

研究论著

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2022.03.011

BALF-GM 联合曲霉 IgG 及 IgM 抗体对慢性肺曲霉病的诊断价值

李天义 汤春梅 肖海浩 张言斌 苏雯婕

【摘要】 **目的** 探讨肺泡灌洗液半乳甘露聚糖 (BALF-GM) 联合曲霉 IgG、IgM 抗体检测在慢性肺曲霉病 (CPA) 中的诊断价值。**方法** 将确诊为 CPA 的 88 例患者作为研究组, 疑似 CPA 经确诊后排除的 64 例患者作为对照组。回顾性分析所有患者的 BALF-GM、曲霉 IgG 及 IgM 抗体水平, 采用受试者工作特征 (ROC) 曲线分析各检测方法 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 及其联合检测对 CPA 的诊断价值。**结果** BALF-GM 诊断 CPA 价值较高, 曲霉 IgG、IgM 等指标及其联合检测的诊断价值较低, BALF-GM 联合曲霉 IgG/IgM 检测灵敏度有明显提高, 但特异度下降。研究组 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 含量均高于对照组, 2 组比较差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05); 2 组 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 及联合检测阳性率比较差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05)。ROC 曲线分析显示 BALF-GM 诊断 CPA、BALF-GM+ 曲霉 IgG/IgM 联合诊断 CPA 的曲线下面积均较高, 灵敏度、特异度高, 曲霉 IgG、IgM 及 IgG/IgM 联合检测的诊断价值均较低。**结论** BALF-GM 诊断 CPA 具有较高的灵敏度和特异度; BALF-GM 联合曲霉 IgG/IgM 检测可提高其诊断灵敏度, 但特异度会显著降低, 因此需结合 BALF-GM 单独检测的高特异度来尽量降低假阴性的发生。

【关键词】 肺泡灌洗液半乳甘露聚糖; 曲霉 IgG 抗体; 曲霉 IgM 抗体; 慢性肺曲霉病; 诊断

Diagnostic value of BALF-GM combined with *Aspergillus* IgG and IgM in chronic pulmonary aspergillosis Li Tianyi, Tang Chunmei, Xiao Haihao, Zhang Yanbin, Su Wenjie. *The Third Internal Medicine, Guangzhou Chest Hospital, Guangzhou 510095, China*
Corresponding author, Tang Chunmei, E-mail: tangcunmei@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the diagnostic value of bronchoalveolar lavage fluid-galactomannan (BALF-GM) in alveolar lavage fluid combined with *Aspergillus* IgG and IgM in chronic pulmonary aspergillosis (CPA). **Methods** 88 patients with CPA were assigned into the study group, and 64 patients suspected with CPA who were excluded after diagnosis were divided into the control group. The levels of BALF-GM, *Aspergillus* IgG and IgM in all patients were analyzed retrospectively. The diagnostic value of BALF-GM, *Aspergillus* IgG, IgM and combined detection in CPA was analyzed by the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The diagnostic value of BALF-GM in CPA was higher, whereas that of *Aspergillus* IgG, IgM and combined detection was lower. The sensitivity of BALF-GM combined with *Aspergillus* IgG/IgM was significantly improved, but the specificity was decreased. The contents of BALF-GM, *Aspergillus* IgG and IgM in the study group were significantly higher than those in the control group (all $P < 0.05$). The positive rates of BALF-GM, *Aspergillus* IgG, IgM and combined detection significantly differed between two groups (all $P < 0.05$). ROC curve analysis indicated that BALF-GM, BALF-GM+*Aspergillus* IgG/IgM yielded higher area under ROC curve (AUC), sensitivity and specificity in the diagnosis of CPA. The diagnostic value of *Aspergillus* IgG, IgM and IgG/IgM combined detection was lower. **Conclusions** BALF-GM has high sensitivity and specificity in the diagnosis of CPA. BALF-GM combined with *Aspergillus* IgG/IgM can improve the diagnostic sensitivity, whereas significantly decrease the specificity. Therefore, it is necessary to integrate the high specificity of BALF-GM alone to minimize the incidence of false negative results.

