

• 论 著 •

# 血清(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测在深部真菌感染诊断中的临床价值\*

程 颖<sup>1</sup>, 曾北南<sup>1</sup>, 刘 艳<sup>2</sup>, 程 燃<sup>3</sup>, 刘 双<sup>4</sup>, 李 科<sup>4△</sup>

(1. 重庆市血液中心社会事务部, 重庆 400015; 2. 重庆市龙门浩街道社区卫生服务中心内科, 重庆 400060; 3. 重庆市人民医院检验科, 重庆 400013; 4. 重庆市急救医疗中心检验科, 重庆 400014)

**摘 要:**目的 探讨血清(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖(BG)检测(G 试验)在深部真菌感染早期诊断中的临床应用与价值。方法 选取 2015 年 10 月至 2016 年 4 月重庆市急救医疗中心 132 例疑似深部真菌感染患者作为研究对象, 将 38 例确诊患者和拟诊患者视为阳性组, 其余 94 例视为阴性组, 采用金山川 MB-80 微生物快速动态检测系统测定血清 BG 水平, 并与患者体液真菌培养结果进行比较分析。结果 阳性组、阴性组血清 BG 水平分别为(150.8 $\pm$ 133.2)、(25.7 $\pm$ 20.1)pg/mL, 差异有统计学意义( $t=5.76, P<0.05$ )。G 试验诊断深部真菌感染的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 78.9%、85.1%、68.1%、91.0%; 真菌培养诊断深部真菌感染的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 57.9%、80.9%、52.3%、82.6%。结论 血清 BG 检测方法快速、准确、简便, 在深部真菌感染早期诊断及临床合理用药指导中具有临床应用价值。

**关键词:** IFD; (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖; 真菌培养

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.22.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)22-3107-03

## Clinical value of serum(1-3)- $\beta$ -d-glucan detection on diagnosis of deep fungal infection\*

CHENG Ying<sup>1</sup>, ZENG Beinan<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>2</sup>, CHENG Ran<sup>3</sup>, LIU Shuang<sup>4</sup>, LI Ke<sup>4△</sup>

(1. Department of Social Affairs, Chongqing Municipal Blood Center, Chongqing 400015, China;

2. Department of Internal Medicine, Longmenhao Street Community Health Service Center, Chongqing 400060, China;

3. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Municipal People's Hospital, Chongqing 400013, China;

4. Department of Clinical Laboratory, Chongqing Municipal Emergency Medical Center, Chongqing 400014, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical value of serum(1-3)- $\beta$ -D-glucan(BG) detection (G test) in early diagnosis of deep fungal infection. **Methods** 132 patients with suspected deep fungal infection in the Chongqing Emergency Medical Center from October 2015 to April 2016 were selected as the research subjects. Among them, 38 cases definitely diagnosed and suspected diagnosed deep fungal infection served as the positive group and other 94 cases were taken as the negative group. Serum BG level was measured by Jinshanchuan MB-80 microbial dynamic detection system, and the results were compared with the fungal culture results by the body fluid fungal culture. **Results** The serum BG level of the positive group was (150.8 $\pm$ 133.2)pg/mL, and which of the negative group was (25.7 $\pm$ 20.1)pg/mL, the difference was statistically significant ( $t=5.76, P<0.05$ ). The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of G test were 78.9%, 85.1%, 68.1% and 91.0% respectively; the sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of fungal culture were 57.9%, 80.9%, 52.3% and 82.6% respectively. **Conclusion** The serum BG detection is fast, accurate, simple and convenient, and has clinical application value in the early diagnosis of deep fungal infection and clinical rational medication guidance.

**Key words:** IFD; (1-3)- $\beta$ -D-glucan; fungal culture

深部真菌感染是指病原真菌侵犯皮下组织、血液和器官引起的真菌感染性疾病<sup>[1]</sup>。近年来随着临床广谱抗菌药物、免疫抑制剂及肿瘤化疗药物的广泛应用, 深部真菌感染率不断上升, 已成为医院感染及病例死亡的主要原因之一<sup>[2]</sup>。(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖(BG)是真菌细胞壁葡萄糖残中的主要成分, 真菌进入人体血液或深部组织经细胞吞噬、消化等处理后, BG 可释放出来, 从而使血液及其他体液中 BG 水平增高。欧洲癌症治疗和肿瘤组织/真菌病研究组将 BG 检测(G 试验)连续两次阳性作为深部真菌感染临床诊断标准之一。G 试验方法简单、阳性率高, 可以辅助早期诊断深部真菌感染<sup>[3]</sup>, 但其临界值的设定与方法学有很大关系, 且存在许多影响 G 试验灵敏性和特异性的因素。本研究探讨 G 试验检测在深部真菌感染早期诊断中应用, 并与真菌培养结果进行比较, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2015 年 10 月至 2016 年 4 月重庆市急救医疗中心 132 例疑似深部真菌感染的患者作为研究对象, 其中男 71 例, 女 61 例。查阅患者病例, 结合临床进行回顾性归纳总结, 以患者的临床诊断为依据, 将研究对象中的 38 例确诊患者和拟诊患者视为阳性组, 其余 94 例视为阴性组。

