

• 论 著 •

白细胞、降钙素原和 C 反应蛋白在血流感染早期诊断中的应用价值研究*

李 军¹, 邹明祥^{1△}, 豆清娅², 胡咏梅¹, 王海晨¹, 晏 群¹, 刘文恩¹

(中南大学湘雅医院: 1. 检验科; 2. 医院感染控制中心, 湖南长沙 410008)

摘 要:目的 探索白细胞(WBC)、C-反应蛋白(CRP)和降钙素原(PCT)在血流感染(BSI)早期诊断中的临床应用价值, 为 BSI 的早期诊断提供依据。方法 回顾性分析 48 例血液培养阳性患者(血培养阳性组)与 50 例血液培养阴性患者(血培养阴性组)WBC、PCT 和 CRP 测定结果, 比较两组及血培养阳性组中革兰阳性菌与革兰阴性菌感染者各指标检测结果; 绘制受试者工作特征(ROC)曲线并计算 ROC 曲线下面积(AUC); 采用二分类 Logistic 回归对 3 项指标预测血培养阳性的作用大小进行方程拟合。结果 血培养阳性组 PCT 和 CRP 水平明显高于血培养阴性组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 而两组 WBC 计数比较差异无统计学意义($P>0.05$)。血培养阳性组中革兰阳性菌与革兰阴性菌感染者仅 PCT 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。WBC、PCT 和 CRP 的 AUC 分别为 0.579、0.746 和 0.624。二分类 Logistic 回归显示仅 PCT 对预测诊断具有统计学意义($P=0.013$); 三者联合预测诊断的阳性率为 71.4%。结论 三者均可作为 BSI 的早期诊断指标, 而 PCT 和 CRP 较 WBC 有更重要的意义, 并且 PCT 能较好地区分革兰阳性菌与革兰阴性菌感染。

关键词:血流感染; 白细胞; 降钙素原; C 反应蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.05.007 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2016)05-0594-04

Study on the application value of leukocyte, procalcitonin and C-reactive protein in early diagnosis of bloodstream infection*

Li Jun¹, Zou Mingxiang^{1△}, Dou Qingya², Hu Yongmei¹, Wang Haichen¹, Yan Qun¹, Liu Wen'en¹

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Infection Control Center, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hu'nan 410008, China)

Abstract:Objective To explore the clinical significances of leukocyte (WBC), C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT) in early diagnosis of bacterial bloodstream infections (BSI), in order to provide references for early diagnosis of BSI. **Methods** The detection results of WBC, PCT and CRP from 48 cases of patients with positive blood culture (positive blood culture group) and 50 cases of patients with negative blood culture (negative blood culture group) were retrospectively analysed. Then compared the detection results between the two groups, and between patients with gram-positive bacteria infection and those with gram-negative bacteria infection in the positive blood culture group. The diagnostic performance of WBC, PCT and CRP were determined by drawing the receiver operator characteristic (ROC) curves, and areas under ROC curves (ACUs) were calculated. The performance of the three indicators in predicting BSI were evaluated by using the binary logistic regression analysis. **Results** The levels of PCT and CRP in positive blood culture group was significantly higher than those in negative blood culture group, had statistically significant differences ($P<0.05$), while no statistically significant difference was found in WBC count between the two groups ($P>0.05$). In the positive blood culture group, statistically significant difference was only found in PCT level between patients with gram-positive bacteria infection and patients with gram-negative bacteria infection ($P<0.05$). The AUCs of WBC, PCT and CRP were 0.579, 0.746 and 0.624, respectively. The result of the binary logistic regression analysis showed that only PCT made a unique statistically significant contribution to the model ($P=0.013$) for predictive diagnosis of BSI. And the positive predictive rate of joint detection of these three indicators was 71.4%. **Conclusion** WBC, PCT and CRP could be indicators for early diagnosis of BSI, while PCT and CRP might have much more important significance, moreover, PCT could distinguish between gram-positive bacterial infection and gram-negative bacteria infection.

