

# 血浆(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测对真菌感染的诊断价值

张 鹏, 李小宁, 欧成举(皖南医学院弋矶山医院检验科, 安徽芜湖 241001)

**【摘要】** 目的 探讨血浆(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测对真菌感染诊断及治疗的临床意义。方法 应用 MB-80 微生物动态快速检测系统及 GKT-5M Set 动态真菌检测试剂盒定量检测 95 例真菌培养阳性的真菌感染患者和 100 例临床及微生物学检查均排除真菌感染的住院患者及健康者血浆中(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖的含量, 并进行统计学分析。结果 95 例真菌培养阳性且结合临床诊断确定为真菌感染患者血浆(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖定量检测有 90 例阳性, 阳性率为 94.74%, 血浆(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量为(62.28 $\pm$ 22.84)pg/mL, 阴性对照组为(3.79 $\pm$ 1.96)pg/mL。两组数据经 *t* 检验, 差异具有统计学意义( $t=25.4, P<0.05$ )。结论 血浆(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测方法简便、快速、阳性率高, 可为真菌感染疾病的早期诊断和疗效判断提供一定的参考依据。

**【关键词】**(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖; 真菌感染; 诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.05.026 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)05-0564-02

**Clinical significance of measuring plasma (1-3)-beta-D glucan in diagnosis of fungal infection** ZHANG Peng, LI Xi-ao-ning, OU Cheng-ju (Clinical Laboratory, Yijishan Hospital, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241001, China)

**【Abstract】** **Objective** To study the clinical significance of plasma (1-3)-beta-D glucan in diagnosis and monitor the therapeutic effect of fungal infection. **Methods** The concentrations of (1-3)- $\beta$ -D glucan in plasma samples of fungal infection group and health control group were quantitatively detected by Microbiology Kinetic Rapid Reader MB-80 and kinetic mycetes detection kit GKT-5M set. The results were statistically analyzed. **Results** Through plasma (1-3)-beta-D glucan quantitative measuring, there were 90 positiveness among 95 mycosis infection patients insured by positive fungal culture and clinical diagnosis. The positive rate was 94.74%, mean content of plasma (1-3)-beta-D glucan of this group was (62.28 $\pm$ 22.84)pg/mL. The negtive control group was (3.79 $\pm$ 1.96)pg/mL. By *t*-test, there was significant difference between infection group and control group( $t=25.4, P<0.05$ ). **Conclusion** The method of plasma (1-3)-beta-D glucan test is convenience, rapid and high positiveness, it would provide valuable basis in early diagnosis and therapeutic effect of fungal infection diseases.

**【Key words】** (1-3)-beta-D glucan; fungal infection; diagnosis

侵袭性真菌感染(invasive fungal infection, IFI)是由条件致病性真菌(如假丝酵母菌属、曲霉属及隐球菌属等)在宿主免疫功能低下或缺陷时引起的机会性感染,是真菌侵犯血液、内脏组织和器官所致的感染。近年来由于造血干细胞移植、实体器官移植的广泛开展、高强度免疫抑制剂和大剂量化疗药物的应用以及各种导管的体内介入、留置等,临床上 IFI 的患病率明显上升。IFI 也日益成为导致骨髓及器官移植受者、接受化疗的恶性血液病和恶性肿瘤患者、艾滋病以及其他危重病患者的严重并发症及重要死亡原因之一。大量资料表明,真菌病的转归与治愈很大程度上取决于真菌感染的早期诊断。IFI 诊断传统培养方法检出阳性率低,周期长<sup>[1]</sup>。(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖作为真菌细胞壁成分之一,其检出在真菌感染的早期诊断中起到重要作用<sup>[2]</sup>。

## 1 材料与与方法

**1.1 标本来源** 取自 2010 年 11 月至 2011 年 7 月本院血液内科、呼吸内科、感染科、肾脏内科、干部内科、ICU 等科室住院患者送检的痰、咽拭子、分泌物、脓液、尿液、血液等标本,经真菌培养及临床确诊为真菌感染患者以及排除真菌感染的住院患者和健康体检人群。

