

cation in acute dyspnea[J]. Clin Chem, 2012, 58(1): 284-292.

[14] Arenja N, Reichlin T, Drexler B, et al. Sensitive cardiac troponin in the diagnosis and risk stratification of acute heart failure[J]. J Intern Med, 2012, 271(6): 598-607.

[15] Pascual-Figal DA, Casas T, Ordonez-Llanos J, et al. Highly sensitive troponin T for risk stratification of acutely destabilized heart failure[J]. Am Heart J, 2012, 163(6): 1002-1010.

[16] Miller WL, Hartman KA, Burritt MF, et al. Profiles of serial changes in cardiac troponin T concentrations and outcome in ambulatory patients with chronic heart failure[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(18): 1715-1721.

[17] Defilippi CR, de Lemos JA, Christenson RH, et al. Association of serial measures of cardiac troponin T using a sensitive assay with incident heart failure and cardiovascular mortality in older adults [J]. J Am Assoc, 2010, 304(22): 2494-2502.

[18] Masson S, Anand I, Favero C, et al. Serial measurement of cardiac troponin T using a highly sensitive assay in patients with chronic heart failure data from 2 large randomized clinical trials[J]. Circu-

lation, 2012, 125(2): 280.

[19] Okura H, Suzuki R, Azuma Y, et al. The basic research on the high-sensitive troponin I assay, and the application to evaluation of chronic heart failure[J]. Rinsho Byori, 2013, 61(5): 175-181.

[20] Rm W, Fowler MB, Telli ML. chemotherapy-associated cardiotoxicity: how often does it really occur and how can it be prevented [J]. Heart Fail Clin, 2011, 7(3): 333-344.

[21] de Antonio M, Lupon J, Galan A, et al. Combined use of high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B type natriuretic peptide improves measurements of performance over established mortality risk factors in chronic heart failure[J]. Am Heart J, 2012, 163(5): 821-828.

[22] Bosselmann H, Egstrup M, Rossing K, et al. Prognostic significance of cardiovascular biomarkers and renal dysfunction in outpatients with systolic heart failure: A long term follow-up study [J]. Int J Cardiol, 2013, 170(2): 202-207.

(收稿日期: 2014-11-10)

• 综 述 •

血清降钙素原在严重细菌感染及脓毒症中的应用价值

刘 怡 综述, 陈维贤 审校

(重庆医科大学附属第二医院重症医学科, 重庆 400010)

关键词: 降钙素原; 细菌感染; 抗菌药物; 脓毒症

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 02. 043

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)02-0242-03

感染因子是发热疾病最常见的致病原因。相关文献报道显示, 延迟 1 h 给予足量、适当的抗菌药物治疗将会使脓症患者病死率增高 5%~10%^[1-2]。因此, 临床上常对病因不明的发热初诊患者给予经验性抗感染治疗。然而, 相关文献显示 50% 被用于特定治疗的抗菌药物被视作不必要或不恰当^[3]。例如, 病毒感染是支气管炎的常见病因, 但仍有 80% 的患者会接受抗菌药物治疗^[4]。细菌培养及鉴定是诊断细菌感染的金标准。然而, 由于细菌培养及鉴定需要时间, 标本污染引起的敏感度缺乏和特异度低等因素影响, 病原体检测仍不能为脓毒症早期诊断提供有效条件。约 70% 影像学证实的肺炎和 80% 临床可疑菌血症在微生物学上均未被鉴别^[5]。急性炎症反应标志物降钙素原(PCT)在细菌感染的早期诊断、判断疾病严重程度和监测疗效方面都有重要价值, 现对 PCT 在各类感染性疾病诊断中的重要性综述如下。

1 PCT 的定义

1993 年, 法国 Assicot 等^[6]第一次提出并介绍了 PCT 在区分细菌感染和非细菌感染方面的应用。过去 15 年的研究证实了 PCT 在细菌感染和脓毒症早期诊断中的巨大潜力。PCT 是唯一被德国“重症和急诊医学学际协会”纳入脓毒症诊疗指南的炎性标志物。PCT 是由 116 种氨基酸组成的肽, 也是激素原和降钙素前体。在正常的组织中由甲状腺 C 细胞合成, 部分由肺和小肠的神经内分泌细胞合成。健康人群的血清 PCT < 0.05 ng/mL 或无法被检测^[7]。当发生全身炎症反应时, 特别是细菌感染时, 在炎症反应细胞因子和细菌内毒素的影响下, PCT 在大量器官组织, 如肺、肝、肾脏、脂肪组织中被

