



扫码阅读电子版

烟曲霉 IgG 抗体检测在慢性肺曲霉病中的意义

刘扬 李彦芹 马秀清 解立新

中国人民解放军总医院呼吸科, 北京 100853

通信作者: 解立新, Email:xielx301@126.com

【摘要】 目的 复检烟曲霉 IgG 抗体的血清水平, 探讨其在慢性肺曲霉病 (CPA) 中的意义; 分析抗真菌治疗前后抗体滴度变化, 为 CPA 的早期诊断、治疗及连续监测提供帮助。方法 选取 42 例疑似患者, 酶联免疫吸附测定方法检测血清中烟曲霉 IgG 抗体水平变化; 并对阳性 (>120 AU/ml) 以及可疑阳性 (80~120 AU/ml) 患者抗真菌治疗后复检, 统计分析其在诊断及治疗效果评价过程中的意义。结果 42 例有复检结果的患者中, 20 例呈阳性、6 例呈可疑阳性, 其血清中烟曲霉 IgG 抗体水平显著增高; 其中 16 例阳性及 5 例可疑阳性抗真菌治疗后患者临床症状明显减少, 烟曲霉 IgG 水平整体呈显著下降趋势, 其中阳性患者 (>120 AU/ml) 的治疗效果更加显著。结论 烟曲霉 IgG 抗体检测对肺曲霉病的早期临床诊断具有重要意义; 其血清水平的变化能够直观的反应阳性患者 (>120 AU/ml) 抗真菌治疗的预后。

【关键词】 烟曲霉菌; 免疫球蛋白 G; 肺曲霉菌病; 酶联免疫吸附测定; 抗真菌药

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.15.003

Significance of IgG antibody detection of *Aspergillus fumigatus* in chronic pulmonary aspergillosis

Liu Yang, Li Yanqin, Ma Xiuqing, Xie Lixin

Department of Respiratory Medicine, General Hospital of the Chinese People's Liberation Army Beijing 100853, China

Corresponding author: Xie Lixin, Email:xielx301@126.com

【Abstract】 Objective To examine the serum level of *Aspergillus fumigatus* IgG antibody and to explore its significance in chronic pulmonary aspergillosis (CPA), and to analyze the change of antibody titer before and after antifungal therapy, and to provide help for the early diagnosis, treatment and continuous monitoring of chronic pulmonary aspergillosis. **Methods** 42 cases of suspected patients were selected and the serum levels of *Aspergillus fumigatus* IgG antibody in serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method, and the positive (>120 AU/ml) and suspicious positive (80~120 AU/ml) patients were rechecked after antifungal treatment, and the significance of the diagnosis and treatment effect evaluation was analyzed. **Results**

Of the 42 cases of reexamination, 20 cases were positive and 6 cases were suspected positive, and the serum level of *Aspergillus fumigatus* IgG antibody was significantly higher in the serum. The clinical symptoms of 16 cases and 5 cases of suspected positive antifungal treatment were significantly reduced, and the overall IgG level of *Aspergillus fumigatus* decreased significantly, and the positive patient (>120 AU/ml) treatment was significantly decreased. The therapeutic effect was more significant. **Conclusions** The detection of *Aspergillus fumigatus* IgG antibody is of great significance in the early diagnosis of pulmonary aspergillosis, and the changes in serum level can be intuitively reacted positive patients (>120 AU/ml) for the prognosis of antifungal therapy.

【Key words】 *Aspergillus fumigatus*; Immunoglobulin G; Pulmonary aspergillosis; Enzyme-linked immunosorbent assay; Antifungal agents

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.15.003

肺曲霉病是感染曲霉菌后引起的一种慢性疾病,可侵犯皮肤、黏膜、鼻腔、肺、神经等,在各种曲霉中主要以烟曲霉为主。根据病原菌的致病力可分为致病性真菌和条件致病性真菌。致病性真菌本身具有致病性,条件致病性真菌致病性低,通常不感染正常人,但正常人大量接触后或免疫功能低下者容易感染,烟曲霉就是其中的一种条件致病菌。根据我国目前的流行病学资料,在非血液恶性疾病患者中肺真菌病主要有肺曲霉病(37.9%)、肺念珠菌病(34.2%)、肺隐球菌病(15.6%)、肺孢子菌病(4.8%)、肺毛霉病(2.1%)、肺马尔尼菲蓝状菌病和组织胞浆菌病^[1]。可见肺曲霉病在非血液恶性疾病患者中占有很大的比重,应该受到重视。慢性肺曲霉病(chronic pulmonary aspergillosis, CPA)是一种难治的肺部疾病,发病比较缓慢,其进程往往持续3个月以上,常合并其他呼吸疾病,如不积极治疗,5年病死率较高(75%~80%),因此需提高临床医师对CPA的全面认识,以期尽早明确诊断,并给予恰当治疗,以降低其病死率。

