

论 著

DOI: 10.19538/j.nk2019010111

血清曲霉IgG抗体联合支气管肺泡灌洗液半乳甘露聚糖检测对肺曲霉菌病诊断价值分析

杨淑乔, 王 晶, 马迎民, 张黎明

摘要:目的 探讨血清曲霉 IgG 抗体联合肺泡灌洗液 (BALF) 半乳甘露聚糖 (GM) 检测对肺曲霉菌感染的诊断价值, 为肺曲霉菌病的临床诊断提供新的方案。方法 选择 2016 年 3 月至 2017 年 9 月首都医科大学附属北京朝阳医院收治的疑似肺曲霉菌感染患者 97 例, 对患者进行侵袭性肺曲霉菌病 (IPA) 和慢性肺曲霉菌病 (CPA) 诊断, 同时检测患者血清曲霉 IgG 抗体以及 BALF GM 抗原, 采用 ROC 曲线分析各检测方法对肺曲霉菌病的诊断价值。结果 97 例患者中, 肺曲霉菌病患者确诊 9 例 (9.28%)、临床诊断 49 例 (50.52%)、排除肺曲霉菌感染患者 39 例 (40.21%), 将确定诊断、临床诊断患者 58 例作为病例组, 排除肺曲霉菌感染患者 39 例作为对照组。病例组患者血清 IgG 抗体及 BALF GM 抗原水平均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其中 CPA 患者血清 IgG 抗体显著高于 IPA 患者 ($P < 0.05$)。血清曲霉 IgG 以 140 kAU/L 为临界值时, 敏感度为 53.4%, 特异度为 94.9%。支气管肺泡灌洗液 GM 以 0.5 为临界值时, 敏感度为 75.9%, 特异度为 76.9%。单独采用血清曲霉 IgG 抗体对肺曲霉菌病诊断曲线下面积为 0.770, 单独采用 BALF GM 抗原对肺曲霉菌病诊断曲线下面积为 0.813, 二者联合对肺曲霉菌病诊断曲线下面积为 0.897。结论 血清曲霉 IgG 抗体联合血清半乳甘露聚糖检测可有效提高对肺曲霉菌病患者的临床诊断价值, 有助于患者的临床诊断, 值得推广运用。

关键词: 曲霉 IgG 抗体; 半乳甘露聚糖检测; 肺曲霉菌感染; 诊断

中图分类号: R591 **文献标识码:** A

Diagnostic value of Aspergillus IgG antibody combined with BALF galactomannan detection in pulmonary aspergillosis. YANG Shu-qiao, WANG Jing, MA Ying-ming, ZHANG Li-ming. Department of Respiratory Medicine, Beijing Chaoyang Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100043, China

Corresponding: ZHANG Li-ming, E-mail: cyyyzlm@sina.com

Abstract: Objective To explore the diagnostic value of serum Aspergillus IgG antibody combined with BALF galactoman (GM) in the diagnosis of pulmonary aspergillosis and provide a new scheme for clinical diagnosis of aspergillus infection. **Methods** 97 patients suspected of pulmonary aspergillus infection were selected in our hospital during March 2016 and September 2017. Serum IgG and BALF GM were performed for all, ROC curve analysis was used to compare the diagnostic value. **Results** 58 cases diagnosed as pulmonary aspergillosis and 39 non-aspergillus infection patients were enrolled in this study as patient group and control group, respectively. Serum IgG antibody level in patient group is significant higher than control group ($P < 0.05$), and also higher in chronic pulmonary aspergillosis (CPA) patients, compared with invasive pulmonary aspergillosis (IPA) patients. The sensitivity and specificity were 53.4%, 94.9% respectively if the cut-off value of serum IgG test was set as 140 IU/ml. When the cut-off value of BALF GM test was 0.5, the sensitivity and specificity were 75.9%, 76.9%. The ROC curve area of serum IgG antibody, BALF GM was 0.770, 0.813, respectively. When combined serum IgG antibody and BALF GM together, the area under the curve was 0.897. **Conclusion** The combined serum IgG antibody and BALF GM tests improved the diagnostic value of pulmonary aspergillosis, it is recommended to clinical diagnosis.

