

论著·临床研究

血浆β-葡聚糖检测儿童侵袭性真菌感染早期诊断价值探讨

赵醴¹, 汤静燕², 王莹¹, 周云芳³, 陈静², 李璧如¹, 薛惠良²

(上海交通大学医学院附属上海儿童医学中心 1. 儿童重症监护科; 2. 血液肿瘤科; 3. 感染科, 上海 200127)

[摘要] 目的 随着免疫受损个体生存期的延长,侵袭性真菌感染(invasive fungal infection, IFI)发病率持续上升。本研究目的在于了解儿童真菌感染高危人群并发IFI的发病情况,评价血液1,3-β-D-葡聚糖(1,3-β-D-glucan, BG)(G试验)诊断价值。**方法** 选择2007年11月至2008年6月在我院儿童ICU、血液肿瘤科住院治疗的持续发热4~7 d以上高危感染患儿进行G试验;每周检测1~2次,直至症状好转,或排除真菌感染,或死亡。G试验采用GKT-5M Set动态真菌检测试剂盒检测,阳性定义为血浆BG水平≥10 pg/mL。**结果** ① 共计130例入选研究。确诊IFI(proven)2例,均为念珠菌血症。临床诊断(probable)20例,拟诊(possible)7例,排除101例;② IFI组住院天数较非IFI组延长($P<0.05$),不良预后率明显增加($P<0.05$);③ IFI组血浆BG水平高于非IFI组($P<0.01$)。G试验诊断敏感度81.8%,特异度82.4%,阳性预测值48.6%,阴性预测值95.7%;④ 72.2%病例G试验阳性结果较培养或影像学阳性结果提前或同时发生。**结论** 儿童高危患者IFI不少见。血液G试验无衡量标准有助于高危患者的筛查,具有早期辅助诊断、指导合理治疗干预的价值。

[中国当代儿科杂志,2009,11(11):905-908]

[关键词] 侵袭性真菌感染;(1-3)-β-D-葡聚糖;早期诊断;儿童

[中图分类号] R446.1;R519 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)11-0905-04

Value of plasma β-Glucan in early diagnosis of invasive fungal infection in children

ZHAO Li, TANG Jing-Yan, WANG Ying, ZHOU Yun-Fang, CHEN Jing, LI Bi-Ru, XUE Hui-Liang. Department of Pediatric Intensive Care Unit, Shanghai Children's Medical Center, Jiao Tong University Medical School, Shanghai 100127, China (Tang J-Y, Email: yantf@online.sh.cn)

Abstract: Objective The incidence of invasive fungal infection (IFI) has risen dramatically along with the prolongation of immunocompromised individuals' lifespan. This study aimed to investigate the incidence of IFI among high-risk pediatric patients and to evaluate the diagnostic value of circulating (1,3)-β-D-glucan (BG) in IFI. **Methods** High-risk pediatric inpatients from hemato-oncology department and ICU were enrolled from November 2007 to June 2008. All the patients had persistent fever for 4 to 7 days or longer. Circulating BG levels were detected once or twice weekly until the signs and symptoms improved, or IFI was excluded, or death. Circulating BG levels were determined by the GKT-5M Set Kinetic Fungus Detection Kit. Detection of plasma BG was judged positive when the level was ≥10 pg/mL. **Results** A total of 130 patients were enrolled. Two patients with candidemia were classified as proven IFI, 20 as probable IFI, 7 as possible IFI, and 101 without IFI. The patients with proven or probable IFI had a longer length of hospital stay ($P<0.05$) and an increased mortality rate ($P<0.05$). The patients with IFI demonstrated a higher plasma level of BG than those without IFI ($P<0.01$). The sensitivity, specificity, positive and negative predictive values for plasma BG detection were 81.8%, 82.4%, 48.6% and 95.7% respectively. Positive BG results occurred before the abnormal results on computed tomography scan or fungal culture or simultaneously in 72.2% of the cases. **Conclusions** IFI is not rare among pediatric high-risk patients. Circulating BG detection is accurate to a certain extent in the diagnosis of IFI. It is a useful adjunct means for IFI screening in high-risk patients.

