四川大学学报（医学版） 2026，57（1）：170－176
J Sichuan Univ（Med Sci） doi: 10.12182/20260160503

在线全文

血清学检测指标及实时荧光定量PCR检测在侵袭性念珠菌病患者中的诊断价值

MD ALI HOSSAIN，彭 亮，袁 余，周晓涵，马 莹△
四川大学华西医院 实验医学科临床微生物室（成都 610041）

【摘要】 **目的** 评估血清学检测指标1, 3-β-D-葡聚糖试验（G试验）、念珠菌甘露聚糖（Mn）抗原、念珠菌甘露聚糖IgG抗体（Mn-IgG）和实时荧光定量PCR（qPCR）检测在侵袭性念珠菌病（IC）患者中的临床诊断价值。**方法** 收集四川大学华西医院2022年12月-2024年12月期间通过血培养及无菌体液培养确诊为IC患者的血清样本79例作为IC组，排除IC感染患者的血清样本83例作为非IC组，进行G试验（磁微粒化学发光法）、Mn抗原（ELISA法）、Mn-IgG抗体（化学发光法）和qPCR检测。比较分析G试验、Mn抗原、Mn-IgG抗体和qPCR检测及联合检测对IC诊断的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值，绘制受试者工作特征（ROC）曲线并计算ROC曲线下面积（AUC）。**结果** 3种血清学检测指标单独检测对IC诊断的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为：G试验62.03%、94.87%、92.45%、71.15%；Mn抗原65.63%、86.59%、79.25%、76.34%；Mn-IgG抗体31.65%、87.95%、71.43%、57.48%。G试验、Mn抗原、Mn-IgG三项联合检测敏感性提高至73.44%。基于ROC曲线分析，各血清学检测指标诊断IC的AUC分别为：G试验 0.862 (95% CI: 0.803-0.922)、Mn试验 0.853 (95% CI: 0.790-0.915)、Mn-IgG 0.603 (95% CI: 0.514-0.692)。G试验+Mn试验两项联合检测、G试验+Mn-IgG两项联合检测、G试验+Mn试验+Mn-IgG三项联合检测的AUC分别为0.875（95% CI: 0.809-0.925）、0.869（95% CI: 0.805-0.917）和0.875（95% CI: 0.809-0.924），优于单独检测。qPCR对IC诊断的敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为100.00%、98.80%、98.75%、100.00%。以培养菌株基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪（MALDI-TOF MS）鉴定结果为金标准，qPCR检测对白念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、近平滑念珠菌的诊断一致性分别为100.00%、100.00%、94.44%和90.00%。**结论** G试验、Mn抗原和Mn-IgG抗体联合检测可提高诊断敏感性，有助于IC的早期诊断。qPCR对IC具有优异的诊断性能，可将IC常见念珠菌鉴定至种水平，并可覆盖其他念珠菌种，与临床培养方法结果一致性好。

【关键词】 1, 3-β-D 葡聚糖　念珠菌甘露聚糖抗原　念珠菌甘露聚糖IgG抗体　实时荧光定量PCR　侵袭性念珠菌病

Diagnostic Value of Serological Markers and Quantitative Real-Time PCR in Patients With Invasive Candidiasis

MD ALI HOSSAIN, PENG Liang, YUAN Yu, ZHOU Xiaohan, MA Ying△. *Laboratory of Clinical Microbiology, Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China*
△ Corresponding author, E-mail: majiying72@hotmail.com

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the clinical diagnostic value of serological markers, including the 1, 3-β-D-glucan test (G-test), *Candida* mannan (Mn) antigen, Candida mannan IgG antibody (Mn-IgG), and quantitative real-time PCR(qPCR) in patients with invasive candidiasis (IC). **Methods** This study included 79 patients with culture-proven IC (IC group) and 83 patients without IC (non-IC group) at West China Hospital, Sichuan University between December 2022 and December 2024. Serum samples were tested for the G test (chemiluminescence), Mn antigen (ELISA), Mn-IgG (chemiluminescence), and qPCR. The diagnostic sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) of individual and combined tests were calculated. Diagnostic performance was assessed using receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. **Results** The sensitivity, specificity, PPV, and NPV of the three serological markers for IC diagnosis when used individually were as follows: G test, 62.03%, 94.87%, 92.45%, and 71.15%; Mn antigen, 65.63%, 86.59%, 79.25%, and 76.34%; Mn-IgG antibody, 31.65%, 87.95%, 71.43%, and 57.48%. Combined detection of the G test, Mn antigen, and Mn-IgG increased sensitivity to 73.44%. Based on ROC curve analysis, the AUCs for diagnosing IC using each serological marker were: G test, 0.862 (95% CI: 0.803-0.922); Mn test, 0.853 (95% CI: 0.790-0.915); Mn-IgG, 0.603 (95% CI: 0.514-0.692). The combined AUCs for G test + Mn test, G test + Mn-IgG, and G test + Mn test + Mn-IgG were 0.875 (95% CI: 0.809-0.925), 0.869 (95% CI: 0.805-0.917), and 0.875 (95% CI: 0.809-0.924), respectively, demonstrating superiority over individual tests. The sensitivity, specificity, PPV, and NPV of qPCR for IC

