

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.32.029

## GM 抗原检测对血液病患者侵袭性曲霉病的诊断价值

刘亚迪 朱 骏 杨一宁 卫 菊 魏道林 高彦荣 万理萍 王 椿<sup>△</sup>

(上海交通大学附属上海市第一人民医院 上海 200080)

**摘要 目的:**探讨血清半乳甘露聚糖(GM)抗原检测对于血液病患者侵袭性曲霉病(invasive aspergillosis, IA)的早期诊断和疗效评价的临床意义。**方法:**选取 137 例具有侵袭性真菌病 IFD 高危因素患者的 468 份血清标本,进行 GM 试验,检测抗真菌治疗前后 GM 抗原水平的变化,同时收集患者的临床资料,进行统计学分析,并评价 GM 检测对于血液病患者 IA 的诊断价值。**结果:**以 GM 检测单次  $I \geq 1.0$  作为阳性界值时,本试验的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为 90.91%, 95.65% 95.24% 和 91.67%,与试剂盒提供的血清 GM 试验结果的单次  $I \geq 1.5$  的阳性界值相比敏感性明显提高,而特异性无明显降低,因此能够有效区分临床诊断和拟诊两个 IA 级别。在其他实验室检测和影像学检查的基础上加入 GM 试验后,IA 临床诊断组的人数明显增加。诊断级别与 I 值总体均数的分布具有相关性,回顾性确诊 IA 组、回顾性可疑 IA 组、回顾性排除 IA 组的 I 值呈现明显的由高到低的群落分布,且三个诊断级别的 I 值分布范围的差异有统计学意义。根据阳性界值标准  $I \geq 1.0$ , GM 试验阳性早于痰培养阳性平均  $7.73 \pm 8.71$  d,也早于 CT 影像学证据平均  $6.89 \pm 8.02$  d。基于 GM 值阳性时的抢先抗曲霉治疗组的有效率明显提高( $P=0.039$ )。**结论:**血清 GM 抗原检测是早期诊断 IA 的一种有效方法,将单次  $I \geq 1.0$  作为阳性界值具有较好的敏感性和特异性,在阳性检出率和阳性检出时间方面较主要影像学表现和微生物学证据具有一定优势。在高危血液病伴粒细胞缺乏患者中根据 GM 试验阳性进行抢先抗曲霉治疗,可提高治疗有效率,监测血清 GM 浓度的动态变化具有评价疗效的重要价值。该研究成果对临床侵袭性曲霉病的诊断和治疗具有一定指导意义。

**关键词:** 半乳甘露聚糖; 血液病; 侵袭性真菌病; 侵袭性曲霉病

中图分类号: Q-93-33 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2014)32-6315-06

## Diagnostic Value of GM Test of Invasive Aspergillosis in Patients with Hematologic Disease

LIU Ya-di, ZHU Jun, YANG Yi-ning, WEI Ju, WEI Dao-lin, GAO Yan-rong, WAN Li-ping, WANG Chun<sup>△</sup>  
(Shanghai First People's Hospital affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200080, China)

**ABSTRACT Objective:** Study of the clinical significance of early diagnosis and therapeutic effect evaluation with detection of serum galactomannan (GM) antigen for hematologic disease patients with invasive aspergillosis (invasive aspergillosis, IA). **Methods:** 137 cases of patients with IFD disease risk factors of invasive fungal and with 468 serum samples of GM test were chosen to detect the change of GM antigen levels after antifungal treatment, to collect the clinical data and the statistical analysis of the patients, and to evaluate the diagnostic value of GM test for invasive aspergillosis in patients with hematologic disease. **Results:** We used the detection of GM single  $I \geq 1$  as a positive value, and sensitivity, specificity, positive predictive value and the negative predictive value was 90.91%, 95.65, 95.24% and 91.67% respectively. Compared with the serum GM test results provided with the kit of single  $I \geq 1.5$  positive threshold sensitivity increased significantly with no significant decrease, but the specificity. Therefore, it could effectively distinguish between clinical diagnosis and two suspected IA levels. The GM test is added to the basic examination in other laboratory tests and imaging on clinical diagnosis. The number of IA group increased significantly. Diagnostic level and I value has a correlation between the distribution of population mean. The I value is distributed obviously from high to low level of the community with retrospective diagnosis of IA group, retrospective of suspected IA patients and retrospectively excluded IA group. The I values distribution range had significant differences between the three diagnostic levels. According to the positive critical value of standard  $I \geq 1$ , GM test of positive appeared earlier than in sputum culture of positive for an average of  $7.73 \pm 8.71$ d and also earlier than in CT imaging evidence for an average of  $6.89 \pm 8.02$ d. The value of GM positive when the preemptive antifungal therapy group improved efficiency based on ( $P=0.039$ ). **Conclusion:** The detection of serum GM antigen is an effective method for an earlier diagnosis of IA. When we use the single  $I \geq 1$  as positive threshold, it has better sensitivity and specificity. In the positive rate and positive time GM test has some advantages than the main radiological and microbiological evidence. According to GM test positive for preemptive antifungal therapy, it can improve the treatment efficiency in patients with high-risk hematologic disease and agranulocytosis. Important value of dynamic monitoring the changes of serum concentration of GM has evaluated the efficacy of. It has certain guiding significance in diagnosis and treatment of the results of clinical invasive aspergillosis.