**1.2 仪器与试剂** BacT Alert3D 全自动血培养仪、血培养瓶购自法国生物梅里埃公司, 二氧化碳培养箱购自上海力申科学仪器有限公司, MB-80 微生物快速动态检测系统、(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测试剂盒购自北京金山川公司, 哥伦比亚血平板、沙堡罗平板购自美国赛默飞世尔科技公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 血清标本制备** 用无热原普通采血管采取静脉血 4

\* 基金项目: 重庆市渝中区科研项目(20160129)。

作者简介: 程颖, 女, 主管技师, 主要从事临床检验研究。 △ 通信作者, E-mail: 18856548@qq.com。

mL, 3 000 r/min 离心 10~15 min, 取血清 0.1 mL, 加入 0.9 mL 标本处理液中, 混匀后置于 70 ℃ 恒温仪 10 min, 取出后立刻放入冰水浴中冷却, 2 h 内进行检测。

**1.3.2 G 试验** 取待测血清 0.2 mL 直接加入酶反应主剂中, 溶解后移液至 9×65 mm 标准无热原平底试管中(不要产生气泡), 加入 0.1 mL 反应主试剂溶液, 混匀后插入 MB-80 微生物快速动态检测系统中进行反应, 1 h 后自动计算待测血清 BG 水平。操作过程中注意避免微生物及细菌污染。

**1.3.3 真菌培养检测** 同一天送检的培养标本按照《全国临床检验操作规程》<sup>[4]</sup> 进行接种培养鉴定。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS19.0 软件进行统计学处理; 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验; 计数资料以频数或百分率表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验; 以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 G 试验与真菌培养结果比较** 132 例疑似深部真菌感染

患者中, G 试验检测结果与真菌培养结果比较, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 13.87, P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 G 试验与真菌培养结果比较			
G 试验	真菌培养		合计
	阳性	阴性	
阳性	25	19	44
阴性	15	73	88
合计	40	92	132

**2.2 两组血清 BG 水平检测结果比较** 阳性组、阴性组血清 BG 水平分别为 (150.8 ± 133.2)、(25.7 ± 20.1) pg/mL, 差异有统计学意义 (*t* = 5.76, *P* < 0.05)。

**2.3 G 试验与真菌培养诊断效能比较** 见表 2。

表 2 G 试验与真菌培养诊断效能比较 (%)

培养方法	深部真菌感染( <i>n</i> = 38)	非深部真菌感染( <i>n</i> = 94)	灵敏性	特异性	阳性预测值	阴性预测值
G 试验	30	14	78.90	85.10	68.10	90.90
真菌培养	22	18	57.90	80.90	52.30	82.60
G 试验联合真菌培养	19	6	50.00	93.60	76.00	94.40

## 3 讨 论

目前, 深部真菌感染诊断金标准仍是为以形态学为基础的镜检、培养及组织病理学检查<sup>[5]</sup>。以 G 试验为代表的血清学诊断方法、以高分辨率 CT 为代表的影像学诊断方法以及以聚合酶链反应为基础的分子诊断方法是辅助诊断深部真菌感染的重要方法。血清学诊断方法主要包括半乳甘露聚糖实验(GM 试验)、隐球菌乳胶凝集试验、G 试验等, 其中 GM 试验于 2003 年被美国 FDA 批准为侵袭性曲霉感染的诊断指标之一。GM 试验作为深部真菌感染早期诊断及疗效监测指标, 其检测灵敏度、特异度分别为 71%、89%, 且检测时间比组织病理学检查及临床标本真菌培养平均要早 7~10 d<sup>[6]</sup>。

