

血浆(1-3)- β -D 葡聚糖对侵袭性真菌感染诊断的临床意义

杨莉莉, 邓 璞[△], 刘 敏, 杨菊艳, 张峻梅, 冯小艳(四川省成都市第三人民医院暨重庆医科大学附属成都第二临床学院检验科 610031)

【摘要】 目的 探讨血浆(1-3)- β -D 葡聚糖检测(G 试验)对侵袭性真菌感染(IFI)诊断的临床价值,为临床深部真菌感染的早期诊断提供可靠依据。**方法** 对 2011 年 9 月至 2014 年 12 月四川省成都市第三人民医院 2 133 例疑似 IFI 住院患者使用 MB-80 微生物快速动态检测系统进行 G 试验检测;同时留取下呼吸道分泌物及各种体液标本进行真菌培养,以患者临床诊断、影像学表现、使用抗真菌药物及相应临床症状转归情况作为 IFI 诊断标准,比较两种方法的敏感度及特异度。**结果** 2 133 例患者中经临床诊断为 IFI 745 例,非感染 1 388 例;G 试验诊断 IFI 468 例,非感染 1 665 例,该方法的敏感度为 59.3%,特异度为 98.1%,阳性预测值(PPV)为 94.4%和阴性预测值(NPV)为 81.8%;真菌培养诊断 IFI 440 例,非感染 1 693 例,该方法的敏感度为 45.9%,特异度为 92.9%,PPV 和 NPV 分别为 77.3%和 76.2%;G 试验与真菌培养联合检测后敏感度提高为 64.0%,特异度提高为 99.2%,PPV 和 NPV 分别为 90.3%和 83.3%。**结论** G 试验检测较传统的真菌分离培养与鉴定方法简便、快速、阳性率高,可在拟诊断早期为临床提供机体是否感染真菌的较可靠信息,是一种快速、实用的真菌感染早期诊断方法;传统的真菌培养方法虽敏感度低,但特异度高,并可确定感染菌种类,提供用药指导,建议临床在诊断深部真菌感染时,同时进行 G 试验及真菌镜检和培养等检查以提高 IFI 诊断的敏感度和特异度。

【关键词】 (1-3)- β -D 葡聚糖; 深部真菌感染; 真菌培养

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2016.10.025 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)10-1364-03

Clinical significance of plasma(1-3)- β -D glucan for diagnosis of invasive fungal infection YANG Li-li, DENG Ying[△], LIU Min, YANG Ju-yan, ZHANG Jun-mei, FENG Xiao-yan (Department of Pediatrics, Chengdu Municipal Third People's Hospital/ Affiliated Chengdu Second Clinical College, Chongqing Medical University, Chengdu, Sichuan 610031, China)

【Abstract】 Objective To explore the diagnostic value of plasma(1-3)- β -D-glucan test(G test) in the invasive fungal infection (IFI) to provide the reliable basis for the early diagnosis of clinical deep fungal infection.
Methods The MB-80 microbial dynamics detection system was used to conduct the G test in 2 133 inpatients with suspected IFI in the Chengdu Municipal Third People's Hospital from September 2011 to December 2014; meanwhile the lower respiratory tract secretion and various body fluid samples were collected for conducting the fungal culture. With the clinical diagnosis, imageological manifestations, anti-fungal drugs use and outcomes of corresponding symptoms as the IFI diagnostic standard, the sensitivity and specificity were compared between the two methods.
Results Among 2 133 cases, 745 cases were clinically diagnosed as IFI, 1 388 cases were non-infectious, 468 cases were diagnosed by the G test, 1 665 cases were diagnosed as non-infectious, the sensitivity of this method was 59.3% and the specificity was 98.1%, PPV and NPV were 94.4% and 81.8% respectively; 440 cases of IFI and 1 693 cases of non-infection were diagnosed by the fungal culture, its sensitivity was 45.9%, specificity was 92.9%, PPV and NPV were 77.3% and 76.2% respectively; after the combined detection of G test and fungal culture, the sensitivity was improved to 64.0%, the specificity was increased to 99.2%, PPV and NPV were 90.3% and 83.3% respectively.
Conclusion The G test is simple and rapid with high positive rate compared with the traditional fungal separation, culture and identification methods, which can provide more reliable information for whether the body being infected by fungi in the early stage of suspected diagnosis, therefore is a rapid and practical early diagnostic method of fungal infection. Although the traditional fungal culture method has low sensitivity, but has high specificity, can determine the species of infection fungi, provides the medication guidance. It is recommended that in diagnosing deep fungal infection in clinic, simultaneously conducting the G test, fungal microscopic examination and culture can increase the sensitivity and specific for diagnosing IFI infection.

