

支气管肺泡灌洗液半乳甘露聚糖检测在 COVID-19 相关侵袭性肺部真菌感染中的诊断价值

程中乐¹, 魏薇², 吴承煦³, 朱程宇⁴, 王中新¹, 黄颖¹, 夏红灯¹

1. 安徽医科大学第一附属医院检验科, 安徽 合肥 230032; 2. 安徽医科大学第一附属医院儿科, 安徽 合肥 230032;
3. 南昌大学医学部玛丽女王学院, 江西 南昌 330006; 4. 安徽医科大学, 安徽 合肥 230000

摘要: **目的** 分析支气管肺泡灌洗液(BALF)中半乳甘露聚糖(GM)的浓度及其在诊断新型冠状病毒感染(COVID-19)相关侵袭性肺部真菌感染(IPFI)中的价值。**方法** 以2022至2023年安徽医科大学第一附属医院收治的COVID-19患者确诊、临床诊断或拟诊断的COVID-19相关IPFI 41例为试验组,以同期收治的42例单纯肺炎患者为对照组。两组患者均行支气管镜肺泡灌洗术,同时检测患者BALF和血清的GM含量,分析两组不同标本检测方法的GM浓度差异和临床诊断价值,评价其诊断效能,绘制ROC曲线。**结果** 试验组患者BALF-GM浓度[(2.27±1.78) ng/L vs (0.51±0.28) ng/L, $t=6.329$, $P<0.01$]及血清GM浓度[(1.57±0.56) ng/L vs (0.32±0.11) ng/L, $t=14.190$, $P<0.01$]均比对照组高,差异有统计学意义。BALF诊断IPFI的最佳截断值为1.82 ng/L,敏感性和特异性分别为77.9%和89.2%,AUC为0.92(95%CI:0.871~0.955);血清最佳截断值为0.67 ng/L,敏感性和特异性分别为64.9%和92.2%,AUC为0.89(95%CI:0.854~0.925)。然而BALF的假阳性率略高于血清(10.8% vs 7.8%)。**结论** GM可以作为较好的评估COVID-19相关IPFI的指标。BALF中的GM检测对IPFI诊断比血清更具有临床价值。

关键词: 侵袭性真菌感染; 支气管肺泡灌洗液; 半乳甘露聚糖; 新型冠状病毒感染

中图分类号: R446.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2023)09-1366-04

Diagnostic value of galactomannan detection in bronchoalveolar lavage fluid in COVID-19 associated invasive pulmonary fungal infection

CHENG Zhongle*, WEI Wei, WU Chengxu, ZHU Chengyu, WANG Zhongxin, HUANG Ying, XIA Hongdeng

* Laboratory Department, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China

Corresponding author: XIA Hongdeng, E-mail: 51611236@qq.com

Abstract: Objective To analyze the concentration of galactomannan (GM) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and its value in the diagnosis of COVID-19 related invasive pulmonary fungal infection (IPFI). **Methods** From 2022 to 2023, 41 patients with COVID-19 related IPFI confirmed, clinically diagnosed or to be diagnosed in the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University were taken as the experimental group, and 42 patients with simple pneumonia were taken as the control group. Bronchoscopic alveolar lavage was performed in both groups, and the contents of GM in both BALF and serum were detected at the same time. The concentration difference and clinical diagnostic value of GM between the two groups of different specimens were analyzed, and ROC was used to evaluate the diagnostic efficacy. **Results** Compared with the control group, the experimental group had higher BALF GM concentrations [(2.27±1.78) ng/L vs (0.51±0.28) ng/L, $t=6.329$, $P<0.01$] and serum GM concentrations [(1.57±0.56) ng/L vs (0.32±0.11) ng/L, $t=14.190$, $P<0.01$]. The optimal cut-off value for diagnosing IPFI with BALF was 1.82 ng/L, with sensitivity and specificity of 77.9% and 89.2%, respectively, and AUC of 0.92 (95% CI: 0.871–0.955). The optimal cut-off value for serum was 0.67 ng/L, with sensitivity and specificity of 64.9% and 92.2%,

respectively, and AUC of 0.89 (95% CI: 0.854–0.925). However, the false positive rate of BALF was slightly higher than that of serum (10.8% vs 7.8%). **Conclusion** GM can be serve of as a good indicator for evaluating IPFI related to COVID-19. The GM detection in BALF has more clinical value in the diagnosis of IPFI than serum.

