

ІМУНОБЛОТ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ
ІМУНОГЛОБУЛІНІВ ДО
ГРИБКІВ РОДУ *ASPERGILLUS*

Тест-система для діагностики тяжких грибкових інфекцій

ВЕСТЕРН-БЛОТ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ КЛАСУ G (IgG) ДО ГРИБКІВ РОДУ *ASPERGILLUS*

Evaluation of the *Aspergillus* Western blot IgG kit for diagnosis of chronic aspergillosis. Oliva A, Flori P, Hennequin C, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Charpin D, Vergnon JM, Gay P, Colly A, Piarroux R, Pelloux H, & Ranque S, *J Clin Microbiol* 2015 53(1):248-54. d 10.1128/JCM.02690-14.

Аналіз методом преципітації (IPD) є поточною еталонною підтверджуючою методикою виявлення антитіл до грибків роду *Aspergillus*; однак відсутність стандартизації є критичним недоліком цього аналізу. У цьому дослідженні ми оцінювали ефективність набору для вестерн-блоту для виявлення імуноглобулінів G (IgG) до грибків роду *Aspergillus* (Asp-WB) (LDBio Diagnostics, Ліон, Франція), нещодавно введеного на ринок імуноблоту для діагностики різних клінічних проявів хронічного аспергілозу. Проаналізовано 308 зразків сироватки крові 158 пацієнтів з усіма клінічними формами аспергілозу. Зокрема, 267 зразків сироватки крові було отримано у пацієнтів із аспергілозом, у тому числі 89 пацієнтів із хронічним пульмонарним аспергілозом, 10 — з аспергіломою та 32 — алергічним бронхопульмонарним аспергілозом. Ще 41 зразок був отриманий у пацієнтів з колонізацією грибками роду *Aspergillus*, включаючи 15 пацієнтів з муковісцидозом та 12 пацієнтів, що не страждають на муковісцидоз. У контрольних донорів крові специфічність Asp-WB становила 94%, а набір показав чутливість до всіх клінічних форм аспергілозу на рівні 88,6%, при цьому діагностичне відношення шансів становило 119 (95% довірчий інтервал [ДІ], 57 – 251). Діагностичне відношення шансів становило 185,22 (ДІ 95%, 78,79 – 435,45) і 43,74 (ДІ 95%, 15,65 – 122,20) для діагностики аспергілозу та колонізації грибками роду *Aspergillus* відповідно. Чутливість Asp-WB під час діагностики колонізації грибками становила 100% та 41,7% у пацієнтів з муковісцидозом та без муковісцидозу відповідно. Набір Asp-WB продемонстрував високу ефективність для діагностики різних клінічних проявів аспергілозу у пацієнтів зі здоровою імунною системою, покращену стандартизацію та більш високу чутливість у порівнянні з методом імунопреципітації (IPD), що є поточним еталонним методом діагностики.

Діагностика легеневої аспергіломи за допомогою серологічного виявлення антитіл до грибків роду *Aspergillus*: порівняння нового доступного на ринку імуноблот-тесту з діагностикою методом імунопреципітації.

Diagnosis of pulmonary aspergilloma by serological *Aspergillus* antibody detection: comparison of a new commercial immunoblot-based test with detection by immunoprecipitation. G. Paugam, D. Toubas, E. Dannaoui, P. Le Pape, M. Cornet, & F. Persat, 2013 *TIMM, Copenhagen*.

В основі діагностики легеневої аспергіломи лежить рентгенографічне дослідження органів грудної клітки і виявлення специфічних антитіл за допомогою серологічних досліджень. Щодо серологічного виявлення антитіл до грибків роду *Aspergillus*, еталонним методом залишається метод імунопреципітації, хоча в цьому методі і відсутня стандартизація.

Мета. Порівняти доступний на ринку набір для імуноблоту для виявлення імуноглобулінів класу G (IgG) до грибків роду *Aspergillus* («*Aspergillus* WB IgG», LDBio Diagnostics, Ліон, Франція) з методом імунопреципітації, який використовується у нашій лабораторії. Панель сироваток крові, отриманих у пацієнтів з підтвердженим діагнозом аспергіломи (діагноз був підтверджений біопсією легенів, що демонструє міцелій та позитивний результат посіву на культуру грибків виду *Aspergillus fumigatus*) випробовували за допомогою двох методів.

