

• 临床检验研究论著 •

血浆(1,3)- β -D 葡聚糖检测对侵袭性真菌感染的诊断价值

殷潇娴, 王玉月[△], 张淑瑛, 史伟峰

(苏州大学附属第三医院检验科, 江苏常州 213003)

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)的临床诊断价值。方法 2013 年 1~9 月收集 IFI 组 67 例、非 IFI 组 61 例及健康对照组 48 例血浆标本,应用动态浊度法检测血浆(1,3)- β -D 葡聚糖水平,通过受试者工作特征曲线(ROC)确定 G 试验最佳临界值。结果 IFI 组、非 IFI 组及健康对照组血浆(1,3)- β -D 葡聚糖水平皆为非正态分布。IFI 组的血浆(1,3)- β -D 葡聚糖水平中位数 208.00 pg/mL 明显高于非 IFI 组 61.30 pg/mL($Z=-5.083, P<0.01$)和健康对照组 31.16 pg/mL($Z=-8.288, P<0.01$)。G 试验用于诊断 IFI 的 ROC 曲线下面积为 0.846,最佳临界值为 90.49 pg/mL,其对应的灵敏度、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 86.6%、77.1%、69.9%和 90.3%;同时,真菌培养诊断 IFI 的灵敏度、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 53.7%、94.5%、85.7%和 61.9%。结论 血浆(1,3)- β -D 葡聚糖检测灵敏度高,阴性预测值好,但有时发生假阳性,建议临床在诊断 IFI 时,动态检测 G 试验并联合真菌培养以提高 IFI 的诊断效率。

关键词:血浆(1,3)- β -D 葡聚糖; 侵袭性真菌感染; G 试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)16-2185-03

Diagnostic value of plasma(1,3)-beta-D-glucan detection for invasive fungal infection

Yin Xiaoxian, Wang Yuyue[△], Zhang Shuying, Shi Weifeng

(Department of Clinical Laboratory, Third Affiliated Hospital of Suzhou University, Changzhou, Jiangsu 213003, China)

Abstract: Objective To explore the clinical value of plasma(1,3)- β -D-glucan detection(G test) in the diagnosis of invasive fungal infections(IFI). Methods The plasma samples were collected in 67 cases of IFI, 61 cases of non-IFI and 48 healthy controls from January to September 2013. The level of(1,3)-D-glucan in plasma was detected by the kinetic turbidimetric assay and the optimal critical value of the G test was determined by receiver operating characteristic curve(ROC). Results The levels of(1,3)- β -D glucan in the IFI, non-IFI and healthy control groups showed the non-normal distribution. However, the median level of plasma(1,3)- β -D glucan in the IFI group was 208.00pg/mL, which was significantly higher than 61.30 pg/mL($Z=-5.083, P<0.01$) in the non-IFI group and 31.16 pg/mL($Z=-8.288, P<0.01$) in the healthy control group. The area under ROC of the G test for diagnosing IFI was 0.846 and the optimal critical value was 90.49pg/mL. The corresponding sensitivity, specificity, positive and negative predictive values were 86.6%, 77.1%, 69.9% and 90.3%, respectively; at the same time, which of the fungal culture for diagnosing IFI were 53.7%, 94.5%, 85.7% and 61.9% respectively. Conclusion Plasma(1,3)- β -D-glucan detection exhibits the high sensitivity and the better negative predictive value for the diagnosis of IFI. But the false positive results occur at times. It is suggested that the G test can be dynamically conducted combined with the fungal culture for improving the efficiency of IFI diagnosis.