【Key words】 Bronchoalveolar lavage fluid-galactomannan; *Aspergillus* IgG; *Aspergillus* IgM;
Chronic pulmonary aspergillosis; Diagnosis

慢性肺曲霉病 (CPA) 是一种复杂且无临床特 异性病症的肺部疾病, 常伴有其他肺部疾病, 导

致临床诊断困难。目前诊断 CPA 一般通过病理或临床诊断,但早期诊断困难对识别 CPA 风险及其治疗具有一定的延迟影响^[1]。因此,CPA 早期诊断更显重要。半乳甘露聚糖(GM)作为曲霉的特有成分,随着曲霉生长会进入机体血液中,因此血清 GM 已成熟应用于曲霉诊断^[2]。但血清 GM 因诊断疾病类型不同,对曲霉病的诊断灵敏度差异大,同时 GM 可溶于机体各种体液如肺泡灌洗液(BALF),因此 CPA 诊断指南中将 BALF-GM 作为诊断 CPA 的优选抗原指标。另外,临床曲霉 IgG、IgM 等特异性抗体检测也是 CPA 早期诊断方向,不同研究对曲霉 IgG、IgM 的诊断价值不一,有研究认为曲霉 IgG 诊断价值高于曲霉 IgM^[3]。曲霉 IgG、IgM 联合检测及 BALF-GM 联合曲霉 IgG/IgM 检测对 CPA 的诊断价值研究目前少见文献报道。本研究探讨 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 检测及其联合检测对 CPA 的诊断价值。

对象与方法

一、研究对象

回顾性分析广州市胸科医院 2019 年 1 月至 2020 年 2 月 152 例疑似 CPA 患者资料,根据文献^[4]的 2015 年《慢性肺曲霉病诊断和治疗临床指南》,将病理诊断或临床诊断为 CPA 的 88 例患者作为研究组,非 CPA 的 64 例患者作为对照组。研究组男 74 例、女 14 例,年龄(54.39±12.70)岁,对照组男 49 例、女 15 例,年龄(51.28±16.05)岁;2 组患者性别构成、年龄比较差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

纳入标准:①有 CPA 相关基础疾病;②胸部影像学符合 CPA 特征。排除标准:①有支气管镜检查禁忌证或拒绝支气管镜检查;②来院后有 CPA 确诊史及治疗史;③研究过程中资料数据不全患者。

二、方法

1. 主要试剂及仪器

离心机(德国 EPPENDORF 的 5810R 型号机),BALF-GM 试剂盒[伯乐生命医学产品(上海)有限公司],曲霉 IgG、IgM 试剂盒(丹娜天津生物科技有限公司)。

2. 标本采集

BALF 采集:在患者胸部 CT 影像指导下确定

支气管镜灌洗位置,并对灌洗部位进行局部麻醉。在支气管亚支处注入 20~30 mL 的 37℃生理盐水,然后负压吸取 BALF,该过程分 2~3 次循环,直到吸取 5~10 mL 的 BALF 为止。将吸取的 BALF 处理后 4℃下按 2000 转/分离心 30 min,然后存于冻结管内待检。血清采集:采用促凝试管取患者清晨外周静脉血 5 mL 共 2 份,按 2000 转/分离心 20 min 后取离心后的上清液冻存于 -80℃管内,用于检测血清曲霉 IgG、IgM。

3. 检测方法

BALF-GM 检测采用 ELISA 免疫法,按广州市胸科医院标准 BALF-GM 含量 $\geq 0.9 \mu\text{g/L}$ 则判定为阳性, $< 0.9 \mu\text{g/L}$ 则判定为阴性;曲霉 IgG、IgM 检测严格按曲霉 IgG、IgM 抗体试剂盒操作检测,按标准 $> 79.99 \text{ AU/mL}$ 判定为阳性, $\leq 79.99 \text{ AU/mL}$ 判定为阴性。