Key words: bloodstream infection; leukocyte; procalcitonin; C-reactive protein

血流感染(BSI)是指各种病原微生物侵犯人体进入血液后引起的全身性炎性反应。近年来,随着各种抗菌药物、免疫抑制剂、激素等的不合理使用,以及肿瘤患者放疗、化疗、器官移植等治疗方法的运用和大量侵入性诊疗技术的开展,血流感染

的发生率有逐年上升的趋势。不仅如此,BSI 与患者高病死率密切相关^[1-2]。因此,早期诊断及合理治疗能有效降低患者的病死率。血培养一直以来被公认为是诊断 BSI 的“金标准”,但因其所需周期长,对于较难生长的病原菌或者已使用过抗菌药

* 基金项目:湖南省发改委资助项目[湘发改投资(2012)1493 号];湖南省自然科学基金资助项目(14JJ7003);湖南省发改委资助项目[湘发改投资(2014)658]。作者简介:李军,男,检验师,主要从事临床微生物与检验研究。△ 通讯作者,E-mail:zoumingxiang@126.com。

物治疗的患者,以及存在导管相关性 BSI 的患者敏感性不够等导致其在 BSI 早期诊断中的作用十分有限,BSI 迫切需求更敏感、快捷的诊断标志物。有研究表明,白细胞(WBC)、降钙素原(PCT)及 C 反应蛋白(CRP)在 BSI 中也具有较为重要的作用^[3-5]。本研究对 WBC、PCT 及 CRP 在 BSI 早期诊断中的应用价值进行了评价。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2012~2014 年在本院住院的非重复血流细菌培养阳性患者 48 例(血培养阳性组),排除因污染导致血培养阳性的患者;其中男 34 例,女 14 例;年龄 0~77 岁,年龄中位数为 36 岁;之前使用过抗菌药物者 33 例,伴有基础疾病者 4 例。另选取同时间段血流细菌培养阴性患者 50 例作为对照(血培养阴性组),其中男 33 例,女 17 例;年龄 1~77 岁,年龄中位数为 46 岁;之前使用过抗菌药物者 29 例,伴有基础疾病者 5 例。两组患者年龄、性别、之前使用过抗菌药物者所占百分比及伴有基础疾病者所占百分比比较差异无统计学意义($P>0.05$),即具有可比性。两组均记录血培养采血当日 WBC、PCT 和 CRP 检测数据。

1.2 方法 血培养采用 BACTEC 9120 全自动血培养仪(美国 BD 公司),细菌鉴定采用 VITEK-2 Compact 全自动细菌鉴定和药敏系统(法国生物梅里埃公司)。WBC 检测采用 Beckman-Coulter LH750 全血细胞自动分析仪(美国贝克曼库尔特公司);血清 PCT 检测采用 VIDAS 全自动化荧光酶标免疫测

试系统 miniVIDAS 自动酶标免疫测试仪(法国生物梅里埃公司);CRP 检测采用 IMMAGE800 全自动特定蛋白分析仪(美国贝克曼库尔特公司),采用比浊法。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理与统计分析,计量资料以中位数(最小值~最大值)表示,采用秩和检验进行比较分析;计数资料以例数或百分率表示;采用二分类 Logistic 回归分析 3 项指标在预测血液培养阳性方面的意义。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。绘制各项指标受试者工作特征(ROC)曲线,并计算 ROC 曲线下面积(AUC),以 95% 置信区间(CI)表示。

2 结果

2.1 两组各指标检测结果比较 两组患者 WBC 计数、PCT 及 CRP 阳性率,见表 1。

表 1 两组患者 WBC、PCT 及 CRP 阳性率[n(%)]				
组别	<i>n</i>	WBC	PCT	CRP
血培养阴性组	50	28(56.0)	37(74.0)	42(84.0)
血培养阳性组	48	34(70.8)	45(93.8)	43(89.6)

2.2 两组各指标检测结果比较 血培养阳性组患者 PCT 和 CRP 水平明显高于血培养阴性组,差异均有统计学意义($P<0.05$),而两组患者 WBC 计数比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 两组各指标检测结果比较

组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9$ /L)		PCT(ng/mL)		CRP(mg/L)	
		中位数	测定值范围(最小值~最大值)	中位数	测定值范围(最小值~最大值)	中位数	测定值范围(最小值~最大值)
血培养阴性组	50	8.2	1.7~42.4	0.25	0.05~28.89	52.7	1.0~421.0
血培养阳性组	48	11.6	0.1~38.5	2.21	0.05~200.00	92.5	1.0~397.0
<i>Z</i>			-1.240		-3.056		-2.338
<i>P</i>			>0.05		<0.05		<0.05

表 3 血培养阳性患者分离病原菌分布及构成比

病原菌	菌株数(<i>n</i>)	构成比(%)
革兰阴性菌		
肺炎克雷伯菌	7	14.4
大肠埃希菌	5	10.4
洋葱伯克霍尔德菌	3	6.3
鲍曼不动杆菌	3	6.3
铜绿假单胞菌	2	4.2
阴沟肠杆菌	2	4.2
革兰阳性菌		
金黄色葡萄球菌	8	16.6
人葡萄球菌	5	10.4
屎肠球菌	5	10.4
溶血葡萄球菌	3	6.3
血液链球菌	2	4.2
头状葡萄球菌	1	2.1
沃氏葡萄球菌	1	2.1
表皮葡萄球菌	1	2.1
合计	48	100.0

