

论著 · 临床研究

1,3-β-D 葡聚糖和半乳甘露聚糖检测与血培养真菌结果的相关性分析

黄琳,戴玮,张传明,夏吉荣[△]

(重庆医科大学附属第一医院检验科,重庆 400016)

摘要:**目的** 探讨血清 1,3-β-D 葡聚糖检测(G 试验)和半乳甘露聚糖抗原检测(GM 试验)对侵袭性真菌病(IFD)诊断的灵敏度、特异度等临床诊断性能。**方法** 对该院 2017 年 3 月至 2018 年 6 月间同时做了 G 试验、GM 试验和真菌血培养的住院患者结果进行回顾性相关分析,收集临床疑似 IFD 病例共 455 例。以血培养真菌阳性作为 IFD 确诊指标,将病例分为 IFD 组和非 IFD 组,其中 IFD 组 49 例;非 IFD 组 406 例;分析 G 试验和 GM 试验诊断侵袭性真菌感染的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、约登指数、符合率等效能指标。**结果** IFD 组 G 试验和 GM 试验检测值为(243.7±268.3)pg/mL 和 0.47±0.70;非 IFD 组 G 试验和 GM 试验检测值为(23.1±52.3)pg/mL 和 0.25±0.24,两组间比较差异有统计学意义($P<0.001$)。G 试验和 GM 试验对 IFD 诊断的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、约登指数、符合率分别为 65.3%、95.3%、62.7%、95.7%、0.606、92.1%和 24.5%、93.6%、31.6%、91.1%、0.181、86.2%;G 试验与 GM 试验联合诊断 IFD 的特异性达 99.0%。**结论** G 试验与 GM 试验是 IFD 早期诊断的实验室重要指标,联合检测可提高诊断灵敏度和准确度;特别是阴性结果对排除 IFD 的意义更大,对其合理应用可有效提高 IFD 的诊治水平。

关键词:1,3-β-D-葡聚糖; 1,3-β-D 葡聚糖检测; 半乳甘露聚糖抗原; 半乳甘露聚糖抗原检测; 侵袭性真菌病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.09.014

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2019)09-1077-04

文献标识码:A

Correlation analysis between (1,3)-β-D glucan and galactomannan detection and blood culture fungal results

HUANG Lin, DAI Wei, ZHANG Chuanming, XIA Jirong[△]

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract:**Objective** To explore the sensitivity, specificity, and other clinical diagnostic performance for the diagnosis of invasive fungal disease (IFD) in serum (1,3)-β-D glucan detection(G test)and galactomannan antigen (GM test). **Methods** A retrospective analysis was performed on the results of inpatients with G test, GM test, and fungal blood culture conducted at the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from March 2017 to June 2018. A total of 455 suspected suspected IFDs were collected. Postive blood culture fungal was used as diagnostic index to confirm IFD, all cases were divided into IFD group ($n=49$) and non-IFD group ($n=406$). The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, Yoden index and coincidence rate of G test and GM test in the diagnosis of invasive fungal infection were analyzed. **Results** The detection values of G test and GM test in the IFD group were (243.7±268.3)pg/mL and 0.47±0.70. The detection values of G test and GM test in the non-IFD group were (23.1±52.3)pg/mL and 0.25±0.24, and there was a statistically significant difference between the two groups ($P<0.001$). The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, Yorden index, coincidence rate of G test and GM test for IFD diagnosis were respectively 65.3%, 95.3%, 62.7%, 95.7%, 0.606, 92.1%, and 24.5%, 93.6%, 31.6%, 91.1%, 0.181, 86.2%. The specificity of combined G test and GM test in diagnosing IFD was 99.0%. **Conclusion** G test and GM test are important laboratory indicators for early diagnosis of IFD. Joint detection can improve the sensitivity and accuracy of diagnosis. Especially, the negative results are more significant for excluding IFD. Rational application of the negative results can effectively improve the level of diagnosis and treatment of IFD.

