

革兰氏阴性细菌感染患者血清内毒素检测临床探讨*

袁平宗, 汤雪彪, 王小龙, 李传达 (内江市第二人民医院检验科, 四川内江 641100)

摘要:目的 探讨细菌内毒素(ET)检测在革兰氏阴性细菌感染性疾病患者中的临床应用。方法 对200例送细菌培养检测的患者,同时抽取血标本,采用试管试剂动态浊度法对其行ET水平检测。结果 送检标本中有112例ET水平 >0.030 EU/ml;39例患者标本培养检出细菌,革兰氏阴性菌(G^-)24例,ET检测结果 0.264 ± 0.109 EU/ml,均 >0.115 EU/ml;革兰氏阳性菌(G^+)15例,ET结果 0.023 ± 0.025 EU/ml,两组比较,差异有统计学意义($t=28.23$, $P<0.05$)。结论 血液ET升高与 G^- 菌感染有相关性,患者先行血ET检测有利于对患者 G^- 菌感染早期诊断和治疗提供理论依据。

关键词:细菌内毒素;革兰氏阴性菌;细菌培养;感染性疾病

中图分类号:R378;R446.5 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)06-121-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.06.035

Detection of Serum Endotoxin in Patients with Gram Negative Bacterial Infection

YUAN Ping-zong, TANG Xue-biao, WANG Xiao-long, LI Chuan-da

(Department of Clinical Laboratory,
the Second People's Hospital of Neijiang, Sichuan Neijiang 641100, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical application of bacterial endotoxin (ET) in the patients with gram-negative bacterial infections. **Methods** 200 cases sent for bacterial culture for the detection of patients. At the same time, blood samples were taken by kinetic turbidimetric technique with limulus reagent on the line ET levels were measured. **Results** Specimens in 112 cases of ET level greater than 0.030 EU/ml. Bacteria was detected in 39 cases of patients were culture and gram negative bacteria (G^-) in 24 cases, ET test results 0.264 ± 0.109 EU/ml, were greater than 0.115 EU/ml; gram positive bacteria (G^+) in 15 cases, ET results 0.023 ± 0.025 EU/ml, two group comparison, the difference had statistical significance ($t=28.23$, $P<0.05$). **Conclusion** Blood ET increase is correlated with G^- bacteria infection, first with the detection of ET have to on patients with G^- bacteria infection in early diagnosis and treatment and provide a theoretical basis.

Keywords: bacterial endotoxin; gram negative bacteria; bacterial culture; infectious disease

革兰氏阴性细菌(G^-)是临床上常见的致病菌,每年的院内感染80%以上属 G^- 感染,国内外文献报道^[1],细菌内毒素(endotoxin ET)是导致患者死亡的重要原因。ET是 G^- 菌细胞壁的主要成分,其化学成分为脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),由类脂A、核心寡聚糖O及多肽侧链组成^[2]。ET能够直接作用于人体,激活组织内的炎症细胞和炎症因子,导致机体发热并产生全身性炎症反应综合征(SIRS),继而引起弥散性血管内凝血(DIC)、休克、多脏器功能衰竭等严重的病理生理症状,危及生命^[3],病原菌培养检测耗时长,且操作繁琐,灵敏度也较低,无法用于易感患者的筛查^[4],为此笔者根据革兰氏阴性菌的特点,采用内毒素动态定量比浊检测的方法对患者进行 G^- 菌感染的筛查,探讨内毒素检测在 G^- 菌感染诊断中

的应用价值,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2014年1月~6月,内江市第二人民医院200例住院发热患者,其中男性131例,女性69例,年龄35~89岁,平均年龄 61.5 ± 15.3 岁,分别进行内毒素检测和细菌培养。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器:细菌内毒素分析仪(珠海迪耳生物工程有限公司提供),BD血培养仪,37℃细菌培养箱。

