

血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测对呼吸机相关性肺部真菌感染诊断的临床价值研究

封凯旋 马 斌 黄晓丽 凌杰兵 苟 鑫 周 涓 崔轶坤 罗向阳

摘 要 **目的** 研究血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测对呼吸机相关性肺部真菌感染诊断的临床价值。**方法** 选择 ICU 进行有创机械通气 48h 以上,临床确诊均为肺部真菌感染的 34 例患者作为试验组,以 33 例无真菌感染的健康献血者作为对照组。对两组患者抽取静脉血做(1,3)- β -D-葡聚糖检测(G 试验),将试验结果与病原学诊断结果相比较,计算 G 试验的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值及准确性。**结果** 试验组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖定量检测有 32 例阳性,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖含量为 96.10 ± 12.31 pg/ml;对照组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖定量检测有 3 例阳性,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖含量为 4.30 ± 1.77 pg/ml。两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测的敏感度与特异性为 94.11%、90.90%;血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测的阳性预测值与阴性预测值为 91.43%、93.75%。**结论** 血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测诊断呼吸机相关性肺部真菌感染具有快速、可靠等优点,有较高的敏感度、特异性和准确性。

关键词 肺部真菌感染 呼吸机相关性 (1,3)- β -D-葡聚糖

中图分类号 R519

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.032

Clinical Value of Plasma (1,3)- β -D-Glucan Detection in Ventilator-Associated Pulmonary Fungal Infection Diagnosis. Feng Kaixuan, Ma Bin, Huang Xiaoli, et al. Jinshan Branch of Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai 201599, China

Abstract **Objective** To study clinical value of plasma (1,3)- β -D-glucan detection in ventilator-associated pulmonary fungal infection diagnosis. **Methods** Thirty four patients diagnosed as pulmonary fungal infection were selected as a test group. All patients in the test group have experienced over 48 hour's invasive mechanical ventilation in ICU. Another 33 healthy people with no fungal infections were selected as a control group. (1,3)- β -D-glucan detection (G test) was conducted in both groups using venous blood as the test samples. Test results were compared with the results of etiological diagnosis to assess the sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy of G test. **Results** Thirty two positive cases were found in the test group through quantitative detection of (1,3)- β -D-glucan in the plasma. And, the average content of (1,3)- β -D-glucan in the plasma was 96.10 ± 12.31 pg/ml. While in the control group, just 3 positive cases were detected, with an average content of (1,3)- β -D-glucan in the plasma of 4.30 ± 1.77 pg/ml. Statistically significant was observed between the two groups ($P < 0.05$). The sensitivity, specificity, positive and negative predictive value of plasma (1,3)- β -D-glucan detection was 94.11%, 90.90%, 91.43% and 93.75%, respectively. **Conclusion** The method of plasma (1,3)- β -D-glucan detection in ventilator-associated pulmonary fungal infection diagnosis was fast and reliable, and has a higher sensitivity, specificity and accuracy.

Key words Pulmonary fungal infection; Ventilator-associated; (1,3)- β -D-glucan

随着临床广谱抗生素药物的广泛使用和部分滥用,以及重症患者侵袭性操作如气管插管等临床器械的普及,侵袭性肺部真菌感染(invasive pulmonary fungal infection, IPFI)发生率和病死率正呈现逐年上升的趋势,但由于 IPFI 的临床表现没有明显的特异性,早期识别、诊断肺部真菌感染是治疗成功的关键因素,传统的诊断方法如痰涂片法、痰培养法由

于干扰误差大,时效性差,存在局限性,而病理活检标本需手术获得,取材比较困难,难以做到及时准确,限制了肺部真菌感染的快速诊断,因此真菌感染需要更多更加便捷、可靠的诊断方法^[1-3]。