[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (11):905-908]

Key words: Invasive fungal infection; (1,3)-β-D-glucan; Early diagnosis; Child

侵袭性真菌感染(invasive fungal infection, IFI)常规检测方法如真菌培养、组织病理学检查费时长、敏感性低,造成临床诊断困难。近年来,新的真菌检测方法如血液真菌细胞壁成分1,3-β-D-葡聚糖抗原(1,3-β-D-glucan, BG)的检测(称为G试验)为IFI早期快速诊断带来了希望^[1];但儿科患者中缺乏应用资料。本研究前瞻性选择儿童真菌感染高危患者进行真菌抗原检测(G试验),并结合常规检测,评

[收稿日期]2009-04-21;[修回日期]2009-07-01
[作者简介]赵醴,女,硕士,副主任医师。主攻方向:儿童重症监护。
[通讯作者]汤静燕,女,主任医师,上海儿童医学中心血液肿瘤科。

价其诊断价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2007年11月至2008年6月在我院ICU、血液肿瘤科住院治疗的患儿:①血液系统恶性肿瘤患者;②造血干细胞/脐带血移植患者;③长期应用皮质类固醇激素或免疫抑制剂患者;④先天性重度免疫缺陷病患者;⑤既往没有免疫抑制基础疾病,但存在IFI高危因素(如机械通气48 h以上、任何留置导管、长时间使用3种或3种以上抗菌药物等)。以上患儿出现持续发热超过4~7 d(口温,肛温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$),经广谱足量抗菌药物治疗无效者入选本研究。

进入研究同时由专人负责资料采集,并登记基础疾病、感染部位、脏器功能、免疫状况、骨髓抑制时限、肠外营养、血制品应用状况及化疗药物、激素、免疫抑制剂、抗菌药物、抗真菌药物应用情况,跟踪影像学检查资料、病理资料及疾病转归。

1.2 检查方法

入组后每周检测空腹静脉血BG水平1~2次,直到患者症状好转,体温正常,或排除真菌感染,或死亡。同时根据临床感染部位留取标本进行细菌、真菌涂片和培养,采样部位包括血液、深部气道分泌物、支气管肺泡灌洗液、胸、腹水等体腔穿刺液、尿液等。选择合适的影像学检查,包括高分辨CT、肝脾肾B超等。有可取材的局部病灶时行活组织病理检查。

1.3 1,3- β -D-葡聚糖检测

采用北京金山科技发展有限公司生产的MB-80微生物快速动态检测系统通过动态浊度法进行定量测定。参照试剂说明书标准范围,G试验阳性定义为血浆中BG含量 $\geq 10\text{ pg/mL}$ 。

1.4 IFI、侵袭性曲霉菌病(IA)的诊断

参照“癌症和造血干细胞移植的免疫缺陷患者机会性侵袭性真菌感染诊断定义:国际共识”^[2]、及“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(草案)”^[3]和“重症患者侵袭性真菌感染诊断和治疗指南(2007)”^[4]关于IFI、IA的定义和分类判断。微生物学标准中不包括真菌抗原检测指标。诊断分3个级别:确诊(proven)、临床诊断(probable)及拟诊(possible)。

1.5 统计学方法

应用统计软件SPSS 15进行统计学描述及检

验,正态分布的计量资料比较采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验。非正态分布的计量资料用中位数和四分位间距表示(M, Q_{75-25}),两组间比较采用独立样本秩和检验(Mann-Whitney U)。所有检验均以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。计算G试验诊断敏感度、特异度等,对比G试验和真菌培养诊断IFI的受试者工作特性(ROC)曲线,了解诊断准确度。