△ 通信作者，E-mail: majiying72@hotmail.com
出版日期：2026-01-20

diagnosis were 100.00%, 98.80%, 98.75%, and 100.00%, respectively. Using culture strain identification by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) as the gold standard, qPCR demonstrated diagnostic concordance rates of 100.00% for *Candida albicans*, 100.00% for *Candida tropicalis*, 94.40% for *Candida glabrata*, and 90.00% for *Candida parapsilosis*. **Conclusion** The combined use of the G test, Mn antigen, and Mn-IgG antibody increases diagnostic sensitivity and facilitates early diagnosis of IC. qPCR demonstrates excellent diagnostic performance for IC, enabling species-level identification of common *Candida* species associated with IC and detection of other *Candida* species. It also shows consistency with clinical culture methods.

[Key words] 1, 3-β-D-glucan　*Candida* mannan antigen　*Candida* mannan IgG antibody　Quantitative real-time PCR　Invasive candidiasis

侵袭性真菌病发病率持续上升，全球每年约发生650万例感染，导致380万例死亡，其中侵袭性念珠菌病（invasive candidiasis, IC）作为最常见的院内获得性真菌感染，每年影响约156.5万例患者，死亡率高达63.6%[1]。IC多发生于危重症及免疫功能低下人群，临床表现为念珠菌血症或深部感染，严重威胁患者生命[2-3]。

近年来，IC致病菌种逐渐由白念珠菌转向非白念珠菌，这与唑类药物的广泛使用及抗真菌药物耐药性增加相关[4-5]。中国医院侵袭性真菌病监测网显示，尽管白念珠菌仍为念珠菌血症最常见菌种，但非白念珠菌占比超过三分之二，其中以近平滑念珠菌复合体（27.1%）、热带念珠菌（18.7%）和光滑念珠菌复合体（12.0%）为主[6]。2022年世界卫生组织首次将白念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、近平滑念珠菌、克柔念珠菌列入真菌重点病原体清单，凸显了快速鉴定念珠菌种的迫切性[7]。2025年全球指南也强烈建议将念珠菌鉴定到菌种水平以指导治疗[8]。

目前IC早期诊断仍面临挑战。血培养作为传统金标准方法敏感性仅50%～70%，且耗时较长[9-10]。一些非培养诊断技术，如1, 3-β-D-葡聚糖试验（G试验）、甘露聚糖抗原（Mannan, Mn）检测、甘露聚糖IgG 抗体（Mn-IgG）检测和实时荧光定量PCR（qPCR）等，已成为重要补充手段[11]。G试验因高阴性预测值被推荐为IC的微生物学证据[12-13]，Mn和Mn-IgG联合检测可提高诊断IC的敏感性和特异性效能，PCR检测则有助于菌种鉴定[8]。因此，本研究旨在评估G试验、Mn抗原、Mn-IgG抗体和qPCR检测在IC诊断中的应用价值，以期为优化IC诊断策略及临床管理提供依据。

1　资料与方法

1.1　材料收集

根据2019年欧洲癌症研究和治疗组织/真菌研究组教育和研究共同体发布的侵袭性真菌病定义共识[11]中的IC诊断标准，将2022年12月至2024年12月四川大学华西医院经血液及无菌体液（包括血液75例、关节液2例、中心静脉导管尖端和腹水各1例）培养念珠菌阳性确诊为IC的79例患者纳入IC组，83例临床确诊为非念珠菌感染患者纳入对照组（非IC组），该组病例均经血液或体液培养，培养结果多为无细菌及真菌生长，少数几例为非念珠菌的真菌阳性或细菌阳性的患者。排除标准：①临床及随访资料不全；②样本采集前患者接受过血液制品、免疫球蛋白的输注；③应用免疫抑制剂或激素治疗超1周以上。临床诊断、拟诊病例不纳入诊断评估。本研究经四川大学华西医院临床试验伦理审查委员会批准，批准号：2024年临床试验（器械）审（75）号。共收集162例患者常规检查剩余血清样本，用于念珠菌感染非培养诊断方法检测。同时收集患者的相关临床资料，包括一般情况、基础疾病、危险因素、临床表现、影像学及实验室检查结果等。

1.2　方法

1.2.1　仪器与试剂

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪（matrix-assisted laser desorption/ ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS, 布鲁克），核酸提取试剂盒（DNK-MDx101，丹娜（天津）生物科技股份有限公司），全自动医用PCR分析系统（SLAN-96S, 上海宏石医疗科技有限公司），全自动酶联免疫分析仪（HB-300E, 嘉兴科瑞迪医疗器械有限公司），全自动化学发光免疫分析仪（SMART 6 500, 重庆科斯迈生物科技有限公司）。真菌(1-3)-β- D 葡聚糖检测试剂盒（磁微粒化学发光法）、念珠菌甘露聚糖检测试剂盒（ELISA法）、念珠菌甘露聚糖IgG 抗体检测试剂盒（化学发光法）和念珠菌核酸检测试剂盒（荧光PCR法）均为丹娜（天津）生物科技股份有限公司产品。