【Key words】 (1-3)- β -D-glucan; invasive fungal infection; fungal culture

侵袭性真菌感染(IFI)发病率近年来日益增高,且因不能及时诊断获得抗真菌治疗,病死率居高不下^[1-2]。因 IFI 临床表现复杂,多合并细菌感染,容易被基础疾病临床症状掩盖,易造成临床治疗延误。而 IFI 治疗成功的关键取决于能否早期

诊断,真菌形态学诊断耗时长、敏感度差;病理学诊断属侵入性操作,对患者伤害大。因此,探索高敏感度及特异度的早期快速诊断方法已成深部真菌感染实验室研究领域的热点和难点^[3-4]。由于(1-3)- β -D 葡聚糖是除接合菌外的真菌细胞膜上的特征性多糖成分,人体组织与细胞外液均不存在,故检测体液中(1-3)- β -D 葡聚糖是诊断 IFI 的有效依据^[5]。本研究对临床疑似 IFI 患者进行血浆(1-3)- β -D 葡聚糖检测(G 试验),并与传统真菌培养法对比,追溯患者临床抗真菌药物使用及相关症状好转情况,探讨 G 试验对 IFI 诊断的临床价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2011 年 9 月至 2014 年 12 月,临床疑似 IFI 的住院患者,参考欧洲 IFI 合作组(IFICG)对 IFI 的定义和分类进行诊断^[6],共 2 133 例,其中男 1 470 例,女 663 例,年龄 12~92 岁,进行 G 试验及血液、胸腹腔积液、肺泡灌洗液、痰液等标本真菌培养。

1.2 方法

1.2.1 数据库建立 进入医院微生物室信息(Lis)系统及医院病历管理信息(His)系统,分析 2 133 例患者 G 试验及真菌培养结果,调查患者临床诊断、影像学表现、临床使用抗真菌药物及其临床症状转归情况,提取患者临床资料及检验信息并建立数据库进行回顾性分析。

1.2.2 G 试验 应用北京金山科技发展公司 MB-80 微生物快速动态检测系统及试剂定量检测患者血浆中(1-3)- β -D 葡聚糖水平。操作过程中注意避免热原质及细菌污染。

1.2.3 真菌分离培养及鉴定 分离培养标本的留取和真菌分离培养均按《全国临床检验操作规程》第 3 版进行操作。酵母菌采用科玛嘉显色培养基分离鉴定,不能显色酵母菌纯化后,使用德灵 Microscan 全自动微生物鉴定药敏系统鉴定;丝状真菌根据沙氏培养基菌落色素、形态及镜下结构进行菌种鉴定。血平板、沙氏培养基、科马嘉显色培养基等购自重庆庞通有限公司。

1.3 观察指标 分别计算 G 试验、真菌培养及两试验联合检测对 IFI 诊断的敏感度(诊断试验阳性患者数/患者总数 \times 100%)、特异度(诊断试验阴性非患者数/非患者总数 \times 100%)、阳性预测值(PPV,真阳性结果数/阳性结果总数 \times 100%)和阴性预测值(NPV,真阴性结果数/阴性试验结果总数 \times 100%)。

1.4 统计学处理 应用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析,计数资料采用百分率表示,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床诊断情况 2 133 例患者中经临床诊断为 IFI 745 例,非感染 1 388 例;G 试验阳性 468 例,阴性 1 665 例;真菌培养阳性 440 例,阴性 1 693 例。

2.2 真菌培养检测结果及敏感度、特异度 经临床诊断 IFI 的 745 例患者中真菌培养阳性数为 342 例,标本来源以下呼吸道标本为主,血液和深部组织、肠道次之。白色念珠菌占 37.4%(128/342)、热带念珠菌占 19.6%(67/342)、光滑念珠菌占 16.9%(58/342)、烟曲霉菌占 7.3%(25/342)。真菌培养的敏感度和特异度分别为 45.9%和 92.9%;PPV 和 NPV 分别为 77.3%和 76.2%。见表 1。