2 结果

2.1 一般资料

总计130例患儿入选研究,其中男89例,女41例,男:女为2.17:1。平均年龄 6.2 ± 4.7 岁(1月至17岁,中位年龄5.9岁)。平均发热天数为 7.1 ± 5.3 d(中位数为6 d)。原发疾病为血液系统恶性肿瘤100例(血液肿瘤组),儿科ICU重症患者30例(重症监护组)。血液肿瘤组包括急性淋巴细胞性白血病36例,急性非淋巴细胞性白血病21例,恶性淋巴瘤和异基因造血干细胞移植/脐带血移植患儿各11例,神经母细胞瘤10例,重型再生障碍性贫血7例,郎格罕组织细胞增生症2例,骨髓增生异常综合征和肾母细胞瘤各1例。所有患儿在此前3周内均接受过细胞毒药物化疗或免疫抑制剂,或长时间激素的应用。粒细胞减少者(血液中性粒细胞低于 $1.5 \times 10^9/\text{L}$)62例,均为血液肿瘤患儿。重症监护组包括长期发热病因未明12例;先天性心脏病术后合并多脏器功能不全9例;先天性心脏病合并严重脓毒症6例;免疫功能低下3例。所有重症患儿均存在真菌感染高危因素,包括接受侵入性操作12例,长时间应用广谱抗菌药物9例,重度营养不良、免疫功能低下、长时间应用激素各3例。

2.2 IFI罹患情况

确诊IFI 2例,均为念珠菌血症。临床诊断20例,包括真菌性肺部感染11例,慢性播散性念珠菌病(肝脾念珠菌病)4例,IA 4例和真菌性尿路感染1例。拟诊7例,排除101例。确诊和临床诊断病例列为IFI组,其中血液肿瘤组9例,重症监护组13例;拟诊和排除病例为非IFI组。两组主要临床资料见表1。可见IFI组住院天数较非IFI组延长($P < 0.05$),不良预后率(死亡或放弃)增加($P < 0.05$)。

2.3 IFI感染部位

22例IFI患儿中,感染部位以呼吸系统最多见,占15例(68.2%),其次为深部内脏器官感染(肝脾感染)4例(18.2%),血流感染2例(9.1%),泌尿系统感染1例(4.5%)。

表1 IFI 组和非 IFI 组临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

	例数	年龄(岁)	男女比	发热持续时间(d)	住院天数(d)	不良预后 [例(%)]
非 IFI 组	108	6.6 ± 4.5	2.38:1	12.8 ± 8.8	24.0 ± 16.5	13(12.0)
IFI 组	22	4.6 ± 5.3	1.44:1	15.0 ± 9.5	34.0 ± 16.0	7(31.8)
t 值	-	1.79	-	-0.85	-2.6	-
χ ² 值	-	-	1.08	-	-	4.08
P 值	-	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

2.4 真菌菌种分布

130 例患儿中真菌培养阳性 22 例,其中 7 例(31.8%)最终考虑真菌定植或标本污染,排除 IFI。合计分离真菌 26 株,IFI 组(22 例)真菌培养阳性 15 例(68.2%),共分离菌株 18 株,白色念珠菌最多见(12 株,66.7%),其余依次为热带念珠菌(2 株,11.1%),酵母菌、烟曲霉、近平滑假丝酵母菌、季也蒙假丝酵母菌各 1 株;其中 8 例(53.3%)同时或先后分离出细菌。

2.5 血浆 BG 水平

IFI 组血浆 BG 范围为 5.55 ~ 6 793 pg/mL,中位值 21.23 pg/mL (Q_{75-25} 98.31 pg/mL);非 IFI 组 BG 范围为 5.12 ~ 2 725 pg/mL,中位值 6.79 pg/mL (Q_{75-25} 3.13 pg/mL)。经 Mann-Whitney U 秩和检验,IFI 组 BG 水平高于非 IFI 组,差异有显著性($Z = -5.07, P < 0.01$)。

2.6 G 试验的敏感性和特异性

以 G 试验阳性确诊和临床诊断病例为真阳性,排除病例为真阴性作四格表,22 例 IFI 患儿 G 试验阳性 18 例,108 例非 IFI 患儿阳性 19 例,分析表明血浆 G 试验诊断 IFI 的敏感度 81.8%,特异度 82.4%,阳性预测值 48.6%,阴性预测值 95.7%,诊断符合率 82.3%。

2.7 血浆 G 试验诊断 IFI 的 ROC 曲线

绘制 ROC 曲线,可得曲线下面积(AUC)为 0.84,95% 置信区间(CI)为(0.76,0.93),见图 1。当诊断界值设定为 10.44 pg/mL 时,敏感度(81.8%)和特异度(82.4%)最高,为最佳临界值。