Key words: plasma(1,3)- β -D-glucan; invasive fungal infection; G test

侵袭性真菌感染(IFI)又称深部真菌感染或系统性真菌感染。是指致病性真菌侵犯皮下组织、黏膜、肌肉和内脏器官等所引起的真菌感染性疾病。近年来,深部真菌感染的发病率和病死率呈明显上升趋势^[1],这与临床上滥用抗菌药物、经常应用激素及免疫抑制剂、抗癌药物导致机体免疫功能下降有关,已引起临床关注。本研究比较了血浆(1,3)- β -D 葡聚糖水平即 G 试验(动态浊度法)与传统实验室培养方法之间的关系,评价血浆(1,3)- β -D 葡聚糖的检测对深部真菌感染诊断的临床意义,为快速、准确、高效诊断深部真菌感染提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据国内外相关学会制定的各种 IFI 诊治指南^[2-5]筛选医院 2013 年 2~9 月诊断为 IFI 住院患者 67 例,其中男 39 例,女 28 例。IFI 组共有 67 例患者,其中包含确诊组 16 例,临床诊断组 20 例,拟诊组 31 例。非 IFI 组 61 例为已排除 IFI 感染的其他住院患者;健康对照组 48 例为健康体检人员。同时,采集患者的血、痰、尿、粪便标本,进行真菌培养及真菌涂片观察,特殊患者留取腹水和脑脊液、静脉插管等进行真

菌培养,如同一患者具有多份标本,选择最接近诊断时间点的标本进行检测。

1.2 仪器与试剂 MB-80 微生物快速动态检测系统、低速离心机、T02 智能恒温仪、冰浴槽、旋涡混合器以及 GKT-1M 真菌(1,3)- β -D 葡聚糖检测试剂盒(光度法),以上均为北京金山科技发展公司产品;BACTEC FX-400 血培养仪由美国 BD 公司生产;API20 C AUX 板条由法国梅里埃公司的产品。

1.3 G 试验实验原理 真菌(1,3)- β -D 葡聚糖能特异性激活反应主剂中的 G 因子、凝固酶等,引起凝固蛋白原转变成凝固蛋白从而引起吸光度变化,根据检测其溶液吸光度变化对其浓度进行定量。

1.4 检测方法 无菌操作作用专用无热源真空采血管(肝素类抗凝)抽取研究对象静脉血 4 mL 轻轻混匀,经 3 000 r/min 离心 60 s,得到富含血小板血浆(PRP)。取上述富含血小板血浆 100 μ L,加入到 900 μ L 样品处理液中,混匀后插入恒温仪加热区中进行 70 $^{\circ}$ C 干热 10 min;干热结束后,将前处理液取出后冰浴 5 min(取出时切忌震荡),级为待测血浆样品。取上清液

200 μ L 加入到反应主剂中,轻轻混匀,待完全溶解后,全部移液至平底试管中(不要产生气泡),插入 MB-80 微生物快速动态检测系统中进行检测。试验结束后由标准曲线自动计算出待测血浆中(1,3)- β -D 葡聚糖水平。

1.5 真菌及细菌培养 采用传统固体平板培养法。抽取患者血液 8~10 mL 上 BACTEC FX-400 全自动血培养仪进行培养,并将患者的痰或中段尿等标本接种于沙氏培养基中 30 $^{\circ}$ C 培养 7 d,培养阳性经革兰染色确定为革兰阳性真菌孢子后,采用法国梅里埃公司 API20 C AUX 板条进行真菌鉴定。

1.6 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件对检测数据进行统计学分析,经正态性检验,各组(1,3)- β -D 葡聚糖水平值为非正态分布,以中位数表示,组间差异采用独立样本秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义;用 ROC 曲线来确定 G 试验诊断 IFI 的最佳临界值,并计算诊断阈值下的灵敏度、特异性、阴性预测值和阳性预测值。

2 结 果

2.1 IFI 感染的科室分布 67 例 IFI 感染患者科室分布见表 1。

2.2 真菌培养及 G 试验对 3 组病例检测结果 所有 176 例病例均以传统真菌培养方法作平行对照实验,共有 42 例培养出真菌,其中 37 例来自于 IFI 组,另有 5 例来自于非 IFI 组和对照组。37 例 IFI 组真菌培养阳性病例中念珠菌属 34 例占 91.9%(白色念珠菌占 70.3%,光滑念珠菌占 16.2%,克柔念珠菌占 5.4%),曲霉属 3 例占 8.1%。IFI 组血浆(1,3)- β -D 葡

