

血浆内毒素检测在艾滋病合并革兰阴性菌血症中的评价*

磨立达, 罗晓璐[△], 苏汉珍, 梁超娟

(南宁市第四人民医院检验科/广西医科大学附属南宁市传染病医院/广西艾滋病临床治疗中心(南宁), 南宁 530023)

摘要:目的 采用培养法对血浆内毒素检测在艾滋病合并革兰阴性菌血症中的价值进行评价。方法 选取艾滋病患者 3 028 例, 采血行血需氧培养和内毒素检测, 以培养出革兰阴性菌为标准, 计算内毒素检测的诊断指标。结果 在内毒素阳性组, 25 例培养出革兰阴性菌, 387 例未培养出革兰阴性菌, 内毒素含量分别为 (0.107 ± 0.050) 、 (0.166 ± 0.293) EU/mL ($t=3.300$, $P=0.001$); 2 955 例未培养出革兰阴性菌, 73 例培养出革兰阴性菌, 内毒素含量分别为 (0.044 ± 0.116) 、 (0.056 ± 0.048) EU/mL ($t=1.712$, $P=0.090$); 以血培养培养出革兰阴性菌为标准, 内毒素检测的敏感度、特异度分别为 34.25%、86.90%。结论 血浆内毒素检测在艾滋病合并革兰阴性菌血症中不是一项理想的诊断指标。

关键词: 艾滋病; 培养法; 内毒素; 革兰阴性菌; 菌血症

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.17.018 中图法分类号: R446.11

文章编号: 1673-4130(2018)17-2140-04 文献标识码: A

Evaluation of plasma endotoxin test in AIDS patients with gram-negative bacteremia*

MO Lida, LUO Xiaolu[△], SU Hanzhen, LIANG Chaojuan

(Clinical Laboratory, the Fourth People's Hospital of Nanning (the Nanning Infectious Disease Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi AIDS Clinical Treatment center (Nanning)), Nanning, Guangxi 530023, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the value of plasma endotoxin test in AIDS patients with gram-negative bacteremia by culture method. **Methods** Blood samples from 3 028 AIDS patients were taken for aerobic culture and endotoxin test. Gram-negative bacteria were used as the standard to calculate the diagnostic index of endotoxin test. **Results** In the endotoxin positive group, 25 cases cultured gram-negative bacteria and 387 cases did not cultured gram-negative bacteria. The endotoxin contents were (0.107 ± 0.050) and (0.166 ± 0.293) EU/mL ($t=3.300$, $P=0.001$). 2 955 cases of Gram-negative bacteria were not cultured, and 73 cases of Gram-negative bacteria were cultured. The endotoxin contents were (0.044 ± 0.116) and (0.056 ± 0.048) EU/mL ($t=1.712$, $P=0.090$). The sensitivity and specificity of endotoxin test were 34.25% and 86.90% respectively based on gram-negative bacteria cultured in blood. **Conclusion** Plasma endotoxin test is not an ideal diagnostic indicator for AIDS complicated with gram-negative bacteremia.

Key words: AIDS; culture method; endotoxin; gram-negative bacteria; bacteremia

由于细胞免疫功能低下而极易并发全身性感染, 除了常见的结核分枝杆菌和马尔尼菲蓝状菌呈全身播散性感染外, 还有革兰阴性菌(GNB)引起的菌血症, 对艾滋病患者的危害性极大^[1]。但症状不典型、中性粒细胞计数指标特异性不强、C 反应蛋白指标敏感度不高、直接涂片镜检检出率极低及培养法时间长等不利因素影响其诊断的及时性和准确性^[2]。随着

临床实验诊断水平不断提高, 血浆内毒素检测为 GNB 菌血症的早期诊断提供了可能^[3-4]。本文采用培养法对血浆内毒素检测在艾滋病患者合并 GNB 菌血症中的应用价值进行评价, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 研究对象 选择 2015 年 7 月至 2017 年 6 月

* 基金项目: 广西壮族自治区卫生和计划生育委员会科研课题(Z2016067); 南宁市科学研究与技术开发项目(20163113)。

作者简介: 磨立达, 男, 副主任技师, 主要从事病原微生物实验室检测和分子生物学的实验研究。 [△] 通信作者, E-mail: luoxiaolu2007@126.com。

本文引用格式: 磨立达, 罗晓璐, 苏汉珍, 等. 血浆内毒素检测在艾滋病合并革兰阴性菌血症中的评价[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(17): 2140-2142.

