半乳甘露聚糖检测在圈养海洋动物曲霉病 早期诊断的应用

董贵信^{1,3*} 张德录² 黄泽林² 张孝敏²

梁淑余² 陈小芬² 沈博² 张鹏^{1,3}

(1 广东长隆集团有限公司, 广州 511400) (2 珠海长隆海洋王国, 珠海 519000)

(3 广东华南珍稀野生动物物种保护中心, 珠海 519031)

关键词: 半乳甘露聚糖检测; 曲霉病; 海洋动物; 感染早期; 临床应用

中图分类号: S864.7

文献标识码: A

文章编号: 1000–1050 (2022) 03–0339–06

Clinical application of galactomannan test in early diagnosis of aspergillosis in captive marine animals

DONG Guixin^{1,3*}, ZHANG Delu², HUANG Zelin², ZHANG Xiaomin², LIANG Shuyu², CHEN Xiaofen², SHEN Bo², ZHANG Peng^{1,3}

(1 Guangdong Chimelong Group, Co., Ltd., Guangzhou 511400, China)

(2 Chimelong Ocean Kingdom, Zhuhai 519000, China)

(3 Guangdong South China Rare Wild Animal Species Conservation Center, Zhuhai 519031, China)

Abstract: Aspergillosis is one of the most common diseases in captive marine animals, and the early diagnosis of infection has not been reported. Galactomannan (GM) test is a good method for *Aspergillus* detection, which has a high clinical value in the early diagnosis of human medical *Aspergillus* infection, and can significantly improve the detection rate of *Aspergillus* patients. The purpose of this study was to investigate the clinical value of the GM test in the early diagnosis of aspergillosis infection in captive marine animals. The serum of 106 captive marine animals was tested for GM antigen, 25 were positive and 81 were negative. The dynamic changes of GM antigen levels before and after antifungal treatment were detected in 21 positive individuals. In addition, clinical data of the infected animals were collected for statistical analysis, and the value of GM detection for the early diagnosis of *Aspergillus* infection in captive marine animals was evaluated. When single I ≥ 0.7 was used as the positive threshold for sea mammals and single I ≥ 1.2 as the positive threshold for seabirds, the results showed that the sensitivity and specificity of the test were 91% for sea mammals and 94% for seabirds. This study shows that the GM test can effectively reflect the degree of *Aspergillus* infection in captive Marine animals through GM test, which can be an early, rapid and accurate diagnostic index, and has high clinical application value.

Key words: Galactomannan test; Aspergillosis; Marine animals; Early infection; Clinical application

曲霉菌是广泛存在于自然界的一种腐生菌。由于曲霉菌孢子较小, 在空气中漂浮, 一般是通过呼吸道进入机体感染后引起曲霉病, 为条件性致病菌(刘正印和王爱夏, 2007)。曲霉病在人类、家畜和许多野生物种中都有发现, 引起从局部感染到致命以及对吸入孢子的过敏反应。曲霉病会引起海扇珊瑚致命性感染、蜜蜂僵化、鸟类肺部

和气囊感染、牛真菌流产和乳腺感染、马喉囊真菌病、犬和猫的鼻窦感染, 以及海洋哺乳动物和非人灵长类动物的侵入性肺部和大脑感染(Seyedmousavi *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2020)。在圈养条件下, 海洋动物很容易接触到曲霉菌。在曲霉菌数量较少的情况下, 个体如果能够很好地适应饲养环境和群体生活, 就可以保持健康不发病。曲

作者简介: 董贵信(1963–), 男, 博士, 高级兽医师, 广东长隆集团有限公司首席动植物官, 主要从事野生动物保育与科普研究。

收稿日期: 2021–07–29; 接受日期: 2022–02–23

* 通讯作者, Corresponding author, E-mail: caesar@chimelong.com

霉菌通常发生在那些不适应环境和身体虚弱的动物上。目前已从十余种海洋动物中分离出曲霉菌 (Gulland, 2018; Itoh *et al.*, 2020), 曲霉病如果在发病后期才得到诊断, 那么疗程长而且往往预后不良 (Schneider *et al.*, 2014; Gulland, 2018)。在临床兽医学上, 传统的诊断手段 (病理组织学、病原学培养等) 对曲霉病的迅速诊断并指导临床治疗作用十分有限, 易误诊误治, 疾病预后极差, 因此曲霉病诊治工作亟待进一步规范, 正确的针对圈养海洋动物曲霉菌感染早期的检测方法, 对及时治疗曲霉病具有重要意义 (Marcio and Marr, 2005; 卢洪洲等, 2018)。