1.2.2　G实验和Mn-IgG抗体检测

取600 μL血清样本或质控品加入到1.5 mL离心管中，再加入200 μL样本处理液 。漩涡震荡5～10 s后，10 000×*g* 离心15 s收集离心管盖上的样本，将离心管放入水浴锅内

100℃ 沸水浴 6 min或干式恒温器 110 ℃加热6 min后取出,放入离心机内10 000×*g*离心10 min。取上清液在全自动化学发光免疫分析仪上进行检测。血清BDG浓度≥90 pg/mL为阳性,抗体浓度≥80 AU/mL判为阳性。

1.2.3 Mn检测

向离心管中加入300 μL的血清样品,再加入100 μL样本处理缓冲液。漩涡震荡10 s以彻底混匀,将离心管放入水浴锅内100 ℃加热3 min后,放入离心机内,4 ℃,10 000×*g*离心10 min。取样本上清液50 μL和阴阳性质控品分别转入酶标板。随后向酶标板各孔加入酶标抗体50 μL。加样结束后封上封板膜,震荡混匀,37 ℃孵育 120 min。揭开封板膜,每孔每次加入300 μL洗涤液,静置40 s后将酶标板孔内液体除去,在吸水纸上反复拍打去除残留液体,重复上述洗涤操作3次。洗涤结束后,每孔加入底物溶液100 μL。不用封板膜封板,在 37℃下避光孵育15 min。最后每孔加入50 μL终止液,加样顺序与加入底物溶液顺序相同,混匀后,在5 min内于酶标仪 450 nm 波长处读吸光度值(A_{450}值)。按照制造商的说明,甘露聚糖值≥50 pg/mL判为阳性。因IC组中部分标本量较少,故IC组中仅对64例样本进行了Mn抗原检测,对照组82例进行了检测。

1.2.4 qPCR

取380 μL血清样品,经核酸提取试剂盒完成样本的核酸提取,洗脱体积至110 μL。移取25 μL提取后的样本DNA和阴阳性质控品DNA到 CAN PCR Mix管A和CAN PCR Mix 管B中,盖紧 PCR 反应管管盖,充分震荡混匀后瞬时离心,确保液体完全离心至管底。将离心后PCR反应管置于PCR分析系统中启动扩增反应。严格按照说明书要求进行操作。使用多重实时荧光PCR试剂盒可同时检测白念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌、近平滑念珠菌及念珠菌属。CAN PCR Mix管A的FAM、HEX和ROX通道Ct≤40且扩增曲线呈典型的S型,则判定为热带念珠菌、白念珠菌和近平滑念珠菌对应检测结果为阳性;CAN PCR Mix 管B的HEX通道Ct值≤38且扩增曲线呈典型的S型,则判定念珠菌属阳性,CAN PCR Mix 管B的ROX通道Ct值≤40且扩增曲线呈典型的S型,则判定光滑念珠菌阳性。

1.2.5 MALDI-TOF MS鉴定念珠菌菌种

用牙签将单个菌落以薄膜形式涂到MALDI 靶板上,使菌膜均匀分布,自然晾干;将1 μL 70%的甲酸水溶液涂敷在每个样品上,自然晾干;将1 μL基质溶液涂敷在每个样品上,自然晾干;将MALDI靶板放入质谱仪进行分析。鉴定分值达2.0以上为可靠结果。

1.3 统计学方法

采用SPSS 23.0和GraphPad Prism 8.0.2进行统计学分析。非正态分布的组间比较采用Mann-Whitney U检验。分类变量采用卡方检验进行评估,$P<0.05$为差异有统计学意义。采用McNemar χ^2检验比较不同检测方法的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值。绘制受试者工作特征(ROC)曲线评价诊断效能,计算曲线下面积(AUC)及其95%可信区间(95% CI)。通过最大约登指数(敏感性+特异性−1)确定最佳诊断阈值。

2 结果

2.1 病例信息

两组患者男性比例(68.4% vs. 60.2%, $P=0.282$)与中位年龄(60岁vs. 57岁, $P=0.499$)差异均无统计学意义(表1)。但IC组低蛋白血症、呼吸衰竭、脓毒症、胰腺炎及急性肾损伤发生率均显著较高($P<0.05$)。医源性危险因素分析显示IC组既往抗真菌治疗、机械通气、肠外营养和腹部手术($P<0.001$)暴露率明显升高,而广谱抗生素使用率在非IC组更高($P=0.020$)。IC组存活率显著低于非IC组($P=0.004$)。

