

• 论 著 •

血浆 1,3-β-D 葡聚糖检测在侵袭性真菌感染中的诊断价值

钱雄杰, 钮丽萍, 杨鸿林

(江苏省苏州市吴江区第一人民医院, 江苏苏州 215200)

摘要:目的 研究血浆 1,3-β-D 葡聚糖检测(G 试验)在侵袭性真菌感染(IFI)疾病中的诊断价值和最佳临界值。方法 收集该院 2012 年 2 月至 2014 年 3 月 IFI 确诊患者 46 例,同时选取外科择期手术,排除 IFI 患者 30 例作为阴性对照;采用 MB-80 微生物动态快速检测系统及配套 G 试验试剂盒定量检测血浆 1,3-β-D 葡聚糖的水平,用 ROC 曲线进行评估,并确定 G 试验的最佳临界值。结果 IFI 组和对照组血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平分别为(45.28±44.50)pg/mL 和(8.62±4.85)pg/mL,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。ROC 曲线结果分析显示,血浆 1,3-β-D 葡聚糖用于诊断 IFI 的最佳临界值为 14.7 pg/mL,曲线下面积最大为 0.937,95% 置信区间为 0.888~0.990,灵敏度和特异度分别为 88.9% 和 90.3%,具有较好的诊断效率。结论 血浆 1,3-β-D 葡聚糖检测对于 IFI 具有诊断应用价值,可以用于 IFI 的早期预警指标。

关键词:侵袭性真菌感染; 1,3-β-D 葡聚糖; ROC 曲线

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.01.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)01-0053-02

Diagnostic value of plasma 1,3-β-D-glucan test in invasive fungal infections

Qian Xiongjie, Niu Liping, Yang Honglin

(Wujiang District First People's Hospital, Suzhou, Jiangsu 215200, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value and optimal threshold value of plasma 1,3-β-D-glucan test (G test) in the invasive fungal infections (IFI). **Methods** 46 patients diagnosed with IFI in our hospital from February 2012 to March 2014 were enrolled in this study, and 30 patients without IFI underwent surgical elective surgery in our hospital were selected as the negative controls. The plasma 1,3-β-D-glucan content was quantitatively detected by using MB-80 microbial dynamic rapid detection system and its supporting G test kit. The results were evaluated by ROC curve for the determination of the optimal threshold value of G test. **Results** The plasma 1,3-β-D-glucan levels were (45.28±44.50) pg/mL in the IFI group and (8.62±4.85) pg/mL in the control group respectively, and the difference was statistically significant ($P<0.01$). The results of ROC curve analysis showed that the optimal threshold value of plasma 1,3-β-D-glucan used for diagnosis of IFI was 14.7 pg/mL; the area under the curve was up to 0.937; 95% CI was between 0.888 and 0.990; the sensitivity and specificity were 88.9% and 90.3% respectively; G test had a better diagnostic efficiency. **Conclusion** The plasma 1,3-β-D-glucan test has a diagnostic application value for IFI, which can be used as the early warning indicator of IFI.

Key words: invasive fungal infections; 1,3-β-D-glucan; ROC curve

侵袭性真菌感染(IFI)是由条件致病性或致病性真菌在宿主体内引起的深部真菌感染。近年来随着各种侵入性操作的广泛应用,广谱抗菌药物、激素的滥用情况亦比较严重,侵袭性真菌感染的发生率和病死率逐渐增多^[1],因此对侵袭性真菌感染(IFI)的早期诊断显得尤为重要。1,3-β-D 葡聚糖是大部分真菌细胞壁的特有多聚糖成分,浅表真菌感染或真菌定植时血浆 1,3-β-D 葡聚糖通常不升高^[2],因此,通过检测血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平可以作为 IFI 辅助诊断的标志^[3]。本研究探讨了 G 试验对 IFI 的诊断价值,并寻找合适的诊断临界值以取得较好的诊断效果,提高临床抗真菌感染的诊断和治疗水平。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2012 年 2 月至 2014 年 3 月根据 IFI 诊断标准确诊为 IFI 的患者 46 例,为 IFI 组。对照组为本院外科择期手术患者 30 例(患者无发热、白细胞低下,排除 IFI 可能)。IFI 组患者均经培养存在深部真菌感染,其中血流感染 8 例,呼吸道感染 29 例,泌尿道感染 6 例,腹腔感染 3 例。

1.2 仪器与试剂 血浆 1,3-β-D 葡聚糖定量检测由 MB-80 微生物动态快速检测系统完成,金山科技发展公司提供配套试剂;真菌鉴定由 VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定仪完成,相应试剂由法国生物梅里埃公司提供。