三、评价指标及方法

按医院现有标准进行定性分析,即对各指标诊断或联合诊断(联合诊断采用并联试验,即任何一个指标阳性即可定为阳性,反之则为阴性)的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值进行比较,并比较 2 组各指标阳性率差异性。比较 2 组患者 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 含量。另外,对所有数据进行定量分析,将各指标导入 logistic 回归模型进行分析,建立回归方程: $Y_1 = \frac{e^{0.597X_1 + 0.368X_2 - 4.556}}{1 + e^{0.597X_1 + 0.368X_2 - 4.556}}$, $Y_2 = \frac{e^{0.597X_1 + 0.368X_2 + 0.706X_3 - 8.421}}{1 + e^{0.597X_1 + 0.368X_2 + 0.706X_3 - 8.421}}$ (方程中 Y_1 为曲霉 IgG/IgM 联合诊断因子, Y_2 为 BALF-GM/曲霉 IgG/IgM 联合诊断因子, X_1 为曲霉 IgG 含量, X_2 为曲霉 IgM 含量, X_3 为 BALF-GM 含量),绘制各指标及联合指标检测的受试者工作特征(ROC)曲线,描述曲线下面积(AUC)及最佳截断值。

四、统计学处理

本研究所有数据分析均由 SPSS 20.0 完成,其中各指标阳性率以百分比表示,比较采用 χ^2 检验;BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 含量等数据不符合正态分布,以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用 MedCalc 软件绘制 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 指标及联合检测的 ROC 曲线,并比较 ROC AUC。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 及联合检测诊断价值比较

2 组 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 及联合检测阳性率比较差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05), 见表 1。

二、研究组和对照组 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 含量比较

研究组 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 含量均高于对照组 (P 均 < 0.05), 见表 2。

三、各指标及联合检测的 ROC 诊断

ROC 曲线分析各指标诊断 CPA 的 AUC、约登指数及其灵敏度、特异度分别为 (BALF-GM: 0.868、0.682、76.13%、92.06%)、(曲霉 IgG: 0.690、0.339、70.45%、63.49%)、(曲霉 IgM: 0.592、0.244、54.55%、69.84%)、(曲霉 IgG+IgM: 0.703、0.333、76.14%、57.14%)、(BALF-GM+曲霉 IgG/IgM: 0.861、0.623、82.95%、79.37%), 各指标间 ROC 曲线的 AUC 统计学比较如下: BALF-GM 与曲霉 IgG, $Z = 10.323$, $P < 0.001$; BALF-GM 与曲霉 IgM, $Z = 16.091$, $P < 0.001$; 曲霉 IgG 与 IgM, $Z = 7.082$, $P < 0.001$; BALF-GM 与曲霉 IgG/IgM, $Z = 9.618$, $P < 0.001$; BALF-GM 与 BALF-GM+曲霉 IgG/IgM, $Z = 0.467$, $P = 0.671$; 曲霉 IgG 与曲霉 IgG/IgM, $Z = 0.762$, $P = 0.397$; 曲霉 IgG 与 BALF-GM+曲霉 IgG/IgM, $Z = 10.069$, $P < 0.001$; 曲霉 IgM 与曲霉 IgG/IgM, $Z = 9.736$, $P < 0.001$; 曲霉 IgM 与 BALF-GM+曲霉 IgG/IgM, $Z = 15.811$, $P < 0.001$; 曲霉 IgG/IgM 与 BALF-GM+曲霉 IgG/IgM, $Z =$