1.2.2 试剂:血液细菌内毒素检测试剂(珠海迪耳生物工程有限公司提供);血培养瓶(BD公司提供);细菌培养皿(安图公司提供);细菌鉴定板条(法国梅里埃提供)。

1.2.3 质控品:内毒素质控标准参考值0.500

* 基金项目:国际医学研究基金(亚洲区)临床微生物学专项基金项目(项目编号:CNSC-J2011-A3300)。

作者简介:袁平宗(1967-),男,本科,副主任技师,主要从事临床生化、实验室管理,E-mail:YPZ123@126.com。

通讯作者:李传达,E-mail:LLCCDD@126.com。

EU/ml,质控结果为0.468 EU/ml。

1.3 方法

1.3.1 内毒素检测:采集早晨空腹静脉血2 ml,按内毒素检测试剂盒说明书的要求处理标本后采用内毒素检测仪进行内毒素水平检测,操作严格按照仪器说明书进行。

1.3.2 血培养:实验室收到血标本后,将血培养瓶置全自动血培养仪中。当标本有细菌生长时,仪器发出阳性报警,抽取瓶内培养液转种血琼脂平板及麦康凯平板,置35℃二氧化碳培养箱18~24 h,同时作直接涂片革兰染色、镜检,之后挑取1~3个菌落至2.0 ml无菌生理盐水中,校正浊度至0.5麦氏比浊度,然后接种至鉴定药敏板,上机进行细菌鉴定。

1.3.3 平板培养:细菌培养标本采用无菌容器收集,将送检标本接种血平板,37℃培养18~24 h,将可疑菌落接种至血平板进行纯培养,同时做直接涂片革兰染色、镜检,之后挑取1~3个菌落至2.0 ml无菌生理盐水中,校正浊度至0.5麦氏比浊度,然后接种至鉴定药敏板,上机进行细菌鉴定。

1.4 ET结果判读 0~0.030 EU/ml,无明显内毒素血症;0.030~0.100 EU/ml,临床观察期;0.100~1.000 EU/ml,内毒素血症;>1.000 EU/ml,重度内毒素血症。

1.5 统计学分析 采用SPSS 18.0软件,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 200例标本内毒素和细菌培养结果比较 送检的200份标本中,ET ≥ 0.030 EU/ml共140例(占70.0%),细菌培养阳性42例(占18.7%),其中G⁻菌24例(占10.7%),G⁺菌15例(占6.7%);在24例G⁻菌感染患者内毒素检测结果均>0.115 EU/ml,ET水平明显升高,15例G⁺菌感染患者内毒素检测结果0.008~0.068 EU/ml,只有2例>0.030 EU/ml,结果见表1。

表1 200例内毒素和细菌培养结果比较(EU/ml)

培养检测结果	n	内毒素($\bar{x} \pm s$)	内毒素 ≥ 0.030 EU/ml例数
培养阴性	158	0.026 \pm 0.021	112
革兰阴性菌	24	0.264 \pm 0.109*	24
革兰阳性菌	15	0.023 \pm 0.025	2
真菌	3	0.046 \pm 0.016	2
合计	200	0.049 \pm 0.032	140

注:*革兰阴性菌组与革兰阳性菌组比较,差异有统计学意义 $t=28.23, P < 0.05$ 。

2.2 患者随访结果分析 培养确诊革兰阴性菌感染患者24例,经抗菌药物治疗1周后,内毒素定量检测结果显示,21例患者内毒素水平:0.023~0.068 EU/ml,与治疗前检测结果比较差异有统计学意义($t=8.13, P < 0.05$)。

3 讨论 临床上革兰氏阴性菌引起的败血症常常并发内毒素血症、休克肺、DIC、心脏抑制及口腔疾病等,死亡率为20%~30%^[4]。有研究^[5]表明内毒素是一系列连锁反应及全身炎症反应的重要触发剂、介导革兰氏阴性菌脓毒症的重要启动因子。通过调节蛋白或结合受体诱导宿主细胞因子的合成和释放,从而激发机体一系列病理、生理改变,危害相当大^[6]。内毒素是临床医生诊断和监测病人革兰氏阴性菌感染的重要参考指标^[7,8]。

