. DOI：10.3760/cma.j.cn114452-20230126-00046.

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House　版权所有　违者必究

体现[2]。其他感染病流行期间也有涉及[3]。按照欧洲癌症研究与治疗组织和真菌研究小组教育与研究联合会(European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium, EORTC/MSGERC)标准[4],IFD 诊断分为 3 层,包括确定诊断、极似诊断和初拟诊断。确定诊断和极似诊断对应有不同的真菌学检查、影像学检查等。真菌学检查中,适应证具有不确定性,部分检查的操作和结果解释有挑战性,同时,部分检测技术和项目尚难以普及。中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会联合中华医学会检验医学分会临床微生物学组和微生物学和免疫学分会临床微生物学组组织专家撰写本指南。本指南主要包括适应证、样本、检测技术、结果解释和会诊等内容,目的是析疑解难、促进学科发展,为临床诊疗防控等提供专业帮助,为患者治病康复提供可靠服务。

指南制定过程:(1)王辉教授牵头,中国医疗保健国际交流促进会临床微生物学分会、中华医学会检验医学分会临床微生物学组和中华医学会微生物学和免疫学分会临床微生物学组专家形成工作组。(2)确定执笔专家和汇总专家。(3)指南启动会,两次讨论会和定稿会。方法:参照推荐评估的分级、制定和评价(Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluations, GRADE)方法,工作组对文献质量进行了评价,形成指南的初步文本。经讨论会讨论,最终确定推荐意见。并给出了推荐强度、证据质量等级(表 1)。推荐强度分 2 级:强和弱。证据质量分 3 级:高、中、低。

一、适应证

1. 念珠菌菌血症和其他念珠菌感染:推荐对有临床特征(持续发热、规范抗细菌治疗无效)同时合并风险因素(抗菌药物的使用、持续粒细胞缺乏、实体器官或干细胞移植、置入导管、全肠外营养、腹腔手术、胰腺炎、糖皮质激素、其他免疫抑制剂的使用等)患者进行相关样本的念珠菌镜检和培养等检查[4](强,中)。老年、入住重症监护室(intensive care unit, ICU)、机械通气、器官衰竭评分高等也是侵袭性念珠菌病(invasive candidiasis, IC),包括新型冠状病毒感染相关念珠菌病(COVID-19-associated candidiasis, CAC)的风险因素。中心静脉导管感染需要特别关注近平滑念珠菌等。下呼吸道样本直接镜检和分离培养出的念珠菌无法区分定植与感染,临床意义有限,常规不推荐进行鉴定和药敏试验[5](强,低)。对所有疑诊 IC 的患者,推荐进行血液真菌培养,以提高病原学诊断阳性率[6](强,中)。一旦确定念珠菌菌血症的诊断,推荐规律复查血培养,直到至少连续两次血培养结果阴性[5](强,中)。推荐进行真菌的(1,3)-β-D 葡聚糖检测(G 实验)(强,中),感染早期 G 实验即可呈阳性,阴性预测值(negative predictive value, NPV)较高[7]。怀疑 IC,尤其是念珠菌菌血症时,推荐进行血液样本直接聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测(强,高)。与常规血培养相比,该检查具有更高的敏感度,特异度为 90%[8]。临床可考虑常规开展念珠菌对唑类药物的敏感试验,耐药菌感染史、耐药菌高流行区、迁延不愈者,尤其应该进行敏感试验[9-10](弱,低)。棘白菌素类药物敏感试验主要用于 3 种情况:近期有棘白菌素暴露史;近平滑念珠菌、光滑念珠菌、耳念珠菌所致感染需要用药;抗真菌治疗超过 1 周仍能分离出致病念珠菌[9, 11](强,低)。

2. 曲霉病:推荐对具有侵袭性曲霉病(invasive aspergillosis, IA)风险因素或怀疑 IA 的患者进行相关样本的镜检与培养[12](强,中)。IA 风险因素包括:血液系统恶性肿瘤、慢性肺部疾病、移植(实体和骨髓)、糖皮质激素治疗、中性粒细胞缺乏和慢性肝病,也包括使用免疫抑制剂、结构性肺病和肺部血管疾病、入住 ICU、老年等。急性呼吸衰竭的新型冠状病毒感染(COVID-19)患者,特别是有创通气时,使用糖皮质激素或托珠单抗治疗时,尤其需要注意 COVID-19 相关肺曲霉病(COVID-19-associated pulmonary aspergillosis, CAPA)。考虑曲霉感染时,建议增加痰样本的送检次数,以增加 IA 诊断的阳性率[13](弱,中)。痰样本一般每天送检 1 次,不超过 2 次,连续 2~3 d。支气

表 1　本指南推荐强度、证据质量等级的含义

推荐强度	具体描述	证据质量	具体描述
强	明确显示干预措施利大于弊	高	未来研究几乎不可能改变现有证据可信性
弱	干预与否利弊相当或不确定	中	未来研究可能对现有证据产生重要影响,可能改变现有证据可信性
		低	未来研究很有可能对现有证据产生重要影响,改变现有证据可信性的可能性较大

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

管肺泡灌洗液（bronchoalveolar lavage fluid，BALF）中曲霉培养阳性时，推荐结合临床表现和影像学有意义特征，考虑诊断为感染而非定植[14]（强，中）。怀疑IA时，推荐采集组织活检样本，可应用六胺银染色和过碘酸雪夫染色识别真菌形态和结构[15-16]（强，中）。由于全球的曲霉耐药率仍然较低，初次治疗患者不推荐常规进行药敏检测。但如果出于流行病学和耐药监测目的，可对IA病例中分离的菌株进行药敏检测。治疗失败时，推荐进行药敏检测[17-20]（强，中）。由于特异性较差，一般而言，不推荐G实验用于IA诊断[21]（弱，中）。建议G实验联合其他诊断方法（如GM试验、曲霉PCR检测）用于血液系统恶性肿瘤患者的IA诊断[22-23]（强，高）。建议G实验用于免疫抑制的重症患者IA的诊断和筛查[24-25]（强，中）。推荐血清半乳甘露聚糖（galactomannan，GM）检测用于中性粒细胞缺乏患者疑似IA时的诊断[26]（强，高）。建议血清GM用于非粒细胞缺乏患者血液系统恶性肿瘤等情况时疑似IA的诊断（弱，中）[27-28]。不推荐血清GM用于慢性阻塞性肺病等非免疫抑制患者的IA单独诊断[29]（弱，中）。不推荐血清GM用于慢性肺曲霉病诊断[30]（弱，中）。推荐血清GM用于IA患者治疗效果的监测[31]（弱，中），但不建议其用于已使用预防性抗真菌治疗的无症状患者的监测和筛查[32]（弱，中）。对于非粒细胞缺乏患者，推荐对BALF进行GM检测，用于诊断IA[33-35]（强，高）。对于影像学高度怀疑慢性肺曲霉病患者，推荐进行曲霉IgG抗体检测[36-39]（弱，中）。曲霉IgG抗体在曲霉结节中的诊断价值缺乏文献报道。怀疑IA时，推荐进行BALF的曲霉PCR检测（强，中）。推荐连续2次，或2个及以上样本检测[40-42]。血液样本曲霉PCR可用于血液系统恶性肿瘤的IA诊断[43]（强，中）。

3.肺毛霉感染/毛霉病：已有基础疾病的患者发生发热伴咯血或其他呼吸道表现、且进展迅速，肺部CT提示局灶性实变、包块、胸腔积液或多发结节或“真菌感染可能”，推荐进行痰液、BALF、组织活检（针吸或切片）的真菌染色和培养检查[44-49]（强，高）。基础疾病包括：糖尿病（尤其是酮症酸中毒，或控制不佳）、中性粒细胞缺乏、实体器官移植和造血干细胞移植受者、恶性肿瘤、铁过载、脓毒症、HIV感染等。风险因素还包括：各种原因导致免疫功能低下、外伤、使用广谱抗细菌药物、孢子环境暴露等。罹患COVID-19时，血液病与实体器官移植、使用免疫抑制剂、粒细胞减少、糖尿病控制不佳、使用糖皮质激素，须注意COVID-19相关毛霉病（COVID-19-associated mucormycosis，CAM）。糖尿病（尤其是酮症酸中毒）患者发生发热伴或不伴鼻溃疡或坏死、眶周或面部肿胀、视力减退、眼肌麻痹、鼻窦炎、头痛、神志改变，需立即进行相应部位分泌物或组织（针吸或切片）的真菌染色镜检和培养[45-50]（强，高）。

4.耶氏肺胞子菌肺炎（*Pneumocystis jiroveci* pneumonia，PJP）/肺孢子菌感染：HIV感染者出现肺炎，亚急性起病，出现发热、干咳、进行性呼吸困难和低氧血症等临床表现，肺CT显示双侧多发弥漫性间质改变，累及肺门周围区域的双侧肺间质病变和肺泡浸润，双侧弥漫性毛玻璃样改变，推荐进行PJP病原学检测[50-53]（强，中）。PJP的风险因素包括：艾滋病、癌症、伴有器官移植（尤其是肾移植）的医源性免疫抑制、自身免疫性和炎症性疾病、肾病综合征等。检查方法包括特殊染色（如六胺银染色）、分子生物学检查（如PCR）、G实验和乳酸脱氢酶（lactic dehydrogenase，LDH）。后两者NPV较高，美国移植学会强调G实验及LDH同时阴性对PJP有较高的NPV。非HIV感染的免疫缺陷患者（包括血液系统恶性肿瘤、实体瘤、器官移植、自身免疫性疾病、接受化疗药物、免疫抑制剂或生物治疗）出现肺炎，急性起病，出现发热、干咳、呼吸困难、低氧血症，肺CT显示肺间质纹理增强，双侧磨玻璃样改变，伴片状实变，推荐进行PJP的镜检和核酸检测[50-53]（强，中）。非HIV感染的PJP患者治疗一周后推荐进行肺CT检查以评价疗效，对治疗失败者应再次进行支气管镜检查和支气管肺泡灌洗以证实有无合并感染。不推荐采用肺孢子菌的PCR结果和血清G实验进行疗效评价[54]（强，中）。PJP发生医院感染暴发时，建议对该病区患者（包括免疫抑制患者及免疫正常者）进行呼吸道样本耶氏肺孢子菌筛查，包括基因型别的筛查[51, 55-56]（弱，低）。

5.肺隐球菌病和隐球菌脑膜炎：免疫功能低下的患者（如HIV/AIDS、淋巴瘤、实体肿瘤、长期服用糖皮质激素等）出现咳嗽、呼吸急促、咯血等呼吸道症状，肺CT提示肺部病变，高度怀疑为肺隐球菌病时，推荐进行痰液、BALF、细针抽吸物或肺活检切片的隐球菌染色和培养。有肺部症状且有胸腔积液时，推荐进行隐球菌抗原（cryptococcus antigen，CrAg）检测[57-60]（强，高）。注意试剂盒说明书样本范围。免疫功能低下的患者（如HIV/AIDS、淋巴瘤、实体肿瘤、长期服用糖皮质激素等）出现头痛、

