

• 临床探讨 •

血清降钙素原在血流感染革兰阳性菌和阴性菌鉴别诊断中的应用价值*

梁 伟, 杨立新

(新疆医科大学附属肿瘤医院, 乌鲁木齐 830011)

摘要:目的 探讨血清降钙素原(PCT)检测在血流感染(BSI)革兰阳性菌和革兰阴性菌鉴别诊断中的应用价值。方法 选取 2013 年 8 月至 2016 年 8 月该院收治的 129 例血培养阳性 BSI 患者和 23 例血培养阴性者, 采用酶联荧光分析法检测所有受试者血清中 PCT 水平, 分析血清 PCT 检测在 BSI 革兰阳性菌和革兰阴性菌鉴别诊断中的应用价值。结果 129 例血培养阳性 BSI 患者中, 革兰阳性菌感染 69 例, 占 53.49%, 革兰阴性菌感染 60 例, 占 46.51%。革兰阳性菌感染患者血清 PCT 水平为 2.13 (0.57~9.12) ng/mL, 明显高于血培养阴性者血清 PCT 水平[0.24(0.09~1.10) ng/mL], 差异有统计学意义($P<0.05$); 革兰阴性菌感染患者血清 PCT 水平为 6.02(1.37~20.04) ng/mL, 明显高于革兰阳性菌感染患者的血清 PCT 水平, 差异有统计学意义($P<0.05$)。当血清 PCT 临界值为 4.32 ng/mL, 受试者工作特征曲线下面积为 0.812, 95%CI 为 0.779~0.923 时, 此时血清 PCT 鉴别 BSI 革兰阳性菌和革兰阴性菌的敏感度为 82.30%, 1-特异度为 75.62%。结论 血清 PCT 检测在 BSI 革兰阳性菌和革兰阴性菌早期鉴别诊断中有一定的应用价值。

关键词:降钙素原; 血流感染; 革兰阳性菌; 革兰阴性菌; 鉴别诊断

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.16.036 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)16-2430-03

血流感染(BSI)是临床上后果十分严重的一种全身感染性疾病, 如不及时给予有效治疗, 极易导致败血症、脓毒血症等危重疾病发生, 病死率高, 可达 30% 以上^[1-2]。血培养是目前 BSI 诊断的金标准, 但其耗时较长, 并且抽血时机的把握、抗菌药物过度使用及抽血过程污染等因素常导致其诊断的特异度及敏感度受到一定影响^[3]。生物标志物为临床 BSI 的早期诊断提供了新的途径^[4]。本研究旨在探讨血清降钙素原(PCT)检测在 BSI 革兰阳性菌和革兰阴性菌鉴别诊断中的应用价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 8 月至 2016 年 8 月本院收治的 129 例 BSI 患者作为研究对象, 以血培养双份标本培养阳性作为金标准, 其中男 67 例, 女 62 例; 年龄 26~74 岁, 平均(49.73±6.24)岁; 合并肺部感染者 42 例, 泌尿系统感染者 30 例, 胆囊炎 11 例, 感染性心包炎 29 例, 腹腔感染 17 例。129 例血培养阳性者经鉴定革兰阳性菌感染组 69 例, 男 39 例, 女 30 例; 平均年龄(48.57±5.41)岁; 平均体温(38.21±1.24)℃; 肺部感染 22 例, 泌尿系统感染 16 例, 胆囊炎 6 例, 感染性心包炎 15 例, 腹腔感染 10 例。革兰阴性菌感染组 60 例, 男 28 例, 女 32 例; 平均年龄(50.29±5.28)岁; 平均体温(38.16±1.20)℃; 肺部感染 20 例, 泌尿系统感染 14 例, 胆囊炎 5 例, 感染性心包炎 14 例, 腹腔感染 7 例。129 例血培养阳性患者检出的致病菌无真菌, 均为常见致病菌。血培养阴性患者 23 例作为对照组。

1.2 纳入和排除标准

1.2.1 纳入标准 (1)伴有 BSI 症状, 年龄超过 18 岁者, 性别不限; (2)入院前 1 个月未使用免疫抑制剂、激素等治疗者; (3)了解本研究, 患者及家属均签署知情同意书者。