**Key word:** Galactomannan; Hematologic malignancies; Invasive fungal diseases; Invasive aspergillus infection

**Chinese Library Classification:** Q-93-33 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2014)32-6315-06

作者简介:刘亚迪(1987-),女,硕士,住院医师,研究方向:恶性血液病的治疗对策,电话:15921063732, E-mail: yadi.liu.sh@gmail.com

△通讯作者:王椿, E-mail: wangchun2@medmail.com

(收稿日期:2013-11-15 接受日期:2013-12-13)

### 前言

侵袭性真菌病(IFD)既往称侵袭性真菌感染(IFI),是恶性血液病的严重并发症。近年来随着广谱抗生素、糖皮质激素、免疫抑制剂及抗肿瘤化疗药物的广泛应用以及器官移植的广泛开展,侵袭性真菌病的发病率和病死率逐年上升。主要致病菌包括念珠菌、曲霉、隐球菌、放线菌等,近年来曲霉感染超过念珠菌,侵袭性曲霉病(IA)的发病率逐年上升,其中烟曲霉感染最多,其次为黄曲霉<sup>[1]</sup>。真菌培养和组织活检是 IFD 诊断的金标准,然而传统真菌诊断方法由于所需时间长,敏感度低以及有时因患者的病情而难以获得组织标本,无法满足临床诊断的需要。真菌感染的非培养诊断方法是当前研究的热点。其中曲霉半乳甘露聚糖抗原测定(GM 试验)在临床中的应用近年来受到重视。半乳甘露聚糖(galactomannan, GM)是一种曲霉菌的多糖类细胞壁成分,当曲霉菌丝在组织生长时可从细胞壁释放入血<sup>[2]</sup>,本研究应用双夹心酶联免疫吸附法(ELISA 法)检测 GM 抗原,评价其在 IA 诊治中的价值。报告如下。

### 1 资料与方法

#### 1.1 临床资料

选取 2010—2011 年上海市第一人民医院血液科住院治疗的真菌感染高危患者 137 例,入选标准符合 2008 年欧洲癌症治疗组织及真菌病研究组(EORTC/MSG)IFD 诊断标准<sup>[3]</sup>的宿主因素。其中男 83 例,女 54 例,年龄 7-87 岁,平均年龄 41.1±17.14 岁,共 468 份血清标本。每位患者平均送检标本数为 3.4±1.1,治疗前 366 份,治疗后 102 份。其中淋巴瘤(NHL/HL) 64 例,急性髓系白血病(AML) 33 例,急性淋巴细胞白血病(ALL) 14 例,慢性髓系白血病(CML) 11 例,再生障碍性贫血(AA) 8 例,骨髓增生异常综合征(MDS) 6 例,多发性骨髓瘤(MM) 1 例。接受过造血干细胞移植的患者 75 例,其中异基因造血干细胞移植患者 34 例,自体造血干细胞移植患者 41 例。

#### 1.2 诊断标准

依据 2008 年欧洲癌症治疗组织及真菌病研究组(EORTC/MSG)IFD 诊断标准<sup>[3]</sup>,将 137 例研究对象分为确诊 IFD 组,临床诊断 IFD 组,拟诊 IFD 组,及非真菌感染组。在回顾性

诊断标准中,根据患者的治疗效果及临床症状及检查结果等证据<sup>[4]</sup>,将研究对象分为回顾性确诊 IA 组,回顾性可疑 IA 组,和回顾性排除 IA 组。其具体标准为,回顾性确诊 IA:患者有真菌感染的危险因素和临床表现,伴有肺部 CT 晕轮征、空气新月征等表现,且痰培养未生长致病菌或真菌。氟康唑治疗无效,而伊曲康唑、伏立康唑、卡泊芬净或两性霉素 B 治疗有效;回顾性排除 IA:可确诊为非真菌感染,或者抗真菌治疗无效而换用抗生素治疗有效,不符合微生物诊断标准或痰等标本中培养出致病性细菌者;介于两者之间的为回顾性可疑 IA。

#### 1.3 疗效判断标准

按照血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则(第三次修订)<sup>[4]</sup>,抗真菌治疗的总体评判标准分为有效和无效。有效包括完全缓解和部分缓解两个级别,无效包括稳定,疾病进展和死亡三个级别。