2.2 病原菌分布

79例IC确诊患者中有1例患者为白念珠菌和光滑念珠菌共感染,故共获得80株念珠菌病原菌。分布以白念珠菌占比最高(31, 38.75%),其次为近平滑念珠菌(20, 25.00%)、光滑念珠菌(18, 22.50%)、热带念珠菌(9, 11.25%),其他菌种为耳念珠菌及葡萄牙念珠菌各1株(2, 2.50%)。MALDI-TOF MS鉴定结果与PCR法菌种鉴定结果比较显示:白念珠菌与热带念珠菌的菌种一致性最高(100.0%),光滑念珠菌(94.44%)及近平滑念珠菌(90.00%)亦呈现高度匹配(表2)。

2.3 G试验、Mn抗原、Mn-IgG检测结果

IC组的血清BDG($P<0.001$)、Mn抗原($P<0.001$)、Mn-IgG($P=0.024$)水平均明显高于对照组,且两组间差异有统计学意义(图1)。

2.4 G试验、Mn抗原、Mn-IgG、qPCR单独检测及血清学联合检测临床诊断性能比较

G试验、Mn抗原、Mn-IgG、qPCR单独检测及血清学联合检测对IC的诊断性能结果见表3。qPCR检测念珠菌种类性能优异,IC组中2例近平滑念珠菌及1例光滑念珠菌虽未准确鉴定至种但念珠菌属结果为阳性,非IC组中仅1例奥默柯达菌结果为念珠菌属,出现假阳性,其余结果均与培养结果一致,其敏感性、特异性、阳性预测值和

表 1　IC组与非IC组患者基本资料比较

Table 1　Comparison of baseline characteristics between IC and non-IC groups

Patient characteristics	IC group(n = 79)	Non-IC group (n = 83)	P
Male/case (%)	54 (68.4)	50 (60.2)	0.282
Age/yr., median (IQR)	60 (46-71)	57 (44-69)	0.499
Underlying diseases/case (%)			
Hypoproteinemia	63 (79.8)	36 (43.4)	< 0.001
Chronic liver disease	53 (67.1)	44 (53.0)	0.068
Respiratory failure	32 (40.5)	15 (18.1)	0.002
Sepsis	28 (35.4)	13 (15.7)	0.004
Diabetes mellitus	25 (31.7)	24 (28.9)	0.705
Hypertension	22 (27.9)	22 (26.5)	0.848
Pancreatitis	15 (19.0)	4 (4.8)	0.005
Acute kidney injury	13 (16.5)	4 (4.8)	0.016
Heart disease	12 (15.2)	8 (9.6)	0.283
COPD	3 (3.8)	3 (3.6)	0.951
Iatrogenic risk factors/case (%)			
Broad spectrum antibiotic usage	74 (93.7)	83 (100.0)	0.020
Previous antifungal exposure	62 (78.5)	26 (31.3)	<0.001
Mechanical ventilation	53 (67.1)	18 (21.7)	<0.001
Parenteral nutrition	23 (29.1)	2 (2.4)	<0.001
Corticosteroid therapy	19 (4.1)	30 (36.1)	0.094
Abdominal surgery	18 (22.8)	3 (3.6)	< 0.001
Hemodialysis	7 (8.9)	7 (8.4)	0.923
Central venous catheter	5 (6.3)	5 (6.0)	0.936
Transplantation	3 (3.8)	8 (9.6)	0.140
Clinical outcome/case (%)			
Survived	69 (84.3)	82 (98.8)	0.004

COPD: chronic obstructive pulmonary disease.

表 2　2种方法鉴定80株念珠菌的结果比较

Table 2　Comparison of the results of two methods for identifying 80 *Candida* strains

Species	MALDI-TOF MS	qPCR	Consistency
Candida albicans	31	31	100.00%
Candida parapsilosis	20	18	90.00%
Candida glabrata	18	17	94.44%
Candida tropicalis	9	9	100.00%
Other *Candida* species	2	2	100.00%

阴性预测值分别为100.00%、98.80%、98.75%和100.00%，显著优于其他检测方法（均$P<0.05$）。血清学单独检测中，G试验与Mn抗原检测性能相近（敏感性：62.03% vs. 65.63%，P=0.656；特异性：94.87% vs. 86.59%，P=0.072），均具较高特异性但敏感性有限，而Mn-IgG抗体检测敏感性（31.65%）和阴性预测值（57.48%）最低，提示单独诊断价值较低。4种不同模式的血清学联合检测（G试验+念珠菌抗原检测、G试验+念珠菌IgG抗体检测、念珠菌抗原+抗体检测、G试验+念珠菌抗原+抗体检测）结果显示：联合检测的敏感性较单独检测均有提升，三项联合检测的敏感性提升至73.44%，但同时联合检测的特异性总体较单独检测降低。