本研究对200份细菌培养检测结果与内毒素水平检测结果进行了比较,结果显示:G⁻菌感染患者血液内毒素水平显著高于革兰氏阳性菌、真菌感染患者;内毒素定量检测结果与培养检测结果的一致性较好。24例G⁻菌感染患者经过1周抗生素治疗后,21例G⁻菌感染患者的ET水平较治疗前显著下降,且下降幅度与患者的临床症状缓解程度相一致。因此,ET水平检测用于G⁻菌感染患者的疗效评价有一定的价值^[9]。研究还发现,200份标本中,115份标本培养结果为阴性,而内毒素为阳性,一方面是培养为假阴性:感染的细菌难以培养;感染的细菌量不够;未能正确掌握采样时机和频率;培养基质量和培养环境不符合要求;由于患者在抽血培养前已使用大量广谱抗生素,血液中细菌已经变异或者死亡;内毒素血症 \neq 细菌感染(肝病或肠源性内毒素也可引起内毒素增高)^[10];另一方面内毒素为假阳性:操作环境及操作过程中污染;人血红蛋白、球蛋白、抗凝血酶Ⅲ;某些抗生素如 β -酰胺内酯类、氨基糖苷类和喹诺酮类等患者均可导致内毒素假阳性结果,在实际工作中应注意鉴别。

测定内毒素可以作为细菌培养的重要补充,弥补血培养(G⁻菌)阳性率低的缺陷;内毒素水平检测具有检测速度更快、操作更简便的优势,一般标本送检数小时后即可获得检测结果,指导临床对细菌感染病人尽快合理使用抗生素提供理论依据。

参考文献:

- [1] Nahid AM, Sugii S. Binding of porcine ficolin- α to lipopolysaccharides from Gram-negative bacteria and lipoteichoic acids from Gram-positive bacteria[J]. Dev Comp Immunol, 2006, 30(3): 335-343.
- [2] 崔艳, 汪明, 乔斌, 等. 内毒素检测在上、下尿路革兰氏阴性杆菌感染中的诊断价值[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(6): 59-62.
- Cui Y, Wang M, Qiao B, et al. Value of quantitative