#### 1.4 方法

每周 2 次对入组者进行空腹血标本采集,每次采集 3ml,并在 24 小时内离心分离出血清,保持在 -20℃ 的冰箱中,分批进行检测。血清 GM 值的测定是采用 Plateliar-Aspergillus 试剂盒(美国 Bio-Rad 公司产品),患者血清的 GM 值(I)=被检血清 A 值/标准血清 A 值。

#### 1.5 统计学方法

所有数据均采用均数±标准差表示,组间率的比较采用卡方检验,P<0.05 为差异有统计学意义,采用 SPSS15.0 软件包进行统计学处理。

### 2 结果

#### 2.1 GM 测定界值的确定

测定 137 例真菌感染高危患者的 468 份血清 GM 值,I 值均数为 0.83±0.78,范围为 0.12-4.76,根据所有患者的临床资料和治疗效果,按照回顾性诊断标准,将所有 137 例患者分为回顾性确诊 IA 44 例,回顾性可疑 IA 47 例,回顾性排除 IA 46 例。并以回顾性确诊 IA 为阳性病例,回顾性排除 IA 为阴性病例,按照单次 I 值分别大于等于 1.5,1.0,0.8,0.5 为阳性标准,计算不同阳性界值下 GM 试验的敏感度、特异度和预测值。如表 1 所示。

表 1 不同 GM 测定界值下的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值

Table 1 Determination of different GM's under bounds of sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value

Positive criteria	sensitivity(%)	specificity(%)	PPV(%)	NPV(%)
AI≥ 0.5	100 (44/44)	32.61 (15/46)	58.67 (44/44+31)	100 (15/0+15)
AI≥ 0.8	95.45 (42/44)	69.57 (32/46)	75 (42/42+14)	94.12 (32/2+32)
AI≥ 1.0	90.91 (40/44)	95.65 (44/46)	95.24 (40/40+2)	91.67 (44/4+44)
AI≥ 1.5	63.63 (28/44)	97.83 (45/46)	96.55 (28/28+1)	73.77 (45/16+45)

假设阳性标准可取无数多个界值点,把各数据点描绘于(1-特异度)为横坐标、敏感度为纵坐标的直角坐标系中,绘制 ROC 曲线如图 1 所示,黑点代表分别取 1.5,1.0,0.8,0.5 四界值时的敏感度和特异度。

当 GM 阳性界值定为 0.5 时,GM 实验有较高的敏感性,且敏感性对于 IA 早期预防十分重要,鉴于本实验主要讨论

GM 对血液病患者 IA 的早期诊断价值,应采用敏感性较高的阳性标准。但结合特异性来看,选择 1.0 的阳性界值时,特异性明显提高,而敏感性无明显下降(见表 1)。ROC 曲线下面积 AUC 为 0.952,≥ 0.9,该 GM 试验的诊断价值较高。作为诊断界值的点,我们希望敏感度与特异度均接近“1”,所以距 ROC 曲线图中左上角最近的点,也就是灵敏度+特异度取得最大值

时的点,就是我们要找的界值点,故取 1.0 为诊断界值(见图1)。

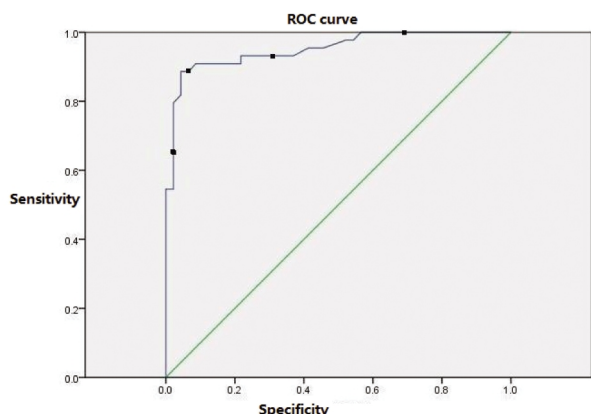


图1 GM 实验诊断血液病患者侵袭性曲霉菌感染的 ROC 曲线  
Fig. 1 GM laboratory diagnosis of invasive aspergillosis in patients with hematological disease by ROC curve

### 2.2 加入 GM 试验后诊断级别的变化

参照 EORTC 以及根据我国血液病 / 恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则, 不考虑 GM 试验的前提下, 分析 137 例考虑诊断为 IA 的具有 IFD 宿主因素的患者。总入组者 137 例中, 确诊 IFD 组 0 例, 临床诊断 IFD 组 36 例(其中临床诊断 IA 组 11 例, 此 11 例患者均为痰培养曲霉菌阳性, 痰培养假丝酵母菌阳性 11 例, G 试验阳性 14 例), 拟诊 IFD 组 63 例(其中临床标准中符合一项主要标准的有 23 例, 分别为出现肺部影像学特征性表现如光晕征、新月形空气征、实变区域内出现空腔的 13 例, 影像学检查提示鼻窦部位侵袭性感染 5 例, 影像学检查提示中枢神经系统感染 5 例; 临床标准中符合 2 项次要标准的有 54 例, 分别为下呼吸道感染 46 例, 鼻及鼻窦感染 6 例, 中枢感染 2 例)。参照上述界值(单次  $I \geq 1.0$ )加入 GM 试验后, 临床诊断 IA 增加至 62 例, 拟诊病例为 24 例。

