

· 论 著 ·

痰培养阳性者超敏 C 反应蛋白和白细胞水平分析

李洁云, 唐荣德, 苏群志, 陈 敏

(广东省江门市新会中医院检验科, 广东江门 529100)

摘 要:目的 探讨痰培养阳性者超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)和白细胞(WBC)变化情况。方法 按病原菌菌种将 116 例痰培养阳性者分为 5 组,以痰培养阴性患者作为对照组。对患者进行 hs-CRP、WBC 等指标检测,比较各组间各指标水平和异常检出率。结果 与阴性组比较,5 个痰培养阳性组 hs-CRP 水平均明显升高($P<0.05$),以白假丝酵母菌组水平最高;除流感嗜血杆菌组外,其余 4 个阳性组 WBC、中性粒细胞水平均明显升高($P<0.05$),以肺炎链球菌组升高最明显。5 个阳性组均有高的 hs-CRP 升高检出率。肺炎链球菌组 WBC 升高检出率为 64.7%,与流感嗜血杆菌组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 痰培养阳性者由于细菌感染或定植,大多会出现炎性反应。

关键词:痰培养; 阳性; 超敏 C-反应蛋白; 白细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.21.018

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)21-3123-03

Observation of high-sensitivity C-reactive protein and white blood cell levels in patients with positive sputum culture results

Li Jieyun, Tang Rongde, Su Qunzhi, Chen Min

(Clinical Laboratory, Xinhui Traditional Chinese Medicine Hospital, Jiangmen, Guangdong 529100, China)

Abstract:Objective To investigate the change of high-sensitivity C-reactive protein(hs-CRP) and white blood cell(WBC) in patients with positive sputum culture results. **Methods** hs-CRP and WBC were determined in 116 patients with positive sputum culture results, which were divided into 5 groups according to strains, and control group of patients with negative sputum culture results. Levels and abnormal rates of various parameters were compared between each group. **Results** hs-CRP levels significantly increased in the 5 sputum culture positive groups, compared with control group($P<0.05$), and that of *Candida albicans* group was the most high. WBC and neutrophil granulocyte(NEU) levels of 4 positive groups were obviously raised($P<0.05$) besides *Haemophilus influenzae* group, and the elevation tendency was the most obvious in *Streptococcus pneumoniae* group. The 5 positive groups were all with high detectable rates of hs-CRP elevation. The detectable rate of WBC elevation in *Streptococcus pneumoniae* group was 64.7%, higher than *Haemophilus influenzae* group($P<0.05$). **Conclusion** The majority of patients with positive sputum culture results could be with inflammatory response because of bacterial infection or colonization.

Key words: sputum culture; positive; high-sensitivity C-reactive protein; white blood cell

C-反应蛋白(CRP)是由肝细胞合成的急性时相蛋白,被认为是最敏感的炎症指标之一,尤其与急性细菌性感染密切相关^[1]。超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)不是一种新的 CRP,只是因检测方法更敏感而命名。白细胞(WBC)计数在炎症和组织损伤诊断、预后评价、疗效观察等方面均是明确且敏感的指标^[2]。下呼吸道感染的诊治依赖于痰标本病原菌检测,痰标本培养检出病原菌可为临床诊治提供客观依据。本研究探讨了痰标本病原菌检测与 hs-CRP、WBC 等相关指标检测的关系。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 7 月至 2014 年 12 月本院呼吸内科住院治疗、痰标本细菌培养阳性的下呼吸道感染患者 116 例,按检出的病原菌种类分为 5 组。白假丝酵母菌组 16 例,男 11 例、女 5 例,年龄(73.1±10.8)岁;肺炎链球菌组 17 例,男 11 例、女 6 例,年龄(76.0±14.1)岁;铜绿假单胞菌组 35 例,男 21 例、女 14 例,年龄(66.3±15.1)岁;肺炎克雷伯菌组 34 例,男 24 例、女 10 例,年龄(71.1±11.7)岁;流感嗜血杆菌组 14 例,男 9 例、女 5 例,年龄(68.7±12.6)岁。以痰标本细菌培养阴性患者 30 例作为对照组,男 17 例、女 13 例,年龄(58.4±10.3)岁。