1.3 检测方法 抽取两组患者外周血 3~4 mL,离心获得富血小板血浆(PRP),取 PRP 0.1 mL,加入 0.9 mL 样品处理液中,混匀后 70 °C 保温 10 min,取出后冰水浴 4~5 min,即为待测血浆样品。取 0.2 mL 直接加入检测试剂中,混匀后使用微量加样器转移至反应管中,上机进行检测,试验结束后对照标准曲线由电脑自动计算出待测血浆中 1,3-β-D 葡聚糖的水平。

1.4 真菌鉴定 123 例 IFI 患者采取深部标本(血液、肺泡灌洗液、腹腔引流液等)培养后,对样本进行革兰染色,镜检见真菌孢子,挑取单个菌落经 VITEK-2 Compact 全自动微生物鉴定仪鉴定。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据采用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。利用 ROC 曲线分析确定血浆 1,3-β-D 葡聚糖检测诊断 IFI 的最佳临界值。

2 结果

2.1 IFI 感染患者真菌分布情况 46 例真菌鉴定结果都为念珠菌属,具体构成比见表 1。

2.2 两组血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平的比较 通过检测,对照组血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平为(8.62±4.85) pg/mL,IFI 组血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平为(45.28±44.5)pg/mL。统计学结果

显示 IFI 组血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平明显高于对照组 ($P < 0.01$)。

表 1 IFI 组真菌分布

真菌	株数(n)	构成比(%)
白色假丝酵母菌	23	50.0
近平滑假丝酵母菌	6	13.1
季也蒙假丝酵母菌	5	10.8
热带假丝酵母菌	4	8.7
克柔假丝酵母菌	4	8.7
光滑假丝酵母菌	4	8.7
合计	46	100.0

2.3 ROC 曲线分析确定诊断临界值 ROC 曲线分析结果显示, G 试验用于诊断 IFI 的 ROC 曲线下面积为 0.939, 95% 可信区间为 0.888~0.990。1,3-β-D 葡聚糖水平的最佳临界值为 14.7 pg/mL, 此时灵敏度和特异度分别为 88.9% 和 90.3%, 具有良好的诊断效能, 见图 1。

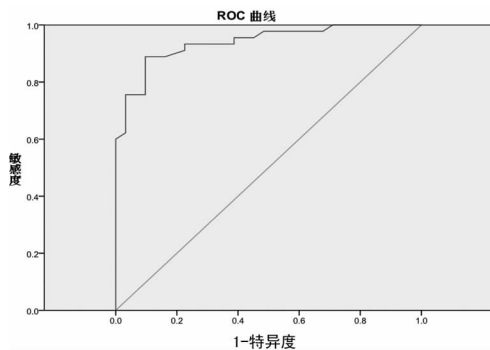


图 1 IFI 诊断 ROC 曲线

3 讨论

近年来, 由于广谱抗菌药物滥用情况比较严重, 免疫抑制剂和皮质类固醇激素在临床上的广泛应用, 各种侵入性操作在临床的普遍开展以及免疫功能低下人群的增多, 特别是随着中国进入老龄化社会和国家医改覆盖面的扩大, 老龄住院患者增长明显, 使 IFD 患病率呈逐年上升趋势^[4], 且其早期诊断比较困难, 预后差, 病死率高达 80%。根据 IFI 确诊的金标准, IFI 患者的确诊需取得微生物学证据, 但传统的微生物培养方法耗时较长, 阳性率不高, 组织病理检查创伤大, 标本取样比较困难, 给临床早期诊断与治疗带来了难度, 因此寻找一种好的试验方法提高对 IFI 患者的诊断效能就显得尤为重要。

β-葡聚糖广泛分布于多种真菌细胞壁中, 为真菌的特有成分, 其中 1,3-β-D 葡聚糖占真菌胞壁成分 50% 以上, 当真菌进入人体血液或深部组织后, 人体产生免疫应答, 真菌抗原经吞噬细胞吞噬、消化后, 1,3-β-D 葡聚糖可从胞壁中释放, 使得血液或其他体液中 1,3-β-D 葡聚糖水平增高^[6], 通过检测 1,3-β-D 葡聚糖的水平能够及时反映真菌感染情况, 且该试验耗时较短, 相对于微生物培养和组织病理检查, 具有安全、快捷的特点, 适合于 IFI 的筛选诊断。已有多项研究发现 1,3-β-D 葡聚糖水平在 IFI 早期可显著升高^[7], 有报道 5 例确诊 IFI 患者及 3 例临床诊断 IFI 患者, 其 1,3-β-D 葡聚糖水平值高, 平均比发热早 5d, 比呼吸道症状早 10.7d, 比影像学检查早 9.3d, 说明 1,3-β-D 葡聚糖检测可用于 IFI 的早期诊断。

