

• 临床检验研究论著 •

半乳甘露聚糖试验对危重症患者曲霉菌感染早期诊断的研究^{*}

徐杰伟, 李启欣, 何艳嫦

(中山大学附属佛山医院/佛山市第一人民医院检验科, 广东佛山 528000)

摘要:目的 通过动态监测危重症患者的血清半乳甘露聚糖(GM), 评价其对曲霉菌感染早期诊断的临床价值。方法 对 391 例重症监护病房收治的患者每隔 2 d 进行一次 GM 动态监测, 同时进行痰培养及痰涂片的真菌检查, 参照不同的吸光度指数(AI), 对 GM 检测结果进行分析, 比较用药前、后 GM 的变化。结果 当 $AI \geq 0.5$, GM 检测敏感性为 92.68%(76/82); 当 $AI < 0.5$, GM 检测特异性为 100.00%(309/309)。抗真菌治疗后, 血清 GM 水平呈下降趋势。结论 动态检测 GM 对危重症患者曲霉菌感染的早期诊断具有重要临床意义。

关键词:甘露聚糖类; 曲霉菌属; 早期诊断; 重症监护病房; 真菌感染

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.09.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)09-1092-02

A study of galactomannan testing on early diagnosis of *Aspergillus* infections in critically ill patients

Xu Jiewei, Li Qixin, He Yanchang

(Department of Clinical Laboratory, Foshan Hospital Affiliated to Sun Yat-san University/
the First People's Hospital of Foshan, Foshan, Guangdong 528000, China)

Abstract: **Objective** To monitor the serum galactomannan(GM) of critically ill patients dynamically and estimate its clinical value of early diagnosis of *Aspergillus* infections. **Methods** GM dynamic monitoring were performed on 391 patients in intensive care unit every 2 days, and sputum culture and smear for detection of *Aspergillus* were conducted simultaneously. The results of GM testing was analyzed with reference of different absorbent index(AI), and GM changes before and after medication were compared. **Results** Sensitivity of GM detection was 92.68%(76/82) when $AI \geq 0.5$, and its specificity was 100.00%(309/309) when $AI < 0.5$. Serum GM level showed a declining trend after antifungal therapy. **Conclusion** Dynamic detection of GM has clinical significance in early diagnosis of *Aspergillus* infections in critically ill patients.

Key words: mannans; aspergillus; early diagnosis; intensive care units; fungal infection

侵袭性肺曲霉病(invasive pulmonary aspergillosis, IPA)是曲霉菌入侵肺组织引起的深部真菌感染性疾病, 主要发生在免疫抑制人群。近年来, IPA 的发病率呈上升趋势, 在重症监护病房(intensive care unit, ICU), 曲霉菌感染的比例相对较高, 直接影响患者的预后, 使其病死率达 56.0%~88.1%^[1]。半乳甘露聚糖(galactomannan, GM)是曲霉菌细胞壁上的一种对热稳定的多糖, 此多糖在曲霉菌感染的早期释放到血中。目前, 临床诊断为合并曲霉菌感染的病例日益增加^[2-5], 因此, 医务工作者必须对此高度重视。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2010 年 3 月至 2012 年 8 月 ICU 收治的 391 例患者作为研究对象, 其中, 男 238 例, 女 153 例; 年龄 37~83 岁; 慢性肺疾病 67 例, 自身免疫性疾病 33 例, 恶性血液病 3 例; 入院前患者未使用 β -内酰胺类抗菌药及抗真菌治疗。患者入住 ICU 即检测血清 GM, 同时进行痰曲霉菌培养及痰涂片检查。每隔 2 d 重复送检, 全血标本均于采血 2 h 内分离血清, -70℃ 保存。

1.2 主要试剂和仪器 Platelia *Aspergillus* GM 检测试剂盒为法国 Bio-Rad 公司产品, 沙堡-氯霉素琼脂糖真菌培养平板购自法国梅里埃公司, 变色龙全自动酶联测定仪购自西班牙 GRIFOLS 公司。