1.2.1 排除标准 (1)合并其他慢性感染者; (2)患有其他血液系统恶性疾病者; (3)患有肝脏、肾脏、心脏及肿瘤等严重性疾病者。本研究经本院伦理委员会批准进行。

1.3 仪器与方法

1.3.1 血培养 严格无菌操作, 无菌采集所有受试者静脉血 10 mL, 立即注入无菌血培养瓶中, 采用 Bact/ALERT 3D 血液

培养仪(法国梅里埃生物公司)进行标本培养, 查看培养阳性者细菌生长曲线, 镜检所感染细菌为革兰阴性或者阳性, 同时将培养液转移接种于麦康凯平板、血平板、厌氧血平板或巧克力平板鉴别培养瓶中, 培养 18~24 h, 菌落成形后, 利用 API 细菌生化鉴定系统及 BioMerieux VITEK2 Compact 全自动细菌鉴定仪, 以及药敏分析系统(法国梅里埃公司)进行鉴定。

1.3.2 PCT 检测 PCT 检测采用酶联荧光分析法, 利用 ROCHE cobase 411 全自动免疫分析系统(德国)检测所有受试者血清 PCT 水平, 试剂盒由罗氏公司提供。所有操作按照试剂盒使用说明严格进行。PCT≥0.5 ng/mL 为阳性标准。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS 18.0 进行统计学分析, 血清 PCT 水平用中位数(四分位数间距)描述, 采用 Mann-Whitney U 检验分析各组间血清 PCT 水平差异, 计数资料采用 χ^2 检验, 绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线), 计算 ROC 曲线下面积(AUC), 确定血清 PCT 诊断 BSI 的价值, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BSI 患者病原菌分布情况 129 例血培养阳性 BSI 患者中, 革兰阳性菌感染 69 例, 占 53.49%, 其中以肠球菌、金黄色葡萄球菌及凝固酶阴性葡萄球菌最为常见; 革兰阴性菌感染 60 例, 占 46.51%, 其中以大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌及鲍曼不动杆菌最为常见。

2.2 3 组血清 PCT 水平比较 由 Mann-Whitney U 检验结果可见, 革兰阳性菌感染组患者血清 PCT 水平为 2.13(0.57~9.12) ng/mL, 明显高于血培养阴性者[0.24(0.09~1.10) ng/mL], 差异有统计学意义($P<0.05$); 革兰阴性菌感染组患者血清 PCT 水平为 6.02(1.37~20.04) ng/mL, 明显高于革兰阳性菌感染组的血清 PCT 水平, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.3 不同 PCT 水平鉴别革兰阳性菌及革兰阴性菌感染的应用价值 见表 1、图 1。当血清 PCT 临界值为 4.32 ng/mL, AUC 为 0.812, 95%CI 为 0.779~0.923 时, 此时血清 PCT 鉴别 BSI 革兰阳性菌和革兰阴性菌的敏感度为 82.30%, 1-特异度为 75.62%, 检测效能最高。

* 基金项目:新疆医科大学创新基金资助项目(XTC201284)。

表 1 不同 PCT 水平鉴别革兰阳性菌及革兰阴性菌感染的应用价值

PCT 临界值(ng/mL)	敏感度(%)	1-特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	AUC	95%CI
0.50	80.46	72.38	73.69	75.82	0.745	0.658~0.824
2.00	78.58	63.24	74.36	68.27	0.690	0.586~0.846
4.32	82.30	75.62	81.52	77.46	0.812	0.779~0.923
5.00	61.56	43.21	58.23	63.50	0.654	0.521~0.783
10.00	55.27	68.59	70.06	56.32	0.581	0.532~0.627

