

• 论 著 •

1,3-β-D 葡聚糖和半乳甘露聚糖检测对 ICU 患者侵袭性真菌感染的诊断价值

孙婷婷, 王 艺[△]

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所检验科, 重庆 400042)

摘要:目的 评价 1,3-β-D 葡聚糖(BG)和半乳甘露聚糖(GM)检测对重症监护室(ICU)患者侵袭性真菌感染(IFI)的早期诊断价值。方法 于 2013—2015 年,对 452 例 ICU 高危 IFI 患者(临床诊断 IFI 182 例,拟诊 IFI 46 例,排除 IFI 224 例),进行血清 BG 和 GM 检测,结合临床诊断,分析 BG 和 GM 检测,以及二者联合检测对 IFI 的诊断特异度、灵敏度、阳性预测值(PPV)和阴性预测值(NPV)。结果 BG 检测对 IFI 的诊断灵敏度为 75.0%,特异度为 80.4%,PPV 为 75.8%,NPV 为 79.6%;GM 检测的诊断灵敏度为 25.8%,特异度为 85.7%,PPV 为 59.5%,NPV 为 58.7%;二者联合检测的诊断灵敏度为 87.4%,特异度为 94.7%。结论 BG 联合 GM 检测可提高对 IFI 的诊断效能,降低假阳性率和假阴性率,为 ICU 患者 IFI 早期诊治提供一定的依据。

关键词:重症监护室; 1,3-β-D 葡聚糖; 半乳甘露聚糖; 侵袭性真菌感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.11.010

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)11-1468-03

Diagnostic value of BG and GM test for invasive fungal infections in ICU patients

SUN Tingting, WANG Yi[△]

(Department of Clinical Laboratory, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To evaluate the early diagnostic value of 1,3-β-D glucan(BG) and galactomannan(GM) test for invasive fungal infections(IFD)in intensive care unit(ICU) patients. **Methods** From 2013 to 2015, the concentration of serum BG and GM were detected in 452 cases of ICU patients, including 182 cases with diagnosis of IFI, 46 cases with possible diagnosis of IFI and 224 cases of non-IFI. The diagnostic performance of BG, GM and combined test were analyzed. **Results** The sensitivity, specificity, positive predictive value(PPV) and negative predictive value(NPV)of BG test were 75.0%, 80.4%, 75.8%, 79.6%. Those of GM test were 25.80%, 85.7%, 59.5% and 58.7%. The sensitivity and specificity of BG and GM combined test were 87.4% and 94.7% respectively. **Conclusion** BG and GM combined test could improve the diagnostic efficiency, reduce the false positive rate and false negative rete, which might be helpful for the early diagnosis of IFI in ICU patients.

Key words: intensive care unit; 1,3-β-D glucan; galactomannan; invasive fungal infections

侵袭性真菌感染(IFD)好发于重症监护室(ICU)患者,也是导致 ICU 患者死亡的重要病因之一。近年来,ICU 患者 IFI 发病率不断增加,占医院获得性感染的 9.2%~14.5%。以念珠菌为主的酵母样真菌和以曲霉属为主的丝状真菌是 IFI 最常见的病原菌,分别占 90.4%和 4.8%^[1]。IFI 早期确诊有利于合理使用抗真菌药物、降低病死率及真菌耐药率。传统诊断方法,如真菌培养、组织病理学检查、显微镜检查等,因耗时、有创、敏感性低等原因,难以实现 IFI 的早期诊断,以致抗真菌治疗的延误,造成患者病死率和平均住院时间增加。IFI 血清学诊断方法,如 1,3-β-D 葡聚糖(BG)和半乳甘露聚糖(GM)检测,因具有较高的敏感性和特异性,大大提高了早期诊断效能^[1-4]。本研究对 ICU 高危 IFI 患者进行了 BG 和 GM 检测,评估了联合检测对 IFI 的早期诊断效能。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1 月 1 日至 2015 年 12 月 31 日于本院 ICU 治疗的患者 452 例;纳入标准:(1)具有发热症状,经规范广谱抗菌药物治疗 5 d 后,体温仍未下降或发热症状反复出现的患者,(2)同时进行血清 BG、GM 检测和 2 次血培养检测。