曲霉菌检测方法在人类医学的研究较多, 包括半乳甘露聚糖 (Galactomannan, GM) 检测、G 检测 (β -D-葡聚糖, β -D-glucan test) 以及实时 PCR 等 (Johan *et al.*, 2002; Maertens *et al.*, 2007; 刘亚迪等, 2014)。这 3 种方法的灵敏度接近 (分别为 90.2%、87.5% 和 95.0%), 特异性也较为接近 (分别为 97.5%、89.6% 和 96.6%), 但在检测成本费用方面, GM 检测明显性价比更高 (李世荣等, 2010; 傅中明等, 2011)。GM 试验是临床和检验科室首要考量的检测方法 (中华内科杂志编辑委员会, 2007; 葛伟等, 2012)。GM 试验原理是当曲霉菌侵入机体后, 菌丝在组织中生长, 其薄弱的菌丝顶端可释放出 GM 到血液和体液中, GM 释放量与菌量成正比 (王朝霞, 2010; 卢洪洲等, 2018)。基于此原理, 检测血液和体液中的 GM 含量, 便可诊断曲霉菌。GM 检测试剂盒由美国 Bio-Rad 公司研发, 检测半乳甘露聚糖抗原, 结合无创伤手段和经典的 ELISA 方法, 通过简单操作流程, 3 h 内即可获得结果, 最主要的是半乳甘露聚糖抗原可在临床发病前 6 d 和诊断前 10 d 即可检出, 真正实现早期诊断, 为医生提供启动治疗的依据, 避免因经验治疗而造成过量的抗真菌药物毒性对患者的再次伤害, 同时也节省了治疗成本 (Marr *et al.*, 2004; Mennink-Kemten *et al.*, 2004)。目前 GM 检测已应用于实验动物 (赵蓓蕾等, 2007; 邢艳利, 2011), 对海洋动物还未见报道。

海洋动物对曲霉菌易感, 感染后期治疗难度极大, 预后不良, 迫切需要找到一种对曲霉菌感染早期诊断的方法。本文旨在借鉴人类医学的成熟技术, 探索圈养海洋动物曲霉菌感染早期的检

测方法。国内水族馆的海象 (*Odobenus rosmarus*)、企鹅 (Spheniscidae) 等海洋动物多数来源于寒冷干燥的地方, 对曲霉菌敏感, 当饲养环境中曲霉菌数量较多时很容易被感染。尽管广东珠海长隆海洋王国比较完善的饲养设备设施, 但是曲霉菌仍然对海洋动物健康具有严重的威胁。2018 年 5—11 月, 对珠海长隆海洋王国内确认或疑似患曲霉病的动物采血送检 GM 抗原, 获得诊断结果后对阳性个体展开抗真菌治疗, 同时动态检测 GM 抗原, 成功地治愈了包括海豚 (Delphinidae)、海象在内的曲霉菌早期感染病例。进一步对企鹅、海狮 (Otarriinae)、北极海雀 (Alcidae) 等动物在体检时专门筛查曲霉菌, 查找无症状病例, 结合其他血检炎症因子的对照和蛋白电泳, 对无症状但是血项已经改变、GM 抗原阳性的个体进行抗真菌治疗, 至动物 GM 抗原降低或阴性, 其他血项炎症因子也基本恢复正常。本研究通过 GM 检测海洋动物的曲霉菌感染情况, 试图找到海洋动物曲霉病的早期诊断方法, 对提高海洋动物曲霉病的治愈率作出有意义的尝试。

1 研究方法

1.1 实验动物

长隆海洋王国是国内最大的海洋动物迁地保育机构, 位于广东省珠海市横琴新区 (北纬 22°09', 东经 113°53'), 地处珠江口西岸, 濒临广阔的南海, 属亚热带季风气候, 终年气温较高, 年平均气温 22.5°C, 年平均相对湿度达 80%, 市区年平均降雨量为 2 037 mm。常年降雨充沛, 平均年降雨日 130~150 d, 冬春雨量少, 夏秋雨量多, 汛期雨量集中, 曲霉菌容易聚集且繁殖快。

