

血浆 1,3-β-D 葡聚糖对卡氏肺孢子菌肺炎的诊断价值

伊 洁, 郑力胜, 窦亚玲[△] (中国医学科学院北京协和医院检验科, 北京 100730)

【摘要】 目的 探讨应用血浆 1,3-β-D 葡聚糖(BG)用于诊断卡氏肺孢子菌肺炎的临床价值。**方法** 选取确诊卡氏肺孢子菌肺炎(PCP)的患者 50 例, 卡氏肺孢子菌(PC)定植的患者 50 例及同期非 PC 定植的患者 50 例, 检测其血浆中的 BG 浓度。**结果** PCP 患者血浆 BG 的中位数是 698.5 pg/mL[四分位距(IQR):184.4~1 256.0 pg/mL], 高于 PC 定植患者和非 PC 定植患者的血浆 BG 中位数 66.5 pg/mL(IQR:50.0~91.0 pg/mL)、135.9 pg/mL(IQR:54.0~556.3 pg/mL)。PCP 患者血浆 BG 的平均水平是(1 022.8±982.6) pg/mL, 明显高于 PC 定植[(74.7±33.6) pg/mL]和非 PC 定植[(562.7±934.9) pg/mL]患者血浆 BG 的平均水平, 差异有统计学意义($P<0.05$)。以 151.5 pg/mL 为阳性临界值时, 血浆 BG 诊断 PCP 的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别是 96.0%、74.0%、64.9%和 97.4%。以血浆 BG 作为 PCP 的诊断方法时, AUC 为 0.89。**结论** 血浆 BG 可以作为 PCP 的一个早期诊断指标, 同时可以根据 BG 结果鉴别 PCP 或 PC 定植。

【关键词】 1,3-β-D 葡聚糖; 卡氏肺孢子菌肺炎; 卡氏肺孢子菌定植

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.22.017 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)22-3337-02

Clinical value of plasma 1,3-β-D glucan in diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia YI Jie, ZHENG Li-sheng, DOU Ya-ling[△] (Department of Clinical Laboratory, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical value of plasma 1,3-β-D glucan in the diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia(PCP). **Methods** 50 patients with PCP, 50 patients with Pneumocystis carinii(PC) colonization and contemporaneous 50 patients without PC colonization were recruited as the study subjects and tested for plasma 1,3-β-D glucan(BG). **Results** Median plasma BG in the PCP patients was 698.5 pg/mL[interquartile range(IQR):184.4—1 256.0 pg/mL], which was higher than 66.5 pg/mL(IQR:50.0—91.0 pg/mL) in the PC colonization and 135.9 pg/mL(IQR:54.0—556.3 pg/mL) in the PC noncolonization patients, respectively. The average level of plasma BG in the PCP patients was (1 022.8±982.6) pg/mL, which was also higher than (74.7±33.6) pg/mL and (562.7±934.9) pg/mL in the PC colonization and PC noncolonization patients, respectively. The difference of the average levels among three groups was statistically significant($P<0.05$). With 151.5 pg/mL as the positive critical value, the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of plasma BG for diagnosing PCP were 96.0%, 74.0%, 64.9% and 97.4% respectively. With plasma BG as the diagnostic method of PCP, the area under the curve(AUC) of receiver operating characteristic(ROC) curve was 0.89. **Conclusion** The plasma BG can be used as an early diagnostic indicator of PCP, which also can differentiate PCP from PC colonization.

【Key words】 1,3-β-D glucan; Pneumocystis carinii pneumonia; Pneumocystis carinii colonization

卡氏肺孢子菌(PC)是一种机会感染性真菌,在使用免疫抑制剂患者及艾滋病等免疫缺陷患者中,PC 所致的卡氏肺孢子菌肺炎(PCP)是最常见的感染和致死原因之一^[1]。由于 PC 难以培养,因此传统的 PCP 诊断是通过涂片镜检进行的。但是由于其敏感性不高,有时检查甚至是有创的^[2-4],因此近年来出现敏感性较高的 PCR 诊断方法,而 PCR 的弊端是无法分辨 PC 是定植还是感染^[5]。有国外学者发现,检测血浆 1,3-β-D 葡聚糖(BG)浓度对深部真菌感染的早期诊断具有重要参考价值^[6-8]。本研究通过分析 50 例 PCP 患者、50 例 PC 定植患者以及 50 例非 PC 定植患者血浆 BG 水平,评价血浆 BG 水平作为诊断 PC 及鉴别 PCP 与 PC 定植的临床价值,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 研究对象 选取 2012 年 12 月至 2014 年 12 月北京协和医院收治住院的确诊 PCP 患者 50 例,PC 定植患者 50 例,非 PC 定植患者 50 例。50 例 PCP 患者中男 30 例、女 20 例,平均(57.2±15.8)岁;50 例 PC 定植患者中男 23 例、女 27 例,平均(56.6±18.2)岁;50 例非 PC 定植患者中男 34 例、女 16 例,平均(51.8±20.3)岁。三组患者一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.1.2 入组标准 以六胺银染色镜检痰或支气管肺泡灌洗液(BALF)发现 PC 孢子确诊为 PCP;痰或 BALF 标本中 PC DNA 检测到 PC 但是六胺银染色镜检未检测到 PC 孢子被认为是 PC 定植。痰或 BALF 标本中 PC DNA 和六胺银染色镜检均未检测到 PC 被认为是非 PC 定植。所有患者均有肺炎症状(包括不正常的胸部 X 线片结果或咳嗽)或发热。