**1.2 仪器与试剂** MB-80 微生物快速动态检测系统购自北京金山川科技发展有限公司, T01 电加热恒温仪(70 $^{\circ}$ C), 冰水浴槽, 无热源真空采血管, GKT-5M Set 动态真菌检测试剂盒

购自北京金山川科技发展有限公司(由含有凝固酶原的反应主剂和样品处理液组成)。

## 1.3 方法

**1.3.1 真菌分离培养** 选用沙保罗氏培养基和科玛嘉显色培养基接种标本, 30 $^{\circ}$ C 孵育 24、48、72 h 后, 分别对生长菌落革兰染色、观察菌落形态及应用 VITEK AMS-60 全自动微生物分析仪及 YBC 酵母菌卡鉴定。

### 1.3.2 血浆(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测

**1.3.2.1 血浆制备** 无菌操作, 用无热源真空采血管取静脉血 2~4 mL, 混匀, 3 000 r/min 离心 1 min 获得富含血小板血浆, 分离出血浆在 10 min 内使用。

**1.3.2.2 样品处理** 取上述富含血小板血浆 0.1 mL 加入装有 0.9 mL 样品处理液中轻轻混匀后, 70 $^{\circ}$ C 保温 10 min, 取出后立刻放入冷水浴中 3 min 冷却至 30 $^{\circ}$ C 以下, 即为待测血浆样品。

**1.3.2.3 样品测定** 取待测血浆样品 0.2 mL 加入反应主剂中, 轻轻混匀 20 s 待完全溶解后用微量加样器转移至 10 $\times$ 65 mm 无热原平底反应管中, 立刻插入 MB-80 微生物快速动态检测系统中进行反应, 反应结束后自动计算含量。

## 2 结果

**2.1 菌种分布** 见表 1。

**2.2 检测结果** 正常血浆中(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖低于 10 pg/

mL, 真菌感染患者组其检出阳性率为 94.74%, 血浆(1-3)- $\beta$ -D-葡聚糖含量为(62.28 $\pm$ 22.84)pg/mL, 阴性对照组为(3.79 $\pm$ 1.96)pg/mL。两组数据经 *t* 检验差异具有统计学意义(表 2)。

表 1 95 例真菌感染患者菌种分布

真菌	<i>n</i>	百分率(%)
白假丝酵母菌	43	45.26
克柔假丝酵母菌	15	15.79
热带假丝酵母菌	13	13.68
光滑球拟假丝酵母菌	9	9.47
近平滑假丝酵母菌	7	7.37
烟曲霉菌	8	8.42

表 2 两组人群(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测结果( $\bar{x}\pm s$ , pg/mL)

组别	<i>n</i>	(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖
真菌感染患者组	95	62.28 $\pm$ 22.84
阴性对照组	100	3.79 $\pm$ 1.96

### 3 讨论

真菌作为条件致病菌现今发病率逐渐增高, 病情迁延且难以治愈。真菌病早期发病隐匿, 症状与细菌、病毒感染相似, 给其诊断带来不便, 不能早期诊断真菌病。传统的真菌实验室诊断为沙保罗培养基培养 24、48 h, 根据形态学观察确定是否为真菌感染。但此法耗时长, 阳性率低<sup>[3]</sup>, 不能及时发现真菌感染。 $\beta$ -葡聚糖广泛分布于多种真菌细胞壁中, 为真菌的特有成分, 其中(1-3)- $\beta$ -葡聚糖约占 80%, (1-6)- $\beta$ -葡聚糖约占 20%, (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖占真菌胞壁成分 50% 以上, 因此当真菌进入人体血液或深部组织后, 经吞噬细胞吞噬、消化后, (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖可从胞壁中释放, 使得血液或其他体液中(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量增高<sup>[4]</sup>, 通过检测(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖的含量能够及时反映真菌感染情况。

检测(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖的实验也称为 G 实验, 马蹄蚶(主要是东方蚶和美洲蚶)凝血系统中的凝血酶原 G 因子能识别这种葡聚糖, 是(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖的天然检测者。G 因子的  $\alpha$  亚基特异性识别(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖后, 可激活血清凝固酶原上的  $\beta$  亚基, 形成凝固酶, 凝固酶可以参与凝血酶原级联反应, 使凝固蛋白原转变为凝胶状的凝固蛋白, 使整个反应通过光谱仪测量其光密度来进行量化, (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量可精确到 1 pg/mL。