1.3 检测方法 严格按照试剂盒的说明书进行操作。(1)将

300 μ L 血清、100 μ L 处理液加入 EP(eppendorf)管, 混匀, 加热至 100℃ 3 min, 离心 10 min(离心半径 8 cm, 10 000 r/min); (2)吸取 50 μ L 处理过的血清上清液、50 μ L 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)结合的抗 GM 单克隆抗体, 加入已包被抗 GM 单克隆抗体的微孔板中, 37℃ 反应 90 min, 洗板; (3)加入 200 μ L 底物显色剂, 避光反应 30 min; (4)终止反应, 在主波 450 nm, 次波 620 nm 处测定吸光度(absorbance, A)值。每次实验临界值(cut off, CO)质控血清 A 平均值为 0.3~0.8, 阳性对照 A 值/CO 血清 A 平均值大于 2, 阴性对照 A 值/CO 血清 A 平均值小于 0.4。患者血清 GM 检测结果的计算公式: 吸光度指数(absorbent index, AI)=被检血清 A 值/CO 血清 A 平均值。以 $AI \geq 0.5$ 为 GM 阳性。

1.4 结果的判断 当 2 次检测结果为阳性, 且第 2 次比第 1 次明显增高, 检测结果 $AI \geq 1.5$, 或第 1 次检测结果 $AI \geq 1.5$ 时, 判断为真阳性。建议临床抗真菌治疗, 并继续送检标本, 动态观察 GM 变化。以痰曲霉菌培养阳性或痰涂片找到菌丝为真阳性。

2 结果

391 例首次 GM 检测, $AI < 0.5$: 309 例, 痰曲霉菌培养及痰涂片检查示曲霉菌均为阴性; $0.5 \leq AI < 1.5$: 50 例, 其中 33 例痰曲霉菌培养阳性, 16 例痰涂片找到曲霉菌丝(菌丝有横隔, 菌丝分枝呈 45°), 1 例痰曲霉菌培养为阴性; $AI \geq 1.5$: 32

^{*} 基金项目: 佛山市医学类科技攻关项目(20111021010066)。 作者简介: 徐杰伟(1970~), 男, 副主任技师, 主要从事真菌检验及其实验诊断的工作。

例,其中 30 例痰曲霉菌培养及痰涂片同时阳性; $0.5 \leq AI < 1.5$;50 例,其中 46 例在以后连续动态检测中出现 $AI \geq 1.5$,痰曲霉菌培养阳性。对 $AI \geq 1.5$ 的 78 例患者进行抗真菌治疗,有 75 例 AI 出现了不同程度的下降,有效率为 96%(75/78)。当 $AI \geq 0.5$,GM 检测敏感性为 92.68%(76/82);当 $AI < 0.5$,GM 检测特异性为 100.00%(309/309)。

3 讨 论

IPA 是曲霉菌侵犯肺组织引起的病变,黄曲霉菌、烟曲霉菌为主要致病菌,其他曲霉菌较少见。免疫力低下、原有肺部疾患、长期使用抗菌药或激素者易感染曲霉菌。IPA 的病死率较高,早诊断、早治疗是有效控制其病死率,改善预后的最佳方法。

传统确诊 IPA 的“金标准”是组织病理学检查或无菌液体培养检出真菌;而影像学检查中,并非所有患者都有特异性表现,因此,对 IPA 的诊断十分困难。GM 是曲霉菌细胞壁上的一种对热稳定的多糖,此多糖在曲霉菌感染的早期释放到血中,当 GM 浓度为 1 ng/mL 时,可采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测,其敏感性为 60%~95%,特异性在 85% 之上^[6],这有助于曲霉菌感染的早期诊断。由于疾病本身或治疗因素导致的免疫抑制或免疫功能紊乱^[7],ICU 患者成为 IPA 的高发人群。本研究中,当 $AI \geq 0.5$,GM 检测敏感性为 92.68%(76/82);当 $AI < 0.5$,GM 检测特异性为 100.00%(309/309)。在标本送检方面,同时检测血清 GM 及痰曲霉菌培养、涂片找真菌,检测当天即可获得 GM 结果,且敏感性高;而真菌培养需 7~10 d;涂片检测可立即获得结果,但后者具有易污染及阳性率低的缺点。外周血检出 GM 的时间比临床症状早 5~8 d,比高分辨率计算机断层扫描(computer tomography, CT)早 2~17 d,比真菌培养早 2~15 d,比开始经验性抗真菌治疗的平均时间早 12.5 d^[8-10]。GM 检测还对真菌分属有很高的特异性,但不能精确到属内某种真菌。有人认为支气管肺泡灌洗液中的 GM 浓度检测及真菌培养对曲霉菌感染也有重要价值^[11-12]。