1.2 方法

1.2.1 血浆 BG 检测 采用湛江安度斯 BG 检测试剂,检测方法按照说明书进行。结果判断:血浆 BG<100.5 pg/mL 为阴性,100.5~150.5pg/mL 为可疑,≥151.5 pg/mL 为阳性。

1.2.2 PC DNA 检测 采用 PCR 进行 PC DNA 的检测^[9],PCR 产物经 2% 凝胶电泳分析,阳性产物进行测序验证。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行分析。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料采用百分率表示。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。血浆 BG 作为 PCP 诊断方法的效果采用 ROC 曲线并计算曲线下面积(AUC)。

2 结 果

2.1 各组患者血浆 BG 检测结果比较 PCP 组与 PC 定植组和非 PC 定植血浆 BG 平均水平差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 血浆 BG 敏感性与特异性 以 151.5 pg/mL 为 PCP 的阳性临界值时,该试验的敏感性是 96.0%(48/50),特异性是 74.0%(74/100),阳性预测值是 64.9%(48/74),阴性预测值是 97.4%(74/76)。不同 BG 水平患者例数分布见表 2。

2.3 ROC 曲线 以血浆 BG 作为 PCP 的诊断方法时,ROC 曲线 AUC 为 0.89,见图 1。

表 1 三组患者的 BG 结果比较(pg/mL)

分组	$\bar{x}\pm s$	最小~最大值	中位数(Q1~Q3)
PCP	1 022.8±982.6	161.7~4 361.6	698.5(184.4~1 256.0)
PC 定植	74.7±33.6	32.2~158.1	66.5(50.0~91.0)
非 PC 定植	562.7±934.9	50.0~3 334.8	135.9(54.0~556.3)

表 2 不同 BG 水平患者例数分布比较[n(%)]

分组	<100.5 pg/mL	100.5~150.5 pg/mL	≥151.5 pg/mL
PCP	0(0.0)	2(4.0)	48(96.0)
PC 定植	41(82.0)	6(12.0)	3(6.0)
非 PC 定植	20(40.0)	7(14.0)	23(46.0)

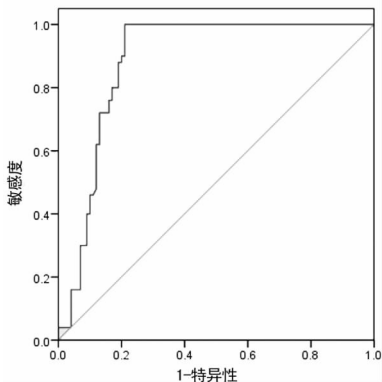


图 1 1,3-β-D-葡萄糖作为 PCP 诊断方法的 ROC 曲线

3 讨 论

PC 存在感染与定植两种情况,Damiani 等^[10]人发现,实时荧光定量 PCR 可以根据 PC 拷贝数不同来区分 PC 感染或定植,但是拷贝数的临界值很难确定。血浆 BG 是酵母及丝状真菌细胞壁的多聚糖成分,不存在于人体中,病毒及其他原核生物也不携带,血浆中 BG 水平与 PCP 的关系值得探讨。本研

