

УДК: 616.24-022.828-02:582.282.123.4]-035.7-074

DOI: <https://doi.org/10.25040/aml2019.04.057>

## ГАЛАКТОМАНАНОВИЙ АНТИГЕН ЯК ОДИН ІЗ МАРКЕРІВ ДІАГНОСТИКИ ІНВАЗІЙНОГО АСПЕРГІЛЬОЗУ

**Ястремська О.О., Лебедь Г.Б.**

Львівський національний медуніверситет імені Данила Галицького

Кафедра клінічної лабораторної діагностики (зав. - проф. Лаповець Л.Є.)

### Реферат

У статті розглядається стан проблеми ранньої клініко-лабораторної діагностики інвазійної форми аспергільозу.

**Мета.** Проаналізувати сучасні погляди щодо можливостей різних методів діагностики інвазійного аспергільозу, зокрема визначення в біорідинах галактомананового антигена і оцінити помилки при його дослідженні.

**Матеріал і методи.** Узагальнено результати сучасних наукових досліджень на підставі аналізу 34 літературних джерел та практичного досвіду визначення галактомананового антигена *Aspergillus* за допомогою тест-системи Platelia™ *Aspergillus* Ag (Bio-Rad Laboratories, США).

**Результати й обговорення.** Верифікація інвазійного аспергільозу є складною, а рання діагностика - важливою умовою успішного лікування. Діагностичний алгоритм включає складний комплекс інструментальних і лабораторних методів. Сьогодні відсутні єдині діагностичні критерії і стандартизація лабораторної діагностики інвазійного аспергільозу, що призводить до невизначеності в інтерпретації результатів лабораторного обстеження хворого. Існуючі прямі і непрямі методи є обмеженими за чутливістю та специфічністю і можуть стати причиною як хибнонегативних, так і хибнопозитивних результатів, особливо при одноразовому дослідженні. В Україні існує гостра потреба у визначенні галактоманану для груп хворих високого ризику, зокрема онкогематологічних пацієнтів. Масштабні рандомізовані дослідження вказують на цілу низку чинників, які можуть впливати на результати дослідження, а відтак і на якість діагностики.

**Висновки.** Для покращення якості діагностики інвазійного аспергільозу важливим є впровадження не тільки прямих мікробіологічних методів, але і непрямих, зокрема визначення галактомананового антигена. При клінічній підозрі на інвазійний аспергільоз і негативному результаті тесту на наявність галактомананового антигена його слід повторювати три дні поспіль для виключення хибнонегативних результатів. Для отримання адекватних результатів досліджень необхідно на всіх етапах визначення галактомананового антигена дотримуватись стандартних операційних процедур.

**Ключові слова:** інвазійний аспергільоз, діагностика, галактоманановий антиген, лабораторні помилки

### Abstract

## GALACTOMANNAN ANTIGEN AS ONE OF THE MARKERS FOR THE DIAGNOSIS OF INVASIVE ASPERGILLOSIS

YASTREMSKA O.O., LEBED H.B.

The Danylo Halytsky National Medical University in Lviv

The article deals with the state of the early clinical and laboratory diagnostics problem of invasive form of aspergillosis.

**Aim.** To analyze current views on the possibilities of different methods of invasive aspergillosis diagnostics, in particular the determination of galactomannan antigen in biological liquids, and to evaluate errors in its diagnostics.

**Material and Methods.** The results of modern scientific research are summarized on the basis of analysis of 34 literature sources and of practical experience of determination of galactomannan antigen of *Aspergillus* using the Platelia™ *Aspergillus* Ag test system (Bio-Rad Laboratories, USA).

**Results and Discussion.** Verification of invasive aspergillosis is complicated, and early diagnostics is an important precondition for successful treatment. The diagnostic algorithm involves a complex set of instrumental and laboratory methods. Today there are no uniform diagnostic criteria and standardization of laboratory diagnostics of invasive aspergillosis, which leads to uncertainty in interpretation of the results of laboratory tests of the patient. The existing direct and indirect methods are limited in sensitivity and specificity and can lead to both false-negative and false-positive results, especially in a one-off study. In Ukraine, there is an urgent need to identify galactomannan in high-risk patients, particularly cancer patients. Large-scale randomized trials indicate a number of factors that may affect the results of a study and, therefore, the quality of diagnosis.

**Conclusions.** To improve the quality of invasive aspergillosis diagnostics, it is important to introduce not only direct microbiological methods but also indirect ones, particularly the identification of galactomannan antigen. In case of clinical suspicion of invasive aspergillosis and a negative test result for the presence of galactomannan antigen, the test should be repeated three days in a row to eliminate false-negative results. In order to obtain adequate test results, standard operating

*procedures must be followed at all stages of the determination of galactomannan antigen.*

**Key words:** *invasive aspergillosis, diagnostics, galactomannan antigen, laboratory errors.*

## Вступ

Однією із актуальних проблем сучасної медицини є зростання мікотичних захворювань людини. Цьому посприяло широке впровадження в клінічну практику новітніх інвазивних технологій, цитостатична та імуносупресивна терапія, зростання частоти трансплантацій, інтенсивне лікування антибактеріальними препаратами тощо. Все це спричинило збільшення популяції імунокомпроментованих осіб з високим ризиком мікотичних ускладнень [10, 15]. Важливим є те, що на сьогодні зростає не тільки кількість, але і важкість мікозів, які можуть імітувати запальні чи пухлинні захворювання [14]. Умовно-патогенні види грибів можуть уражати практично всі органи і тканини, особливо у хворих зі зниженим імунітетом [17].