目前上市的抗体检测试剂盒,能检测血清曲霉特异性IgE类抗体,仅对变应性支气管肺曲霉病(allergic bronchopulmonary aspergillosis, ABPA)有诊断价值。国内天津丹娜公司正在开展曲霉IgG类抗体检测的临床实验,试图通过IgG检测提示疾病的发生及进展。过去人们对曲霉抗体检测的研究并不清楚,随着近年来对侵袭性曲霉病(invasive pulmonary aspergillosis, IPA)研究的深入,尤其是对CPA认识的加深,以及GM试验对CPA的诊断效果不尽如人意,科研人员越来越重视曲霉菌抗体检测在IPA尤其是CPA诊断中的作用^[2]。在2015年出版的欧洲CPA诊断和治疗的临床指南中^[3],特别强调了曲霉IgG抗体检测、曲霉IgM抗体检测和曲霉IgE抗体检测在CPA诊断中的重要作用。2016年更新的美国感染病学会(Infectious Disease Society of America, IDSA)曲霉病诊断与处置指南中,更是强调了曲霉IgG抗体检测是慢性空洞性肺曲霉病诊断中最灵敏的微生物学方法^[4]。因此,为了评估其临床诊断价值,及时的监控患者病情并进行及时诊治,需要尽早开展此项检测工作。

1 材料与方法

1.1 材料来源 2017~2018年在解放军总医院呼吸科实验室复查血清烟曲霉IgG抗体的患者血清42例,年龄(51.8±14.5)岁,年龄范围17~85

岁,男23例,女19例。血清保存在-80℃冰箱。本项目已经得到解放军总医院伦理委员的审查和批准(S2017-015-01)。

1.2 实验试剂 天津丹娜公司生产的烟曲霉IgG抗体检测试剂盒。

1.3 实验仪器 北方同正生物技术发展公司HQ-60旋涡混合器;北京医用离心机厂LG10-2.4A高速离心机;美国BioTek Instruments, Inc. ELX800全自动酶标仪。

1.4 实验方法

1.4.1 血清烟曲霉IgG抗体水平的测定 采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法,操作严格按照试剂盒说明书进行:(1)试验前将试剂盒取出,置于室温(20~25℃)达30min;(2)打开装有酶标板的密封袋R1,将暂不用的板条放回密封袋内封好,保存在2~8℃;(3)配制工作洗涤液,浓缩洗液稀释20倍(1份浓缩液加19份的无菌去离子水或超纯水),稀释后的工作洗涤液可在2~8℃保存2周。若浓缩洗液出现结晶,请30℃水浴溶解后使用;(4)样本稀释,待测样本需用样本稀释液稀释1000倍(1份样本加999份样本稀释液);(5)留第一孔做空白对照,其余各孔依次加入烟曲霉IgG抗体标准品、质控品A、质控品B和稀释后的血清样本各100μl;(6)贴上封板膜,样品于37℃条件下孵育(60±5)min;(7)洗涤,揭开封板膜,洗涤酶标板。每孔每次加入不少于300μl的洗涤液,静置40s后将酶标板孔内液体除去,在吸水纸上反复拍打去除残留液体,重复上述洗涤操作,共洗涤3次;(8)每孔加入100μl酶标抗体;(9)贴上封板膜,在37℃条件下孵育(30±1)min;(10)同步骤(7);(11)每孔加入底物溶液100μl;(12)在37℃条件下孵育15min,避光;(13)每孔加入50μl终止液,加样顺序与加入底物溶液的顺序一致,混匀;(14)加入终止液后,在5min内于酶标仪450nm波长处读吸光度值(OD值)。

1.4.2 结果判读 烟曲霉IgG抗体滴度≥120AU/ml,则定为阳性;烟曲霉IgG抗体滴度在80~120AU/ml,定为可疑阳性;烟曲霉IgG抗体滴度<80AU/ml,则定为阴性。

1.5 统计学分析 应用SPSS 17.0统计分析软件处理数据。两组定量数据之间的比较用 t 检验,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,率的比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抗真菌治疗前后血清烟曲霉 IgG 检测阳性率变化 42 例患者分别在 3 个月内复检烟曲霉特异性 IgG 抗体。除外 16 例阴性患者及 5 例未抗真菌治疗患者，余下阳性（16 例）和可疑阳性（5 例）患者 21 例给予伏立康唑、伊曲康唑、氟康唑等抗真菌药物治疗。其中，阳性患者治疗后阳性比例降至 68.75%，其余 31.25% 转为可疑阳性（18.75%）或阴性（12.5%）；但是可疑阳性患者治疗后，可疑阳性的比例占 60%，阴性比例占 20%，阳性比例占 20%。阳性或者可疑阳性患者治疗后转阴比例均呈明显增高的趋势，患者对抗真菌治疗比较敏感；同时也提示该试剂盒所测阳性患者血清烟曲霉 IgG 的变化能够反映疾病的发生与发展进程。