1.2 方法 所有患者于入院后 24 h 内采集痰标本进行细菌培养。痰标本采集方法参照《全国临床检验操作规程》^[3],要求

痰标本涂片镜检每低倍镜视野下鳞状上皮细胞数小于或等于 10 个, WBC 数量大于或等于 25 个。痰标本培养前采用胰酶进行均质化处理。采用法国生物梅里埃公司 VITEK2 Compact 型全自动细菌鉴定仪进行细菌鉴定。同时采集患者空腹静脉血标本,采用瑞士 Roche 公司 P-800 型全自动生化分析仪及免疫比浊法试剂盒进行 hs-CRP 检测(参考范围为 0.01~8.20 mg/L),采用日本 Sysmex 公司 XS-1000i 型全自动血细胞分析仪进行血常规检测,主要观察指标包括 WBC[参考范围为(3.5~9.7)×10⁹/L]、中性粒细胞绝对值[NEU,参考范围为(1.8~6.4)×10⁹/L]、淋巴细胞绝对值(LYM,参考范围为(0.8~3.5)×10⁹/L)、单核细胞绝对值[MON,参考范围为(0.1~0.8)×10⁹/L]。检测值高于参考范围上限(以↑表示)及低于参考范围下限(以↓表示)判为检测结果异常。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理和统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 q 检验(Newman-Keuls 法);计数资料以例数和百分率表示,组间比较采用校正卡方检验。 $P<0.05$ 判为比较差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 痰培养阳性与阴性组 hs-CRP 和血常规指标检测结果比较 与痰培养阴性组比较,5 个痰培养阳性组 hs-CRP 水平均

明显升高($P<0.05$),以白假丝酵母菌组水平最高,且与铜绿假单胞菌组、肺炎克雷伯菌组、流感嗜血杆菌组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。与痰培养阴性组相比,除流感嗜血杆菌组外,其余 4 个痰培养阳性组 WBC 和 NEU 水平均明显升高($P<0.05$),以肺炎链球菌组水平最高,且与铜绿假单胞菌组、肺炎克雷伯菌组、流感嗜血杆菌组比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 痰培养阳性与阴性组 hs-CRP 及血常规指标异常检出率

比较 痰培养阴性组各指标异常检出率均较低,与痰培养阳性各组比较差异均有有统计学意义($P<0.05$)。痰培养阳性组中,除流感嗜血杆菌组外,其余 4 组 hs-CRP 升高异常检出率接近或等于 100.0%。肺炎链球菌组 WBC 升高异常检出率为 64.7%,与流感嗜血杆菌组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。5 个痰培养阳性组均有一定程度的 NEU 升高和 LYM 降低异常检出率,但组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。各组均未检出 MON 异常者。见表 2。

表 1 痰培养阳性与阴性组各指标检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	hs-CRP(mg/L)	WBC($\times 10^9$ /L)	NEU($\times 10^9$ /L)	LYM($\times 10^9$ /L)	MON($\times 10^9$ /L)
白假丝酵母菌组	16	98.1±71.5*	11.0±5.4*	9.3±5.3*	0.92±0.46*	0.64±0.42
肺炎链球菌组	17	84.8±61.9*	13.3±4.1*	10.9±3.8*	1.41±0.35*	0.71±0.21
铜绿假单胞菌组	35	56.3±49.4*#△	10.2±4.3*△	8.3±4.0*△	1.26±0.77*	0.57±0.33
肺炎克雷伯菌组	34	50.1±41.4*#△	9.7±3.6*△	7.6±3.7*△	1.24±0.69*	0.61±0.26
流感嗜血杆菌组	14	41.1±33.8*#	7.8±3.8△	5.7±3.6△	1.16±0.30*	0.63±0.33
痰培养阴性组	30	3.1±3.6	6.9±2.1	4.3±1.8	1.91±0.54	0.52±0.23

