

〔文章编号〕 1007-0893(2023)12-0073-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2023.12.022

# qRT-PCR、G 试验及 GM 试验在侵袭性真菌感染诊断中的价值

刘松 常青 许宏

(郑州市第一人民医院, 河南 郑州 450000)

〔摘要〕 目的: 研究实时荧光定量聚合酶链式反应 (qRT-PCR)、(1,3)- $\beta$ -D-葡聚糖试验 (G 试验) 和半乳甘露聚糖抗原试验 (GM 试验) 在侵袭性真菌感染诊断中的价值。方法: 选择 2020 年 1 月至 2022 年 6 月在郑州市第一人民医院就医的 147 例可疑侵袭性真菌感染患者为研究对象, 采用真菌培养法鉴定感染组真菌类型。分别采用 qRT-PCR、G 试验及 GM 试验检测可疑侵袭性真菌感染患者样本, 以真菌培养结果为标准, 分析 qRT-PCR、G 试验及 GM 试验在侵袭性真菌感染诊断中的价值。结果: 147 例可疑侵袭性真菌感染患者中, 86 例检测到侵袭性真菌 (阳性率 58.5%), 包括白色念珠菌 21 例 (24.4%)、曲霉菌 18 例 (20.9%)、热带念珠菌 15 例 (17.4%)、隐球菌 12 例 (13.9%)、马拉色菌 10 例 (11.6%)、酵母菌 10 例 (11.6%)。147 例可疑侵袭性真菌感染患者中 qRT-PCR 检测阳性 74 例, 阳性率 50.3%; G 试验检测阳性 63 例, 阳性率 42.9%; GM 试验检测阳性 55 例, 阳性率 37.4%。qRT-PCR 诊断侵袭性真菌感染灵敏度高于 G 试验及 GM 试验, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); G 试验诊断侵袭性真菌感染特异度高于 qRT-PCR 及 GM 试验, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论: qRT-PCR 对侵袭性真菌感染的检出阳性率高于 G 试验及 GM 试验。qRT-PCR 诊断侵袭性真菌感染灵敏度高于 G 试验及 GM 试验, G 试验诊断侵袭性真菌感染特异度高于 qRT-PCR 及 GM 试验。

〔关键词〕 侵袭性真菌感染; 实时荧光定量聚合酶链式反应; (1,3)- $\beta$ -D-葡聚糖试验; 半乳甘露聚糖抗原试验  
〔中图分类号〕 R 725 〔文献标识码〕 B

## Value of qRT-PCR, G Test Combined with GM Test in the Diagnosis of Invasive Fungal Infection

LIU Song, CHANG Qing, XU Hong

(The First People's Hospital of Zhengzhou, Henan Zhengzhou 450000)

〔Abstract〕 Objective To investigate the value of real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR), (1,3)- $\beta$ -D-glucan test (G test), and galactomannan antigen test (GM test) in the diagnosis of invasive fungal infection. Methods A total of 147 patients with suspected invasive fungal infection who were treated in the First People's Hospital of Zhengzhou from January 2020 to June 2022 were selected as the research subjects, and the fungal culture method was used to identify the fungal type in the infection group. The samples of patients with suspected invasive fungal infection were detected by qRT-PCR, G test and GM test, respectively, and the value of qRT-PCR, G test and GM test in the diagnosis of invasive fungal infection were analyzed with fungal culture results as the standard. Results Among 147 patients with suspected invasive fungal infection, invasive fungi were detected in 86 cases (positive rate 58.5%), including 21 cases of *Candida albicans* (24.4%), 18 cases of *Aspergillus* (20.9%), and 15 cases of *Candida tropicalis* (17.4%), 12 cases of *Cryptococcus* (13.9%), 10 cases of *Malassezia* (11.6%), and 10 cases of yeast (11.6%). Among the 147 patients with suspected invasive fungal infection, 74 cases were positive by qRT-PCR, with a positive rate of 50.3%; 63 cases were positive by G test, with a positive rate of 42.9%; 55 cases were positive by GM test, with a positive rate of 37.4%. The sensitivity of qRT-PCR in diagnosing invasive fungal infection was higher than that of G test and GM test, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The specificity of G test for diagnosing invasive fungal infection was higher than that of qRT-PCR and GM test, but the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). Conclusion The positive rate of qRT-PCR for invasive fungal infection was higher than that of G test and GM test. The sensitivity of qRT-PCR in diagnosing invasive fungal infection was higher than that of G test and GM test, and the specificity of G test in diagnosing invasive fungal infection was higher than that of qRT-PCR and GM test.

