

肝硬化合并革兰阳性和阴性细菌感染患者的血清降钙素原水平研究

王 晗¹, 杨 宁¹, 李 妍¹, 李沛然¹, 谢 娜², 苑雯文¹, 耿 伟¹, 何叶莉¹, 郭桐生^{1△}(解放军第三〇二医院:1. 临床检验医学中心/全军感染病临床实验诊断中心;2. 感染性疾病研究与诊疗中心, 北京 100039)

【摘要】 目的 观察肝硬化合并革兰阳性(G^+)和阴性(G^-)细菌感染患者血清降钙素原(PCT)水平变化特点。**方法** 对 2013 年 10 月至 2014 年 2 月该院收治的 61 例肝硬化合并细菌感染患者(血培养阳性),按照细菌鉴定结果将患者分为肝硬化合并 G^+ 细菌组(G^+ 组)和肝硬化合并 G^- 细菌组(G^- 组)。分别采用电阻抗结合流式细胞术检测全血白细胞总数(WBC)、中性粒细胞绝对值(N)、中性粒细胞百分比($N\%$);采用电化学发光法检测患者血清 PCT 水平,采用免疫比浊法测定 C 反应蛋白(CRP)水平。**结果** G^+ 组和 G^- 组 WBC、N、 $N\%$ 、PCT 和 CRP 水平均高于正常参考范围。两组患者血清 PCT 水平比较, G^- 组明显高于 G^+ 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。WBC、N、 $N\%$ 、CRP 水平在两组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 $PCT > 2$ ng/mL 和 $> 1 \sim 2$ ng/mL 水平, G^- 组百分率明显高于 G^+ 组($P < 0.01$)。PCT 在 $> 0.05 \sim 1$ ng/mL 水平, G^+ 组百分率明显高于 G^- 组($P < 0.01$)。**结论** 肝硬化合并 G^- 组血清 PCT 水平高于 G^+ 组。PCT 检测有助于肝硬化合并细菌感染患者早期合理用药。

【关键词】 肝硬化; 细菌感染; 降钙素原; C 反应蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.22.008 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)22-3107-02

Study on serum PCT level in patients with liver cirrhosis complicating Gram positive and Gram negative bacterial infection WANG Han¹, YANG Ning¹, LI Yan¹, LI Pei-ran¹, XIE Na², YUAN Wen-wen¹, GNEG Wei¹, HE Ye-li¹, GUO Tong-sheng^{1△} (1. Center for Clinical Laboratory Medicine/Army Center for Clinical Laboratory of infectious disease; 2. Infectious Disease Research and Treatment Center, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)

【Abstract】 Objective To investigate the change characteristics of serum procalcitonin(PCT)level in the patients with liver cirrhosis complicating Gram positive(G^+)and Gram negative(G^-)bacterial infection. **Methods** 61 cases of liver cirrhosis complicating bacterial infection(positive blood culture)treated in our hospital from October 2013 to February 2014 were divided into the liver cirrhosis complicating G^+ bacteria group(G^+ group)and the liver cirrhosis complicating G^- bacteria group(G^- group)according to the bacterial identification results. The total white blood cell count(WBC), neutrophil absolute value(N)and neutrophil percentage($N\%$)were tested by the electrical impedance and the flow cytometry methods. The PCT level was tested by the electrochemical luminescence method. And the C reactive protein(CRP)level was tested by the immunoturbidimetric assays. **Results** The WBC, N, $N\%$, CRP and PCT levels in the G^+ and the G^- group were higher than normal reference range. The difference of PCT levels between the G^- group and the G^+ group was statistically significant, and the PCT level in the G^- group was significantly higher than that in the G^+ group($P < 0.01$). However WBC, N, $N\%$ and CRP had no statistically significant difference between the two groups($P > 0.05$). In $PCT > 2$ and $> 1 \sim 2$ ng/mL level, the percentage of the G^- group was significantly higher than that in the G^+ group($P < 0.01$). PCT in $> 0.05 \sim 1$ ng/mL level, the percentage of the G^+ group was significantly higher than that in the G^- group($P < 0.01$). **Conclusion** The serum PCT level in liver cirrhosis complicating G^- bacterial infection is higher than that complicating G^+ bacterial infection. The PCT detection will contribute to the early rational use of antimicrobial agents in the patients with liver cirrhosis complicating bacterial infection.