释放入血, 其水平可增高 1 000 倍以上。炎症刺激的最初 2~4 h 即可在血液中检测出 PCT, 且在 6~24 h 达到高峰; C 反应蛋白(CRP)在炎症刺激的开始 12~24 h 可被检出, 48 h 达到高峰^[8]。PCT 相对 CRP 更稳定, 且在血清中的浓度不受中性粒细胞缺乏、免疫缺陷及使用非甾体类及甾体类抗炎药物的影响^[5]。PCT 水平取决于炎症反应的程度及感染的严重程度^[9]。相关研究表明, 抗感染治疗第 1 个 24 h, 无论是给予免疫干预, 还是抗菌药物, 血液中的 PCT 水平均开始减半^[10]。另有研究显示, 在抗感染治疗中以 PCT 作为参考监测疗效, 可以降低抗菌药物的使用率, 且对疾病的转归起到很好的监测作用^[11-12]。因此, PCT 也可以作为评估抗菌药物有效性的标志物。

2 PCT 对各类感染性疾病诊断的重要性

2.1 病因未知的发热 PCT 对早期发热疾病分类的作用尚不明确。1 项来自于西班牙的研究对原因不明发热患者进行了分析, 研究表明感染疾病患者的血清 PCT 水平明显高于免疫炎症条件下的 PCT 水平; 细菌感染患者的血清 PCT 水平明显高于病毒感染患者血清 PCT 水平。虽然, 最终没能证实 PCT 在细菌感染发热和其他原因引起的发热患者中的差异, 但在解释中, 提到了“发热条件”的病因学异质性和细菌感染的临床表现多样性可能是导致 PCT 差异的原因^[13]。

2.2 脑膜炎 不少研究提到 PCT 在急性脑膜炎诊疗中的运用。Viallon 等^[14]的前瞻性研究结果显示, 脑脊液中的乳酸水平和血清 PCT 是判断脑脊液细菌涂片阴性患者病毒感染和(或)细菌感染性脑膜炎的最可靠证据, 其灵敏度为 95%, 特异

度为 100%，阴性预测值(NPV)为 100%，阳性预测值为(PPV) 97%。

2.3 呼吸系统感染 PCT 对疾病诊断、疗效监测和预后判断的作用大多是根据呼吸道感染的研究分析得出。Berg 等^[15]的 META 分析结果证实了 PCT 在社区获得性肺炎(CAP)的诊断及疗效监测中的重要性,其研究指出血清 PCT ≥ 0.25 ng/mL 是细菌感染性肺炎的诊断阈值;当 PCT > 0.5 ng/mL 时往往提示存在更严重、复杂的疾病,且死亡风险增加;当 PCT < 0.01 mL/mg 时,可排除细菌感染性肺炎,甚至是影像学检查证实的肺部感染;与非典型性及病毒性肺炎比较,细菌性肺炎血清 PCT 水平明显增高,PCT 水平变化依赖于 CAP 的严重程度。以上结论与某些判断疾病严重程度的评分量表一致,例如临床肺部感染评分(CPSI)和英国胸科协会改良肺炎评分(CURB-65)。因 CAP 住院患者血液培养阳性率较低,且存在成本-效用方面的问题,促使研究者不断探索 PCT 在 CAP 中的应用价值。Müller 等^[16]的研究结果显示,PCT 在预测细菌性肺炎方面较高的精确度(受试者工作特征曲线下面积为 0.82, 95%置信区间为 0.78~0.87)。综合以上文献,作者建议 PCT < 0.25 ng/mL 可提示患者菌血症风险较低,没有必要再做血培养检查,也节约了治疗开支;当 PCT > 0.5 ng/mL,尤其是 PCT > 1 ng/mL 时,往往提示菌血症可能性极大,须采取积极抗菌治疗。呼吸机相关性肺炎(VAP)发病率约为 28%,且病死率为 27%~76%。VAP 早期患者的临床症状及胸片表现常不典型,且考虑到定植因素,从气道分泌物分离出的细菌致病性也存在问题。Halim 等^[17]的研究结果显示,与无 VAP 的机械通气患者相比,VAP 患者组的 PCT 水平明显增高,血清 PCT 增高在诊断和预测 VAP 患者预后方面有着非常重要的价值。这一结论被其他研究所证实^[18-19]。