452 例患者中,男 274 例、女 178 例,年龄(52.4±15.8)岁;合并慢性阻塞性肺疾病(COPD)254 例,合并糖尿病 128 例,合并肾病综合征 25 例,合并肿瘤 84 例;机械通气 249 例,鼻导管吸氧 203 例;近期使用激素治疗 348 例,入院后使用抗真菌药物治疗 208 例。根据欧洲癌症研究和治疗组织/侵袭性真菌感染协作组及美国国立变态反应/感染病研究院真菌病研究组(EORTC/MSG)诊断标准,结合抗真菌治疗效果,在 452 例患者确诊 IFI 182 例、拟诊 IFI 46 例、排除 IFI 224 例。

1.2 试剂与仪器 动态显色美洲鲎试剂法(LAL)BG 检测试剂盒购自广东湛江安度斯公司(批号:1301082、1409111、1502090),酶联免疫吸附法 GM 检测试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司(批号:5G0022、5H0010、5H0035);BacT/ALERT 3D 血培养仪及配套血培养瓶、哥伦比亚血平板、沙保弱平板、革兰阳性菌鉴定卡(GP 卡)、革兰阴性菌鉴定卡(GN 卡)和酵母样真菌鉴定卡(YST 卡)购自法国生物梅里埃公司;LKM-02-32 型动态试管检测仪购自上海丹利检验设备有限公司;MK3 型酶标仪购自美国 Thermo Fisher 公司。

1.3 方法 按要求采集患者静脉血,注入血培养仪配套血培养瓶中,常规方法进行血培养检测,记录血培养检测结果。采

作者简介:孙婷婷,女,检验技师,主要从事病原微生物感染研究。

[△] 通信作者, E-mail:289597851@qq.com.

集患者及健康者空腹静脉血标本,常规方法分离血清标本,采用 BG、GM 检测试剂盒进行 BG、GM 检测。所有检测操作严格参照试剂盒及仪器说明书。BG 检测以 151.5 pg/mL 作为阳性判断临界值, $BG > 151.5$ pg/mL 判为阳性。GM 检测以标本检测吸光度值(A_s)与弱阳性质控品检测吸光度值(A_r)比值 0.5 作为阳性判断临界值, $A_s/A_r > 0.5$ 判为阳性。待测血清 A 值/ R_4 的 A 值, I 值大于 0.5 为阳性。以临床确诊 IFI 为真阳性,以排除 IFI 为真阴性,采用 4 格表评价 BG 检测、GM 检测及二者联合检测对 IFI 的诊断效能,诊断效能评价指标包括灵敏度、特异度、阳性预测值(PPV)和阴性预测值(NPV)。BG、GM 联合检测方案分为两类,方案一:任一单项实验检测结果阳性,判为联合检测阳性;方案二:两项实验检测结果同时为阳性,判为联合检测阳性。

1.4 统计学处理 采用 Microsoft Excel 2010 软件行数据处理和统计学分析。

2 结 果

2.1 各项实验检测结果 452 例患者中, BG 检测阳性 182 例, 阴性 270 例, 阳性率 40.3%; GM 检测阳性 79 例, 阴性 373 例, 阳性率 17.5%; 血培养阳性 105 例, 阴性 347 例, 阳性率

23.2%; 各项实验检测结果见表 1。

表 1 各项实验检测结果 (n)

临床诊断	BG 检测		GM 检测		血培养	
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
确诊 IFI	137	46	47	135	93	89
拟诊 IFI	0	46	0	46	0	46
排除 IFI	45	178	32	192	12	212
合计	182	270	79	373	105	347

2.2 各项实验诊断效能 BG 检测对 IFI 的诊断灵敏度为 75.0%, 特异度为 80.4%, PPV 为 75.8%, NPV 为 79.6%。GM 检测对 IFI 的诊断特异度为 85.7%, 高于 BG 检测。血培养检测对 IFI 的诊断特异度为 94.7%, 高于 BG 和 GM 检测。各项实验诊断效能分析结果见表 2。