Опортуністичною і другою за частотою виникнення мікотичною інфекцією після кандидомікозу є аспергільоз [10]. Інфікування зазвичай відбувається повітряно-крапельним шляхом інгалювання конідій *Aspergillus spp.* Окрім цього, можливі інші шляхи зараження - контактний та аліментарний, які мають менше значення.

Існує кілька сотень видів пліснявих грибів роду *Aspergillus*. Захворювання у людини викликають окремі види (приблизно 20), серед яких *Aspergillus fumigatus* (близько 90% випадків [10]), *A. niger* (10-35% [10, 31]), *A. flavus* (8-25% [10, 13]), *A. terreus* і *A. nidulans* (трапляються рідше [10, 13]).

Аспергіли можуть проникати в легеневу тканину як сапрофіти, алергени або як інвазійний збудник. Гіфи аспергіл пенетрують епітелій бронхів та прилеглу легеневу тканину з розвитком некротичного пневмоніту; можуть спричиняти тромбоз судини та інфаркт перфузійнозалежної ділянки легені, чи гематогенно поширюватися з подальшим ураженням віддалених тканин [10, 26]. Залучення у патологічний процес системи органів

дихання може мати наслідком розвиток реакції гіперчутливості I, III та IV типів через постійну експозицію антигена *Aspergillus*) [1, 17, 21, 26] чи деструктивного інфекційного процесу; за певних умов може виходити за рамки цієї системи, дисемінувати та специфічно уражати інші органи [1, 26] .

Із клінічних форм аспергільозу вирізняють легеневий і генералізований (септичний) аспергільоз ЛОР-органів, очей, шкіри, кісток та ін. [29]

Інвазійний легеневий аспергільоз (ІЛА) є найтяжчою формою хвороби з високим ризиком для життя.

Основними факторами ризику розвитку інвазійного аспергільозу (ІА) є цитотоксична протипухлинна терапія, що викликає глибоку та тривалу нейтропенію; пролонгована (понад 3 тижні) високодозова кортикостероїдна терапія (45% [15]); алло-ТГСК (29% [15]); імуносупресивна терапія після органної трансплантації; реакція "трансплантат проти господаря"; тривалий агранулоцитоз (64%, [15]); спадкові захворювання, пов'язані з дисфункцією лейкоцитів (зокрема, хронічна грануломатозна хвороба, синдром Чедіака-Хігаші); злаякісні захворювання крові, інші солідні пухлини; рідше ВІЧ-інфекція, СНІД (0,4-4% -початкові стадії і 12% - пізні стадії [15]); інтенсивна антибіотикотерапія; зменшення кліренсу грибкових спор при захворюваннях легень (зокрема, хронічна обструктивна хвороба легень, бронхоектази та кисти легень, муковісцидоз, туберкульоз, саркоїдоз) та інші.

Провідним механізмом захисту макроорганізму проти *Aspergillus spp* є взаємодія нейтрофільних гранулоцитів, моноцитів, а також Т-лімфоцитів та системи комплементу. Адекватна кількість циркулюючих фагоцитуючих клітин - основний фактор обмеження інвазії грибів роду *Aspergillus*. Проте, у випадках макрофагальної дисфункції або ж зменшеної кількості макрофагів, нейтрофілів в умовах імуносупресії, їх киллерна функція суттєво знижена. В цих ситуаціях спори грибів проростають і формується міцелій.

Упродовж міцелярного росту гриби

продукують різні речовини, які дозволяють їм ухилятися від захисних механізмів організму: зокрема, інгібітор комплементу, різні протеази і мікотоксини, включаючи гліотоксин і афлатоксин, рибонуклеотоксин та інші екстрацелюлярні токсини. Ці метаболіти блокують функцію макрофагальних елементів, індують апоптоз імунних клітин, інгібують ключовий компонент захисту організму від міцелярних грибів - фагоцитарну NADPH-оксидазу; крім того, інактивують комплемент, зменшують продукцію прозапальних цитокінів, сприяють проростанню гіфів мікроміцетів крізь епітелій [9 24]; а також можуть спричиняти розвиток центральних бронхоектазів з формуванням у цих місцях інфільтратів [22, 24].