在本院住院的艾滋病患者 3 028 例,入选标准符合 2012 年国际严重脓毒症与感染性休克管理指南,具有以下体征之一:①体温>38℃或<36℃;②心率>90 次/分;③呼吸频率>20 次/分或 PCO₂<32 mm Hg (1 mm Hg=0.133kPa);④白细胞计数>12×10⁹/L 或<4×10⁹/L。其中男 2 320 例,女 708 例,年龄 14 个月至 92 岁,平均(50.01±15.51)岁。对于 3 例 14~18 个月的婴幼儿均经本院检测 HIV-1RNA,病毒载量>10 000 copy/mL,并通过两次检测核实;而 3 025 例大于 18 个月的患者则均经本院及周边市县医院检查初筛阳性并送本院艾滋病确证实验室确证。

1.1.2 试剂及仪器 血琼脂平板、麦康凯琼脂平板、巧克力血琼脂平板、SS 琼脂平板、血培养瓶(郑州安图生物工程股份有限公司),沙门氏菌血清分型、志贺菌血清分型(宁波天润生物药业有限公司),克氏双糖铁琼脂、营养肉汤琼脂均(杭州天和微生物试剂有限公司),天地人 TDR-1002 细菌鉴定药敏分析仪、细菌鉴定药敏检测试剂盒(长沙天地人生物科技有限公司),梅里埃 BacT ALERT 3D120 全自动血培养仪(法国梅里埃公司),LKM 动态试管检测仪、智能恒温检测仪及配套的血浆内毒素检测试剂(湛江安度斯生物有限公司的产品)。所有试剂均在有效期内使用,每批次产品均严格按照常规做室内质控。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 入组对象均接受双侧采血进行需氧培养,同时抽取 2 mL 静脉血置于肝素锂抗凝管中进行血浆内毒素检测。

1.2.2 血浆内毒素检测 取患者血清 0.10 mL 加入含 0.90 mL 样品稀释液的瓶中,混匀后置 75℃、10 min,取出冷却至室温;取置于 2~8℃的内毒素试剂复溶液 1 支,吸取 0.25 mL 加入内毒素试剂瓶中,轻轻摇匀,先取已制备好的样品供试溶液 0.10 mL 加入反应试管中,然后加入 0.05 mL 试剂溶液,各个样品

供试溶液平行两管;再将各试管逐一插到 LKM 动态试管仪中,37℃反应 75 min,反应完毕检测软件自动计算。大于 0.053 EU/mL 为阳性,可检测的线性范围为 0.010~2.500 EU/mL。

1.2.3 细菌培养及鉴定 血培养阳性样本分别转种血琼脂平板、麦康凯琼脂平板、巧克力血琼脂平板、SS 琼脂平板,之后进行细菌鉴定和药敏分析;当怀疑为沙门菌或志贺菌时,用沙门或志贺菌分型血清进行分型。

1.3 统计学处理 应用 SPSS22.0 软件统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;组间比较采用 *t* 检验,计数资料组间比较采用 χ^2 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 内毒素检测与血培养结果 以内毒素含量 0.053 EU/mL 为临界值阳性进行分组时,在内毒素阳性组,25 例(6.07%)血培养出 GNB(以下称血培养阳性)患者,387 例(93.93%)未培养出 GNB(以下称血培养阴性)患者,内毒素含量分别为(0.107±0.050)、(0.166±0.293) EU/mL (*t*=3.300, *P*=0.001);在内毒素阴性组,48 例(1.83%)血培养阳性患者,2 568 例(98.17%)血培养阴性患者,内毒素含量分别为(0.027±0.011)、(0.026±0.011) EU/mL (*t*=0.925, *P*=0.359);内毒素阳性组的血培养阳性率较内毒素阴性组高($\chi^2=27.101, P<0.001$)。见表 1。以血培养结果进行分组时,血培养阴性组、血培养阳性组、血培养出沙门菌组、血培养出铜绿假单胞菌组、血培养出大肠埃希菌组、血培养出其他 GNB 组内毒素含量分别为(0.044±0.116)、(0.056±0.048)、(0.051±0.044)、(0.048±0.046)、(0.079±0.069)、(0.041±0.020) EU/mL,血培养阴性组与其他各组比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