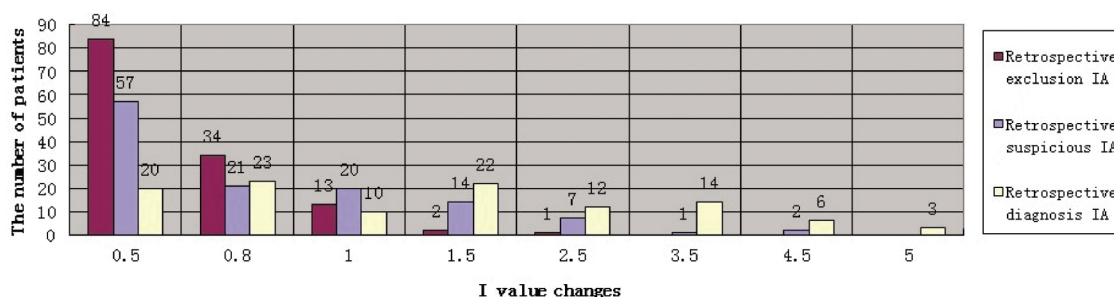


图2 血清 GM 分布水平

Fig. 2 The distribution level of serum GM

137 例患者中, GM(+) 共有 63 例, 总阳性率 45.99%。在 IA 回顾性诊断的各組患者中, GM 阳性率呈现明显的由高到低的群落分布, 回顾性确诊 IA 组阳性率最高(90.91%, 40/44)。随诊断级别降低, 各組阳性率逐渐下降, 回顾性可疑 IA 组(44.68%, 21/47), 回顾性排除 IA 组(4.35%, 2/46)。GM 结果与临床分层之间具有一定的一致性, 且回顾性确诊 IA 组和可疑组的 I 值分布范围的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.4 GM 对 IA 早期诊断的作用

将 GM 试验与主要影像学表现及直接微生物学证据的阳

表 2 各组真菌感染患者的 GM 测定结果及诊断

Table 2 Groups of GM test results and diagnosis of fungal infections in patients with

Group	Determination before GM diagnosis	GM (+)	GM (-)	Determination of GM diagnostics
Clinical diagnosis of IFD	36	22	14	75
Clinical diagnosis of IA	11	10	1	62
Non-IA IFD	25	12	13	13
Suspected IFD	63	39	24	24
Total	99	61	38	99

注: 回顾性分析 18 例出现假阳性。

Note: Diagnosis of 18 cases of false positive.

GM 假阳性的值(由小到大排列)分别为 1.05、1.15、1.2、1.24、1.38、1.46、1.5、1.72、1.74、1.74、1.86、1.95、2.03、2.06、2.28、2.36、2.94、3.14。

11 例临床诊断 IA 的患者 10 例出现 GM(+), 故临床诊断 IA 患者单次 GM 阳性率为 81.82%, 63 例拟诊 IA 的患者 39 例出现 GM(+), 拟诊 IA 患者单次 GM 阳性率为 61.90%。加入 GM 试验后临床诊断 IA 病例数由 11 例增加到 62 例(见表 2), 经回顾性诊断 18 例出现假阳性。可见加入 GM 试验后, 可以提升部分不考虑 GM 试验拟诊患者的诊断级别。

### 2.3 I 值分布情况及 IA 分层诊断与 GM 阳性率的关系

137 具有 IFD 宿主因素的真菌感染高危患者, 经过治疗后, 按照回顾性诊断标准, 分为回顾性确诊 IA 组 44 例、回顾性可疑 IA 组 47 例及回顾性排除 IA 组 46 例。I 值分布情况见图 2:

性检出率及阳性检出时间进行比较, 并以此从阳性检出率和阳性检出时间这两个方面分析 GM 检测对 IA 的早期诊断作用。36 例临床诊断 IA 的患者中, 12 例出现主要影像学表现, 阳性率(33.33%, 12/36); 22 例 GM 阳性, 阳性率(61.11%, 22/36); 二者差异具有统计学意义,  $P=0.0336$ 。63 例拟诊 IA 的患者中, 13 例出现主要影像学表现, 阳性率(20.63%, 13/63); 39 例 GM 阳性, 阳性率(60.32%, 39/63); 二者差异亦具有统计学意义,  $P=0.000013$ 。