Keywords: aspergillus IgG antibody; galactomannan detection; pulmonary aspergillosis infection; diagnosis

肺曲霉病存在不同的表现类型, 侵袭性肺曲霉病 (invasive pulmonary aspergillosis, IPA) 起病急, 病情往往发展迅速, 常发生于严重免疫损伤的宿主, 最

常见于持续中性粒细胞减少的恶性血液系统肿瘤、实体器官移植以及造血干细胞移植等患者中^[1]。慢性肺曲霉病 (chronic pulmonary aspergillosis, CPA) 则病程一般超过 3 个月, 以曲霉菌在肺部腐生或局部侵袭为特点, 疾病发展较相对较缓^[2]。近年来, 随着免疫抑制剂、糖皮质激素的大量使用, 血液系统疾

基金项目: 国家自然科学基金(81570070)

作者单位: 首都医科大学附属北京朝阳医院, 北京 100043

通信作者: 张黎明, 电子信箱: cyyyzlm@sina.com

病、肿瘤、结核、支气管哮喘等发病率的上升以及器官移植的发展,肺曲霉病的发病率也在逐年升高,引起了学者的密切关注^[3]。传统的病原学培养方法耗时较长,且存在较高的假阳性、假阴性问题,而病理检查需要侵入性手段获取标本,临床往往难以实现,导致肺曲霉病诊断困难。未及时诊断治疗将导致肺曲霉病患者的病死率明显升高,因此,寻找一种创伤小、快速而准确的诊断方式,对改善肺曲霉病患者预后具有重要价值。

目前,曲霉菌特异性抗原、抗体检测作为一种非侵入性检查方式,受到了学者的广泛关注。半乳甘露聚糖(galactoman, GM)是曲霉菌细胞壁成分之一,GM抗原检测已被证实在粒细胞缺乏患者侵袭性肺曲霉病的诊断中具有良好的敏感度和特异度^[4]。血清曲霉IgG抗体在国外也已被用于肺曲霉病的诊断和监测,但国内目前尚无相关应用报道^[5]。为进一步探讨分析血清曲霉IgG抗体在肺曲霉病诊断中的临床价值,同时为了进一步提高临床肺曲霉病诊断准确率,本研究探讨分析血清曲霉IgG抗体联合支气管肺泡灌洗液半乳甘露聚糖检测对肺曲霉菌感染的诊断价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2016年3月至2017年9月我院收治的疑似肺曲霉菌感染患者97例,其中男58例(59.79%),女39例(40.21%);年龄23~82岁,中位年龄60岁。研究经我院伦理委员会批准同意。

IPA诊断符合2008年欧洲癌症研究和治疗侵袭型真菌的真菌病研究组(EORTC/MSG)的标准^[6]。CPA诊断参考2015年欧洲临床微生物学和感染性疾病联合会、欧洲呼吸学会发布的《慢性肺曲霉病:理论基础和临床诊治指南》^[7]。纳入标准:符合下列标准中任意1条:(1)存在肺曲霉菌感染相关基础疾病、危险因素及宿主因素者,出现咳嗽、咳痰、发热、咯血、呼吸困难等症状,广谱抗生素治疗效果不佳;(2)胸部影像学符合曲霉菌感染特征;(3)痰标本或支气管肺泡灌洗液标本中检出曲霉菌。排除标准:(1)既往曾明确诊断肺曲霉菌感染,并使用过抗曲霉

菌药物;(2)过敏性肺曲霉病患者(包括变应性支气管肺曲霉病和曲霉致敏性哮喘);(3)目前正在使用半合成青霉素者;(4)年龄<18周岁。

1.2 方法 采集患者的血及BALF标本。抽取静脉血5 mL,离心后留取血清置于-20℃冰箱内待曲霉IgG检测;行支气管镜检查过程中,于病变肺段或亚段支气管分次注入生理盐水60 mL,回收灌洗液离心后取上清液冻存,留待GM检测。采用曲霉IgG抗体ELISA检测试剂盒(天津丹娜生物科技有限公司),曲霉半乳甘露聚糖(GM)抗原ELISA检测试剂盒(BioRad公司,美国),检测步骤参照ELISA试剂盒使用说明书进行。曲霉IgG抗体检查结果判断:抗体浓度 ≥ 120 kAU/L(AU为检测仪器特定单位)定为阳性;抗体浓度 <80 kAU/L定为阴性;80~120 kAU/L则为中介。检测结果超过500 kAU/L将标本进行稀释后重新检测。GM抗原结果判断: ≥ 0.5 为阳性, <0.5 为阴性。每次试验均做阳性、阴性对照。