聚糖水平中位数 208.00 pg/mL 明显高于 61 例非 IFI 组 61.30 pg/mL($Z=-5.083, P<0.01$)及健康对照者 31.16 pg/mL($Z=-8.288, P<0.01$);非 IFI 组和健康对照组比较差异有统计学意义($Z=-4.770, P<0.01$)。

表 1 IFI 感染患者的科室分布

科室	病例数(<i>n</i>)	构成比(%)
重症监护病房	21	31.3
呼吸内科	20	29.9
免疫风湿科	7	10.4
血液科	5	7.5
肿瘤科	3	4.5
神经外科	2	3.0
其他	9	13.4
合计	67	100.0

2.3 G 试验诊断 IFI 的效率 传统真菌培养诊断 IFI 的灵敏度和特异性为 53.7%和 94.5%,阳性预测值为 85.7%,阴性预测值为 61.9%;而 G 试验用于诊断 IFI 的 ROC 曲线下面积为 0.846,95%置信区间为 0.788~0.904,提示该检测方法的诊断价值较高。采用 90.49 pg/mL 为阈值时,具有最大的约登指数,对应的灵敏度和特异性分别为 86.6%和 77.1%,阳性预测值为 69.9%,阴性预测值为 90.3%。见表 2。

表 2 不同阈值下血浆(1,3)- β -D 葡聚糖对 IFI 的诊断效率

血浆(1,3)- β -D 葡聚糖水平(pg/mL)	灵敏度(%)	特异性(%)	阴性预测值(%)	阳性预测值(%)	尤顿指数
79.62	86.6	70.2	58.3	92.6	0.568
90.49	86.6	77.1	69.9	90.3	0.637
104.5	72.2	80.4	73.2	86.3	0.526
114.29	67.4	83.7	75.3	82.7	0.511

3 讨 论

近年来,随着抗菌药物、免疫抑制剂及皮质类固醇激素在临床上的广泛应用,器官移植、肿瘤的放化疗技术等普遍开展以及一些慢性病生存时间的延长,深部真菌感染发病率逐渐增加,占院内感染的 10%~15%^[6]。由于 IFI 患者常基础状态差、疾病进展迅速,病死率甚高,抗真菌治疗的尽早进行对深部真菌感染的预后至关重要。(1,3)- β -D 葡聚糖广泛存在于除接合菌、隐球菌属之外的真菌细胞壁中,当真菌进入人体血液或深部组织后,经吞噬细胞吞噬、消化等处理后,可从胞壁释放入血液或其他体液当中。有资料显示^[7], (1,3)- β -D 葡聚糖检测值升高平均早于发热 5 d,早于呼吸道症状平均 10.7 d,早于 HRCT 检查平均 9.3 d。因此血浆(1,3)- β -D 葡聚糖的升高成为 IFI 的一个重要标志。

本试验中引起 IFI 的病原菌以念珠菌属检出率最高占 91.9%(白色念珠菌占 70.3%,光滑念珠菌占 16.2%,克柔念珠菌占 5.4%),曲霉属 3 例占 8.1%。与相关资料基本一致。有实验报道^[8] G 试验检测血浆(1,3)- β -D 葡聚糖浓度对深部念珠感染最为敏感,并且其浓度随病情恶化加重,随治疗好转而降低。

本研究中,IFI 组的血浆(1,3)- β -D 葡聚糖水平明显高于非 IFI 组和健康对照组,说明了血浆(1,3)- β -D 葡聚糖在 IFI 诊断中具有重要价值。同时,非 IFI 组血浆(1,3)- β -D 葡聚糖水平又高于健康对照组,究其原因可能是因为非 IFI 组选自其他住院病例可能存在其他病原菌感染或其他因素所导致的假阳性^[9]。