Keywords: Invasive fungal infection; Bronchoalveolar lavage fluid; Galactomannan; COVID-19

Fund program: Quality Engineering Project for Colleges and Universities in Anhui Province (2022xsxx102); Anhui Medical University Clinical Research Project (2020xkj188)

部分新型冠状病毒感染(COVID-19)患者需要入住重症监护病房,随着广谱抗生素和免疫抑制剂的使用,存在发生继发性感染的高风险,其中侵袭性肺部真菌感染(invasive pulmonary fungal infection, IPFI)最为常见,如侵袭性肺曲霉病(invasive pulmonary aspergillosis, IPA)。由于患者无特异性的临床表现,其确诊病理活检具有一定的创伤性,极易造成临床漏诊和误诊。因而也是重症监护室 COVID-19 患者常见的死亡原因之一^[1]。由于现阶段临床常用的检测方法仍是患者呼吸道标本的真菌涂片和真菌培养,而呼吸道标本真菌培养存在周期长和阳性率低等特点,IPFI 难以早期诊断^[2]。因此,寻找早期诊断 IPFI 的测定方法成为国内外研究的重点。半乳甘露聚糖(galactomannan, GM)是曲霉菌细胞壁中的特有组分,在真菌生长过程中可以被释放进入血液和体液如支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中^[3],它在 BALF 和血清中的含量可作为诊断 IPFI 的指标之一。但由于现阶段 BALF 的诊断效能和阈值尚无标准,本研究对此开展了相关临床试验。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取在安徽医科大学第一附属医院 2022—2023 年收治的新型冠状病毒核酸阳性继发 IPFI 的住院患者 41 例为试验组,同期单纯肺炎患者 42 例为对照组。收集临床数据:包括病史、临床表现、诊断结果和治疗效果,按照中华内科杂志编委会制定的《IPFI 的诊断标准和治疗原则》,确诊需要经胸穿刺活检或经支气管肺部病变部分活检获得的组织样本病理学结果阳性或呼吸道标本培养阳性。临床诊断则需要至少含有一项宿主因素和两项临床症状或微生物学因素。拟诊断至少含有一项宿主因素和一项临床症状或微生物学因素。诊断标准:(1) 宿主因素,近期外周血中性粒细胞减少、体温升高、接受免疫抑制治疗或者免疫缺陷;(2) 临床症状,肺部影像学改变、肺部感染体征、肺部阴影积极抗细菌治疗无效的发热;(3) 微生物学证据,① 通过从呼吸道样品中培养分离

出真菌;② 至少连续两次显示(1,3)- β -D 葡聚糖(G)试验阳性、GM 试验阳性和真菌涂片阳性;③ 针对细菌抗生素治疗无效,但抗真菌治疗有效。按此标准为“确诊”、“临床诊断”和“拟诊断”为 IPFI 的患者纳入为试验组。试验按照《赫尔辛基宣言》中规定的伦理原则进行,研究得到了安徽医科大学第一附属医院生物伦理委员会的批准(5101350)。

1.2 仪器和试剂 血清 GM 试剂盒及其配套仪器来自天津丹娜公司的曲霉菌抗原检测试剂盒(批准文号:津械注准 20192400051),试验使用微生物系统构建标准曲线经检测软件自动处理得出结果数值,整体测定结果根据试剂盒推荐的侵袭性真菌诊断定义判断:以 >0.5 判定为阳性。

1.3 方法 用生化采血管采集受试对象外周静脉血 3 mL,同时采集支气管肺泡灌洗液 10 mL 进行 GM 试验检测,试验步骤按照操作说明书和无菌操作原则进行。