2.8 G 试验和真菌培养诊断价值对比

以真菌培养阳性诊断 IFI 病例为真阳性,培养阴性排除 IFI 病例为真阴性作四格表,22 例 IFI 患儿真菌培养阳性 15 例,108 例非 IFI 患儿培养阳性 7 例,分析表明真菌培养诊断 IFI 敏感度 68.2%,特异度 93.5%,阳性预测值 68.2%,阴性预测值 93.5%。绘制真菌培养诊断 IFI 的 ROC 曲线,可见该曲线位于 G 试验 ROC 曲线下方,见图 1。

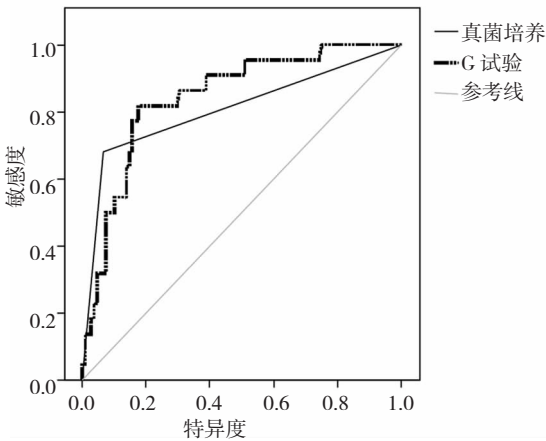


图1 G 试验和真菌培养诊断 IFI 的 ROC 曲线 G 试验 AUC = 0.84,95% CI (0.76,0.93);真菌培养 AUC = 0.81,95% CI (0.69,0.93)

2.9 G 试验早期诊断价值

G 试验阳性的 18 例 IFI 患儿中,13 例(72.2%)阳性结果较气道分泌物培养、影像学等阳性结果提前或同时发生;其中 7 例提前 3 ~ 9 d,6 例同时出现,5 例(27.8%)延迟 5 ~ 6 d。

3 讨论

儿童 IFI 发病逐年增多,已成为日益严重的临床问题^[5]。本研究 130 例患儿中确诊 IFI 2 例,临床诊断 20 例,患病率达 16.9%,与非 IFI 患儿比较,住院时间明显延长,预后差。儿童 IFI 有以下几方面值得重视。首先重叠感染不乏见,本研究真菌培养阳性患儿中 53.3% 同时或先后分离出细菌,既往也有相近的报道^[6],提示应高度警惕真菌二重感染的发生。其次值得注意的是,儿童 IFI 影像学检查往往无特异性,多见炎性渗出,呈多形性改变,在很大程度上限制了明确的临床诊断。因此建立 IFI 实验室诊断依据尤为重要。此外,真菌检出率受多种因素影响,如本研究中真菌培养阳性者中最终考虑定植或标本污染比例高达 31.8%;而血液肿瘤组真菌培养阳性率明显低于重症监护组,考虑与前者抗真菌经验性治疗早期、普遍应用有关,因而临床医生应审慎解释检验结果。

IFI 感染部位以呼吸系统多见(68.2%)。对于血液肿瘤患者还应注意真菌感染少见类型——慢性播散性念珠菌病(chronic disseminate candidiasis, CDC)的发生^[7]。CDC 是慢性侵袭性深部念珠菌感染的一种特殊临床病理类型,发生于白血病强化化疗后,与化疗后并发的念珠菌败血症或肠道念珠菌感

染有关。诊断主要依赖肝脾影像学检查,组织病理学检查是诊断的金标准,但阳性率低。血液真菌培养通常是阴性结果。本研究有 4 例发生 CDC,占血液肿瘤组 IFI 的 44%(4/9),发生率高,应引起重视,病程中注意随访影像学变化。