Key words:1,3-β-D-glucan; G test; galactomannan antigen; galactomannan antigen; invasive fungal disease

作者简介:黄琳,在读研究生,主要从事临床检验诊断方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: xjr196352@163.com。

本文引用格式:黄琳,戴玮,张传明,等. 1,3-β-D 葡聚糖和半乳甘露聚糖检测与血培养真菌结果的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(9):1077-1080.

1,3-β-D-葡聚糖检测(G 试验)和半乳甘露聚糖检测(GM 试验)作为侵袭性真菌病(IFD)的快速实验室指标已在临床上广泛应用,从报道^[1-7]显示,G 试验和 GM 试验对 IFD 诊断的灵敏度分别在 48.3%~92.0%和 41.7%~95.0%,特异度分别在 35.0%~88.9%和 88.4%~97.0%之间,各家报道的差异较大,这是否与研究者的研究对象数量,或研究病例诊断方法有关有待进一步验证。文献^[1-7]研究病例在 30~500 例之间,差异较大;同时诊断 IFD 多以临床诊断方式,而非无菌体液病原学真菌培养结果为“金标准”,或病理结果来确诊。因而 G 试验和 GM 试验诊断 IFD 相关性研究的难点在于临床确诊“金标准”的获得困难,为进一步探讨 G 试验和 GM 试验在 IFD 诊断中的临床价值,本文对本院 2017 年 3 月至 2018 年 6 月期间临床疑为 IFD,同时送检 G 试验、GM 试验和血培养患者的检测结果作相关性分析,发现 G 试验和 GM 试验与血培养真菌结果符合率分别为 92.1%、86.2%;G 试验和 GM 试验联合检测阴性结果与血培养真菌结果符合率高达 99.0%,是排除侵袭性真菌感染的特异性指标,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2017 年 3 月至 2018 年 6 月间本院临床疑为 IFD 患者,其中同时送检 G 试验、GM 试验和血培养的住院患者 455 例,男 301 例,女 154 例,平均年龄 56.8 岁;病例来自重症监护室、神经内科、神经外科、呼吸内科、血液科、干细胞移植中心、老年科、肾内科、感染科、肿瘤科等。根据中国侵袭性真菌感染工作组 2017 年“血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第五次修订版)”标准^[8]:以患者病史、危险因素、可能感染的临床特征、影像学检查等作为疑似 IFD 患者同时送检 G 试验、GM 试验和血培养。其中:(1)血培养真菌结果阳性,临床确诊为侵袭性真菌感染的 49 例(IFD 组),男 30 例,女 19 例,年龄 15~88 岁。(2)血培养真菌结果阴性,临床确诊为非侵袭性真菌感染的 406 例(非 IFD 组),男 271 例,女 135 例,平均年龄 57.4 岁。

1.2 仪器与试剂 G 试验检测:MB-80 微生物动态快速检测系统,Tol 智能恒温仪 GKT-10MSet 动态真菌检测试剂盒和质控品,均由北京金山科技发展公司提供。GM 试验检测:Sunrise 酶标仪(重庆恩鸣医疗设备公司),离心机,振荡器。检测试剂由美国 Bio-Rad 公司提供。真菌病原学检查:法国生物梅里埃 3D 血培养仪、Vitek2-Compact 全自动细菌鉴定及药敏分析系统、全自动快速微生物质谱检测系统(MS),美国 BD 公司 BACTECTM FX 型全自动细菌培养系统。

1.3 方法

1.3.1 检测标本 用一次性无菌、无热源真空采集管采集静脉血 3 mL,进行 3 000 r/min 离心 10~15 min,分离血清,2 h 内完成检测。不能及时检测的

标本放置 2~8 ℃冷藏,但不超过 24 h。

1.3.2 G 试验检测 (1)标本前处理:取离心血清 0.1 mL,加入装有 0.9 mL 样品处理液中,混匀后 70 ℃孵育 10 min,取出立刻放入冷却槽冷却 5 min,为待测血清样品。(2)用无热源的吸头取待测血清样品 0.1 mL,加入至 9 mm×65 mm 无热平底试管中,再加入 0.1 mL 反应主剂溶液,混匀后插入 MB-80 微生物快速动态检测系统中进行反应,反应结束后检测系统自动计算出待测血清中 1,3-β-D-葡聚糖含量。