已有多项研究发现(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量在 IFI 临床症状出现之前高于正常值。Pazos 等报道 5 例确诊 IFI 及 3 例临床诊断 IFI 患者, 其(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量值升高平均早于发热 5 d, 早于呼吸道症状 10.7 d, 早于肺部 HRCT 检查 9.3 d。Oda-basi 等<sup>[5]</sup>对确诊为粒细胞缺乏人群进行为期 3 周的临床观察及采血检测, 发现(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量开始高于 60 pg/mL 的时间比最后确诊为 IFI 平均提前了 10 d。因此, (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量值被认为是早期诊断 IFI 的检测手段之一, 通过其检测能够尽早反映真菌感染, 针对性用药, 控制疾病的发展。且(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量水平高低能够提示疾病的发展和预后。Pazos 等<sup>[6]</sup>研究发现随着药物的使用, 对药物敏感者很快出现(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量水平下降, 而药物治疗无效者(1-3)- $\beta$ -D

葡聚糖含量无明显改变。因此, (1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖含量水平可以用来判断药物的疗效, 以协助临床医师及时进行药物种类及剂量的调整。

但目前也有研究证实, 某些(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖类似物可造成该实验假阳性。如: (1) 纱布棉球等污染; (2) 中空纤维滤膜洗涤液、肾透析仪洗涤液; (3) 以真菌为原料制成的抗生素; (4) 化疗或放疗引起的黏膜炎症, 使得食物中(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖可以通过受损的胃肠道黏膜进入血液循环; (5) 抗肿瘤药物中蘑菇聚糖, K 多聚糖等成分也含有(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖类似物; (6) 某些细菌感染患者。(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖虽然存在于绝大多数真菌的细胞壁中, 但仍有部分真菌感染如隐球菌属和接合菌属无法通过 G 实验检测诊断, 因为隐球菌具有厚壁包膜, 且在免疫缺陷患者体内生长缓慢, 导致检测种真菌会造成假阴性<sup>[7]</sup>。因此, 对于这两大类真菌感染的检测不能完全依靠 G 实验, 还必须依赖其他实验室手段(如隐球菌抗原检测或真菌培养等)及临床表现进一步确诊。

总之, G 实验作为一种新的诊断 IFI 的无创检测手段, 具有灵敏度和特异度高的优点, 既能够作为高度怀疑 IFI 患者的初筛诊断方法, 又能作为 IFI 患者评价疗效的指标, 对真菌感染的诊断和治疗评估具有重要意义。

### 参考文献

- [1] 邓林强, 余理智, 熊章华, 等. 血浆(1-3)- $\beta$ -D 葡聚糖检测和真菌培养在诊断深部真菌感染的临床价值[J]. 实验与检验医学, 2008, 26(6): 601-602.
- [2] Bellanger AP, Grenouillet F, Henon T, et al. Retrospective assessment of  $\beta$ -D-(1,3)-glucan for presumptive diagnosis of fungal infections[J]. APMIS, 2011, 119(4/5): 280-286.
- [3] 孙长华, 鞠胜芝, 陈步凤, 等. 真菌的检测方法及其评价[J]. 滨州医学院学报, 1997, 2(4): 392.
- [4] Kedzierska A, Kochan P, Pietrzyk A, et al. Current status of fungal cell wall components in the immunodiagnosics of invasive fungal infections in humans: galactomannan, mannan and (1,3)-beta-D-glucan antigens[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2007, 26(11): 755-766.
- [5] Odabasi Z, Mattiuzzi G, Estey E, et al.  $\beta$ -D-glucan as a diagnostic adjunct for invasive fungal infections: validation, cut off development, and performance in patients with acute myelogenous leukemia and myelodysplastic syndrome[J]. Clin Infect Dis, 2004, 39(2): 199-205.
- [6] Pazos C, Ponton J, Palacio AD. Contribution of (1-3)- $\beta$ -D-glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan[J]. J Clin Microbiol, 2005, 43(1): 299-305.
- [7] Feldmesser M, Kress Y, Mednick A, et al. The effect of the echinocandin analogue caspofungin on cell wall glucan synthesis by cryptococcus neoformans[J]. J Infect Dis, 2000, 182(6): 1791-1795.