在有主要影像学表现且 GM 为阳性的 18 例患者中, 设定

以影像学表现天数为 0 天,比较 GM 检测与影像学阳性检出时间。1-18 的病例编码中,GM(+)天数分别为 -10,-23,-7,2,-2,9,4,-21,-14,-7,-3,-16,-15,3,-16,11,-12,-7。其中有 13 例 GM 检测阳性比 CT 证据提早出现,中位提前天数为 7 天,平均提前(6.89± 8.02)d。GM 检测与主要影像学阳性检出率的差异具有统计学意义(P<0.05),可见 GM 检测在在阳性检出率及阳性检出时间方面都明显优于主要影像学表现。

而与直接微生物学证据相比,加入 GM 试验后,临床诊断病例由 11 例增至 62 例。在痰培养曲霉阳性的临床诊断 IA 的 11 例患者中,以痰培养阳性表现天数为 0 天,GM(+)天数分别为 -9,-8,-5,6,9,-20,-14,-24,-11,7,-16。其中 8 例 GM 检测阳性较痰培养阳性出现时间提前,较痰培养结果提前平均(7.72± 8.71)d。IA 诊断在早期阳性检出率及检出时间方面,GM 试验明显优于主要影像学表现及直接微生物学证据,利于临床抗真菌的抢先治疗。

### 2.5 基于 GM 阳性的抢先治疗的意义

在 GM 阳性的 63 例患者中,进行了抗曲霉治疗的有 49 例,其中 27 例在 GM 阳性时立即给予抗曲霉的抢先治疗。按照血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则(第三次修订),23 例有效(完全缓解或部分缓解),4 例无效,治疗有效率为 85.19%。22 例在 GM 检测阳性时未立即给予抗曲霉治疗,根据典型临床表现、肺 CT 典型征象的出现或临床经验给予抗曲霉治疗,13 例有效,9 例无效,治疗有效率为 59.09%。基于 GM 阳性的抢先治疗组与其他治疗组比较,抗曲霉治疗有效率明显提高(p=0.039),(见表 3)。

表 3 基于 GM 阳性抢先治疗组与其他治疗组的疗效比较

Table 3 Clinical comparison of GM positive preemptive therapy group and other treatment groups

Groups	Effective cases	Invalid number of cases	Efficient%
Based on GM-positive treatment group	23	4	85.19
Other treatment group	13	9	59.09
Total	36	13	73.47

### 2.6 血清中 GM 水平与患者疗效的关系

观察早期抗曲霉治疗的疗效与 GM 值动态变化的相关性,63 例 GM 阳性的患者中,14 例未接受抗曲霉治疗,余 49 例均接受抗曲霉治疗,治疗疗程≥ 2 周。在所有接受抗曲霉治疗的 49 例 GM 阳性患者,治疗完全缓解的有 14 例,这 14 例患者的侵袭性曲霉病的症状、体征、影像学异常全部消失,微生物学证据提示曲霉清除。其 GM 值随着治疗逐渐下降,GM 值由(1.95± 1.51)下降到(0.48± 0.15),差异具有显著性意义(t=18.85,P<0.05)。治疗无效的 13 例患者中,复查监测血清 GM 值在治疗前后(1.40± 1.06,1.22± 0.89)无明显变化。根据 EORCT 标准以及我国血液病或恶性肿瘤患者侵袭性真菌感染的诊断标准与治疗原则修订版评价疗效,治疗有效的 36 例患者(完全缓解 14 例、部分缓解 22 例),其中部分缓解的 22 例,影像学异常有改善,微生物学证据提示曲霉清除或有定量的标志物,其检测值连续两次低于诊断界值。治疗无效者 13 例,临床症状及

体征加重或恶化,影像学出现新发病灶或原感染病灶加重或扩大。36 例抗曲霉治疗有效的患者 GM 水平随着治疗的进行逐渐下降,而 13 例无效患者 GM 水平无变化或略有升高。由于抗曲霉治疗有效后临床不再进行 GM 试验,故每位患者同时收集到 5 个检测时点的可能性较小。我们取抗曲霉治疗有效的患者 8 例,抗真菌治疗无效的患者 6 例,分别与静脉用抗曲霉菌药物的前 3 天、当天及之后的 4、8、12 天 5 个检测时点的 GM 均值见图 3。

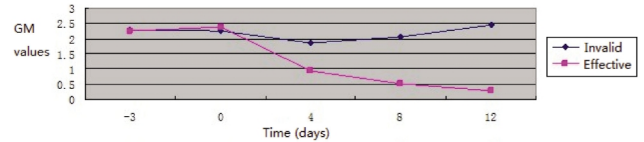


图 3 GM 动态变化与疗效的关系

Fig. 3 Relationship between changes of GM and therapeutic effect

对有效组和无效组进行 Wilcoxon 符号秩和检验,在治疗 -3d GM 值分布无差异(P=0.439),在治疗 0d GM 值分布也无差异(P=1.000),无效组和有效组在治疗后 4、8、12d GM 值的分布在效果类别上有差异(p<0.05)。说明抗真菌治疗有效组,GM 水平降低,治疗无效组 GM 水平反而有升高。

