

肺泡灌洗液中半乳甘露聚糖抗原检查在诊断肺部真菌感染中的应用

武汉市第一医院(武汉市中西医结合医院) 武小杰 陈菁*, 武汉 430022

摘要 目的:观察肺泡灌洗液(BALF)中半乳甘露聚糖抗原检查(GM 试验)在诊断肺部真菌感染中的应用和价值。方法:选取 92 例肺部感染患者行支气管镜下肺泡灌洗,收集 BALF 行 GM 试验,并同时做外周血清 GM 试验和痰真菌培养。结果:发现 BALF 中的 GM 试验(阳性结果:检测值 >1)与肺部真菌感染的危险因素之间无差异($P>0.05$);与 CT 影像学(多发结节、多发浸润)、发热之间无差异($P>0.05$)。BALF 中 GM 试验与痰真菌培养结果有显著关联($P<0.05$),而血清中 GM 试验与痰真菌培养阳性结果无关联($P>0.05$)。根据 BALF 中 GM 试验阳性结果选择肺部感染的抗真菌治疗,发现 64.2% 患者抗真菌治疗有效。结论: BALF 中 GM 试验检测结果可作为临床上肺部真菌感染一个较好的辅助诊断依据。

关键词 肺泡灌洗液; 半乳甘露聚糖抗原检查试验; 真菌感染

中图分类号 R519 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20180616

Application of galactomannan antigen test in bronchoalveolar lavage fluid in diagnosis of pulmonary fungal infection

WU Xiao-Jie, CHEN Jing*. Wuhan No. 1 Hospital, Wuhan Hospital of Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan 430022, China

Abstract Objective: To observe the applied value of galactomannan antigen (GM) test in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in pulmonary fungal infection. Methods: Ninety-two patients with pulmonary infection were selected for bronchoscopic alveolar lavage, BALF was collected for GM test, and peripheral blood GM test and sputum fungal culture were performed simultaneously. Results: There was no significant correlation between GM test in BALF (positive result: detection value >1) and risk factors of pulmonary fungal infection ($P>0.05$), and between GM test with CT imaging (multiple nodules, multiple infiltration) and fever ($P>0.05$). GM test in BALF was significantly correlated with sputum fungal culture ($P<0.05$), while GM test in serum was not correlated with sputum fungal culture ($P>0.05$). According to the positive results of GM test in BALF, 64.2% of patients with pulmonary infection were treated with antifungal therapy. Conclusion: GM test in BALF can provide a good auxiliary diagnostic basis for clinical pulmonary fungal infection.

Key words Bronchoalveolar lavage fluid; Galactomannan antigen test; Fungal infection

近年来,由于抗生素、激素、免疫抑制剂、细胞毒性药物的广泛应用,肺真菌感染病例有逐渐增多趋势。肺部真菌感染的诊断是目前的难题,诊断主要依靠培养结果的真菌形态学辨认,或者依赖病理学检查的结果^[1,2]。但病理学检查肺组织不易获取,而外周血清学试验、抗原皮试只供参考。半乳甘露聚糖抗原检查(galactomannan antigen test, GM 试验)可应用于血清和肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中肺部真菌感染的检测,由于 BALF 易于获取,目前 BALF 中 GM 试验结果应用于临床肺部真菌感染的诊断越来越受到重视^[3,4]。本研究选取 92 例肺部感染住院患者,观察 BALF 中 GM 试验结果与相关检查的关系,以及在肺部真菌感染中的应用。

资料与方法

一般资料 随机选取 2016 年 1 月~2018 年 6 月在武汉市第一医院呼吸内科住院的肺部感染患者 92 例(男 50,女 42),平均年龄 64.5 岁。肺部真菌感染危险因素:包括高危环境(潮湿、发霉)、有基础疾病(结核、支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病、糖尿病、慢性肾病)、药物因素(长期使用激素和免疫抑制剂)和肺部手术史、肺部 CT 提示有肺部感染征象,如斑片状影、实变影,包括多发结节和多发浸润;临床表现为发热($T>37.3^{\circ}\text{C}$)等症状。所有患者至少具备上述一条,但一定是临床影像学提示肺部感染的患者。

方法 所有患者均给予抗感染及对症等常规基础治疗。根据 CT 影像学结果,在局麻下行支气管镜检查,选取病变的部位行肺泡灌洗液检查,如果病

* 通信作者:陈菁, E-mail:1803876732@qq.com

变部位广泛,一般选取右肺中叶或左肺舌叶。每次灌入 10 mL,共 2~3 次,回收肺泡灌洗液约 10 mL 左右。留取 4 mL 左右送 GM 试验,其它送常规检查。患者行支气管镜检查前抽取外周血 5 mL 送 GM 试验,清晨漱口后收集痰液,送真菌培养。