BG 广泛存在于除接合菌和隐球菌以外的大多数真菌细胞壁中,真菌感染时该葡聚糖成分在体内经吞噬细胞处理后,释放到血液及其他体液(如尿、脑脊液等)中,容易被检测到。BG 检测的原理是 G 因子激活。G 因子是一种马蹄蟹的凝血因子,是 BG 抗原的天然检测物,因而该检测也称为 G 试验。本研究中 IFI 组血浆 BG 水平明显高于非 IFI 组,提示 G 试验用于 IFI 的诊断是可行的。研究结果也提示不同病原体 G 试验均显示较好的阳性检出率,如侵袭性念珠菌病 G 试验阳性率 83.3%,IA 阳性率 75%,4 例 CDC 患儿 G 试验均阳性,总的 IFI 阳性率 81.8%,因此该试验能用于临床常见的多种真菌感染的辅助诊断,尤其对 CDC 的检测,G 试验检测敏感度高,具有很好的临床应用价值。

分析表明 G 试验诊断 IFI 敏感度 81.8%,特异度 82.4%,与文献报道^[1,8]相近。阳性预测值 48.6%,阴性预测值 95.7%,故而可用于高危患者的筛查。G 试验持续阴性提示 IFI 的发生风险低,这对感染病原体的快速诊断有一定指导意义,有利于指导积极的治疗干预。受试者工作特性(ROC)曲线分析法是一项比较全面的评价诊断试验的方法,分析显示 G 试验诊断价值处于中等水平(AUC=0.84)。与真菌培养(AUC=0.81)相比较,G 试验 AUC 略大于后者,综合该试验敏感度高(81.8% vs 68.2%)、标本采集方便、检测迅速等优势,故 G 试验诊断性能较好。根据 ROC 曲线选择 GKT-5M Set 动态真菌检测试剂盒的最佳诊断临界值水平为 10.44 pg/mL,与文献^[9]比较有差别,考虑原因:首先试验方法不同,本试验采用动态浊度法。此外还应考虑治疗对体内真菌负荷量的影响。本研究中 51% 患儿在检测前已开始抗真菌的经验性治疗,这可能造成血浆 BG 水平降低,从而影响最佳临界值水平甚至造成假阴性。因而我们认为,鉴于目前真菌感染的诊疗现状,如在经验性抗真菌治疗前常规

进行并适当降低 G 试验诊断阈值可提高灵敏度,尤其适于高危重症患者,可能使之从早期的治疗干预中获益。

综上所述,儿童高危人群中 IFI 不少见。念珠菌机会性感染占主导地位。真菌抗原检测 G 试验具有中等准确性,有较理想的敏感性和特异性,且具有早期辅助诊断价值。连续监测尤其适用于高危患者的筛查,指导合理的治疗干预。G 试验阳性不能作为诊断的唯一依据,联合多种真菌检测技术可提高诊断正确率。

[参 考 文 献]

[1] Obayashi T, Negishi K, Suzuki T, Funata N. Reappraisal of the serum (1→3)-beta-D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections—a study based on autopsy cases from 6 years [J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(12):1864-1870.

[2] Ascoglu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus [J]. Clin Infect Dis, 2002, 34(1):7-14.

[3] 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(草案)[J]. 中华内科杂志,2005, 44(7):554-556.

[4] 中华医学会重症医学分会. 重症患者侵袭性真菌感染诊断和治疗指南(2007)[J]. 中华内科杂志, 2007, 46(11):960-966.

[5] Rosen GP, Nielsen K, Glenn S, Abelson J, Deville J, Moore TB. Invasive fungal infections in pediatric oncology patients: 11-year experience at a single institution[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2005, 27(3):135-140.

[6] 叶启慈. 35 例小儿真菌性肺炎临床和病理分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2000, 2(4):289-290.

[7] 仲卿雯,周莺,杜隽,李玉华. 儿童恶性血液病化疗后继发肝、脾霉菌感染超声检查价值[J]. 临床儿科杂志, 2006, 24(7):556-558.

[8] Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vazquez J, Papas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1→3) beta-D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans[J]. Clin Infect Dis, 2005, 41(5):654-659.

[9] Smith PB, Benjamin DK Jr, Alexander BD, Johnson MD, Finkelman MA, Steinbach WJ. Quantification of 1, 3-β-D-Glucan levels in children: preliminary data for diagnostic use of the β-Glucan assay in a pediatric setting[J]. Clin Vaccine Immunol, 2007, 14(7):924-925.

(本文编辑:黄 榕)