

· 论 著 ·

肺结核合并感染患者 3 项指标联合检测的临床应用

刘梅春, 赵爱华, 尹石华

(东营市胜利医院检验科, 山东 257055)

摘要:目的 探讨肺结核合并细菌、真菌感染患者血浆内毒素、降钙素原(PCT)及(1,3)- β -D 葡聚糖(BG)水平检测的临床意义。方法 回顾性分析该院 2013 年 3 月至 2013 年 12 月结核病防治所收治的肺结核确诊病例 240 例临床资料,根据细菌培养结果将患者分为革兰阴性(G^-)菌生长组 39 例、革兰阳性(G^+)菌(包括真菌)生长组 45 例、无菌生长组 156 例,另选该院健康体检中心体检健康者 48 例纳入健康对照组。比较各组患者的血浆内毒素、PCT 及 BG 水平变化。结果 G^- 菌生长组内毒素水平为(0.682 \pm 0.418) EU/mL、PCT 水平为(2.93 \pm 0.87) μ g/L,明显高于 G^+ 菌(包括真菌)生长组的(0.063 \pm 0.034) EU/mL 及(0.85 \pm 0.52) μ g/L,比较差异有统计学意义($P<0.05$)。 G^- 菌生长组内毒素、PCT 水平明显高于无菌生长组($P<0.05$)。健康对照组与无菌生长组内毒素、PCT、BG 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),而与其他组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 血浆内毒素、PCT 及 BG 水平检测具有快速、敏感的特点,联合检测有助于快速判断肺结核患者是否合并 G^- 菌、真菌感染,对指导临床合理用药、及时对症治疗具有重要意义。

关键词:肺结核; 内毒素; 降钙素原; (1,3)- β -D 葡聚糖

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)03-0350-03

Clinical application of combined detection of three indicators in pulmonary tuberculosis patients accompanied with infection

Liu Meichun, Zhao Aihua, Yin Shihua

(Department of Clinical Laboratory, Shengli Hospital of Shengli Oil Field, Dongying, Shandong 257055, China)

Abstract: Objective To explore the clinical significance of the three indicators combined detection that plasma endotoxin, procalcitonin (PCT) and (1,3)- β -D-glucan(BG) in pulmonary tuberculosis patients complicated with bacterial, fungal infection. **Methods** Retrospective investigation was conducted in 240 pulmonary tuberculosis patients, who were divided into gram negative bacteria (G^-) group (39 cases), gram positive bacteria (G^+) group (45 cases) including fungal, germ-free group (156 cases). Other 45 healthy people were selected into control group. The levels of plasma endotoxin, PCT and BG in the four groups were compared. **Results** The levels of plasma endotoxin (0.682 \pm 0.418) EU/mL, PCT (2.93 \pm 0.87) μ g/L in the G^- group were significant higher than those of the G^+ group (0.063 \pm 0.034) EU/mL, (0.85 \pm 0.52) μ g/L, the difference was significant ($P<0.05$). The levels of the plasma endotoxin, PCT in the G^- group were higher than those of the germ-free group. The levels of plasma endotoxin, PCT and BG in the control group had no significant difference with those of the germ-free group. **Conclusion** The combined detection of plasma endotoxin, PCT and BG have some clinical value on the early diagnosis of the patients with pulmonary tuberculosis complicated with G^- fungal infection for the advantages of fast and sensitiveness.

