

多种检测指标对血液恶性肿瘤合并深部真菌感染患者的诊断价值

李睿 任然 熊大迁

基金项目: 成都中医药大学附属医院基金(2014-D-YY-15)

作者单位: 610075 四川成都, 成都中医药大学附属医院检验科

通讯作者: 熊大迁, Email: 705006714@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2017.02.004

【摘要】 目的 评价血浆 1, 3- β -D 葡聚糖、降钙素原(PCT)、超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)单独及联合检测在早期诊断血液恶性肿瘤患者深部真菌病(IFD)中的价值。**方法** 选择成都中医药大学附属医院血液科 2014 年 10 月年至 2016 年 4 月入院的非粒缺的血液恶性肿瘤确诊患者 160 例, 其中合并侵袭性真菌感染患者 80 例为 IFD 组, 细菌感染 80 例为对照 1 组, 同时 50 例健康体检者为对照 2 组。检测血浆 1, 3- β -D- 葡聚糖、PCT、hs-CRP 诊断 IFD 时的受试者工作特征曲线(ROC 曲线)及曲线下面积(AUC), 敏感性、特异性, 对 3 项指标进行相关性分析, 探讨这几种方法联合诊断的价值。**结果** IFD 组 1, 3- β -D- 葡聚糖均值为 346.54 ng/L, 显著高于细菌感染组 47.27 ng/L ($P < 0.05$) 和健康对照组 43.21 ng/L ($P < 0.05$); IFD 组 PCT 均值为 1.18 μ g/L, 显著低于细菌感染组 16.3 μ g/L ($P < 0.05$), 高于健康对照组 0.036 μ g/L ($P < 0.05$); IFD 组 hs-CRP 均值为 59.6 mg/L, 细菌感染组 66.8 mg/L, 两者水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 均显著高于健康对照组 3.5 mg/L ($P < 0.05$)。G 试验单独诊断 IFD 的 AUC、敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别是 0.91、90%、88.75%、85.71%、90.47%, 针对血液恶性肿瘤 IFD 患者, 最佳诊断阈值为 ≥ 70 ng/L 时, 诊断灵敏度为 90%, 特异性为 88.75%; PCT 单独诊断 IFD 的曲线下面积是 0.82, 针对血液恶性肿瘤 IFD 患者, 最佳诊断阈值为 1.65 μ g/mL, 此时诊断灵敏度为 81%, 特异性为 75.4%; hs-CRP 单独诊断 IFD 的 AUC 是 0.94, 与细菌感染组 AUC 为 0.92 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。1-3- β -D- 葡聚糖与 PCT 和 hs-CRP 的相关系数分别为 0.764、0.334 ($P = 0.003$ 、 $P = 0.048$), 血清联合组(1, 3- β -D 葡聚糖 + PCT)灵敏度、特异性、阳性预测值分别为 93%、90.2%、88.9%, 均明显高于单一检测组。**结论** 葡聚糖检测是一种快速、准确、简便的诊断 IFD 的方法, 对于 IFD 的早期诊断有突出价值, PCT 作为深部真菌感染的检测指标, 可行性优于 hs-CRP; 葡聚糖联合 PCT 检测侵袭性真菌感染的诊断价值优于单一的葡聚糖检测。

【关键词】 血液肿瘤病; 侵袭性真菌感染; 1-3- β -D 葡聚糖; 降钙素原; 超敏 C 反应蛋白

Diagnostic value of multiple detection indicators in patients with hematological malignancies complicated with deep fungal infection

Li Rui, Ren Ran, Xiong Daqian. Department of Clinical Laboratory, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine Hospital, Chengdu 610075, China

Corresponding author: Xiong Daqian, Email: 705006714@qq.com

【Abstract】 Objective To evaluate the value of 1-3- β -D glucan, procalcitonin (PCT), or high-sensitivity c-reactive protein (hs-CRP) individually or joint detection in the early diagnosis of hematology-oncology with deep fungal infection (IFD). **Methods** The patients with hematologic malignancies, who admitted in hematology department from October 2014 to April 2016 were screened and enrolled. 160 patients were diagnosed with hematology-oncology, 80 patients with invasive fungal infection were set as assay group, the other 80 patients with bacterial infection as control group 1, and 50 healthy people were set as control group 2. The area under ROC curve, sensitivity and specificity of 1-3- β -D glucan, PCT, hs-CRP for IFD diagnosis was analyzed by linear correlation to explore the value of the joint diagnosis. **Results** 1-3- β -D glucan mean value of IFD group was 346.54 ng/L, significantly higher than 47.27 ng/L of the bacterial infection group ($P < 0.05$) and 43.21 ng/L of healthy control group ($P < 0.05$); PCT mean value of IFD group was 1.18 μ g/L, significantly lower than the bacterial infection group 16.3 μ g/L ($P < 0.05$) and higher than healthy control group 0.036 μ g/L ($P < 0.05$); hs-CRP mean value of IFD group was 59.6 mg/L, there was no statistically significant as compared to the bacterial infection group value of 66.8 mg/L