1.3 统计学分析 采用统计学软件SPSS 22.0进行数据分析,计数资料采用例数或百分比表示;不符合正态分布的连续变量以中位数(四分位间距)表示,采用秩和检验比较组间差异;样本率的比较采用卡方检验或Fisher确切概率法。采用ROC曲线分析各检测方案对肺曲霉病的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺曲霉菌感染临床诊断 本研究纳入97例患者,经病理确定诊断肺曲霉病患者9例(9.28%)、临床诊断患者49例(50.52%)、非肺曲霉菌感染患者39例(40.21%),将确定诊断、临床诊断患者58例作为病例组(IPA23例,CPA35例),非肺曲霉菌感染患者39例作为对照组。58例肺曲霉病的基础疾病分布主要为肺结核、慢性阻塞性肺疾病、肺恶性肿瘤以及支气管哮喘等,见表1。易感因素主要包括使用免疫抑制剂、长期口服类固醇制剂、放化疗后、曲霉环境暴露等,见表2。所有患者均为非粒细胞缺乏患者。主要临床表现包括发热、咳嗽、呼吸困难以及

表1 58例肺曲霉菌病患者基础疾病情况[例(%)]

组别	陈旧性肺结核	慢性阻塞性肺疾病	肺恶性肿瘤	支气管哮喘	支气管扩张症	肺术后	结缔组织病	慢性肾脏病	肝硬化	糖尿病	无
侵袭性肺曲霉病组(23例)	1(4.3)	5(21.7)	3(13.0)	2(8.7)	2(8.7)	0	1(4.3)	2(8.7)	0	4(17.4)	6(26.1)
慢性肺曲霉病组(35例)	14(40.0)	6(17.1)	2(5.7)	3(8.6)	1(2.9)	4(11.4)	3(8.6)	1(2.9)	1(2.9)	7(20.0)	1(2.9)

表2 58例肺曲霉菌病患者易感因素情况 [例 (%)]

组别	使用免疫抑制剂	长期口服类固醇制剂	放化疗后	曲霉环境暴露
IPA组(23例)	0	3(13.0)	2(8.7)	5(21.7)
CPA组(35例)	2(5.7)	3(8.6)	0	1(2.9)

注: IPA为侵袭性肺曲霉病组, CPA为慢性肺曲霉病组

表3 58例肺曲霉菌病患者临床表现及CT特征分布 [例 (%)]

组别	临床表现					CT特征					
	发热	咳嗽	咳痰	呼吸困难	咯血	多发性或弥漫性病变	结节影	新月征	晕轮征	空洞	曲霉球
侵袭性肺曲霉病组(23例)	9(39.1)	17(73.9)	17(73.9)	15(65.2)	4(17.4)	17(73.9)	6(26.1)	3(13.0)	9(39.1)	11(47.8)	3(13.0)
慢性肺曲霉病组(35例)	12(34.3)	35(100)	35(100)	26(74.3)	19(54.3)	5(14.3)	4(11.4)	5(14.3)	0	30(85.7)	21(60.0)

表4 两组患者血清曲霉 IgG 及 BALF GM 水平比较

组别	血清IgG抗体(kAU/L)	BALF GM抗原
病例组(58例)	143.14 (89.22~223.34) ¹⁾	0.95 (0.50~1.80) ¹⁾
IPA组(23例)	121.9 (57.82~168.40) ¹⁾	0.89 (0.51~1.52) ¹⁾
CPA组(35例)	152.37(101.38~392.46) ¹⁾²⁾	0.97 (0.47~2.35) ¹⁾
对照组(39例)	76.23(46.35~111.19)	0.38 (0.28~0.48)

注: 1)与对照组比较, $P<0.05$; 2)与IPA比较, $P<0.05$ 。BALF为肺泡灌洗液

2.3 血清曲霉 IgG 抗体与 BALF GM 抗原对肺曲霉病诊断价值 血清曲霉 IgG 以 120 kAU/L 为临界值时, 敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 63.8%(37/58)、82.1%(32/39)、84.1%(37/44)、60.4%(32/53), 以 140 kAU/L 为临界值时, 敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 53.4%(31/58)、94.9%(37/39)、93.9%(31/33)、57.8%(37/64), 对应的约登指数最高。支气管肺泡灌洗液 GM 试验临界值为 0.5 时的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 75.9%(44/58)、76.9%(30/39)、83.0%(44/53)、68.2%(30/44), 对应的约登指数最高。