本研究中, 根据 IFI 的诊断标准^[8], 46 例 IFI 患者都已取得真菌感染的微生物学证据, 并将其列为阳性组, 将 30 例本院外科择期手术患者, 排除 IFI 可能(无发热、白细胞低下等症

状, 影像学检查正常), 列为对照组, 检测两组的血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平。通过检测证实 IFI 组的血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平明显高于对照组的水平 ($P < 0.05$), 说明血浆 1,3-β-葡聚糖检测在 IFI 的诊断中具有重要的应用价值。同时通过将两组数据 ROC 曲线分析, 发现血浆 1,3-β-D 葡聚糖检测用于诊断 IFI 的 ROC 曲线下面积为 0.939, 也充分说明了该试验对 IFI 的诊断价值。当把 14.7 pg/mL 作为临界值时, 灵敏度和特异度分别为 88.9% 和 90.3%, 具有较好的诊断效能, 但部分种属的真菌如隐球菌和接合菌细胞壁不含或含少量 1,3-β-D 葡聚糖, 利用 G 试验诊断 IFI 可能造成假阴性, 但亦有新生隐球菌感染引起血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平明显升高的报道^[9-10]。血液透析、静脉输注蛋白制品及使用抗肿瘤药物等因素都可能造成假阳性^[11], 原因分析可能是透析液中因含有一定量的葡聚糖, 可能造成假阳性, 特别是肿瘤患者, 因有较多患者听信虚假广告, 服用灵芝类保健品, 对 G 试验亦可造成假阳性的结果。另有文献显示细菌感染亦可能导致血浆 1,3-β-D 葡聚糖水平轻度升高^[12], 因此对 G 试验的结果还需临床医生的综合判断。

综上所述, G 实验作为一种新的诊断 IFI 的无创检测手段, 具有高灵敏度和高特异度的优点, 在排除可能造成假阳性和假阴性的干扰因素情况下对 IFI 的辅助诊断具有比较大的价值, 可以为临床 IFI 的早诊断、早治疗提供一定的决策依据。

参考文献

- [1] Hsu LY, Ng ES, Koh LP. Common and emerging fungalpulmonay infection[J]. Infect Dis Clin North Am, 2010, 24(3): 557-557.
- [2] Kedzierska A. (1,3)-beta-D-glucan a new marker for the early serodiagnosis of deep-seated fun infections in humans[J]. Pol J Microbiol, 2007, 56(1): 3-9.
- [3] 左向华, 陈建魁, 于农, 等. 侵袭性真菌感染患者 1,3-β-D 葡聚糖检测的临床价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(3): 220-221.
- [4] Pagano L, Caira M, Candoni A, et al. The epidemiology of fungali-infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM 2004 study[J]. Haematologica, 2006, 91(8): 1068-1075.
- [5] 马春芳, 孔倩倩, 李芳秋, 等. 133 例念珠菌血症临床与实验室分析[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(2): 145-147.
- [6] Kedzierska A, Kochan P, Pietrzyk A, et al. Current statusof fungal cell wall components in the immunodiagnosicof invasive fungal infections in humans: galactomanan, mannan and (1, 3)-beta-D-glucan antigens[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2007, 26(11): 755-766.
- [7] 张鹏, 李小宁, 欧成举. 血浆(1-3)-β-D 葡聚糖检测对真菌感染的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(5): 564-565.
- [8] 中华医学会重症医学分会. 重症患者侵袭性真菌感染诊断与治疗指南(2007)[J]. 中华内科杂志, 2007, 23(11): 960-966.
- [9] 闻平, 郭月芳. 深部真菌感染患者血清葡聚糖检测的临床意义[J]. 中国误诊学杂志, 2003, 3(1): 10-11.
- [10] Akihiko K, Takako T. Elevation of blood(1-3)-B-D-glucanconcentrations in hemodialysis patients[J]. Nephorn, 2001, 89(1): 15-19.
- [11] 施毅, 赵蓓蕾. 抗原检测对真菌感染的诊断价值与存在的问题[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2008, 31(1): 75-77.
- [12] 胡仁静, 严子禾, 胡锡池. 血浆 1,3-β-D 葡聚糖检测在侵袭性真菌感染中的诊断价值[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(17): 3920-3922.