

1 种检测下呼吸道标本中念珠菌核酸试剂的性能评价

余丹¹ 韩雨琦¹ 马红玲¹ 耿帜¹ 陈家颖¹ 李辰¹ 陈凤花¹

[摘要] **目的:**评估 1 种应用实时荧光 PCR 法检测念珠菌(包括白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌)核酸试剂的性能是否满足临床应用要求。**方法:**①应用含白色念珠菌 10^6 和 10^8 CFU/mL 2 种浓度水平的临床混合下呼吸道样本,按照 EP15-A3 文件 5×5 精密度设计方案,5 d 内每天每种浓度做 5 个复孔,共计 25 孔,提取核酸后应用该试剂扩增以评价其重复性和实验室内精密度;②应用白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌 3 种念珠菌标准株及大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌标准株菌液,提取核酸后应用该试剂扩增以评价其特异性;③将白色念珠菌标准株用生理盐水 10 倍梯度稀释为 1×10^5 、 1×10^4 、 1×10^3 和 1×10^2 CFU/mL,5 d 内每天每种浓度 4 个复孔,共计 20 个复孔,提取核酸后应用该试剂扩增以评价其检出限;④收集 101 例来自呼吸系统疾病患者的下呼吸道标本,提取核酸后应用该试剂扩增检测,并与真菌培养法的结果进行比较,以评价其符合率。**结果:**①该试剂检测含白色念珠菌 10^8 CFU/mL 和 10^6 CFU/mL 的临床混合样本的重复性精密度分别为 2.18% 和 1.32%,实验室内精密度分别为 2.18% 和 1.36%;②该试剂检测白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌标准株的结果均为阳性,检测大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌标准株的结果均为阴性,无交叉反应;③该试剂检测 1×10^5 、 1×10^4 、 1×10^3 和 1×10^2 CFU/mL 的白色念珠菌标准株的检出率分别 100.00% (20/20)、100.00% (20/20)、65.00% (13/20) 和 25.00% (5/20),检出限为 5.8×10^3 (95%CI $2.3 \times 10^3 \sim 4.3 \times 10^4$) CFU/mL;④101 例下呼吸道标本,该试剂检出的阳性率为 79.21% (80/101),真菌培养法的阳性率为 58.42% (59/101),2 者间差异有统计学意义 ($P < 0.05$);2 种方法检测结果一致性中等 ($Kappa=0.5388$),阳性符合率为 100.00% (59/59),阴性符合率为 50.00% (21/42)。**结论:**该试剂的精密度高、特异性好,与真菌培养的一致性中等,能基本满足临床应用要求。

[关键词] 念珠菌;实时荧光 PCR;精密度;检出限;性能评价

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2022.12.003

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Performance evaluation of a nucleic acid detection kit for detecting three kinds of candida in lower respiratory tract samples

SHE Dan HAN Yuqi MA Hongling GENG Zhi CHEN Jiaying
LI Chen CHEN Fenghua

(Department of Clinical Laboratory, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430022, China)

Corresponding author: CHEN Fenghua, E-mail: chfh100@126.com

Abstract Objective: To evaluate the performance of the nucleic acid detection kit for three kinds of *Candida* including *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida glabrata* using real-time fluorescent polymerase chain reaction(PCR), and assess whether it meets clinical needs. **Methods:** ① The clinical mixed samples with high and low concentrations of *Candida albicans* (10^8 CFU/ml and 10^6 CFU/mL) were extracted and tested five times per day in a single run for five days using the kit, and the repeatability and within-laboratory precision were calculated following EP15-A3. ② The standard strains of *Candida Albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus* were used to verify the specificity of the kit. ③ The 1×10^5 , 1×10^4 , 1×10^3 and 1×10^2 CFU/mL of *Candida albicans* standard strain were extracted and tested four times per day in a single run for five days using the kit. The positive rate of each dilution was counted and the limit of detection(LoD) was evaluated. ④ The 101 lower respiratory tract samples from the patients with respiratory diseases were collected, and detected by both real-time fluorescent PCR and fungal culture. The coincidence rate of both assays was analyzed. **Results:** ① The repeatability and within-laboratory precision of the kit were 2.18% and 2.18% at 10^8 CFU/mL, and 1.32% and 1.36% at 10^6 CFU/mL, respectively. ② The standard strains of *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida glabrata* were tested positive using the kit, and the standard strains of the other five bacteria including *Esch-*