G 试验的干扰因素很多,最常见的有血液透析患者应用纤维素膜进行血液透析;某些纱布或其他医疗物品中含有葡聚糖;静脉输注清蛋白、凝血因子、免疫球蛋白等制剂;某些细菌性血行感染;某些抗肿瘤药物的使用等。国内诊断指南^[3]定义连续 2 次 G 试验阳性才作为诊断 IFI 的微生物证据,建议至少每周 2 次连续动态监测,结果皆为阳性者结合临床具有初步诊断意义,对高危患者根据其临床情况增加检测次数。

本研究采用 ROC 曲线对 G 试验诊断 IFI 的价值进行了评价,ROC 曲线下面积为 0.846,提示该检测方法的诊断价值较高,采用 90.49 pg/mL 为阈值时,具有最大的约登指数,对应的灵敏度和特异性分别为 86.6%和 77.1%,阳性预测值为 69.9%,阴性预测值为 90.3%。这与近年来国内一些对 GKT set 动态真菌检测试剂盒的诊断特性评价类(下转第 2193 页)

呼吸道感染的重要病原菌之一。分析结果显示本院 2012~2013 年鲍曼不动杆菌主要分离自痰液、咽拭子、分泌物等标本中,其中痰标本为最高(81%),与文献[1]报道相近。

在临床科室分布中,鲍曼不动杆菌主要来自于急诊 ICU、住院 ICU、神经内科及呼吸内科,对于 ICU 及神经内科感染鲍曼的主要因素包括原发病严重、长期卧床、气管插管或切开、颅脑手术、机械通气、广谱抗菌药物的使用、介入性导管留置时间长和长期留住 ICU 等,其他报道同样证实上述科室易引起感染[2]。所以严防鲍曼不动杆菌在医院内广泛传播,引起暴发流行,必须重视加强易感人群的消毒隔离,尽量减少侵入性的治疗操作,缩短导管的留置时间。同时重症患者使用呼吸机时要严格消毒,护理人员在护理患者时,要严格按照要求洗手,防止鲍曼不动杆菌感染及交叉传播。

随着鲍曼不动杆菌专家共识的出台以来,临床逐渐认识到这几年抗菌药物的使用情况可能比较随意所引起了耐药菌株的广泛流行,有了严格治疗标准,提高经验用药效率[3]。2013 年,鲍曼不动杆菌对常用的 14 种抗菌药物的耐药率除了复方磺胺甲噁唑、妥布霉素、头孢曲松、哌拉西林,其余均在 50% 以下。由此可见,对抗菌药物使用的严格管理,严格按照药敏试验结果使用抗菌药物是控制细菌耐药率不断上升的有力方法。

鲍曼不动杆菌耐药机制复杂,其对多数抗菌药物耐药原因主要是产生 β -内酰胺酶,其次为外膜孔蛋白的缺失和主动外排系统。由于碳青霉烯类抗菌药物对 β -内酰胺酶稳定,使其成为治疗多重耐药鲍曼不动杆菌的首选药物,但耐药率呈逐年上升的趋势。2009 年 CHINET 统计数据显示亚胺培南和美洛培南耐药率分别为 54.8% 和 57.2% [4],2010 年 CHINET 统计数据分别为 62.1% 和 63.6% [5]。本院两年亚胺培南的耐药率分别为 35.9% (2012 年) 和 41.4% (2013 年)。虽然本院鲍曼不动杆菌对亚胺培南耐药率明显低于全国水平,但由于在重症感染者中优先应用导致了耐药率的上升,据文献[6]报道,亚胺培南属耐药潜能药物,而控制抗菌药物耐药的较有效措施为限制高耐药潜能抗菌药物的不合理应用,因此,合理选用抗菌药物和严密监测该菌对亚胺培南的耐药性具有重要意义。另外本院还发现部分多重耐药菌株仅存在 LEV 敏感的情况且均来自于 ICU,说明是院内 ICU 感染的主要菌株,也有报道认为,LEV