($P > 0.05$) but both were significantly higher than 3.5 mg/L of healthy control group ($P < 0.05$); the IFD diagnostic results of the determining G, the area under the curve was 0.91, sensitivity was 90%, specificity was 88.75%, positive predictive value was 85.71% and negative predictive value was 90.47%, the best diagnostic threshold value should be equal or greater than 70 ng/L for the patients with hematologic malignancies, while the sensitivity was 90%, and specificity was 88.75%; the IFD diagnostic results of PCT experiment, the area under the curve was 0.82, the best diagnostic threshold value should be equal or greater than 1.65 $\mu\text{g/L}$ for the patients with hematologic malignancies, while the sensitivity was 81%, specificity was 75.4%; the IFD diagnostic results of hs-CRP experiment, the area under the curve was 0.94, there was no statistical significance as compared to the bacterial infection group value of 0.92 ($P > 0.05$); the correlation coefficients for 1-3- β -D glucan, PCT, hs-CRP were 0.764, 0.334 respectively ($P = 0.003$, $P = 0.048$), the joint diagnostic (1-3- β -D glucan + PCT) was significantly higher than separate diagnostic of sensitivity 93%, specificity 90.2% and positive predictive value 88.9%. **Conclusions** Glucan detection is a rapid, accurate and convenient method of diagnosis IFD, and it has outstanding value for the early diagnosis of IFD. PCT as an indicator of deep fungus infection detection is better than that of the hs-CRP, and glucan joint PCT detections for the diagnosis of invasive fungal infection are better than the single glucan detection method.

【Key words】 Hematology-oncology; Invasive fungal infection; 1-3- β -D glucan; Procalcitonin; High-sensitivity C-reactive protein

目前深部真菌感染 (IFD) 的发病率和病死率在逐年升高^[1], 但由于缺乏对侵袭性真菌感染早期诊断的实验室感染标志物, 导致对这类患者的诊断缺乏敏感性和特异性。作为金标准的组织活检由于取材困难, 很难大规模普及; 基因检测聚合酶链反应 (PCR) 技术虽然具有很高的敏感性和特异性, 但很难在基层实验室甚至大型综合医院广泛开展。目前实验室对于真菌感染的诊断仍以传统镜检和培养为主, 但敏感性、特异性和时效性均不高, 因此, 越来越多的感染性指标被应用于临床疾病的诊疗, 如降钙素原 (PCT)、超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 等都是目前被认为在炎症反应过程中很重要的炎症因子, 两者对于细菌感染的诊断都有很重要的价值; 1,3- β -D 葡聚糖则被应用于 IFD 的快速诊断中^[2]。本研究通过同时检测 1,3- β -D 葡聚糖、PCT、hs-CRP 的血清学水平, 了解其单独应用以及与 1,3- β -D 葡聚糖联合应用对血液恶性肿瘤合并 IFD 的诊断价值, 以期临床早期诊断和治疗提供有效的实验室诊断指标。

1 材料与方法

1.1 标本来源 在 2014 年 10 月至 2016 年 4 月我院血液科收治的 160 例血液肿瘤患者中进行筛选分组。以中国 IFD 工作组 2013 年制定的《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》(第四次修订版)^[3] 为对照标准, 将其中 80 例诊断为血液恶性肿瘤合并 IFD 患者为研究组, 80 例血液恶性肿瘤合并细菌感染患者为对照 1 组。另选 50 例在我院体检中心进行健康体检者作为对照 2 组。

1.2 检测方法 采集患者静脉血 3 管, 分别进行 1,3- β -D 葡聚糖、PCT、hs-CRP 的测定。1,3- β -D 葡聚糖采用浊度法, 用北京金山川公司 MB-80 动态检测系统检测; PCT 采用电化学发光法, 使用瑞士 Roche 公司的 COBAS e411 全自动电化学发光免疫分析仪及其配套试剂检测; hs-CRP 采用速率散射比浊法, 使用美国 Beckman 公司的 Immage 800 分析仪及其配套试剂。所有标本的处理和仪器操作均按照仪器试剂说明书进行。