2.5　G试验、Mn抗原、Mn-IgG单独检测和联合检测ROC曲线

基于ROC曲线分析（图2），单独检测中G试验的ROC曲线下面积（AUC）最高（0.862，95% CI: 0.803-0.922），

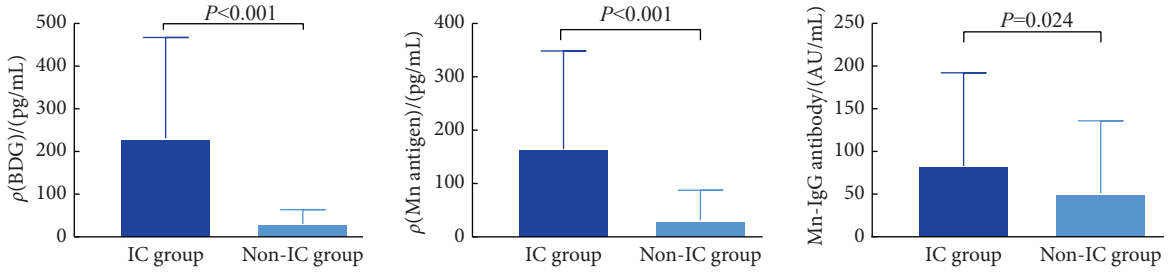

图 1 两组患者G试验、Mn抗原、Mn-IgG检测结果

Fig 1 G-test, Mn antigen, and Mn-IgG test results in the two groups

IC group: G-test and Mn-IgG antibody detection n = 79, Mn antigen detection n = 64; non-IC group: n=83.

表 3 G试验、Mn抗原、Mn-IgG、qPCR 检测及联合检测的诊断性能

Table 3 Fig 2 ROC curves for G test, Mn antigen, and Mn-IgG in separate and combined analyses

Test	Sensitivity/% (95% CI)	Specificity/% (95% CI)	PPV/% (95% CI)	NPV/% (95% CI)
G-test (n=157)	62.03 (50.37-72.50)	94.87 (86.69-98.34)	92.45 (80.93-97.55)	71.15 (61.31-79.41)
Mn antigen (n=146)	65.63 (52.61-76.75)	86.59 (76.85-92.79)	79.25 (65.50-88.71)	76.34 (66.19-84.28)
Mn-IgG (n=162)	31.65 (21.89-43.20)	87.95 (78.51-93.76)	71.43 (53.48-84.76)	57.48 (48.40-66.11)
Candida PCR (n=162)	100.00 (94.22-100.00)	98.80 (92.54-99.94)	98.75 (92.27-99.93)	100.00 (94.42-100.00)
G-test+Mn antigen (n=142)	67.19 (54.20-78.10)	89.74 (80.27-95.15)	84.31 (70.86-92.52)	76.92 (66.69-84.84)
G-test+Mn-IgG (n=157)	70.89 (59.43-80.29)	83.33 (72.82-90.49)	81.16 (69.58-89.21)	73.86 (63.22-82.39)
Mn antigen+Mn-IgG (n=146)	71.88 (59.05-82.06)	78.05 (67.28-86.14)	71.88 (59.05-82.06)	78.05 (67.28-86.14)
G-test+Mn antigen+Mn-IgG (n=142)	73.44 (60.69-83.35)	80.77 (69.95-88.49)	75.81 (62.98-85.40)	78.75 (67.89-86.79)

CI: Confidence interval; IC: invasive candidiasis; Mn: mannan; G: 1, 3-β-D-glucan; PPV: positive predictive value; NPV, negative predictive value.

最佳诊断阈值为≥46.61 pg/mL时，对应敏感性和特异性分别为70.89%(95% CI: 60.09%-79.75%)和91.03%(95% CI: 82.62%-95.58%)；Mn试验AUC为0.853(95% CI: 0.790-0.915)，略低于G试验，最佳诊断阈值为≥23.01 pg/mL时，敏感性和特异性分别为87.50%(95% CI: 77.23%-93.53%)和69.51%(95% CI: 58.86%-78.42%)；Mn-IgG的AUC最低(0.603，95% CI: 0.514-0.692)，最佳诊断阈值为≥41.68 AU/mL时，敏感性和特异性分别为51.28%(95% CI: 40.39%-62.05%)和74.70%(95% CI: 64.40%-82.81%)，提示其诊断效能有限。联合检测时，G试验+Mn试验两项联合检测的AUC为0.875(95% CI: 0.809-0.925)，G试验+Mn-IgG两项联合检测的AUC为0.869(95% CI: 0.805-0.917)，G试验+Mn试验+Mn-IgG三项联合检测的AUC为0.875(95% CI: 0.809-0.924)均高于G试验单独检测，提示将G试验联合Mn试验和/或Mn-IgG时，可进一步提高IC的诊断效能。此外，Mn试验+Mn-IgG两项联合检测的