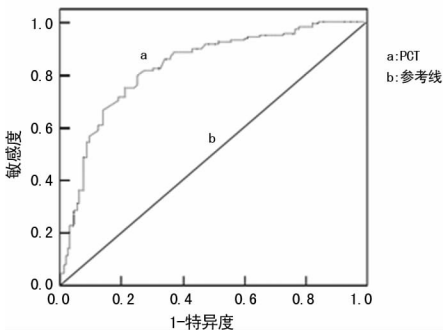


图 1 血清 PCT 鉴别革兰阳性菌及革兰阴性菌感染的 ROC 曲线

3 讨 论

BSI 是临床上由于各种细菌或真菌等病原微生物及毒素入侵血液所导致的一种全身性感染性疾病^[5]。近年来,由于广谱抗菌药物及激素制剂的大量应用,导致 BSI 发病率呈全球性逐年增长趋势,严重威胁人类的身体健康及生命安全^[6]。病原体进行早期识别并及时合理用药,对于降低细菌耐药性、减少 BSI 患者不良反应及病死率有十分重要的临床意义^[7]。

血培养作为 BSI 诊断金标准一直备受关注,但其培养病原菌周期较长,单次培养检测阳性率不高,且容易受抗菌药物应用、采血时间等其他因素影响,因此,对于 BSI 早期诊断及治疗价值有限^[8]。生物标志物的发现及应用为临床诊断 BSI 提供了新途径^[9]。PCT 是降钙素无激素活性的前肽物质,在机体正常代谢情况下由甲状腺 C 细胞产生并分泌,属于蛋白质,主要包含 116 个氨基酸,半衰期较长,为 25~30 h^[10]。PCT 在健康机体中水平极低,当机体发生严重细菌、真菌及寄生虫感染,或者多脏器功能衰竭及脓毒症时,PCT 水平出现大幅度升高,且其水平的高低不受内部激素水平影响^[11]。目前,PCT 已经作为检测及诊断细菌性感染的一项重要参数应用于临床,对于鉴别诊断感染性疾病及疾病严重程度评估具有极好的敏感度及 1-特异度,优于白细胞计数、红细胞沉降率等临床指标^[12]。有研究表明,PCT 对于鉴别细菌与非细菌感染具有较高的敏感度及 1-特异度,在区分革兰阳性菌及革兰阴性菌感染等方面同样具有一定的临床价值^[13]。因此,本研究选取血清 PCT 作为研究指标,探讨 PCT 检测在 BSI 革兰阳性菌及革兰阴性菌感染鉴别诊断中的应用价值,为临床早期鉴别诊断 BSI 革兰阳性菌及革兰阴性菌感染提供一定的理论依据。

本研究结果表明,129 例血培养阳性 BSI 患者中,革兰阳性菌感染 69 例,占 53.49%,革兰阴性菌感染 60 例,占 46.51%。临床 BSI 发生时,采用合理及时的抗菌治疗对于提高患者预后十分重要的临床价值,但患者发生革兰阳性菌或革兰阴性菌感染时体温、外周血白细胞计数及 C 反应蛋白等指标差异均无统计学意义。因此,无法有效指导临床进行早期抗菌治疗,由此说明区分革兰阳性菌及革兰阴性菌感染对于临

床诊断及合理用药具有重要积极意义。革兰阳性菌感染患者血清 PCT 水平明显高于血培养阴性患者,革兰阴性菌感染患者血清 PCT 水平明显高于革兰阳性菌感染患者,由此说明革兰阴性菌感染后可诱导血清 PCT 水平大幅度升高,且升高水平高于革兰阳性菌感染。革兰阳性菌及革兰阴性菌均可诱导机体发生炎症反应,释放出多种细胞因子,如白细胞介素-6 (IL-6)、IL-2、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等刺激并诱导血清 PCT 水平升高。革兰阴性菌感染患者血清 PCT 水平明显高于革兰阳性菌感染患者血清 PCT 水平,推测与革兰阴性菌细胞壁中主要存在内毒素有关,内毒素可以直接刺激导致血清 PCT 水平升高,提示血清 PCT 在区别 BSI 患者革兰阳性菌及革兰阴性菌感染中有一定的鉴别作用。ROC 曲线显示,当血清 PCT 临界值为 4.32 ng/mL, AUC 为 0.812, 95% CI 为 0.779~0.923 时,血清 PCT 鉴别 BSI 革兰阳性菌和革兰阴性菌的敏感度为 82.30%, 1-特异度为 75.62%。由此提示,血清 PCT 可以为 BSI 患者革兰阳性菌和革兰阴性菌病原菌感染的诊断提供较高的诊断信息,有助于 BSI 早期诊断及给药方案的确定,有助于临床合理应用抗菌药物,降低患者病死率及防止耐药性及二重感染,因此均有较高的临床诊断价值,值得临床推广应用。