敏感而碳青霉烯类抗菌药物耐药的情况,说明耐药原因未必是产生了碳青霉烯酶,而是由于外排泵加强了外排机制最终导致耐药[7]。

分析发现,本院 2013 年泛耐药率 and 多重耐药率有下降趋势,连续两年 MDR 率均低于 2010 年 CHINET 监测的分离率(55%) [5]。但是多重耐药菌株分离率仍然居高不下,提示抗菌药物的合理利用还是一项任重而道远的工作。在目前多重耐药菌株的治疗未取得重大进展之前,预防耐药株广泛传播是各科室重中之重的[8]。临床医师尽量做到依据药敏试验结果合理使用抗菌药物,护理人员一定严格洗手。

综上所述,鲍曼不动杆菌临床分布广泛、耐药性强,应加大对鲍曼不动杆菌的耐药性监测及监管力度,强调根据药敏试验结果选择用药,防止鲍曼不动杆菌在医院内播散。

参考文献

- [1] 张军民,吴坚,陈民钧,等. 鲍曼不动杆菌 5 年耐药性监测结果分析[J]. 中华检验医学杂志,2006,29(1):51-52.
- [2] 陈胜. 下呼吸道感染鲍曼不动杆菌的临床分布及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2010,7(24):2722-2724.
- [3] 李新,王金良. 鲍曼不动杆菌耐药机制的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2008,29(11):1021-1025.
- [4] 张小江,徐英春,俞云松,等. 2009 年中国 CHINET 鲍曼不动杆菌细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2010,10(6):441-446.
- [5] 习慧明,徐英春,朱德妹,等. 2010 年中国 CHINET 鲍曼不动杆菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2012,12(2):98-104.
- [6] Choi WS, Kim SH, Jeon EG, et al. Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Intensive Care Units and successful outbreak control program[J]. J Korean Med Sci, 2010,25(7):999-1004.
- [7] 王友梅,沈继录,沈继录,等. 多重耐药鲍曼不动杆菌外排泵机制的初步研究[J]. 安徽医科大学学报,2012,47(1):38-40.
- [8] 吴春阳,顾国浩,钱雪峰. 鲍曼不动杆菌耐药机制及其对策研究的新进展[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(2):174-176.

(收稿日期:2014-03-03)

(上接第 2186 页)

似^[10]。血浆(1,3)- β -D 葡聚糖的检测时间短,灵敏度高,阴性预测值好,能快速为临床提供患者是否有 IFI 的可靠信息。传统真菌培养法虽然敏感性低,但特异性和阳性预测值均优于 G 试验。综上所述,G 试验可作为 IFI 早期初筛诊断方法,结合传统真菌培养等其他手段可提升 IFI 的诊断率。

参考文献

- [1] 吕沛华,赵蓓蕾. (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,2009,30(5):31.
- [2] 中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则(第三次修订)[J]. 中华内科杂志,2010,49(5):451-454.
- [3] 中华内科杂志编辑委员会. 侵袭性肺部真菌感染的诊断标准与治疗原则(草案)[J]. 中华内科杂志,2006,45(8):697-701.
- [4] 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原则(2007)[J]. 中华内科杂志,2007,46(1):960-966.
- [5] De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Re-

search 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.

- [6] Pagano L, Caira M, Candoni A, et al. The epidemiology of fungal infections in patients with hematologic malignancies: the SEIFEM 2004 study[J]. Haematologica,2006,91(8):1068-1075.
- [7] 高蕾,周新. (1,3)- β -D 葡聚糖检测在侵袭性真菌感染中的诊断意义[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(2):121-125.
- [8] Persat F, Ranque S, Derouin F, et al. Contribution of the(1,3)-beta-D-glucan assay for diagnosis of invasive fungal infections[J]. J Clin Microbiol,2008,6(3):1009-1013.
- [9] 胡毓安,黄梅. 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.
- [10] 陈峰,陶晓勤. 国产血浆(1-3)- β -D 葡聚糖检测试剂对侵袭性真菌病诊断价值评估[J]. 上海交通大学学报:医学版,2012,32(3):348-351.

(收稿日期:2014-03-18)