BALF 和血清 GM 试验 方法见参考文献^[5]。GM 试验在我院中心实验室检测;检测标本均在 2 h 内检测。先处理样本(血清或 BALF)。每孔中加入 50 μ L 处理过的样本;用微孔密封贴纸覆盖微板防止蒸发;在干燥的微孔板孵育器中孵育微板,37 $^{\circ}$ C ($\pm 1^{\circ}$ C)孵育(90 ± 5) min;洗板结束后加入 200 μ L 显色液,避光室温孵育(30 ± 5) min,孵育过程中不要使用微孔板密封贴纸;然后加入 100 μ L 终止液,在波长 450 nm 读取每孔的光密度。

疗效 以 BALF 中 GM 试验检查结果 >1 ,作为真菌感染治疗的依据。以抗真菌治疗 2 周后症状的改善和 CT 影像学病灶的减少作为临床有效的依据^[6]。

统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计学软件。计数资料中,BALF 中 GM 试验结果与真菌感染高危因素、CT 影像学结果及患者发热情况的组间比较采用配对研究的 McNemar's χ^2 检验;BALF 中 GM 试验结果、血清中 GM 试验结果分别与痰真菌培养结果间的相关性采用配对资料的关联性分析,关联程度用 Pearson 列联系数表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

BALF 中 GM 试验与真菌感染高危因素的关系 92 例患者行支气管镜下 BALF 中 GM 试验,其中 GM >1 的患者 42 例。真菌感染的高危因素包括:高危环境 5 例(潮湿、发霉)、有基础疾病 33 例(结核、支气管扩张、慢性阻塞性肺疾病、糖尿病、慢性肾病)、药物因素 9 例(长期使用激素和免疫抑制剂)和肺部手术史 4 例。结果发现 92 例患者 BALF 的 GM 试验(阳性结果:检测值 >1)与是否具有真菌感染高危因素之间无显著差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 BALF 中 GM 试验结果与真菌感染高危因素的关系(例)

肺泡灌洗液 GM	真菌感染高危因素	
	有	无
>1.0	24	18
<1.0	27	23

BALF 中 GM 试验与 CT 影像学结果(多发结节、多发浸润)的关系 肺部真菌感染常表现为多

发结节和多发浸润,入组的 92 例患者中有 51 例 CT 影像学表现为结节或浸润影。比较 CT 影像学结果(多发结节、多发浸润)与 BALF 中 GM 试验结果(阳性结果:检测值 >1),发现二者的分布无显著差异($P > 0.05$),见表 2。

表 2 BALF 中 GM 试验与 CT 影像学(多发结节或浸润)的关系

(例)

肺泡灌洗液 GM	多发结节或浸润	
	有	无
>1.0	23	19
<1.0	28	22

BALF 中 GM 试验结果与临床表现(发热)的关系 肺部真菌感染临床常表现为发热,入组的 92 例患者中 45 例有发热。比较患者的发热情况与 BALF 中 GM 试验结果(阳性结果:检测值 >1),发现二者的分布无统计学差异($P > 0.05$),见表 3。

表 3 BALF 中 GM 试验与发热的关系

(例)

肺泡灌洗液 GM	发热	
	有	无
>1.0	20	22
<1.0	25	25

BALF 和血清中 GM 试验与痰真菌培养的关系 痰真菌培养结果可作为肺部真菌感染诊断和治疗的依据,入组的 92 例患者有 31 例的痰培养结果阳性,分别是曲霉菌 18 例,混合感染(念珠菌和曲霉)13 例,其余的培养阴性。结果发现 BALF 中 GM 试验与痰真菌培养阳性结果有显著关联性($P < 0.05$),Pearson 列联系数为 0.38,见表 4。而血清中 GM 试验与痰真菌培养阳性结果无显著关联($P > 0.05$),Pearson 列联系数为 0.12,见表 5。

表 4 BALF 中 GM 试验与痰真菌培养结果的关系(例)

肺泡灌洗液 GM	痰真菌培养	
	阳性	阴性
>1.0	23	19
<1.0	8	42

表 5 血清中 GM 试验与痰真菌培养结果的关系(例)

血清 GM	痰真菌培养	
	阳性	阴性
>1.0	23	38
<1.0	8	23

疗效 根据 BALF 中 GM 试验阳性结果(检测值 >1 为阳性)经验性予以抗真菌治疗^[2]。结果 64.2%(27/42)的患者在抗真菌治疗 2 周后临床症状和影像学有明显的改善。