Key words: pulmonary tuberculosis; endotoxin; procalcitonin; (1-3)- β -D-glucan

肺结核患者肺组织及支气管结构常有不同程度的破坏,导致呼吸系统防御功能降低,加上营养状况差,免疫功能低下,感染机会增加,其中较常见的是革兰阴性(G^-)菌和真菌的感染。内毒素是 G^- 菌细胞壁上的脂多糖成分,在细菌死亡后裂解出来,进入血液循环,激活多种炎性细胞释放炎性介质,而造成全身炎性反应甚至危急性疾病^[1-3]。降钙素原(PCT)是无激素活性的降钙素前肽物质,是由 116 个氨基酸组成的糖蛋白,其相对分子质量为 13×10^3 ,健康人血清中水平极低,细菌感染 2~3 h 即可升高,因此具有早期诊断价值。(1,3)- β -D 葡聚糖(BG)是除接合菌和隐球菌外的大多数真菌细胞壁的重要组成成分,细菌、病毒、人体细胞均无此成分。当真菌进入人体血液或深部组织后,经中性粒细胞及吞噬细胞的吞噬、消化处理后,BG 可从细胞壁释放入血液及其他体液中,致使 BG 水平异常增高。本文通过对肺结核患者感染 G^- 菌、真菌时内毒素、PCT 及 BG 的水平检测与分析,探讨其在肺结核患者早期感染中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 3 月至 2013 年 12 月本院结核病防治所收治的肺结核确诊病例 240 例。其中男 164 例,女 76 例;年龄 21~79 岁,平均(60.4 \pm 18.9)岁;病程 1 周至 2 个月,平均(19.3 \pm 13.4)d;所有患者均符合中华医学会结核病学分会制定的《肺结核诊断和治疗指南》标准。根据患者痰液及血液培养结果分为 G^- 菌生长组、革兰阳性(G^+)菌(包括真菌)生长组、无菌生长组。其中 G^- 菌生长组 39 例,男 25 例,女 14 例,平均(64.21 \pm 19.47)岁; G^+ 菌生长组 45 例,男 29 例,女 16 例,平均(62.53 \pm 21.15)岁;无菌生长组 156 例,男 110 例,女 46 例,平均(51.38 \pm 18.67)岁。同期选择本院健康体检中心体检健康者 48 例纳入健康对照组,其中男 28 例,女 20 例,年龄 28~75 岁;均排除患有心、肝、肾慢性疾病及近期有感染或接受过手术者。4 组被试间一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),组间具有可比性。

1.2 仪器与试剂 细菌培养鉴定卡片及 VITEK32 全自动微

生物分析仪由法国梅里埃公司提供;内毒素、BG 检测采用的 BET-24A 型等光度法检测仪及内毒素、BG 配套试剂盒均由湛江博康海洋生物有限公司提供;PCT 检测采用罗氏全自动电化学发光免疫分析技术,仪器为 E601 全自动电化学发光分析仪,所用试剂由德国罗氏诊断有限公司提供。

1.3 方法

1.3.1 细菌分离与培养 常规方法分离培养细菌,所有患者痰液标本及血液标本收集后立即接种,按常规方法分离培养细菌,获得纯培养后鉴定。

1.3.2 检测方法 内毒素、BG 检测采用动态浊度法,所有患者均抽取静脉血 3~4 mL,分别加入含有体液处理剂 1 号(氯化钠、Tris、Hcl 溶液)1 mL 的内毒素、真菌试管内各 1 mL,混匀后以 3 200 r/min 离心 5 min,分离血浆,用于内毒素、BG 的水平测定;剩余血注入自凝管中,分离血清,用于 PCT 测定,PCT 检测采用电化学发光免疫法。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据处理及统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料以 *n* 或率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准, $P < 0.05$ 为比较差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细菌培养结果 痰液培养阳性标本 76 例,阳性率为 31.7%;血液培养阳性标本 52 例,阳性率 21.7%,两种标本培养阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 痰液标本和血液培养标本中培养阳性结果比较[n(%)]

标本种类	<i>n</i>	G ⁻ 菌生长组	G ⁺ 菌生长组	合计
痰液标本	240	36(47.4)	40(52.6)	76(31.7)*
血液标本	240	25(48.1)	27(51.9)	52(21.7)
合计	—	61(47.7)	67(52.3)	128(26.7)