¹华中科技大学同济医学院附属协和医院检验科(武汉,430022)

通信作者:陈凤花,E-mail:chfh100@126.com

erichia coli, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus* were tested negative by the kit. ③The detection rates of *Candida albicans* standard strain with different concentration were 100.00%(20/20) for 1×10^5 CFU/mL, 100.00%(20/20) for 1×10^4 CFU/mL, 65.00%(13/20) for 1×10^3 CFU/mL and 25.00%(5/20) for 1×10^2 CFU/mL using the kit, respectively. The limit of detection (LoD) was 5.8×10^3 (95%CI 2.3×10^3 - 4.3×10^4) CFU/mL. ④We evaluated the concordance between real-time fluorescent PCR and fungal culture in the 101 lower respiratory tract samples. The results were 80(79.21%) positive and 21(20.79%) negative detected by real-time fluorescent PCR, and 59(58.42%) positive and 42(41.58%) negative detected by fungal culture method, respectively. There was significant difference between the qualitative results detected by both assays($P < 0.05$). The moderate agreement was observed between both assays(Kappa=0.538 8). The positive percent agreement and the negative percent agreement were 100.00%(59/59) and 50.00%(21/42) respectively. The overall agreement was 79.21%(80/101). **Conclusion:** The nucleic acid detection kit of three kinds of *Candida* had good performance with high precision and good specificity, and exhibited moderate agreement with fungal culture, and could basically meet the clinical needs.

Key words candida; real-time fluorescent polymerase chain reaction; precision; limit of detection; performance evaluation

真菌侵入人体引起炎症反应和器官功能障碍被称为侵袭性真菌病,又以念珠菌最为常见,被称为侵袭性念珠菌病(invasive candidiasis, IC),病死率高达 40%^[1-2]。目前,由于肿瘤放疗、应用免疫抑制剂、气管插管等各种病因导致的机体免疫功能低下以及广谱抗生素的大量使用,使得 IC 患者逐年上升^[3]。多项研究报道,IC 中感染的念珠菌属中白色念珠菌占首要位置,光滑念珠菌和热带念珠菌的比例也逐年上升^[4-6]。目前 IC 的实验室诊断方法主要为真菌培养法,但其检测周期长,需 2~3 d,研究显示 IC 的治疗越早越好,若延误 1~2 d,患者的死亡率可增加一倍^[7-9]。因此快速、准确、及时地鉴别真菌感染非常重要,有助于早期诊断和精准治疗。

随着分子生物学的不断发展,以实时荧光 PCR 为主的核酸扩增技术(nucleic acid amplification test, NAAT)开始应用于真菌核酸检测^[10],及时为真菌感染的临床诊断提供实验室依据,且具有高特异性、高灵敏度、检测时间短等优势。目前国家药品监督管理局(NMPA)已批准了几种应用 NAAT 定性检测临床标本中真菌核酸的试剂盒,但其在临床实验室应用的性能如何有待验证。本研究针对 1 种应用实时荧光 PCR 法检测下呼吸道标本中白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌核酸试剂进行性能评价,包括精密度、特异性、检出限和符合率,以评估是否满足临床应用要求。

1 资料与方法

1.1 标本

1.1.1 临床标准菌株 选择经临床微生物室鉴定为白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌的临床标准菌株,配制菌液备用。

1.1.2 临床混合下呼吸道样本 我院 2021 年 8 月收集的白色念珠菌强阳性的下呼吸道标本经阴

性标本稀释获得。

1.1.3 临床样本 我院 2021 年 3 月至 8 月来自 ICU、心外 ICU、胸部肿瘤、肿瘤 ICU、心脏大血管、呼吸与危重症科、血液科 HCU 等 85 例患者的下呼吸道标本(包括深部痰 99 例和支气管肺泡灌洗液 2 例),其中男 49 例,女 36 例;患者年龄 15~88 岁,中位 62 岁。其中 6 例患者有 2 份标本,2 例患者有 3 份标本,2 例患者有 4 份标本,剩余 75 例患者每人 1 份标本,共计 101 例标本。