Поширеність інвазійного аспергільозу серед пацієнтів коливається в межах 5-20% [6]. Частоту виникнення аспергільозу в клініці визначає рівень контамінації грибами повітря у стаціонарі [13, 26]. Мішенню хвороби завжди є імуносупресивні пацієнти з тривалою нейтропенією. Саме тому ІА найчастіше розвивається у гематологічних хворих в тракті цитостатичної індукції чи консолідації ремісії (60-82 % всіх інвазійних мікозів [15]), реципієнтів алло-ТГСК при розвитку реакції "трансплантат проти господаря", а також у хворих, що тривало отримують ГКС та імуносупресори [8]. Рідше інвазійні форми аспергільозу трапляються у хворих з пухлинами і в осіб поза імуносупресією [13, 26].

На жаль, захворюваність на ІА в імуноскомпроментованих пацієнтів невпинно зростає і стала важливою проблемою медицини. ІА характеризує висока летальність, залежність її від термінів початку лікування та значна токсичність антифунгальної терапії. Загалом, летальність при різних клінічних варіантах ІА варіює; при пізній діагностиці залишається високою і може сягати 90% [27]. Прогноз захворювання залежить від локалізації та поширеності патологічного процесу в легеневій тканині.

Незважаючи на інтенсивний розвиток діагностичних методів, верифікація ІА залишається не простим завданням. Поза сумні-

вом, що рання діагностика є надзвичайно важливою умовою успішного протигрибкового лікування і надалі покращення прогнозу пацієнтів з ІА, проте до тепер немає жодного доведеного методу, щоб він був достатньо чутливим і специфічним для звичайного клінічного застосування. Діагностичний алгоритм включає складний комплекс інструментальних та лабораторних методів, зокрема комп'ютерну томографію (КТ) високого розрішення та магнітно-резонансну томографію (МРТ), мікробіологічний/мікологічний, культуральний, гістологічний, серологічний та молекулярно-генетичний методи [6, 10, 15, 32].

Сьогодні відсутні єдині діагностичні критерії і стандартизація лабораторної діагностики мікозів органів дихання, що призводить до невизначеності в інтерпретації результатів лабораторного обстеження хворого. Всі існуючі прямі і непрямі методи мають обмеження за чутливістю та специфічністю і можуть стати причиною як хибнонегативних, так і хибнопозитивних результатів, особливо при одноразовому дослідженні [15].

Як відомо, "золотим стандартом" діагностики мікозів є мікробіологічні/мікологічні (гриби роду *Aspergillus* добре ростуть на поживних середовищах) та гістологічні дослідження. Але "золотий стандарт" не завжди працює, бо:

- є певні проблеми при отриманні матеріалу для досліджень (бронхо-альвеолярний лаваж (БАЛ), трансторакальна кризьшкірна пункція, торакоскопія з біопсією та інші),
- існує можливість отримання хибнонегативного результату на фоні протигрибкової терапії,
- складно отримати матеріал точно з вогнища ураження під час діагностичних процедур.

Виділення грибів *Aspergillus* з дихальних секретів або їх наявність в препаратах, зафарбованих за Грамом, часто може вводити в оману, оскільки ці гриби можуть бути мікроорганізмами поверхневої колонізації.

Молекулярно-генетичні методи, зокрема полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР) дозволяє визначити фрагменти нуклеїнових кислот аспергил чи продукти їх обміну, на-

приклад, глікан і манніт (хоч можливо до 25% хибнопозитивних результатів) [24], але складно диференціювати носійство та інвазію, оскільки системи для ПІР не стандартизовані та є на стадії наукових розробок.

Іншими методами діагностичного пошуку ІА слугують серологічні маркери, такі як (1-3)- $\beta$ -D-глюкан в сироватці (схвалений EORTC/MSG для діагностики інвазійних мікозів, проте є недостатньо специфічний, бо входить до складу клітинної стінки багатьох грибів) та галактоманановий антиген *A. fumigatus*.

Галактоманан (ГМ) - полісахарид, складова клітинної стінки грибів роду *Aspergillus* (зокрема, *A. fumigatus* та інших видів грибів) з молекулярною масою від 35 до 100 kDa, який потрапляє в кров під час проростання міцелію у тканини. Визначають його за допомогою радіоімунологічного методу (RIA-Radioimmunoassay) та ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Антиген ГМ можна виявляти в сироватці крові, в рідині, отриманій при бронхоскопії у хворих з ІА, у лікворі у пацієнтів з аспергільозом ЦНС.

Визначення ГМ в сироватці крові дозволяє виявити антигенемію у деяких хворих задовго (за 5-8 днів) до перших клінічних проявів, змін на рентгенограмах грудної клітки або отримання культури гриба *Aspergillus*. З іншого боку, негативний тест припускає альтернативний діагноз. Визначення цього аналізу виявилось доволі інформативним, проте не настільки, щоб повністю замінити клінічну і мікробіологічну оцінку пацієнта [32].