2.3 BG、GM 检测联合应用诊断效能 BG、GM 实验联合检测对 IFI 的诊断效能分析结果表 3。

表 2 各项实验诊断效能分析

诊断实验	检测结果	临床诊断 (n)		灵敏度 (%)	特异度 (%)	PPV (%)	NPV (%)
		确诊 IFI	排除 IFI				
BG 检测	阳性	137	45	75.0	80.4	75.8	79.6
	阴性	46	178				
GM 检测	阳性	47	32	25.8	85.7	59.5	58.7
	阴性	135	192				
血培养	阳性	93	12	51.1	94.6	88.6	70.4
	阴性	89	212				

表 3 BG 和 GM 实验联合检测诊断效能分析

联合检测方案	检测结果	临床诊断 (n)		灵敏度 (%)	特异度 (%)	PPV (%)	NPV (%)
		确诊 IFI	排除 IFI				
方案一	阳性	150	174	82.4	22.3	46.3	61.0
	阴性	32	50				
方案二	阳性	37	12	20.3	94.7	75.5	59.4
	阴性	145	212				

3 讨 论

与其他科室患者相比, ICU 患者最突出的特点是解剖生理屏障完整性的破坏, 导致无论免疫力正常或低下的患者, IFI 发病率均较高。此外, ICU 患者 IFI 病死率高, 仅次于血液系统肿瘤患者。IFI 早期治疗对缓解患者病情、提高治愈率极为重要, 因此探讨如何实现 IFI 的早期诊断具有较大的临床价值。

现有的深部真菌感染实验室诊断检查方法存在一定的局限性。组织病理学检查取材困难, 且为有创性诊疗方法, 难以广泛应用。深部真菌感染通常在感染 3 周以后才出现明显的影像学变化, 因此影像学检查无法反映早期病变, 对早期治疗的指导作用有限。真菌抗体检测受限于敏感性、特异性及时效

性, 而且检测结果受宿主免疫状态等多种因素的影响, 如宿主存在免疫抑制或处于抗体尚未产生的早期感染阶段, 抗体检测均可出现假阴性结果, 而既往感染者可出现假阳性结果, 因此真菌抗体检测的临床应用非常有限。真菌学检查需要对本标进行真菌分离、培养和鉴定, 耗时长, 无菌体液检测结果阳性率较低; 来自开放性体腔的标本, 如痰液、尿液、粪便等, 病原学检查均无确诊价值, 特异性较低。分子生物学检查, 如聚合酶链反应(PCR), 易因极微量的污染造成假阳性结果, 同时难以定植寄殖菌和感染菌, 使其特异性不高^[5]。

BG 是除接合菌和隐球菌外, 其他真菌细胞壁的多糖成分之一, 接合菌、隐球菌感染, 以及浅部真菌感染或定植时, 菌体

细胞壁不释放 BG 进入外周血中,因而无法在外周血标本中检出。此外,原核生物、病毒和人体细胞中不存在 BG。因此,外周血 BG 水平升高与 IFI 密切相关^[6-7]。引起 BG 实验检测假阳性结果的常见因素包括血液透析、腹膜透析(纤维素膜)、外科用纱布、静脉制剂(如清蛋白、免疫球蛋白、凝血因子)、抗肿瘤药物(如香菇多糖)、菌血症(如链球菌和葡萄球菌菌血症等)^[8]。上述因素在一定程度上降低了 BG 实验检测对 IFI 的诊断效能,因此需要动态监测患者外周血 BG 水平,同时结合患者临床表现,以正确判断患者的感染状态。GM 是曲霉属真菌细胞壁成分之一,在 IFI 早期即可释放进入外周血,使外周血 GM 水平升高,因此外周血 GM 检测对曲霉属真菌引起的 IFI 具有较高的诊断特异性。有研究表明,酶免疫测试法(EIA)检测外周血 GM 对曲霉属真菌感染具有较高的特异性和敏感性,约 70% 的曲霉属感染患者外周血 GM 水平升高先于影像学检查异常和患者出现典型的临床症状^[9]。新生儿因为肠道中双歧杆菌数量较多,有可能引起 GM 实验检测假阳性结果^[10]。由此可见,BG 和 GM 实验影响因素较多,因此有必要对二者进行联合应用,以期降低诊断假阳性率和假阴性率。