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

精神错乱、视力和听力障碍等中枢神经系统的症状，高度怀疑为隐球菌脑膜炎时，推荐进行脑脊液隐球菌培养、脑脊液墨汁染色、脑脊液 CrAg 检测等[57-61]（强，高）。影像学检查（特别是肺部及颅内）发现异常，而怀疑隐球菌病的患者，推荐进行血培养、血清隐球菌 CrAg 检测[57, 59, 62-63]（强，中）。不推荐对隐球菌感染患者常规进行抗真菌药敏试验。以下情况进行药敏试验[57, 63]：（1）与氟康唑最低抑菌浓度（minimum inhibitory concentration，MIC）增加相关的格特隐球菌感染者；（2）初始治疗失败或复发的新型隐球菌感染者；（3）近期有抗真菌药物暴露（如氟康唑预防使用）的隐球菌感染者；（4）无法准确区分新型隐球菌和格特隐球菌时（强，中）。

6. 马尔尼菲篮状菌感染：怀疑马尔尼菲篮状菌感染时，推荐采集感染部位样本进行真菌涂片镜检、培养、PCR 或宏基因组下一代测序技术（metagenomic next-generation sequencing，mNGS）等方法检测（强，低）。可以考虑外周血液和骨髓样本。HIV 阳性患者感染马尔尼菲篮状菌常表现为播散性感染，侵犯多个器官。马尔尼菲篮状菌侵袭性感染的风险因素包括：急危重症和免疫功能低下者，如艾滋病患者（风险因素是 CD4 计数低）、癌症或器官移植患者。对于局部感染为主要表现，考虑为该菌感染的患者，推荐采集感染部位的样本进行真菌培养、涂片镜检、PCR 或 mNGS 方法检测[4, 64-65]（强，低）。对于疑似肺部马尔尼菲篮状菌感染患者，推荐采集痰液、BALF、肺病变部位细针抽吸物或肺活检切片进行染色镜检、培养、PCR 或 mNGS 方法检测（强，低）。首发症状在皮肤，且考虑皮肤马尔尼菲篮状菌感染时，或确诊了皮肤马尔尼菲篮状菌感染时，除皮损部位分泌物或皮肤活检外，建议进行系统性判断，看是否播散性感染（弱，低）。

7. 镰刀菌感染：当免疫缺陷人群发生肺部、皮肤等部位的感染、且对经验性抗菌治疗没有反应时，需要检测是否存在镰刀菌感染，推荐采集感染部位的样本进行真菌涂片镜检、真菌培养、PCR 或 mNGS 方法检测（强，低）。侵袭性镰刀菌感染的风险因素包括急性髓系白血病、异体造血干细胞移植、巨细胞病毒再激活和基线时镰刀菌阳性皮损的存在。少数情况下，镰刀菌感染的患者可能表现为单一器官受损伤，如关节炎和鼻窦炎，或导管相关真菌血症[4, 66]。推荐采集关节穿刺液、鼻窦吸出物等感染部位的样本进行涂片染色镜检、培养、PCR 或 mNGS 方法检测（强，低）。

8. 赛多孢感染和多育节荚孢霉感染：赛多孢是一种透明丝状真菌，广泛存在于土壤和污水中。赛多孢和多育节荚孢霉是引起人类感染的 2 种重要的丝状真菌。我国波氏赛多孢较为常见（约占 60%）。多育节荚孢霉更为致命，死亡率高达 77%。赛多孢感染病例在世界各地均有报道，从局部感染到播散性疾病不等。赛多孢感染的风险因素包括恶性肿瘤、实体器官移植、溺水和雪崩等，可以引起各个部位感染，没有具体器官的嗜好性。多育节荚孢霉可引起院内感染。对于疑似赛多孢感染引起的足菌肿的患者，推荐采集皮损部位分泌物或皮肤活检进行染色镜检、培养、PCR 或 mNGS 方法检测（强，低）。疑似赛多孢引起软组织和手术伤口感染、关节炎和骨髓炎、耳真菌病、鼻窦炎、支气管过敏、眼部感染、血管假体感染、心内膜炎和播散性感染、中枢神经系统感染时[66-68]，推荐采集感染部位的样本进行真菌培养、涂片镜检、PCR 或 mNGS 方法检测（强，低）。对于溺水、雪崩患者，高度怀疑赛多孢引起肺部感染时，推荐采集 BALF、胸腔积液、肺病变部位细针抽吸物或肺活检切片进行染色镜检、培养、PCR 或 mNGS 方法检测（强，低）。

二、样本

重视微生物学样本的采集和送检对于诊断 IFD 非常重要[69]。相对于细菌、病毒感染，真菌感染样本采集具有一定的特殊性。表 2 汇总了常见真菌在不同系统感染中的采集要求和策略。对于临床疑似真菌感染的患者，推荐先采集微生物样本送检，再使用抗真菌药物进行治疗[70]（强，低）。推荐从无菌部位采集样本；从有菌部位采集样本时，应尽可能减少正常菌群的干扰[64, 71]（强，低）。推荐真菌样本送检前填写真菌检验申请单，申请单除常规内容外，建议添加真菌感染的风险因素、真菌感染的症状和体征、生物标记物［如：C 反应蛋白（C-reactive protein，CRP）、降钙素原（procalcitonin，PCT）、GM、G 实验等］结果等[63]（弱，低）。

1. 血液：以下情况推荐进行真菌血培养。包括：血流感染（考虑酵母样真菌、丝状真菌和双相真菌）、导管相关性血流感染（考虑酵母样真菌）、心包炎和心肌炎、免疫受损患者会厌炎和声门上炎（考虑曲霉、其他丝状真菌）、免疫受损患者肺部感染（考虑镰刀菌属、荚膜组织胞浆菌）、烧伤创面感染（考虑念珠菌、曲霉、镰刀菌、链格孢、毛霉目）、手术部位感染（考虑念珠菌）、皮肤和皮下组织真菌感染（考虑申克孢子丝菌、地霉、马拉色菌、毛霉目）、自

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

表 2　不同系统的真菌感染推荐的真菌学检验项目和样本

感染部位	病原菌	送检项目	样本类型	样本采集	注意事项
血流感染	念珠菌属、隐球菌属、其他酵母样真菌、镰刀菌属、马尔尼菲篮状菌	血培养	全血	双侧双套，有条件可增加真菌瓶；怀疑导管相关性血流感染时，导管和外周各抽1套	(1)已使用抗真菌药物时，建议使用含中和剂血培养瓶。(2)当考虑慢生长菌感染时，建议延长培养时间(14 d或更长)。(3)注意血培养曲霉阳性，不全是污染
		G实验	血清	无热原采血管采集静脉血4 ml	(1)推荐用于念珠菌菌血症的检测，不适用于隐球菌和毛霉目真菌。(2)建议空腹时、静脉给药前或病情进展时采集样本
		隐球菌荚膜抗原检测	血清	含促凝剂或分离胶采血管采集静脉血4 ml	推荐用于隐球菌感染的快速检测
		核酸检测	血浆	专用采血管采集静脉血5 ml	推荐用于少见真菌感染的检测；非血液系统的真菌感染，核酸检测也可阳性，应结合临床判断
肺部感染	曲霉属、毛霉目、隐球菌、赛多孢菌属、马尔尼菲篮状菌	真菌培养、革兰染色、真菌涂片检测(KOH压片、六胺银染色、过碘酸雪夫染色或荧光染色)、核酸检测	痰、BALF、保护性毛刷、肺组织等	无菌操作；痰>0.5 ml，BALF>5 ml	样本采集后及时送检，不超过2 h
		GM试验	BALF	无菌操作；BALF>5 ml	(1)推荐用于非粒缺患者的曲霉感染检测。(2)建议使用第2、第3管样本进行检测
			血清	含促凝剂或分离胶采血管采集静脉血4 ml	推荐用于粒细胞缺乏、血液恶性肿瘤患者的侵袭性曲霉感染检测
		曲霉IgG抗体	血清	含促凝剂或分离胶采血管采集静脉血4 ml	推荐用于慢性曲霉感染的检测
胸腔感染	念珠菌属、曲霉属、其他真菌包括隐球菌	真菌培养、真菌涂片检测(KOH压片或荧光染色)、核酸检测、G实验	胸腔积液	无菌操作；采集胸腔积液3~5 ml置于无菌容器中；立即送检	真菌培养时，建议将3~5 ml胸腔积液注入真菌血培养瓶培养，提高培养阳性率
中枢神经系统感染	隐球菌属、念珠菌属、曲霉属、其他真菌	真菌培养、墨汁染色、真菌荧光染色、核酸检测	脑脊液，局灶组织、脓性穿刺液	无菌操作，采集组织或脑脊液至少1 ml置无菌容器，室温，立即送检	(1)腰穿采集脑脊液时，建议用第二、第三管做病原学检测。(2)室温保存，不可冷藏。(3)真菌培养时应增加样本量，建议注入真菌血培养瓶培养
		隐球菌荚膜抗原检测	脑脊液		推荐用于隐球菌感染的快速检测
皮肤软组织感染	念珠菌属、曲霉属、毛霉目、其他真菌	真菌培养、真菌荧光染色、核酸检测	组织	无菌操作，采集伤口基底部的坏死组织，置于无菌容器中，立即送检	注意单纯皮肤感染，不属于IFD，但IFD可以累及皮肤软组织
腹腔感染	念珠菌属	真菌培养、真菌荧光染色、核酸检测	腹腔积液、腹腔引流液	无菌操作，采集腹腔积液或腹腔引流液3~5 ml，置于无菌容器，立即送检	真菌培养时，建议将腹腔积液注入商品化血培养瓶培养，提高培养阳性结果
尿路感染	念珠菌属	真菌培养、革兰染色、真菌荧光染色	中段尿	无菌操作，采集中段尿3~4 ml，置于无菌容器，立即送检	尿液分离株，注意区分定植
导管相关感染	念珠菌属	真菌培养	深静脉插管、引流管等	无菌操作，剪取导管尖端5 cm，置于无菌容器，立即送检	考虑导管相关性菌血症时，建议同时送检导管血、外周血进行培养。引流管和引流液分离株，注意区分定植
鼻窦感染	曲霉属、毛霉目、镰刀菌属、其他丝状真菌	真菌培养、真菌荧光染色、核酸检测	鼻窦组织、抽吸物	通过手术或鼻内镜，无菌操作，采集感染部位的组织或抽吸物，置于无菌容器，立即送检	
眼部感染	曲霉属、镰刀菌属、赛多孢菌属、暗色真菌等	真菌培养，真菌荧光染色，核酸检测	角膜刮取物、玻璃体抽取物、组织等	无菌操作，采集感染部位的分泌物，置于无菌容器，立即送检	样本量少时，建议床旁接种和涂片
关节感染	念珠菌属、新型隐球菌、皮炎芽生菌、曲霉属	真菌培养、真菌荧光染色、核酸检测	滑膜液、滑膜组织	通过外科方式，无菌操作，采集感染部位的组织或积液，置于无菌容器中，立即送检	