本研究对象为海洋哺乳动物 74 只, 包括海豚 31 只、海象 16 只、海狮 14 只、白鲸 (*Delphinapterus leucas*) 13 只; 海鸟 32 只, 包括企鹅 28 只, 北极海雀 4 只, 均为正在治疗和常规体检的动物。海洋哺乳动物收集血样均是在良好的医疗行为驯化前提下, 动物自主配合采血; 企鹅、海雀等鸟类的血样收集方法是侧卧保定, 在展开的上侧翅内侧选择较粗较直的静脉血管采血, 在空腹情况下一次采血 4 mL, 在 1 h 内 3 000 r/min 离心 15 min, 使血清在分离胶之上, 然后取血清 (至少 1 mL) 送至广州金域医学检验中心进行 GM 抗原检测。

1.2 GM检测方法

采用ELISA检测血清GM。具体方法是取待测血清30 μL , 加入100 μL 样品处理液混匀, 于100 $^{\circ}\text{C}$ 水溶3 min, 以3 000 r/min离心10 min, 取上清液备用, 在96孔板每孔中加入50 μL 结合液, 50 μL 处理上清液, 于37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育90 min, 清洗后, 在每孔加入375 μL 的清洗液, 吸干后加入显色液200 μL , 于室温下避光孵育30 min, 加入终止液100 μL , 在波长450 nm的酶表仪下读数, 检测GM含量。按照试剂盒说明书中的步骤进行操作, 每次实验均设阴性对照、阳性对照以验证实验结果的有效性。阴性对照组为健康动物血清, 阳性对照组为感染曲霉菌的动物血清。

根据GM指数进行GM实验阳性阈值的界定(卢婷等, 2021), 计算公式: GM指数(I值)=待测样本OD值/临界值对照OD值均值。Bio-Rad公司的GM试剂盒商业化后得到广泛应用, 但十余年来对于阳性阈值的界定仍存在不同意见(Marr *et al.*, 2004)。

本研究中, 海洋动物GM值的检测进入初步研究阶段, 而且多数研究个体针对的是患病动物和曲霉菌易感动物, 且为单次检测, 因此海洋动物GM阈值的设定还是未知数。本研究开始将海洋动物的GM指数 ≥ 0.5 作为阳性判断的阈值, 但是经过对比发现, 一些海洋哺乳动物的GM指数达到0.62时血项炎症因子并未改变, 临床症状基本正常, 尤其是一些海鸟, 当GM指数达到1.15时血项炎症因子正常, 临床症状基本正常。经过反复比较, 包括各项检测数据(GM检测结果、白细胞像、炎症因子、蛋白电泳试验和肝功相关因子)综合对比分析后, 初步将海洋哺乳动物的单次GM检测指数 ≥ 0.7 作为阳性阈值, 海鸟的单次GM检测指数 ≥ 1.2 作为阳性阈值。检测的阳性个体比较符合曲霉菌感染早期的特征。为了检测治疗效果, 有针对性地对GM试验阳性个体(25只有曲霉病特征的21只阳性个体)开展抗曲霉菌治疗, 方法是口服伏立康唑片(成都华神集团股份有限公司制药厂, 每片50 mg, 海洋哺乳动物3 mg/kg PO SID; 海鸟5 mg/kg PO BID)和特比萘芬片(齐鲁制药有限公司, 每片125 mg, 海洋哺乳动物4 mg/kg PO SID; 海鸟5 mg/kg PO SID), 检测抗真菌治疗前后GM抗原水平的动态变化, 同时收集患病动物的临床资料, 进行统计学分析。

1.3 数据分析

本研究所得数据均采用SPSS 26.0统计软件展开分析。治疗前后结果采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示两组数据间存在统计学意义。数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。

2 结果

2.1 检测结果

根据本研究划定的GM检测阳性阈值, 31只海豚中检出10只阳性个体, 阳性率为32.2%; 16只海象中检出3只阳性个体, 阳性率为18.7%; 14只海狮中检出5只阳性个体, 阳性率为35.7%; 13只白鲸中没有检出阳性个体; 28只企鹅中检出5只阳性个体, 阳性率为17.8%; 4只海雀中检出2只阳性个体, 阳性率达50.0%。106例研究对象中曲霉病的总体阳性率为23.5%, 其中海雀的阳性率最高, 白鲸阳性率最低(表1)。