Багатоцентрові дослідження [16, 28] дозволили припустити, що галактоманановий тест корисний для виключення діагнозу ІА, проте для підтвердження захворювання чутливість тесту тільки від помірної до низької [33]. Крім того, аналіз показав, що тест краще працює у хворих на гемобластози чи реципієнтів алло-ТГСК; і значно гірше - у реципієнтів трансплантатів солідних органів, що може бути пов'язано з більшою дотестовою імовірністю розвитку ІА в першій групі пацієнтів, ніж в останній [28].

Переваги визначення галактоманано-

вого антигена є досить суттєвими, бо цей неінвазійний метод є доступним і швидко виконується, дає можливість ранньої діагностики ІА та моніторингу ефективності терапії.

Робоча група з інвазивних грибкових інфекцій Європейського товариства з дослідження і лікування раку (European Organization for Research and Treatment of Cancer), кооперативна група з інвазійної грибкової інфекції (Invasive Fungal Infection Cooperative Group (EORTC/IFICG) та Група з вивчення мікозів Національного інституту алергії та інфекційних захворювань (National Institute of Allergy and Infectious Mycoses Study Group) 2008 рекомендували визначення галактоманану *Aspergillus* як одного з критеріїв встановлення діагнозу ймовірний/підтверджений інвазійний аспергільоз [19].

Повторне визначення антигенемії (ГМ) та верифікація рентгенологічно (КТ високого розрішення) "симптому матового скла", "ореолу" у хворих з групи ризику вважається еквівалентним біопсії з виявленням міцелію не залежно від виділення чи не виділення чистої культури *Aspergillus*.

Для виявлення ГМ антигена *Aspergillus* у сироватці та БАЛ використовують специфічну діагностичну тест-систему Platelia™ *Aspergillus* Ag (Bio-Rad Laboratories, США) [33] - імуноферментний мікропланшет типу "сендвіч" В тесті використовують щурячі моноклональні антитіла ЕВА-2 проти галактоманана. Оптичну густину зразків та контролю визначають за допомогою СФ при довжині хвилі 450 и 620/630 нм.

Стрімкий розвиток лабораторної медицини пов'язаний з досягненнями науки та появою нових технологій. Сьогодні діагностична лабораторія може виконати кілька тисяч тестів з високою чутливістю, але одвічним залишається у клініцистів питання: є чи немає хвороби у пацієнта.

Важливим питанням клінічної практики є: де і чому виникають помилки, які призводять до неадекватних результатів лабораторних досліджень?

Як відомо, кожне клініко-лабораторне дослідження включає 3 етапи: преаналітич-



ний, аналітичний та постаналітичний і найбільше помилок виникає саме на преаналітичному етапі.

Типовими помилками преаналітичного етапу дослідження ГМ є:

- контакт біологічного матеріалу з повітрям, тому зразки біологічного матеріалу слід транспортувати і зберігати без доступу повітря;
- заморожені зразки, які зберігалися неправильно, можуть давати хибнопозитивні результати внаслідок забруднення грибами;
- для уникнення забруднення спорами грибів із зовнішнього середовища слід використовувати чисті матеріали; крім того, слід враховувати, що ГМ стійкий до нагрівання і стерилізація не гарантує відсутність забруднення;
- закриті зразки можна зберігати при  $t$  2-8°C протягом 2 діб перед проведенням тесту; відкриті - при  $t$  2-8°C - протягом 24 год перед виконанням аналізу; тривале зберігання можливе при  $t$  -70°C;
- на результати дослідження практично не впливають інтерферуючі фактори, такі як білірубінемія, ліпемія, гемоліз.

Критерієм оцінки тесту є порівняння з пороговою величиною. Присутність чи відсутність ГМ антигена в досліджуваній сироватці оцінюється шляхом порівняння оптичної густини досліджуваного матеріалу і контрольного зразка, який містить 1 нг/мл ГМ.

Низка авторів пропонує вважати діагностично значущим індекс оптичної (ІОГ) густини від 0,5 одиниць і вище [34]; інші - від 0,6-0,8 і вище в одному окремому вимірюванні ГМ в сироватці [7, 25, 31], або >0,5 одиниць в двох послідовних тестах з новою аліквотою цього ж зразка крові і >1 в БАЛ у хворих з високим ризиком розвитку ІА; за таких умов специфічність тесту збільшувалася до 98,6% [19].

Результати, близькі до значень рівня зрізу (0,5), інтерпретують з обережністю, і вони повинні підтверджуватися результатами клінічних, рентгенологічних чи лабораторних досліджень на користь ІА, так як інтерпретація тесту не включає в себе, так звану, "сіру зону" [5].

Сироватка з показником <0,5 не містить ГМ антиген. Необхідно врахувати, що від'ємний результат може означати, що вміст антигена є нижчим за межу визначення і тому не виключає ІА. При підозрі на хворобу за від'ємного результату рекомендовано повторити тест.