有研究认为,可通过检查血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测(G 试验)来实现对侵袭性真菌感染的诊断,(1,3)- β -D-葡聚糖是真菌细胞壁的重要成分,在真菌感染时,单核-吞噬细胞等免疫系统会吞噬消化真菌,使(1,3)- β -D-葡聚糖进入组织液、血液,因此在血液中能够检测出(1,3)- β -D-葡聚

糖^[4]。这种血液学检查较为方便,重复性好,而且可以定量检查,但目前国内外对血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测对侵袭性真菌感染研究较多,对呼吸机相关性肺部真菌感染的研究仍较欠缺。为进一步探讨G试验在呼吸机相关性肺部真菌感染的诊断价值,笔者通过对呼吸机相关性肺部真菌感染患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖的检测,评价其在呼吸机相关性肺部真菌感染诊断中的临床价值,为呼吸机相关性肺部真菌感染临床诊断提供更加准确、快速、便捷的方法。

资料与方法

1. 临床资料:选择2012年6月~2014年2月在上海金山山区中心医院ICU进行有创机械通气48h以上,临床确诊均为肺部真菌感染的34例患者作为试验组。以33例无真菌感染的健康献血者作为对照组。其中试验组男性患者19例,女性患者15例,年龄22~80岁,平均年龄 56.3 ± 16.8 岁,对照组男性患者18例,女性患者15例,年龄24~79岁,平均年龄 55.9 ± 14.9 岁,两组患者在年龄、性别等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

2. 试验组病例纳入标准:患者进行有创机械通气48h以上,符合肺部真菌感染的诊断标准,胸部CT或X线胸片提示有肺部感染,支气管肺泡灌洗液培养阳性。不包括拟诊患者,入院后48h内发病者不纳入本次研究范围。

3. 研究方法:(1)试验组:对支气管肺泡灌洗液培养阳性的患者抽取静脉血做(1,3)- β -D-葡聚糖检测(G试验)。(2)对照组:对无真菌感染的健康献血者抽取静脉血做G试验。将试验结果与病原学诊断结果相比较,计算G试验的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值及准确性。

4. 实验试剂与仪器:采用GKT-105Set动态真菌检测试剂盒(含有酶反应主剂C,规格为0.2毫升/支,北京金山科技发展有限公司)与MB-80微生物快速动态检测系统,念珠菌显色培养基由江门凯林公司提供。实验仪器主要有标准玻璃反应管、无热源抗凝采血管、T01电加热恒温仪(70℃)、台式电脑等。

5. 真菌培养方法:对支气管肺泡灌洗液采用改良沙氏培养基分离培养,可疑菌落涂片革兰染色,确定为真菌后,用VITEK-32型全自动微生物鉴定仪的YBC卡鉴定。

6. 血浆BG值检测方法:用无热源抗凝采血管采取静脉血2ml,3000r/min离心,取上清0.1ml,加入0.9ml的样品处理液中,混匀后置于70℃恒温10min,取出后立刻放入冰水浴中,为待测血浆样品。待测血浆样品0.2ml直接加入酶反应主试剂中,溶解后移液至标准玻璃反应管中,插入MB-80微生物快速动态检测系统中进行反应,1h后自动计算待测血浆中BG水平。

7. 评价指标:(1)BG参考值:以G试验的检验结果BG值 $> 10\text{pg/ml}$ 为阳性。评估采用BG值判断肺部真菌感染的敏

感度及特异性。敏感度:G试验诊断为肺部真菌感染的例数与真菌培养诊断为肺部真菌感染的例数的百分比。特异性:G试验诊断为非肺部真菌感染的例数与真菌培养诊断为非肺部真菌感染的例数的百分比。(2)阳性预测值:全部G试验检测阳性例数中,真菌培养阳性例数所占的比例。阴性预测值:G试验检测结果为阴性的受试者中真菌培养阴性的比例。

