

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.10.021

真菌培养和血浆(1-3)- β -D 葡聚糖检测在深部真菌感染诊断中的应用价值

许丽霞

(惠州市第一人民医院检验科, 广东惠州 516000)

摘要:目的 评价真菌培养、血浆(1-3)- β -D 葡聚糖检测(G 试验)在深部真菌感染(DFI)中的诊断价值。方法 回顾性分析 105 例疑似 DFI 患者 G 试验检测结果、不同部位真菌培养结果,以临床综合诊断结果为准,对比上述两种方法及联合检测诊断 DFI 的价值。结果 105 例疑似 DFI 患者确诊 96 例,G 试验阳性诊断符合率为 72.92%,真菌培养阳性诊断符合率为 86.46%,联合 G 试验和真菌培养阳性诊断符合率为 93.75%。一致性检验提示,G 试验与临床综合诊断 $Kappa=0.502$,真菌培养与临床综合诊断 $Kappa=0.618$,联合检测 $Kappa=0.735$ 。G 试验、真菌培养、联合检测诊断 DFI 的灵敏度、特异度、曲线下面积分别为 72.01%、70.28%、0.725;83.25%、71.02%、0.803;89.15%、76.32%、0.922。结论 真菌培养和 G 试验对 DFI 均有较高诊断价值,与临床综合诊断均有较好一致性,联合检测可提高诊断 DFI 灵敏度、准确度和可信度。

关键词:真菌培养; 血浆(1-3)- β -D 葡聚糖; 深部真菌感染; 真菌; 感染

中图法分类号:R446.5;R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)10-1390-03

Application of fungal culture and plasma (1-3)- β -D glucan in the diagnosis of deep fungal infection

XU Lixia

(Department of Clinical Laboratory, Huizhou First Hospital, Huizhou, Guangdong 516000, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the diagnostic value of fungal culture and plasma (1-3)- β -D glucan (G test) in deep fungal infection (DFI). **Methods** The results of G test and fungal culture in different parts of 105 suspected DFI patients were retrospectively analyzed. Based on the results of clinical diagnosis, the value of the above two methods and combined detection in the diagnosis of DFI were compared. **Results** A total of 96 cases among 105 suspected DFI patients were diagnosed. The diagnostic coincidence rate of G test was 72.92%, fungal culture was 86.46%, and the diagnostic coincidence rate of combined G test and fungal culture was 93.75%. Conformity test results showed that $Kappa$ of G test and clinical diagnosis was 0.502, $Kappa$ of fungal culture and clinical diagnosis was 0.618, $Kappa$ of combined diagnosis was 0.735. The sensitivity, specificity and area under the curve of G test, fungal culture and combined diagnosis of DFI were 72.01%, 70.28%, 0.725; 83.25%, 71.02%, 0.803; 89.15%, 76.32%, 0.922 respectively. **Conclusion** Fungi culture and G test have high diagnostic value for DFI, and have good consistency with clinical diagnosis. Combined diagnosis can improve the sensitivity, accuracy and reliability of DFI diagnosis.

Key words: fungal culture; plasma(1-3)- β -D glucan; deep fungal infection; fungi; infection

深部真菌感染(DFI)是医院感染的主要组成部分,具有临床发病率高、病死率高等特点,且发病机制复杂,DFI 临床治疗难度大,增加了患者医疗负担,严重影响康复效果和生存质量^[1]。真菌培养是诊断 DFI 的有效方法^[2],但是该方法耗时长,不利于早期诊断和治疗。真菌细胞壁特异性成分(1-3)- β -D 葡聚糖检测(G 试验)是近年来新兴的通过检测真菌特异性抗原成分或特异性酶的微生物学检测方法,该方法取材方便,操作简单,创伤小,可快速诊断 DFI^[3]。本研究将 G 试验与传统真菌培养方法结合用于诊断

DFI,评价其在 DFI 诊断中的应用价值,以期为临床诊治提供有效参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 2 月至 2018 年 5 月本院 105 例疑似 DFI 患者为研究对象,其中男 62 例,女 43 例;年龄 32~78 岁,平均(49.35 $\pm$ 8.17)岁;疾病类型包括慢性阻塞性肺疾病 17 例,白血病 25 例,脑梗死 9 例,恶性肿瘤 16 例,慢性肾炎 14 例,糖尿病 13 例,尿毒症 11 例;住院科室分布为消化科 29 例,重症监护病房 22 例,血液科 18 例,呼吸内科 15 例,肾内

