

• 论 著 •

# (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖联合半乳甘露聚糖抗原检测在侵袭性真菌感染中的应用价值

冯 潜, 李 颖<sup>△</sup>, 顾 兵, 张 颖

(徐州医学院附属医院检验科, 江苏徐州 221000)

**摘要:**目的 探讨(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖(G 试验)和半乳甘露聚糖抗原(GM 试验)检测在侵袭性真菌感染(IFI)中的应用价值。方法 收集该院住院高危 IFI 患者 126 例,分别检测患者血清(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖和半乳甘露聚糖水平,计算 G 试验、GM 试验及联合检测的敏感度、特异度、阳性预测值(PPV)、阴性预测值(NPV)、假阳性率、假阴性率。结果 G 试验的敏感度(83.0%)高于 GM 试验(77.4%),而特异度(74.2%)低于 GM 试验(89.4%),差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。联合检测敏感度、特异度、PPV 及 NPV 分别为 92.5%、95.5%、92.1%、92.0%,其敏感度和特异度均高于 G 试验、GM 试验单独检测,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 G 试验和 GM 试验联合检测,能提高诊断准确性,更有效地用于侵袭性真菌感染的早期诊断。

**关键词:**侵袭性真菌感染; (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖; 半乳甘露聚糖

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.01.031

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)01-0071-03

## Application value of detection of (1-3)- $\beta$ -D glucan combined with galactomannan antigen in invasive fungal infections

Feng Qian, Li Ying<sup>△</sup>, Gu Bing, Zhang Ying

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou, Jiangsu 221000, China)

**Abstract:** Objective To investigate the application value of detecting serum (1-3)- $\beta$ -D glucan(G test) and galactomannan antigen(GM test) in invasive fungal infections(IFI). **Methods** A total of 126 patients with risk factors for IFI in our hospital were collected. The level of serum (1-3)- $\beta$ -D glucan and galactomannan of all patients were detected. The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), false positive rate and false negative rate of G test, GM test and joint detection were calculated. **Results** The sensitivity of G test was higher than that of GM test(83.0% vs. 77.4%) and the specificity was lower than that of GM test(74.2% vs. 89.4%), the differences were statistically significant( $P < 0.05$ ). The sensitivity, specificity, PPV and NPV of the combined detection of G and GM were 92.5%, 95.5%, 92.1% and 92.0% respectively. The sensitivity and the specificity of the combined detection were higher than that of single G test and GM test respectively, and the differences were statistically significant( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The joint detection of G test and GM test could improve the diagnostic accuracy and be more effectively used for the early diagnosis of invasive fungal infections.

**Key words:** invasive fungal infections; (1-3)- $\beta$ -D glucan; galactomannan

侵袭性真菌感染是以侵袭深部组织和内部以及全身为主的真菌感染,因其临床表现常无特异性,故其误诊率、漏诊率较高。近年来开展的(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖(BG)和半乳甘露聚糖抗原(GM)的检测已在临床广泛应用,成为目前诊断侵袭性真菌感染的首选方法<sup>[1]</sup>。本研究分别通过检测患者血清中的 G 抗原和 GM 抗原,探讨其在侵袭性真菌感染中的应用价值。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 10 月至 2015 年 3 月在本院呼吸科、重症医学科及血液科住院的患者 126 例,其中男 72 例,女 54 例,年龄 39~90 岁,平均年龄 54 岁。按欧洲癌症治疗组织/侵袭性真菌感染协作组(EORTC)及我国真菌诊断的标准<sup>[2-3]</sup>分为确诊组 11 例、临床诊断组 42 例、拟诊组 7 例和非真菌感染组 66 例。

### 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 仪器** MB-80 微生物快速动态检测系统,流水线式全自动酶联免疫工作站(ADC ELISA 180),T02 智能恒温仪,高速离心机,振荡器。

**1.2.2 试剂** 真菌 BG 检测采用 GKT-5M 动态真菌检测试剂盒(光度法),购于北京金山川科技发展有限公司,批号:GKT232;GM 检测试剂盒,购于法国 Platelia Aspergillus, Bio-Rad 公司,批号:4G0028。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本收集与处理** 用一次性无菌无热源真空采血管采取静脉血 4 mL,3 000 r/min 离心 10~15 min,分离血清,2 h 内检测。