2.4 泌尿系统感染 约 20.0% 成人泌尿系统感染由细菌引起,这不仅延长住院时间,也使死亡风险从 0.3% 增加到 7.5%~30.0%。因此,临床医生应尽早诊断、治疗复杂尿路感染。van Nieuwkoop 等^[20]用三种不同试验模型诊断菌血症,发现在一种模型中,菌血症的唯一判断依据是 PCT > 0.25 ng/mL,同时也提到 PCT 用于血培养阳性率低的下呼吸道感染可以为每个受试者节省约 36 美元的治疗开支,且保证了菌血症检出率在 94%~99%,且在高 PCT 水平患者的血培养中检测出细菌所需的时间更短。

2.5 烧伤 在重度烧伤患者中,抗感染治疗是治疗的关键。以往学者一般认为烧伤本身会引起 PCT 增高,因此,并没有把 PCT 作为烧伤感染的标志物。然而,Budkevich 等^[21]指出,创伤患者在伤后最初 24 h 内 PCT 水平不会升高到大于 0.5 ng/mL;在对 50 例未涉及呼吸道烧伤患儿的研究中发现,无吸入性损伤患者的 PCT 增高仍是提示合并细菌感染的可靠指标;在对烧伤病例的病理组织学研究发现,烧伤组织中细菌感染深度与血清 PCT 水平密切相关。因此,作者认为 PCT 在识别烧伤患者感染进展方面具有重要价值。

2.6 血源性感染 Kim 等^[22]研究表明,同无菌血症患者相比,菌血症患者血清 PCT 水平明显升高,而 CRP 比较差异无统计学意义($P> 0.05$)。Beqja-Lika 等^[23]的研究比较了 PCT、CRP 和白细胞计数在诊断感染性疾病及疗效监测中的价值,其结果显示,把 PCT=0.5 ng/mL 作为临界值区分全身炎症反应综合征(SIRS)和脓毒症的敏感度和特异度分别为 97.4% 和 96.6%;PCT ≥ 2 ng/mL 作为诊断脓毒症的临界值时,其特异度为 100%。因此,PCT 在脓毒症的早期诊断中具有较高的

特异度和敏感度。研究者同样指出,高血清 PCT 水平与疾病严重程度密切相关,可用于判断疾病危重程度,与使用急性生理与慢性健康评分(APACH II)或全身性感染相关性器官功能衰竭评分(SOFA)来判断疾病危重程度原理相同^[24]。

2.7 判断疾病预后 PCT 水平与细菌载量、感染严重程度有相关性^[24]。PCT 水平的动态变化往往可预测疾病的转归。Ruiz-Rodríguez 等^[25]提出了通过对 PCT 的清除(PCT-c)动态监测来预测疾病转归的新观点。总之,持续高水平的 PCT 水平提示患者预后较差,而 PCT 水平的动态变化比单个 PCT 水平的检测在疾病的早期诊断和预后判断上更可靠。

2.8 疗效监测 PCT 用于抗感染治疗的指导,可有效减少抗菌药物的使用强度和用药时间。Christ-Crain 等^[26]对 CAP 患者的研究表明,在包含 PCT 监测作为指导抗菌药物应用的研究组中,抗菌药物的使用率明显减少,且治疗时间平均缩短了 5~12 d。Schuetz 等^[27]研究表明,在有相似死亡风险及感染复发率的患者中,将 PCT 作为监测项目指导抗菌药物应用,抗菌药物平均使用率降低了 35%。Maravic-Stojkovic 等^[28]研究表明,外科心脏手术后患者在术后早期恢复阶段,应用 PCT 监测可降低抗菌药物约 28% 的抗菌药物使用率,且可为患者节约治疗费用数百欧元。