表1 海洋动物GM检测阈值与阳性结果

Table 1 Threshold value and positive results of GM test

动物 Animal	检查数量 Animal amount	阳性个体 Positive amount	阳性阈值 Positive threshold value	阳性百分比 Positive proportion(%)
海豚 Dolphin	31	10	≥ 0.7	32.2
海象 Walrus	16	3	≥ 0.7	18.7
海狮 Sealion	14	5	≥ 0.7	35.7
白鲸 Beluga	13	0	≥ 0.7	0
企鹅 Penguin	28	5	≥ 1.2	17.8
海雀 Puffin	4	2	≥ 1.2	50.0
总计 Total	106	25		23.5

2.2 治疗效果

21例GM阳性个体给予口服伏立康唑片或特比萘芬片单用或联合用药, 完成14~45 d的抗曲霉菌治疗, 其中19例疗效显著并治愈, 2例海鸟好转, 但是需要持续治疗。经观察, 特比萘芬单独治疗有效3例(治愈率33.3%), 伏立康唑单独治疗有效6例(治愈率50.0%), 特比萘芬联合伏立康唑治疗有效10例(治愈率83.3%)(表2)。21只阳性个体的整体治愈率为90.5%

表2 两种抗真菌药物在治疗曲霉病上的疗效观察

Table 2 Effect of two antifungal drugs on aspergillosis

治疗结果 Treatment outcome	抗真菌药物 Antifungal agent			共计 Total
	伏立康唑 Voriconazole	特比萘芬 Terbinafine	伏立康唑 + 特比萘芬 Voriconazole + Terbinafine	
治疗数量 Number of treatment	12	9	12	21
治愈数量 Number of cure	6	3	10	19
好转数量 Number of improvement			2	2
治愈率 Recovery rate(%)	50.0	33.3	83.3	90.5

2.3 治疗前后GM检测结果

2.3.1 海洋哺乳动物治疗前后GM检测结果的比较

在14只海洋哺乳动物曲霉病治疗中,治疗前的GM值为 2.36 ± 2.12 ,治疗后的GM值为 0.34 ± 0.15 ,疗程15~45 d,全部治愈。治疗前后结果对比存在显著性差异($t = 3.48, P < 0.05$) (表3)。

表3 海洋哺乳动物治疗前后GM检测结果的比较

Table 3 Comparison of GM test results of marine mammals before and after treatment

动物代号 Animal code name	治疗前GM指数 GM value of prior treatment	治疗后GM指数 GM value of after treatment
S1	4.35	0.32
S2	1.16	0.46
S3	0.75	0.36
S4	0.86	0.31
S5	0.73	0.62
D1	1.01	0.45
D2	5.60	0.27
D3	1.04	0.12
D4	0.89	0.15
W1	1.15	0.58
W2	0.80	0.17
W3	3.13	0.45
K1	4.81	0.30
K2	6.76	0.27
平均值 ± 标准差 Mean ± SD*	2.36 ± 2.12	0.34 ± 0.15

* $P < 0.05$

2.3.2 海洋鸟类治疗前后GM检测结果的比较

在7只海洋鸟类曲霉病治疗中,治疗前的GM值为 3.40 ± 2.00 ,治疗后的GM值为 0.88 ± 0.55 ,整个疗程14~45 d,5只治愈,2只好转但需要继续治疗。总体上治疗前后结果对比存在显著性差异($t = 3.227, P < 0.05$) (表4)。

表4 海洋鸟类治疗前后GM检测结果的比较

Table 4 Comparison of GM test results of marine birds before and after treatment

动物代号 Animal code name	治疗前GM指数 GM value of prior treatment	治疗后GM指数 GM value of after treatment
G1	5.10	1.12
G2	1.95	0.29
G3	1.82	1.54
G4	1.55	1.15
G5	5.71	1.43
P1	5.76	0.23
P2	1.92	0.42
平均值 ± 标准差 Mean ± SD*	3.40 ± 2.00	0.88 ± 0.55