**1.3.2 G 试验** 严格按照仪器和试剂说明书进行操作。结果解释:60 pg/mL 以下,无深部真菌感染(隐球菌、接合菌除外);60~100 pg/mL 为观察期,应连续检测;100 pg/mL 以上,怀疑为深部真菌感染。

**1.3.3 GM 试验** 严格按照试剂盒说明书进行操作。试验原理采用酶联免疫一步夹心法,根据换算公式  $\text{Index} = \text{标本 OD 值} / \text{临界值对照 OD 值}$  均值,将标本 OD 值换算为系数 I 值,  $I < 0.05$  被认为是 GM 抗原阴性;  $I \geq 0.50$  被认为是 GM 抗原阳性。

**1.4 统计学处理** 以临床确诊 IFI 为真阳性,以非 IFI 为真阴性,做四格表分析评价 G 试验和 GM 试验与联合诊断的价值。采用 SPSS17.0 软件进行统计学处理,两组间计量资料比较用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。计算单项试验和联合试验的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、假阳性率和假阴性率。

**2 结 果**

**2.1 G 试验检测结果分析** 126 例患者中 G 试验阳性 61 例,阴性 65 例,阳性率为 48.4%,见表 1。以临床确诊 IFI 为真阳性 53 例,排除 IFI 诊断为真阴性 66 例,行四格表分析。G 试验敏感度、特异度、PPV、NPV、假阳性率及假阴性率分别为 83.0%、74.2%、72.1%、84.5%、25.8%、17.0%,见表 2。

**2.2 GM 试验检测结果分析** 126 例患者中 GM 试验阳性 48 例,阴性 78 例,阳性率为 38.1%,见表 1。GM 试验敏感度、特异度、PPV、NPV、假阳性率及假阴性率分别为 77.4%、89.4%、85.4%、83.1%、10.6%、22.6%,见表 2。G 试验的敏感度高于 GM 试验,而特异度低于 GM 试验,差异有统计学意

义( $P < 0.05$ )。

**2.3 G 试验与 GM 试验联合检测结果分析** G 试验与 GM 试验并联检测的敏感度为 92.5%,高于 G 试验(83.0%),差异有统计学意义( $P < 0.05$ );串联检测特异度为 95.5%,高于 GM 试验(89.4%),差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),详见表 3。

表 1 G 试验与 GM 试验结果

指标	确诊	临床诊断	拟诊	排除诊断	合计
G(+)	11	33	0	17	61
G(-)	0	9	7	49	65
GM(+)	11	30	0	7	48
GM(-)	0	12	7	59	78
G(+)/GM(+)	11	24	0	3	38
G(+)/GM(-)	0	9	0	11	20
G(-)/GM(+)	0	5	0	6	11
G(-)/GM(-)	0	4	7	46	57

表 2 G 试验与 GM 试验敏感度、特异度、PPV、NPV 假阳性率、假阴性率比较

诊断方法	临床诊断(n)		敏感度(%)	特异度(%)	PPV(%)	NPV(%)	假阳性率(%)	假阴性率(%)
	IFI	非 IFI						
G 试验阳性	44	17	83.0	—	72.1	—	25.8	—
G 试验阴性	9	49	—	74.2	—	84.5	—	17.0
GM 试验阳性	41	7	77.4	—	85.4	—	10.6	—
GM 试验阴性	12	59	—	89.4	—	83.1	—	22.6

—:无数据。

表 3 G 试验与 GM 试验联合检测结果

诊断方法	临床诊断(n)		敏感度(%)	特异度(%)	PPV(%)	NPV(%)	假阳性率(%)	假阴性率(%)
	IFI	非 IFI						
并联阳性	49	20	92.5	—	71.0	—	30.3	—
并联阴性	4	46	—	69.7	—	92.0	—	7.5
串联阳性	35	3	66.0	—	92.1	—	4.5	—
串联阴性	18	63	—	95.5	—	77.8	—	34.0

—:无数据。

**3 讨 论**

侵袭性真菌感染的发生率和病死率呈逐年上升趋势,作为“金标准”的病原微生物培养,因其耗时、敏感度低的缺点,给临床诊断带来一定的局限性。而 BG 和 GM 抗原检测凭借其耗时短、敏感度和特异度较高等优点在临床上得到广泛推广。