〔Keywords〕 Invasive fungal infection; Real-time quantitative polymerase chain reaction; (1,3)- $\beta$ -D-glucan test; Galactomannan antigen test

〔收稿日期〕 2023 - 04 - 02

〔作者简介〕 刘松, 女, 主管技师, 主要从事临床检验工作。

侵袭性真菌感染多伴发于重症患者, 严重时可进展为全身感染, 使患者病死率显著增高, 该病的早期诊断及感染菌型的确诊在临床诊疗中具有关键意义<sup>[1-2]</sup>。真菌培养为目前侵袭性真菌感染病原诊断及鉴别诊断的金标准, 但其存在取材困难、阳性率低及检测时程长等缺点, 无法及时为抗菌药物选择提供证据<sup>[3]</sup>。随着对侵袭性真菌感染的研究深入, 实时荧光定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR)、(1,3)- $\beta$ -D-葡聚糖试验 [(1,3)- $\beta$ -D-glucan test, G 试验] 和半乳甘露聚糖抗原试验 (galactomannan antigen test, GM 试验) 等分子或基因水平检测方法的时效性高于传统的真菌培养, 但仍存在灵敏度及特异度低等缺点而限制其临床广泛应用<sup>[4-5]</sup>。因此本研究探讨了 qRT-PCR、G 试验联合 GM 试验在侵袭性真菌感染诊断中的价值, 报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2020 年 1 月至 2022 年 6 月在郑州市第一人民医院就医的 147 例可疑侵袭性真菌感染患者为研究对象。患者中, 包括男性 84 例, 女性 63 例; 年龄 20 ~ 80 岁, 平均年龄 (57.9  $\pm$  7.2) 岁。本研究通过郑州市第一人民医院医学伦理委员会审批并同意 (20200017)。

### 1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 (1) 临床初步诊断符合《重症患者侵袭性真菌感染诊断与治疗指南 (2007)》中的诊断标准<sup>[6]</sup>; (2) 首次诊治, 有明确的感染病因, 既往未行抗真菌等相关治疗; (3) 患者及家属知情并同意本研究; (4) 临床资料完整。

1.2.2 排除标准 (1) 合并其他病毒、细菌等感染; (2) 合并精神神经疾病无法配合本研究等; (3) 近 3 个月内使用影响真菌培养检测结果药物等。

### 1.3 方法

1.3.1 真菌培养及检测 将患者标本 (血液、痰液、支气管肺泡灌洗液) 接种于不同培养基, 37  $^{\circ}$ C 下培养, 每 24 h 观察培养结果, 根据菌落生长形态、生长特点及色素进行初级筛选鉴定, 将酵母菌进一步接种于科玛嘉显色培养基上进行分离鉴定, 不能显色的酵母类及非酵母类真菌根据其镜下菌丝、孢子特征或进一步小培养的生长特点进行鉴定, 采用全自动微生物分析仪进行鉴定。

1.3.2 qRT-PCR 检测 选择真菌高度保守的 18S 核糖体核糖核酸 (ribosomal ribonucleic acid, rRNA) 为靶点基因, 合成设计特异性引物序列行 PCR 扩增, 反应条件为 94  $^{\circ}$ C 时 2 min, 94  $^{\circ}$ C 时 30 s, 56  $^{\circ}$ C 时 45 s, 共 3 个循环, 最后一轮扩增 10 min, 检测 Ct 值, Ct 值为 15 ~ 35 时鉴定为阳性, > 35 为阴性结果。