3 结 论

PCT 在侵袭性细菌感染的早期诊断、疗效监测及判断疾病预后方面有着重要的价值。大量的随机对照试验表明,包含 PCT 监测指导抗菌药物应用治疗的下呼吸道感染和脓毒症病例中,减少了抗菌药物的使用率及使用强度,而不会影响患者的安全和治疗效果。将 PCT 监测用于细菌性感染疾病的诊断和疗效监测减少了治疗开支和多重耐药菌株的出现。而 PCT 用于外科感染以及妇科感染的价值在方法学上尚缺乏研究。

参考文献

- [1] Reinhart K, Meisner M. Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin[J]. Crit Care Clin, 2011, 27(2): 253-263.
- [2] Gille-Johnson P, Hansson KE, Gardlund B. Clinical and laboratory variables identifying bacterial infection and bacteraemia in the emergency department[J]. Scand J Infect Dis, 2012, 44(10): 745-752.
- [3] John JF, Fishman NO. Programmatic role of the infectious diseases physician in controlling antimicrobial costs in the hospital[J]. Clin Infect Dis, 1997, 24(3): 471-485.
- [4] Wenzel RP, Fowler AA. Acute bronchitis[J]. N Engl J Med, 2006, 355(20): 2125-2130.
- [5] Schuetz P, Christ-Crain M, Müller B. Procalcitonin and other biomarkers to improve assessment and antibiotic stewardship in infections—hope for hype[J]. Swiss Med Wkly, 2009, 139(23/24): 318-326.
- [6] Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection[J]. Lancet, 1993, 341(8844): 515-518.
- [7] Suberviola B, Castellanos-Ortega A, Gonzalez-Castro A, et al. Prognostic value of procalcitonin, C-reactive protein and leukocytes in septic shock[J]. Med Intensiva, 2012, 36(3): 177-184.
- [8] Chan T, Gu F. Early diagnosis of sepsis using serum biomarkers[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2011, 11(5): 487-496.
- [9] Karlsson S, Heikkinen M, Pettila V, et al. Predictive value of procalcitonin decrease in patients with sever sepsis: a prospective observational study[J]. Critical Care, 2010, 14(6): 205.

- [10] Schuettz P, Chiappa V, Briel M, et al. Procalcitonin algorithms for antibiotic therapy decisions[J]. Arch Intern Med, 2011, 171(15): 1322-1331.
- [11] Bouadma L, Luyt CE, Tubach F, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial[J]. Lancet, 2010, 375(9713): 463-474.
- [12] Albrich CW, Dusemund F, Bucher B, et al. Effectiveness and safety of procalcitonin-guided antibiotic therapy in lower respiratory tract infections in real life[J]. Arch Intern Med, 2012, 172(9): 715-722.
- [13] Ruiz-Esteban R, Relea Sarabia P, Garcia Delgado E, et al. Procalcitonin and C-reactive protein levels as diagnostic tools in febrile patients admitted to a General Internal Medicine ward[J]. Clin Biochem, 2012, 45(1/2): 22-25.
- [14] Viallon A, Desseigne N, Marjollet OA, et al. Meningitis in adult patients with a negative direct cerebrospinal fluid examination: value of cytochemical markers for differential diagnosis[J]. Critical Care, 2011, 15(3): 136.
- [15] Berg P, Lindhardt BO. The role of procalcitonin in adult patients with community-acquired pneumonia-a systematic review[J]. Dan Med J, 2012, 59(3): 4357.
- [16] Müller F, Christ-Crain M, Bregenzer T, et al. Procalcitonin levels predict bacteremia in patients with community-acquired pneumonia[J]. Chest, 2010, 138(1): 121-129.
- [17] Halim EI, Attia A, Zytoun T, et al. The diagnostic and prognostic value of serum procalcitonin among ventilator associated pneumonia patients[J]. OJRD, 2013, 3(2): 73-78.
- [18] Seligman R, Santos Seligman BG, Zimmermann Teixeira PJ. Comparing the accuracy of predictors of mortality in ventilator-associated pneumonia[J]. J Bras Pneumol, 2011, 37(4): 495-503.
- [19] Charles PE, Kus E, Aho S, et al. Serum procalcitonin for the early recognition of nosocomial infection in the critically ill patients: a preliminary report[J]. BMC Infect Dis, 2009, 9(1): 49.
- [20] van Nieuwkoop C, Bonten TN, van't Wout JW, et al. Procalcitonin reflects bacteremia and bacterial load in urosepsis syndrome: a prospective observational study[J]. Crit Care, 2010, 14(6): 206.
- [21] Budkevich LI, Lecmanov AU, Kolokolchikova EG, et al. Comparing the morphological changes in burn wound tissues and the procalcitonin concentration[J]. Int J Bio Med, 2013, 3(1): 23-26.
- [22] Kim MH, Lim G, Kang SY, et al. Utility of procalcitonin as an early diagnostic marker of bacteremia in patients with acute fever [J]. Yonsei Med J, 2011, 52(2): 276-281.
- [23] Beqja-Lika A, Bulo-Kasneji A, Refatllari E, et al. Serum procalcitonin levels as an early diagnostic indicator of sepsis[J]. Mater Sociomed, 2013, 25(1): 23-25.
- [24] Schuetz P, Haubitze S, Mueller B. Do sepsis biomarkers in the emergency room allow transition from bundled sepsis care to personalized patient care[J]. Curr Opin Crit Care, 2012, 18(4): 328-354.
- [25] Ruiz-Rodriguez JC, Caballero J, Ruiz-Sanmartin A, et al. Usefulness of procalcitonin clearance as a prognostic biomarker in septic shock. A prospective pilot study[J]. Med Intensiva, 2012, 36(7): 475-480.
- [26] Christ-Crain M, Stolz D, Bingisser R, et al. Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2006, 174(1): 84-93.
- [27] Schuetz P, Christ-Crain M, Thomann R, et al. Effect of procalcitonin-based guidelines vs standard guidelines on antibiotic use in lower respiratory tract infections; the ProHOSP randomized controlled trial[J]. JAMA, 2009, 302(10): 1059-1066.
- [28] Maravic-Stojkovic V, Lausevic-Vuk L, Jovic MA, et al. Procalcitonin-Based therapeutic strategy to reduce antibiotic use in patients after cardiac surgery: a randomized controlled trial[J]. Srp Arh Celok Lek, 2011, 139(11/12): 736-742.