1.3.3 GM 试验检测 (1)标本预处理:在 1.5 mL 聚丙烯管中加入 300 μL 待测离心血清和对照血清,每个试管内加入 100 μL 样本处理液,混匀后用加热器在 120 ℃的温度下加热 6 min(或在 100 ℃水浴下加热 3 min)后取出再次放入离心机,离心 10 min 后取上清液。(2)将预处理后的待测样本加入 GM 抗体包被的微孔板孵育 90 min 后洗涤,加入四甲基联苯胺(TMB)底物显色,加终止液终止反应,用酶标仪在 450 nm 波长下测定样本与对照孔的 OD 值,通过换算公式将 OD 值转化为血清学指数,血清学指数=样本 OD 值/临界值血清 OD 值。

1.3.4 真菌病原学检查 真菌血培养按《侵袭性真菌病临床实验室诊断操作指南》进行。

1.4 统计学处理 应用统计学软件 SPSS19.0 处理数据,分析以血培养真菌结果为“金标准”时,G 试验、GM 试验以及联合检测诊断 IFD 的灵敏度、特异度、约登指数、阳性预测值及阴性预测值、符合率等指标。对计数资料以“n(%)”的形式进行统计描述,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,率的比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.5 G 试验和 GM 试验阳性判断的标准 G 试验结果以试剂盒说明书中 1,3-β-D-葡聚糖 ≤ 60 pg/mL 为阴性。GM 试验结果以试剂盒说明书中血清指数 $I > 0.5$ 为阳性; $I \leq 0.5$ 为阴性。

2 结果

2.1 IFD 组、非 IFD 组的 G 试验和 GM 试验检测值水平 以血培养真菌结果为 IFD 确诊指标,将病例分为 IFD 组和非 IFD 组,G 试验和 GM 试验的检测值水平见表 1。

表 1 IFD 组和非 IFD 组 G 试验和 GM 试验检测值水平($\bar{x} \pm s$)

检测指标	IFD 组(n=49)	非 IFD(n=406)	P 值
G 试验结果(pg/mL)	243.70±268.30	23.10±52.30	<0.001
GM 试验结果(血清学指数)	0.47±0.70	0.25±0.24	<0.001

2.2 G 试验和 GM 试验诊断 IFD 的临床效能 以 G 试验和 GM 试验检测结果大于阳性判断值为 IFD 实验室指标,以血培养真菌阳性结果为 IFD 确诊指标。G 试验、GM 试验诊断 IFD 的灵敏度、特异度、阳性预测值(PPV)、阴性预测值(NPV)、约登指数性能指标,见表 2。

表 2	G 试验、GM 试验诊断 IFD 的性能效能 (%)					
组别	灵敏度	特异度	PPV	NPV	约登指数	符合率
G 试验	65.3	95.3	62.7	95.7	0.606	92.1
GM 试验	24.5	93.6 ^a	31.6	91.1	0.181	86.2
串联检测 [*]	18.4 ^{abc}	99.0 ^{abc}	69.2	91.0	0.174	90.3
并联检测 [*]	71.4 ^{abc}	89.9 ^{abc}	46.1	96.3	0.613	87.9

注：* 串联检测表示，两项试验均为阳性；并联检测表示，两项试验中任何一项试验阳性；^a：与 G 试验比较差异有统计学意义， $P<0.05$ ；^b：与 GM 试验差异有统计学意义， $P<0.05$ ；^c：串联与并联试验差异有统计学意义

2.3 不同浓度水平的 G 试验和 GM 试验对 IFD 诊断效能 将 G 试验在不同浓度水平下诊断 IFD 的效能作 ROC 曲线分析，G 试验浓度在 43.5 pg/mL 时，灵敏度 75.5%，特异度 92.4%，诊断效能最高， $S_{ROC}=0.859$ (95%置信区间 78.9%~93.0%)。见图 1。