1.2 仪器与试剂

ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪(美国赛默飞公司)、VITEK MS 全自动微生物质谱检测系统(梅里埃公司)、HWS-250BX 恒温恒湿箱(天津泰斯特公司);Oxoid 痰消化液(SR0233A);痰液(真菌)DNA 提取试剂盒(柱提法,浙杭械备 20170294)和白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌核酸检测试剂盒(荧光 PCR 法)(20203400469,杭州缔蓝生物技术有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 真菌核酸提取 收集经等体积 Oxoid 痰消化液在常温下充分液化 10~20 min 后的深部痰标本或支气管肺泡灌洗液标本,取 1 mL 离心获得沉淀,用生理盐水洗涤后,应用痰液(真菌)DNA 提取试剂盒提取真菌核酸(大约耗时 2 h)。

1.3.2 实时荧光 PCR 检测 3 种念珠菌核酸 PCR 反应体系总体积为 20 μ L,包括 16 μ L 荧光 PCR 混合液和 4 μ L 模板,在 ABI7500 实时荧光定量 PCR 仪上进行扩增,扩增条件:50 $^{\circ}$ C 2 min;95 $^{\circ}$ C 10 min;95 $^{\circ}$ C 15 s,56 $^{\circ}$ C 30 s 检测荧光(FAM 和 HEX 通道),40 个循环。扩增时长约 60 min。严格按照试剂说明书判读结果,阴、阳性质控在控方可进行结果分析。

1.3.3 精密度评价 应用 2 种含白色念珠菌分别为 10^6 和 10^8 CFU/mL 的临床混合样本,按照 EP15-

A3 文件的 5×5 精密度设计方案,5 d 内每天每种浓度做 5 个复孔,共计 25 孔,提取核酸后应用该试剂扩增,根据靶基因的循环阈值(cycle threshold, Ct)计算重复性和实验室内精密度。

1.3.4 特异性评价 应用白色念珠菌、热带念珠菌、光滑念珠菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌、金黄色葡萄球菌标准菌株液,提取核酸后应用该试剂扩增以评价其特异性。

1.3.5 检出限评价 将白色念珠菌标准株用生理盐水 10 倍梯度稀释为 1×10^5 、 1×10^4 、 1×10^3 和 1×10^2 CFU/mL,5 d 内每天每种浓度 4 个复孔,共计 20 个复孔,提取核酸后应用该试剂扩增以评价其检出限。

1.3.6 符合率评价 将 101 例下呼吸道标本提取核酸后应用该试剂扩增检测,并与真菌培养法的结果进行比较,以评价其符合率。真菌培养法:将 Oxoid 痰消化液液化后的深部痰或支气管肺泡灌洗液接种于迪景 9 cm 沙保氏琼脂平板,置于 30.0℃、55% RH 培养箱中生长,连续观察 4 d 并进行质谱鉴定。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计数资料以例数和 % 表示,2 种方法检出率比较采用 Fisher 精确概率法,一致性分析采用 Kappa 检验,检出限采用 Probit 分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 精密度评价结果

应用含白色念珠菌 10^6 和 10^8 CFU/mL 2 种浓度水平的临床混合样本,5 d 内每天每个浓度一批重复 5 次,提取核酸后应用该试剂扩增检测,Ct 值的重复性和实验室内精密度见表 1,均 $\leq 5\%$,符合试剂厂家声称的精密度。

表 1 念珠菌核酸检测试剂的精密度评价结果

浓度水平/ (CFU · mL ⁻¹)	重复性精密度		实验室内精密度	
	$\bar{X} \pm S$	CV/%	$\bar{X} \pm S$	CV/%
10^6	24.84±0.33	1.32	24.84±0.34	1.36
10^8	18.28±0.40	2.18	18.28±0.40	2.18

2.2 特异性评价结果

应用该试剂检测白色念珠菌、光滑念珠菌和热带念珠菌的标准菌株均为阳性,大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌均为阴性,无交叉反应,该试剂的特异性验证通过。

2.3 检出限评价结果

该试剂检测 1×10^5 、 1×10^4 、 1×10^3 和 $1 \times$

10^2 CFU/mL 白色念珠菌标准株的检出率分别为 100.00%(20/20)、100.00%(20/20)、65.00%(13/20)和 25.00%(5/20)。根据 Probit 分析算得该试剂 95% 检出的检出限为 5.8×10^3 (95% CI $2.3 \times 10^3 \sim 4.3 \times 10^4$) CFU/mL。