8. 统计学方法:采用SPSS 16.0软件对数据进行统计分析,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。实验数据经正态性、方差齐性检验,符合条件后,组内样本均数检验使用配对样本检验,组间样本均数采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖测定结果:试验组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖定量检测有32例阳性,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖含量为 $96.10 \pm 12.31\text{pg/ml}$;对照组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖定量检测有3例阳性,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖含量为 $4.30 \pm 1.77\text{pg/ml}$ 。两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$,表1)。

表1 两组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	BG值(pg/ml)	BG值阳性例数(<i>n</i>)
对照组	33	4.30 ± 1.77	3
试验组	34	$96.10 \pm 12.31^*$	32

与对照组比较,* $P < 0.05$

2. G试验的敏感度、特异性、阳性预测值、阴性预测值:血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测的敏感度与特异性为94.11%、90.90%,阳性预测值与阴性预测值为91.43%、93.75%。表明血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测的准确性较高。

讨 论

重症监护病房(ICU)的患者与普通住院患者相比具有一定的特殊性,大多数患者存在病情危重、营养欠佳甚至出现严重低蛋白血症,患者机体免疫功能低下;加之在重症监护病房多数患者长期使用多种广谱抗生素或激素治疗,导致该类患者的院内感染发生率较高,尤其是一些患者需要气管切开、气管插管进行机械通气,导致呼吸机相关性肺部真菌感染更容易发生。有研究表明,在有危重病和存在免疫功能低下情况的患者中,真菌引起的IPFI的病死率达到40%^[5]。因此抗真菌感染的早期诊断对治疗和预后非常重要^[6]。但由于真菌感染缺少快速、准确的临床诊断方法,患者常常错过了最佳的治疗时机^[7]。

肺部真菌学检查主要包括培养加涂片镜检、组织病理学检查、抗体和抗原检测、PCR 检测等,而痰涂片法、痰培养法由于干扰误差大、时效性差,存在局限性;而病理活检标本需手术获得,取材比较困难,难以做到及时准确。

新近研究表明,血浆(1,3)- β -D 葡聚糖检测具有快速简便的特点,是一种无损伤的早期诊断 IPFI 方法^[8]。国外研究发现血浆(1,3)- β -D-葡聚糖水平与真菌的含量呈正相关,检测血浆(1,3)- β -D-葡聚糖对早期确诊深部真菌感染具有一定的指导意义^[9,10],2008 年,欧洲癌症治疗研究组织和美国国家过敏症与传染病研究所霉菌病研究组(EROTC/MSG)修订了深部真菌感染的标准,首次将检测血浆(1,3)- β -D-葡聚糖试验纳入微生物学标准^[11],此后,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测成为备受关注的 IPFI 诊断方法。

本研究的创新点:国内外对血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测对侵袭性真菌感染研究较多,但对呼吸机相关性肺部真菌感染的研究较欠缺,为进一步探讨 G 试验在呼吸机相关性肺部真菌感染的诊断价值,笔者通过对呼吸机相关性肺部真菌感染患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖的检测,评价其在呼吸机相关性肺部真菌感染诊断中的临床价值,为进一步普及 G 试验在呼吸机相关性肺部真菌感染的诊断方面的应用提供参考。研究结果显示,试验组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖定量检测有 32 例阳性,血浆(1,3)- β -D 葡聚糖含量为 $96.10 \pm 12.31 \text{ pg/ml}$;对照组患者血浆(1,3)- β -D-葡聚糖定量检测有 3 例阳性,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖含量为 $4.30 \pm 1.77 \text{ pg/ml}$,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测的敏感度与特异性为 94.11%、90.90%;血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测的阳性预测值与阴性预测值为 91.43%、93.75%。以上结果表明,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测诊断呼吸机相关性肺部真菌感染具有快速、可靠等优点,有较高的敏感度、特异性和准确性。

尽管(1,3)- β -D-葡聚糖含量测定能高度提示真菌侵袭性感染的存在,却无法确定具体为哪一种真菌,且会出现假阴性和假阳性结果,出现假阳性的可能原因是,真菌为人体内的常驻菌,在阴道及肠道均有分布,这些部位正常数量的真菌存在虽不至于致病,但亦有可能与局部免疫细胞的反应中向外周血释放(1,3)- β -D-葡聚糖,造成检查中一定比例的假