2.3 血培养阳性患者分离病原菌分布 48 例血培养阳性患者中,检出革兰阴性菌 22 株,占 45.8%;革兰阳性菌 26 株,占 54.2%。血培养病原菌分布,见表 3。

2.4 革兰阳性菌与革兰阴性菌感染患者各指标检测结果比较 血培养阳性组中,检出革兰阳性菌者与革兰阴性菌者 WBC 计数和 CRP 水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$),而 PCT 水平比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 4。

2.5 各检测指标的 ROC 曲线分析 WBC、PCT 和 CRP 的 AUC 及其 95%CI 分别为 0.579(0.465,0.693)、0.746(0.649,0.843)和 0.624(0.512,0.736)。见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.6 WBC、PCT 和 CRP 的 Logistic 回归分析 采用二分类 Logistic 回归对 3 项指标预测血培养阳性的作用大小进行方程拟合,方程中的变量仅 PCT 对预测诊断具有统计学意义($P=0.013$)。三者联合预测的阳性率为 71.4%。3 项指标二分类 Logistic 回归分析结果,见表 5。

表 4 革兰阳性菌与革兰阴性菌感染患者各指标检测结果比较

组别	n	WBC(×10 ⁹ /L)		PCT(ng/mL)		CRP(mg/L)	
		中位数	测定值范围(最小值~最大值)	中位数	测定值范围(最小值~最大值)	中位数	测定值范围(最小值~最大值)
血培养阴性组	50	8.9	0.1~37.0	11.40	0.07~200.00	95.40	3.89~275.00
血培养阳性组	48	10.3	1.4~38.5	0.64	0.05~87.55	69.60	0.10~397.00
Z			-1.159		-2.422		-2.338
P			>0.05		<0.05		>0.05

表 5 3 项指标二分类 Logistic 回归分析						
项目	回归系数	Wald	P	OR	OR 95%CI	
					下限	上限
WBC	0.043	2.521	0.112	1.044	0.990	1.100
PCT	0.096	6.129	0.013	1.098	1.020	1.183
CRP	0.001	0.140	0.708	1.001	0.995	1.007
常量	-1.128	6.737	0.009	0.324	—	—

—:无数据。

3 讨 论

近年来,BSI 的发生率呈逐年上升趋势。国外相关文献报道,BSI 的发生率在 1986 年仅为 1.6%,在短短的 20 年之后便增加到 3.1%,病死率达 21%~48%^[6]。国内秦克秀等^[7]对某三甲医院连续 4 年血培养标本进行了分析,阳性患者从 2003 年的 115 例上升到 2006 年的 307 例。因此,早期诊断 BSI 具有十分重要的意义。血液培养虽然被认为是诊断 BSI 的“金标准”,但因其耗时且存在假阴性等缺点,已不能很好地做出快速诊断。本研究选取 WBC、PCT 和 CRP 3 项指标,并对三者在 BSI 早期诊断中的应用价值进行了评估。

WBC 作为传统的感染指标目前在细菌感染中仍作为常用指标^[8-9]。但是,本研究中血培养阳性组与血培养阴性组,以及血培养阳性组中革兰阳性菌与革兰阴性菌感染者间 WBC 计数比较差异均无统计学意义($P>0.05$),说明 WBC 在 BSI 早期诊断及区分革兰阳性菌与革兰阴性菌感染方面作用不大。同时,还发现 WBC 的 AUC 仅为 0.579,Logistic 回归显示无统计学意义($P=0.112$),进一步说明其在 BSI 早期诊断中无明显意义。这可能与影响 WBC 的因素较多有关,WBC 在全身感染时既可升高也可降低,因此 WBC 计数升高并不一定能准确反映病情的严重程度^[10]。

CRP 是肝脏合成的一种球蛋白,也是机体受损伤或发生各种急慢性炎症后的一种敏感反应蛋白^[11]。健康人血清中 CRP 水平非常低,一般不超过 8 mg/L,当身体发生感染或组织炎症时,CRP 的合成能在 4~6 h 内快速增长,36~50 h 达到高峰,而当炎症控制后其水平能迅速下降^[12]。因此,CRP 已成为一种重要的非特异性急性时相蛋白。尽管其在许多炎症反应过程中都会升高,但是由细菌感染所引起的 CRP 升高明显高于非感染性疾病^[13]。本研究结果显示,血培养阳性组患者 CRP 水平明显高于血培养阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$),而血培养阳性组中革兰阳性菌与革兰阴性菌感染者 CRP 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明 CRP 能早期诊断 BSI,而在区分革兰阳性菌与革兰阴性菌感染方面的作