1.3.3 G 试验及 GM 试验 取侵袭性真菌感染患者静脉血 10 mL, 3000 r  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 离心 (离心半径 13 cm) 15 min 后取血清行 G 试验及 GM 试验。G 试验: 采用动态真菌检测试剂盒检测, 检测结果采用微生物动态检测系统计算血清中 (1,3)- $\beta$ -D-葡聚糖浓度,  $\geq 100$  pg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 时定义 G 试验阳性。GM 试验: 采用曲霉菌抗原酶联免疫吸附法试剂盒检测, 检测后采用酶标仪检测 450 nm、630 nm 下吸光度, 计算 450 nm/630 nm 吸光度比值, 比值 > 0.5 定义 GM 试验为阳性。

### 1.4 观察指标

(1) 统计可疑侵袭性真菌感染患者的真菌培养结果; (2) 统计三种方法的真菌检出阳性率; (3) 分别计算三种方法诊断侵袭性真菌感染的灵敏度及特异度。

### 1.5 统计学分析

采用 SPSS 23.0 软件进行数据处理, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 计数资料用百分比表示, 采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 侵袭性真菌感染真菌培养鉴定及构成

147 例可疑侵袭性真菌感染患者中, 有 86 例经真菌培养检测到侵袭性真菌 (阳性率 58.5%), 包括白色念珠菌 21 例 (24.4%)、曲霉菌 18 例 (20.9%)、热带念珠菌 15 例 (17.4%)、隐球菌 12 例 (13.9%)、马拉色菌 10 例 (11.6%)、酵母菌 10 例 (11.6%)。

### 2.2 三种方法的真菌检出阳性率

147 例可疑侵袭性真菌感染患者中 qRT-PCR 检测阳性 74 例, 阳性率 50.3%; G 试验检测阳性 63 例, 阳性率 42.9%; GM 试验检测阳性 55 例, 阳性率 37.4%。

### 2.3 三种方法诊断侵袭性真菌感染的价值

qRT-PCR、G 试验及 GM 试验诊断侵袭性真菌感染的结果见表 1。qRT-PCR 诊断侵袭性真菌感染灵敏度高于 G 试验及 GM 试验, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); G 试验诊断侵袭性真菌感染特异度高于 qRT-PCR 及 GM 试验, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 2。

表 1 三种方法诊断侵袭性真菌感染的结果 (例)

检测方法	结果	真菌培养		合计
		阳性	阴性	
qRT-PCR	阳性	61	13	74
	阴性	25	48	73
G 试验	阳性	52	11	63
	阴性	34	50	84
GM 试验	阳性	40	15	55
	阴性	46	46	92
合计		86	61	147

注: qRT-PCR 一实时荧光定量聚合酶链式反应; G 试验—(1,3)- $\beta$ -D-葡聚糖试验; GM 试验—半乳甘露聚糖抗原试验。

表 2 三种方法诊断侵袭性真菌感染的价值比较 (%)

检测方法	灵敏度	特异度
qRT-PCR	70.9(61/86) <sup>a</sup>	78.7(48/61)
G 试验	60.5(52/86)	81.9(50/61)
GM 试验	46.5(40/86)	75.4(46/61)

注: qRT-PCR 一实时荧光定量聚合酶链式反应; G 试验—(1,3)-β-D- 葡聚糖试验; GM 试验—半乳甘露聚糖抗原试验。与 G 试验及 GM 试验比较, <sup>a</sup>*P* < 0.05。

### 3 讨论

侵袭性真菌感染的临床疗效普遍较差, 并发症发生率高, 故患者的病死率也较高, 早期诊断、类型鉴别及早期治疗对改善患者预后具有重要临床价值<sup>[7-8]</sup>。目前侵袭性真菌感染诊断及鉴别诊断的金标准为真菌培养, 但其具有阳性率低、检测时间长及样本来源受限等缺点, 导致真菌培养在临床上无法为侵袭性真菌感染的诊断及治疗及时提供证据<sup>[9]</sup>。随着对真菌结构的研究深入及血清学检测技术的进展, qRT-PCR、G 试验和 GM 试验等分子水平或基因水平的检测在侵袭性真菌感染诊断中的时效性高于传统的真菌培养, qRT-PCR 检测真菌高度保守的 18S rRNA 靶点, 具有检测方便快捷等优点, 灵敏度高但其特异度低于真菌培养<sup>[10]</sup>。G 试验和 GM 试验为检测真菌细胞壁组成成分, 多用于诊断念珠菌、曲霉菌及镰刀菌属, 具有检测方便快捷等优点, 但其存在无法检测某些特定菌属及特异度低等缺点<sup>[11-12]</sup>。此外, 侵袭性真菌感染不同病程时细胞壁结构改变影响 G 试验和 GM 试验阳性率。