1.3 结果判读 1,3- β -D 葡聚糖以试剂盒推荐的诊断值 (60 ng/L) 判定 G 试验阳性; PCT 以试剂盒推荐的参考值大于 0.05 $\mu\text{g/L}$ 为阳性; hs-CRP 以试剂盒推荐的参考值大于 8 mg/L 为阳性。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism 5 软件进行统计分析, 组间数据比较采用配对 t 检验; 率的比较采用 χ^2 检验; 双变量相关关系采用 Spearman 相关分析。通过受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 分析判定这 3 种方法对 IFD 的诊断价值, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单独 G 实验检测 对于血液恶性肿瘤患者, IFD 诊断的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.91, 阳性预测值为 86.71%, 阴性预测值为 90.47%。取 ≥ 70 ng/L 为诊断阈值时, 敏感度 90% [95% 可信区间 (95%CI): 81.24% ~ 95.58%]、特异度 88.75% (95%CI: 79.72% ~ 94.72%)。而对照 1 组 AUC 为 0.58, 研究组与对照 1 组和对照 2 组比较都显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。G 试验诊断血液恶性肿瘤

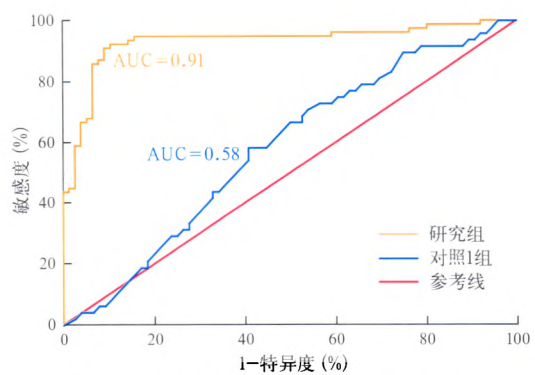


图 1 G 试验诊断血液恶性肿瘤 IFD 的 ROC 曲线

IFD 的 ROC 曲线见图 1。

2.2 单独 PCT 检测结果 PCT 对于血液恶性肿瘤患者 IFD 诊断的 AUC 为 0.82,均值为 (1.18 ± 0.52) ng/mL。取 1.65 ng/mL 为诊断阈值时,敏感度 81%、特异度 75.4%;而对照 1 组 AUC 为 0.94,均值为 (16.3 ± 7.52) ng/mL。研究组与对照 1 组和对照 2 组比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。PCT 诊断血液恶性肿瘤 IFD 的 ROC 曲线见图 2。

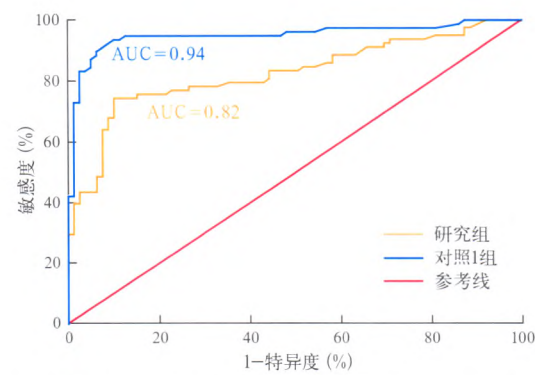


图 2 PCT 诊断血液恶性肿瘤 IFD 的 ROC 曲线

2.3 单独 hs-CRP 检测结果 对于血液恶性肿瘤患者 IFD 诊断的 AUC 为 0.94,较对照 2 组显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与对照 1 组 AUC 为 0.92 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。hs-CRP 诊断血液恶性肿瘤 IFD 的 ROC 曲线见图 3。

2.4 1,3-β-D 葡聚糖、PCT、hs-CRP 联合检测结果 研究组血清 1,3-β-D 葡聚糖明显高于对照 1 组和对照 2 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);研究组血清 PCT 明显高于对照 2 组,低于对照 1 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);研究组血清 hs-CRP 明显高于对照 2 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),和对照 1 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