2.2 抗真菌治疗前后血清烟曲霉 IgG 水平的变化 分别对 16 例阳性和 5 例可疑阳性患者血清烟曲霉 IgG 水平进行分析，抗真菌治疗前后，分别用配对 *t* 检验统计分析。抗真菌治疗后阳性患者血清烟曲霉 IgG 水平显著下降 [(243.00 ± 131.73) AU/ml vs (141.11 ± 46.96) AU/ml, *t* = 2.910, *P* < 0.01]，差异有显著统计学意义；可疑阳性患者治疗前后血清烟曲霉 IgG 水平无显著变化。表明，抗真菌治疗能够显著降低 CPA 患者血清中烟曲霉 IgG 的水平，但是对可疑阳性患者效果不明显（表 1）。

表 1 治疗前后烟曲霉 IgG 水平比较 (AU/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗后
阳性组	16	243.00 ± 131.73	141.11 ± 46.96 ^a
可疑阳性组	5	97.39 ± 13.55	99.10 ± 30.16
<i>t</i> 值		2.425	1.866
<i>P</i> 值		0.026	0.078

注：与治疗前比较，^a*P* < 0.05

2.3 阳性患者抗真菌治疗前后血清烟曲霉 IgG 检测阳性率比较 治疗前 16 例患者血清烟曲霉 IgG 水平 > 120 AU/ml，治疗后 11 例 > 120 AU/ml，5 例 < 120 AU/ml。卡方检验结果表明，抗真菌治疗后烟曲霉 IgG 阳性率显著下降 ($\chi^2 = 5.926$, *P* = 0.015)。对血清烟曲霉 IgG 阳性患者进行抗真菌治疗切实有效，能够显著降低患者血清烟曲霉 IgG 的阳性率。

2.4 临床诊断肺曲霉感染患者抗真菌治疗前后 IgG 水平的比较 16 例阳性患者血清烟曲霉 IgG 水平 > 120 AU/ml，其中 12 例临床诊断为肺曲霉感染，对其抗真菌治疗前后血清 IgG 水平用配对 *t* 检验统计分析。结果表明，抗真菌治疗前 IgG

水平为 (263.13 ± 146.50) AU/ml，治疗后烟曲霉 IgG 水平为 (150.02 ± 49.37) AU/ml，呈显著下降 (*t* = 2.530, *P* < 0.01)。并且，治疗前肺曲霉感染患者临床症状如体重减轻、全身乏力、盗汗和食欲下降、及慢性咳嗽、呼吸困难、胸部不适的患者（9 例）占比 75%，抗真菌治疗后占比（4 例）33.33%，呈显著下降 ($\chi^2 = 4.200$, *P* = 0.041)。但是抗真菌治疗后患者 3 个月复查肺 CT，仅有 2 例影像学病灶较治疗前缩小，10 例患者治疗前后影像学病灶吸收无显著变化。临床诊断肺曲霉感染患者检测血清中 IgG 水平变化的指导意义优先于影像学结果。

3 讨论

CPA 的诊断需同时满足以下条件：（1）胸部影像学的特征性表现；（2）曲霉菌感染的直接证据（显微镜或活组织培养）或曲霉菌免疫反应阳性；（3）排除其他疾病，病程超过 3 个月^[3]。曲霉菌免疫反应中比较常见的就是特异性 IgG 抗体的检测。IgG 是血清主要的抗体成分，约占血清 Ig 的 75%，其中 40~50% 分布于血清中，其余分布在组织中。在 5 种免疫球蛋白中，IgG 生成的相对较晚，其持续时间也是最长的，免疫球蛋白是机体受抗原（如病原体）刺激后产生的，其主要作用是抗原起免疫反应，生成抗原-抗体复合物，从而阻断病原体对机体的危害，使病原体失去致病作用，在机体免疫中起到保护作用，能有效抵抗某些感染性疾病。外源性真菌侵入肺部，引起肺的局部的炎症反应，局部与整体互相影响，血清中烟曲霉 IgG 抗体水平升高，提示患者烟曲霉感染，肺部真菌感染后不断刺激机体产生炎症反应，其 IgG 抗体一直处于比较高的水平，其浓度也会持续很长一段时间。