9.382, $P < 0.001$ 。ROC 曲线分析见图 1。

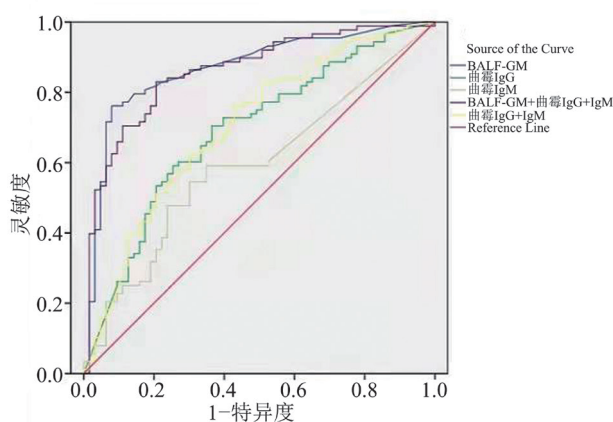


图 1 各指标及联合检测的 ROC 曲线

讨 论

CPA 一般是曲霉在非免疫性抑制症或肺结核、气道性疾病、COPD 等结构性肺病基础上引起的相应疾病, 患者无临床特异性病症, 通常需要经过病理活检、临床影像分析进一步确诊。但是由于病理活检过程复杂, 危重型患者提取困难, 且诊断周期长, 对 CPA 早期诊断临床意义不大。有研究显示, CPA 得不到及时诊疗或漏诊误诊的预后致死率较高, 因此 CPA 早期诊断对患者治疗及预后具有重要意义^[5]。血清 GM 是曲霉在生长过程中释放并进入机体血液, 且容易溶于体液如 BALF、脑脊液等, 在曲霉感染早期即可检测, 因此血清 GM 被广泛应用于临床曲霉感染诊断。但是血清 GM 持续时间有限, 通常超过 8 周后其含量会明显下降, 而 CPA 病程一般在 3 个月以上, 因此血清 GM 对 CPA 的诊断具有一定局限性^[6]。BALF 是通过支气管镜在肺部病灶处吸取病理组织灌洗液,

表 1 研究组和对照组 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 及联合检测阳性率比较

组 别	例数	BALF-GM 阳性率	曲霉 IgG 阳性率	曲霉 IgM 阳性率	曲霉 IgG+IgM 阳性率	BALF-GM+曲霉 IgG/IgM 阳性率
研究组	88	72.73 (64/88)	67.05 (59/88)	44.32 (39/88)	79.55 (70/88)	92.05 (81/88)
对照组	64	6.25 (4/64)	35.94 (23/64)	23.44 (15/64)	45.31 (31/64)	51.56 (35/64)
χ^2 值		66.231	14.432	7.053	16.083	28.610
P 值		< 0.001	< 0.001	0.008	< 0.001	< 0.001

表 2 研究组和对照组 BALF-GM、曲霉 IgG、IgM 含量比较 [$M (P_{25}, P_{75})$]

组 别	例数	BALF-GM/ ($\mu\text{g/L}$)	曲霉 IgG/ (AU/mL)	曲霉 IgM/ (AU/mL)
研究组	88	2.07 (0.05, 8.07)	157.83 (31.25, 500)	67.93 (31.25, 500)
对照组	64	0.09 (0.04, 14.00)	58.63 (31.25, 500)	34.10 (31.25, 465.08)
Z 值		7.786	4.097	2.089
P 值		< 0.001	< 0.001	0.037

CPA患者的BALF中包含GM,因此临床BALF-GM的检测对CPA具有一定可行性。在《慢性肺曲霉病诊断和治疗临床指南》中优先选用灵敏度及特异度高的BALF-GM作为诊断指标^[7]。特异性抗体曲霉IgG、IgM是目前临床研究使用较多的CPA诊断指标。曲霉IgG抗体检测对CPA具有较高诊断价值,有研究认为曲霉IgG对CPA的诊断灵敏度和特异度在70%以上,而CPA患者曲霉IgM升高仅占50%左右,可能因为对于CPA患者来说,在曲霉的生长过程中,各生长阶段会产生不同类型的抗原,才会刺激机体产生曲霉IgM,因此曲霉IgM的检测具有一定的阶段性,仅在某个阶段可检测到曲霉IgM升高,这也是医学上认为曲霉IgM对CPA的诊断效能不高的主要因素^[8]。