* $P < 0.05$

3 讨论

GM为真菌的一种抗原成分,在感染早期便释放入动物血液中,动态监测其水平变化,具有早期诊断和判断疗效的作用(卢洪洲等,2018)。Plate-lia Aspergillus是目前用ELISA法检测GM的唯一商品化试剂盒,动物实验显示该试剂盒具有良好的敏感性及特异性(Marr *et al.*, 2004),然而在临床运用过程中,由于研究群体不同、个体的真菌负荷量不同、选取的侵袭性曲霉病诊断标准不同及样本在收集处理和检测过程中一些不可控制因素等的影响,不同研究得出的GM试验的敏感度、特异度等各不相同。目前,国内外对于GM试验阳性阈值仍难统一,人类医学上,欧洲普遍使用0.7~1.0,美国则为0.5(Maertens *et al.*, 2002)。耿哲等(2011)从2658篇文献中筛选出20篇符合标准的文献,分析结果显示,血清GM检测诊断曲霉病时以0.7为阈值时早期诊断价值较大。这与本文在探索圈养海洋哺乳动物的阳性阈值0.7较为一致。虽然对于

阈值的设定仍然存在争议,但由此可见GM抗原检测在曲霉菌检测中的重要性。建议临床实验室可根据实际情况,适当调整阈值,以达到最佳临床效果。

本研究同样探讨了海洋鸟类的GM阈值选择问题,当海鸟阳性阈值为1.2时比较接近真实感染情况。为减少检测的假阳性及假阴性,我国人类医学侵袭性真菌感染的诊断与治疗指南将连续2次GM阳性作为微生物感染的标准(中华医学会重症医学分会,2007)。但由于早期经验性治疗的介入,血清GM的浓度可能出现降低,造成连续血清GM阳性达不到要求,同时重复检测对血液标本需求量也大,因此,本研究认为结合动物基础病及临床动物高危因素,即使单次GM测定阳性,也应高度怀疑曲霉病,并借以指导早期治疗。

GM属于多聚抗原,其参与构成曲霉细胞壁,当曲霉菌进入机体后,其能够不断繁殖进而释放GM,使得血液和组织液中GM抗原含量上升,且与患者临床症状、影像学异常出现时间相比,GM试验阳性反应要更早(林少刚等,2020),这为本研究的早期诊断提供了强有力的理论支持。曲霉病的预后与早期诊断密切相关,早期诊断及治疗,预后好,否则预后差。最近,美国传染病学会和《临床传染病杂志》共同指出,尽管治疗技术正在进步,但早期诊断出侵袭性真菌感染仍然是关键(Infectious Diseases Society of America,2016)。

本研究106例动物中筛查出25例阳性个体,其中有21例属于真阳性,说明GM检测特异度较高,抗真菌治疗前后GM抗原水平分析显示治疗后GM值明显低于治疗前,说明GM试验的灵敏度高。本研究的GM阳性病例,抗真菌治疗时选用特比萘芬、伏立康唑或者视情况两者联合治疗,有效率可达100%,且治疗后患病动物GM值明显下降,这表明检测GM水平有助于筛选抗真菌药物。从本研究的高治愈率(90.5%)来看,早期诊断有助于及早用药治疗,治疗效果良好。

本研究中有4例动物GM阳性,但动物未见任何病症,血检亦正常。其中有1例经抗真菌治疗后血检有好转但未完全转阴,随访观察2个月亦未发病。另1例阳性患者GM检测前有阿莫西林克拉维酸钾治疗史,考虑为假阳性结果。当出现影响GM检测结果可靠性的情况时,需要进一步的证据来

判断是否被曲霉菌感染,此时可综合参考临床情况、血液分析及其他辅助检查方法。由于曲霉病的发病率逐步上升且病死率较高,对感染概率高的病例进行早期抗真菌治疗,是提高治疗有效率及存活率的关键(傅中明等,2011)。

本研究发现,联合使用伏立康唑和特比萘芬的有效率比单独使用其中任何一种药物的有效率都要高,单独使用伏立康唑治疗的有效率高于单独使用特比萘芬。这提示当遇到曲霉菌严重感染时,首选伏立康唑或联合用药有助于增加治愈率。本研究进行了部分可疑曲霉病病例抗真菌治疗,治疗效果显著。究其原因是不依赖耗时较长的血液培养及痰培养,参考临床及GM检测结果,在早期即做出诊断并进行治疗。该结果同样提示早期给予抗真菌治疗是改善预后效果非常重要的因素。