2.3 G 试验结果及敏感度、特异度 745 例 IFI 患者(1-3)- β -D 葡聚糖水平为 11.23~1 563.80 pg/mL,平均 151.59 pg/mL;非感染 1 388 例患者的(1-3)- β -D 葡聚糖水平为 $< 5.00 \sim 278.30$ pg/mL,平均 8.59 pg/mL;IFI 患者与非感染患者(1-3)- β -D 葡聚糖水平差异有统计学意义($P < 0.01$)。G 试验阳性患者 468 例,敏感度和特异度分别为 59.3%和 98.1%;PPV 和 NPV 分别为 94.4%和 81.8%。见表 2。

表 1 真菌培养与临床诊断结果比较(n)

真菌培养	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	342	98	440
阴性	403	1 290	1 693
合计	745	13 88	2 133

表 2 G 试验与临床诊断结果比较(n)

G 试验	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	442	26	468
阴性	303	1 362	1 665
合计	745	1 388	2 133

2.4 G 试验与真菌培养联合检测的敏感度、特异度 二者联合检测,同时阳性或者其中任一项检测阳性时即判断为阳性,对 IFI 诊断的敏感度、特异度、PPV 和 NPV 分别为 64.0%、99.2%、90.3%和 83.3%。见表 3。

表 3 两种方法对深部真菌感染的检验结果(n)

联合检测	临床诊断		合计
	阳性	阴性	
阳性	477	51	528
阴性	268	1 337	1 605
合计	745	1 388	2 133

2.5 血浆(1,3)- β -D-葡聚糖动态监测结果 442 例经 G 试验诊断为 IFI 患者中,15.6%(69/442)经过抗真菌药物治疗后血浆(1,3)- β -D-葡聚糖水平先升高,再下降,直至降为正常水平;49.3%(218/442)经过抗真菌药物治疗后血浆(1,3)- β -D-葡聚糖水平直接下降,病情有所好转或痊愈;0.9%(4/442)血浆(1,3)- β -D-葡聚糖水平持续处于较高水平,应用抗真菌药物治疗,病情无明显改善而死亡,可能与使用的抗真菌药物的敏感性及使用剂量有关。

3 讨论

广谱抗菌药及免疫抑制剂等广泛应用及介入操作的发展是并发 IFI 主要原因之一,因传统检验方法耗时较长,延误 IFI 早期诊断,即使后期采取有力抗真菌治疗,病死率依然居高不下。目前 IFI 主要根据临床真菌培养、组织病理学、分子生物学和影像学 4 种方式进行诊断。真菌培养能明确感染的真菌种类,药敏试验可为合理用药提供依据,但敏感性差、耗时长,且不能区分侵袭和定植,容易将带菌者误诊为 IFI,不宜作早期诊断;组织病理学常因其创伤性不被患者接受;同时大部分

IFI患者未出现典型影像学改变,因此早期诊断IFI难度较大。本研究检测的(1-3)- β -D葡聚糖在其他微生物细胞壁外缺乏,具有真菌特异性,在无菌体液出现可提示曲霉菌属和假丝酵母菌属等深部真菌感染。试验证明,采用该方法进行G试验,一般于2h内可得到有效的检测结果,同传统真菌培养与病理学检查方法相比,具有无侵入性、快速、敏感性高的特点。当检测到血清、体液中(1-3)- β -D葡聚糖水平升高,结合临床指征或影像学检查,即可予以抗真菌治疗,无需鉴定到真菌的种属,可及时进行经验用药。

研究对本院2133例疑似IFI患者同时进行G试验及真菌培养,其中经临床诊断为IFI感染745例,非感染1388例,G试验检测敏感度为59.3%,特异度为98.1%,PPV和NPV分别为94.4%和81.8%;真菌培养敏感度为45.9%,特异度为92.9%,PPV和NPV分别为77.3%和76.2%。培养阳性标本来源以下呼吸道标本为主,血液和深部组织、肠道次之,这些部位是菌群失调的好发部位。其中白色念珠菌占37.4%(128/342)、热带念珠菌占19.6%(67/342)、光滑念珠菌占16.9%(58/342)、烟曲霉菌占7.3%(25/342)。本试验中依据G试验诊断为IFI的患者,其敏感度、特异性、PPV和NPV均高于真菌培养方法,采用两种方法联合检测,敏感度提高为64.0%,特异性提高为99.2%,PPV和NPV分别提高为90.3%和83.3%。因此,临床怀疑为深部真菌感染时,建议临床同时送检G检测与真菌培养。