- detection of urinary endotoxin for the diagnosis of gram-negative bacteria infection in urinary system [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29 (6): 59-62.
- [3] 王树花, 张 芳. 动态浊度法测定尿液内毒素含量可快速诊断 G⁻ 菌泌尿系统感染 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2010, 31(14): 2277-2278.
- Wang SH, Zhang F. Dynamic turbidity method of determination of bacterial endotoxin in the urine can be rapid diagnostic G⁻ bacteria urinary tract infections [J]. Journal of Qiqihar Medical College, 2010, 31 (14): 2277-2278.
- [4] 王 坤. 细菌内毒素检测在 ICU 病区感染性疾病患者中的应用价值 [J]. 中国当代医药, 2014, 21(2): 125-126.
- Wang K. The application value of detection of bacterial endotoxin in patients with infectious disease in ICU ward [J]. China Modern Medicine, 2014, 21(2): 125-126.
- [5] 赵文杰, 周洪兴, 曹 琦, 等. 血浆 D-二聚体与内毒素水平判断非小细胞肺癌患者预后的意义 [J]. 临床检验杂志, 2012, 30(5): 340-342.
- Zhao WJ, Zhou HX, Cao Q, et al. The plasma D-dimer and endotoxin level to judge the prognosis of patients with non-small cell lung cancer [J]. Journal of Laboratory Medical and Clinical, 2012, 30(5): 340-342.
- [6] 郁 峰. 血清降钙素原和内毒素检测在小儿 SIRS 的意义 [J]. 中国现代医生, 2013, 51(5): 62-64.
- Yu F. Application of measuring the serum levels of procalcitonin and endotoxin in children with systemic inflammatory response syndrome [J]. Chinese Modern Doctors, 2013, 51(5): 62-64.
- [7] 周洪兴, 赵文杰, 张 平, 等. 尿液内毒素定量检测对泌尿系统革兰阴性菌感染的诊断价值研究 [J]. 检验医学与临床, 2014, 11(4): 441-442.
- Zhou HX, Zhao WJ, Zhang P, et al. Significance of quantitative detection of urinary endotoxin for the diagnosis of gram-negative bacteria infection in urinary [J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2014, 11(4): 441-442.
- [8] 孙东明, 董巧丽, 杨小巍, 等. 内毒素、C-反应蛋白、血培养对儿童脓毒症早期诊断的意义 [J]. 实用预防医学, 2012, 19(4): 594-595.
- Sun DM, Dong QL, Yang XW, et al. Significance endotoxin, C-reactive protein, and hemoculture for early diagnosis of sepsis in pediatrics [J]. Practical Preventive Medicine, 2012, 19(4): 594-595.
- [9] 甄拴平, 李莉萍, 王 华, 等. 降钙素原、白细胞介素-6 及内毒素对儿童全身炎症反应综合征早期诊断价值研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2012, 27(6): 70-72, 75.
- Zhen SP, Li LP, Wang H, et al. Study on procalcitonin, interleukin-6 and endotoxin for the early diagnosis of children with systemic inflammatory response syndrome [J]. Journal of Modern Laboratory Medical, 2012, 27(6): 70-72, 75.
- [10] 左 勇. 呼吸道感染患者血浆内毒素水平测定的临床价值 [J]. 检验医学与临床, 2011, 8(7): 862-863.
- Zuo Y. Plasma endotoxin levels determine the clinical value of respiratory tract infection patients [J]. Laboratory Medicine and Clinical, 2011, 8(7): 862-863.

收稿日期: 2015-06-17

修回日期: 2016-10-23

(上接 120 页)

- Xia ZG, Feng J, Zhou SS. Malaria situation in the People's Republic of China in 2012 [J]. Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases, 2013, 31(6): 413-418.
- [2] 韩乐强. 疟疾临床血液学特征 [J]. 中国社区医师 (医学专业), 2012, 14(2): 103, 105.
- Han LQ. Haematology characteristic of clinical malaria [J]. Chinese Community Doctors, 2012, 14(2): 103, 105.
- [3] 王剑超, 张永为, 黄晨静, 等. 血液分析仪 VCS 技术用于疟原虫诊断的探讨 [J]. 临床检验杂志, 2008, 26(5): 370.
- Wang JC, Zhang YW, Huang CJ. Discussion of the diagnosis of Plasmodium using blood analyzer VCS technique [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2008, 26(5): 370.
- [4] 戴 燕, 潘志文, 张志英, 等. XE-2100 血细胞分析仪嗜酸粒细胞异常散点图报警筛选疟原虫感染的研究 [J]. 中华检验医学杂志, 2008, 31(7): 763-766.
- Dai Y, Pan ZW, Zhang ZY, et al. Screening of infection of malaria parasite with atypical eosinophil distributions in the WBC scattergram and alarm in Sysmex XE-2100 hematology analyzer [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2008, 31(7): 763-766.
- [5] Campuzano-Zuluaga G, Hanscheid T, Grobusch MP. Automated haematology analysis to diagnose malaria [J]. Malar J, 2010, 9(1): 346.
- [6] Campuzano-Zuluaga G, Alvarez-Sanchez G, Escobar-Gallo GE, et al. Design of malaria diagnostic criteria for the Sysmex XE-2100 hematology analyzer [J]. Am J Trop Med Hyg, 2010, 82(3): 402-411.
- [7] Mubeen KH, Devadoss CW, Rangan RA, et al. Automated hematology analyzers in diagnosis of plasmodium vivax malaria: an adjunct to conventional microscopy [J]. Mediterr J Hematol Infect Dis, 2014, 6(1): e2014034.

收稿日期: 2015-11-30

修回日期: 2016-08-15