注：G实验为(1，3)-β-D葡聚糖检测；GM实验为半乳甘露聚糖检测；IgG为免疫球蛋白；BALF为支气管肺泡灌洗液

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

体瓣膜心内膜炎且患者吸毒或有严重基础性疾病；人工瓣膜心内膜炎；新型隐球菌脑膜炎或肺炎[66, 71]（强，中）。成人进行血培养后，如果病情持续或加重而临床始终不能除外菌血症，且首次血培养48~72 h阴性，建议隔1~2 d后重复进行1~2次血培养，每次2套4瓶[70]（强，中）。

2. 骨髓：推荐骨髓穿刺首选解剖部位是髂后嵴。如果患者不能活动，可以使用髂前嵴。婴儿可使用胫骨内侧表面[67]（强，低）。

3. 呼吸道样本（痰液、BALF等）：推荐刷牙漱口后采集自气管深部咳出的晨痰，体积≥0.5 ml。推荐挑取含脓液、血液、黏液的部分进行镜检及培养[64]（强，低）。怀疑曲霉感染时，建议进行大体积的未处理痰液和BALF培养[68]（弱，低）。对于疑似真菌感染患者，收集BALF样本时应不添加任何固定液，立即送检，不推荐冷藏样本择期送检（弱，低）。推荐用BALF检测GM以诊断是否为侵袭性真菌感染[72]（弱，中）。

4. 脑脊液：注意脑脊液采集的适应证（如考虑中枢神经系统感染，不除外真菌病原的情况）、禁忌证（如颅内高压）。墨汁染色、隐球菌荚膜抗原检测等是急查项目，采集后推荐立即送检，实验室接到后立即处理、报告。脑脊液涂片、培养等阳性结果按照危急值进行处理[58, 61]（强，中）。

5. 眼部样本：采集样本时若病变处分泌物过多，先用无菌湿棉签去除分泌物再选取病变处样本，立即送检。常温保存不超过2 h（强，低）。直接显微镜检查有助于结膜炎的初步诊断，推荐采集2根拭子，1根用于培养，另1根用于制备涂片（强，低）。曲霉属推荐进行KOH涂片镜检，镰刀菌及暗色真菌推荐进行真菌培养，若发现真菌成分并结合临床症状可确诊侵袭性真菌感染[71]（强，高）。

6. 穿刺液（胸腔积液和腹腔积液）：对于念珠菌性腹膜炎患者，建议早期进行腹腔积液样本培养。推荐手术或经皮穿刺收集的坏死或化脓性样本作为念珠菌腹膜炎微生物学诊断的样本，当怀疑有念珠菌时，推荐收集至少1 ml腹腔液体或1 g组织接种到培养基[73]（强，高）。对于继发于肺隐球菌感染的胸腔积液，推荐在真菌培养阴性时，检测样本中的新型隐球菌荚膜抗原[74]（强，高）。推荐在没有分子诊断资源的地区，采集足量组织样本以同时进行组织病理学和真菌涂片镜检、培养以诊断真菌感染[75]（强，高）。对于COVID-19相关的肺毛霉病（COVID-19 associated pulmonary mucormycosis，CAPM），建议进行经胸穿刺活检，以诊断外周胸部病变患者的CAPM[76]（弱，中）。

7. 鼻窦样本：推荐采集感染部位2~3块的组织或抽吸物送检（强，低）。当真菌侵袭鼻窦部引起慢性鼻窦炎时，建议样本仅从鼻腔较大的一侧收集并在24 h内送往真菌学实验室[77]（弱，低）。

三、检验技术

1. 样本涂片镜检：临床考虑侵袭性深部真菌感染采集的样本，均应进行直接涂片镜检（强，高）。直接涂片可评估样本质量，快速明确样本中是否存在真菌，尤其是对尚不能常规培养或常规生长极其缓慢的真菌，以及危重感染患者尤为重要。对于在组织样本中具有特征性形态（注意分隔、分支等）的真菌，直接涂片即可明确诊断。受制于样本中含菌量的多少和直接镜检敏感性等因素，检出真菌孢子或菌丝可明确表示样本中有真菌存在，但阴性并不能排除真菌感染。

直接涂片前应根据样本类型进行前处理以提高真菌检出阳性率（强，中）。脑脊液、胸腹腔积液、关节炎、BALF等液体性样本需浓缩离心后涂片；黏稠性痰液、脓液、胸腹腔积液等可采取酶液化后涂片；大体积的组织样本应多处取样，印片或剪碎组织压片；少量样本应床旁迅速压片以免干燥。

所有样本均推荐进行真菌免疫荧光染色，为提高真菌检出的阳性率和准确性，建议采用多种染色方法联合检查（强，高）。真菌免疫荧光染色几乎对所有的真菌均具有敏感度高、特异性强的特点；耶氏肺孢子菌感染的诊断宜用荧光染色与六胺银染色联合检测；隐球菌感染的诊断宜用荧光染色联合墨汁染色和革兰染色；毛霉目感染的诊断宜用荧光染色联合糖原染色。

直接镜检应仔细查找真菌孢子、菌丝和特殊结构[78-79]（强，中）。孢子可以从其形态、出芽与否及出芽方式，有无假菌丝、厚壁孢子、内生孢子、荚膜等特点来鉴别，菌丝可以从菌丝的大小、有无分隔、菌丝颜色等分辨。真菌特殊结构如颗粒、菌核、硬壳小体对于真菌诊断具有重要价值。推荐涂片镜检结果报告，应报告是否检出真菌，并详细描述镜检发现的真菌孢子形状、排列方式，以及菌丝的形态，仅报告真菌检出阳性或阴性是不够的（强，高）。酵母样、腊肠样孢子，内含孢子、厚荚膜圆形孢子等具有特征性的孢子；假菌丝，透明有隔菌丝，无隔飘带样毛霉目样菌丝，暗色菌丝等特征性菌丝——这些初步快速检测结果对于临床诊断方向具有重要

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

参考价值。

2. 培养：根据样本来源、可能的病原菌选择合适的培养基，建议实验室配备多种培养基，如不含细菌抑制剂（如氯霉素、放线菌酮等）和含细菌抑制剂的改良沙氏培养基、马铃薯葡萄糖琼脂、增菌培养基、念珠菌显色平板、真菌血培养瓶、常规细菌血培养瓶（弱，低）。进行正常无菌部位样本培养时，推荐同时使用不含细菌抑制剂的培养基和增菌培养基（强，低）。进行非无菌、非皮肤来源样本培养时，推荐同时使用含细菌抑制剂和不含细菌抑制剂的培养基、增菌培养基（强，低）。组织样本应剪碎后半埋在培养基中，不推荐用接种环进一步划线，怀疑组织胞浆菌感染时，推荐研磨组织；角膜分泌物推荐直接接种于培养基；无菌体液、BALF 推荐离心取沉淀物接种（强，低）。

初始真菌培养推荐 25~30 ℃孵育，保持足够的湿度，深部样本如活检组织、BALF、脑脊液等推荐 35~37 ℃同时孵育；血培养瓶遵循说明书要求（强，低）。丝状真菌建议平板培养基孵育 3 周，怀疑双相真菌（如组织胞浆菌）感染建议延长至 4~6 周。血培养瓶培养 2~4 周（弱，低）。

3. 传统鉴定方法和微生物质谱鉴定方法：传统鉴定方式对人员能力、检测体系和质量控制都有一定要求。实验室必须完成人员考核、能力验证，并常规进行质量控制（强，低）。对酵母型菌落和类酵母型菌落，推荐基于菌落形态、镜下形态、化学反应/同化反应、显色培养基（如 CHROMagar 念珠菌显色培养基）等方式，进行传统鉴定（强，中）。考虑念珠菌属以及其他酵母菌时，建议通过玉米-吐温琼脂上的菌落形态、厚壁孢子的产生与否、尿素酶试验、在含细菌抑制剂培养基上的生长能力、沙氏肉汤中的生长模式、对糖类的发酵同化作用等生长特性进行鉴定（弱，中）。

对丝状型菌落和双相真菌，建议以马铃薯葡萄糖培养基上的菌落形态、生长速度、产生的色素，镜检特征性孢子和菌丝为主要依据，初步判断丝状真菌的种属（弱，中）。镜检建议通过乳酸酚棉蓝染色或小培养法显微镜镜下观察菌丝分隔情况、颜色、形态、附着结构、产孢结构等（弱，低）。对于菌丝不分隔或很少分隔者，可根据菌落形态、产孢结构、假根等特征将其分为毛霉目（根霉属、毛霉属、根毛霉属、横梗霉属、共头霉属、小克银汉霉属）、虫霉目（耳霉属）、蛙粪霉目（蛙粪霉属）。对于菌丝分隔者，若菌丝为暗色，则需在离蠕孢属、枝孢霉属、德氏霉、链格孢霉属、外瓶霉属、瓶霉属、弯孢霉属间鉴别；若为透明菌丝，怀疑为丝状真菌，可根据顶囊、假头、孢子（产生方式、形态和排列状态）等特征进行曲霉属、镰刀霉属、枝顶孢霉属、拟青霉属、赛多孢属、木霉属、帚霉属间鉴别；怀疑为癣菌，则进行小孢子菌属、毛癣菌属、表皮癣菌属内鉴别；怀疑为双相真菌，则进行组织胞浆菌、粗球孢子菌属、皮炎芽生菌、副球孢子菌属、申克孢子丝菌、马尔尼菲篮状菌的鉴别。

对基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry，MALDI-TOF MS）技术，必须明确鉴定范围（参见说明书），并定期完成质控。能力具备时考虑自建库，须进行能力验证（强，中）。不同真菌的前处理方式见表 3。推荐对酵母样真菌进行 MALDI-TOF MS 技术鉴定。推荐靶板提取法（强，中）。靶板提取法未产生可接受的鉴定结果或出于生物安全考虑时，建议使用甲酸乙腈萃取法处理酵母样真菌（弱，低）。一般培养 18~24 h 的酵母样真菌适宜用于质谱鉴定，而生长较慢的酵母样真菌可延长至 48 h。美国临床和实验室标准研究所（Clinical and Laboratory Standards Institute，CLSI）指南 CLSI-M58 推荐 1×10^5~1×10^7 CFU/孔位的菌量以提高鉴定性能。明确质谱数据库中酵母样真菌鉴定范围，并进行定期更新。对丝状真菌，建议采用：（1）制造商推荐的甲酸乙腈萃取法（弱，低）；（2）双甲酸“夹心”法作为前处理方法[80]（强，中）。不建议对原始样本直接进行 MALDI-TOF MS 检测。对血培养、体液增菌培养样本中酵母菌，可以尝试该技术，但须进行性能验证（弱，低）。