本研究显示血浆(1,3)- β -D-葡聚糖在体内的变化与病程发展呈平行关系。在回顾性分析查阅病历中发现,临床诊断为侵袭性肺念珠菌病的1例患者,抗真菌治疗前两次G试验结果分别为152.7、136.7 pg/mL,经氟康唑治疗2周后再测结果为56.9 pg/mL。1例慢性阻塞性肺疾病伴烟曲霉菌感染,痰培养均检出烟曲霉菌,涂片见分生孢子及菌丝,G试验结果为179.06 pg/mL,经过伏立康唑抗真菌治疗后G试验结果小于60 pg/mL。因此,连续监测血浆(1,3)- β -D-葡聚糖水平,可以评估使用抗真菌药物的疗效及判断患者病情转归,指导临床合理使用抗菌药物,李世荣等^[7]也曾做过报道。

G试验也存在一定缺陷,首先,检测(1-3)- β -D葡聚糖只提示有无真菌侵袭感染,未确定种类。其次,有多例与临床诊断不符的病例,存在假阴性结果,其中2例肺曲霉菌感染,临床症状、影像学检查及真菌培养结果均提示肺曲霉病,G试验结果并未升高,分析原因,可能是葡聚糖只是真菌细胞壁的成分,如果真菌被厚壁纤维组织包裹,很难释放入血,导致假阴性。另外,据相关报道检测葡聚糖水平不能用于隐球菌感染的诊断^[8],可能因隐球菌属具有厚壁胞膜,在免疫缺陷患者体内生长缓慢致试验假阴性,但也有报道新型隐球菌感染后葡聚糖升高显著^[9]。有多例与临床诊断不符的病例存在假阳性的问题,假阳性结果可能与患者长期肾透析有关,透析膜中含葡聚糖成分可致假阳性现象;某种免疫性疾病(红斑狼疮等)可为假阳性原因^[10];患者使用过某些血液制品或抗肿瘤药物如香菇多糖可致检测结果呈假阳性。3例菌血症患者D-葡聚糖检测值也升高,可能因D-葡聚糖测定原理与内毒素极相似,血中细菌干扰致假阳性^[11]。由于G试验的敏感度与特异度可因设定的阳性参考临界值不同而不同,各实验室可根据本地区或本院相应条件建立阳性判断值,以满足患者IFI临床诊断最佳的实验诊

断性能。

综上所述,G试验作为一种IFI感染的早期、快速筛查方法有重要的临床应用价值,如果配合患者真菌培养、临床指征、影像学检测等手段,排除各类影响因素的影响,并加强动态监测,可发挥其快速、灵敏和准确的优点,为临床争取宝贵的治疗时间,有效地降低深部真菌感染的病死率。

参考文献

- [1] Prowle JR, Echeverri JE, Ligabo EV, et al. Acquired bloodstream infection in the intensive care unit: incidence and attributable mortality[J]. *Crit Care*, 2011, 15(2): R100.
- [2] Viudes A, Pemán J, Cantón E, et al. Candidemia at a tertiary care hospital: epidemiology, treatment, clinical outcome and risk factors for death[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2002, 21(11): 767-774.
- [3] Munoz P, Guinea J, Bouza E. Update on invasive aspergillosis: clinical and diagnostic aspects[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2006, 12(57): 24-39.
- [4] White PL, Linton CJ, Perry MD, et al. The evolution and evaluation of a whole blood Polymerase chain reaction assay for the detection of invasive aspergillosis in hematology patients in a routine clinical setting[J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 42(4): 479-489.
- [5] 刘耀婷, 陈险峰, 胡海清, 等. 血浆(1,3)- β -D葡聚糖检测对器官移植患者侵袭性真菌感染诊断价值[J]. *中国真菌学杂志*, 2013, 8(3): 151-155.
- [6] De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group[J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 46(12): 1813-1821.
- [7] 李世荣, 王红, 文艳. 血浆(1,3)- β -D-葡聚糖与抗深部白色念珠菌感染药物疗效关系的实验研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2007, 6(6): 20-22.
- [8] Wasser SP. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 60(3): 258-274.
- [9] 闻平, 郭月芳. 深部真菌感染患者血浆葡聚糖检测的临床意义[J]. *中国误诊学杂志*, 2003, 3(1): 10-11.
- [10] Obayashi T, Tamura H, Tanaka S, et al. Endotoxin-inactivating activity in normal and pathological human blood samples[J]. *Infect Immun*, 1986, 53(2): 294-297.
- [11] Kanda H, Kubo K, Hamasaki K, et al. Influence of various hemodialysis membranes on the plasma(1,3)-glucan level[J]. *Kidney Int*, 2001, 60(1): 319-323.