本研究针对 IFI 高发的 ICU 患者进行了 BG、GM 实验联合检测,旨在评价联合检测对 IFI 的诊断价值。结果显示,BG 实验检测对 IFI 具较高的诊断灵敏度和特异度,与临床诊断结果符合率高;GM 实验检测诊断灵敏度低,可能是由于 GM 实验检测结果仅反映曲霉属真菌感染,而此类感染在真菌感染中所占比重较小。二者联合检测可提高诊断灵敏度和特异度,降低假阳性率和假阴性率。结果表 3 显示,采用联合检测方案一时,诊断灵敏度达到 82.4%,采用联合监测方案二,诊断特异度高达 94.7%,高于 BG、GM 和血培养任一单项实验检测。

当 BG 和 GM 实验检测结果均为阳性时,提示患者为 IFI 的可能性极高,结合患者临床表现和影像学检查结果,可早期确诊疾病,并给予抗真菌治疗,从而改善患者预后,降低病死率。BG、GM 实验联合检测的 NPV 较低,提示若为阴性结果,应注意漏检。因此,有必要采用多次检测、动态监测的方法。另有研究报道,对于肺部 IFI 患者,采用肺泡灌洗物标本,其检测阳性率和特异性高于血清标本^[11-12]。

综上所述,采用 BG、GM 实验联合检测,可提高对 ICU 患者 IFI 的诊断灵敏度和特异度,降低误诊率和漏诊率,为疾病的早期诊治提供一定的依据,改善患者预后及降低病死率。关于如何提高 BG 和 GM 实验检测灵敏度和特异度,则有待进一步研究。

参考文献

[1] Azoulay E, Guigue N, Darmon M, et al. (1,3)- β -D-glucan assay for diagnosing invasive fungal infections in critically

ill patients with hematological malignancies[J]. *Oncotarget*, 2016, 16(11):465-471.

- [2] Upton A, Leisenring W, Marr KA. (1,3) beta-D-glucan assay in the diagnosis of invasive fungal infections[J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 42(7):1054-1056.
- [3] Fontana C, Gaziano R, Favaro M, et al. (1-3)- β -D-Glucan vs galactomannan antigen in diagnosing invasive fungal infections(IFIs)[J]. *Open Microbiol J*, 2012, 6(1):70-73.
- [4] Kocmanova I, Racil Z, Koukalova D, et al. 1,3-Beta-D-glucan measurement and its usefulness in the diagnosis of invasive fungal infections[J]. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*, 2008, 14(3):88-92.
- [5] 谭心娟, 苏小芬, 邢秋云, 等. G 试验和 GM 试验对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者侵袭性肺真菌感染的早期诊断价值[J]. *广东医学*, 2014, 28(17):2682-2685.
- [6] 吕沛华, 赵蓓蕾, 施毅, 等. 1,3- β -D 葡聚糖检测诊断侵袭性真菌感染的临床价值[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2007, 30(1):31-34.
- [7] 韩世权, 苏晓蕾, 赵睿, 等. 白蛋白对血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测诊断侵袭性真菌感染的影响[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27(8):672-676.
- [8] 胡毓安, 黄梅, 王卫萍, 等. 菌血症患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖结果分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2011, 26(2):49-52.
- [9] Guigue N, Lardeux S, Alanio A, et al. Importance of operational factors in the reproducibility of *Aspergillus* galactomannan enzyme immune assay[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0124044.
- [10] 何依绮, 傅万海, 游楚明, 等. 血浆 1,3- β -D 葡聚糖在早产儿真菌感染中的意义[J]. *中国妇幼保健*, 2013, 28(35):5823-5825.
- [11] Johnson GL, Sarker SJ, Nannini F, et al. *Aspergillus*-Specific Lateral-Flow device and Real-Time PCR testing of bronchoalveolar lavage fluid: a combination biomarker approach for clinical diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis[J]. *J Clin Microbiol*, 2015, 53(7):2103-2108.
- [12] Miceli MH, Goggins MI, Chander P, et al. Performance of lateral flow device and galactomannan for the detection of *Aspergillus* species in bronchoalveolar fluid of patients at risk for invasive pulmonary aspergillosis[J]. *Mycoses*, 2015, 58(6):368-374.

(收稿日期:2016-11-16 修回日期:2017-01-22)