讨 论

β 半乳甘露聚糖广泛分布于曲霉菌细胞壁中,是除隐球酵母和接合菌属外,为曲霉菌特有的细胞成分。菌丝生长时,半乳甘露聚糖从薄弱的菌丝顶端释放,是最早释放的抗原。通过检测半乳甘露聚糖抗原能早期诊断曲菌感染。对于肺部真菌感染分为外周血清和 BALF 中的 GM 试验检测。目前 BALF 中 GM 试验逐渐应用于临床肺部真菌感染的辅助诊断^[7,8]。血清和 BALF 中 GM 试验的检测有一定的局限性,存在假阳性和假阴性。以下情况可出现假阳性:使用半合成青霉素尤其是哌拉西林/他唑巴坦;新生儿和儿童;血液透析;自身免疫性肝炎等;食用可能含有 GM 的牛奶等高蛋白食物和污染的大米等。以下情况可出现假阴性:释放入血循环中的曲霉 GM(包括甘露聚糖)并不持续存在而是会很快清除;以前使用了抗真菌药物;病情不严重;非粒细胞缺乏的患者^[9]。

目前血清和 BALF 中的 GM 试验均应用于临床肺部真菌感染的辅助诊断,但哪种检测标本更有助于临床诊断存在争议。由于 GM 试验反映的是真菌增殖的状态,而且 BALF 直接从肺组织中获取,临床上更倾向于 BALF 的 GM 试验作为肺部真菌感染的辅助诊断^[10]。本研究发现,BALF 中 GM 试验结果与患者的真菌感染高危因素、CT 影像学结果及患者的发热情况间无显著差异,BALF 中 GM 试验与痰真菌培养有显著关联,血清中 GM 试验与痰真菌培养无关联,BALF 中 GM 试验与痰培养结果呈现比较高的一致性。经过临床疗效的判断,采用 BALF 中 GM 试验阳性结果治疗的患者,半数以上的患者抗真菌治疗效果良好。提示我们,BALF 中 GM 试验检测可以作为一个肺部真菌感染的辅助诊断依据。

本研究发现 GM 试验检测的结果不受肺部真菌感染常见的危险因素影响。同时,肺部真菌感染常

见表现的发热,肺部真菌感染比较典型的 CT 影像学表现如多发结节、多发浸润,与 BALF 中 GM 试验之间也没有相关性。说明 BALF 中 GM 试验能独立于这些因素来判断肺部真菌感染^[11]。

本研究发现,BALF 中的 GM 试验能够为临床肺部真菌(曲霉菌)感染提供一个较好的辅助诊断依据。

参 考 文 献

- 1 蔡映云,任涛,杨岚,等. 肺真菌病的诊断和治疗进展[J]. 临床内科杂志,2010,18(5):328-329.
- 2 中华医学会呼吸病学分会感染学组. 肺真菌病诊断和治疗专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志,2007,30(11):821-834.
- 3 Grancini A,Orlandi A,Lunghi G,et al. Evaluation of real time PCR aspergillus spp. in bronchoalveolar lavage samples[J]. New Microbiol,2018,41(1):67-70.
- 4 Wang Y,Li D,Qiao L,et al. Infant central nervous system aspergillosis with first-episode of intracranial hemorrhage: a case report[J]. Medicine (Baltimore),2017,96(47):e8893.
- 5 White PL,Price JS,Posso RB,et al. An evaluation of the performance of the Dynamiker Fungus (1-3)- β -D-Glucan Assay to assist in the diagnosis of invasive aspergillosis, invasive candidiasis and Pneumocystis pneumonia[J]. Med Mycol,2017,55(8):843-850.
- 6 Patterson TF,Thompson GR,Denning DW,et al. Practice guidelines for the diagnosis and management of aspergillosis;2016 update by the Infectious Diseases Society of America[J]. Clin Infect Dis,2016,63(4):e1-e60.
- 7 陈亚红,姚婉贞,王建丽,等. 重症监护病房肺部真菌感染的诊断与治疗[J]. 中华结核和呼吸杂志,2014,27(3):197-200.
- 8 Savio J,Menon NR,Sudharma AR,et al. Galactomannan assay and invasive pulmonary aspergillosis -comparison of the test performance at an in-house and the Kit Cut-off[J]. J Clin Diagn Res,2016,10(8):DC01-4.
- 9 Johnson GL,Sarker SJ,Nannini F. Aspergillus-specific lateral-flow device and real-time PCR testing of bronchoalveolar lavage fluid: a combination biomarker approach for clinical diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis[J]. J Clin Microbiol,2015,53(7):2103-2018.
- 10 Ko JH,Peck KR,Lee JY,et al. Multiple myeloma as a major cause of false-positive galactomannan tests in adult patients with cancer[J]. J Infect,2016,72(2):233-239.
- 11 徐灵彬,熊洁,孙莉,等. 老年慢性阻塞性肺疾病急性加重患者合并肺部真菌感染危险因素分析[J]. 中华医院感染杂志,2013,22(3):529-531.

(2018-06-13 收稿 2018-09-26 修回)