1.4 统计学方法 使用 SPSS 19.0 进行统计分析。计数资料的比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验。诊断效能用敏感性、特异性、阳性预测值、阴性预测值等描述,并构建以受试者工作特征(ROC)曲线及曲线下面积(AUC)来评估两种标本检测 GM 的诊断价值。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较 两组性别、年龄与基础疾病情况差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

2.2 BALF 和血清 GM 浓度 试验组患者 BALF GM 浓度检测值及血清 GM 浓度检测值均比对照组高,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 2。

2.3 不同标本 GM 试验的诊断效能评价和 ROC 曲线 不同标本 GM 试验在不同截断值下敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值结果见表 3。将 41 例 IPFI 患者和 42 例单纯肺炎患者血清和 BALF 的 GM 浓度绘制成 ROC 曲线(图 1)。ROC 曲线约登指数最大的切点即分界点,对应的正确指数最

表 1 两组患者一般资料比较
Tab. 1 General data of patients

项目	试验组 (n=41)	对照组 (n=42)	χ^2/t 值	P 值
性别			0.761	0.383
男	30	27		
女	11	15		
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	75.59 \pm 8.89	72.23 \pm 7.82	1.829	0.070
基础疾病(例)				
支气管哮喘	5	4	0.001	0.969
肺部肿瘤	8	6	0.404	0.525
血液系统疾病	5	4	0.001	0.525
自身免疫性疾病	8	6	0.404	0.525
糖尿病史	17	9		0.061 ^a

注:a 为 Fisher 确切概率检验。

表 3 BALF 和血清 GM 试验在不同截断值下的诊断价值
Tab. 3 Diagnostic value of BALF and plasma GM tests at different cut-off values

标本种类	截断值(ng/L)	阳性率(%)	敏感性(%)	特异性(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	AUC(95%CI)
BALF	2.0	93.11	67.12	91.39	84.69	95.67	0.878(0.841~0.885)
	1.5	89.39	87.32	88.69	81.36	89.34	0.857(0.851~0.895)
	1.0	80.69	81.56	78.54	76.32	83.24	0.811(0.801~0.845)
血清	0.8	83.48	68.89	91.12	72.94	86.37	0.821(0.811~0.845)
	0.5	73.89	77.89	75.36	75.69	73.45	0.761(0.741~0.815)

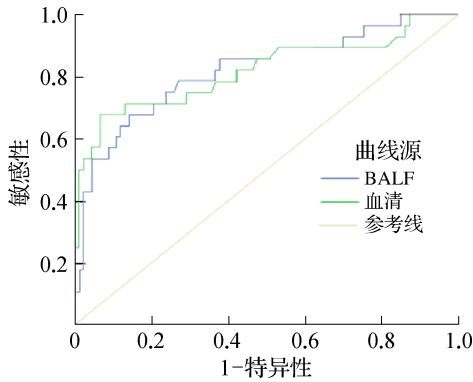


图 1 GM 试验在 BALF 和血清中用于诊断 IPFI 的 ROC 曲线
Fig. 1 ROC curve of GM test for diagnosis of IPFI in BALF and plasma

3 讨论

重症 COVID-19 患者中,并发 IPA 可导致疾病死亡率增加。GM 是在真菌侵入组织过程中释放出来的位于细胞壁上的一种多糖,是最常用的 IPA 生物标志物^[4-5]。欧洲癌症研究治疗组织/国立研究院真菌病研究小组(EORTC/MSG)制定的共识中推荐 GM 试验作为临床侵袭性真菌感染的筛选诊断试验^[6]。当早期出现 IPFI 时,血管病变较为轻微,GM 释放入血的水平是相对较低的,来自受真菌感染影响的靶器官肺泡的 BALF 中 GM 的浓度增加,阳性率会较

大。BALF 诊断 IPFI 的最佳截断值为 1.82 ng/L,敏感性和特异性分别为 77.9% 和 89.2%, AUC 为 0.92(95%CI: 0.871 ~ 0.955)。血清最佳截断值为 0.67 ng/L,敏感性和特异性分别为 64.9% 和 92.2%, AUC 为 0.89(95%CI: 0.854 ~ 0.925)。