4. 免疫学检测：脑脊液和血液样本中，隐球菌荚膜多糖抗原检测阳性为隐球菌脑膜炎的确诊指标；血液样本隐球菌抗原检测阳性作为肺隐球菌病的确诊证据之一；对于检测阳性者，推荐进行半定量检测[59, 62]（强，高）。动态监测荚膜多糖抗原滴度，结合临床因素可作为启动治疗和调整治疗方案的证据[81-83]。

血清 G 实验阳性主要用于疑似 IFD（包括念珠菌病、曲霉病、肺孢子菌病等）的辅助诊断，但不适用于隐球菌病和毛霉病；G 实验 NPV 较高[84]。动态连续监测可用于指导念珠菌感染的抗真菌治疗[85]（弱，中）。对 G 实验，输注白蛋白或球蛋白、血液透析患者、输注抗肿瘤的多糖类药物、使用磺胺类药

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

表 3　质谱鉴定不同种类真菌时的前处理方式

种类	培养基	前处理方法	推荐	适用场景
酵母样真菌	固体	直接涂布法	弱	最简单的前处理方法
		靶板提取法	强	适用于大部分酵母样真菌
		甲酸乙腈萃取法	弱	针对以上2种方法无法得到高质量图谱，或对一些罕见或特殊病原菌
丝状真菌	固体	尖端菌丝涂布法	弱	最简单的前处理方法
		靶板提取法	弱	较为简单的前处理方法
		双甲酸“夹心”法	强	适用于曲霉、青霉、链格孢、镰刀菌等大部分丝状真菌临床分离株
		甲酸乙腈萃取法	弱	适用于罕见丝状真菌以及生长较差的丝状真菌
	液体	甲酸乙腈萃取法	弱	适用于以上处理方法无法得到高质量图谱的情况

物、外科手术后及样本接触某些纱布等可能造成假阳性；采血管污染可能出现假阳性；严重溶血样本可能造成假阳性[86]。近平滑念珠菌病时有一定假阴性率；抗真菌药物的使用可能造成假阴性。

推荐血液、BALF 和脑脊液的曲霉 GM 试验阳性用于疑似 IA（尤其是血液恶性疾病、化疗以及接受造血干细胞移植患者）的极似诊断[87]。在非粒细胞缺乏患者肺侵袭性曲霉感染时，BALF 的 GM 试验敏感性高于血清[4, 59]（强，高）。建议动态监测，注意不同样本的判断阈值不同[4]（弱，中）。阈值：单次血清或血浆 GM 值≥1.0、或 BALF 的 GM 值≥1.0、或单次血清或血浆 GM 值≥0.7 并且 BALF 的 GM 值≥0.8、脑脊液 GM 值≥1.0 可作为 IA 的阳性诊断标准。假阳性可见于其他真菌（马尔尼菲篮状菌、隐球菌等）感染、应用 β 内酰胺类抗菌药物（尤其是哌拉西林/他唑巴坦）、静脉注射含有半乳甘露聚糖成分的药物、食用曲霉污染的谷类及牛奶等[59, 88]。假阴性可见于应用抗真菌药物、病情较轻、抗原浓度低等情况[59]。

曲霉特异 IgG 抗体是检测慢性空洞性肺曲霉病最敏感的方法，推荐曲霉特异 IgE 水平和血清总 IgE 升高用来确定诊断变应性支气管肺曲霉病（allergic bronchopulmonary aspergillosis，ABPA）[89-91]（强，中）。曲霉特异 IgG 抗体检测可用于慢性肺曲霉病的诊断和治疗监测，推荐在治疗周期内至少检测 3 次[92]。念珠菌甘露聚糖抗原与甘露聚糖抗体联合检测适用于念珠菌菌血症和慢性播散性念珠菌病（弱，低）。

5. 核酸 PCR 检测：PCR 检测技术可在较短的时间内检测真菌 DNA，有利于 IFD 的早期诊断。但到目前为止，具有注册证的 PCR 法诊断真菌感染的试剂盒有限。自建的 PCR 检测技术不能替代常规微生物学检测技术和病理学检查。推荐对真菌 PCR 检测的试剂、耗材进行性能验证，对结果进行全过程质量控制[93]（强，高）。对于临床样本含有低丰度的真菌 DNA 或涂片可见真菌成分，但培养阴性时，建议采用已验证过的 PCR 方法对临床样本进行检测[59]（弱，低）。

对于念珠菌血流感染，建议对全血液样本进行念珠菌通用 PCR 检测。该检测项目可用于念珠菌菌血症的排除诊断[4]（弱，低）。对于耶氏肺孢子菌肺炎，建议对呼吸道样本进行 PCR 检测[4]（弱，低）。国内有研究采用 PCR 对怀疑 IFD 的 537 例患者的痰样本进行检测，该方法对耶氏肺孢子菌检出的敏感度为 99.28%，特异度为 98.50%，阳性预测值为 95.80% 和 NPV 为 99.75%，临床应用前景良好[94]。对于肺曲霉感染，建议对血液样本（全血、血清、血浆）、BALF 进行曲霉通用 PCR 检测（弱，低）。2019 年修订的 EORTC/MSGERC 指南中，全血、血清、血浆曲霉通用 PCR 法已纳入到 IA 极似诊断的真菌学标准[4]。欧洲临床微生物学和感染病学会（European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases，ECSMID）、欧洲医学真菌学联合会（European Confederation of Medical Mycology，ECMM）和欧洲呼吸学会（European Respiratory Society，ERS）联合指南推荐适度使用 BALF 样本诊断 IA[68]。其他下呼吸道样本可供参考。对于肺毛霉感染，建议对 BALF、血清进行 PCR 检测（弱，低）。对于组织毛霉感染，建议对新鲜组织或福尔马林固定和石蜡包埋组织样本进行 PCR 检测。目前国内已经有针对组织样本中毛霉目真菌的分子检测方法，但由于缺乏标准化和全面临床评估，可作为组织病理和培养的辅助诊断方法[95]。

6. mNGS：mNGS 在 IFD 病原学诊断中的临床应用范围包括免疫功能低下或重症 IFD、疑难 IFD、经验治疗和早期靶向治疗无效的 IFD、对侵入性手术不耐受的 IFD[96]（强，中）。mNGS 应用于 IFD 的报告解读，除了关注检测出病原真菌的特异性序列数

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House　版权所有　违者必究

和基因组覆盖度图之外，一定要结合临床表现、影像学、患者因素、微生物学其他检测结果、病理学检测结果、其他间接性感染性指标等综合判断[97]（强，低）。

鉴于毛霉目真菌培养阳性率低、血清学 G 和 GM 试验不能覆盖等，对于免疫受损患者（如造血干细胞移植）高度怀疑毛霉目真菌感染时，推荐送检真菌涂片和培养的同时，进行血液或感染部位组织样本的 mNGS 检测（强，低）。耶氏肺孢子菌可在呼吸道定植，判读其 mNGS 结果时，推荐结合临床表现、影像学、患者因素、G 实验、LDH 等综合判断（强，低）。鉴于荚膜组织胞浆菌、马尔尼菲篮状菌和利什曼原虫在组织病理中难以区分，在非流行区组织病理怀疑以上病原体时，mNGS 检测可作为辅助病原学诊断手段之一（弱，低）。在 BALF 中，mNGS 测出少量新型隐球菌序列，应参考外周血或 BALF 隐球菌荚膜多糖抗原检测结果（强，低）。在 BALF 中，mNGS 测出少量曲霉序列，应参考 BALF GM 实验结果（弱，低）。mNGS 在 IFD 病原学诊断中的技术问题包括：高成本、人类患者宿主细胞的影响、外源微生物污染、厚壁真菌核酸提取效率低（尤其是隐球菌）等。mNGS 应用于 IFD 病原学诊断的流程亟须标准化。

7. 抗真菌药物敏感性试验：推荐使用肉汤稀释法进行抗丝状真菌药敏试验。微量肉汤稀释法和宏量肉汤稀释法检测抗丝状真菌 MIC 具有良好一致性。纸片扩散法可补充肉汤稀释法用于抗丝状真菌药敏试验[98]（强，中）。推荐纸片扩散法培养基为不补充钙、镁的 MH 琼脂平板，接种浓度为 0.4×10^6~5×10^6 CFU/ml。两性霉素 B 的判读标准为生长完全抑制的抑菌环，泊沙康唑、伏立康唑、伊曲康唑和卡泊芬净判读标准为 80% 抑制。进行肉汤稀释法抗丝状真菌药敏试验，方法、流程、质量控制及结果判读推荐参考 CLSI M38[99]，结果解释推荐参考 CLSI M38M51S[100] 及 M57S[101]（强，中）。推荐用 RPMI-1640 肉汤制备终浓度为 0.4×10^4CFU/ml~5×10^4 CFU/ml 的菌悬液。两性霉素 B、伊曲康唑、泊沙康唑、伏立康唑、艾沙康唑的生长终点判断标准为 100% 抑制，氟康唑、氟胞嘧啶和酮康唑的生长终点判断标准为约 50% 抑制，棘白菌素类应用最低有效浓度（minimum effective concentration，MEC）生长终点的概念。目前只建立了伏立康唑对烟曲霉的临床折点。对于烟曲霉外的曲霉，两性霉素 B、卡泊芬净、艾沙康唑、伊曲康唑、泊沙康唑和伏立康唑已建立了流行病学界值。

推荐使用肉汤稀释法进行抗酵母及酵母样真菌药敏试验。微量肉汤稀释法和宏量肉汤稀释法检测抗酵母及酵母样真菌 MIC 具有良好一致性。纸片扩散法可替代肉汤稀释法用于抗酵母及酵母样真菌药敏试验[102]（强，中）。推荐纸片扩散法培养基为 0.5% 亚甲蓝+2% 葡萄糖 MH 琼脂平板，接种浓度为 0.5 麦氏单位。两性霉素 B 的判读标准为生长完全抑制的抑菌环。唑类、氟胞嘧啶和卡泊芬净判读标准为量取至有正常大小菌落生长的抑菌环直径大小。进行肉汤稀释法抗酵母及酵母样真菌药敏试验，方法、流程、质量控制及结果判读推荐参考 CLSI M27[103]，结果解释推荐参考 CLSI M27M44S[104] 及 M57S[101]（强，中）。推荐用 RPMI-1640 肉汤制备终浓度为 5×10^2~2.5×10^3 CFU/ml 的菌悬液。两性霉素 B 的生长终点判断标准为 100% 抑制，唑类、氟胞嘧啶、棘白菌素类的生长终点判断标准为约 50% 抑制。目前只建立了白念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌、近平滑念珠菌、热带念珠菌、季也蒙念珠菌的药敏试验判定折点。