与真菌抗原检测相比，真菌血清特异性抗体检测的研究和临床应用相对滞后，其主要原因是过去人们认为抗体检测的特异性较差，不能区分是体内定植还是感染；而机会性真菌感染常发生在机体免疫功能低下的人群，难以产生足够量的抗体，易发生假阴性^[5]。但是近年来的研究表明，定植和感染的患者其特异性抗体水平存在显著差异；而存在免疫缺陷的患者也可以产生足够的抗体水平从而用于肺部真菌感染的诊断^[6]。同时，随着人们对 CPA 认识的加深，真菌特异性抗体检测已经成为诊断的重要方法。血 GM 试验广泛用于 IPA 的诊断，但在 CPA 患者中其阳性率不高。Shin 等^[7]对确诊为 CPA 的 168 例患者进行研究，发现血 GM 试验阳性率为 23%，其敏感度为 23%，特异度为 85%，

认为血 GM 试验不能用于 CPA 的血清学诊断。本研究中, CPA 患者治疗前后血清烟曲霉 IgG 抗体阳性率的变化能显示 CPA 的发生与发展进程, 抗真菌治疗能够显著降低 CPA 患者血清中烟曲霉 IgG 的水平, 但是对可疑阳性患者效果不明显 (表 1), 这和患者的临床症状减轻或消失相符。本研究显示, 可疑阳性患者经抗真菌治疗后其烟曲霉 IgG 抗体水平与治疗前比较差异无统计学意义, 以烟曲霉 IgG 抗体滴度 120 AU/ml 为界, 单独分析 16 例阳性治疗前后的情况, 治疗后与治疗前差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 显示抗真菌治疗对血清烟曲霉 IgG 抗体滴度 > 120 AU/ml 的患者显著, 可疑阳性组没有明显效果, 也就是说可疑阳性组患者抗真菌治疗效果不好, 这类患者可用药也可不用。12 例临床诊断烟曲霉菌感染患者抗真菌治疗后, 临床症状较治疗前减轻, 但是 CPA 患者病程往往较长, 病灶吸收缓慢, 本研究 12 例临床诊断患者于 3 个月复查肺 CT, 影像学结果显示仅有 2 例患者病灶较之前吸收缩小, 其余 10 例病灶吸收无明显变化, 本研究结果提示临床诊断烟曲霉感染患者的血清学结果优先于影像学结果。

本研究中烟曲霉特异性 IgG 抗体水平一定程度上提示了疾病进展的程度, 该试剂盒所测阳性患者血清烟曲霉 IgG 阳性率的变化能够反映疾病的发生与发展进程。同时抗真菌治疗后, 患者临床症状明显减轻, 提示抗真菌治疗成功, 其抗体水平也会相应降低, 进一步证实烟曲霉特异性抗体检测在 CPA 感染中的意义, 为 CPA 患者的早期临床诊断

及疾病的进展有一个很好的提示作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 刘又宁, 余丹阳, 孙铁英, 等. 中国 1998 至 2007 年临床确诊的肺真菌病患者的多中心回顾性调查[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(2): 86-90. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2011.02.004.
- [2] Page ID, Richardson M, Denning DW. Antibody testing in aspergillosis-quo vadis? [J]. Med Mycol, 2015, 53(5): 417-439. DOI: 10.1093/mmy/myv020.
- [3] Denning DW, Cadranel J, Beigelman-Aubry C, et al. Chronic pulmon aryspergillosis: rationale and clinical guidelines for diagnosis and management[J]. Eur Respir J, 2016, 47(1): 45-68. DOI: 10.1183/13993003.00583-2015.
- [4] Patterson TF, Thompson GR 3rd, 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. DOI: 10.1093/cid/ciw326.
- [5] Knutsen AP, Bush RK, Demain JG, et al. Fungi and allergic lower respiratory tract diseases[J]. J Allergy Clin Immunol, 2012, 129(2): 280-291; quiz 292-3. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.12.970.
- [6] 周梦兰, 徐英春, 赵玉冲. 侵袭性真菌病血清学检测研究进展[J]. 中国感染与化疗杂志, 2018, 18(1): 118-123. DOI: 10.16718/j.1009-7708.2018.01.023.
- [7] Shin B, Koh WJ, Jeong BH, et al. Serum galactomannan antigen test for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis of chronic pulmonary aspergillosis[J]. J Infect, 2014, 68(5): 494-499. DOI: 10.1016/k.jinf.2014.01.005.

(收稿日期: 2018-08-17)

· 简讯 ·

《急诊气道管理》已出版

人民军医出版社最近出版《急诊气道管理》, George Kovacs 和 J. Adam Law 主编, 刘双、朱光发主译, 全书共 20 章, 涵盖了紧急情况下气道管理的所有问题。本书翻译的目的就是希望让麻醉医师意外的临床医师(包括急诊医师、呼吸科医师、监护仪式、内科医师、外科医师、儿科医师、护士以及基层医务工作者)了解紧急情况下处理气道的相关知识, 掌握气道解剖、生理以及各种气管插管的设备和操作方法。该书是美国临床医师继续教育的一本使用的权威教科书。

各地新华社及医学专业书店有售, 定价每本 42 元。