综上所述,将GM检测技术应用于海豚、白鲸、海狮、海象、企鹅和海雀等濒危海洋动物,作为一种曲霉病早期诊断手段,其灵敏度较高,特异度高。本研究结果具有较强的临床应用价值。圈养海洋动物有可疑曲霉病临床表现时,建议尽早进行GM检测。动态监测GM水平变化可作为一项评价疗效的重要指标。但是本研究中物种病例样本量仍然不够充分,将来需要通过大量病例验证和细致检测确定GM阈值。

致谢:感谢珠海长隆海洋王国动物医院和动管部的同事为本文得以顺利完成付出的辛勤工作。感谢广州金域医学检验中心提供专业GM抗原检测结果。

参考文献:

- Fu Z M, Yu W J, Wang H Y, Wang Y P, Peng W D, Ying H J, Gu X . 2011. Utility of serum galactomannan in diagnosis and treatment of invasive fungal infection patients. *Chinese Journal of Primary Care Medicine*, **18** (19): 2613-2614. (in Chinese)
- Ge W, Liu Z M, Jiang C H, Hu H, Wang H Y. 2012. Evaluation of the galactomannan assays for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in the patients with respiratory disease. *Chinese Journal of Tuberculosis and Defense*, **34** (6): 369-373. (in Chinese)
- Geng Z, Ye C, Xiao Y, Wang D, Huang L, Li C R, Zhou J F. 2011. Detection of invasive aspergillosis by serum galactomannan test: A systematic review. *Chinese Journal of Evidence-Based Medicine*, **11** (9): 1054-1061. (in Chinese)
- Gulland F M D, Dierauf L A, Whitman K L. 2018. *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. Third Edition. Los Angeles: CRC Press.