真菌中除外接合菌和隐球菌,其细胞壁成分中有 50% 以上都是 BG<sup>[4]</sup>,真菌经人体吞噬细胞吞噬消化后,能够持续释放高含量的 BG,后者可特异性激活变形细胞裂解物中的 G 因子,最终形成凝固蛋白,故名 G 试验。GM 是一种特异性热稳定多糖成分,广泛存在于曲霉菌细胞壁上,它是曲霉菌菌丝最早释放的抗原。GM 试验的优势在于 GM 释放量与菌量呈正比,可以反映其感染程度;且由于曲霉菌定植时释放入血量极少,有助于侵袭与定植的鉴别。临床上常多次连续检测 G 试验和 GM 试验,作为治疗疗效监测的指标。

本研究结果显示,G 试验检测结果与临床最终诊断结果的

差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而 GM 试验检测结果与临床最终诊断结果的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),此结果与国内有关研究结果基本一致<sup>[5]</sup>。G 试验的敏感度(83.0%)高于 GM 试验(77.4%),GM 试验的特异度(89.4%)高于 G 试验(74.2%),差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明 G 试验虽能提示深部真菌感染的存在,却无法鉴定具体种属;GM 试验虽特异度较高,但因其敏感度不高往往造成一定程度的漏诊。因此,G 试验只可作为筛查侵袭性真菌感染的第一步。国内外对 GM 试验的 Meta 分析表明,其在造血干细胞移植及血液系统肿瘤患者中的敏感度为 70%~82%,特异度为 82%~92%<sup>[6]</sup>,与本实验研究结果(敏感度 77.4%、特异度 89.4%)基本一致。

本实验中 G 试验和 GM 试验单独检测的假阳性率和假阴性率都较高,均超过 10%。造成 G 试验假阳性的因素常见于使用含葡聚糖的静脉制剂、纱布等医疗物品;服用多糖类抗肿

瘤类药物及多黏菌素、磺胺类药物等。此外,链球菌败血症患者、标本脂血、黄疸及污染时也可出现假阳性。而某些抗真菌药物的使用、局灶性曲霉菌病等亦可导致 G 试验假阴性。GM 试验假阳性常见于某些半合成青霉素,如哌拉西林的使用、食用可能含 GM 的牛奶等高蛋白食物及污染的大米<sup>[7-8]</sup>、自身免疫性肝炎、非粒细胞缺乏症及新生儿和儿童。另外,当释放入血的 GM 并不持续存在而被很快清除时可导致假阴性。

本研究结果显示,单独检测 G 试验和 GM 试验的敏感度和特异度并不高,而联合检测则在一定程度上弥补了各自不足,提高了整个试验的敏感度和特异度,降低了假阳性率或假阴性率。本实验中,并联检测对 IFI 敏感度可达 92.5%,串联检测特异度可达 95.5%,其敏感度和特异度均高于 G 试验和 GM 试验的单独检测,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。串联检测的 PPV 为 92.1%,即当试验结果均为阳性时,提示患者合并 IFI 的可能性非常高,需结合临床尽早进行经验性抗真菌治疗;而联合检测的 NPV 为 92.0%,即当试验结果均为阴性时,提示患者合并 IFI 的可能性并不高,结合临床并连续动态观察 G 试验和 GM 试验,有助于排除 IFI 的诊断,降低漏诊率和误诊率。

综上所述,G 试验和 GM 试验联合检测诊断侵袭性真菌感染,可以提高试验结果的敏感度和特异度,降低假阳性率和假阴性率,为临床及时准确地抗真菌治疗提供有效的数据支撑,提高患者生存率和治愈率。

参考文献

[1] Yoshida M, Rorh RI, Grunfeld C, et al. Soluble (1,3)-B-D glucans

purified from *Candida albicans*; biologic effects and distribution in blood and organs in rabbits[J]. *J Lab Clin Med*, 1996, 128(1): 103-114.

[2] 中华内科杂志编辑委员会. 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[J]. *中华内科杂志*, 2007, 46(7): 607-610.