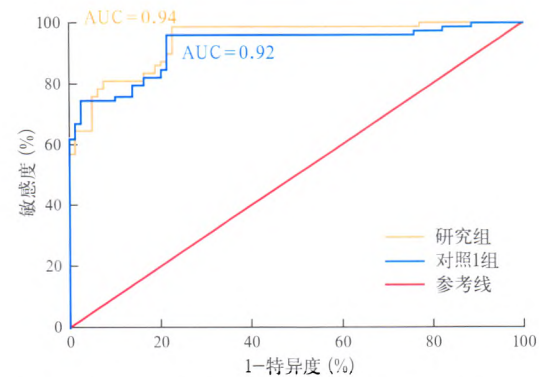


图 3 hs-CRP 诊断血液恶性肿瘤 IFD 的 ROC 曲线

表 1 血清 1,3-β-D 葡聚糖、PCT、hs-CRP 联合检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 (例)	1,3-β-D 葡聚糖 (ng/L)	PCT (μg/L)	hs-CRP (mg/L)
研究组	80	346.54 ± 98.20	1.18 ± 0.52	59.58 ± 29.13
对照 1 组	80	47.27 ± 20.33	16.3 ± 7.52	66.80 ± 31.26
对照 2 组	50	43.21 ± 17.56	0.036 ± 0.017	3.51 ± 1.66

2.5 对 1,3-β-D 葡聚糖与 PCT 和 hs-CRP 的相关性分析 血液恶性肿瘤 IFD 患者的 1,3-β-D 葡聚糖与 PCT 存在正相关关系($r = 0.764, P = 0.003$);与 hs-CRP 也存在正相关关系($r = 0.334, P = 0.048$)。

2.6 1,3-β-D 葡聚糖 + PCT 联合组与 1,3-β-D 葡聚糖单一组或 PCT 单一组检测结果比较 联合组(1,3-β-D 葡聚糖 + PCT)的敏感度、特异度、阳性预测值均明显高于 1,3-β-D 葡聚糖或 PCT 单一组($\chi^2 = 4.97, \chi^2 = 5.13$,均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 1,3-β-D 葡聚糖联合 PCT 组与 1,3-β-D 葡聚糖或 PCT 单一组检测结果比较

测定项目	灵敏度(%)	特异性(%)	阳性预测值(%)
1,3-β-D 葡聚糖	90.0	88.7	86.7
PCT	81.0	75.4	70.5
1,3-β-D 葡聚糖 + PCT	93.0	90.2	88.9

3 讨论

近年来随着广谱抗菌药物的广泛使用、器官移植、化疗药物、侵入性操作的不断增加,深部真菌感染的发病率呈逐年上升趋势。由于其临床症状不明显,病原体检查时间长,取材困难等诸多原因,同时侵袭性真菌感染又多由重度感染继发而来,早期与其他感染性疾病的鉴别诊断对 IFD 患者的治疗预后就有着尤为重要的意义。

1,3-β-D 葡聚糖是真菌细胞壁的主要成分,普遍存在于几乎所有真菌中。真菌进入血液或深部组织,经吞噬细胞吞噬和消化后,1,3-β-D 葡聚糖可从真菌细胞壁释放,从而血液中的含量升高,检

测人体体液中真菌细胞壁成分 1,3- β -D-葡聚糖 (Glucan) 的试验,称 G 试验。既往研究表明,检测血液中 1,3- β -D-葡聚糖含量对于侵袭性真菌感染早期的辅助诊断确具有重要意义,但 G 试验的敏感性和特异性的不同与实验室设定的阈值有关,不同实验室、不同基础疾病对于侵袭性真菌感染诊断的判定折点、敏感性、特异性不同,阈值的设定仍有一定争议^[4-7]。本组患者用 MB-80 微生物快速动态检测系统,通过对 ROC 曲线的分析发现,以 70 ng/L 为阈值时, AUC 最大,敏感性为 90%,特异性为 88.75%,因此适当提高诊断阈值对于诊断血液恶性肿瘤 IFD 有更高的诊断价值^[8]。由于 G 试验较高的阴性预测值,故多次 G 试验阴性结果基本可以排除 IFD 的可能。但因为其干扰因素较多,存在假阳性和假阴性的可能:如输注静脉制剂(白蛋白^[9]、免疫球蛋白、凝血因子),使用高浓度某些抗菌药物(磺胺类、阿莫西林/克拉维酸、厄他培南、哌拉西林/他唑巴坦等),多发性骨髓瘤等因素都会导致假阳性;而隐球菌和结合菌感染,严重粒细胞缺乏患者,标本放置时间过长等因素又会导致假阴性结果。故而我们考虑能不能通过多项感染指标联合应用来提高诊断的敏感性和特异性呢。