用并不明显。CRP 的 AUC 为 0.624,在预测 BSI 阳性方面具有较低的准确性,而 Logistic 回归显示无统计学意义($P=0.708$)。结果表明,CRP 在 BSI 早期诊断方面具有一定的应用价值。

PCT 是降钙素(CT)的前肽物质,是一种糖蛋白。自 1993 年国外学者报道其可作为细菌感染的早期标志物以来,PCT 已成为一项新的重要的炎性指标,也是全身感染时一项特异性指标,广泛应用于感染性疾病的诊断、鉴别诊断及病情严重程度的判断,甚至可以指导临床抗菌药物的合理使用^[14-16]。本研究发现,PCT 在血培养阳性组与血培养阴性组间,以及血培养阳性组中革兰阳性菌与革兰阴性菌感染者间比较差异均有统计学意义($P<0.05$),说明 PCT 不仅能很好地预测血培养阳性结果,也能较好地地区分革兰阴性菌与革兰阳性菌感染。PCT 的 AUC 为 0.746,具有较好的特异性,能较准确地判断细菌感染;另外,Logistic 回归显示有统计学意义($P=0.013$),进一步说明其与细菌感染关系密切。

综上所述,三者在预测细菌感染方面均具有一定的作用,但是 PCT 较其他两项指标具有更好的特异性。而在区分革兰阳性菌与革兰阴性菌感染方面,仅有 PCT 能很好地进行鉴别。三者联合应用具有更好的诊断及鉴别诊断价值。

参考文献

[1] Marra AR, Camargo LFA, Pignatari ACC, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2 563 cases from a prospective nationwide surveillance study[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(5): 1866-1871.

[2] Pereira CAP, Marra AR, Camargo LF, et al. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian pediatric patients: microbiology, epidemiology, and clinical features [J]. PLoS One, 2013, 8(7): e68144.

[3] Lee H. Procalcitonin as a biomarker of infectious diseases[J]. Korean J Intern Med, 2013, 28(3): 285-291.

[4] Kim KE, Han JY. Evaluation of the clinical performance of an automated procalcitonin assay for the quantitative detection of bloodstream infection[J]. Korean J Lab Med, 2010, 30(2): 153-159.

[5] 王希涛, 王俊香, 谢一男. 降钙素原、C 反应蛋白和白细胞计数三者在血流感染中的应用[J]. 中国实验诊断学, 2014, 18(5): 799-800.

[6] Rodríguez-Créixems M, Alcalá L, Muñoz P, et al. Bloodstream infections: evolution and trends in the microbiology workload, incidence, and etiology, 1985—2006[J]. Medicine (Baltimore), 2008, 87(4): 234-249.

[7] 秦克秀, 叶丽军, 王中新. 血培养分离菌的种属分(下转第 599 页)

菌^[5-6]。MRSA 是多重耐药菌,耐药性的遗传决定子为 *mec*,长约 $(30\sim 50)\times 10^3$,位于细菌染色体上,由 *mecA*、*mecI*、*mecRI* 及 $(20\sim 40)\times 10^3$ 的 *mec* 相关 DNA 组成。*mecA* 为结构基因,编码产生 PBP2a 蛋白。PBP2a 含有 668 个氨基酸,相对分子质量为 78×10^3 ,该蛋白由 N-末端跨膜区、非青霉素结合区和转肽酶区 3 部分组成,其中转肽酶区内含 β -内酰胺类抗菌药物作用位点^[7-8],在细菌耐药中起主要作用。

目前,MRSA 感染的诊断和治疗策略主要以 PBP2a 为靶标^[9-10],PBP2a 蛋白的表达是前提。本研究应用 PCR 技术扩增 PBP2a 转肽酶区基因片段 $1\,026\times 10^3$,测序结果与基因文库登录的目的片段序列仅有两个碱基位点不一致,无移码突变,核酸同源率为 99.8%。在重组蛋白的表达中笔者做了大量的试验,使用不同表达载体,包括谷胱甘肽巯基转移酶(GST)表达载体的 PGEX-4T、HIS 表达载体的 pet-22b、pet-28a。在不同的 IPTG 诱导浓度(0.4、0.7、1.0 mmol/L),不同的诱导时间(2、4、6、8、12 h),不同的温度(16、20、25、30、37 ℃)下检测,均为包涵体表达的蛋白,证实在浓度 0.7 mmol/L 的 IPTG 37 ℃ 诱导 6 h,蛋白的表达量最大,诱导其在大肠杆菌中高效表达。随后应用 Ni 亲和层析对重组蛋白进行了纯化,笔者优化了溶解包涵体、结合、漂洗和洗脱条件,得到了高纯度蛋白。