G 实验主要是对真菌的细胞壁成分 BG 进行检测。BG 存在于除接合菌和隐球菌以外的其他真菌细胞壁中, 念珠菌、曲霉菌等深部真菌侵入组织后被吞噬细胞吞噬、消化, 从而释放出 BG。有研究显示, BG 在真菌定植和浅表真菌感染时极少释放入血, 但健康人血清中会有少量存在<sup>[7]</sup>。因此, 在机体的血液或者无菌体液中检测到 BG 可以作为诊断深部真菌感染的有效论据<sup>[8]</sup>。本研究结果显示, 血清 BG 检测在深部真菌感染诊断中的临床应用价值优于真菌培养。G 试验阴性预测值高, 可用于排除深部真菌感染, 防止抗菌药物的过度使用。由此可见, 血清 BG 检测在深部真菌感染早期诊断中有较为突出的应用价值。G 试验作为深部真菌感染早期诊断指标比临床症状平均早 5~8 d, 比高分辨率 CT 诊断平均早 7.2 d, 比经验性抗真菌治疗平均早 12.5 d<sup>[9]</sup>。G 试验和 GM 试验联合检测, 能提高诊断准确性, 更有效地辅助深部真菌感染的早期诊断<sup>[10]</sup>。但 G 试验诊断深部真菌感染的特异性及灵敏性仍未得到广泛认可, 因此, G 试验是否能作为深部真菌感染诊断的常规方法, 仍需进一步研究。

目前, 基于蛋白质组学的基质辅助激光解吸电离/飞行时间质谱已成为准确鉴定细菌的工具, 正被应用于鉴定丝状真

菌, 加快了真菌诊断过程。这不仅为快速鉴定真菌开辟了新的方法, 而且可以鉴定传统分类法难以鉴别的真菌, 且能更准确预测耐药。但是到目前为止, 商品化的质谱仪内包含的参考图谱还很少, 缺乏标准化的提取方案及参考图谱的选择, 质谱鉴定技术需进一步的发展。

综上所述, 血清 BG 检测在深部真菌感染早期诊断中有重要的临床应用价值, 选择合适的联合检测方法是提高深部真菌感染诊断水平的最佳方式。

## 参考文献

[1] 宋敏, 向成玉, 杨葵, 等. 血浆(1-3)-β-D 葡聚糖早期诊断深部真菌感染的临床价值[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2015, 9(18): 91-93.

[2] 蔡文莹, 鲁长明, 席丽艳. 血清(1-3)-β-D 葡聚糖(BDG) 检测对深部真菌感染辅助诊断的临床价值[J]. 皮肤性病诊疗学杂志, 2015, 22(3): 175-178.

[3] 金丽, 孙曼, 张昭勇, 等. 血清 G 实验在深部真菌感染中的诊断价值[J]. 安徽医学, 2016, 37(5): 587-589.

[4] 中华人民共和国卫生部医政司. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 323-331.

[5] 于婷, 蔡彤. 1,3-β-D-葡聚糖定量测定在真菌感染诊断中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(23): 3186-3188.

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

[7] Yasemin O, Kiraz N. Diagnostic methods for fungal infections in pediatric patients: microbiological, serological and molecular methods[J]. Expert AntiInfect Ther, 2011, 9(3): 289-298.

(下转第 3112 页)

关性,但是会影响 PCOS 患者的血清睾酮和胰岛素抵抗水平。姚满红等<sup>[7]</sup>对国内外的相关研究进行了 Meta 分析,结果表明 CYP17 基因-34 bp 位点 CC 基因型增加了 PCOS 的易感性。目前国内外研究报道比较一致地认为,CYP17 基因-34 bp 处 T→C 碱基置换并不是引起 PCOS 发病的原因;但关于 CYP17 位点的多态性是否增加 PCOS 的易感性,是否与 HA 有关的研究一直存在较大的分歧。国内关于此位点的研究都仅限于汉族女性,而 PCOS 在不同的地域和不同的种族间有不同的临床表现型<sup>[8]</sup>。与汉族女性相比,维吾尔族 PCOS 患者以 HA 为主要表型<sup>[9]</sup>,因此本研究选取 CYP17 作为目的基因,研究其对新疆维吾尔族 PCOS 伴 HA 患者有无易感性。

本研究结果显示:维吾尔族 PCOS 不伴 HA 组 TT、TC、CC 基因型及 T、C 等位基因频率与维吾尔族 PCOS 伴 HA 组中比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );汉族 PCOS 组 TT、TC、CC 基因型及 T、C 等位基因频率与维吾尔族 PCOS 伴 HA 组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );维吾尔族 PCOS 不伴 HA 组、维吾尔族 PCOS 伴 HA 组、汉族 PCOS 组中等位基因 T 和 C 的基因频率分别是 52.4%和 47.6%,50.0%和 50.0%,38.9%和 61.1%。这表明无论是汉族 PCOS 伴 HA 患者还是维吾尔族 PCOS 伴 HA 患者都倾向于含有较高比例的 C 等位基因。本研究发现:汉族 PCOS 伴 HA 患者中,TC 基因型最多,CC 次之,TT 最少;而维吾尔族 PCOS 伴 HA 患者中,TC 基因型最多,TT 和 CC 基因型数量相同。此差异有可能是由于种族之间存在差别,也有可能是由于本研究标本量有限。

