

3 项检测在感染性炎症与系统性红斑狼疮中的诊断价值

汤雪彪,汪永强,袁平宗,李传达(四川省内江市第二人民医院检验科 641100)

【摘要】 目的 探讨血浆降钙素原(PCT)、超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)与肿瘤坏死因子受体(sTNFR)在细菌感染炎症与活动期系统性红斑狼疮(SLE)鉴别与诊断价值。**方法** 采用自动生化仪与电化学发光仪检测 49 例临床诊断为细菌性感染的患者与 30 例非细菌感染血液 PCT 与 hs-CRP 含量;采用酶联免疫吸附试验检测 21 例活动期 SLE 患者与 30 例静止期 SLE 患者血液中 TNFR 浓度。**结果** 细菌感染组与非细菌感染组 PCT 浓度为 (0.178 ± 0.04) 、 (0.038 ± 0.03) ng/mL, hs-CRP 浓度平均秩次为 49.2、20.5 mg/L ($P < 0.05$), 活动期 SLE 组与静止期 SLE 组 sTNFR1 浓度为 (12.73 ± 3.94) 、 (8.54 ± 3.23) ng/mL, sTNFR2 浓度为 (9.23 ± 2.56) 、 (6.31 ± 2.04) ng/mL ($P < 0.05$), PCT 诊断细菌性感染炎症的 ROC 曲线下面积为 0.719, $P = 0.013$; hs-CRP 诊断细菌性感染炎症的 ROC 曲线下面积为 0.852; sTNFR1 诊断活动期 SLE 的 ROC 曲线下面积为 0.792, $P = 0.000$, sTNFR2 诊断活动期 SLE 的 ROC 曲线下面积为 0.834, $P = 0.000$ 。**结论** PCT 与 hs-CRP 检测有助于区分细菌性感染与 SLE 活动期炎症, hs-CRP 诊断细菌性感染的诊断价值高于 PCT, sTNFR 可以有效区分活动期 SLE 与静止期 SLE。

【关键词】 降钙素原; 超敏 C-反应蛋白; 肿瘤坏死因子受体; ROC 曲线

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.24.011 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)24-3273-02

The value of the united 3 test in diagnosis of infective inflammation and systemic lupus erythematosus TANG Xue-biao, WANG Yong-qiang, YUAN Ping-zong, LI Chuan-da (Department of Clinical Laboratory, the Second People's Hospital of Neijiang City, Neijiang, Sichuan 641100, China)

【Abstract】 Objective To investigate the diagnosis value of procalcitonin (PCT), high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and tumor necrosis factor receptor (TNFR) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and bacterial infection. **Methods** The PCT and hs-CRP of blood in 49 cases with bacterial infection and 30 healthy subjects were detected by automatic biochemistry analyzer and the electrochemical luminescence instrument. ELISA was used to detect TNFR concentration of blood in 21 cases of active SLE and 30 cases of bacterial infection patients. **Results** The concentration of PCT was (0.178 ± 0.04) , (0.038 ± 0.03) ng/mL and mean rank of hs-CRP was 49.2, 20.5 mg/L in bacterial infection group and non bacterial infection group ($P < 0.05$), the concentration of sTNFR1 was (12.73 ± 3.94) , (8.54 ± 3.23) ng/mL and sTNFR2 was (6.31 ± 2.04) , (9.23 ± 2.56) ng/mL in active SLE group and stationary SLE group ($P < 0.05$). The area of PCT and hs-CRP ROC curve were 0.719 and 0.852 in diagnosis bacterial infection. The area of sTNFR1 and sTNFR2 ROC curve were 0.792 and 0.834 in diagnosis active SLE. **Conclusion** PCT and hs-CRP could be used to distinguish bacterial infection and active inflammation of SLE, and the value of hs-CRP might be higher than that of PCT, meanwhile sTNFR could be used to distinguish the active SLE and resting SLE effectively.

【Key words】 procalcitonin; high sensitivity C-reactive protein; tumor necrosis factor receptor; ROC curve

细菌感染性疾病以实验室培养出致病菌为金标准,但由于病原菌分离与培养周期较长、血液培养阳性率较低,不利于临床早期诊断与治疗。近年来,血浆降钙素原(PCT)与超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)用于感染性疾病诊断价值的研究颇多,然而活动期系统性红斑狼疮(SLE)患者也具有炎症的临床表现,已有肿瘤坏死因子受体(sTNFR1)与 sTNFR2 在 SLE 患者致病机制的研究报道,尚未见诊断价值的报道。因此,本研究以探讨 PCT、hs-CRP 与 TNFR 受体在细菌感染炎症与 SLE 鉴别与诊断价值,报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 细菌感染组:49 例临床诊断为细菌性感染的患者,临床有发热与感染症状,实验室细菌培养阳性,包括 18 例血液培养阳性,28 例痰培养阳性,3 例尿培养阳性;非细菌感染组:30 例非细菌感染患者。21 例诊断为活动期 SLE 患者(符合 1982 年美国风湿病学会诊断标准),30 例静止期 SLE 患者,活动期 SLE 与静止期 SLE 以 SLE 活动指数(SLEDAI)进