血清 CRP 主要由肝脏合成,是一种重要的急性时相反应蛋白,半衰期约为 19 h。正常人血清中 C 反应蛋白含量极低,当机体受到损伤、感染、炎症等破坏时,CRP 可在短时间内急速升高。hs-CRP 是运用超敏感检测技术检测 CRP,具有更高敏感度和准确性。hs-CRP 被广泛应用到临床各种疾病的诊断中,特别是感染相关性疾病,它对疾病早期的检测和诊断有着重要价值,但易受消化系统、心脑血管及内分泌系统等多系统疾病因素的影响,对深部真菌感染诊断的敏感性和特异性均较低^[10]。本研究再次证实 hs-CRP 与 1,3- β -D-葡聚糖之间的相关关系($P=0.048$),但相关系数较低($r=0.334$),主要原因是因为其不能很好地将细菌感染和真菌感染区分开来,虽然能预测全身感染性疾病,但对诊断深部真菌感染的特异性不高,故不建议用于深部真菌感染的协同诊断。

PCT 是降钙素的前体,是一种没有激素活性的糖蛋白^[11],具有操作简单、高敏感性、高特异性等特点。它作为一种新的与感染相关的炎症反应标志物在临床上广泛应用,在细菌感染时敏感度较高。Brodská 等^[13]对血培养阳性患者的分析显示:革兰

阴性(G^-)菌 PCT 水平明显高于革兰阳性(G^+)菌和真菌感染患者。对于辅助诊断深部真菌感染,施保华^[4]、武夏^[12]等人有一定研究,但也未与细菌感染加以鉴别。本研究发现,较低的 PCT 水平(0.05~2 $\mu\text{g/L}$)可以作为深部真菌感染的一个辅助诊断指标,一旦连续监测某一患者的 PCT 有持续低水平升高,同时普通抗菌药物治疗无效,并排除手术或外伤的干扰,医生可以转变思路,考虑是否可能是真菌感染。深部真菌感染导致 PCT 升高的原因可能是由于患者血清中升高的 1,3- β -D-葡聚糖,作为一种炎症因子,刺激机体器官细胞分泌 PCT,间接导致了 PCT 的升高。同时本研究表明, PCT 与 1,3- β -D-葡聚糖的相关系数达 $r=0.764$,鉴于 PCT 与 1,3- β -D-葡聚糖的高度相关性,必要时联合测定 1,3- β -D-葡聚糖和 PCT,可以为诊断深部真菌感染提供更多的实验室依据。

参考文献

- 1 Canton E, Garcia-Rodriguez J, Martin-Mazuelos E, et al. Microbiological procedures for the diagnosis, management, and study of in-vasive fungal infection [J]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2013, 14(2): 56-58.
- 2 魏雁虹,杨广民,谢风. (1→3)- β -D-葡聚糖检测对深部真菌感染早期诊断的意义[J]. *实用检验医师杂志*, 2011, 3(4): 220-222.
- 3 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(第四次修订版)[J]. *中华内科杂志*, 2013, 52(8): 704-709.
- 4 施保华,汪海霞,范泽旭,等. 不同检测指标对临床深部真菌感染诊断的评价[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(19): 2540-2541.
- 5 陈岩,王淑惠,黄宝青,等. 血浆 1,3- β -D-葡聚糖检测对恶性血液病患者侵袭性真菌感染的诊断价值[J]. *检验医学*, 2013, 28(1): 7-10.
- 6 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): 3445-3447.
- 7 黄鹏莺姿,邓丽娟,付翔,等. 血浆 (1-3)- β -D-葡聚糖在新生儿侵袭性真菌感染中的诊断价值[J]. *华夏医学*, 2016, 29(1): 42-44.
- 8 李睿,任然,熊大迁. 真菌葡聚糖检测对血液恶性肿瘤患者早期深部真菌感染的诊断效能[J]. *实用检验医师杂志*, 2016, 8(3): 142-145.
- 9 韩世权,苏晓蕾,赵睿,等. 白蛋白对血浆 (1,3)- β -D-葡聚糖检测诊断侵袭性真菌感染的影响[J]. *中华危重病急救医学*, 2015, (8): 672-676.
- 10 张晓艳,董方,赵顺英,等. 血浆 1,3- β -D-葡聚糖检测对儿童侵袭性真菌感染诊断价值[J]. *中国循证儿科杂志*, 2012, 7(3): 192-195.
- 11 魏万昆,万程彬,张毅. 不同真菌感染对降钙素原的差异与疾病预后的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 25(9): 1937-1939.
- 12 武夏. 血清降钙素原测定对合理应用抗生素治疗 AECOPD 的作用[J]. *临床肺科杂志*, 2012, 17(4): 654-655.
- 13 Brodská H, Malíčková K, Adámková V, et al. Significantly higher procalcitonin levels could differentiate Gram-negative sepsis from Gram-positive and fungal sepsis [J]. *Clin Exp Med*, 2013, 13(3): 165-170.

(收稿日期: 2017-05-13)

(本文编辑: 李银平)