2.4 符合率评价结果

101 例下呼吸道标本真菌培养检出念珠菌的阳性率为 58.42%(59/101),其中白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌分别检出 42、11 和 6 例;而 42 例(41.58%)标本真菌培养未检出念珠菌,其中 41 例标本未检出真菌,1 例检出酿酒酵母菌。应用该试剂检测这些下呼吸道标本中念珠菌核酸的阳性率为 79.21%(80/101),应用 Fisher 精确概率法检验发现 2 种方法检测的阳性率差异有统计学意义($P < 0.05$)。应用 Kappa 检验分析发现 2 种方法的检测结果一致性中等,Kappa 值为 0.538 8 (95% CI 0.383 0 ~ 0.694 6),阳性符合率为 100.00%(59/59) (95% CI 93.94% ~ 100.00%),阴性符合率为 50.00%(21/42) (95% CI 34.19% ~ 65.81%),阳性预测值为 73.75%(59/80) (95% CI 62.71% ~ 82.96%),阴性预测值为 100.00%(21/21) (95% CI 83.89% ~ 100.00%),总符合率为 79.21%(80/101) (95% CI 69.99% ~ 86.64%)。

对于送检了 2 份及以上标本的 10 例患者,其中 1 例患者的 2 份标本均未检出真菌,1 例患者的 2 份标本均培养出光滑念珠菌,1 例患者的 3 份标本均培养出热带念珠菌,剩余 7 例患者的 2 份及以上标本均培养出白色念珠菌,而应用该试剂检测这些样本的结果与真菌培养的完全一致。

3 讨论

念珠菌是真菌中最常见的条件致病菌^[11],通常定植于人体与外界相通的口腔、鼻咽等,当机体免疫功能低下时,其入侵下呼吸道并进行大量增殖,从而导致 IC^[12]。念珠菌感染呼吸道黏膜,引起分泌物堵塞呼吸道,甚至造成呼吸衰竭等,严重危及患者生命。近年来,大量抗真菌药物的使用并没有使 IC 的发病率获得有效改善^[13],由于传统的真菌培养法鉴定时间长、灵敏度低,而肺念珠菌病情进展迅速,若不能及时诊断,延误最佳治疗时机,抗真菌治疗将变得十分困难^[14]。因此,IC 的早期诊断和早期治疗是降低患者病死率的关键。

本研究中所应用的念珠菌核酸检测试剂,已获 NMPA 批准,是根据白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌 3 种念珠菌的同源保守基因组核糖体基因 DNA 片段设计特异性共同引物及荧光标记的探针,通过检测荧光信号的强度变化和扩增曲线的形状以判断临床标本中是否存在这 3 种念珠菌核酸。本研究发现,该试剂检测含白色念珠菌 10^8 CFU/mL 和 10^6 CFU/mL 的临床混合样本的重

复性和实验室内精密度均小于 5%,符合试剂厂家声称的精密度;对下呼吸道常见病原菌如大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和金黄色葡萄球菌不产生交叉反应,均为阴性检测结果,而对白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌标准株的检测均为阳性结果,符合厂家声称的特异性;检测 1×10^5 、 1×10^4 、 1×10^3 和 1×10^2 CFU/mL 的白色念珠菌标准株的检出率分别 100.00%、100.00%、65.00%和 25.00%,经 Probit 分析得到的检出限为 5.8×10^3 (95% CI $2.3 \times 10^3 \sim 4.3 \times 10^4$) CFU/mL,未达到厂家声称的检出限 1×10^3 CFU/mL;对于 101 例下呼吸道标本,真菌培养检出 3 种念珠菌的阳性率为 58.42%,该试剂检出 3 种念珠菌核酸的阳性率为 79.21%,经 Fisher 精确概率法检验发现 2 种方法检出率差异有统计学意义 ($P < 0.05$);应用 Kappa 检验发现 2 种方法检测结果一致性中等 (Kappa = 0.538 8),阳性符合率为 100.00% (59/59),阴性符合率为 50.00% (21/42),总符合率为 79.21% (80/101)。

本研究中经真菌培养鉴定为念珠菌阳性的 59 例临床样本,该试剂全部检出,2 种方法的阳性符合率为 100.00%,提示该试剂具有不低于真菌培养的检出能力,但无论真菌培养还是实时荧光 PCR 均不能区分检出的这 3 种念珠菌是污染、定植还是感染,需结合患者的临床表现、影像学改变、实验室检查、基础疾病及是否存在罹患真菌感染的危险因素等综合考虑。美国感染病学会 (IDSA) 推荐:自呼吸道分泌物分离的念珠菌通常为定植菌,很少需要抗真菌治疗^[4]。这些定植菌绝大部分为白色念珠菌、光滑念珠菌和热带念珠菌^[15]。此外,有研究证实,ICU 念珠菌定植患者进展成 IC 的比率显著高于非念珠菌定植患者,适当的抗真菌治疗可使重症患者明显获益^[16]。