【Key words】 liver cirrhosis; bacterial infection; procalcitonin; C reactive protein

肝硬化是常见的终末期肝病,极易合并各种感染而诱发多脏器功能衰竭^[1]。肝硬化患者医院感染率高达 22.5%~29.6%,是肝硬化患者死亡的重要原因^[2-4]。细菌感染是最常见的致病因素,包括革兰阴性(G^-)菌和革兰阳性(G^+)菌两种。1989 年一种由 116 个氨基酸组成的糖蛋白-降钙素原

(PCT)被发现,其由降钙素、下钙素以及含有 57 个氨基酸的 N 末端碎片组成。PCT 在健康人体内不释放入血中,当机体存在全身性细菌感染时,甲状腺及肝脏中巨噬细胞、单核细胞,以及神经内分泌细胞等机体多种组织细胞释放产生大量 PCT。近年来,PCT 已经成为判断全身细菌感染的重要血清标志

物^[5-6]。本研究旨在探讨 PCT 检测结果在肝硬化患者 G⁺ 和 G⁻ 细菌感染变化特点,为临床感染细菌类别判断和早期合理用药提供帮助。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 10 月至 2014 年 2 月本院收治的肝硬化合并细菌感染患者 61 例,所有患者血培养阳性。其中年龄 37~65 岁,平均(48.1±17.2)岁;男 33 例,女 28 例;乙型肝炎 41 例,丙型肝炎 20 例。乙型肝炎临床诊断符合 2010 年中华医学会肝病学会、感染病学分会发布的《慢性乙型肝炎防治指南》标准。丙型肝炎临床诊断符合 2004 年中华医学会肝病学会和中华医学会传染病与寄生虫病学分会共同制定的《丙型肝炎防治指南》标准。按照细菌鉴定结果将患者分为肝硬化合并 G⁺ 细菌组(G⁺组)和肝硬化合并 G⁻ 细菌组(G⁻组),G⁻组 37 例,G⁺组 24 例。两组患者在年龄、性别等方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 检测试剂 PCT 水平应用 Roche E170 全自动电化学发光免疫分析系统检测。白细胞(WBC)、中性粒细胞绝对值(N)及中性粒细胞百分比(N%)采用 Sysmex 4000 全血细胞分析系统检测。C 反应蛋白(CRP)采用 Beckman AU400 全自动生化分析系统检测。血培养采用梅里埃 Bact/Alert-3D 全自动血培养仪。细菌鉴定采用 VITEK-AMS 微生物自动鉴定仪,鉴定卡为法国梅里埃生物技术公司产品。血培养瓶、血常规、PCT 和 CRP 检测标本采集管为 BD 公司产品。

1.3 标本检测 受试患者于不同部位共采集 2 套静脉血培养瓶送检。并同时采集患者乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝静脉血 2 mL,检测血常规。采集含分离胶静脉血两管各 2 mL,3 500 r/min 离心 15 min,分离血清检测 PCT 和 CRP 水平。检测指标正常参考范围参考卫生计生委医政司 2006 年出版的《全国临床检验操作规程(第 3 版)》:CRP 为 0~8 mg/L, WBC 为(4~10)×10⁹/L, N 为(2~7)×10⁹/L, N% 为 40%~70%。血清 PCT 值参考罗氏医疗诊断公司推荐正常参考范围小于 0.05 ng/mL。按照 PCT>2、>1~2、>0.05~1 和 ≤0.05 ng/mL 分为 4 个水平,计算百分比组成。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 14.0 软件进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,正态性分布检验结果,数据满足正态性分布。组间比较采用成组 *t* 检验,组间阳性率比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 G⁺组和 G⁻组 WBC、CRP 和 PCT 水平比较 G⁺组和 G⁻组 WBC、N、N%、CRP 和 PCT 水平均高于正常参考范围。两组患者血清 PCT 水平比较,G⁻组明显高于 G⁺组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 G⁺组和 G⁻组白细胞、CRP 和 PCT 水平比较

组别	<i>n</i>	WBC (×10 ⁹ /L)	N (×10 ⁹ /L)	N% (%)	PCT (ng/mL)	CRP (mg/L)
G ⁻ 组	37	11.34	9.67	80.50	7.15	64.56
G ⁺ 组	24	11.51	9.57	80.10	3.60	59.70
<i>t</i>		0.21	0.52	0.49	5.81	1.35
<i>P</i>		>0.05	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05

2.2 G⁺组和 G⁻组 PCT 不同水平百分率比较 在 PCT>2 ng/mL 和 >1~2 ng/mL 水平,G⁻组百分率明显高于 G⁺组($P<0.01$)。PCT 在 >0.05~1 ng/mL 水平,G⁺组百分率明显高于 G⁻组($P<0.01$)。见表 2。

表 2 G⁺和 G⁻组 PCT 不同水平百分比比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	PCT(ng/mL)			
		>2	>1~2	>0.05~1	≤0.05
G ⁻ 组	37	19(51.35)	13(35.14)	5(13.51)	0(0.00)
G ⁺ 组	24	8(33.30)	7(29.20)	9(37.50)	0(0.00)
χ^2	—	12.33	13.52	15.76	—
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	<0.01	—