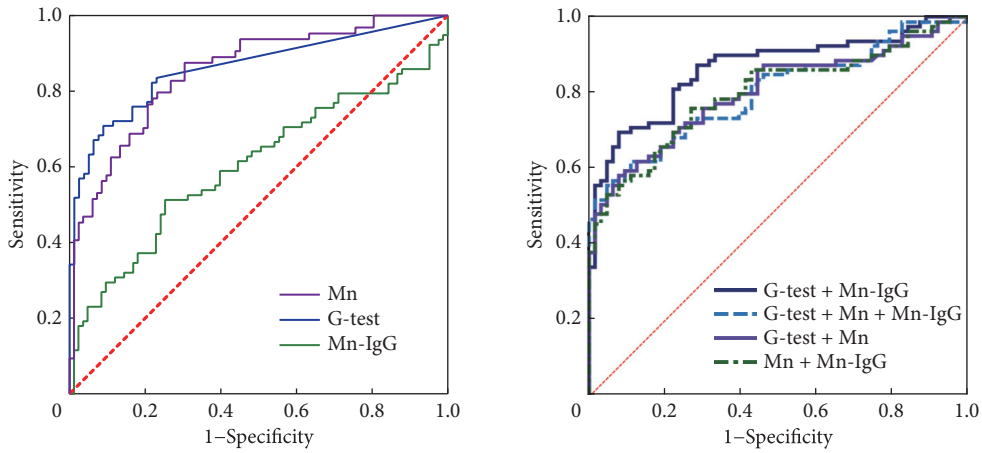

图 2 G试验、Mn抗原、Mn-IgG单独检测和联合检测ROC曲线

Fig 2 ROC curves for G test, Mn antigen, and Mn-IgG in separate and combined analyses

AUC为0.851(95% CI: 0.783-0.905)与Mn试验单项检测(0.853)基本持平,提示念珠菌抗原抗体的联合策略未显示出协同增益的效果。

2.6 G试验对不同念珠菌种的敏感性

G试验对白念珠菌、近平滑念珠菌、光滑念珠菌、热带念珠菌和其他菌种的敏感性分别为60.00%(95% CI: 40.75%-76.78%)、65.00%(95% CI: 40.95%-83.69%)、64.71%(95% CI: 38.62%-84.74%)、55.56%(95% CI: 22.65%-84.66%)和100.00%(95% CI: 19.79%-100.00%)。在不同菌种中的平均浓度水平分别为246.1 pg/mL、248.7 pg/mL、207.9 pg/mL、233.8 pg/mL和110.0 pg/mL。各组敏感性及浓度差异无统计学意义,菌种类型不影响G试验的敏感性与浓度水平。

3 讨论

念珠菌属是院内住院患者真菌感染的主要原因,影响世界范围内的发病率和死亡率[7]。侵袭性念珠菌病和念珠菌血症通常发生在具有一种或多种高危因素的患者,包括免疫功能低下或危重患者。早期诊断和及时抗真菌治疗可有效改善侵袭性念珠菌病的预后[12]。真菌培养是临床常用的诊断手段,能明确病原体并指导治疗,但其耗时较长,且易受标本采集、运送污染等因素干扰[14]。这些局限常影响临床及时准确诊断,进而延误治疗。因此,寻找快速、可靠的非培养诊断方法具有重要临床意义。本研究系统性评估了G试验、Mn抗原、Mn-IgG抗体与实时荧光PCR在IC诊断中的性能,并探索了多指标联合策略的价值,为优化诊断路径提供了新证据。

本研究显示,实时荧光PCR对IC展现出优异诊断效能,敏感性和特异性分别为100%和98.80%,显著优于传统血清学标志物,且与质谱鉴定的结果提示,两种方法对白念珠菌和热带念珠菌鉴定完全一致。这一结果与全球念珠菌病诊断指南强调的菌种精准鉴定需求高度契合,为临床抗真菌药物精准选择提供了关键技术支撑。相较于耗时较长的传统培养,PCR可在2 h内实现对血清样本中念珠菌特异性核酸片段的快速检测及常见致病菌种(白念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、近平滑念珠菌)的同步鉴定,具有速度快、敏感性高、所需样本量少的特点;相较于传统血清学标志物,PCR可精准鉴定至菌种水平,是实现个体化精准治疗的重要前提。值得注意的是,目前国内系统性探讨PCR对IC诊断价值的临床研究报道仍较有限,而国外已开发的商业分子检测方法虽见报道,但其敏感性差异悬殊(21%~100%)[15-18]。TROVATO等[15]对7例确诊IC、10例临床诊断IC患者和43例对照组样本进行PCR检测,其敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为83.3%、94.3%、87.5%,和91.7%。本研究严格以血液及无菌体液培养阳性作为诊断金标准,排除了临床诊断及拟诊病例,有效降低诊断不确定性带来的偏倚,更客观评价PCR检测的诊断性能,结果优于多数文献报道,为国内IC的快速、精准诊断提供了有力证据。FELIX等[19]的前瞻性多中心研究显示PCR在20例确诊IC患者中与血培养菌种鉴定完全一致。本研究进一步扩大样本量(纳入79例确诊IC患者),将常见导致IC的白念珠菌、近平滑念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌鉴定至种水平,为IC的快速精准诊断提供了更可靠的循证依据。