*: $P<0.05$,与痰培养阴性组比较;#: $P<0.05$,与白假丝酵母菌组比较;△: $P<0.05$,与肺炎链球菌组比较。

表 2 痰培养阳性与阴性组各指标异常检出率比较[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	hs-CRP	WBC	NEU	LYM	MON
白假丝酵母菌组	16	↑16(100.0)*	↑7(43.8)*	↑8(50.0)*	↓6(37.5)*	0(0.0)
肺炎链球菌组	17	↑17(100.0)*	↑11(64.7)*	↑12(70.6)*	↓4(23.5)*	0(0.0)
铜绿假单胞菌组	35	↑34(97.1)*	↑17(48.6)*	↑20(57.1)*	↓11(31.4)*	0(0.0)
肺炎克雷伯菌组	34	↑33(97.1)*	↑14(41.2)*	↑19(55.9)*	↓12(35.3)*	0(0.0)
流感嗜血杆菌组	14	↑12(85.7)*	↑5(35.7)*#	↑6(42.9)	↓4(28.6)*	0(0.0)
痰培养阴性组	30	↑5(16.7)	↑3(10.0)	↑4(13.3)	0(0.0)	0(0.0)

*: $P<0.05$,与痰培养阴性组比较;#: $P<0.05$,与肺炎链球菌组比较。

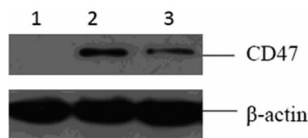
3 讨 论

下呼吸道感染的诊治依赖于痰标本病原菌检测。随着广谱抗菌药物的广泛应用和病原菌不断的变迁,病原菌耐药性增加,耐药株明显增多,增加了疾病治疗的难度^[4]。因此,痰培养及药敏实验检测十分重要。刘文等^[5]对普通病房与重症监护病房(ICU)送检的痰标本进行了涂片及病原菌培养和药敏实验检测,结果显示普通病房送检的标本合格率高于 ICU,但 ICU 送检的痰标本病原菌培养阳性率高于普通病房,且病原菌耐药性也有所不同。王洪涛^[6]对呼吸内科住院患者痰标本进行了培养及药敏实验检测,结果在 260 例患者中检出病原菌 310 株,其中念珠菌和革兰阴性杆菌占总数的 96.1%,念珠菌比例高于革兰阴性杆菌,且念珠菌感染发病率呈上升趋势;检出率较高的革兰阴性杆菌包括铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌和阴沟肠杆菌,且对抗菌药物均有不同程度的耐药。刘雄等^[7]在 1 640 株病原菌中检出革兰阴性杆菌 800 株,占 48.8%,其中铜绿假单胞菌占 12.2%,克雷伯菌属占 12.0%,流感嗜血杆菌占 6.6%,大肠埃希菌占 6.0%;检出的主要革兰阴性杆菌对阿米卡星、环丙沙星、亚胺培南、左氧氟沙星、哌拉西林/他唑巴坦、替卡西林/克拉维酸的敏感性较高,大肠埃希菌和克雷伯菌属产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)的比例分别是 59.1%和 28.9%,且呈多药耐药性;检出革兰阳性球菌 138 株,占 8.4%,其中金黄色葡萄球菌占 3.4%,凝固酶阴性葡萄球菌占 1.9%,耐甲氧西林葡萄球菌占 44.2%;检出的主要革兰阳性球菌对万古霉素、利福平较为敏感;真菌感染发病率呈上升趋势,检出 702 株,占 42.8%,以白假丝酵母菌为主。

至于对痰培养阳性者进行 hs-CRP、WBC 等指标的观察,

文献报道较少。樊成^[8]将 168 例肺部感染患儿分为细菌性感染组和非细菌性感染组,比较了 CRP、WBC 水平,以及二者在疾病进程中的变化,结果显示急性细菌性感染患儿 CRP、WBC 水平均升高,但 CRP 变化比 WBC 更为明显;在恢复期,两组患儿 CRP、WBC 的变化趋势均无差别。