*: $P < 0.05$,与血液标本培养阳性率比较;—:无数据。

2.2 肺结核患者 3 项指标检测结果比较 G⁻菌生长组内毒素、PCT 水平高于 G⁺菌生长组和无菌生长组,而 BG 低于 G⁺菌生长组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。G⁻、G⁺菌生长组 PCT 水平高于无菌生长组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。健康对照组与无菌生长组内毒素、PCT、BG 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$),而与其他组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 肺结核患者 3 项指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	内毒素(EU/mL)	PCT(μ g/L)	BG(pg/mL)
健康对照组	48	0.045 \pm 0.031	0.320 \pm 0.280	45.300 \pm 38.500
G ⁻ 菌生长组	39	0.682 \pm 0.418* Δ #	2.930 \pm 0.870* Δ #	72.640 \pm 40.210*#
G ⁺ 菌生长组	45	0.063 \pm 0.034 Δ #	0.850 \pm 0.520 Δ #	589.200 \pm 361.800#
无菌生长组	156	0.058 \pm 0.029	0.390 \pm 0.260	61.500 \pm 49.500

*:与 G⁺菌生长组比较, $P < 0.05$; Δ :与无菌生长组比较, $P < 0.05$;#:与健康对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 真菌培养与血浆 BG 检测阳性率比较 168 例进行真菌培养患者同时进行血浆 BG 检测,真菌培养阳性率 48.21%(81/168),血浆 BG 阳性率 58.93%(99/168),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

肺结核是严重危害人类健康的传染病,是国内重点控制的疾病之一,可累及全身多个器官^[4-5],是一种慢性消耗性疾病。免疫功能低下、病情较重的肺结核患者,往往由于肺部结核病变广泛,存在坏死、干酪样物质和空洞,使局部抵抗力降低,易合并细菌和真菌等其他病原体感染,其中以 G⁻菌和真菌较为常见。同时由于目前抗菌药物的广泛应用,导致临床细菌和真菌培养的阳性率较低,而且培养时间长、定量困难,因此需要加强对各种感染的预防和早期快速诊断。

细菌内毒素是由多糖、脂质及蛋白 3 部分组成的复合体,是 G⁻菌细胞壁上的特有结构,细菌在生活状态不释放出来,只有当细菌死亡自溶或黏附在其他细胞时才表现其毒性,小剂量内毒素进入血液后,不出现症状。但若机体抵抗力降低、严重感染未得到及时控制时,可使大量内毒素积聚于血液中,超过机体自卫系统的清除能力,则可激活体内多种炎性细胞释放炎性介质,引发全身炎症反应综合征。抗结核治疗后,菌体死亡释放出的菌体蛋白、脂质、糖类、类脂具有与内毒素相似的生物活性,成为炎症反应和免疫系统的强力诱导剂。肺结核患者如果并发 G⁻菌感染,死后的结核分枝杆菌游离成分与内毒素相互促进,形成恶性循环,加速机体抵抗力和细胞免疫功能的下降,增加治疗难度。本研究发现,G⁻菌生长组内毒素水平明显高于 G⁺生长组和无菌生长组,差异有统计学意义($P < 0.05$);其敏感度和特异度均高于细菌培养。因此,内毒素可作为衡量 G⁻菌感染病情和预后判断的参考指标。

PCT 是由 116 个氨基酸组成的多肽,是降钙素的前体物质。正常情况下由甲状腺 C 细胞产生,并全部酶解为降钙素和其他片段,几乎不释放入血。肺结核合并细菌感染后,在内毒素和炎性细胞因子作用下,PCT 明显增加,加上 PCT 酶解为降钙素受抑制,血清 PCT 明显升高。细菌内毒素和炎性细胞因子均可诱导 PCT 产生^[6],并与感染的严重程度及临床预后密切相关,说明血清 PCT 可能成为早期鉴别细菌感染严重程度的敏感指标^[7]。本研究结果显示,G⁻菌生长组和 G⁺菌生长组 PCT 结果均高于无菌生长组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但与病原菌类型无关,这可能与 PCT 诱导因素的多样性有关。而内毒素和 PCT 指标的联合应用有助于鉴别肺结核并发感染的病原,弥补 PCT 的不足。