本实验所表达的 PBP2a 蛋白经 SDS-PAGE 电泳和 WB 鉴定,在相对分子质量 38×10^3 处均可见一新生蛋白条带,与 MRSA-PBP2a 转肽酶区的相对分子质量相吻合,说明已成功诱导了 PBP2a 转肽酶区蛋白,对 PBP2a 的分子生物学特性做了进一步探索,为 MRSA 感染的临床诊断和防治方法的研究提供了理论基础,将极大地推进 MRSA 感染难题的攻克。

参考文献

[1] 张连芝,王欣,周密,等.医院耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染现状的分析[J].中国实验诊断学,2010,14(6):1365-1366.

(上接第 576 页)

布及药物敏感性变迁[J].安徽医药,2008,12(3):237-239.

[8] 黄晓霞,汤进,柏莹. PCT、CRP、WBC、Neu%在鉴别诊断儿童细菌感染及 G⁺与 G⁻菌感染中的应用评价[J].国际检验医学杂志,2013,34(14):1850-1852.

[9] 杨德平,狄勇, WBC、CRP 联合检测对早期细菌感染性疾病的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2014,35(11):1485-1486.

[10] 刘慧琳,刘桂花,马青变.降钙素原对急诊脓毒症患者早期诊断的价值[J].中国危重病急救医学,2012,24(5):298-301.

[11] Hashimoto H, Kitagawa K, Hougaku H, et al. Relationship between C-reactive protein and progression of early carotid atherosclerosis in hypertensive subjects[J]. Stroke, 2004, 35(7): 1625-1630.

[12] McWilliam S, Riordan A. How to use C-reactive protein[J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed, 2010, 95(2): 55-58.

[13] 龚国富,段秀群,程丰,等. PCT、CRP 检测对社区获得性肺炎的诊断价值分析[J].国际检验医学杂志,2013,34(1):105-106.

[2] 李笃军,苏维奇,朱元祺.胶东地区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药性的研究[J].中国实验诊断学,2012,16(2):290-292.

[3] Monecke S, Coombs G, Shore AC, et al. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus* [J]. PLoS One, 2011, 6(4): e17936.

[4] 徐霞,谢闰娥,杜晶春.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 PBP2a 转肽酶区的克隆表达及纯化鉴定[J].生物技术通讯,2006,17(4):543-545.

[5] 潘宏升,田素飞,年华,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子流行病学研究[J].微生物学杂志,2011,31(1):34-38.

[6] Stefanis S, Chung DR, Lindsay JA, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): global epidemiology and harmonization of typing methods[J]. Int J Antimicrob Agents, 2012, 39(4): 273-282.

[7] Olarte NM, Valderrama IA, Reyes KR, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a Colombian hospital intensive care unit: phenotypic and molecular characterization[J]. Biomedica, 2010, 30(3): 353.

[8] Yamada K, Yanagihara K, Hara Y, et al. Clinical features of bacteremia caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital[J]. Tohoku J Exp Med, 2011, 224(1): 61.

[9] Fitzgerald-Hughes D, Devocelle M, Humphreys H. Beyond conventional antibiotics for the future treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: two novel alternatives[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2012, 65(3): 399-412.

[10] 于一云,王红,张淑文,等.复方清热颗粒剂对 MRSA PBP2a 表达影响的实验研究[J].中国中医急症,2009,18(9):1483-1486.

(收稿日期:2015-10-22)



[14] Carrol ED, Mankhambo LA, Jeffers G, et al. The diagnostic and prognostic accuracy of five markers of serious bacterial infection in Malawian children with signs of severe infection [J]. PLoS One, 2009, 4(8): e6621.

[15] Tang J, Long W, Yan L, et al. Procalcitonin guided antibiotic therapy of acute exacerbations of asthma: a randomized controlled trial [J]. BMC Infect Dis, 2013, 13: 596.

[16] Loonen AJ, de Jager CP, Tosserams JA, et al. Biomarkers and molecular analysis to improve bloodstream infection diagnostics in an emergency care unit[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e87315.

(收稿日期:2015-10-10)