本研究中,5 种病原菌培养阳性者都不同程度地出现 hs-CRP 水平升高,以白假丝酵母菌阳性者水平最高;除流感嗜血杆菌感染患者外,其余 4 种病原菌感染患者几乎均出现 hs-CRP 水平升高。CRP 是最敏感的炎性指标,因此可以推断痰培养阳性患者由于细菌感染而出现炎性反应。WBC、NEU 水平升高以肺炎链球菌感染患者比较明显,与铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和流感嗜血杆菌感染患者比较差异均有统计学意义($P<0.05$)。白假丝酵母菌是白色念珠菌的一种,作为条件致病菌,具有分布广、致病力及黏附性强的特点。白色念珠菌可产生磷脂酶 A 和溶血磷脂酶,前者能破坏上皮细胞,使真菌容易侵入细胞内进行繁殖,后者可维持真菌的生长繁殖。白色念珠菌的侵袭和自我保护能力使其成为真菌感染的主要菌种^[9],且感染患者 hs-CRP 水平明显升高。《下呼吸道感染细菌培养操作规范(草案)》指出,除肿瘤患者(如白血病)、肺移植患者或新生儿外,念珠菌感染通常不会引起肺炎。酵母菌属于口腔正常定植菌群,即使从下呼吸道标本中分离到念珠菌,不管是何菌种,都与疾病无关,除非有组织病理学检查结果的证实。但是,李培等^[10]认为下呼吸道念珠菌定植诱导的局部或全身免疫应答可能诱发细菌性肺炎,进而增加患者病死率,因而念珠菌定植也不容忽视。肺炎链球菌属于革兰阳性菌,所分泌的外毒素作为致病毒素,毒性强且有高度的选择性。荚膜也是肺炎链球菌的主要致病物质,具有抗吞(下转第 3127 页)



1:阴性对照;2:5A6 株单抗;3:9H3 株单抗。

图 5 Western blot 检测抗 CD47 单抗特异性

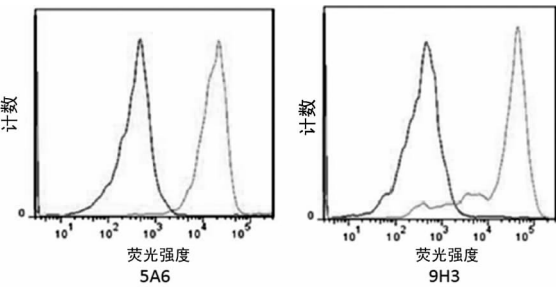


图 6 流式技术检测单抗对 SKOV3 细胞膜表面 CD47 蛋白的识别

3 讨 论

CD47 是与机体免疫系统密切相关的膜蛋白,可结合整合素、信号调节蛋白 A 等配体,具有多种免疫调控作用^[5-6]。CD47 与配体结合后,通过产生抑制性信号降低巨噬细胞的吞噬活性,增强肿瘤细胞的免疫逃逸功能,肿瘤细胞也可通过上调 CD47 表达以避免免疫系统的清除作用。白血病、乳腺癌、膀胱癌、卵巢癌等恶性肿瘤细胞均高表达 CD47,且 CD47 的高表达与肿瘤患者的预后呈负相关^[7-9]。

CD47 与 SIRP α 的结合不依赖于蛋白糖基化。因此,本研究制备了 CD47 胞外区蛋白原核表达系统,采用纯化蛋白免疫小鼠,并利用传统的杂交瘤技术,经 3 次筛选及 2 次克隆化培养后,最终获得了 2 株稳定分泌抗 CD47 单抗的杂交瘤细胞株。ELISA、Western blot、流式技术检测结果显示,所制备的单抗具有良好的特异性和高度的亲和力,为进一步研究 CD47 的生物学功能奠定了基础。

抗 CD47 单抗疗法为肿瘤免疫治疗提供了新的探索途径。前期的研究发现,抗 CD47 单抗能够通过阻断 CD47-SIRP α 信号通路,促进巨噬细胞对肿瘤细胞的吞噬作用,选择性地杀伤肿瘤细胞,并且对大多数正常细胞无杀伤作用^[10-11]。随着对

CD47-SIRP α 信号通路在免疫和中枢神经系统中作用机制研究的深入,为部分发病机制尚不清楚的疾病提供了新的研究途径,但相关研究仍需进一步深入。

参考文献

[1] Matozaki T, Murata Y, Okazawa H, et al. Functions and molecular mechanisms of the CD47-SIRP α signaling pathway [J]. Trends Cell Biol. 2009, 19(2): 72-80.

[2] Chao MP, Alizadeh AA, Tang C, et al. Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma [J]. Cell. 2010, 142(5): 699-713.

[3] Nagahara M, Mimori K, Kataoka A, et al. Correlated expression of CD47 and SIRPA in bone marrow and in peripheral blood predicts recurrence in breast cancer patients [J]. Clin Cancer Res. 2010, 16(18): 4625-4635.