Особливе значення має визначення ГМ у БАЛ [23]. У низці досліджень показано, що чутливість і специфічність ГМ антигена *Aspergillus* в БАЛ складає 77,2 і 77,0%, відповідно (при пороговому значенні ІОГ 0,4), а в сироватці крові - 66,7 і 63,5%, відповідно (при пороговому значенні ІОГ 0,7) для діагностики ЛА [12]. Інші автори при виконанні цього тесту в БАЛ виявили чутливість і специфічність 85,7 і 76,3%, відповідно (при пороговому значенні ІОГ >0,5) [33]. В багатофакторному аналізі [34] тест на ГМ в БАЛ засвідчив більш високі показники чутливості порівняно з прямою мікроскопією і посівом (83,3 і 46,3 %, відповідно). Окрім того, результати дослідження БАЛ за допомогою тесту *Platelia™ Aspergillus Ag* у діапазоні 0,5-1,0 мають меншу прогностичну цінність, ніж показники, які перевищують 1,0, тому показники в діапазоні 0,5-1,0 необхідно перевіряти та підтверджувати клінічними, рентгенологічними чи лабораторними дослідженнями на користь ІА [4, 11].

Проте, кожен метод має свої межі можливостей. Метод дослідження ГМ антигена також має певні обмеження, описані в різних джерелах, зокрема:

- Від'ємний результат для сироватки не виключає інвазійний аспергілез.
- Зразки сироватки пацієнтів з ризиком інвазійного аспергілезу тестуються двічі на тиждень.
- Ефективність тесту не оцінювалася у новонароджених, але з літератури відомо, що у зразках крові новонароджених частіше фіксують хибнопозитивні результати [20]
- Застосування засобів проти пліснявих грибів у хворих на ІА може знижувати чутливість тесту [18]
- Інші роди грибів, наприклад, *Penicillium*, *Alternaria paecilomyces*, *Geotrichum* та

*Histoplasma* показали аналогічну реактивність з щурячими моноклональними антитілами ЕВА-2, які використовуються в тесті для виявлення ГМ [36, 49, 52].

У випадку раннього виявлення ГМ антигена в сироватці (до клінічних проявів та/або рентгенологічних симптомів) необхідно врахувати, що позитивні результати тесту без клінічних симптомів спостерігаються у більшості випадків і є істинно позитивними для пацієнтів, яким в подальшому діагностують підтверджений/непідтверджений ІА [19]. Однак в деяких випадках при інтерпретації результатів необхідно зважати на певні фактори:

1. Дуже часто позитивні результати тесту за відсутності клінічних симптомів виявляються у маленьких дітей. Слід зазначити, що деякі з цих випадків насправді могли бути зумовлені циркулюючими антигенами грибка *Aspergillus*, тому більшість з них можна вважати хибнопозитивними [7].

2. У багатьох продуктах, особливо крупах, стравах із зернових, вершкових десертах, виявлена галактофураноза [33]. На відміну від грудного молока, коров'яче молоко часто містить велику кількість ГМ [7, 33]. Тому необхідно зважати на аліментарні фактори при інтерпретації антигенемії у маленьких дітей та, в цілому, у пацієнтів з ушкодженням гематоінтестинальним бар'єром [7]. У цих випадках слід дуже обережно інтерпретувати антигенемію без клінічних симптомів.

3. Відомо про хибнопозитивні результати тесту на ГМ у пацієнтів, які отримують піперацилін/тазобактам, який може містити ГМ антиген. Також відомо про виявлення ГМ у деяких серіях амоксациліну при парентеральному застосуванні клавулонової кислоти [2]. Тому позитивні значення тесту слід оцінювати з великою обережністю, необхідно зважати на лікування напівсинтетичними β-лактамами та підтверджувати результати за допомогою інших методів діагностики.

Тим не менше, так як тест Platelia™ *Aspergillus* Ag здатний виявляти ГМ антиген ще до появи клінічних чи рентгенологічних симптомів, неможна виключати ймовірність

інвазійного аспергільозу. Тому пацієнти з позитивними результатами, які вживали піперацилін/тазобактам, вимагають особливо ретельного спостереження.

4. Позитивні результати за відсутності клінічних симптомів можуть бути отримані у пацієнтів, які вживали препарати, що містять ГМ, парентерально чи внутрішньо (за ушкодження гематоінтестинального бар'єру). Наявність ГМ в них часто пояснюється використанням ферментуючих грибків. Однак позитивний результат у людини не виявляється доти, до поки концентрація екзогенного ГМ в сироватці не досягне чи перевищить поріг його виявлення. Тому при підозрілому позитивному результаті за відсутності клінічних симптомів рекомендується вивчити препарати, які вживає пацієнт, зокрема процес їх виробництва і походження сировини [30].

Відповідно до рекомендацій, представлених EORTC/MSG, діагноз легеневого аспергільозу встановлюють за наявності факторів ризику, рентгенологічних ознак ІА легень (за результатами КТ) у поєднанні з визначенням ГМ в БАЛ, сироватці крові чи *Aspergillus spp.* при мікроскопії, гістологічному дослідженні та/або бактеріологічному дослідженні матеріалу з вогнищ ураження, мокротиння, БАЛ [17, 31]. Тим не менше, не всі положення можуть бути реалізовані в країнах з низьким і середнім рівнем доходів (до яких відноситься і Україна) через відсутність доступних ресурсів.