阳性^[12]。解决此问题,可以通过更大样本的前瞻性研究以重新制定肺部真菌感染的血浆(1,3)- β -D-葡聚糖正常值。本研究试验组中有 2 例血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测结果为阴性,假阴性率为(2/43,4.65%),笔者分析认为造成假阴性的可能原因:①病理检查结果显示此 2 例患者肺部真菌感染程度较轻,其向外周血释放(1,3)- β -D-葡聚糖的量可能不足以检测出;②血浆(1,3)- β -D-葡聚糖定量检测无法检测隐球菌感染的存在,因为隐球菌存在宽厚的荚膜,(1,3)- β -D-葡聚糖不易释放入血浆,从而限制了(1,3)- β -D-葡聚糖的血浆浓度的升高,这也是导致假阴性出现的因素之一;③本研究结果中假阴性率 $< 5\%$,误差相对较小,该检测方法虽然检测的精准度很高,但仍不能做到 100% 的精准,实验误差也可能导致假阴性出现。尽管如此,由于抗真菌药物种类偏少,抗菌谱相对较广,且不以真菌种类而不同,所以当检测到血浆(1,3)- β -D-葡聚糖含量处于高水平时,即可给予抗真菌治疗,以免贻误最佳治疗时机。

总之,血浆(1,3)- β -D-葡聚糖检测诊断呼吸机相关性肺部真菌感染具有快速、可靠和高敏感度、特异性的特点,对侵袭性肺部真菌感染的早期诊断和指导临床经验用药具有重要的意义,值得推广应用。

参考文献

- 1 Thompson GR, Patterson TF. Pulmonary aspergillosis [J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2008, 29 (2): 103-110
- 2 Dagenais TR, Keller NP. Pathogenesis of aspergillus fumigatus in invasive aspergillosis [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2009, 22:447
- 3 Kedzierska A. (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucan - a new marker for the early serodiagnosis of deep-seated fungal infections in humans [J]. *Pol J Microbiol*, 2007, 56(1): 3-9
- 4 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 centre in north India [J]. *Med Mycol*, 2013, 51(2): 164-169
- 5 Pfaller MA, Dieckema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis; a persistent public health problem [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20 (1):133-163
- 6 Armstrong - James D. Invasive Candida species infection; the importance of adequate empirical antifungal therapy [J]. *Antimicrob Chemother*, 2007. 60(3): 459-460
- 7 Owen WE, Roberts WL. Performance characteristics of the IMMUN-LITE 2000 erythropoietin assay [J]. *Clin Chim Acta*, 2004, 340 (1-2): 213-217
- 8 Senn L, Robinson J, Schmidt S, *et al.* (1,3)- β -D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia [J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 46(6): 878

- 885

- 9 Einsele H, Loeffler J. Contribution of new diagnostic approaches to antifungal treatment plans in high - risk haematology patients[J]. Clin Microbiol Infect, 2008, 14(Suppl 4) : 37 - 45
- 10 Kanamori H, Kanemitsu K, Miyasaka T, *et al.* Measurement of (1 - 3) - beta - D - glucan derived from different gauze types[J]. Tohoku J Exp Med, 2009, 217(2) : 117 - 121
- 11 De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, *et al.* Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research 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
- 12 Kobayashi K, Kimura S, Heux L, *et al.* Crystal transition between hydrate and anhydrous (1 - > 3) - beta - d - xylan from *Penicillium dumetosus*[J]. Carbohydr Polym, 2013, 97(1) : 105 - 110

(收稿日期:2014 - 09 - 02)

(修回日期:2014 - 09 - 05)