究将患者分为 3 组,即 PCP 组、PC 定植组和非 PC 定植组,分别进行血浆 BG 水平检测。结果发现,PCP 组患者血浆 BG 水平为(1 022.8±982.6)pg/mL,远高于 PC 定植和非 PC 定植组($P<0.05$),这与之前的研究是一致的^[11-12]。非 PC 组中患者可能患有其他的侵袭性真菌感染,因此血浆 BG 较 PC 定植组高,但是却低于 PCP 组。PCP 组血浆 BG 的中位数是 698.5 pg/mL,也高于非 PC 感染组和 PC 定植组,说明 PCP 患者血浆 BG 普遍偏高。因此血浆 BG 可以很好地区分 PCP 和 PC 定植,当血浆 BG 水平异常高时要高度怀疑 PCP。由于血浆 BG 检测试剂不同,结果不同,因此阳性结果的临界值也不同。本研究以试剂生产商提供的 151.5 pg/mL 为阳性临界值,评估了血浆 BG 水平检测判断 PCP 的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值。结果发现血浆 BG 水平检测的敏感性达 96.0%,高于六胺银染色镜检结果(55.0%)^[2]。有 2 例 PCP 患者血浆 BG 检测结果介于 100.5~151.5 pg/mL,属于弱阳性需要继续观察。血浆 BG 并不是一种针对 PCP 的特异检测方法,曲霉菌、念珠菌、镰刀菌等感染均会导致其阳性结果。血浆 BG 诊断 PCP 的特异性(74.0%)低于六胺银染色镜检结果(99.0%)^[2],阳性预测值为 64.9%,因此其并不能很好地区分 PCP 和其他真菌感染。但是血浆 BG 阴性预测值可达到 97.4%,这对于排除 PCP 的诊断价值较高。ROC 曲线 AUC 为 0.89,表明血浆 BG 水平检测判断作为 PCP 的总体诊断价值较好。由于血浆 BG 检测容易受到干扰因素的影响,使用某些抗生素会导致 BG 实验数值升高,本研究中检测血浆 BG 水平时,根据试剂生产商的说明书,遇到假阳性时将标本进行稀释重新进行检测,尽可能地排除干扰因素的影响。

总之,血浆 BG 水平检测作为一种非侵入性检验方法,可以早期有效地辅助诊断 PCP,并将 PCP 与 PC 定植区分开来。当血浆 BG 检测结果为阳性且数值较高且 PC DNA 检测阳性时,临床医生要结合患者的临床症状来判断是否是 PCP,当 BG 检测结果为阴性时基本可以排除 PCP,既避免了有创性的检查给患者带来的痛苦,又减少了因 PC 定植而导致的误诊可能性。

参考文献

- [1] Fisk DT,Meshnick S,Kazanjian PH. Pneumocystis carinii pneumonia in patients in the developing world who have acquired immunodeficiency syndrome[J]. Clin Infect Dis, 2003,36(1):70-78.
- [2] Cruciani M,Marcati P,Malena M,et al. Meta-analysis of diagnostic procedures for Pneumocystis carinii pneumonia in HIV-1-infected patients[J]. Eur Respir J,2002,20(4):982-989.
- [3] Kovacs JA,Ng VL,Masur H,et al. Diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia: improved detection in sputum with use of monoclonal antibodies[J]. N Engl J Med, 1988,318(10):589-593.
- [4] Leigh TR,Parsons P,Hume C,et al. Sputum induction for diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia[J]. Lancet, 1989,2(8656):205-206.
- [5] Calderon EJ,Gutierrez-Rivero S,Durand(下转第 3341 页)

异抑制作用,通过影响 DNA 复制、合成过程,从而逆转其甲基化,促使细胞内失活的抑癌基因表达出来,抑制恶性细胞异常增生,促进恶性细胞凋亡^[11]。王静等^[12]在报道中指出,地西他滨具有较强逆转 DNA 甲基化的作用,可有效提高患者的缓解率,且并发症较少。在本次研究中,治疗组患者实施 CAG 方案与地西他滨联合治疗后,总有效率达到了 75.6%,明显优于对照组($P<0.05$)。同时,两组患者治疗后随访发现,治疗组的生存时间指标(总体生存时间和无病生存时间)均明显长于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),与于奇宁等^[13]的研究结果一致。提示 CAG 方案与地西他滨联合治疗能确切缓解患者病情,改善患者生存质量,延长生存时间,较单用 CAG 方案治疗更具优越性。李丽娟等^[14]的研究指出血管内皮生长因子可促进骨髓原始细胞自我更新,加重高危患者病情。此次研究中,血管内皮生长因子水平检测结果发现,治疗后各时段两组的血管内皮生长因子水平均明显低于治疗前($P<0.05$),且对两组治疗后各时点进行对比,治疗组均明显低于对照组($P<0.05$)。表明地西他滨还可减少血管内皮生长因子的合成生成,抑制原始细胞更新,联合用药治疗,抑癌作用更强。此外,治疗组的不良反应发生率为 67.2%,明显低于对照组的 77.8%($\chi^2=7.617, P<0.05$),治疗安全性更高。

综上所述,对于骨髓增生异常综合征患者实施地西他滨与 CAG 方案联合治疗,患者不良反应少,生存周期长,生存质量高,安全可靠,效果显著,值得在目前临床工作中推广使用。

参考文献

[1] 肖志坚. 骨髓增生异常综合征研究进展[J]. 临床血液学杂志, 2013, 26(4): 440-442.