(收稿日期: 2014-11-12)

• 综 述 •

细菌生物膜 RNA 提取方法研究

辛运超¹综述, 张玉妥¹, 尚小颖^{2△}审校

(1. 河北北方学院病原生物与免疫学研究所, 河北张家口 075000; 2. 河北北方学院附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科, 河北张家口 075000)

关键词: 细菌; 生物膜; 总 RNA; 提取方法

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.02.044

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)02-0244-03

高纯度和完整性好的 RNA 提取是微生物分子生物学研究的重要前提^[1]。RNA 提取即将细胞破碎裂解, 利用相关试剂去除多糖、酚类、蛋白质及 DNA 等的污染, 通过一系列的抽提、洗涤和沉淀, 最终获得纯净 RNA^[2]。细菌生物膜可被形容为包裹在细菌表面的一层由糖和蛋白质等构成的厚厚的、黏性屏障^[3], 且这些胞外聚合物约占其总生物量的 90%^[4], 严重影响细菌细胞裂解, 干扰核酸提取和纯化, 增加了 RNA 提取的难度^[5]。相比动植物的真核细胞, 细菌的 RNA 水平较低, 半衰期短, 没有 5' 帽子结构和 3' Poly(A) 尾巴结构, 在提取过程中很容易降解。本文从目前国内外细菌生物膜总 RNA 的提

取方法的种类、产物分析及常见问题等方面对细菌生物膜 RNA 提取方法研究展开综述。

1 常用的细菌生物膜总 RNA 提取方法及特点

1.1 强变性剂法 强变性剂法常采用肌盐等强蛋白变性剂提取细菌生物膜总 RNA。异硫氰酸胍、盐酸胍、饱和酚等都是强烈的蛋白变性剂, 能有效地解离核蛋白与核酸的复合体, 抑制 RNA 酶活性。在 β-巯基乙醇、N-月桂酰肌氨酸钠等的协同作用下, 高浓度的肌盐能强烈抑制 RNA 酶的活性, 可从胰腺等富含 RNA 酶的组织细胞中分离出完整的 RNA。强变性剂法可用于大多数细菌生物膜总 RNA 的提取, 其优点在于强烈的蛋