- Infectious Diseases Society of America. 2016. Early diagnosis, effective therapy vital for treatment of deadly invasive aspergillosis. *Clinical Infectious Diseases*, June 30.
- Itoh M, Toyotome T, Matsumoto N, Okamoto M, Yamada K. 2020. Characteristic imaging findings of the respiratory system in penguins with suspected aspergillosis in an aquarium. *Journal of Veterinary Medical Science*, **82** (9): 1260–1266.
- Ji Y, Liu D H, Xu L P, Liu K Y, Huang X J. 2007. The value of serum galactomannan detection for diagnosis of invasive aspergillosis in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Chinese Journal of Hematology*, **28** (2): 83–86. (in Chinese)
- Johan M, Johan V E, Jan V, Erik V, Johny V, Marc B. 2002. Use of circulating galactomannan screening for early diagnosis of invasive aspergillosis in allogeneic stem cell transplant recipients. *The Journal of Infectious Diseases*, **186** (9): 1297–1306.
- Lin S G, Lin Q Y, Chen G H, Guo J B, Lin W H. 2020. The diagnostic value of GM and G tests for mechanical ventilation complicated by pulmonary *Aspergillus* infection. *Journal of Putian University*, **27** (5): 49–53. (in Chinese)
- Liu Y D, Zhu J, Yang Y N, Wei J, Wei D L, Gao Y R, Wan L P, Wang C. 2014. Diagnostic value of GM test of invasive aspergillosis in patients with hematologic disease. *Progress in Modern Biomedicine*, **14** (32): 6315–6320. (in Chinese)
- Maertens J A, Klont R, Masson C, Theunissen K, Meersseman W, Lagrou K, Heinen C, Crepin B, Van Eldere J, Tabouret M, Donnelly J P, Verweij P E. 2007. Optimization of the cutoff value for the aspergillus double-sandwich enzyme immunoassay. *Clinical Infectious Diseases*, **44** (10): 1329–1336.
- Marcio N, Marr K A. 2005. Emerging fungi disease. *Clinical Infectious Diseases*, **41** (4): 521–526.
- Marr K A, Balajee S A, McLaughlin L, Tabouret M, Bentsen C, Walsh T J. 2004. Detection of galactomannan antigenemia by enzyme immunoassay for the diagnosis of invasive aspergillosis: variables that affect performance. *The Journal of Infectious Diseases*, **190** (3): 641–649.
- Melo A M, SilvaFilho R, Poester V R, Fernandes C G, Groll A V, Stevens D A, Sabino R, Xavier M O. 2020. Aspergillosis in albatrosses. *Medical Mycology*, **58**: 852–855.
- Mennink-Kersten M A, Donnelly J P, Verweij P E. 2004. Detection of circulating galactomannan antigenemia for the diagnosis and management of invasive aspergillosis. *Lancet Infectious Diseases*, **4** (6): 349–357.
- Schneider T, Olsen D, Dykstra C, Huettner S, Branch S, McClements R, Urquhart H. 2014. Penguin (Spheniscidae) Care Manual. The Association of Zoos and Aquariums in association with the AZA Animal Welfare Committee.
- Seyedmousavi S, Guillot J, Arné P, de Hoog G S, Mouton J W, Melchers W J G, Verweij P E. 2015. *Aspergillus* and aspergilloses in wild and domestic animals: a global health concern with parallels to human disease. *Medical Mycology*, **53**: 765–797.
- Wang Z X. 2010. Classification of anti-fungal medicine and its functional mechanism. *Chinese Journal of Practical Pediatrics*, **25** (8): 592–596. (in Chinese)
- Xing Y L. 2011. The study on early diagnosis of invasive aspergillosis by the use of galactomannan assay and real-time fluorescent quantitative PCR detection. Master thesis. Guangzhou: Sun Yat-sen University.
- Zhao B L, Wen Y T, Lv P H, Shi Y. 2007. Evaluation of the galactomannan assay for the diagnosis of invasive aspergillosis in an animal model. *Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory Diseases*, **30** (11): 839–843. (in Chinese)
- 中华医学会重症医学分会. 2007. 重症患者侵袭性真菌感染诊断与治疗指南(2007). *中华内科杂志*, **46** (11): 960–966.
- 中华内科杂志编辑委员会. 2007. 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). *中华内科杂志*, **46** (7): 607–610.
- 王朝霞. 2010. 抗真菌药物的分类及其作用机制. *中国实用儿科杂志*, **25** (8): 592–596.
- 卢洪洲, 钱雪琴, 徐和平. 2018. 医学真菌检验与图解. 上海: 上海科学技术出版社.
- 卢婷, 王子璠, 艾尼瓦尔·吾拉木, 宋玉霞. 2021. G试验联合GM试验对HIV合并侵袭性真菌感染的诊断效能分析. *世界最新医学信息文摘*, **21** (48): 252–253.
- 纪宇, 刘代红, 许兰平, 刘开彦, 黄晓军. 2007. 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感染的诊断价值. *中华血液学杂志*, **28** (1): 83–86.
- 李世荣, 王红, 张淑文. 2010. 半乳甘露聚糖对侵袭性曲霉感染的诊断价值. *中国真菌学杂志*, **5** (6): 381–384.
- 刘亚迪, 朱骏, 杨一宁, 卫菊, 魏道林, 高彦荣, 万理萍, 王椿. 2014. GM抗原检测对血液病患者侵袭性曲霉病的诊断价值. *现代生物医学进展*, **14** (32): 6315–6320.
- 刘正印, 王爱夏. 2007. 侵袭性真菌感染的若干问题. *内科危重症杂志*, **13** (2): 98–100.
- 邢艳利. 2011. 半乳甘露聚糖检测及实时荧光定量PCR在侵袭性肺曲霉病早期诊断价值的实验研究. 广州: 中山大学学位论文.
- 林少刚, 林群英, 陈国欢, 郭建斌, 林伟华. 2020. GM, G试验对机械通气并发肺曲霉感染的诊断价值. *莆田学院学报*, **27** (5): 49–53.
- 赵蓓蕾, 文昱婷, 吕沛华, 施毅. 2007. 血清半乳甘露聚糖检测诊断侵袭性肺曲霉病的实验研究. *中华结核和呼吸杂志*, **30** (11): 839–843.
- 耿哲, 叶丛, 肖毅, 王迪, 黄亮, 李春蕊, 周剑峰. 2011. 国内ELISA血清半乳甘露聚糖检测诊断侵袭性曲霉病价值的系统评价. *中国循证医学杂志*, **11** (9): 1054–1061.
- 傅中明, 俞万钧, 王华英, 汪一萍, 彭卫东, 应华娟, 顾霄. 2011. 血清半乳甘露聚糖检测对真菌感染的诊治价值. *中国基层医药*, **18** (19): 2613–2614.
- 葛伟, 刘志敏, 蒋彩花, 胡华, 王海英. 2012. 血清半乳甘露聚糖检测对呼吸系统疾病患者侵袭性肺曲霉病的诊断价值. *中国防痨杂志*, **34** (6): 369–373.