科 12 例,肿瘤内科 9 例。排除标准:检测前使用过抗真菌药物,近期内应用过血液制品,接受过纤维素膜透析等可能干扰试验结果的治疗;临床资料缺失。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》,所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法 (1)G 试验方法:于用药前采集空腹静脉血 4 mL 于专用灭活干燥真空管,80-2(20 mL×12)台式高速离心机(上海医用分析仪器厂)3 000 r/min 离心 15 min,取上层血清 0.1 mL 加入 0.9 mL 样品处理液,70 ℃ 孵育 10 min,冷却 5 min 待检。取处理后样品 0.2 mL 加入酶反应试剂溶解混匀后立即移至标准平底反应管,置入 MB-80 真菌快速动态检测仪,仪器自动计算血浆(1,3)-β-D-葡聚糖水平,血浆 1-3-β-D 葡聚糖<20 μg/L 为阴性,≥20 μg/L 为阳性^[4]。(2)真菌培养方法:标本的留取和真菌分离培养参照《全国临床检验操作规程(3 版)》标准进行。根据患者感染部位留取适量血液、痰液、灌洗液、中段尿、脓液和胸腔积液等标本进行培养。血液标本及无菌体液置于血培养仪进行振荡培养,血培养仪荧光值增高提示阳性,将阳性血液标本转至沙氏培养基 35 ℃ 培养一周,出现真菌生长即为阳性。

1.3 DFI 诊断标准 经组织活检存在真菌侵入性感染;除痰液、尿液外,无菌封闭器官或体腔中存在真菌感染的微生物学证据^[2]。

1.4 观察指标 比较 G 试验、真菌培养及两者联合检测对 DFI 阳性检出情况,以及与临床综合诊断的一致性。分析 G 试验、真菌培养及两者联合检测对 DFI 的诊断效能。

1.5 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理及统计分析,计数资料以例数或百分率表示,Kappa 一致性检验检测 G 试验和真菌培养检测结果的一致性,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 G 试验、真菌培养、联合 G 试验和真菌培养诊断 DFI 的价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各诊断方法对 DFI 阳性检出情况及与临床综合诊断一致性对比 105 例疑似 DFI 患者确诊 96 例,G 试验阳性 70 例,漏诊 26 例,阳性诊断符合率为 72.92%(70/96);真菌培养阳性 83 例,漏诊 13 例,阳性诊断符合率为 86.46%(83/96);联合 G 试验和真菌培养诊断阳性 90 例,漏诊 6 例,阳性诊断符合率为 93.75%(90/96),联合检测阳性率高于单独诊断,见表 1。G 试验与临床综合诊断经 Kappa 一致性检验 $Kappa=0.502$,真菌培养与临床综合诊断 $Kappa=0.618$,联合检测与临床综合诊断 $Kappa=0.735$ 。

2.2 各诊断方法对诊断 DFI 的效能分析 以临床综

合诊断为金标准,ROC 曲线分析各诊断方法诊断 DFI 的效能,结果显示联合检测灵敏度、特异度、ROC 曲线下面积(AUC)、约登指数(Youden)均高于 G 试验、真菌培养,见表 2、图 1。

表 1 G 试验、真菌培养、联合检测对 DFI 的检出情况对比(n)

诊断方法		临床综合诊断		
		阳性	阴性	合计
G 试验	阳性	70	6	76
	阴性	26	3	29
真菌培养	阳性	83	4	87
	阴性	13	5	18
联合检测	阳性	90	1	91
	阴性	6	8	14

表 2 各诊断方法对诊断 DFI 的效能对比

诊断方法	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC(95%CI)	Youden
G 试验	72.01	70.28	0.725(0.264~0.954)	0.42
真菌培养	83.25	71.02	0.803(0.350~0.901)	0.54
联合检测	89.15	76.32	0.922(0.021~0.835)	0.65

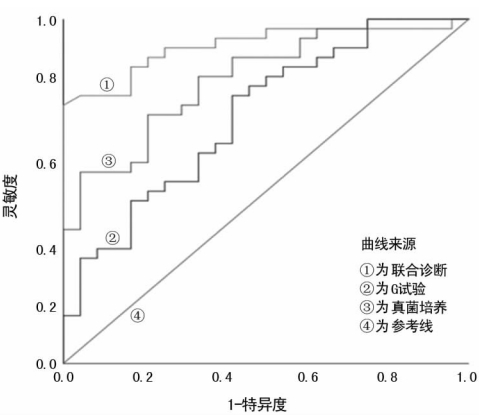


图 1 G 试验、真菌培养、联合检测诊断 DFI 的 ROC 曲线

3 讨 论

DFI 是发生于医院内部的获得性感染,指真菌侵犯人体皮肤或组织器官深部引起的感染^[5],随着广谱抗菌药物、免疫抑制剂、皮质类固醇激素的广泛应用,介入治疗、侵入操作技术的普及,DFI 患病率逐年增高,且真菌菌株对部分抗真菌药物存在不同程度耐药,增加了治疗难度,成为治疗医院感染面临的新挑战^[6]。DFI 患者预后得益于早期诊断和治疗,但是 DFI 早期诊断困难,缺乏有效证据下使用抗真菌药物可能增加患者的医疗成本和不良反应,因此,DFI 早期检测和诊断一直是临床研究的难点和热点。