有研究发现,PCOS 患者 CC 基因型血清睾酮水平高于 TC、TT 基因型,提示 CYP17 基因-34 bp 处 T→C 碱基置换引起该基因的表达异常和 P450c17- $\text{II}$  酶活性增加,进而导致 PCOS 伴 HA 的形成<sup>[10-11]</sup>。本研究结果显示:维吾尔族 PCOS 伴 HA 组中 TT、TC、CC 基因型患者血清睾酮水平明显高于维吾尔族 PCOS 不伴 HA 组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );维吾尔族 PCOS 组中,TC、CC 基因型患者血清 T 水平与 TT 基因型患者比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。这与上述研究结果相矛盾,但与 Li 和丁玲玲等<sup>[6,12]</sup>的研究结果一致。

综上所述,在维吾尔族妇女中,CYP17 基因-34 bp 处 T→C 碱基置换为一常见多态,可能不是 PCOS 的致病原因,等位基因 C 虽然有较高的频率,但 CC 基因型未增加维吾尔族妇女患 HA 的风险。CYP17 基因启动子区域的单核苷酸多态性与维吾尔族 PCOS 伴 HA 的发生无明显相关性。

参考文献

[1] Wickenheisser JK, Nelson-Degrave VL, Mcallister JM. Dysregulation of cytochrome P450 17alpha-hydroxylase

messenger ribonucleic acid stability in theca cells isolated from women with polycystic ovary syndrome[J]. J Clin Endocrinol Metab,2005,90(3):1720-1727.

[2] Budi W, Evi A, Dwi A, et al. Relation between CYP17 polymorphism and hyperandrogenemia in polycystic ovarian syndrome[J]. Indones J Obstet Gynecol,2011,35(1):1-7.

[3] Chang J, Azziz R, Legro R, et al. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Work shop Group (2004) Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril,1994,81(1):51-52.

[4] Azziz R. The evaluation and management of hirsutism obstet[J]. Gynecol,2003,101(9):955-1007.

[5] Simoni M, Tempfer CB, Destenaves B, et al. Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders:Part I: Polycystic ovary syndrome and ovarian response[J]. Hum Reprod Update,2008,14(5):459-484.

[6] Li L, Gu ZP, Bo QM, et al. Association of CYP17A1 gene -34T/C polymorphism with polycystic ovary syndrome in Han Chinese population[J]. Gynecol Endocrinol,2015,31(1):40-43.

[7] 姚满红,蒋天从,郭璐莹,等. CYP17 基因多态性与多囊卵巢综合征关系的系统评价[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2016,19(11):1615-1620.

[8] Guo M, Chen ZJ, Eijkemans MJ, et al. Comparison of the phenotype of Chinese versus dutch caucasian women presenting with polycystic ovary syndrome and oligo/amenorrhoea[J]. Hum Repord,2012,27(5):1481-1488.

[9] 林琳. 新疆部分地区维吾尔族,汉族多囊卵巢综合征的临床研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学,2010:1-62.

[10] DiamantiKandarakis, E, Bartzis, et al. Polymorphism T->C(-34 bp) of gene CYP17 promoter in Greek patients with polycystic ovary syndrome-similarity with the gene for P450c21[J]. Fertil Steril,1999,71(3):431-435.

[11] 谭丽. 中国汉族人多囊卵巢综合征患者 CYP17 基因多态性分析[J]. 郑州大学学报,2005,40(3):439-440.

[12] 丁玲玲. 山东汉族妇女多囊卵巢综合征 CYP17 基因多态与高雄激素相关性的研究[D]. 济南:山东大学,2007:1-34.

(收稿日期:2017-03-14 修回日期:2017-07-03)

(上接第 3108 页)

[8] Jain S, Das S, Gupta N, et al. Frequency of fungal isolation and antifungal susceptibility pattern of the fungal isolates from nasal polyps of chronic rhinosinusitis patients at a tertiary care center in north India[J]. Med Mycol, 2013,51(2):164-169.

[9] 史利宁,陈勇,邵海枫. 侵袭性曲霉病的快速诊断方法

[J]. 临床检验杂志 2015,33(6):450-453.

[10] 冯潜,李颖,顾兵,等. (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[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(1):71-73.

(收稿日期:2017-03-22 修回日期:2017-07-11)