在真菌培养念珠菌阴性的 42 例临床样本,经该试剂检测发现有 21 例样本为阳性,2 种检测方法结果不一致的可能原因在于不论临床标本中 3 种念珠菌的含量多少、活性如何,只要其中所含念珠菌的核酸模板量达到该试剂的检出限就能检出,而真菌培养只能检出一定量具有活性的念珠菌,且其分析灵敏度远低于实时荧光 PCR。而这 2 种方法检测结果不一致的 21 例样本主要来源于呼吸与危重症科、ICU、心外 ICU、感染科、血液科 HCU 等几个病区,由于免疫力低下、长期使用广谱抗生素,致使这些病区的患者体内菌群紊乱,是 IC 的高危人群;其中有 2 位患者在临床使用广谱抗真菌药物氟康唑后,发热等感染症状明显缓解,提示临床高度怀疑真菌感染。

综上所述,该试剂的精密度高、特异性好,分析灵敏度高于真菌培养,且检测耗时短,可明显缩短

标本周转时间,基本满足临床应用要求。其不足之处在于可检出 3 种念珠菌核酸,但不能区分白色念珠菌、热带念珠菌和光滑念珠菌;另外其检测结果阳性也不能区分念珠菌污染、定植还是感染,需结合患者临床表现、其他实验室检查、高危因素及治疗反应等临床情况综合考虑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ben-Ami R. Treatment of Invasive Candidiasis: A Narrative Review[J]. J Fungi(Basel), 2018, 4(3):97.
- [2] Kidd SE, Chen SC, Meyer W, et al. A New Age in Molecular Diagnostics for Invasive Fungal Disease: Are We Ready? [J]. Front Microbiol, 2019, 10:2903.
- [3] Enoch DA, Yang H, Aliyu SH, et al. The Changing Epidemiology of Invasive Fungal Infections[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1508:17-65.
- [4] Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America[J]. Clin Infect Dis, 2016, 62(4):e1-50.
- [5] 杨靖娴, 邵冬华, 郭莉娜, 等. 北京某医院侵袭性念珠菌感染的菌株分布及药敏分析[J]. 中国真菌学杂志, 2020, 15(6):359-363, 370.
- [6] Bongomin F, Gago S, Oladele RO, et al. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision[J]. J Fungi(Basel), 2017, 3(4):57.
- [7] Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, et al. Invasive candidiasis [J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4:18026.
- [8] Ginn AN, Halliday CL, Douglas AP, et al. PCR-based tests for the early diagnosis of sepsis. Where do we stand? [J]. Curr Opin Infect Dis, 2017, 30(6):565-572.
- [9] 高兴娟, 杨兴唐, 刘守珠, 等. ICU 患者肺部真菌感染预测模型的建立和预测效能评价[J]. 临床血液学杂志, 2021, 34(6):403-406, 411.
- [10] Schelenz S, Barnes RA, Barton RC, et al. British Society for Medical Mycology best practice recommendations for the diagnosis of serious fungal diseases[J]. Lancet Infect Dis, 2015, 15(4):461-474.
- [11] 任成山, 郭乔楠. 进一步提高对下呼吸道念珠菌感染的认识[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2016, 9(5):471-478.
- [12] Puig-Asensio M, Padilla B, Garnacho-Montero J, et al. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in Candida bloodstream infections: a population-based surveillance in Spain[J]. Clin Microbiol Infect, 2014, 20(4):O245-O254.
- [13] Patch ME, Weisz E, Cubillos A, et al. Impact of rapid, culture-independent diagnosis of candidaemia and invasive candidiasis in a community health system[J]. J Antimicrob Chemother, 2018, 73(suppl_4):iv27-iv30.