В Україні існує гостра потреба у визначенні галактоманану для груп хворих високого ризику, зокрема онкогематологічних пацієнтів. Проте можливості визначати цей маркер мають не всі навіть досить великі медичні установи. Компанія Пфайзер надала нам таку можливість, і представила тест-систему Platelia™ *Aspergillus* Ag (Bio-Rad Laboratories, США), завдяки чому ми змогли обстежити з березня по червень 2018 р групу імунокомпromентованих пацієнтів (17 осіб) з різною патологією з підозрою на мікотичне ураження. Варто зацентувати на деяких проблемних питаннях, які виникали впро-

довж усіх етапів виконання дослідження

Наш невеликий досвід при визначенні ГМ антигена тільки підтвердив масштабні рандомізовані дослідження в тому, що ціла низка чинників може впливати на результат дослідження. Так, найчастішою причиною від'ємного показника тесту серед обстежених нами хворих, навіть за характерної клінічної картини аспергільозу, позитивний результат доведено дослідженнями МРТ чи КТ, була різної тривалості антимікотична терапія. В інших випадках, у пацієнтів з саркоїдозом і бронхіальною астмою ми разово отримали ІОГ=0,5, проте повторні дослідження сироватки цих хворих впродовж 2-х тижнів довели антигенемію (ІОГ 0,6-0,8), крім того діагноз алергічного бронхолегеневого аспергільозу у цих осіб підтвердили бактеріологічні та імунологічні дослідження. Ще у одного пацієнта з характерною КТ-картиною аспергільозу ("зона матового скла") ГМ антиген не виявляли. Хоч в цьому випадку негативний результат був спричинений доведеною помилкою на преаналітичному етапі, зокрема забір крові був здійснений з порушенням, незважаючи на розроблену нами стандартну операційну процедуру (СОП) виконання тесту. Повторне дослідження підтвердило аспергільоз (показник антигенемії >1)

Досвід тестування методу визначення галактомананового антигена, існуючі підходи в профілактиці, діагностиці та лікуванні інвазійних мікозів дає можливість зробити певні висновки.

## Висновки

1. Для покращення якості діагностики інвазійних мікозів важливим є впровадження не тільки прямих мікробіологічних методів, але і непрямих, таких як визначення галактомананового антигена в біоматеріалі, для накопичення досвіду правильної інтерпретації отриманих результатів.
2. У випадку клінічної підозри на наявність інвазійного мікозу при отриманні негативного результату тесту у хворого на наявність галактомананового антигена його слід повторю-

вати три дні поспіль для виключення хибно-негативних результатів.

3. Для отримання адекватних результатів досліджень, зокрема і при виявленні галактомананового антигена, вкрай необхідно стандартизувати всі етапи виконання тесту та дотримуватись стандартних операційних процедур.

## Література

1. Agarwal RA., Chakrabarti A., Shah D. et al. For the ABPA complicating asthma ISHAM working group. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: review of literature and proposal of new diagnostic and classification criteria // *Clinical & Experimental Allergy* 2013; 43: 850-873.
2. Aubry A., Porcher R., Bottero J., et al Occurrence and Kinetics of False-Positive Aspergillus Galactomannan Test Results following Treatment with S-Lactam Antibiotics in Patients with Hematological Disorders. *J. Clin. Microbiol* 2006; 44: 389-394.
3. Blijevens, N.M., Donnelly J.P., Meis J.F., Verweij P.E., and De Pauw B.E. Aspergillus galactomannan antigen levels in allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients given total parenteral nutrition. *Transpl. Infect. Dis.* 2002; 4: 64-65.
4. Clancy C., Jaber R.A., Leather H.L. et al. Bronchoalveolar Lavage Galactomannan in Diagnosis of Invasive Pulmonary Aspergillosis among Solid-Organ Transplant Recipients. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(6): 1759-1765.
5. Debets Ossenkopp Y. J, Wang J., Visser C.E. et al. Galactomannan detection for invasive aspergillosis in immunocompromised patients *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Dec; 2015(12): CD007394. doi: 10.1002/14651858.CD007394.pub2
6. Denning, D.W., Cadranet J., Beigelman-Aubry C. et al. Diagnosis and treatment of chronic pulmonary aspergillosis: clinical guidelines of European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases and European Respiratory Society. *Pulmonologia.* 2016;26(6):657-679. (In Russ.) <https://doi.org/10.18093/0869-0189-2016-2-6-665-7679> (Denning D.W., Cadranet J., Beigelman Aubry C. et al. Диагностика и лечение хронического легочного аспергиллеза: клинические рекомендации Европейского респираторного общества и Европейского общества клинической микробиологии и инфекционных заболеваний. *Пульмонология.* 2016; 26(6): 657-679.)
7. Desai R., Ross L.A., Hoffman J.A. The role of bronchoalveolar lavage galactomannan in the diagnosis of pediatric invasive aspergillosis. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 283-6.
8. Dyagil I.S., Martina Z.V., Tovstohan A.O. et al. Invasive aspergillosis in patients with acute leukemia *Oncohematologia* 2013; 1(9). Ukrainian (Дягиль І.С.,