肺结核的渗出、增生、干酪、空洞病变不同程度地损伤了肺组织结构的完整性,给真菌定植、生长提供了有利环境;肺结核患者常并发普通细菌感染,临床常用 2 种以上抗菌药物治疗,且应用时间长,易导致菌群失调,从而导致二重感染。侵袭性真菌感染(IFI)的诊断主要依赖于真菌培养和组织病理学检查。培养的缺点是等待结果时间较长,而组织病理学检查和深部组织培养通常由于其有创伤性,临床取材不易^[8]。血清学检测是近年来发展较快的 IFI 早期检测方法之一。当真菌进入人体血液或深部组织后,经中性粒细胞及吞噬细胞的吞噬、消化后,BG 可从细胞壁释放进入血液及其他体液中,在血液及无菌体液中检测出 BG 即可认为存在真菌感染。Senn 等^[9]研究发现,在感染早期 BG 就能被检测出,在确诊和高度可疑 IFI 的患者中 BG 检测可先于临床诊断 2~32 d,平均 10 d。本研究进一步探索发现,BG 水平升高患者早于传统真菌培养及病理学检查 1~10 d,且 BG 检测法阳性率为 58.93%,高于真菌培养法的 48.21%,提示 BG 测定有一定的早(下转第 354 页)

蛋白表达明显增强,表明了钙离子参与了精子发生的调控^[18]。精子发生过程受多个蛋白质相互作用调节,这些蛋白质多数与钙离子有直接或间接联系,所以碱性离子也直接或间接影响精子质量。

酸性环境下人体细胞代谢功能低下,会出现一系列生理功能低下的表现^[19]。人体体液 pH 值属于内环境,当外环境的刺激超过人体自身调节机制就会使内环境随之改变,导致机体处于病态,直接影响精子质量。希望通过本研究能引起广大医务工作者对精液单纯性低 pH 值引起重视,为不育男性患者的治疗找到一条新的途径。

参考文献

[1] World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen [M]. 5th ed. Geneva: WHO Press, 2010:16.

[2] 尹奇焕. 精液 pH 值与精液液化异常的关系[J]. 中国医药导报, 2011, 8(31):110-111.

[3] 蒋超, 黄祝, 徐会茹, 等. 不同 pH 值精子营养液对男性精液各参数的影响以及机制的初步探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(11):1232-1236.

[4] 王瑞, 张卫星, 李培强, 等. 精液液化异常的相关因素分析[J]. 中华泌尿外科杂志, 2006, 27(4):282.

[5] 杨运通, 徐计秀, 王璟琦, 等. 精液液化程度与精子活力、活动率、精子密度及 pH 值的研究分析[J]. 中国医疗前沿, 2010, 5(23):66-67.

[6] 柴宇静. 精子形态学检查的研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2011, 25(11):70-72.

[7] 尹奇焕. 精液 pH 值与精液液化异常的关系[J]. 中国医药导报, 2011, 8(31):110-111.

[8] 亓贯和, 王静. 附属性腺功能对精浆 pH 值的影响[J]. 实用医技杂志, 2002, 9(11):843-843.

[9] 臧勇. 精液 pH 值与其主要参数相关性分析[J]. 沈阳医学院学报, 2006, 8(2):139-140.

[10] Li Y, Lin H, Li Y, et al. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: systematic review and meta-analyses[J]. Fertil Steril, 2011, 95(1):116-123.

[11] Martini AC, Molina RI, Estofán D, et al. Effects of alcohol and cigarette consumption on human seminal quality[J]. Fertil Steril, 2004, 82(2):374-377.