表 2 患者 BALF 和血清 GM 试验的结果比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$)
Tab. 2 Comparison of the results of BALF and serum GM tests in patients (ng/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	BALF	血清
试验组	41	2.27 \pm 1.78	1.57 \pm 0.56
对照组	42	0.51 \pm 0.28	0.32 \pm 0.11
t 值		6.329	14.190
P 值		<0.001	<0.001

高^[7]。由 Linder 等^[3]进行的试验报道指出, BALF-GM 在诊断 IPFI 时敏感性和特异性均达到理想要求。

本研究表明, BALF-GM 诊断 IPFI 最佳截断值为 1.82 ng/L,敏感性和特异性分别为 77.9% 和 89.2%。此外,血清 GM 浓度截断值为 0.67 ng/L 时具有最佳诊断价值,敏感性和特异性分别为 64.9% 和 92.2%。BALF 能提高 GM 试验在 IPFI 中的诊断价值。有报道显示血清中的 GM 水平与真菌负荷和免疫状态都有关联^[8]。早期真菌很难入侵血液系统,早期释放到血清中的 GM 水平相对较低,此外,抗真菌药物的应用可以降低血液中的 GM 水平^[9]。而且正常机体免疫力情况下,血清 GM 水平可以很快代谢降低^[10]。这些原因共同解释了早期检测 IPFI 血清中 GM 浓度变化的方法灵敏度较低。由于 IPFI 的靶器官是肺泡和支气管,而 BALF 可以直接从肺泡和支气管灌洗出来,故可能使其中 GM 浓度在疾病早期比血清具有更高的灵敏度^[11]。此外本研究对临床确诊的 IPFI 新冠患者临床资料回顾性研究发现,其中 5 例患者有呼吸系统疾病,5 例患者有血液系统疾病,8 例患者有肿瘤,8 例患者接受了免疫抑制药物或皮质激素治疗,提示这些都是住院患者 IPFI 的高危因素。有 meta 分析表明 GM 试验对于侵袭性真菌感染诊断的灵敏度是 0.78,特异性为 0.81^[12]。同样,有报道基于重症监护病房患者的 IPFI 研究 BALF 中 GM 检测对 IPA

诊断有较高的敏感性和特异性^[13]。本研究结果与之前的研究结论相一致,结果表明,基于试剂盒推荐的阳性诊断标准,BALF的GM检测比血清测定具有更高的灵敏度,笔者建议BALF-GM测定的截断值应该重新定义。在不同的研究报道BALF的诊断截断值存在一定差异,现阶段BALF-GM浓度测定的诊断截断值仍缺乏统一标准。因为BALF-GM浓度值与灌洗部位存在相关性,建议临床通过计算机断层扫描确定的病变部位再进行BALF标本的采集^[14]。与真菌培养相比,虽然BALF-GM和血清-GM检测对IPFI的诊断更敏感,但不能忽视其存在的假阳性情况^[15]。另外,BALF的采集和BALF-GM测定的诊断截断值需要标准化,以减少由于标本采集生理盐水对标本的稀释造成检测结果差异^[16]。本研究存在一定限制因素:回顾分析、单因素设计和样本量相对较低。另外,不是所有患者的BALF和血清样本均能重复测试,后续需要大样本进一步探讨BALF-GM试验的临床实用性,以及进一步分析导致假阳性的因素。