- Мартина З.В., Товстоган А.О. та ін. Інвазивний аспергільоз у хворих на гостру мієлоїдну лейкемію Онкогематологія 2013; 1(9.) <https://www.clinicaloncology.com.ua/article/7251/invazivnij-aspergiloz-u-xvorix-na-gostru-miyeloidnu-lejkemiyu>
9. Feshchenko Yu.I., Rekalova E.M. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Zdorov'ia Ukrainy* 2011; 3(15): 9-10. Ukrainian (Фещенко Ю.І., Рекалова Е.М. Аллергический бронхолегочный аспергиллез. *Здоров'я України* 2011; 3(15): 9-10.)
10. Gashynova K.Yu., Kolisnyk N.S., Dmytrychenko V.V. et al. Invasive pulmonary aspergillosis: the state of art and the clinical case. *Medyczni perspektivy*. 2018; XXIII (1).1: 27-37.) Ukrainian (Гашинова К.Ю., Колесник Н.С., Дмитриченко В.В. та ін. Інвазивний легеневий аспергільоз: сучасний стан проблеми та клінічний випадок. *Медичні перспективи* 2018; XXIII (1).1: 27-37.) URL: doi: 10.26641/2307-0404.2018.1(part 1).127204.
11. Hussain S., Paterson D.L., Studer S.M. et al. Aspergillus Galactomannan Antigen in the Bronchoalveolar Lavage Fluid for the Diagnosis of Invasive Aspergillosis in Lung Transplant Recipients. *Transplantation* 2007; 83(10): 1330-1336.
12. Izumikawa K., Yamamoto Y., Mihara T. et al. Bronchoalveolar lavage galactomannan for the diagnosis of chronic pulmonary aspergillosis. *Med. Mycol.* 2012; 50: 811-817.
13. Klasova GA Invasive mycoses in oncohematology: the current state of the problem // *Sovremennaja Oncologia* 2001; 3: 21-24. Russian (Клясова Г.А. Инвазивные микозы в онкогематологии: современное состояние проблемы *Современная онкология* 2001; 3: 21-24.)
14. Klimenko S.V. Diagnosis and treatment of invasive fungus infections in patients with oncological diseases *Oncologia* 2010; 12(1): 71-76. Ukrainian (Клименко С.В. Діагностика та лікування при інвазивній грибковій інфекції у пацієнтів з онкологічними захворюваннями *Онкологія* 2010; 12(1): 71-76.)
15. Klimko N.N., Shadrivova O.V., Khostelidil S.N. et al. Invasive aspergillosis: results of multicenter study *Oncohematologia* 2014; 2: 13-19. Ukrainian (Климко Н.Н., Шадринова О.В., Хостелиди С.Н. и др. Инвазивный аспергиллез: результаты многоцентрового исследования *Онкогематология* 2014; 2: 13-19.)
16. Kono Y., Tsushima K., Yamaguchi K. et al. The utility of galactomannan antigen in the bronchial washing and serum for diagnosing pulmonary aspergillosis. *Respir. Med.* 2013; 107: 1094-1100.
17. Kozlova Y.I., Frolova E.V., Filippova L.V. et al. Diagnostic markers of allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma *Med Immunol* 2018; 20(4): 561-570. Russian (Козлова Я.И., Фролова Е.В., Филиппова Л.В. и др. Диагностические маркеры аллергического бронхолегочного аспергиллеза у больных бронхиальной астмой *Мед. иммунол.* 2018; 20(4): 561-570.)
18. Marr K.A., Laverdiere M., Gugel A. and Leisenring W. Antifungal therapy decreases sensitivity of the Aspergillus galactomannan enzyme immunoassay. *Clin. Infect. Dis* 2005; 40: p. 1762-9.
19. Maschan A.A., Klyasova G.A., Veselov A.V. Review of American Society for Infectious Disease Recommendations for the Treatment of Aspergillosis *Klin Microbiol Antimicrob himioter.* 2008; 10(2): 133-170. Russian (Масчан А.А., Клясова Г.А., Веселов А.В. Обзор рекомендаций американского общества по инфекционным болезням по лечению аспергиллеза *Клин микробиол антимикроб химиотер.* 2008; 10(2): 133-170.)
20. Meersseman W., Lagrou K., Maertens J. et al. Galactomannan in Bronchoalveolar Lavage Fluid. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2008; 177: 27-34.
21. Misernitsky Yu.L. Minenkova T.A. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. In.: *Pulmonology of childhood: problems and solutions. Issue 15.* Ed Misernitsky Yu.L. Moscow: Medpraktika-M, 2015. pp 197-202. Russian (Мизерницкий Ю.Л. Миненкова Т.А. Аллергический бронхолегочный аспергиллез. В кн.: Пульмонология детского возраста: проблемы и решения. Выпуск 15. под ред. Мизерницкого Ю.Л. М.: Медпрактика-М. 2015. с. 197-202.)
22. Mitrofanov V.S., Svirshchevskaya E.V. Aspergillosis of the lungs / V.S. Mitrofanov. - SPb: Foliant, 2013. 184 p. Russian (Митрофанов В.С., Свищевская Е.В. Аспергиллез легких. / В.С. Митрофанов. - СПб.: Фолиант, 2013. 184 с.)
23. Nguyen MH, Jaber R., Leather H.L. et al. Use of bronchoalveolar lavage to detect galactomannan for diagnosis of pulmonary aspergillosis among nonimmunocompromised hosts. *J Clin Microbiol.* 2007; 45: 2787-92.
24. Okhotnikova OM, Usova OI Allergic bronchopulmonary aspergillosis *Ukr Med czasopys.* 2018; 5(1): 127 Ukrainian (Охотнікова О.М., Усова О.І. Алергічний бронхолегеневий аспергільоз *Укр. мед часопис.* 2018; 5(1): 127.)
25. Okuturlar Y., Ozkalemkas F., Ener B. et al. Serum galactomannan levels in the diagnosis of invasive aspergillosis *Korean J Intern Med* 2015; 30(6): 899-905. DOI: <https://doi.org/10.3904/kjim.2015.30.6.899>
26. Peresada L.A. Invasive pulmonary aspergillosis - a case from practice *Ukr Pulmologicznyj zurnal.* 2005; 1: 56-58. Ukrainian (Пересада Л.А. Инвазивный легочной аспергиллез - случай из практики *Укр. пульмонологічний журнал.* 2005; 1: 56-58.)
27. Pertseva TO, Hashinova K.Yu., Sokur DO Allergic bronchopulmonary aspergillosis: XXI century. A Modern Look at the Problem *Astma i Alergia* 2018; 4: 29-36. Ukrainian (Перцева Т.О., Гашинова К.Ю., Сокур Д.О. Алергічний бронхолегеневий аспергільоз XXI сторіччя. Сучасний погляд на проблему *Астма*