结果报告应关注特定菌种的天然耐药性和感染部位抗真菌药物的有效药物浓度（强，低）。药敏试验报告中，不报告对特定药物具有天然耐药性的实验结果，如隐球菌属不报告棘白菌素类；克柔念珠菌不报告氟康唑；红酵母菌属不报告棘白菌素类及氟康唑；曲霉属不报告氟康唑；淡紫紫孢菌不报告两性霉素 B；毛霉目不报告氟康唑、伏立康唑、伊曲康唑和棘白菌素类；毛孢子菌属不报告棘白菌素类；镰刀菌属不报告氟康唑和棘白菌素类；多育节荚孢霉不报告两性霉素 B 及氟康唑。泌尿系统感染不报告棘白菌素类、伏立康唑、伊曲康唑，眼部感染不报告棘白菌素类。

结果解释需注意临床折点和流行病学界值的不同意义（强，低）。临床折点的建立是基于 MIC 分布、药物代谢动力学/药效学参数、临床疗效与 MIC 结果的关系，可预测临床疗效，可将菌株分为敏感、剂量依赖性敏感、中介、耐药或非敏感。流行病学界值仅根据体外数据建立，基于 MIC 分布，不能预测临床疗效，但可识别耐药突变菌株，可将菌株分为野生型与非野生型（有/无获得性耐药或敏感性降低）。

8. 真菌同源性分析：医学上重要真菌基因分型在研究真菌感染的暴发、医院传播、感染途径和基因型表型相关性等方面都有应用，特别是在继发

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

性耐药方面有较深入的研究。目前比较常用的方法有 3 种：多位点序列分型（multilocus sequence typing，MLST）、使用短串联重复（short tandem repeat，STR）标记的微卫星长度多态性（microsatellite length polymorphism，MLP）和全基因组测序分型（whole-genome sequencing，WGS）[105-108]。

建议采用 MLST 、MLP 和 WGS 技术，对目标菌株进行同源性判断。依据技术特点（表 4）和实验室实际能力，选择相应技术。MLST 和 MLP 不能确定分型的菌株可使用 WGS 进行分型（弱，低）。IC 通常使用 MLP 或 MLST 基因分型方法。在耳念珠菌病，MLP 分型具有快速、高分辨率的特点，有助于在亚种水平上对临床分离株进行初步分类[109-110]（弱，低）。曲霉流行病学研究推荐使用 MLP 方法[105]（弱，低）。

四、会诊

IFD 的会诊，推荐医务部门安排感染病学、临床微生物学、临床药学、影像医学、病理学和相关基础疾病的专科一起参与形成多学科团队会诊（强，高）。临床微生物学参与会诊，不必拘泥于是否有执业医师执照。具备一定的临床和微生物学经验，能够结合会诊患者的实际给出具体解释和建议，即可参与会诊（弱，低）。IFD 的确诊和极似诊断都需要相应层面的微生物学证据。非无菌样本如果培养阳性或其他检查结果阳性，但不具备临床表现和影像学特征，考虑为定植（弱，低）。

1. 侵袭性念珠菌病：血液、其他深部组织样本和无菌体液（24 h 内的手术部位样本和/或引流液）微生物学涂片检查和/或组织病理学检查发现念珠菌可以确诊（强，高）。非培养方法（G 实验、念珠菌抗原和抗体检测、PCR 检测等）可作为极似诊断的微生物学证据，结合患者临床严重程度、风险因素可形成极似诊断[111-112]（强，中）。非无菌部位的样本发现念珠菌通常是定植状态，不能单独用于相应样本部位的侵袭性感染的确诊或极似诊断，但是如果有多部位定植（指同时在 2 个或 2 个以上部位分离出念珠菌，即使菌种不同）或某一部位持续定植（指每周至少 2 次非连续培养阳性）可作为 IC 的风险因素（弱，低）。对 COVID-19 患者早期评估 CAC，念珠菌评分可能没有意义（弱，低）。会诊最佳策略是通过评估临床风险因素和定植状态，结合非培养方法结果，考虑 IC 极似诊断的可能性，及早启动抗真菌治疗。经验性治疗首选棘白菌素（强，高）。非重症无氟康唑暴露患者也可选择氟康唑治疗（强，高）。经验性抗真菌治疗 4~5 d 症状无改善，在启动经验性治疗后没有发现侵袭性念珠菌感染证据，或非培养方法阴性且具有较高的 NPV，建议停止抗真菌治疗（强，低）。推荐每天或隔天进行随访血培养，确认念珠菌是否清除，从而评估抗真菌治疗的疗程，在确认培养阴性、病原菌清除后再继续用药 14 d（强，中）。建议对所有培养到的耳念珠菌进行药敏试验，包括定植。耳念珠菌对三唑类及两性霉素 B 耐药率高，推荐经验性治疗首选棘白菌素类；对中枢神经系统或者尿路感染，推荐两性霉素 B，或者同时联合氟胞嘧啶（弱，低）。IC 的预防用药推荐氟康唑（强，高）。明确念珠菌菌血症诊断后，会

表 4　MLP、MLST 和 WGS 用于医学重要真菌分型中的主要区别

参数	MLP	MLST	WGS
DNA 序列是否已知	是	是	是
标记选择	有免费软件用于选择 STR	通过测序获得管家基因	ddNTP
具备物种特异性	是	是	是
结果分析解读	需经验	容易	需经验
存在将两种不同的 PCR 反应产物分配给特定等位基因的风险	可能[a]	否	否
能检测杂合性	容易	二倍体生物体不能进行单倍型分配	容易
能检测混合样本中的少数等位基因	是（基因含量>10%）[b]	是（基因含量>40%）[c]	是
分辨率	高	中等	高
数字化	是	是	是
重复性	高	高	高
可移植性	有限	好	好
提供数据库	否	是	是
是否耗费人力	否	是	是

注：[a]当片段长度是唯一考虑的结果时，STR 侧翼区域可能存在序列差异；[b]尚无为每个物种正式定义的阈值；[c]Sanger 测序的灵敏度阈值；MLP 为微卫星长度多态性，MLST 为多位点序列分型，WGS 为全基因组测序分型，STR 为短串取重复

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House　版权所有　违者必究

诊时应指导迁徙部位的评估，重点包括眼底检查以排除眼内炎，完善肝脏、肾脏CT以排除感染，腰椎穿刺脑脊液进行培养等检查以排除中枢神经系统感染（强，高）。目标性治疗无效，往往没有充分评估感染迁徙部位，感染灶没有彻底清除，选择的抗真菌药物在感染灶分布浓度低，比如中枢和肾脏感染，棘白菌素类不能到达，需要联合其他种类的敏感抗真菌药物，或需要外科干预去除感染灶。

2. 隐球菌病：血液、其他深部组织样本和无菌体液（脑脊液等）涂片墨汁染色阳性、培养阳性和/或组织病理发现隐球菌可以确诊。脑脊液、血液的隐球菌荚膜抗原检测阳性也可作为隐球菌病的确诊证据（强，高）。痰液、BALF等隐球菌可定植部位样本培养出隐球菌不可作为确诊指标，但可作为肺隐球菌病极似诊断的微生物学证据。非培养方法PCR等分子诊断方法也可作为极似诊断的微生物学证据（强，高）。非侵袭性隐球菌病首选氟康唑治疗，重症播散性感染推荐应用两性霉素B脂质体联合5-氟胞嘧啶强化治疗，巩固期选用氟康唑治疗[113]（强，高）。伏立康唑和泊沙康唑用于补救治疗，而棘白菌素类（阿尼芬净、卡泊芬净和米卡芬净）对隐球菌没有体内活性。持续感染及复发者，推荐测定最初分离菌株和复发菌株的MIC。如果MIC较前升高3个稀释度或更多，需考虑可能已经产生耐药。另外，如果菌株对氟康唑的MIC≥16 mg/L或氟胞嘧啶≥32 mg/L，要考虑耐药，更换药物。已经使用过唑类药物者，单独增加唑类药物剂量通常无效，不予推荐。脑脊液的培养、墨汁染色以及血清抗原滴度的连续监测不是治疗反应的可靠指标，疗效需要临床综合评估。

3. 曲霉病：无菌样本真菌涂片和培养发现曲霉，或组织病理发现曲霉是确诊标准（强，高）。COVID-19相关曲霉病：尚无诊断的金标准，建议参考ECMM和国际人与动物真菌学会共识定义[114]（弱，低）。呼吸道样本（痰液、气道吸出物和BALF）培养出曲霉往往很难除外污染和气道定植，但是直接镜检发现曲霉菌丝临床意义大，可以指导临床开始经验性抗真菌治疗（强，中）。如果培养阳性，需要结合涂片结果，单独培养阳性需要结合患者的风险因素和影像学特征作出肺曲霉病的极似诊断（强，中）。非培养方法包括GM试验（血液、BALF和脑脊液）和PCR检测可以作为极似诊断的微生物学证据（强，中）。肺曲霉病患者优选BALF的GM试验，该试验可以帮助区分培养阳性是定植还是感染（强，高）。对于正在进行曲霉病预防治疗的患者，诊断突破性侵袭性感染，血清GM试验敏感性低，容易导致假阴性，但是BALF的GM试验有临床意义，可以单独或联合PCR检测协助诊断新的突破性感染（强，低）。推荐伏立康唑作为治疗IA的一线治疗药物，推荐监测药物浓度（强，高）。其他新型三唑类抗真菌药，如艾沙康唑也可作为一线治疗药物，特别是在严重和长期免疫抑制，不能除外合并其他真菌时（强，高）。推荐泊沙康唑作为挽救性治疗（强，中）。脂质体两性霉素B可作为三唑类不耐受者的替代治疗（弱，中）。棘白菌素类可考虑作为伏立康唑、艾沙康唑之后的二线治疗或挽救性治疗（弱，中）。GM试验的结果变化可用于临床疗效评估（弱，中）。三唑类预防治疗发生突破性感染时，推荐应用脂质体两性霉素B（强，高）。如果脂质体两性霉素B治疗时出现突破性感染，推荐改用伏立康唑或艾沙康唑（强，高）。曲霉特异性IgG水平升高可以是慢性曲霉病极似诊断的微生物学证据，曲霉特异性IgE水平升高可以作为变应性支气管肺曲霉病诊断的微生物证据[75, 115]（强，高）。