利益冲突 无

参考文献

- [1] Sebastian SK, Kumar VB, Gupta M, et al. Covid associated invasive fungal sinusitis[J]. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg, 2022, 74 Suppl 2: 2883-2886.
- [2] Zhang D, Li X, Zhang JQ, et al. Characteristics of invasive pulmonary fungal diseases diagnosed by pathological examination[J]. Can J Infect Dis Med Microbiol, 2021, 2021: 5944518.
- [3] Linder KA, Kauffman CA, Zhou SW, et al. Performance of the(1, 3)-beta-d-glucan assay on bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis [J]. Mycopathologia, 2020, 185(5): 925-929.
- [4] Caggiano G, Apollonio F, Consiglio M, et al. Tendency in pulmonary aspergillosis investigation during the COVID-19 era: what is changing? [J]. Int J Environ Res Public Health, 2022, 19(12): 7079.
- [5] 周永军,孟亚奇,鲍姨琴,等.血GM试验联合气管镜肺泡灌洗液在肺曲霉病诊断中的应用[J].中国医药导报,2021,18(11): 125-128.
Zhou YJ, Meng YQ, Bao YQ, et al. Application of blood GM test combined with bronchoscope alveolar lavage fluid in the diagnosis of pulmonary aspergillosis [J]. Chin Med Herald, 2021, 18(11): 125-128.
- [6] Hałaburda-Rola M, Dzieciątkowski T, Górk M, et al. Clinical utility of the updated European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and

the National Institute of Allergy and the Mycoses Study Group Education and Research Consortium computed tomography criteria of invasive pulmonary aspergillosis in hematological malignancies [J]. Hematology, 2021, 26(1): 398-407.

- [7] de J Treviño-Rangel R, Villanueva-Lozano H, Méndez-Galomo KS, et al. *In vivo* evaluation of the antifungal activity of sertraline against *Aspergillus fumigatus* [J]. J Antimicrob Chemother, 2019, 74(3): 663-666.
- [8] Sehgal IS, Dhooria S, Choudhary H, et al. Utility of serum and bronchoalveolar lavage fluid galactomannan in diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis [J]. J Clin Microbiol, 2019, 57(3): e01821-e01818.
- [9] Jiang J, Bai L, Yang W, et al. Metagenomic next-generation sequencing for the diagnosis of *Pneumocystis jirovecii* pneumonia in non-HIV-infected patients: a retrospective study [J]. Infect Dis Ther, 2021, 10(3): 1733-1745.
- [10] Kim TS, Ahn KS, Kim YH, et al. Successful treatment of combined *Aspergillus* and cytomegalovirus abscess in brain and lung after liver transplant for toxic fulminant hepatitis [J]. Exp Clin Transplant, 2017, 15(1): 110-113.
- [11] 于永梅. MSCT联合GM试验对肺曲霉菌病的诊断价值[J].泰山医学院学报, 2020, 41(1): 54-58.
Yu YM. Diagnostic value of MSCT combined with GM test for pulmonary aspergillosis [J]. J Taishan Med Coll, 2020, 41(1): 54-58.
- [12] Cao XJ, Li YP, Xie LM, et al. Diagnostic accuracy of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan for invasive aspergillosis [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 5434589.
- [13] Rothe K, Dibos M, Haschka SJ, et al. Galactomannan-antigen testing from non-directed bronchial lavage for rapid detection of invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients: a proof-of-concept study [J]. Diagnostics (Basel), 2023, 13(6): 1190.
- [14] 蔡开霞,周晶,曹薇,等.支气管肺泡灌洗液GM检测对侵袭性肺曲霉病诊断价值的meta分析[J].中国真菌学杂志,2019,14(5):284-291.
Cai KX, Zhou J, Cao W, et al. Detecting galactomannan in bronchoalveolar lavage fluid for diagnosing invasive pulmonary aspergillosis: a meta-analysis [J]. Chin J Mycol, 2019, 14(5): 284-291.
- [15] Dai Z, Cai MJ, Yao YH, et al. Comparing the diagnostic value of bronchoalveolar lavage fluid galactomannan, serum galactomannan, and serum 1, 3-β-d-glucan in non-neutropenic respiratory disease patients with invasive pulmonary aspergillosis [J]. Medicine, 2021, 100(14): e25233.
- [16] Weinbergerova B, Kabut T, Kocmanova I, et al. Bronchoalveolar lavage fluid and serum 1, 3-β-D-glucan testing for invasive pulmonary aspergillosis diagnosis in hematological patients: the role of factors affecting assay performance [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 17963.

收稿日期: 2023-05-10 修回日期: 2023-06-07 编辑: 王海琴