### 3 讨论

侵袭性真菌病(IFD)是血液病患者常见并发症,随着广谱抗生素,免疫抑制剂,激素,化疗药物在临床的广泛应用以及造血干细胞移植的广泛开展,近些年侵袭性曲霉病(IA)的发病率和病死率逐年上升,已经超过念珠菌感染,曲霉成为真菌感染菌属中的主要致病菌<sup>[6]</sup>。目前真菌培养、真菌直接镜检和组织病理学活检等传统诊断方法仍然是 IFD 诊断“金标准”,但由于真菌培养阳性率低、耗时长,而组织活检为有创性检查,特别对于血液科病人,组织病理学检查受到很大限制,传统诊断方法对迅速明确诊断并指导临床治疗均作用有限<sup>[7]</sup>。

半乳甘露聚糖(GM)为曲霉细胞壁的一种抗原成分,在菌丝生长过程中可以释放入血,动态监测其在血清中的水平变化,具有早期诊断和判断疗效的作用。利用 ELISA 方法检测血清 GM,其最低浓度可达 1ng/ml<sup>[8]</sup>,商品化的检测试剂盒(Bio-Rad Platelia Aspergillus)已于 2003 年 5 月获得美国商品与药品管理局(FDA)批准在临床使用<sup>[9]</sup>。FDA 完成的临床评价结果显示,该实验诊断侵袭性曲霉感染的敏感性为 80.7%,特异性为 89.2%<sup>[10]</sup>。关于血清 GM 检测诊断侵袭性曲霉病的阈值仍存在争议,欧洲多以 I≥ 1.5 为阳性,且连续两次阳性提示血清 GM 阳性<sup>[11]</sup>,而 2003 年美国 FDA 将界值下调至 0.5,此后发现,将界值调低的同时,敏感性有提高,而特异性无明显降低<sup>[12]</sup>。另有学者 Maerten 等<sup>[13]</sup>建议将单次 > 0.8 或者连续 2 次 > 0.5 作为界定值。我们在实验中以回顾性诊断标准为依据,把回顾性确诊 IA 和回顾性排除 IA 两组患者分别设定为阳性病例和阴性对照病例,对 GM 试验的诊断界值的阳性标准进行计算,结果提示将界值定为单次 I≥ 1.0 时,GM 试验的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 90.91%、95.65%、95.25%和 91.67%,都能达到 90%以上,各项评价指标均较好,敏感度和特异度所在的诊断界值点在 ROC 曲线图中离左上角最近,诊断



价值较大。

GM 测定为侵袭性曲霉病的诊断提供了微生物学证据,将前面确定的阳性界值标准单次  $I \geq 1.0$  作为 GM 实验的阳性界值,由于加入了微生物学诊断标准,使临床诊断 IA 的患者由 GM 测定前的 11 例增加到 62 例,其中包括 11 例原临床诊断 IA 者,12 例临床诊断 IFD 者,39 例拟诊 IFD 者。所以当 GM 试验的阳性界值定在单次 1.0 时,能够提高部分拟诊 IA 患者的诊断级别并能够有效区分临床诊断 IA 和拟诊 IA。从 I 值范围的分布图中可以发现回顾性确诊 IA 组、回顾性可疑 IA 组、回顾性排除 IA 组的 I 值呈现明显的由高到低的群落分布,且回顾性确诊 IA 组和回顾性可疑 IA 组的 I 值分布范围的差异有统计学意义。造成 GM 测定界值不同的原因很多,主要有不同诊断级别的样本的病例选择,患者血清是否受到污染,GM 测定的时间以及不同的实验室的差异等。将 GM 阳性界值标准调低的同时更有利于 IA 的早期诊断,而特异性仍在可接受范围,未收到较大影响。由于目前经验性抗真菌的早期应用,会使血清中 GM 的浓度降低,连续 2 次血清 GM 阳性的标准不易达到,因此在本研究中将单次 I 值测定阳性作为侵袭性曲霉病的诊断标准。

本研究中 GM 抗原检测阳性出现的时间及出现的阳性率均早于直接微生物学证据和主要影像学表现,能显著使诊断侵袭性曲霉病的时间提前,从而能使患者进行抢先抗曲霉治疗。研究表明呼吸科病人 GM 抗原在血液中出现的时间比主要影像学表现提前 8d,其中 55% 的患者 GM 阳性出现在发热症状前或与发热症状同时出现<sup>[4]</sup>。在实际工作中将 GM 试验与胸部 CT 联合检测,有助于高危患者侵袭性肺曲霉病的及时诊断和治疗。国外学者有研究曲霉抗原在血液中检测到的时间早于主要影像学表现 2-17d,早于直接微生物学证据 2-15d<sup>[5]</sup>,我们根据单次  $I \geq 1.0$  的阳性界值标准,得出 GM 实验阳性早于痰培养平均  $7.72 \pm 8.71$  d,也早于 CT 影像学证据平均  $6.89 \pm 8.02$  d。提示 GM 试验更有助于侵袭性曲霉病的早期诊断。