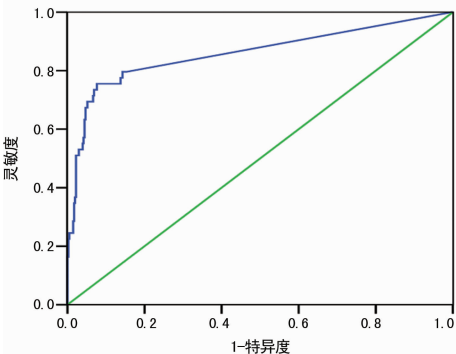


图 1 G 试验诊断 IFD 的 ROC 曲线

将 GM 试验不同血清学指数用于诊断 IFD 作 ROC 曲线分析，GM 试验血清学指数在 0.49 时，灵敏度和特异度分别为 40.8%和 93.6%，诊断效能最高， $S_{ROC}=0.581$ (95%置信区间 47.2%~68.9%)。见图 2。

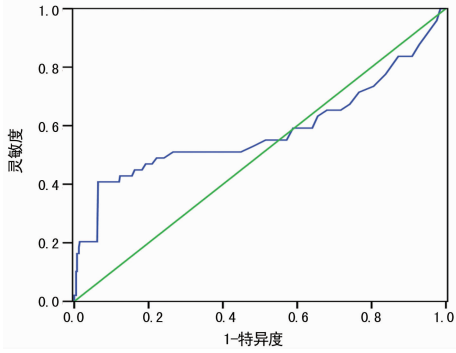


图 2 GM 试验诊断 IFD 的 ROC 曲线

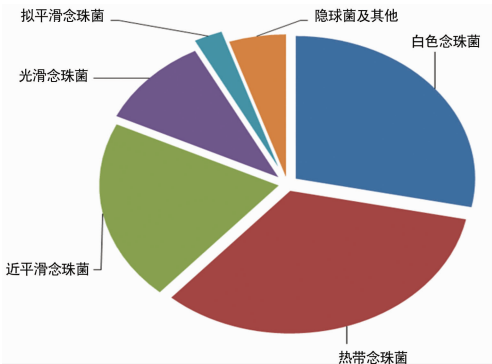


图 3 侵袭性真菌感染的菌株分布

2.4 侵袭性真菌感染的菌株类别分布 血培养真菌阳性的 49 例 IFD 确诊病例中，经鉴定为热带念珠菌、白色念珠菌、近平滑念珠菌、光滑念珠菌、拟平滑念珠菌、隐球菌等，各类菌株分布见图 3。

3 讨 论

本文表 1 显示，IFD 组和非 IFD 组的 G 试验和 GM 试验检测结果差异有统计学意义($P<0.001$)，G 试验和 GM 试验结果的合理应用将为临床 IFD 的早期诊治提供重要依据。从本研究结果表 2 中显示，G 试验和 GM 试验诊断 IFD 特异度均大于 90.0%，串联检测(两项中任一项阴性)特异度可达 99.0%，比单独使用 G 试验和 GM 试验诊断 IFD 有显著统计学意义($P<0.05$)，说明 G 试验和 GM 试验阴性结果时可拟排除真菌感染，联合检测诊断效率更高。G 试验单独用于 IFD 诊断的灵敏度为 65.3%，与文献报道^[9-13]的灵敏度偏低，这是否与其他研究未全部使用无菌体液真菌病原学来确诊 IFD 有关，这还需进一步探讨。如 G 试验和 GM 试验并联使用(两项中任一项阳性)可提高 IFD 诊断灵敏度至 71.4%，而 GM 试验单独用于 IFD 诊断的灵敏度较低只有 24.5%，这可能与 GM 试验主要用于侵袭性隐球菌、曲霉菌和青霉菌等感染有关^[14]，本文血培养确诊为隐球菌的只有 2 例，表明 GM 试验单独作为血流侵袭性真菌感染的实验室指标效率较低。G 试验和 GM 试验临床诊断界值的合理设置有助于提高诊断效能，经 ROC 曲线分析，G 试验检测浓度在 43.5 pg/mL 时，诊断效能最高，灵敏度 75.5%，特异度 92.4%， $S_{ROC}=0.859$ (95%置信区间 78.9%~93.0%)；GM 试验血清学指数为 0.49 时，诊断效能最高，灵敏度和特异度分别为 40.8%和 93.6%， $S_{ROC}=0.581$ (95.0%置信区间 47.2%~68.9%)。