综上所述,本研究结果表明,血清 PCT 检测在早期 BSI 革兰阳性菌和革兰阴性菌鉴别诊断中有一定的应用价值,其操作方便,检测时间短,适合自动化诊断,稳定性强,对于临床 BSI 早期鉴别诊断革兰阳性菌、革兰阴性菌感染、合理制订治疗方案及合理应用抗菌药物有重要的积极意义。本研究仍存在样本量少等不足之处,血清 PCT 的诊断最佳临界值有待扩大样本量进一步深入研究。

参考文献

[1] 梁珺,张洲. 血流感染现状及诊断方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(24):3020-3021.

[2] Calik Z, Acar O, Karamese M, et al. Analysis of intensive care units(ICUs) blood stream infections(BSI) in kfkas university health research and application hospital[J]. Int J Microbiol Adv Immunol, 2015, 3(1): 55-59.

[3] 王坚铤,汤瑾,庄亦晖,等. 双套血培养对提高血流感染检出率和鉴别污染的评价[J]. 中国感染与化疗杂志,2012, 12(6): 440-442.

[4] 郭建,吴文娟. 血流感染分子诊断的研究进展[J]. 检验医学,2014,29(6):584-589.

[5] 金涛,田卓民. 血流感染的病原学及诊断进展[J]. 继续医学教育,2016,30(7):99-101.

[6] 王芳,赵静雅,涂显春,等. 医院获得性血流感染的流行病学研究[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(14):3039-3041.

- [7] 钟倩怡,李招云,卢国光,等.感染性标志物预测血流感染早期诊断价值的分析[J]. 检验医学,2015,30(5):522-524.
- [8] 曾淑娟,赵文利,周伟勤,等.中国可疑血流感染新生儿行血培养阳性率的系统评价和 Meta 分析[J]. 中国妇幼保健,2014,29(35):5941-5944.
- [9] 蒋姣姣,李怡霖.血清降钙素原、C 反应蛋白及白细胞计数联合检测对早期诊断沙门菌血流感染的价值研究[J]. 中国社区医师,2015,31(15):106-107.
- [10] Branche AR, Walsh EE, Vargas R, et al. Serum procalcitonin measurement and viral testing to guide antibiotic use for respiratory infections in hospitalized adults: a randomized controlled trial[J]. J Infect Dis, 2015, 212(11): 1692-1700.
- [11] 孙红. PCT 和 hs-CRP 检测对血流感染患者诊断的价值[J]. 浙江医学教育, 2016, 15(6): 47-50.
- [12] 赵亮. 早期血清降钙素原与细菌性血流感染病原菌相关性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(21): 1904-1907.
- [13] 张群, 胡晓波. 降钙素原在革兰阳性菌和革兰阴性菌感染鉴别诊断中的价值探讨[J]. 检验医学, 2015, 30(11): 1113-1118.
- (收稿日期:2017-02-17 修回日期:2017-04-24)

• 临床探讨 •

人血清 Kappa、Lambda 轻链透射比浊法检测试剂的研制^{*}

王庆国, 吴越光, 赵明伟, 宿明明[△]

(潍坊三维生物工程集团有限公司, 山东潍坊 261061)