63 例 GM 测定阳性的患者进行了系统性的抗真菌治疗,从其治疗前后血清中 I 值的动态变化可以看出,治疗有效组抗真菌治疗后血清 GM 水平明显下降,而治疗无效组 GM 水平不变或有上升,说明 GM 浓度的动态变化与患者疾病的治疗效果具有相关性。基于 GM 阳性的抢先抗曲霉治疗组,治疗有效率为 85.19%,根据典型临床表现、肺 CT 典型征象的出现或临床经验基于抗曲霉治疗的其他治疗组,治疗有效率为 59.09%,二者相比,前者抗曲霉治疗有效率明显提高( $P=0.039$ )。故基于 GM 阳性的抢先治疗可明显提高血液病患者 IA 的疗效。

根据文献报道<sup>[6,7]</sup>影响 ELISA 出现假阳性的因素很多,主要有:①由于多脏器功能损害或化疗、放疗会损伤小肠黏膜屏障,导致食物中半乳糖甘露聚糖的吸收入血而使 GM 测定出现假阳性。②同时使用青霉菌来源的抗生素(如哌拉西林/他唑巴坦、阿莫西林克拉维酸等)可导致假阳性的产生。肠道定移的正常菌群如双歧杆菌和来自于食物的真菌,以及 GM 易位至肠道均会造成假阳性结果<sup>[8]</sup>,本研究 63 例 GM 阳性患者中有 18 例通过回顾性诊断可排除 IA 的诊断,考虑此 18 例为假阳性。分析这 18 例患者,其中 1 例是一 8 岁儿童,文献资料有报道新生儿和儿童可使 GM 出现假阳性<sup>[9]</sup>。6 例患者有使用哌拉西林/

他唑巴坦史,但半合成青霉素和常规青霉素未见明显差异。其中 1 例 HSCT 患者、1 例放疗患者,考虑是否为在预处理阶段及大剂量化疗后,由于化疗或放疗会损伤小肠黏膜屏障,使食物中半乳糖甘露聚糖吸收入血。另外尚有 7 例假阳性患者未找到明显诱因,需要在临床中进一步探索。

回顾性确诊侵袭性曲霉病的 44 例患者中,有 5 例 GM 测定出现阴性,故此 5 例为假阴性。产生假阴性的原因主要有:患者早期应用抗真菌药物使真菌生长速度减慢、向血液中释放的 GM 减少<sup>[20]</sup>;患者体内产生了抗 GM 抗体,GM 与 GM 抗体或血液中的多种物质结合后,其喙端半乳糖抗原表位被封闭或从肾脏清除加快等<sup>[21]</sup>。

综上所述,本文通过研究发现,将阳性界值标准定为单次  $I \geq 1.0$ ,灵敏度与特异性也较为理想,每个实验室需建立自己的界值标准。血清 GM 检测可以为 IA 的早期诊断和治疗提供有力的证据,且血清中 GM 的浓度也与疾病的预后具有相关性,同时在 IA 早期诊断的阳性检出率和检出时间方面,GM 实验与 CT 影像学 and 直接微生物学证据相比具有明显优势。并可通过观察 GM 值的动态变化,系统性地评价抗真菌治疗效果。但 GM 实验也存在一定的假阳性和假阴性。总之,半乳糖甘露聚糖抗原检测作为新型的分子生物学技术在临床中的应用将越来越广泛,目前国内外相关实验室就其诊断界值的研究也广泛开展,我们将继续对 IA 的分子生物学诊断方法和检测手段进行探索。

#### 参考文献(References)

- [1] 施毅. 重视侵袭性肺部真菌感染的诊治 [J]. 医学研究生学报, 2007, 20(3): 225-228  
Shi Yi. Study on diagnosis and treatment of [J]. medical attention to invasive pulmonary fungal infection student journal, 2007, 20(3): 225-228
- [2] 夏永祥, 高应东. 侵袭性真菌感染的实验室诊断进展 [J]. 临床检验杂志, 2008, 26(5): 398-399  
Xia Yong-xiang, Gao Ying-dong. The laboratory diagnosis for invasive fungal infection in [J]. Journal of clinical test, 2008, 26(5): 398-399
- [3] De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly J, 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/ MS G) Consensus Group [J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(12): 1813-1821
- [4] 中华内科学杂志编辑委员会. 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(修订版)[J]. 中华内科学杂志, 2010, 49(5): 451-454  
Editorial board of Chinese Journal of Department of internal medicine. Blood disease and malignant tumor patients with fungal infection and treatment principles (Revised Edition) [J]. Chinese Journal of Department of Internal Medicine, 2010, 49(5): 451-454
- [5] 纪宇, 刘代红, 许兰平等. 血清半乳糖甘露聚糖检测对造血干细胞移植后患者侵袭性真菌感染的诊断价值 [J]. 中华血液学杂志, 2007, (28): 83-86  
Ji Yu, Liu Dai-hong, Xu Lan-ping, et al. Equal ity Serum galactomannan detection for patients after hematopoietic stem cell