从本文确诊的 49 例 IFD 血培养真菌阳性菌株分析(图 3)，侵袭性真菌感染的菌株主要为热带念珠菌 17 例(34.7%)，白色念珠菌 13 例(26.5%)，近平滑念珠菌 10 例(20.4%)，光滑念珠菌 5 例(10.2%)，拟平滑念珠菌、隐球菌及其他共 4 例(2.0%、6.1%)，相关信息可为临床治疗提供参考。

G 试验和 GM 试验临床应用时应注意假阳性和假阴性干扰，本文最后确认的 41 例 G 试验或 GM 试验假阳性中，有 6 例经血液透析；34 例使用了头孢、碳青霉烯类药物或输注了血液制品，1 例为铜绿假单胞菌血流感染。确认的 24 例 G 试验或 GM 试验假阴性中，有 1 例为隐球菌感染，17 例使用了抗真菌药物，3 例为近平滑念珠菌感染，剩余 3 例原因不明。此外 IFD 患者容易合并其他细菌感染，本研究中有 14 例合并血流细菌感染。国外文献^[15]认为血流细菌感染组与无血流细菌感染组的 G 试验结果差异有统计学意义，而国内研究认为差异无统计学意义^[16]。本文合并感染的病例中只有 1 例假阴性，因此，真菌合并细菌感染时，G 试验与 GM 试验对侵袭性真菌病诊断效能是否有影响也值得进一步研究。

用血培养真菌结果作为 IFD 诊断的“金标准”研究 G 试验和 GM 试验的临床应用价值,降低了以临床诊断的不确定性带来的偏差,为 G 试验和 GM 试验的临床应用研究积累了更客观数据。但研究时应注意不确定血培养结果的负面干扰,本研究明确为干扰血培养真菌假阳性病例就有 17 例。排除干扰外还应注意局部深部组织器官真菌感染时,血培养可出现非阳性结果。正如在本研究收集资料时发现 7 例通过病理组织检查确诊侵袭性肺真菌病,但多次血培养均为阴性,其中 G 试验和 GM 试验诊断 IFD 灵敏度分别为 42.9% 和 57.1%,并联检测灵敏度为 71.4%。可以看出 G 试验灵敏度较上述研究中^[1-7]较低,可能与这 7 例中有 3 例为肺部隐球菌感染以及病检病例数量不足有关。因此 G 试验和 GM 试验对于局限深部真菌感染的诊断仍然有不确定性,仅仅依靠临床诊断不足以确定其真实诊断效能,还需要更多的病检结果或其他金标准来支撑,但因为本研究聚焦于血培养作为金标准故未将此类病例纳入。此外,本研究只将无菌体液聚焦到了血液,而胸腹水、脑脊液等其他无菌体液标本未纳入研究,以及血液真菌培养阳性率不理想等影响了确诊数据收集的量和完整性,今后研究应增加其他无菌体液标本真菌培养结果,以及病理诊断结果,为 G 试验和 GM 试验诊断 IFD 积累更多客观证据。

4 结 论

以血培养真菌结果作为 IFD 诊断的“金标准”来研究 G 试验与 GM 试验的临床应用价值,减少了因临床诊断 IFD 带来的不确定性。研究表明:G 试验与 GM 试验是 IFD 早期诊断的重要实验室指标,联合检测可提高诊断 IFD 灵敏度和特异度;特别是阴性结果对排除侵袭性真菌病的意义更为重大,同时设置合适的临界值可以较好地提高诊断准确性。综上所述,对其合理应用、综合分析可有效提高 IFD 的诊治水平,推进早期诊断、早期治疗,减少误诊及漏诊。