血清学检测中,G试验对IC诊断敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值分别为62.03%、94.87%、92.45和71.15%,特异性和阳性预测值较好,敏感性和阴性预测值有限。Mn抗原对IC诊断敏感性、特异性分别为65.63%和86.59%,联合Mn-IgG抗体检测敏感性、特异性分别为71.88%和78.05%。若G试验、Mn抗原与Mn-IgG抗体三项联合检测虽将敏感性提升至73.44%,但特异性随之降低至80.77%。ROC曲线分析显示G试验联合Mn试验和/或Mn-IgG时,可有效弥补单独检测的效能不足,Mn试验和Mn-IgG两项联合检测的AUC并未显著超越单项最佳指标,甚至效能有所衰减。分析可能的原因,考虑感染早期或免疫功能低下患者可能检测不到念珠菌特异性IgG抗体,造成假阴性结果[10,20],敏感性下降,导致联合检测策略未改善诊断效能。

通过ROC曲线分析得到的最佳诊断阈值低于试剂盒推荐的阳性阈值。若采用ROC曲线分析确定的最佳诊断阈值,G试验、Mn抗原及Mn-IgG抗体的敏感性和特异性分别为70.89%和91.03%、87.50%和69.51%、51.28%和74.70%,虽然在敏感性上有一定幅度提升但特异性下降,提示临床实践中,需要结合具体临床需求优化阈值设定。同时,建议在可能条件和场景下针对不同患者人群制定个体化最佳诊断阈值,以兼顾诊断效能与临床实际应用需求,提升侵袭性念珠菌病精准诊断。

有报道提出G试验对念珠菌血症的敏感性与菌种高度相关,对近平滑念珠菌敏感性最低[12]。而本研究中G试验对白念珠菌、近平滑念珠菌、光滑念珠菌和热带念珠菌的敏感性分别为60.00%、65.00%、64.71%和55.56%。G试验对白念珠菌和热带念珠菌敏感性相对较低,但在不同念珠菌种间的敏感性和浓度水平均差异无统计学意义,可能为样本数量的影响,未来需扩大队列深入探索。

本研究存在一些局限性。首先,研究涉及大量指标比较,尽管检验水准设置为0.05,但未对多重假设检验进

行校正,可能会增加假阳性的风险,结果应视为探索性结论。其次,其单中心回顾性设计,虽然IC组死亡率更高,但无法直接明确感染对患者死亡风险的影响,未来仍需要大样本研究充分阐述。

综上所述,实时荧光PCR是IC诊断及菌种鉴定的最优工具,尤其适用于精准治疗需求场景;而G试验与Mn抗原可作为高特异性辅助指标。联合检测虽提高敏感性,但伴随特异性下降,需结合临床表现,减少误诊风险。

* * *

作者贡献声明 MD ALI HOSSAIN负责调查研究、研究方法、可视化和初稿写作,彭亮和周晓涵负责正式分析和调查研究,袁余负责调查研究和验证,马莹负责论文构思、数据审编、研究项目管理、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution MD ALI HOSSAIN is responsible for investigation, methodology, visualization, and writing--original draft. PENG Liang and ZHOU Xiaohan are responsible for formal analysis and investigation. YUAN Yu is responsible for investigation and validation. MA Ying is responsible for conceptualization, data curation, project administration, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

[1] DENNING D W. Global incidence and mortality of severe fungal disease. Lancet Infect Dis, 2024, 24(7): e428-e438. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00692-8.

[2] NAVARATHNA D H, RACHUT E R, JINADATHA C, *et al*. Disseminated invasive candidiasis in an immunocompetent host. Fed Pract, 2019, 36(9): 425-429.

[3] 刘琳, 王慧, 刘宁宁. 侵袭性念珠菌感染在免疫力低下人群中的流行病学和治疗进展. 上海交通大学学报(医学版), 2021, 41(04): 525-529. doi: 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.04.018.
LIU L, WANG H, LIU N N. Advances in epidemiology and treatment of invasiveCandida infection in the immunocompromisedpopulation. J Shanghai Jiao Tong Univ (Med Sci). 2021, 41(04): 525-529. doi: 10.3969/j.issn.1674-8115.2021.04.018.

[4] QUINDOS G, MARCOS-ARIAS C, SAN-MILLAN R, *et al*. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar Candida albicans to multiresistant Candida auris. Int Microbiol, 2018, 21(3): 107-119. doi: 10.1007/s10123-018-0014-1.

[5] PERLIN D S, RAUTEMAA-RICHARDSON R, ALASTRUEY-IZQUIERDO A. The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. Lancet Infect Dis, 2017, 17(12): e383-e392. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30316-X.