- та алергія 2018; 4: 29-36. DOI: 10.31655/2307-3373-2018-4-29-36)
28. Pfeiffer C.D., Fine J.P., Safdar N. Diagnosis of invasive aspergillosis using a galactomannan assay: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1417.
29. Potapov S.N., Gorgol N.I., Galata D.I. Invasive pulmonary aspergillosis (clinical-morphological observations) Theoretical and experiment. medicine 2017; 1(75):2 7-29. Ukrainian (Потапов С.М., Горголь Н.І., Галата Д.І. Інвазійний лгеновий аспергільоз (клініко-морфологічні спостереження). Теоретична і експеримент. медицина 2017; 1(75):2 7-29.)
30. Racil Z., Kocmanova I., Lengerova M., Winterova J., Mayer J. Intravenous PLASMA-LYTE as a Major Cause of False-Positive Results of Platelia™ AspergillusTest for galactomannan Detection in Serum. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(2): 3141-3142.
31. Shuper VA, Shuper SV, Vagina Yu.I., Gavrilov AA Features of differential diagnostics of fungal lung lesions (clinical case) *Problemy ecology ta med genetyky i clinicz immunologii* 2013; 4 (118): 338-346. Ukrainian (Шупер В.А., Шупер С.В., Вагіна Ю.І., Гаврилов А.А. Особенности дифференциальной диагностики грибковых поражений легких (клинический случай) *Проблемы экологической та мед. генетики і клініч.імунології* 2013;4 (118): 338-346.)
32. Sugar A.M. Клинические особенности и диагностика инвазивного аспергиллеза. *Медицина світу* <http://msvitu.com/pages/appendices/article-5.php?noad=1> Дата останнього оновлення: серпень 2006. Дата останнього доступу: лютий 2007.
33. The Platelia™ Aspergillus Ag is an immunoenzymatic sandwich microplate assay for the detection of Aspergillus galactomannan antigen in serum and bronchoalveolar lavage (BAL) fluid. BIO-RAD. 2013; 28 p. [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/62794\\_881115\\_EN.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/62794_881115_EN.pdf)
34. Volkova AG, Popova MO, Ekushev KA et al. The role of bronchoscopy in the diagnosis of invasive pulmonary aspergillosis in children after hematopoietic stem cell transplantation. *Probl pract hematol-oncol* 2015; 2: 72-76. Russian (Волкова А.Г., Попова М.О., Екушев К.А. и др. Роль бронхоскопии в диагностике инвазивного аспергиллеза легких у детей после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Пробл. практ. гематол-онкол* 2015; 2: 72-76.)