低位直肠癌远侧端壁内逆行浸润的适形特点研究

周凌阳 左志贵 李 鹏 陈侃松 陈伦宽 陈 忠 李 伟 黄文彬

摘 要 **目的** 探讨低位直肠癌向远侧端肠壁浸润的病理学特点。**方法** 对 36 例低位直肠癌患者手术标本在病灶同侧及对侧分别取材行病理检查。19 例患者肿瘤占肠腔 $>1/2$ 周标本仅行同侧取材,以肿瘤为中心从肿瘤下缘正前方、正斜方及过肿瘤中心两侧正横向 3 个方向等距离多位点取材。17 例患者肿瘤浸润肠腔 $\leq 1/2$ 周标本行同侧取材外再对侧取材,根据肿瘤下缘与齿线之间距离不同取材方法不同,距离 $\leq 2\text{cm}$ 者自肿瘤下缘水平面对侧直肠壁开始取材至齿线下 2cm ,距离 $>2\text{cm}$ 者自肿瘤下缘水平面对侧直肠壁开始取材至齿线下 1cm 。**结果** 低位直肠癌向远端肠壁浸润距肿瘤下缘 $<3\text{cm}$,斜向横向浸润距肿瘤 $<1.0\text{cm}$,肿瘤浸润肠腔 $>1/2$ 周、低分化患者向直肠壁远侧端浸润距离更远。肿瘤浸润肠腔 $\leq 1/2$ 周标本同侧肠壁浸润距肿瘤下缘 $<1\text{cm}$,肿瘤下缘水平面对侧直肠壁至齿线直肠壁均未见肿瘤细胞浸润。**结论** 肿瘤浸润肠腔 $\leq 1/2$ 周、中高分化且未累及齿线的低位直肠癌壁内浸润具有适形特点,在保持 TME 原则的前提下对低位直肠癌远侧端肠壁采用适形切除保肛方法可能会保留更好的肛门直肠功能。

关键词 低位直肠肿瘤 肠壁浸润 病理学

中图分类号 R735.3 + 7

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.033

Study on the Pathological Conformal Characteristic of Distal Intramural Spread of Low Rectal Cancer. Zhou Lingyang, Zuo Zhigui, Li Peng, *et al.* Department of General Surgery, The Yongjia Branch Hospital of the First Affiliated Hospital, Wenzhou Medical University, Zhejiang 325100, China

Abstract Objective To investigate the pathological characteristic of distal intramural spread (DIS) of low rectal cancer. **Methods** Thirtysix specimens with low rectal cancer were examined in the pathological study. Nineteen specimens with tumor diameter $>1/2$ circumference were pathologically removed organ blocks in three various directions (the front, oblique and lateral directions) in lesion side and sectioned for pathological examination. Seventeen specimens with tumor diameter $\leq 1/2$ circumference were pathologically removed organ blocks in the contralateral side and sectioned for pathological examination in addition to the lesion side, tissue drawing was ended at 2cm down the detate lines if the distance between tumor and detate lines was less than 2cm , but tissue drawing was ended at 1cm down the detate lines if the distance between the tumor and the detate lines was more than 2cm . **Results** The length of DIS of low rectal cancer was less than 3cm in front direction, but the length of DIS in oblique and lateral directions were less than 1.0cm . The tumor invaded more farther in the specimens with poor differentiation, tumor diameter $>1/2$ circumference. The length of DIS of low rectal cancer was less than 1cm in front direction and the rectal wall in the cotralaterl side was not invaded in the specimens with tumor diameter $\leq 1/2$ circumference. **Conclusion** The conformal characteristic of DIS of low rectal cancer was observed in the specimens with tumor diameter $\leq 1/2$

基金项目:温州市科技计划基金资助项目(Y20100021)

作者单位:325100 温州医科大学附属第一医院永嘉院区普外科(永嘉县中医医院)(周凌阳、陈侃松、陈伦宽、陈忠、李伟、黄文彬);325000 温州医科大学附属第一医院肛肠外科(左志贵),病理科(李鹏)

通讯作者:左志贵,电子信箱:zuozg007@126.com