目前真菌培养、qRT-PCR、G 试验和 GM 试验诊断侵袭性真菌感染检测的灵敏度及特异度均不一致。本研究采用 qRT-PCR、G 试验联合 GM 试验诊断侵袭性真菌感染, 发现 qRT-PCR、G 试验和 GM 试验阳性率分别为 50.3%、42.9%、37.4%, 表明 qRT-PCR 检测侵袭性真菌感染阳性率高于 G 试验和 GM 试验。此外, 本研究发现 qRT-PCR 诊断侵袭性真菌感染灵敏度高于 G 试验及 GM 试验, 差异具有统计学意义 (*P* < 0.05); G 试验诊断侵袭性真菌感染特异度高于 qRT-PCR 及 GM 试验, 但差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。提示临床上对可疑侵袭性真菌感染患者可结合实际情况分别将 qRT-PCR、G 试验及 GM 试验应用于诊断, 以提高诊断的灵敏度及特异度。

综上所述, qRT-PCR 对侵袭性真菌感染的检出阳性率高于 G 试验及 GM 试验。qRT-PCR 诊断侵袭性真菌感染灵敏度高于 G 试验及 GM 试验, G 试验诊断侵袭性真菌感染特异度高于 qRT-PCR 及 GM 试验。

### 〔参考文献〕

- 刘晓, 李若瑜, 宋营改. 侵袭性真菌感染分子病理诊断进展 (J). 中国真菌学杂志, 2021, 16(2): 141-144.
- 刘晓, 宋营改, 李若瑜. 重症呼吸道病毒感染并发/继发侵袭性真菌感染 (J). 中国真菌学杂志, 2021, 16(3): 211-216.
- 范超宇. 侵袭性真菌感染检测方法的研究进展 (J). 世界最新医学信息文摘 (连续型电子期刊), 2021, 21(10): 59-60, 63.
- 韩卓婷, 黄妹, 林小菊, 等. 1,3-β-D 葡聚糖检测与半乳甘露聚糖抗原检测试验诊断侵袭性真菌感染的临床价值分析 (J). 黑龙江医学, 2021, 45(19): 2102-2103.
- 黄庆凤, 黄娉, 蔡丽平, 等. 游离 DNA 聚合酶链反应诊断侵袭性真菌感染的临床价值 (J). 中国临床实用医学, 2022, 13(2): 31-34.
- 中华医学会重症医学分会. 重症患者侵袭性真菌感染诊断与治疗指南 (2007) (J). 中华内科杂志, 2007, 46(11): 960-966.
- 张昕, 彭小玲, 李兆芳. ICU 患者侵袭性真菌感染的诊断方法研究 (J). 中华保健医学杂志, 2020, 22(2): 209-211.
- 赵正群, 帕丽达·阿布力孜. 侵袭性真菌感染非培养检测方法的进展 (J). 世界最新医学信息文摘 (连续型电子期刊), 2022, 22(35): 5-8.
- 尚元元, 李可心, 马春梅, 等. 定量 PCR 检测联合 G 试验及 GM 试验对侵袭性真菌感染早期诊断的价值 (J). 中国真菌学杂志, 2021, 16(6): 367-372.
- 蒋文艳, 唐招平. 实时定量聚合酶链反应检测在恶性血液系统疾病患者侵袭性真菌感染早期诊断中应用价值 (J). 山西医药杂志, 2019, 48(19): 2407-2409.
- 邓涛, 尹黎波, 姚晚霞, 等. G 试验和 GM 试验在咽喉部侵袭性真菌感染诊断中的应用价值 (J). 海南医学, 2021, 32(13): 1642-1644.
- 文娜, 黄华. 支气管肺泡灌洗液 G 试验 GM 试验对肺部侵袭性真菌感染的诊断进展 (J). 世界最新医学信息文摘 (连续型电子期刊), 2018, 18(98): 131-132, 134.