4. 肺孢子菌肺炎：通过组织、BALF、痰液以及诱导痰的常规六胺银染色镜检，发现肺孢子菌特征性微观结构如包囊或滋养体可作为PCP的确诊证据（强，高）。核酸检测（PCR、mNGS等）方法阳性，需要除外定植状态，结合患者风险因素和影像学特征可以作为极似诊断的微生物学证据，从而开始早期的治疗（弱，中）。G试验也可作为极似诊断的微生物学证据，但其升高程度与病情严重程度无相关性（强，中）。美国移植学会强调G实验及LDH同时阴性对PJP有较高的NPV。推荐免疫抑制患者应以预防为主，尤其是有定植的患者。复方磺胺甲噁唑是目前临床预防和治疗PJP的首选药物[116]（强，高）。有磺胺类过敏史的患者因病情所需却无更好的替代药品治疗时，可以尝试脱敏治疗。因肾脏功能受损，限制了磺胺药物的足量应用而影响疗效，可以联合卡泊芬净以达到较好的治疗效果（弱，低）。

5. 毛霉病：从感染部位获得的无菌样本（手术、内镜或CT引导下穿刺组织）涂片镜检、培养或组织病理发现典型的特征可以确诊（强，高）。COVID-19确诊后，建议关注CAM。鼻眶脑毛霉病患者的鼻腔样本、肺毛霉病的BALF、痰液样本，若涂片和培养发现典型的毛霉特征可以为极似诊断提供微生物学证据（强，高）。核酸检测（PCR、

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

mNGS等）方法也可以提供极似诊断的微生物学证据（弱，低）。GM和G实验可用于其他真菌的鉴别诊断或混合感染（弱，中）。对确诊或极似诊断毛霉病的患者，推荐紧急启动临床处置，使用两性霉素B脂质体进行一线抗真菌治疗，备选方案为艾沙康唑或泊沙康唑（强，高）。除了系统性抗真菌治疗外，推荐尽早进行外科手术治疗[44]（强，高）。推荐严格控制血糖，并优化糖皮质激素的使用（强，低）。

6.其他深部真菌病：包括马尔尼菲篮状菌、镰刀菌、赛多孢以及地方性真菌病等。确诊标准是血液、其他深部组织样本和无菌体液涂片、培养阳性或组织病理发现典型的真菌结构（强，高）。mNGS检测可以作为极似诊断的微生物学证据（弱，低）。侵袭性感染的治疗：马尔尼菲篮状菌推荐两性霉素B诱导治疗+伊曲康唑巩固治疗的序贯疗法；镰刀菌推荐两性霉素B脂质体治疗，备选是伏立康唑、泊沙康唑；赛多孢推荐伏立康唑治疗，必要时考虑手术干预（强，高）。

说明：部分念珠菌菌种已经成为新的菌属成员。如克柔念珠菌改名为库德里阿兹威毕赤酵母；光滑念珠菌改名为光滑奈卡菌；季也蒙念珠菌改名为季也蒙麦尔酵母复合群。接合菌、假阿利什霉等名字不再使用，相应改为毛霉目、赛多孢。假丝酵母菌属统一为念珠菌属。本文按照日常工作惯例行文。具体菌名请查阅相关文献。

指南制定委员会名单

项目主持人：王辉（北京大学人民医院检验科）

执笔人（按姓名拼音顺序）：陈宏斌、董亮、谷丽、顾兵、康梅、廖康、刘波、刘学东、刘智博、宁永忠、苏欣、陶传敏、王辉、王启、王一民、吴文娟、徐和平、许建成、杨国儒、杨青、余跃天、曾吉、张嵘、赵鸿、赵宗珉

专家组成员（按姓名拼音顺序）：曹敬荣（首都医科大学宣武医院检验科），陈良（复旦大学附属上海市公共卫生临床中心肝病科），陈天艳（西安交通大学第一附属医院感染科），陈宏斌（北京大学人民医院检验科），戴媛媛（中国科学技术大学附属第一医院检验科），邓继岿（深圳市儿童医院感染科），董亮（山东第一医科大学第一附属医院、山东省呼吸疾病研究所），杜鸿（苏州大学附属第二医院医学检验中心），杜艳（昆明医科大学第一附属医院医学检验科），福泉（内蒙古医科大学附属医院检验科），高燕（北京大学人民医院感染科），谷丽（首都医科大学附属北京朝阳医院感染和临床微生物科），顾兵（广东省人民医院检验科），郭大文（哈尔滨医科大学附属第一医院检验科），韩立中（上海交通大学医学院附属瑞金医院临床微生物科），胡必杰（复旦大学附属中山医院感染科），胡继红（国家卫生健康委临床检验中心），胡志东（天津医科大学总医院医学检验科），贾伟（宁夏医科大学总医院医学实验中心），江建宁（广西医科大学第一附属医院感染科），金大智（杭州医学院检验医学院），康梅（四川大学华西医院实验医学科），李海英（宝鸡市人民医院检验科），李敏（上海交通大学医学院附属仁济医院检验科），李轶（河南省人民医院检验科），廖康（中山大学附属第一医院检验科），林锋（海南省人民医院感染科），刘波（淄博市市立医院，淄博市呼吸感染与临床微生物重点实验室），刘根焰（南京医科大学第一附属医院检验科），刘文恩（中南大学湘雅医院检验科），刘学东（青岛市市立医院呼吸与危重症医学科），刘智博（中日友好医院呼吸与危重症医学科），鲁炳怀（中日友好医院呼吸与危重症医学科临床微生物与感染实验室），罗春玉（赤峰学院附属医院检验科），罗燕萍（解放军总医院检验科），马晓波（厦门大学附属第一医院检验科），马筱玲（中国科学技术大学附属第一医院检验科），宁永忠（北京市垂杨柳医院检验科），任万华（山东第一医科大学附属省立医院感染科），单斌（昆明医科大学第一附属医院医学检验科），苏欣（南京大学医学院附属鼓楼医院呼吸与危重症医学科），孙宝霞（枣庄市立医院感染性疾病科），孙宏莉（中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院检验科），陶传敏（四川大学华西医院实验医学科），田国宝（中山大学中山医学院），王红梅（郑州大学第一附属医院检验科），王辉（北京大学人民医院检验科），王启（北京大学人民医院检验科），王一民（中日友好医院 武汉市金银潭医院呼吸与危重症医学科），魏莲花（甘肃省人民医院检验科），吴文娟（同济大学附属东方医院南院检验科），吴伟元（深圳市人民医院检验科），邢西迁（云南大学附属医院呼吸与危重症医学科），徐和平（厦门大学附属第一医院检验科），徐修礼（西安区域医学检验中心），许建成（吉林大学第一医院检验科），杨国儒（潍坊呼吸病医院，潍坊市第二人民医院，呼吸中心），杨青（浙江大学医学院附属第一医院检验科），姚立琼（兰州大学第一医院检验科），余方友（同济大学附属上海市肺科医院检验科），余跃天（上海交通大学医学院附属仁济医院重症医学科），俞云松（浙江大学医学院附属邵逸夫医院感染科），喻华（四川省医学科学院·四川省人民医院临床医学检验中心），曾吉（武汉市第四医院检验科），张静（复旦大学附属中山医院呼吸与危重症医学科），张嵘（浙江大学医学院附属第二医院检验科），张智洁（中国医科大学附属盛京医院检验科），赵彩彦（河北医科大学第三医院感染科），赵鸿（北京大学第一医院感染科），赵建宏（河北医科大学第二医院检验科，河北省临床检验中心），赵玲莉（青海大学附属医院检验科），赵宗珉（中国医科大学附属第一医院感染科），朱镭（山西省儿童医院临床医学检验中心科研部），宗志勇（四川大学华西医院感染性疾病中心）

利益冲突　所有作者声明无利益冲突

参　考　文　献

[1]　Carroll KC, Pfaller MA. 临床微生物学手册[M]. 王辉, 马筱

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House　版权所有　违者必究

玲, 钱渊, 等,译 .12 版 . 北京:中华医学电子影像出版社, 2021: 1925-2060.

[2] World Health Organization. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action[EB/OL]. Geneva: WHO, 2022. https://www.who. int/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi.

[3] Hoenigl M, Seidel D, Sprute R, et al. COVID-19-associated fungal infections[J]. Nat Microbiol, 2022, 7(8):1127-1140. DOI: 10.1038/s41564-022-01172-2.

[4] Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, et al. Revision andupdate 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. DOI: 10.1093/cid/ciz1008.

[5] Barantsevich N, Barantsevich E. Diagnosis and treatment of invasive Candidiasis[J]. Antibiotics (Basel), 2022, 11(6): 718. DOI: 10.3390/antibiotics11060718.

[6] 中国成人念珠菌病诊断与治疗专家共识组 . 中国成人念珠菌病诊断与治疗专家共识[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2020, 12(1):35-50. DOI: 10.12037/YXQY.2020.01-06.

[7] Chumpitazi BF, Lebeau B, Faure-Cognet O, et al. Characteristic and clinical relevance of Candida mannan test in the diagnosis of probable invasive candidiasis[J]. Med Mycol, 2014, 52(5): 462-471. DOI: 10.1093/mmy/myu018.

[8] Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(2): 665-670. DOI: 10.1128/JCM.01602-10.

[9] Ninan MM, Sahni RD, Chacko B, et al. Candida auris: clinical profile, diagnostic challenge and susceptibility pattern: Experience from a tertiary-care centre in South India[J]. J Glob Antimicrob Resist, 2020, 21:181-185. DOI: 10.1016/j.jgar.2019.10.018.

[10] Nunnally N S, Damm T, Lockhart S R, et al. Categorizing susceptibility of clinical isolates of candida auris to amphotericin b, caspofungin, and fluconazole by use of the CLSI M44-A2 disk diffusion method[J]. J Clin Microbiol, 2021, 59(4): e02355-20. DOI: 10.1128/JCM.02355-20.

[11] Kritikos A, Neofytos D, Khanna N, et al. Accuracy ofsensititre YeastOne echinocandins epidemiological cut-off values for identification of FKS mutant *Candida albicans* and *Candida glabrata*: a ten year national survey of the Fungal Infection Network of Switzerland (FUNGINOS)[J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24(11):1214.e1-1214.e4. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.05.012.

[12] Horvath JA, Dummer S. The use of respiratory-tract cultures in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis[J]. Am J Med, 1996, 100(2): 171-178. DOI: 10.1016/s0002-9343(97)89455-7.

[13] Chakrabarti A, Sethi S, Raman DS, et al. Eight-year study of allergic bronchopulmonary aspergillosis in an Indian teaching hospital[J]. Mycoses, 2002, 45(8): 295-299. DOI: 10.1046/j.1439-0507.2002.00738.x.

[14] Uffredi ML, Mangiapan G, Cadranel J, et al. Significance of *Aspergillus fumigatus* isolation from respiratory specimens of nongranulocytopenic patients[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2003, 22(8):457-462. DOI: 10.1007/s10096-003-0970-y.

[15] Kaufman L, Standard PG, Jalbert M, et al. Immunohistologic identification of *Aspergillus* spp. and other hyaline fungi by using polyclonal fluorescent antibodies[J]. J Clin Microbiol, 1997, 35(9): 2206-2209. DOI: 10.1128/jcm.35.9.2206-2209.1997.