参考文献

- [1] LAHMER T, NEUENHAHN M, HELD J, et al. Comparison of 1,3- β -D-glucan with galactomannan in serum and bronchoalveolar fluid for the detection of *Aspergillus* species in immunosuppressed mechanically ventilated critically ill patients[J]. *J Crit Care*, 2016, 36: 259-264.
- [2] LAMOTH F. Galactomannan and 1,3- β -D-glucan testing for the diagnosis of invasive aspergillosis[J]. *J Fungi (Basel)*, 2016, 2(22): 3390.
- [3] SON H J, SUNG H, PARK S Y, et al. Diagnostic performance of the (1,3)- β -D-glucan assay in patients with *Pneumocystis jirovecii* compared with those with candidiasis, aspergillosis, mucormycosis, and tuberculosis, and healthy volunteers[J]. *Plos one*, 2017, 30: 188860.
- [4] FORTUN J, MARTIN-DAVILA P, GOMEZ G P E, et al. Galac-tomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of invasive aspergillosis in non-hematological patients[J]. *J Infect*, 2016, 72(6): 738-744.
- [5] SV K C, CHOU K T, HSIAO Y H, et al. Measuring (1,3)- β -D-glucan in tracheal aspirate, bronchoalveolar lavage fluid, and serum for detection of suspected *Candida pneumonia* in immunocompromised and critically ill patients: a prospective observational study[J]. *BMC Infect Dis*, 2017, 17(1): 252.
- [6] HAIDAR G, FALCIONE B A, NGUYEN M H. Diagnostic modalities for invasive mould infections among hematopoietic stem cell transplant and solid organ recipients: performance characteristics and practical roles in the clinic[J]. *J Fungi*, 2015, 1(2): 252-276.
- [7] 夏吉荣, 牛司强, 曹炬. (1,3)- β -D-葡聚糖检测对侵袭性真菌感染临床价值的再评价[J]. *中国真菌学杂志*, 2016, 11(5): 269-274.
- [8] 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病的诊断标准与治疗原则(第五次修订版)[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56(6): 453-458.
- [9] SUAHIAN A, PORCHER R, BERGERON A, et al. Use and limits of (1-3)- β -D-glucan assay (Fungitell), compared to galactomannan determination (platelia aspergil-lus), for diagnosis of invasive aspergillosis[J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52(7): 2328-2333.
- [10] 陆书华, 钱震雯, 孔庆丽, 等. G 试验联合 GM 试验对恶性肿瘤患者并发侵袭性真菌感染的早期诊断价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(14): 1956-1957.
- [11] 周志敏. G 试验与 GM 试验 ICU 患者侵袭性真菌感染早期诊断中的应用[J]. *中国现代药物应用*, 2016, 10(10): 40-41.
- [12] 王孟丽, 刘俊晓. G 试验和 GM 试验联合检测在诊断侵袭性肺部真菌感染的临床应用[J]. *临床检验杂志*, 2017, 6(2): 161-162.
- [13] TAREMI M, KLEINBERG ME, WANG EW, et al. Galactomannan antigen detection using bronchial wash and bronchoalveolar lavage in patients with hematologic malignancies[J]. *Ann Clin Microb Ant*, 2015, 14: 50.
- [14] 严汝帆, 李鑫全, 郑冬燕, 等. 血清半乳甘露聚糖试验在诊断马尔尼菲青霉病中的应用[J]. *中国真菌学杂志*, 2016, 11(1): 16-19.
- [15] 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, 7(16): 21484-21495.
- [16] 王明达, 陈若虹, 黄佳斯, 等. 血液细菌感染对血清(1,3)- β -D-葡聚糖检测结果的影响[J]. *中国真菌学杂志*, 2016, 11(1): 24-27.

(收稿日期: 2018-10-06 修回日期: 2018-11-24)