表 1 以内毒素含量 0.053EU/mL 为临界值阳性分组时各组内毒素与血培养结果

血培养	构成比[n(%)]	内毒素阳性组		内毒素阴性组	
		构成比[n(%)]	含量(EU/mL, $\bar{x} \pm s$)	构成比[n(%)]	含量(EU/mL, $\bar{x} \pm s$)
血培养阳性	73(2.41)	25(6.07)	0.107±0.050	48(1.83)	0.027±0.011
血培养阴性	2 955(97.59)	387(93.93)	0.166±0.293	2 568(98.17)	0.026±0.011
<i>t</i>	—	—	3.300	—	0.925
<i>P</i>	—	—	0.001	—	0.359

注:—表示无数据

2.2 血浆内毒素检测的诊断指标 以血培养阳性结果为标准,内毒素检测真阳性例数(A)为 25 例,假阳性例数(B)为 387 例,假阴性例数(C)为 48 例,真阴性

例数(D)为 2 568 例,由此可计算出内毒素检测的敏感度:A/(A+C)×100%=34.25%;特异度:D/(B+D)×100%=86.90%;阳性预测值:A/(A+B)×

100% = 6.07%; 阴性预测值: $D / (C + D) \times 100\% = 98.17\%$ 。

表 2 以血培养结果分组时各组内毒素含量

组别	n	内毒素含量 (EU/mL, $\bar{x} \pm s$)	t	P
血培养阴性组	2 955	0.044 ± 0.116	—	—
血培养阳性组	73	0.056 ± 0.048	1.712	0.090
血培养出沙门菌组	28	0.051 ± 0.044	0.848	0.403
血培养出铜绿假单胞菌组	17	0.048 ± 0.046	0.331	0.744
血培养出大肠埃希菌组	15	0.079 ± 0.069	1.956	0.070
血培养出其他 GNB 组	13	0.041 ± 0.020	0.453	0.657

注: — 表示无数据

3 讨 论

对于艾滋病患者合并 GNB 血症, 最常见的需氧致病菌为沙门菌, 其他较常见的为大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等^[5], 多因免疫系统受严重破坏, 通过肠道、尿道、呼吸道和胆道引起感染, 进而入血繁殖。而内毒素的主要毒性成分是 GNB 细胞壁结构中的脂多糖, 当菌体死亡, 胞壁溶解后释放入血。不少研究认为, 内毒素检测对 GNB 菌血症的快速诊断的价值较大^[6]。

本研究根据浊度变化检测内毒素含量, 仅需约 2 h 即可得出试验结果, 大大缩短了诊断时间。虽然内毒素阳性组的血培养阳性率比内毒素阴性组高, 但 73 例血培养阳性患者的内毒素含量与 2 955 例血培养阴性患者比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 且经调查的 73 例患者中, 不论合并沙门菌血症还是合并其他 GNB 血症, 其他各组的内毒素含量较血培养阴性患者仍无显著升高。提示血浆内毒素检测在诊断艾滋病患者合并 GNB 菌血症的临床价值甚微。可能跟出现 GNB 菌血症后内毒素未及时释放入血有关, 有研究表明, 使用抗菌药物后, 不能在短短几个小时从伤寒菌血症及脑膜炎球菌血症患者中检测到内毒素, 从而使血培养阳性组内毒素没有显著升高^[7]。也可能不出现 GNB 血症的情况下, 艾滋病患者局部病灶如细支气管、皮肤深层、骨关节内含有革兰阴性杆菌未入血而释放出少量内毒素至血液^[8], 从而使血培养阴性组内毒素轻度升高。但考虑更多的是部分艾滋病患者容易并发内毒素血症, 尤其是晚期艾滋病患者。艾滋病患者因肠道局部免疫功能下降, 各种寄生原虫、胞内鸟分枝杆菌复合群、巨细胞病毒感染等病原体侵犯胃肠道引起呕吐、慢性腹泻^[9], 易引起水电解质紊乱、清蛋白丢失, 造成营养不良, 肠黏膜分泌减少, 分泌型 IgA 产生不足, 肠腔内胆盐缺乏, 加上长期应用广谱抗菌药物、免疫抑制剂, 最终导致肠道菌群失调, 促进有害 GNB 大量生长, β -内酰胺类和喹诺酮类等广谱抗菌药物又能诱导此类细菌释放更多的内毒素^[10], 使肠腔内积聚的内毒素对肠壁产生压力, 有