[3] 邱海波, 刘大为. 2004 年严重感染和感染性休克治疗指南概要[J]. *中国危重病急救医学*, 2004, 16(3): 390-393.

[4] Marty FM, Koo S. Role of 1,3-β-Dglucan in the diagnosis of invasive aspergillosis[J]. *Med Myol*, 2009, 47(1): 233-240.

[5] 何成禄, 何增品, 徐从琼, 等. 血浆(1,3)-β-D 葡聚糖和血清半乳糖甘露聚糖检测对重症患者侵袭性真菌感染的早期诊断价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2013, 28(1): 54-56.

[6] Pfeiffer CD, Fine JP, Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis[J]. *Clin Infect Dis*, 2006, 42(10): 1417-1427.

[7] Niimi K, Shepherd MG, Cannon RD. Distinguishing *Candida* species by beta-N-acetylhexosaminidase activity[J]. *J Clin Microbiol*, 2001, 39(20): 2089-2097.

[8] Aubry A, Porcher R, Bottero J, et al. Occurrence and kinetics of false-positive *Aspergillus* galactomannan test results following treatment with beta-lactam antibiotics in patients with hematological disorders[J]. *J Clin Microbiol*, 2006, 44(2): 389-394.

(收稿日期: 2015-07-18)

(上接第 70 页)

近年来,早期诊断在某些发达国家的开展使结直肠癌病死率下降<sup>[1]</sup>。目前我国尚缺乏对结直肠癌病患随访监测的早期、敏感、综合检测指标。在结直肠癌乃至慢性炎症肠病患者诊疗及随访过程中,开展综合多指标的相关检测,对评估结直肠癌复发转移风险,选择适当临床干预,降低结直肠癌病死率具有重要的意义。

参考文献

[1] Brenner H, Kloor M, Pox CP, et al. Colorectal cancer[J]. *Lancet*, 2014, 383(14): 1490-1502.

[2] Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 212-236.

[3] Washington MK, Powell AE, Sullivan R, et al. Pathology of rodent models of intestinal cancer: progress report and recommendations[J]. *Gastroenterology*, 2013, 144(7): 705-717.

[4] Perkins GL, Slater ED, Sanders GK, et al. Serum tumor markers[J]. *Am Fam Physician*, 2003, 68(10): 1075-1082.

[5] Fu YT, Chatur N, Cheong-Lee C, et al. Hypovitaminosis D in adults with inflammatory bowel disease: potential role of ethnicity[J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(20): 2144-2148.

[6] 朱汉民, 程群, 甘洁民, 等. 上海地区人群维生素 D 状态研究[J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2010, 31(3): 321-323.

[7] Charalampopoulos A, Charalabopoulos A, Batistatou A, et al.

Parathormone and 1,25(OH)2D3 but not 25(OH)D3 serum levels, in an inverse correlation, reveal an association with advanced stages of colorectal cancer[J]. *Clin Exp Med*, 2010, 10(1): 69-72.

[8] Tuohimaa P, Pukkala E, Scelo G, et al. Does solar exposure, as indicated by the non-melanoma skin cancers, protect from solid cancers; vitamin D as a possible explanation[J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(16): 1701-1712.

[9] Cantorna MT, Munsick C, Bemiss C, et al. 1,25-Dihydroxycholecalciferol prevents and ameliorates symptoms of experimental murine inflammatory bowel disease[J]. *J Nutr*, 2000, 130(11): 2648-2652.

[10] Zhu Y, Mahon BD, Froicu M, et al. Calcium and 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 target the TNF-alpha pathway to suppress experimental inflammatory bowel disease[J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35(1): 217-224.

[11] Tian Y, Ye Y, Gao W, Chen H, et al. Aspirin promotes apoptosis in a murine model of colorectal cancer by mechanisms involving downregulation of IL-6-STAT3 signaling pathway[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2011, 26(1): 13-22.

[12] Gamero AM, Young MR, Mentor-Marcel R, et al. STAT2 contributes to promotion of colorectal and skin carcinogenesis[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2010, 31(3): 495-504.

[13] 谢跃文, 王强, 夏杰, 等. 肿瘤标志物检测在恶性肿瘤诊断中的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(1): 107-109.

(收稿日期: 2015-08-10)