直接获取深部感染组织标本进行组织病理学检查是诊断 DFI 的金标准,可根据病原菌形态特征有效

区分病原菌种类,但是该方法有创、检验耗时长,检出率低,易导致漏诊,且无法鉴别非致病性定植和侵袭性感染,因此,临床诊断作用有局限^[7]。(1-3)- β -D 葡聚糖是广泛存在于真菌细胞壁的真菌特异性抗原,而细菌、病毒等病原体不存在此成分,当 DFI 发生时,(1-3)- β -D 葡聚糖经吞噬细胞吞噬、消化,从真菌细胞壁释放入血,导致血浆(1-3)- β -D 葡聚糖水平升高,因此,检测血浆(1-3)- β -D 葡聚糖水平可反映 DFI 情况。Meta 分析显示血浆(1-3)- β -D 葡聚糖检测诊断血液病、器官移植患者 DFI 灵敏度和特异度较高^[8-9],可鉴别非致病性定植和侵袭性感染。但是血浆(1-3)- β -D 葡聚糖存在于多种真菌细胞壁,因此 G 试验无法鉴别真菌菌属,对隐球菌等感染无法检出;在接受血液透析、免疫球蛋白、药物治疗患者中假阳性率较高,并与革兰阳性菌细胞壁存在交叉反应^[10-11],因此,临床仍需结合其他诊断方法和临床症状进行解释。

以往研究显示,多种检测方法联合应用能够提高 DFI 的诊断能力^[12]。本研究结果显示 G 试验诊断与临床综合诊断符合率为 72.92%,真菌培养阳性诊断符合率为 86.46%,联合 G 试验和真菌培养诊断阳性诊断符合率为 93.75%。说明 G 试验联合真菌培养可明显提高 DFI 阳性病原菌的检出率,从而提高诊断符合率。一致性检验结果提示,G 试验与临床综合诊断 $Kappa=0.502$,真菌培养与临床综合诊断 $Kappa=0.618$,联合诊断 $Kappa=0.735$,说明 G 试验联合真菌培养对 DFI 临床综合诊断结果具有较高的一致性,高于单独 G 试验和真菌培养,这与以往研究结果相似。ROC 分析结果显示,G 试验联合真菌培养灵敏度、特异度、AUC 分别为 89.15%、76.32%、0.922,明显高于单独 G 试验、真菌培养,因此,综合以上结果,G 试验联合真菌培养是 DFI 诊断的有效方法,其诊断结果可用于指导临床 DFI 及治疗。

综上所述,血浆(1-3)- β -D 葡聚糖可作为 DFI 诊断的特异性标志物,对 DFI 有较高诊断价值,但不能鉴别真菌菌属,联合真菌培养诊断结果与临床综合诊断均有较好一致性,可提高诊断 DFI 的灵敏度、准确度和可信度。

参考文献

[1] 王毅,朱冠保,饶尚锐,等. (1,3)- β -D-葡聚糖对普外科患

者深部真菌感染的诊断分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015,25(14):3130.

- [2] 张汇征,付晓,万东勇. G 实验和真菌培养在艾滋病人深部真菌感染中的联合诊断[J]. 中国实验诊断学, 2018,22(1):34-37.
- [3] LAMOTH F, CRUCIANI M, MENGOLI C, et al. β -Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the third European conference on infections in leukemia (ECIL-3)[J]. Clin Infect Dis, 2012,54(5):633-643.
- [4] 李丽华,李明友,林茂锐,等. 血浆 1-3- β -D 葡聚糖检测联合真菌培养对深部真菌感染诊断的价值[J]. 现代医院, 2014,14(4):25-27.
- [5] 陈冠宇. 综合医院抗真菌药物使用情况及深部真菌感染临床流行病学分析[J]. 中国继续医学教育, 2016,8(7):24-25.
- [6] 彭丽娟,胡妮娅,杜经纬,等. 医院患者深部真菌感染的临床分布与耐药性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2015,25(22):5122-5124.
- [7] 吴真,徐晓刚. 深部真菌病的实验诊断进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014,14(1):82-85.
- [8] KARAGEORGOPOULOS D E, VOULOUMANOU E K, NTZIORA F, et al. β -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis[J]. Clin Infect Dis, 2011,52(6):750-770.
- [9] RACIL Z, KOCMANOVA I, LENGEROVA M, et al. Difficulties in using 1,3- β -D-glucan as the screening test for the early diagnosis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies—high frequency of false-positive results and their analysis[J]. J Med Microbiol, 2010,59(Pt 9):1016-1022.
- [10] 冯燕. 老年深部真菌感染患者体内真菌分布及危险因素[J]. 中国老年学杂志, 2013,33(22):5584-5585.
- [11] 冉宝才,胡仁静,胡锡池. 血浆 1,3- β -D 葡聚糖的检测在深部真菌感染诊断中的应用价值[J]. 国际检验医学杂志, 2017,38(13):1770-1772.
- [12] 张勇,李伟,文艳,等. 降钙素原和 1,3- β -D 葡聚糖联合检测诊断 ICU 危重患者深部真菌感染的价值[J]. 海南医学, 2015,26(15):2257-2258.

(收稿日期:2018-10-24 修回日期:2019-01-16)