利于内毒素外溢; 同时, 巨细胞病毒、丙型肝炎病毒等病原体感染可引起艾滋病患者肝脏损害^[11], 使肠黏膜营养障碍、上皮细胞萎缩、脱落及溃疡形成, 肠黏膜屏障受损, 此时肠道中内毒素可穿过上皮屏障进入肠系膜淋巴结, 进而入血液。结果还显示, 在内毒素阳性组, 25 例血培养阳性患者的内毒素含量显著低于 387 例血培养阴性患者。可能因为 387 例患者中多数为不间断地受机会性感染, 长期应用广谱抗菌药物、免疫抑制剂等药物, 并发内毒素血症率较高有关, 而 25 例患者中多数为新发 GNB 血症, 内毒素未及时释放入血。但有待进一步证实。当然, 不排除艾滋病患者治疗过程中长期使用清蛋白、抗菌药物等药物后引起内毒素假性升高, 各种相关的实验反应条件、反应管、吸头、塑胶手套、操作环境、标准品等也可干扰试验的准确性^[12-13]。

本研究结果还显示, 以培养出革兰阴性菌为标准, 内毒素检测的敏感度仅为 34.25%, 阳性预测值仅为 6.07%, 与跟 GNB 检出率低有密切关系。其实艾滋病患者因免疫力极度低下, 合并革兰阴性菌种类繁多, 包括罕见的空肠弯曲菌^[14], 但具有生理生化特征多样性、严重损伤、包被在生物膜内的感染病原菌很难在实验室现有的条件(营养、温度、酸碱度、气体等)全部培养出。其次, 目前本院未开展厌氧菌培养, 而有报道类杆菌、梭杆菌等是常见的艾滋病患者合并菌血症菌种^[15]。再次, 艾滋病患者免疫力低下, 时常有机会性感染的风险, 长期不间断地应用抗菌药物维持抗感染治疗, 当并发全身性感染时, 本院一般还采取长疗程降阶梯式抗菌药治疗。因长时间、大剂量、广谱性用药, 即使停抗菌药物 3 天后抽血培养, GNB 检出率依然很低。

4 结 论

采用培养法对血浆内毒素检测在艾滋病患者合并 GNB 血症中的价值进行评价, 发现其不是一项理想的诊断指标。因此, 通过改善微生物室培养条件、增强医务人员服务意识, 提高血液 GNB 检出率及内毒素检测抗干扰技术, 旨在提高这两种方法学在诊断艾滋病合并 GNB 菌血症的总符合率。同时, 面对其地处医疗落后的南疆广西地区艾滋病患者合并 GNB 菌血症发病率高、致死率高, 展望更理想的诊断指标。

参考文献

[1] 许世申, 陈国伟. 艾滋病合并败血症 52 例临床特点和病原菌分析[J]. 北方药学, 2015, 12(5): 165-166.
 [2] 童学农. 血培养、血常规及 C-反应蛋白检测在菌血症诊断中的价值[J]. 中国实用医刊, 2013, 40(7): 121-122.
 [3] 蔡志军, 韦群, 周鹰豪, 等. 血浆内毒素检测在快速诊断革兰阴性菌引起全身性感染的应用[J]. (下转第 2146 页)

加强抗菌药物的合理化使用、采取有效的感控措施，并定期进行 MRSA 耐药性监测，以减缓抗菌药物对金黄色葡萄球菌的选择性压力，从而减缓 MRSA 的增加，控制 MRSA 的广泛传播^[16-17]。

参考文献

[1] 董鹏霞,托娅.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染研究进展[J].检验医学与临床,2015,12(1):116-118.

[2] 陈斌泽,李泽慧,冯强生,等.耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药机制与分子分型研究进展[J].检验医学与临床,2016,13(19):2824-2827.

[3] 于俊媛,张雯庆,祁琳,等.甲氧西林耐药金黄色葡萄球菌 SCCmec 耐药元件及其菌株间水平转移机制[J].中国感染与化疗杂志,2015,15(2):180-183.

[4] 张欣,喻华,黄湘宁.2011—2015 年四川省金黄色葡萄球菌对万古霉素及利奈唑胺耐药性变迁[J].中国感染控制杂志,2017,17(5):481-491.

[5] 胡付品,郭燕,朱德妹,等.2016 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2017,16(5):481-491.

[6] 胡付品,朱德妹,汪夏,等.2015 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J].中国感染与化疗杂志,2016,16(6):685-694.