[4] Chao MP, Alizadeh AA, Tang C, et al. Anti-CD47 antibody synergizes with rituximab to promote phagocytosis and eradicate non-Hodgkin lymphoma [J]. Cell. 2010, 142(5): 699-713.

[5] Willingham SB, Volkmer JP, Gentles AJ, et al. The CD47-signal regulatory protein α (SIRP α) interaction is a therapeutic target for human solid tumors [J]. PNAS. 2012, 109(17): 6662-6667.

[6] 鞠宝辉, 黄宇婷, 田菁, 等. 抗 CD47 单克隆抗体对卵巢癌细胞靶向治疗的体外研究 [J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40(8): 440-443.

[7] Kim D, Wang J, Willingham SB, et al. Anti-CD47 antibodies promote phagocytosis and inhibit the growth of human myeloma cells [J]. Leukemia. 2012, 26(12): 2538-2545.

[8] Chao MP, Alizadeh AA, Tang C, et al. Therapeutic antibody targeting of CD47 eliminates human acute lymphoblastic leukemia [J]. Cancer Res. 2011, 71(4): 1374-1384.

[9] Chao MP, Weissman IL, Majeti R. The CD47-SIRP α pathway in cancer immune evasion and potential therapeutic implications [J]. Curr Opin Immunol. 2012, 24(2): 225-232.

[10] 杨梅, 吴敬波, 张智慧. CD47 与淋巴瘤相关性的研究进展 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2014, 42(6): 285-288.

[11] 王颖超, 冯磊, 殷楚云, 等. 抗 CD47 抗体联合阿糖胞苷靶向治疗 NOD/SCID 小鼠单核细胞白血病的研究 [J]. 中国当代儿科杂志, 2013, 7(15): 577-582.

(收稿日期: 2015-05-08)

(上接第 3124 页)

噬作用,是肺炎链球菌的主要侵袭力,使患者 WBC、NEU 水平明显升高。铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌和流感嗜血杆菌同为革兰阴性菌,存在于细菌细胞壁中的脂多糖作为内毒素,对宿主具有毒性作用,但只在细菌死亡溶解或菌细胞被破坏后才被释放。各种细菌内毒素的毒性作用虽然较弱,但也可引起炎症指标水平不同程度的升高,故本研究中上述 3 种革兰阴性菌感染患者均出现 hs-CRP、WBC 水平升高。由于细菌、真菌培养时间较长,故在获得药敏实验检测结果前,临床医生只能凭经验使用抗菌药物。而本文结果提示,可根据患者 hs-CRP、WBC、NEU 升高水平及时判断细菌感染或定植,从而决定是否使用抗菌药物,做到合理用药,使非细菌感染者避免接受抗菌药物治疗。

参考文献

[1] 杨晓峰, 杨新宏, 刘秋霞, 等. CRP、WBC、异型淋巴细胞检测在儿童感染性疾病中的应用 [J]. 承德医学院学报, 2012, 129(2): 141-142.

[2] 刘春秀. C 反应蛋白定量检测与白细胞计数的敏感性比较 [J]. 中

国民康医学, 2012, 24(18): 2204-2205.

[3] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程 [M]. 3 版. 南京: 东南大学出版社, 2006.

[4] 陈倩如, 陆国标. 228 例痰培养病原菌分布及细菌耐药性分析 [J]. 当代医学, 2013, 19(1): 27-28.

[5] 刘文, 吴治. 我院痰培养标本中病原菌的临床分布及耐药性分析 [J]. 微生物学杂志, 2013, 33(2): 97-100.

[6] 王洪涛. 呼吸内科住院患者痰培养和药敏试验结果临床分析 [J]. 基层医学论坛, 2013, 17(28): 3733-3734.

[7] 刘雄, 李兵, 覃李红. 痰培养致病菌构成与耐药性分析 [J]. 热带医学杂志, 2014, 14(9): 1195-1197.

[8] 樊成. C-反应蛋白与儿科肺部感染相关性分析 [J]. 微量元素与健康研究, 2013, 30(5): 22-23.

[9] 王世恒, 朱秀华, 张帆. 106 株真菌的分类和耐药性分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2004, 3(3): 250-251.

[10] 李培, 苏欣, 施毅. 再谈下呼吸道分离出念珠菌的意义 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 11(5): 689-690.

(收稿日期: 2015-07-28)