[16] Hayden RT, Isotalo PA, Parrett T, et al. In situ hybridization for the differentiation of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Pseudallescheria* species in tissue section [J]. Diagn Mol Pathol, 2003, 12(1): 21-26. DOI: 10.1097/00019606-200303000-00003.

[17] Howard SJ, Cerar D, Anderson MJ, et al. Frequency and evolution of Azole resistance in *Aspergillus fumigatus* associated with treatment failure[J]. Emerg Infect Dis, 2009, 15(7):1068-1076. DOI: 10.3201/eid1507.090043.

[18] Meis JF, Chowdhary A, Rhodes JL, et al. Clinical implications of globally emerging azole resistance in *Aspergillus fumigatus*[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2016, 371(1709).DOI: 10.1098/rstb.2015.0460.

[19] van der Linden JW, Snelders E, Kampinga GA, et al. Clinical implications of azole resistance in *Aspergillus fumigatus*. The Netherlands, 2007-2009[J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(10): 1846-1854. DOI: 10.3201/eid1710.110226.

[20] Snelders E, van der Lee HA, Kuijpers J, et al. Emergence of azole resistance in *Aspergillus fumigatus* and spread of a single resistance mechanism[J]. PLoS Med, 2008, 5(11): e219. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050219.

[21] Sulahian A, Porcher R, Bergeron A, et al. Use and limits of (1-3)-β-d-glucan assay (Fungitell), compared to galactomannan determination (Platelia Aspergillus), for diagnosis of invasive aspergillosis[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(7):2328-2333. DOI: 10.1128/JCM.03567-13.

[22] Lamoth F, Cruciani M, Mengoli C, et al. β-Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3) [J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(5): 633-643. DOI: 10.1093/cid/cir897.

[23] Pazos C, Pontón J, Del Palacio A. Contribution of (1->3)-beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(1): 299-305. DOI: 10.1128/JCM.43.1.299-305.2005.

[24] Acosta J, Catalan M, del Palacio-Pérez-Medel A, et al. Prospective study in critically ill non-neutropenic patients: diagnostic potential of (1, 3)-β-D-glucan assay and circulating galactomannan for the diagnosis of invasive fungal disease[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2012, 31(5):721-731. DOI: 10.1007/s10096-011-1365-0.

[25] De Vlieger G, Lagrou K, Maertens J, et al. Beta-D-glucan detection as a diagnostic test for invasive aspergillosis in immunocompromised critically ill patients with symptoms of respiratory infection: an autopsy-based study[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(11): 3783-3787. DOI: 10.1128/JCM.00879-11.

[26] Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a

中華醫學會雜誌社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

meta-analysis[J]. Clin Infect Dis, 2006, 42(10):1417-1427. DOI: 10.1086/503427.

[27] Leeflang MM, Debets-Ossenkopp YJ, Wang J, et al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2015, 2015(12): CD007394. DOI: 10.1002/14651858.CD007394.pub2.

[28] Husain S, Kwak EJ, Obman A, et al. Prospective assessment of *Platelia Aspergillus* galactomannan antigen for the diagnosis of invasive aspergillosis in lung transplant recipients[J]. Am J Transplant, 2004, 4(5): 796-802. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2004.00415.x.

[29] Aquino VR, Nagel F, Andreolla HF, et al. The performance of real-time PCR, galactomannan, and fungal culture in the diagnosis of invasive aspergillosis in ventilated patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [J]. Mycopathologia, 2012, 174(2): 163-169. DOI: 10.1007/s11046-012-9531-1.

[30] Shin B, Koh WJ, Jeong BH, et al. Serum galactomannan antigen test for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis[J]. J Infect, 2014, 68(5): 494-499. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.01.005.

[31] 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.

[32] Duarte RF, Sánchez-Ortega I, Cuesta I, et al. Serum galactomannan-based early detection of invasive aspergillosis in hematology patients receiving effective antimold prophylaxis[J]. Clin Infect Dis, 2014, 59(12): 1696-1702. DOI: 10.1093/cid/ciu673.

[33] 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. DOI: 10.1371/journal.pone.0043347.

[34] Cao XJ, Li YP, Xie LM, et al. Diagnostic accuracy of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan for invasive aspergillosis[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 5434589. DOI: 10.1155/2020/5434589.

[35] Zhou W, Li H, Zhang Y, et al. Diagnostic value of galactomannan antigen test in serum and bronchoalveolar lavage fluid samples from patients with nonneutropenic invasive pulmonary aspergillosis[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(7): 2153-2161. DOI: 10.1128/JCM.00345-17.

[36] 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. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01438.

[37] van Toorenenbergen AW. Between-laboratory quality control of automated analysis of IgG antibodies against Aspergillus fumigatus[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2012, 74(3):278-281. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012. 07.002.

[38] Baxter CG, Denning DW, Jones AM, et al. Performance of two aspergillus IgG EIA assays compared with the precipitin test in chronic and allergic aspergillosis[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(4): E197-204. DOI: 10.1111/1469-0691.12133.

[39] Guitard J, Sendid B, Thorez S, et al. Evaluation of a recombinant antigen-based enzyme immunoassay for the diagnosis of noninvasive aspergillosis[J]. J Clin Microbiol, 2012, 50(3):762-765. DOI: 10.1128/JCM.01257-11.

[40] Fraczek MG, Kirwan MB, Moore CB, et al. Volume dependency for culture of fungi from respiratory secretions and increased sensitivity of Aspergillus quantitative PCR[J]. Mycoses, 2014, 57(2): 69-78. DOI: 10.1111/myc.12103.

[41] Luong ML, Clancy CJ, Vadnerkar A, et al. Comparison of an Aspergillus real-time polymerase chain reaction assay with galactomannan testing of bronchoalvelolar lavage fluid for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in lung transplant recipients[J]. Clin Infect Dis, 2011, 52(10):1218-1226. DOI: 10.1093/cid/cir185.

[42] Torelli R, Sanguinetti M, Moody A, et al. Diagnosis of invasive aspergillosis by a commercial real-time PCR assay for Aspergillus DNA in bronchoalveolar lavage fluid samples from high-risk patients compared to a galactomannan enzyme immunoassay[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(12):4273-4278. DOI: 10.1128/JCM.05026-11.

[43] Mengoli C, Cruciani M, Barnes RA, et al. Use of PCR for diagnosis of invasive aspergillosis: systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2009, 9(2):89-96. DOI: 10.1016/S1473-3099(09)70019-2.

[44] Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium[J]. Lancet Infect Dis, 2019, 19(12): e405-e421. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30312-3.

[45] Huang SF, Ying-Jung Wu A, Shin-Jung Lee S, et al. COVID-19 associated mold infections: Review of COVID-19 associated pulmonary aspergillosis and mucormycosis[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2022, DOI: 10.1016/j.jmii.2022.12.004.

[46] Alexander BD, Lamoth F, Heussel CP, et al. Guidance on imaging for invasive pulmonary aspergillosis and mucormycosis: from the imaging working group for the revision and update of the consensus definitions of fungal disease from the EORTC/MSGERC[J]. Clin Infect Dis, 2021, 72(Suppl 2):S79-S88. DOI: 10.1093/cid/ciaa1855.

[47] Dannaoui E. Recent developments in the diagnosis of mucormycosis[J]. J Fungi (Basel), 2022, 8(5): 457. DOI: 10.3390/jof8050457.

[48] Muthu V, Agarwal R, Rudramurthy SM, et al. Multicenter case-control study of COVID-19-associated mucormycosis outbreak, India[J]. Emerg Infect Dis, 2023, 29(1): 8-19. DOI: 10.3201/eid2901.220926.

[49] Hussain MK, Ahmed S, Khan A, et al. Mucormycosis: a hidden mystery of fungal infection, possible diagnosis, treatment and development of new therapeutic agents[J]. Eur J Med Chem, 2023, 246: 115010. DOI: 10.1016/j.ejmech.2022.115010.

[50] Salzer H, Schäfer G, Hoenigl M, et al. Clinical, diagnostic, and treatment disparities between hiv-infected and non-hiv-infected immunocompromised patients with *Pneumocystis jirovecii* pneumonia[J]. Respiration, 2018, 96(1):52-65. DOI: 10.1159/000487713.

[51] Lee YT, Chuang ML. *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in AIDS and non-AIDS immunocompromised patients-an

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

update[J]. J Infect Dev Ctries, 2018, 12(10):824-834. DOI: 10.3855/jidc.10357.

[52] Weyant RB, Kabbani D, Doucette K, et al. *Pneumocystis jirovecii*: a review with a focus on prevention and treatment[J]. Expert Opin Pharmacother, 2021, 22(12): 1579-1592. DOI: 10.1080/14656566.2021.1915989.

[53] Hsu JM, Hass A, Gingras MA, et al. Radiographic features in investigated for *Pneumocystis jirovecii* pneumonia: a nested case-control study[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1): 492. DOI: 10.1186/s12879-020-05217-x.

[54] Maschmeyer G, Helweg-Larsen J, Pagano L, et al. ECIL guidelines for treatment of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in non-HIV-infected haematology patients[J]. J Antimicrob Chemother, 2016, 71(9): 2405-2413. DOI: 10.1093/jac/dkw158.

[55] Choukri F, Menotti J, Sarfati C, et al. Quantification and spread of *Pneumocystis jirovecii* in the surrounding air of patients with Pneumocystis pneumonia[J]. Clin Infect Dis, 2010, 51(3):259-265. DOI: 10.1086/653933.

[56] Fishman JA, Gans H. Pneumocystis jiroveci in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice[J]. Clin Transplant, 2019, 33(9): e13587. DOI: 10.1111/ctr.13587.

[57] Chang CC, Hall V, Cooper C, et al. Consensus guidelines for the diagnosis and management of cryptococcosis and rare yeast infections in the haematology/oncology setting, 2021[J]. Intern Med J, 2021, 51 Suppl 7: 118-142. DOI: 10.1111/imj.15590.

[58] Boulware DR, Rolfes MA, Rajasingham R, et al. Multisite validation of cryptococcal antigen lateral flow assay and quantification by laser thermal contrast[J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(1):45-53. DOI: 10.3201/eid2001.130906.

[59] 中国医药教育协会真菌病专业委员会, 国家皮肤与免疫疾病临床医学研究中心(北京大学第一医院), 国家血液疾病临床医学研究中心(北京大学人民医院). 侵袭性真菌病实验室诊断方法临床应用专家共识[J]. 中华内科杂志, 2022, 61(2): 134-141. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20210530-00383.

[60] Setianingrum F, Rautemaa-Richardson R, Denning DW. Pulmonary cryptococcosis: a review of pathobiology and clinical aspects[J]. Med Mycol, 2019, 57(2):133-150. DOI: 10.1093/mmy/myy086.

[61] Temfack E, Rim J, Spijker R, et al. Cryptococcal antigen in serum and cerebrospinal fluid for detecting cryptococcal meningitis in adults living with human immunodeficiency virus: systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies[J]. Clin Infect Dis, 2021, 72(7): 1268-1278. DOI: 10.1093/cid/ciaa1243.