注:—表示无数据。

3 讨论

肝硬化患者免疫功能紊乱、机体抵抗力降低,出现低蛋白血症、肝脏 Kupffer 细胞吞噬功能低下、消化道出血,极易合并细菌感染。早期诊断及合理用药是控制感染、降低病死率的关键。PCT 是一种无激素活性的降钙素前肽物质,被证实对细菌感染具有较高的敏感性(90%~92%)及特异性(92%~98%),国外已被列为诊断脓毒血症的重要实验室指标^[7-8]。PCT 在细菌感染后 3~4 h 迅速升高,且半衰期为 24 h,在免疫类疾病、血液系统疾病及病毒感染时均不升高。有研究显示,PCT 可望成为指导临床抗菌药物使用的客观标准,当 PCT>0.5 ng/mL 时开始使用抗菌药物,在小于 0.5 ng/mL 时停用抗菌药物^[9-12]。

肝硬化合并细菌感染患者临床诊断和抗菌药物使用主要依靠血常规、血细菌培养等,PCT 的出现为早期诊断提供重要依据。目前对肝硬化合并 G⁺ 和 G⁻ 细菌感染患者血清 PCT 水平变化特点研究相对较少。本研究选取本院 2013 年 10 月至 2014 年 2 月收治的 61 例肝硬化合并细菌感染患者,全部患者血培养结果为阳性。按照细菌鉴定结果将患者分为 G⁺ 组和 G⁻ 组。研究结果显示两组间 WBC、N、N%、CRP 和 PCT 水平均高于正常参考范围,但除 PCT 外其他指标比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。而患者血清 PCT 水平在两组间比较,差异有统计学意义($P<0.01$),G⁻组明显高于组 G⁺。有研究显示 PCT 由脂多糖(LPS)和其他多种炎性因子诱导产生的,当细菌感染患者为 G⁻ 菌感染时,G⁻ 菌细胞壁重要成分 LPS 可以在无细胞因子的情况下直接促进 PCT mRNA 的表达和蛋白翻译^[13],短时间内诱导大量 PCT 产生,从而使患者体内 PCT 水平快速升高,而 G⁺ 菌的细胞壁成分无此作用,因此 G⁻ 菌感染患者 PCT 比 G⁺ 菌感染患者浓度高。

传统的感染诊断指标 WBC、N、N% 和 CRP 水平是临床判断肝硬化细菌感染的常用指标。在 G⁺ 组和 G⁻ 组患者中均升高,但无法区分 G⁻ 和 G⁺ 菌感染。本研究还显示,G⁻ 组 PCT 水平以大于 2 ng/mL 为主,占 51.35%;其次为 >1~2 ng/mL 水平,占 35.14%。而 G⁺ 菌组以 >0.05~1 ng/mL 水平为主,占 37.50%。G⁻ 和 G⁺ 菌感染 PCT 水平构成存在明显差异。

G⁻ 菌是目前肝硬化患者临床感染的主要致病菌,包括大肠杆菌、肺炎克雷伯菌及其他 G⁻ 杆菌。近年来,G⁺ 感染出现增高趋势。根据 PCT 检测结果预判患者感染 G⁺ 或 G⁻ 致病菌,早期、合理使用抗菌药物,将节省常规培(下转第 3111 页)

平衡是由 IL-4、IL-10、IFN- γ 水平决定的, NKT 细胞具有编码 IL-4、IL-10 的 mRNA, NKT 细胞被激活后便能迅速分泌这两种细胞因子, 同时 CD4⁺NKT 则具有编码 IFN- γ 的 mRNA, 两类细胞正是通过产生 IL-4、IL-10 和 IFN- γ 来调节免疫应答, 对哮喘炎症反应的发生具有促进或抑制作用^[8-9]。本研究发现在体外用 α -Galcer 刺激 NKT 细胞扩增活化培养 24、48、72 h 后进行测定, 发现哮喘组患儿 IL-4 水平较健康对照组明显下降, IL-10 较健康对照组明显上升, 而 IFN- γ 则与健康对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果提示, 哮喘患儿存在 NKT 细胞功能上的改变, 有诱导免疫应答向 Th2 诱导的体液免疫偏移, 抑制了 Th1 反应。

本研究对患儿常规变应性指标进行检测, 结果发现 NKT 细胞和 CD4⁺NKT 细胞的比例与哮喘的常见指标总 IgE、ECP 无明显相关性, 这与国外的研究结果相似。在炎症反应过程中, 患者外周血中常规变应性指标总 IgE、ECP 会有明显升高, 而 NKT 细胞和 CD4⁺NKT 细胞则可能由外周血向炎症部位聚集和迁移, 发挥局部炎症控制的作用, 导致外周血中 NKT 细胞和 CD4⁺NKT 细胞比例减少。

综上所述, 哮喘患儿外周血中 NKT 细胞和 CD4⁺NKT 细胞是明显减少的, 可能与气道局部变态反应有关, 同时 NKT 细胞所产生的 IL-4、IL-10 等因子在哮喘发病过程中产生重要作用, 导致 Th1/Th2 之间的失衡。

参考文献

[1] 王炜, 李芳, 段国威, 等. 不同淋巴细胞激活物对支气管哮喘患儿 Foxp3 表达的影响[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(9): 666-668.