[12] Kumar S, Kumari A, Murarka S. Lifestyle factors in deteriorating male reproductive health[J]. Indian J Exp Biol, 2009, 47(8):615-624.

[13] 田兰凤, 吕振华. 食物的酸碱性对人体健康[J]. 中国保健营养, 2002, 13(5):19.

[14] 赵瑞芹, 宋振峰. 亚健康问题的研究进展[J]. 国外医学: 社会医学分册, 2002, 19(1):10-13.

[15] Meseguer M, Garrido N, Martínez-Conejero JA, et al. Relationship between standard semen parameters, Calcium, cholesterol contents, and mitochondrial activity in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile males[J]. J Assist Reprod Genet, 2004, 21(12):445-451.

[16] 张红国, 段晓刚, 刘睿智. 钙离子与精子功能[J]. 中华男科学杂志, 2006, 12(10):933-935.

[17] Wennemuth G, Babcock DF, Hille B. Calcium clearance mechanisms of mouse sperm[J]. J Gen Physiol, 2003, 122(1):115-128.

[18] 周刚, 王泽萍, 范化开, 等. 酸性体质与亚健康状态[J]. 中华现代内科学杂志, 2007, 9(2):1681.

[19] Ben-Aharon I, Brown PR, Etkovitz N, et al. The expression of calpain 1 and calpain 2 in spermatogenic cells and spermatozoa of the mouse[J]. Reproduction, 2005, 129(4):435-442.

(收稿日期: 2014-11-08)

(上接第 351 页)

期辅助诊断价值。当检测到标本中 BG 水平较高时, 即刻结合临床予以系统治疗, 可取得最佳治疗时机。

综上所述, 内毒素、PCT 及 BG 检测均不受体内细菌存活、抗菌药物水平的影响。联合检测肺结核患者体内内毒素、PCT 及 BG 水平, 对鉴别诊断肺结核患者是否并发 G⁻菌、真菌感染^[10]具有重要参考价值, 有利于指导临床用药及预后判断。

参考文献

[1] Berthelsen L, Kristensen AT, Tranholm M. Animal models of DIC and their relevance to human DIC: a systematic review [J]. Thromb Res, 2011, 128(2):103-116.

[2] 郭萌, 李冠民, 黄清泉. 细菌内毒素研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(5):397-400.

[3] Biswas SK, Lopez-Collazo E. Endotoxin tolerance: new mechanisms, molecules and clinical significance[J]. Trends Immunol, 2009, 30(10):475-487.

[4] 沈兴华, 陈兴年. 肺结核患者血清 VEGF 检测的临床分析[J]. 临

床肺科杂志, 2010, 19(9):1322.

[5] 张志娟, 周玉文. 正规抗结核治疗对初治肺结核患者血清中血管活性肠肽水平的影响[J]. 临床肺科杂志, 2006, 17(1):71-72.

[6] 吴东川, 尹石华, 王广君, 等. 血清 HS-CRP, PCT 水平与脑卒中患者疾病的关系[J]. 实用临床医药杂志, 2013, 17(24):27-30.

[7] 呼建新, 常晓悦. 降钙素原的研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(12):1795-1797.

[8] 张梦宇, 郑磊. 深部曲霉菌感染实验室诊断进展[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(10):913-915.

[9] Senn L, Robinson L, Schmidt S, et al. 1,3-Beta-D-glucan antigenemia for early diagnosis of invasive fungal infections in neutropenic patients with acute leukemia[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(6):878-885.

[10] Akamatsu N, Sugawara Y, Kaneko J, et al. Preemptive treatment of fungal infection based on plasma (1->3) beta-D-glucan levels after liver transplantation[J]. Infection, 2007, 35(5):346-351.

(收稿日期: 2014-12-11)

声明

本刊 36 卷 2 期 282 页《高职专科医学检验专业学生综合能力培养探讨》一文题目更改为《高等专科医学检验技术专业学生综合能力培养探讨》。

《国际检验医学杂志》编辑部