(下转第 860 页)

- 胞苷与 Venetoclax 治疗难治/复发急性髓系白血病疗效观察[J]. 新乡医学院学报, 2021, 38(6): 580-584.
- [3] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 中国复发难治性急性髓系白血病诊疗指南(2021年版)[J]. 中华血液学杂志, 2021, 42(8): 624-627.
- [4] Linhares P, Viana-Pereira M, Ferreira M, et al. Genetic variants of vascular endothelial growth factor predict risk and survival of gliomas[J]. *Tumour Biol*, 2018, 40(3): 1010428318766273.
- [5] 吴福群, 阴常欣, 邓绍团, 等. 急性髓系白血病患者血清 sPD-L1、VEGF 表达及相关性[J]. 中国医药导报, 2019, 16(20): 76-79, 87.
- [6] Åström P, Juurikka K, Hadler-Olsen ES, et al. The interplay of matrix metalloproteinase-8, transforming growth factor- β 1 and vascular endothelial growth factor-C cooperatively contributes to the aggressiveness of oral tongue squamous cell carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2017, 117(7): 1007-1016.
- [7] 雷永兰, 牛敏, 李靖, 等. NLR 联合血清 β 2-MG、TGF- β 1 对急性髓系白血病的预后分析价值[J]. 临床血液学杂志, 2021, 34(10): 728-731.
- [8] Thol F, Ganser A. Treatment of Relapsed Acute Myeloid Leukemia[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2020, 21(8): 66.
- [9] 宗李红, 吴小霞, 张剑, 等. 维奈克拉联合阿扎胞苷治疗难治复发性急性髓系白血病疗效及安全性分析[J]. 中华血液学杂志, 2021, 42(10): 861-864.
- [10] Geindreau M, Ghiringhelli F, Bruchard M. Vascular Endothelial Growth Factor, a Key Modulator of the Anti-Tumor Immune Response[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4871.
- [11] Hisada Y, Mackman N. Tissue Factor and Cancer: Regulation, Tumor Growth, and Metastasis[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2019, 45(4): 385-395.
- [12] Infante MS, Piris MÁ, Hernández-Rivas JÁ. Molecular alterations in acute myeloid leukemia and their clinical and therapeutical implications[J]. *Med Clin (Barc)*, 2018, 151(9): 362-367.
- [13] 于艳芳, 申娜, 翟志海. 血管内皮生长因子水平对急性白血病患者预后的预测作用分析[J]. 现代中西医结合杂志, 2019, 28(30): 3398-3401.
- [14] Salemi M, Mohammadi S, Ghavamzadeh A, et al. Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Targeting by Curcumin and Thalidomide in Acute Myeloid Leukemia Cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2017, 18(11): 3055-3061.
- [15] 仲林, 关宏伟, 张朋新, 等. 早期肺腺癌中 TGF- β 1、p53、E-cadherin 的表达及其相关性[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(7): 854-856.
- [16] 任丽蓉, 官晓红, 练颖, 等. 急性髓系白血病患者血清 β 2-MG、HGF、TGF β 1 表达及临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(3): 488-492.
- [17] 张江召, 刘敏, 黄知平. 基于决策曲线分析血清 TGF- β 1、EGFR 水平对急性髓系白血病患者大剂量 AraC 治疗效果的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2022, 30(2): 407-412.
- [18] 廖雪莲, 谢晓恬, 李本尚, 等. 血管内皮生长因子对急性白血病细胞凋亡影响及相关基因表达的临床与实验研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, (6): 491-495.
- [19] 王蕾, 李艳. 外源性 TGF- β 1 对原代急性早幼粒细胞白血病细胞凋亡的影响及机制探讨[J]. 山东医药, 2014, 54(11): 22-25.
- [20] 沈璟璟, 钟璐, 陈芳源. TGF- β /Smads 信号转导与白血病细胞的关系[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2008, 49(8): 1038-1041.
- (收稿日期: 2022-06-23 修回日期: 2022-08-24)

(上接第 855 页)

- [14] Kollef M, Micek S, Hampton N, et al. Septic shock attributed to Candida infection: importance of empiric therapy and source control[J]. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(12): 1739-1746.
- [15] Azoulay E, Timsit JF, Tafflet M, et al. Candida colonization of the respiratory tract and subsequent pseudomonas ventilator-associated pneumonia [J]. *Chest*, 2006, 129(1): 110-117.
- [16] 张舸, 冯彬彬, 陆志华, 等. 机械通气患者下呼吸道念珠菌去定植治疗对预后的影响[J]. 中华医学杂志, 2017, 97(28): 2198-2201.
- (收稿日期: 2022-03-21 修回日期: 2022-05-14)