- transplantation for invasive fungal infection in the diagnostic value of [J]. Chinese Journal of Hematology, 2007,(28): 83-86
- [6] 李军体, 孟凡义, 孙竞, 等. 恶性血液病合并侵袭性真菌感染 73 例治疗分析[J]. 中国实用内科杂志, 2006, 26(5): 376-378  
Li Jun-ti, Meng Fan-yi, Sun Jing, et al. Malignant hematological diseases with invasive treatment of 73 cases of [J]. Chinese Journal of practical Department of internal medicine of fungal infection, 2006, 26 (5): 376 -378
- [7] 李若瑜. 侵袭性真菌感染实验室诊断的现状 & 展望[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(21): 1449-1450  
Li Ruo-yu. Current status and Prospect of [J]. Chinese Journal of medical laboratory diagnosis of invasive fungal infections, 2005, 85 (21): 1449-1450
- [8] Pazos C, Ponton J, del Palacio A, et al. Contribution of (1-3)-Beta-D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic on it oring of invasive as pergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan [J]. Clin Microbio, 2005, 43(1): 299-305
- [9] Asciglu S, Rex JH, de Pauw B, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immune compromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus [J]. Clin Infect Dis, 2002, 34(1): 7-14
- [10] Mennink - Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galacomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. Laneet Infect Dis, 2004, 4(6): 349-357
- [11] Koo S, B ryar JM, Page JH, et al. Diagnostic performance of the (1-3) -Beta -D-glucan assay for invasive fungal disease [J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(11): 1650-1659
- [12] Herbrecht R, Letscher-Bru V, Oprea C, et al. Aspergillus galactomannan detection in the diagnosis of invasive aspergillosis in cancer patients[J]. Clin Oncol, 2002, 20(7): 1898-1906
- [13] Maertens J, Theunissen K, Verbeken E, et al. Prospective clinical evaluation of lower cut-offs for galactomannan detection in adult neutropenic cancer patients and haematological stem cell transplant recipients[J]. Br Haematol, 2004, 126(6): 852-860
- [14] Wallace SR, Oken MM, Lunette KL, et al. Abnormalities of bone marrow mesenchymal cells In multiple myeloma patients [J]. Cancer, 2002, 91(5): 1219-1230
- [15] Surmon T, Istockman W. Gluconate containing intravenous solutions: another cause of false-positive galactomannan assay reactivity[J]. Clin Microbiol, 2007, 45(9): 1373-1379
- [16] Walsh TJ, Shoham S, Petraitiene R, et al. Detection of galactomannan antigenemia in patients receiving piperacillin-tazobactam and correlations between in vitro, and clinical properties of the drug antigen interaction[J]. Clin Microbiol, 2004, 42 (8): 4744-4748
- [17] Mattei D, Rapezzi D, Mordini N, et al. False-positive aspergillus galactomannan enzyme-linked immunosorbent assay results in vivo during amoxicillin-clavulanic acid treatment[J]. Clin Microbiol, 2004, 11(5): 5362-5363
- [18] Mennink-Kersten MA, Klqnt RR, Warris A, et al. Bifidobaeterium lipoteichoic acid and false ELISA reactivity in Aspergilhs antigen detectioh[J]. Lancet, 2005, 363(7): 325-327
- [19] Halliday C, Hoile R, Sorrell T, et al. Role of prospective screening of blood for invasive as pergillosis by polymerase chain reaction in febrile neutropenic recipients of haematopoietic stem cell transplants and patients with acute leukaemia [J]. Br J Haematol, 2006, 132(12): 478-486
- [20] 纪宇, 刘代红, 许兰平, 等. 血清半乳甘露聚糖检测对造血干细胞移植后患者侵袭性曲霉菌感染的诊断价值 - 《第二届全国深部真菌感染学术会议论文集》, 2007, 03(15): 79-82  
Ji Yu, Liu Dai-hong, Xu Lan-ping, et al. serum galactomannan detection for patients after hematopoietic stem cell transplantation for invasive aspergillosis diagnosis value-"the second national deep fungal infection Symposium", 2007, 03(15): 79-82
- [21] Mennink-Kersten MA, Donnelly JP, Verweij PE. Detection of circulating galactomannan for the diagnosis and management of invasive aspergillosis[J]. Laneet Infect Dis, 2004, 4(6): 349-357