[2] 周晨阳, 孙自敏, 刘会兰, 等. 异基因造血干细胞移植治疗高难治急性髓系白血病的临床研究[J]. 临床内科杂志, 2012, 29(6): 381-383.

[3] 何广胜, 吴德沛, 孙爱宁, 等. WHO 2008 年骨髓增生异常综合征诊断与分型修订解读[J]. 中国实用内科杂志, 2010, 30(5): 416.

[4] 刘真真, 何广胜. 吉西他滨治疗骨髓增生异常综合征的临

床现状[J]. 国际输血及血液学杂志, 2011, 34(5): 319-322.

[5] 徐瑜, 沙颖豪, 谢彦晖, 等. 地西他滨联合小剂量化疗治疗老年中高危骨髓增生异常综合征及急性髓系白血病的临床观察[J]. 老年医学与保健, 2013, 19(1): 31-33.

[6] 邵秀茹, 梁红, 关晓军, 等. 吉西他滨治疗中、高危骨髓增生异常综合征患者的临床研究[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(11): 789-791.

[7] 赵龙, 席亚明, 郭敏, 等. 小剂量地西他滨治疗中高危骨髓增生异常综合征的 Meta 分析[J]. 肿瘤防治研究, 2013, 40(5): 473-477.

[8] 侯先锋, 刘琼, 苏贵珍, 等. CAG 方案治疗中高危骨髓增生异常综合征和急性髓系白血病疗效观察[J]. 徐州医学院学报, 2014, 34(4): 268-271.

[9] 孟文俊, 徐昕, 戴秋新, 等. CAG 方案治疗中高危骨髓增生异常综合征疗效观察[J]. 山东医药, 2011, 51(25): 89-90.

[10] 陈苏宁. 骨髓增生异常综合征的细胞和分子遗传学异常研究进展[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(12): 881-884.

[11] 韩慧娟, 胡亮杉, 邓兰, 等. 吉西他滨对 CD34⁺CD38⁻髓系白血病干细胞的增殖抑制和凋亡诱导作用[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(3): 541-548.

[12] 王静, 李峻岭, 石远凯, 等. 吉西他滨联合顺铂在非小细胞肺癌辅助化疗中的应用[J]. 中国全科医学, 2012, 15(9): 987-989.

[13] 于奇宁, 常新东, 刘先桃, 等. 地西他滨联合 CAG 方案治疗高危骨髓增生异常综合征疗效观察[J]. 疑难病杂志, 2013, 12(5): 357-359.

[14] 李丽娟, 付蓉, 王化泉, 等. 骨髓增生异常综合征患者骨髓 CD34⁺细胞亚群及其表面造血因子受体的表达[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(4): 234-238.

(收稿日期: 2015-04-15 修回日期: 2015-09-09)

(上接第 3338 页)

Joly I, et al. Pneumocystis infection in humans: diagnosis and treatment[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2010, 8(6): 683-701.

[6] Persat F, Ranque S, Derouin F, et al. Contribution of the (1,3)- β -D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections[J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(3): 1009-1013.

[7] 陈社安, 李炜焯, 吕婉娴, 等. G 实验和真菌培养联合检测对临床深部真菌感染的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2011, 8(18): 2213-2216.

[8] 邓林强, 余理智, 熊章华, 等. 血浆 (1,3)- β -D-葡聚糖检测和真菌培养在诊断深部真菌感染的临床价值[J]. 实验与检验医学, 2008, 26(6): 601-602.

[9] Olsson M, Elvin K, Lofdahl S, et al. Detection of Pneumocystis carinii DNA in sputum and bronchoalveolar lavage samples by polymerase chain reaction[J]. J Clin

Microbiol, 1996, 34(8): 2052-2054.

[10] Damiani C, Le Gal S, Da Costa C, et al. Combined quantification of pulmonary pneumocystis jirovecii DNA and serum (1,3)- β -D-glucan for differential diagnosis of pneumocystis pneumonia and pneumocystis colonization[J]. J Clin Microbiol, 2013, 51(10): 3380-3388.

[11] Cuétara MS, Alhambra A, Chaves F, et al. Use of a serum (133)-beta-D-glucan assay for diagnosis and follow-up of Pneumocystis jirovecii pneumonia [J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(10): 1364-1366.

[12] de Boer MG, Gelinck LB, van Zelst BD, et al. β -D-Glucan and s-adenosylmethionine serum levels for the diagnosis of Pneumocystis pneumonia in HIV-negative patients: a prospective study[J]. J Infect, 2011, 62(1): 93-100.

(收稿日期: 2015-05-03 修回日期: 2015-09-08)