单独采用血清曲霉 IgG 对肺曲霉病诊断曲线下面积为 0.770, 单独采用血清 GM 对肺曲霉病诊断曲线下面积为 0.813, 二者联合对肺曲霉病诊断曲线下面积为 0.897, 见图 1。

3 讨论

肺曲霉病的临床症状和体征缺乏特异性, 影像学具有一定特征但多数患者发病早期并未出现典型的影像学表现, 导致早期诊断难度较大。目前临床主要通过从肺组织活检标本中曲霉菌孢子或菌丝的检出来对肺曲霉病进行确诊, 或根据痰液、支气管

咯血; 主要 CT 表现包括多发性或弥漫性病变、结节影、新月征、晕轮征等, 见表 3。

2.2 血清曲霉 IgG 抗体、BALF GM 抗原比较 病例组患者血清 IgG 抗体以及 BALF GM 抗原水平均显著高于对照组 ($P<0.05$), 其中 CPA 患者血清 IgG 抗体显著高于 IPA 患者 ($P<0.05$), 见表 4。

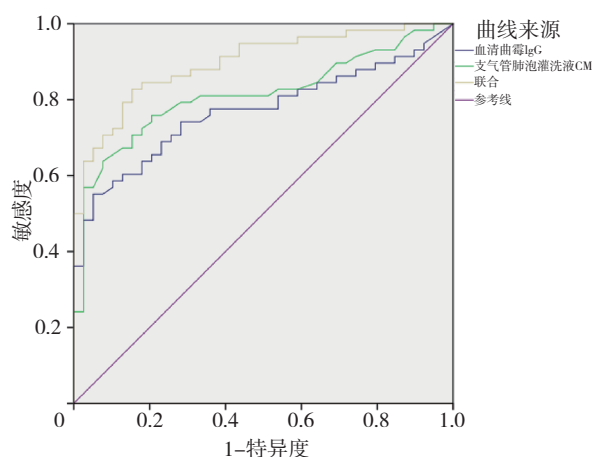


图1 ROC曲线分析血清曲霉 IgG 与支气管肺泡灌洗液 GM 对肺曲霉病诊断价值

肺泡灌洗液等呼吸道标本真菌培养结果进行早期诊断。但相关报道显示, 组织活检以及真菌培养对肺曲霉病检出阳性率均有限^[8-9]。近些年来, 抗原检测已经成为了曲霉菌感染诊断的一种重要方式。尽管血清 GM 检测对血液系统恶性肿瘤患者曲霉菌感染具有良好的敏感度, 并已被纳入血液病及恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准之中, 其对非粒细胞减少患者合并曲霉菌感染的诊断价值却受到诸多质疑^[10]。Dobias 等^[11]对合并侵袭性肺曲霉病的非粒细胞缺乏患者进行了血清 GM 试验, 其敏感度为 48.8%, 特异度为 91.3%; Shin 等^[12]对慢性肺曲霉病患者进行了血清 GM 检测, 敏感度也仅为 23%。而 BALF GM 检测的准确性被证实优于血清, 一项荟萃分析结果显示 BALF GM 检测诊断侵袭性肺曲霉病的总体敏感度可达 90.0%, 特异度达 94.0%^[13]。Park 等^[14]对 48 例肺曲霉球患者进行了 GM 检测, 结果显示 BALF GM 检测的敏感度达到了 92%, 而血清

仅为38%。因此,本研究选用支气管肺泡灌洗液进行检测。目前,国内外对于支气管肺泡灌洗液GM检测阳性界值的选择仍无统一标准,多数使用0.5或1.0作为临界值,本研究发现采用0.5作为阳性界值时,对肺曲霉病诊断敏感度及特异度均较好,且约登指数最高^[15-16]。

特异性曲霉IgG抗体是机体对肺曲霉菌感染后出现的特异性免疫反应,使用特异性曲霉抗体检测方法检测患者血清中特异性的IgG型抗体可确定肺曲霉病患者的机体免疫状态,从而对肺曲霉病患者的临床诊断具有重要意义。目前,国外已有多项研究证实血清曲霉IgG在肺曲霉病尤其是慢性肺曲霉病和变应性支气管肺曲霉病中具有重要诊断价值,而国内尚无相关报道^[17-18]。本研究显示,肺曲霉病患者的血清曲霉IgG水平显著高于对照组,其中CPA患者血清IgG抗体高于IPA患者,可能与抗体形成需要一定时间有关。IgG临界值为140kAU/L时,约登指数最高,提示血清曲霉IgG检测以140kAU/L作为临界值时具有最佳临床应用价值。单独采用血清曲霉IgG抗体对肺曲霉病诊断曲线下面积为0.770,单独采用血清GM抗原对肺曲霉病诊断曲线下面积为0.813,二者联合对肺曲霉病诊断曲线下面积为0.897。提示二者联合使用可有效提高对肺曲霉病患者的临床诊断。