[2] Umetsu DT, Dekruyff RH. Natural killer T cells are important in the pathogenesis of asthma; the many pathways to asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(5): 975-979.

[3] Holtzman MJ. Asthma as a chronic disease of the innate and adaptive immune systems responding to viruses and allergens[J]. J Clin Invest, 2012, 122(8): 2741-2748.

[4] 赵晓平, 徐圣君. 舒利迭治疗老年支气管哮喘患者临床疗效分析[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(15): 2023-2024.

[5] 卢燕鸣, 曹兰芳, 薛海燕, 等. 支气管哮喘患儿外周血自然杀伤 T 淋巴细胞的变化及临床意义[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(10): 775-777.

[6] Thomas SY, Chung YH, Luster AD. Natural killer T cells are not the predominant T cell in asthma and likely modulate, not cause, asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(5): 980-984.

[7] Iwamura C, Nakayama T. Role of NKT cells in allergic asthma[J]. Curr Opin Immunol, 2010, 22(6): 807-813.

[8] 李志伟, 程晓明, 林科雄, 等. 影响支气管哮喘气道阻塞不完全可逆危险因素分析[J]. 中华内科杂志, 2013, 52(4): 330-331.

[9] 季加芬, 管立学, 王立杰, 等. 支气管哮喘患儿白细胞介素-10 基因-592C/A 多态性及其与白细胞介素-10 水平的相关性[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(4): 261-264.

(收稿日期: 2014-02-21 修回日期: 2014-05-10)

(上接第 3108 页)

养鉴定时间, 提高患者救治率。

参考文献

[1] 邓蕙, 段明纲, 黄文祥, 等. 106 例重型肝炎并发医院感染的危险因素分析[J]. 重庆医学, 2006, 35(1): 49-51.

[2] 班俊. 院内感染对肝硬化失代偿期患者预后的影响[J]. 广西医科大学学报, 2002, 19(5): 658-659.

[3] 梁波. 肝硬化患者医院感染调查研究[J]. 中国感染控制杂志, 2007, 6(5): 323-325.

[4] Campillo B, Richardet JP, Kheo T, et al. Nosocomial spontaneous bacterial peritonitis and bacteremia in cirrhotic patients: impact of isolate type on prognosis and characteristics of infection[J]. Clin Infect Dis, 2002, 35(1): 1-10.

[5] López Sastre JB, Solís DP, Serradilla VR, et al. Evaluation of procalcitonin for diagnosis of neonatal sepsis of vertical transmission[J]. BMC Pediatr, 2007, 7(7): 9.

[6] Indino P, Lemarchand P, Bady P, et al. Prospective study on procalcitonin and other systemic infection markers in patients with leukocytosis[J]. Int J Infect Dis, 2008, 12(3): 319-324.

[7] Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations[J]. Crit Care Med, 2008, 36(3): 941-952.

[8] Matthaiou DK, Ntani G, Kontogiorgi M, et al. An ESICM systematic review and Meta-analysis of procalcitonin-guided antibiotic therapy algorithms in adult critically ill patients[J]. Intensive Care Med, 2012, 38(6): 940-949.

[9] Dellit TH, Owens RC, Mcgowan JE, et al. Infectious diseases society of America and the society for healthcare epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44(2): 159-177.

[10] 保勇, 史梦, 喻华, 等. 检测血清降钙素原对感染性疾病及脓毒症的诊断价值[J]. 实用医院临床杂志, 2012, 9(1): 94-96.

[11] 张芙蓉, 张隆, 孙继民. 血清降钙素原在儿童重症监护病房的临床应用[J]. 中国小儿急救医学, 2012, 19(5): 510-511.

[12] Tavares E, Maldonado R, Ojeda ML, et al. Circulating inflammatory mediators during start of fever in differential diagnosis of gram-negative and gram-positive infections in leukopenic rats[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2005, 12(9): 1085-1093.

[13] Elson G, Dunn-Siegrist I, Daubeuf B, et al. Contribution of toll-like receptors to the innate immune response to gram-negative and gram-positive bacteria[J]. Blood, 2007, 109(4): 1574-1583.

(收稿日期: 2014-02-10 修回日期: 2014-04-12)