[6] XIAO M, CHEN S C, KONG F, *et al*. Distribution and Antifungal susceptibility of Candida Species Causing Candidemia in China: An update from the CHIF-NET study. J Infect Dis, 2020, 221(Suppl 2): S139-S147. doi: 10.1093/infdis/jiz573.

[7] World Health Organization. WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action. Available from: https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241

[8] CORNELY O A, SPRUTE R, BASSETTI M, *et al*. Global guideline for the diagnosis and management of candidiasis: an initiative of the ECMM in cooperation with ISHAM and ASM. Lancet Infect Dis, 2025, 25(5): e280-e293. doi: 10.1016/S1473-3099(24)00749-7.

[9] MENDONCA A, SANTOS H, FRANCO-DUARTE R, *et al*. Fungal infections diagnosis - Past, present and future. Res Microbiol, 2022, 173(3): 103915. doi: 10.1016/j.resmic.2021.103915.

[10] 杨启文, 倪语星, 林丽开, 等. 临床微生物实验室真菌检测能力建设基本要求专家共识. 中华检验医学杂志, 2019, 42(7): 514-528. doi: 10.3760/cma.j.issn.1009-9158.2019.07.006.

[11] 施毅, 赵江南. 侵袭性真菌病病原学非培养实验室诊断方法. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(7): 500-505. doi: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2019.07.008.

[12] 朱利平, 管向东, 黄晓军, 等. 中国成人念珠菌病诊断与治疗专家共识. 中国医学前沿杂志(电子版), 2020, 12(01): 35-50. doi: 10.12037/YXQY.2020.01-06.
ZHU L P, GUAN X D, HUANG X J, *et al*. Chinese consensus on the diagnosis and management of adult candidiasis. Chinese Journal of the Frontiers of Medical Science (Electronic Version), 2020, 12(01): 35-50. doi: 10.12037/YXQY.2020.01-06.

[13] DONNELLY J P, CHEN S C, KAUFFMAN C A, *et al*. Revision and update of the consensus definitions of invasive fungal disease from the european organization for research and treatment of cancer and the mycoses study group education and research consortium. Clin Infect Dis, 2020, 71(6): 1367-1376. doi: 10.1093/cid/ciz1008.

[14] 申旺, 杨文丽, 叶丽燕, 等. G试验在侵袭性念珠菌病中的临床价值. 中国真菌学杂志, 2019, 14(2): 78-82. doi: 10.3969/j.issn.1673-3827.2019.02.004.
SHEN W, YANG W L, YE L Y, *et al*. The clinical value of G test in invasive candidiasis.Chin J Mycol, 2019, 14(2): 78-82. doi: 10.3969/j.issn.1673-3827.2019.02.004.

[15] TROVATO L, CALVO M, PALERMO C I, *et al*. The Role of the OLM CandID Real-Time PCR in the Invasive Candidiasis Diagnostic Surveillance in Intensive Care Unit Patients. Microorganisms, 2025, 13(3): 674. doi: 10.3390/microorganisms13030674.

[16] KOC O, KESSLER H H, HOENIGL M, *et al*. Performance of Multiplex PCR and beta-1, 3-D-Glucan Testing for the Diagnosis of Candidemia. J Fungi (Basel), 2022, 8(9): 972. doi: 10.3390/jof8090972.

[17] PRICE J S, FALLON M, POSSO R, *et al*. An Evaluation of the OLM CandID Real-Time PCR to Aid in the Diagnosis of Invasive Candidiasis When Testing Serum Samples. J Fungi (Basel), 2022, 8(9): 935. doi: 10.3390/jof8090935.

[18] NIETO M, ROBLES J C, CAUSSE M, *et al*. Polymerase Chain Reaction Versus Blood Culture to Detect Candida Species in High-Risk Patients with Suspected Invasive Candidiasis: The MICAFEM Study. Infect Dis Ther, 2019, 8(3): 429-444. doi: 10.1007/s40121-019-0248-z.

[19] FELIX GN, de FREITAS VLT, da SILVA JUNIOR AR, *et al*. Performance of a real-time PCR assay for the detection of five candida species in blood samples from ICU patients at risk of candidemia. J Fungi (Basel), 2023, 9(6): 635. doi: 10.3390/jof9060635.

[20] 河南省微生物学会临床微生物专业委员会, 河南省医学会微生物与免疫学分会. 侵袭性真菌感染快速检测河南专家共识. 河南医学研究, 2024, 33(16): 2881-2887. doi: 10.3969/j.issn.1004-437X.2024.16.001.
Clinical Microbiology Division of Henan Society of Microbiology, Microbiology and Immunology Branch of Henan Medical Association. Expert consensus on rapid detection of invasive fungal infection in Henan province. Henan Med Res, 2024,33(16): 2881-2887. doi: 10.3969/j.issn.1004-437X.2024.16.001.

(2025 – 06 – 15收稿, 2026 – 01 – 08修回)

编辑 汤 洁

开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0),详细信息请访问https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

© 2026《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*