[62] 刘正印, 王贵强, 朱利平, 等. 隐球菌性脑膜炎诊治专家共识[J]. 中华内科杂志, 2018, 57(5):317-323. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2018.05.003.

[63] Zavala S, Baddley JW. Cryptococcosis[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2020, 41(1): 69-79. DOI: 10.1055/s-0039-3400280.

[64] 中华人民共和国国家健康委员会. WS/T 640—2018 临床微生物学检验标本的采集和转运[S].2018-12-11.

[65] 顾菊林. 肺部真菌病的实验室诊断——真菌镜检与培养[J]. 中国真菌学杂志, 2008, 3(1): 46-52. DOI: 10.3969/j.issn.1673-3827.2008.01.018.

[66] Public Health England. Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species). [J]. UK Standards for Microbiology Investigations B 37 Issue 82. https://wwwgovuk/uk-standards-for-microbiology-investigations-smi-quality-and-consistency-in-clinical-laboratories, 2019.

[67] Lee SH, Erber WN, Porwit A, et al. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports [J]. Int J Lab Hematol, 2008, 30(5):349-364. DOI: 10.1111/j.1751-553X.2008.01100.x.

[68] Ullmann AJ, Aguado JM, Arikan-Akdagli S, et al. Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline[J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24 Suppl 1: e1-e38. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.01.002.

[69] 中国医师协会血液科医师分会, 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(第六次修订版)[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(10): 754-763. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20200627- 00624.

[70] 中华预防医学会医院感染控制分会. 临床微生物标本采集和送检指南[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(20): 3192-3200. DOI: 10.11816/cn.ni.2018-183362.

[71] 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.

[72] Dai Z, Cai M, Yao Y, et al. Comparing the diagnostic value of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan, serum galactomannanan, and serum 1, 3-β-d-glucan in non-neutropenic respiratory disease patients with invasive pulmonary aspergillosis[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(14): e25233. DOI: 10.1097/MD.0000000000025233.

[73] Pemán J, Aguilar G, Valía JC, et al. Jávea consensus guidelines for the treatment of *Candida peritonitis* and other intra-abdominal fungal infections in non-neutropenic critically ill adult patients[J]. Rev Iberoam Micol, 2017, 34(3): 130-142. DOI: 10.1016/j.riam.2016.12.001.

[74] Zhang Y, Zhang SX, Trivedi J, et al. Pleural fluid secondary to pulmonary cryptococcal infection: a case report and review of the literature[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1): 710. DOI: 10.1186/s12879-019-4343-2.

[75] Patterson TF, Thompson GR 3rd, Denning DW, et al. Practiceguidelines 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. DOI: 10.1093/cid/ciw326.

[76] Muthu V, Agarwal R, Patel A, et al. Definition, diagnosis, and management of COVID-19-associated pulmonary mucormycosis: Delphi consensus statement from the Fungal Infection Study Forum and Academy of Pulmonary Sciences, India[J]. Lancet Infect Dis, 2022, 22(9): e240-e253. DOI: 10.1016/S1473-3099(22)00124-4.

[77] Jiang RS, Liang KL, Shiao JY, et al. Ethmoid sinus mycology of chronic rhinosinusitis[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2008, 27(4):253-257. DOI: 10.1007/s10096-007-0424-z.

[78] 卢洪洲, 徐和平, 冯长海. 医学真菌检验与图解第二版[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2023.

[79] 徐英春. 临床真菌学图谱[M]. 北京:中国协和医科大学出版

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

社, 2017.

[80] Peng D, Zhu X, Liu Y, et al. Evaluation of formic acid sandwich (FA-sandwich): a pretreatment method for filamentous fungi, for the identification of clinically relevant filamentous fungi by two MALDI-TOF MS systems [J]. Med Mycol, 2022, 60(4).DOI: 10.1093/mmy/myac018.

[81] Guidelines for The Diagnosis, Prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children: supplement to the 2016 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Geneva: World Health Organization, 2018.

[82] Beyene T, Zewde AG, Balcha A, et al. Inadequacy of high-dose fluconazole monotherapy among cerebrospinal fluid cryptococcal antigen (CrAg)-positive human immunodeficiency virus-infected persons in an Ethiopian CrAg screening program[J]. Clin Infect Dis, 2017, 65(12): 2126-2129. DOI: 10.1093/cid/cix613.

[83] Wake RM, Britz E, Sriruttan C, et al. High cryptococcal antigen titers in blood are predictive of subclinical cryptococcal meningitis among human immunodeficiency virus-infected patients[J]. Clin Infect Dis, 2018, 66(5): 686-692. DOI: 10.1093/cid/cix872.

[84] 中国成人念珠菌病诊断与治疗专家共识组. 中国成人念珠菌病诊断与治疗专家共识[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2020, 12(1):35-50. DOI: 10.12037/YXQY.2020.01-06.

[85] Lamoth F, Akan H, Andes D, et al. Assessment of the role of 1, 3-β-d-glucan testing for the diagnosis of invasive fungal infections in adults[J]. Clin Infect Dis, 2021, 72(Suppl 2):S102-S108. DOI: 10.1093/cid/ciaa1943.

[86] 张园, 柏华松, 杜君洋, 等. G实验诊断侵袭性真菌病的干扰因素[J]. 中国真菌学杂志, 2022, 17(1): 69-73. DOI: 10.3969/j.issn.1673-3827.2022.01.016

[87] 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.

[88] 牛雨溪, 刘博华, 杨苏乔, 等. 半乳甘露聚糖试验诊断侵袭性曲霉病假阳性原因研究进展[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020, 43(10): 862-866. DOI: 10.3760/cma. j. cn112147-20191216-00832

[89] 高立静, 安阳, 姜敏捷, 等. 血清烟曲霉IgG抗体联合支气管肺泡灌洗液半乳甘露聚糖检测对肺曲霉菌病的诊断价值[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2020, 14(2): 104-109. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2020. 02.004.

[90] 张维, 沈凌. 血清半乳甘露聚糖抗原及烟曲霉特异性抗体检测在侵袭性肺曲霉病诊断中的价值[J]. 检验医学, 2019, 34(1):38-41. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2019.01.008.

[91] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 变应性支气管肺曲霉病诊治专家共识[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(34): 2650-2656. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0376-2491.2017. 34.003.

[92] Yao Y, Zhou H, Yang Q, et al. Serum Aspergillus fumigatus-specific IgG antibody decreases after antifungal treatment in chronic pulmonary aspergillosis patients[J]. Clin Respir J, 2018, 12(4): 1772-1774. DOI: 10.1111/crj.12702.

[93] 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. DOI: 10.3760/cma.j.issn. 1009-9158.2019. 07.006.

[94] Liu W, Li M, Xu Y, et al. Evaluation of the performance of a multiplex real-time PCR assay for the identification of aspergillus, *Cryptococcus neoformans*, and *Pneumocystis jirovecii* simultaneously from sputum in multicenter[J]. Infect Drug Resist, 2022, 15: 6009-6017. DOI: 10.2147/IDR.S379043.

[95] Liu X, Song Y, Li R. The use of combined PCR, fluorescence in situ hybridisation and immunohistochemical staining to diagnose mucormycosis from formalin-fixed paraffin-embedded tissues[J]. Mycoses, 2021, 64(12): 1460-1470. DOI: 10.1111/myc.13382.

[96] 中华医学会检验医学分会临床微生物学组, 中华医学会微生物学与免疫学分会临床微生物学组, 中国医疗保健国际交流促进会临床微生物与感染分会. 宏基因组高通量测序技术应用于感染性疾病病原检测中国专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(2): 107-120. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20201026-00794.

[97] Nana Song, Xiaofang Li, Weida Liu. Metagenomic next-generation sequencing (mNGS) for diagnosis of invasive fungal infectious diseases: a narrative review[J]. J Lab Precis Med, 2021, 6:29.

[98] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of nondermatophyte filamentous fungi CLSI document M51-A[S]. Wayne, PA: CLSI, 2010.

[99] Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi CLSI document M38[S]. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI, 2017.

[100] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi CLSI supplement M38M51S[S]. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI, 2022.

[101] Clinical and Laboratory Standards Institute. Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing CLSI document M57S[S]. 4th ed. Wayne, PA: CLSI, 2022.

[102] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts CLSI document M44[S]. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI, 2018.

[103] Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts CLSI document M27[S]. 4th ed. Wayne, PA: CLSI, 2017.

[104] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts CLSI document M27M44S[S]. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI, 2022.

[105] Alanio A, Desnos-Ollivier M, Garcia-Hermoso D, et al. Investigating clinical issues by genotyping of medically important fungi: why and how? [J]. Clin Microbiol Rev, 2017, 30(3):671-707. DOI: 10.1128/CMR.00043-16.

[106] Álvarez-Narváez S, Logue CM, Barbieri NL, et al. Comparing PFGE, MLST, and WGS in monitoring the spread of macrolide and rifampin resistant Rhodococcus equi in horse production[J]. Vet Microbiol, 2020, 242: 108571. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.108571.

[107] Nilsson RH, Anslan S, Bahram M, et al. Mycobiome diversity: high-throughput sequencing and identification of fungi[J]. Nat Rev Microbiol, 2019, 17(2): 95-109. DOI: 10.1038/s41579-018-0116-y.

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

[108] Kulik T, Molcan T, Fiedorowicz G, et al. Whole-genome single nucleotide polymorphism analysis for typing the pandemic pathogen *Fusarium graminearum* sensu stricto [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 885978. DOI: 10.3389/fmicb.2022.885978.

[109] Cuomo CA, Alanio A. Tracking a global threat: a new genotyping method for *Candida auris*[J]. mBio, 2020, 11(2).DOI: 10.1128/mBio.00259-20.

[110] Kwon Y J, Shin J H, Byun S A, et al. *Candida auris* clinical isolates from South Korea: identification, antifungal susceptibility, and genotyping[J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(4): e01624-18. DOI: 10.1128/JCM.01624-18.

[111] 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.

[112] 中华医学会检验分会临床微生物学学组. 成人耳念珠菌感染诊治防控专家共识[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(8): 564-570. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2020.08.02.

[113] Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, et al. Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of america [J]. Clin Infect Dis, 2010, 50(3): 291-322. DOI: 10.1086/649858.

[114] Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A, et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance[J]. Lancet Infect Dis, 2021, 21(6): e149-e162. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30847-1.

[115] Denning DW, Cadranel 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. DOI: 10.1183/13993003.00583-2015.

[116] Goto N, Futamura K, Okada M, et al. Management of*Pneumocystis jirovecii* pneumonia in kidney transplantation to prevent further outbreak[J]. Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med, 2015, 9(Suppl 1): 81-90. DOI: 10.4137/CCRPM.S23317.

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究