摘要:目的 建立人血清 Kappa(KAP)、Lambda(LAM)轻链透射比浊分析方法。方法 采用全自动日立生化分析仪,用自制透射比浊试剂检测临床血清标本,并对试剂的各项性能指标进行评价。结果 KAP 试剂盒的测定范围为 0.75~12.00 mg/mL,灵敏度为 $\Delta A > 0.08/12.00$ mg/mL,准确度偏差 $< 5\%$,批内精密度(CV) $< 5\%$ 、批间 CV $< 10\%$ 。样本中三酰甘油小于或等于 5 g/L、胆红素小于或等于 600 $\mu\text{mol/L}$ 、血红蛋白小于或等于 5 g/L、类风湿因子小于或等于 600 U/mL、抗坏血酸小于或等于 0.3 g/L 时对检测结果无明显影响,自制试剂盒与进口罗氏试剂盒相关系数为 0.999;LAM 试剂盒的测定范围为 0.50~8.00 mg/mL,灵敏度为 $\Delta A > 0.08/8.00$ mg/mL,准确度偏差 $< 5\%$,批内 CV $< 5\%$ 、批间 CV $< 10\%$ 。结论 KAP、LAM 透射比浊试剂盒各项指标均达到临床检测要求,与罗氏同类试剂测定结果有较好的相关性,在临床上有极大的应用前景,可替代国外同类产品试剂盒。

关键词: Kappa 轻链; Lambda 轻链; 透射比浊法

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.16.037 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2017)16-2432-03

轻链约由 214 个氨基酸组成,通常不包含碳水化合物,相对分子质量大约为 24×10^3 。每条轻链有 2 个由链内二硫键所组成的环肽。L 链有两类:Kappa(KAP)及 Lambda(LAM),同一天然免疫球蛋白中 L 链的类别是相同的^[1]。健康者血清中 KAP:LAM 比例约为 2:1^[2]。细胞克隆异常增生会导致单克隆球蛋白或游离免疫球蛋白片段(游离的轻链)增加,这会造成 KAP 与 LAM 链比例失衡,KAP 及 LAM 的比值失衡可预示单克隆 Y 球蛋白血症^[3-4]。在轻链生成增加的情况下,游离轻链的滤过也会增加,若超出肾小管的重吸收能力,该测试可定量检测结合及游离免疫球蛋白中的轻链。尿中轻链的检测是诊断及监测轻链型多发性骨髓瘤、轻链淀粉样变性重要的标志物^[2,5-11]。定量检测不同种类轻链水平有助于诊断巨球蛋白血症(巨型球蛋白生成增多)、结缔组织病(如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮)等疾病^[12-13]。另外,感染、肝硬化、急慢性肝炎等疾病也会导致血中轻链增多,但一般表现为 KAP、LAM 同时增多;糖尿病、肾病等患者尿中也会出现 KAP、LAM 同时增多^[14-19]。已有的检测方法主要包括免疫电泳法、酶联免疫法,前者检测时间较长,操作比较繁琐,对非典型患者不能作出明确诊断;酶联免疫法有酶催化的扩大效应,定量不准确,这一点限制了它的应用。本文采用自制免疫透射比浊试剂进行血

清 KAP、LAM 检测,与罗氏同类试剂测定结果有较好的相关性,在临床上有极大的应用前景,可替代国外同类产品试剂盒。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料 羊抗 KAP、LAM 多克隆抗体由本实验室自制;质量控制(简称质控)血清、对照试剂分别为朗道(货号:284LPC、329LPC、330LPC)、罗氏(KAP 货号:06749976190;LAM 货号:11820184316)公司产品。

1.1.2 样本 样本均来自潍坊市寒亭区人民医院。

1.1.3 仪器 日立 7080 全自动生化分析仪。

1.2 方法

1.2.1 试剂 分别取经亲和层析纯化处理的浓度为 24.3 mg/mL 和 16.2 mg/mL 的 KAP、LAM 抗体 0.5 mg,用稀释缓冲液(含 0.9%的氯化钠注射液,0.01%叠氮钠,0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.4)进行稀释,充分混匀,分装抗体,4℃保存。

1.2.2 标准品的制备 将 100 份新鲜高值血清混合,用 0.22 μm 的除菌滤膜过滤,用罗氏抗体试剂检测,并用标准品稀释液(含 0.9%的氯化钠注射液,0.01%叠氮钠,0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.4)进行稀释分装, -20℃冻存。

1.2.3 分析操作程序 将含有 KAP、LAM 的样本与多克隆

^{*} 基金项目:山东省潍坊市高新区 2016 年度科技发展基金资助项目(2016GXZJ05)。

[△] 通信作者, E-mail:3V-diagnostics@163.com。