本研究显示,2组BALF-GM、曲霉IgG、IgM的阳性率比较差异均有统计学意义,但是从诊断价值上看,BALF-GM检测诊断价值较高,而曲霉IgG、IgM等指标及其联合检测的诊断价值较低。曲霉IgG+IgM联合检测阳性率有一定提高,BALF-GM联合曲霉IgG/IgM检测阳性率提高到92.05%。因此,本研究认为曲霉IgG+IgM联合检测、BALF-GM联合曲霉IgG/IgM检测可以帮助提高临床诊断阳性率,可以作为临床阳性判定参考,但曲霉IgG+IgM联合检测、BALF-GM联合曲霉IgG/IgM检测的特异度均下降,分析可知CPA确诊患者中呈较大比例的阴性曲霉IgG及IgM,导致联合检测的特异度下降。因此,临床需考虑联合诊断时存在较高的假阴性。不过从单一指标来看,BALF-GM诊断的特异度高(92.06%),临床联合检测时对阴性患者进行BALF-GM单一指标的考量可尽量避免假阴性的出现。另外,ROC曲线分析BALF-GM诊断CPA的AUC为0.868,特异度高,BALF-GM+曲霉IgG/IgM联合诊断CPA的AUC为0.861,灵敏度为82.95%,而曲霉IgG、IgM及IgG/IgM联合检测的诊断价值均较低。因此可进一步说明BALF-GM+曲霉IgG/IgM联合诊断CPA具有高灵敏度,可用于检测CPA阳性患者,同时需结合BALF-GM检测来提高特异度,避免假阴性。

有研究认为,曲霉IgG、IgM等特异性抗体在CPA不同亚型中的诊断价值有差异,CPA在从早期发展为慢性疾病的过程中,特异性抗体稳定性不高,其波动性对临床检出有一定影响^[9]。本研

究未对CPA分型进一步研究,导致曲霉IgG、IgM对CPA早期诊断的价值较低。其次,本研究结果显示,对照组中曲霉IgG、IgM阳性比例较高,也导致曲霉IgG、IgM诊断CPA的灵敏度和特异度降低。另外,对照组病例也是疑似CPA患者,未排除CPA漏诊可能。

综上所述,BALF-GM联合曲霉IgG/IgM特异性抗体检测CPA具有高灵敏度,且结合BALF-GM单一检测可进一步避免假阴性的发生,临床应合理利用BALF-GM及其与曲霉IgG/IgM联合检测手段,以防漏诊误诊。

参 考 文 献

- [1] 郭宪立,宋宁,刘跃,等. 2015慢性肺曲霉病诊断和治疗临床指南解读. 临床荟萃, 2016, 31(3): 325-331.
- [2] Chong G L, van de Sande W W J, Dingemans G J, et al. Validation of a new *Aspergillus* real-time PCR assay for direct detection of *Aspergillus* and azole resistance of *Aspergillus fumigatus* on bronchoalveolar lavage fluid. J Clin Microbiol, 2015, 53(3): 868-874.
- [3] Du C, Wingard J R, Cheng S, et al. Serum IgG responses against *Aspergillus* proteins before hematopoietic stem cell transplantation or chemotherapy identify patients who develop invasive aspergillosis. Biol Blood Marrow Transplant, 2012, 18(12): 1927-1934.
- [4] Denning D W, Cadranet J, Beigelman-Aubry C, et al. Chronic pulmonary aspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management. Eur Respir J, 2016, 47(1): 45-68.
- [5] 苏珊珊,周颖,李玉苹. 慢性肺曲霉病研究进展. 国际呼吸杂志, 2016, 36(20): 1575-1578.
- [6] 肖海浩,汤春梅,苏铎华,等. 支气管镜在肺结核空洞继发曲霉球的诊断价值. 岭南急诊医学杂志, 2020, 25(3): 255-257.
- [7] 苏铎华,汤春梅,邝浩斌,等. 支气管肺泡灌洗液GM试验对慢性肺曲霉病的早期诊断及疗效评估价值. 临床肺科杂志, 2020, 25(8): 1140-1144.
- [8] Guo Y, Bai Y, Yang C, et al. Evaluation of *Aspergillus* IgG, IgM antibody for diagnosing in chronic pulmonary aspergillosis: a prospective study from a single center in China. Medicine (Baltimore), 2019, 98(16): e15021.
- [9] Page I D, Richardson M D, Denning D W. Comparison of six *Aspergillus* -specific IgG assays for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis (CPA). J Infect, 2016, 72(2): 240-249.

(收稿日期: 2021-12-22)

(本文编辑: 杨江瑜)