综上所述,血清曲霉IgG抗体联合血清半乳甘露聚糖检测可有效提高对肺曲霉病患者的临床诊断价值,有助于患者的临床诊断,值得推广运用。

参考文献

- [1] Liss B, Vehreschild JJ, Bangard C, et al. Our 2015 approach to invasive pulmonary aspergillosis[J]. *Mycoses*, 2015, 58(6): 375-382.
- [2] Kosmidis C, Denning DW. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis[J]. *Thorax*, 2015, 70(3): 270-277.
- [3] Limper AH, Knox KS, Sarosi GA, et al. An official American Thoracic Society statement: Treatment of fungal infections in adult pulmonary and critical care patients[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(1): 96-128.
- [4] Ambasta A, Carson J, Church DL. The use of biomarkers and molecular methods for the earlier diagnosis of invasive aspergillosis in immunocompromised patients[J]. *Med Mycol*, 2015, 53(6): 531-557.
- [5] Agarwal R, Dua D, Choudhary H, et al. Role of *Aspergillus fumigatus*-specific IgG in diagnosis and monitoring treatment response in allergic bronchopulmonary aspergillosis[J]. *Mycoses*, 2017, 60(1): 33-39.
- [6] De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group[J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 46(12): 1813-1821.
- [7] Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management[J]. *Eur Respir J*, 2016, 47(1): 45-68.
- [8] Denning DW, Riniotis K, Dobrashi R, et al. Chronic cavitary and fibrosing pulmonary and pleural aspergillosis: case series, proposed nomenclature change, and review[J]. *Clin Infect Dis*, 2003, 37(Suppl 3): S265-280.
- [9] Jhun BW, Jeon K, Eom JS, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of chronic pulmonary aspergillosis[J]. *Med Mycol*, 2013, 51(8): 811-817.
- [10] 中国侵袭性真菌感染工作组. 血液病/恶性肿瘤患者侵袭性真菌病的诊断标准与治疗原则(第五次修订版)[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56(6): 453-459.
- [11] Dobias R, Jaworska P, Tomaskova H, et al. Diagnostic value of serum galactomannan, (1,3)- β -d-glucan, and *Aspergillus fumigatus*-specific IgA and IgG assays for invasive pulmonary aspergillosis in non-neutropenic patients[J]. *Mycoses*, 2018, 61(8): 576-586.
- [12] Shin B, Koh WJ, Jeong BH, et al. Serum galactomannan antigen test for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis[J]. *J Infect*, 2014, 68(5): 494-499.
- [13] Guo YL, Chen YQ, Wang K, et al. Accuracy of BAL galactomannan in diagnosing invasive aspergillosis: a bivariate metaanalysis and systematic review[J]. *Chest*, 2010, 138(4):817-24.
- [14] Park SY, Lee SO, Choi SH, et al. Serum and bronchoalveolar lavage fluid galactomannan assays in patients with pulmonary aspergilloma[J]. *Clin Infect Dis*, 2011, 52(7): 149-152.
- [15] Zou M, Tang L, Zhao S, et al. Systematic review and meta-analysis of detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive aspergillosis[J]. *PLoS One*, 7(8): e43347.
- [16] 林鹏程, 赖茜茜, 周颖, 等. 半乳甘露聚糖试验对非粒细胞缺乏患者侵袭性肺曲霉菌病的诊断价值[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(12): 929-933.
- [17] Barton RC, Hobson RP, Denton M, et al. Serologic diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis through the detection of immunoglobulin G to *Aspergillus fumigatus*[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 62(3):287-91.
- [18] Agarwal R, Dua D, Choudhary H, et al. Role of *Aspergillus fumigatus*-specific IgG in diagnosis and monitoring treatment response in allergic bronchopulmonary aspergillosis[J]. *Mycoses*, 2017, 60(1): 33-39.

2018-07-20收稿 2018-12-01修回 本文编辑: 张建军