Методи. Загалом ми використали 32 сироватки крові, отриманих у пацієнтів; у нашій лікарні було зібрано дев'ять зразків, ще 23 сироватки були надані 4 іншими лікарнями. Імуноблот використовувався згідно з інструкцією виробника. Сироватку вважали позитивною, якщо серед 4 специфічних смуг антигену грибків роду *Aspergillus* було виявлено мінімум 2 смуги (16, 18-20, 22, 30 kD). Для аналізу методом імунопреципітації використовували доступні на ринку соматичні та метаболічні антигени (BioRad, Marne-La-Coquette, Франція) та сироватку для позитивного контролю наявності грибків роду *Aspergillus* (BioRad, Marne-La-Coquette, Франція). Сироватку вважали позитивною, якщо осаджувався один соматичний або метаболічний антиген.

Результати. З 32 сироваток 19 були позитивними при аналізі методом імунопреципітації (виявлення від одного до дев'яти антигенів). Чутливість становила 59%. Тридцять одна сироватка була позитивною при аналізі методом імуноблоту (виявлення від 2 до 4 смуг). Найбільш часто спостерігалися дві смуги: P16 та P18-20. Чутливість становила 97%. Імуноблот продемонстрував значно вищу чутливість, ніж імунопреципітація. Специфічність імуноблоту, раніше перевірена на донорах крові (n = 213), становила 96%. Імуноблот має більше переваг порівняно з імунопреципітацією: потрібні невеликі кількості сироватки (15 мкл порівняно з 60 мкл) та, на відміну від імунопреципітації, критерії інтерпретації позитивних результатів простіші. Антиген-позитивні смуги набагато легше виявити, ніж осаджені антигени.

Висновки: імуноблот є кращим методом діагностики легеневої аспергіломи.

Додаткові джерела:

Aspergillus antibody detection: diagnostic strategy and technical considerations from the Société Française de Mycologie Médicale (French Society for Medical Mycology) expert committee. Persat F, Hennequin C, & Gangneux JP; Société Française de Mycologie Médicale – SFMM Study group, *Med Mycol* 2017 Apr 1;55(3):302-307. doi: 10.1093/mmy/myw078.

Aspergillus serology: Have we arrived yet? Richardson MD, *Med Mycol* 2017 Jan 1;55(1):48-55. Огляд. PMID: 27816904

Aspergillus serology, from yesterday to today for tomorrow. Persat F, *Journal de Mycologie Médicale*, 2012; 22 (1): 72-82. doi:10.1016/j.mycmed.2012.01.004.

Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. De Pauw, Ben, Thomas J. Walsh, J. Peter Donnelly, David A. Stevens, John E. Edwards, Thierry Calandra, Peter G. Pappas, et al., *Clinical Infectious Diseases* 2008 46 (12): 1813-21. doi:10.1086/588660.

Pulmonary Aspergillosis: A Clinical Update. Zmeili, O. S., & A. O. Soubani, *QJM: Monthly Journal of the Association of Physicians* 2007;100 (6): 317-34. doi:10.1093/qjmed/hcm035.

Chronic Cavitory and Fibrosing Pulmonary and Pleural Aspergillosis: Case Series, Proposed Nomenclature Change, and Review. Denning, David W., Kostantinos Riniotis, Richard Dobrashian, & Helen Sambatakou, *Clinical Infectious Diseases* 2003 37 Suppl 3: S265-80.

Aspergillus serology, from yesterday to today for tomorrow. Persat F, *Journal de Mycologie médicale*, **2012**; 22 (1): 72-82. doi:10.1016/j.mycmed.2012.01.004.

Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. De Pauw, Ben, Thomas J. Walsh, J. Peter Donnelly, David A. Stevens, John E. Edwards, Thierry Calandra, Peter G. Pappas, et al., *Clinical Infectious Diseases* **2008** 46 (12): 1813-21. doi:10.1086/588660.

Pulmonary Aspergillosis: A Clinical Update. Zmeili, O. S., & A. O. Soubani, *QJM: Monthly Journal of the Association of Physicians* **2007**;100 (6): 317-34. doi:10.1093/qjmed/hcm035.

Chronic Cavitory and Fibrosing Pulmonary and Pleural Aspergillosis: Case Series, Proposed Nomenclature Change, and Review. Denning, David W., Kostantinos Riniotis, Richard Dobrashian, & Helen Sambatakou, *Clinical Infectious Diseases* **2003** 37 Suppl 3: S265-80. doi:10.1086/376526.