本研究中,对 $AI \geq 1.5$ 的 78 例患者进行抗真菌治疗,有 75 例 GM 检测 AI 出现了不同程度的下降,有效率为 96%(75/78),这也说明 GM 检测具有较高的特异性,提示 IPA 患者经有效抗真菌治疗后,GM 浓度具有下降趋势^[13-14]。

综上所述,利用 ELISA 法检测危重症患者血清 GM 来诊断 IPA,不仅有很高的特异性和敏感性,而且标本采集简单、方便,诊断时间明显早于临床、影像学表现及微生物培养。该法对提高临床早期诊断曲霉菌感染的准确性,尽早采取抗真菌治疗具有重要意义,同时动态监测可帮助判断疗效及预后。

参考文献

[1] Williamson EC, Leeming JP, Palmer HM, et al. Diagnosis of inva-

sive aspergillosis in bone marrow transplant recipients by polymerase chain reaction[J]. Br J Haematol, 2000, 108(1): 132-139.

[2] 朱元钰, 陈文彬. 呼吸病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.

[3] Menzin J, Meyers JL, Friedman M, et al. Mortality, length of hospitalization, and costs associated with invasive fungal infections in high-risk patients[J]. Am J Health Syst Pharm, 2009, 66(19): 1711-1717.

[4] Ader F, Nseir S, Le Berre R, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in chronic obstructive pulmonary disease: an emerging fungal pathogen[J]. Clin Microbiol Infect, 2005, 11(6): 427-429.

[5] 詹庆元, 贺航咏, 章胡晖, 等. 重症慢性呼吸道疾病合并侵袭性肺曲霉病的临床特点[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2008, 31(4): 282-286.

[6] Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis[J]. Lancet Infect Dis, 2004, 4(6): 349-357.

[7] 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, 46(11): 960-966.

[8] Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, et al. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients[J]. J Clin Oncol, 2002, 20(7): 1898-1906.

[9] Pazos C, del Palacio A. Early diagnosis of invasive aspergillosis in neutropenic patients with bi-weekly serial screening of circulating galactomannan by Platelia Aspergillus[J]. Rev Iberoam Micol, 2003, 20(3): 99-102.

[10] Jarque I, Andreu R, Salavert M, et al. Value of aspergillus galactomannan antigen detection in the diagnosis and follow-up of invasive aspergillosis in hematological patients[J]. Rev Iberoam Micol, 2003, 20(3): 116-118.

[11] Levy H, Horak DA, Tegtmeier BR, et al. The value of bronchoalveolar lavage and bronchial washings in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis[J]. Respir Med, 1992, 86(3): 243-248.

[12] Yu VL, Muder RR, Poorsattar A. Significance of isolation of Aspergillus from the respiratory tract in diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis. Results from a three-year prospective study[J]. Am J Med, 1986, 81(2): 249-254.

[13] 纪宇, 刘代红, 许兰平, 等. 血清半乳甘露聚糖检测对造血干细胞移植后患者侵袭性曲霉菌感染的诊断价值[J]. 中华血液学杂志, 2007, 28(2): 83-86.

[14] 姚佳峰, 苏东, 黄勇, 等. 半乳甘露聚糖试验诊断血液病患者并发侵袭性曲霉感染的初步探讨[J]. 中国实验血液学杂志, 2009, 17(3): 765-769.

(收稿日期: 2012-12-19)

(上接第 1092 页)

2003, 3(5): 273-276.

[12] Fagon JY. Diagnosis and treatment of ventilator-associated pneumonia: fiberoptic bronchoscopy with bronchoalveolar lavage is essential[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2006, 27(1): 34-44.

[13] 王莹, 余果, 蒋晓睿. 经纤支镜肺泡灌洗治疗严重肺部感染疗效观察[J]. 四川医学, 2009, 30(9): 1420-1421.

[14] 斐文军, 王天立, 杨泽刚. 床旁纤维支气管镜技术在危重症合并急性呼吸衰竭中的应用[J]. 医学临床研究, 2006, 23(3): 424-426.

[15] 彭丽. 经纤维支气管镜肺泡灌洗治疗老年吸入性肺炎的临床观察[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(12): 1861-1862.

[16] 叶贤伟, 张湘燕, 冯端兴, 等. 支气管灌洗在老年吸入性肺炎的临床应用[J]. 中国老年医学杂志, 2009, 29(9): 1142-1143.

[17] 王睿荣, 王娟, 徐曼. 难治性肺炎纤维支气管镜检查 35 例分析[J]. 临床肺科杂志, 2010, 15(1): 131-132.

(收稿日期: 2013-01-17)