[7] 汪永强,李传达,袁平宗,等.医护人员 MRSA 定值与 mecA 基因携带的危险因素分析[J].中国卫生检验杂志,2016,26(12):1755-1756.

[8] 范珊红,李颖,戈伟.ICU 患者 MRSA 定植与感染的危险因素研究[J].中国感染控制杂志,2015,14(3):174-177.

[9] 郑向真.2012—2013 年医院感染病原菌检测及其耐药分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(4):544-545.

[10] 李奇,陆春强,陈湘,等.2013—2015 年老年患者 MRSA 菌株分布和耐药性趋势分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(24):5542-5544.

[11] 王广洲,韩东升,汤惠,等.2011—2014 年某院 CR-AB 及 MRSA 菌株的临床分布及耐药分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(11):1525-1527.

[12] 陈涛,刘映,何英,等.侵入性操作对重症监护病房患者医院感染的影响[J].中国全科医学,2010,13(32):3686-3687.

[13] SONG W C,ZHANG S S,GONG Y H. Distribution and drug resistance profile of methicillin-resistant Staphylococcus aureus after orthopaedic surgery[J]. Pak J Pharm Sci,2015,28(3):1151-1154.

[14] 李少英,邹建话,吴华聪,等.社区获得性 MRSA 所致哺乳期乳腺脓肿耐药性分析[J].北方药学,2016,13(1):155-156.

[15] 李瑞香,郭巨江,廖洪叶,等.哺乳期乳腺脓肿病原菌分布及耐药性研究[J].临床合理用药,2012,5(3):11-12.

[16] 李兴德,宋沧桑,杨艳.本院 2009—2011 年铜绿假单胞菌与耐甲氧西林金黄色葡萄球菌对常用抗菌药物的耐药性变迁情况研究[J].中国药房,2013,24(10):894-898.

[17] 纪风兵,李玉北,胡章勇,等.成都地区 2013—2014 年耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的临床分布及耐药性监测[J].西部医学,2015,27(4):607-610.

(收稿日期:2018-01-16 修回日期:2018-04-22)

(上接第 2142 页)

河北医学,2015,21(4):690-691.

[4] 李凡旺,鲍明征,徐刚,等.内毒素、降钙素原及白介素-27 在细菌性脓毒症患者诊断中的应用价值[J].疑难病杂志,2016,15(11):1155-1158.

[5] 易璨璐,苏丽君,邹海蛟,等.长沙地区 AIDS 合并菌血症患者病原菌分布及耐药性[J].中国感染控制杂志,2012,11(5):341-344.

[6] 王黎一,郭璐,张弛,等.菌血症患者血浆内毒素测定及病原菌分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(24):5554-5556.

[7] 黄志俭,雷利华,孙斐子,等.血浆内毒素在革兰阴性菌脓毒血症诊断及预后价值的研究[J/CD].中华临床医师杂志(电子版),2016,10(4):217-218.

[8] 王凤英,李良业,乔若飞,等.肠道净化对重症肺炎患者 IL-8 及内毒素的影响[J].江苏中医药,2012,44(1):18-19.

[9] 谢荣华,陈高翔,欧阳珊珊.衡阳地区 HIV/AIDS 患者合并肠道寄生虫感染现状分析[J].中国免疫学杂志,2015,31(5):695-697.

[10] 史利克,王悦,王世博,等.不同抗菌药物诱导革兰阴性菌释放内毒素的体外试验研究[J].中华医院感染学杂志,2015,25(21):4805-4807.

[11] 杨小霞,高世成.艾滋病患者合并巨细胞病毒感染的临床特点及危险因素分析[J].中华临床感染病杂志,2017,10(1):26-30.

[12] 史利克,王黎一,郭璐,等.124 例感染患者血浆内毒素检测结果分析[J].中华医院感染学杂志,2016,26(18):4125-4127.

[13] 两种试验联合检测败血症患者的诊断价值[J].国际检验医学杂志,2017,38(13):1833-1834.

[14] 华文浩,王慧珠,赵辉,等.HIV/AIDS 相关性慢性腹泻患者感染空肠弯曲菌的临床分析[J].中国全科医学,2011,14(20):2273-2274.

[15] 周玉玲,王玉光,李坪,等.311 例艾滋病相关慢性腹泻的临床研究[J/CD].中华实验和临床感染病杂志(电子版),2012,6(3):191-194.

(收稿日期:2017-12-14 修回日期:2018-02-22)