行评分, SLEDAI ≥ 7 为活动期, SLEDAI < 7 为静止期,以上各组在年龄与性别构成比方面差异无统计学意义。

1.2 PCT 与 hs-CRP 浓度检测 采用日立 7600-020 全自动生化仪检测 49 例临床诊断为细菌感染的患者与 30 例非细菌感染的患者血液中 hs-CRP 浓度,方法采用免疫比浊法,试剂由四川新成生物科技有限公司提供;PCT 用 Roche Cobas e411 电化学发光仪检测,试剂由德国罗氏诊断产品(上海)有限公司提供。2 项指标严格按照说明书设置参数进行检测。

1.3 血清 sTNFR1 与 sTNFR2 浓度检测 血清 sTNFR1 与 sTNFR2 均采用酶联免疫吸附试验检测,仪器为 MB-5800 酶免分析仪,试剂盒购自美国 RB 公司,以试剂盒提供的标准品绘制标准曲线,定量检测患者血清中 sTNFR1 与 sTNFR2 浓度,实验步骤严格按照说明书进行。

1.4 统计学方法 所有数据采用 PASW17.0 统计学软件处理,计数资料若方差齐采用 t 检验,计数资料若方差不齐采用秩和检验,诊断价值采用 ROC 曲线分析。

2 结 果

2.1 细菌感染组与非细菌感染组 PCT 与 hs-CRP 浓度 细菌感染组与非细菌感染组 PCT 平均浓度为 (0.178±0.04)、(0.038±0.03)ng/mL, $P=0.001$, 由于 hs-CRP 两组数据方差不齐, 故采用秩和检验, 细菌感染组与非细菌感染组 hs-CRP 浓度的平均秩次为 49.2、20.5 mg/L ($P<0.05$)。

2.2 PCT 与 hs-CRP 在鉴别细菌感染与非细菌感染组的 ROC 曲线 见图 1。将 49 例临床诊断为细菌性感染与 30 例非细菌感染患者血液中 PCT 与 hs-CRP 作为鉴别指标, 经 ROC 曲线分析显示, PCT 诊断细菌性感染炎症 ROC 曲线下面积为 0.719, $P=0.013$ (诊断点取 0.078 ng/mL, 正确诊断指数为 0.68), hs-CRP 诊断细菌性感染炎症的 ROC 曲线下面积为 0.852, $P=0.000$, 取 hs-CRP 为 2.78 mg/L 为最佳诊断分界点, 正确诊断指数为 0.60。hs-CRP 诊断细菌性感染炎症的诊断水平较高。

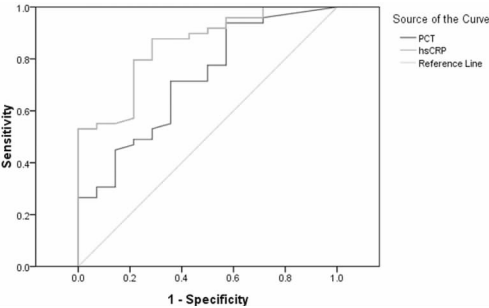


图 1 PCT 与 hs-CRP 在鉴别细菌感染与对照中的 ROC 曲线

2.3 血清 sTNFR1 与 sTNFR2 与 SLE 疾病活动度的关系 见表 1。对 21 例活动期 SLE 患者与 30 例静止期 SLE 患者 TNFR 浓度进行比较, 活动期 SLE 患者 sTNFR 与 TNFR2 水平高于静止期 SLE 患者, 两组差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 1 两组患者血清 sTNFR1 与 sTNFR2 结果 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	sTNFR1	sTNFR2
活动期 SLE	21	12.73±3.94	9.23±2.56
静止期 SLE	30	8.54±3.23	6.31±2.04

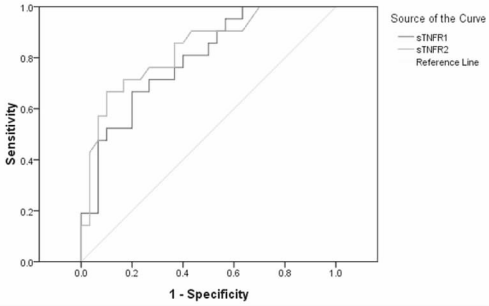


图 2 sTNFR1 与 sTNFR2 在鉴别活动期 SLE 与静止期 SLE 的 ROC 曲线

2.4 sTNFR1 与 sTNFR2 在鉴别活动期 SLE 与静止期 SLE 中 ROC 曲线 见图 2。将 21 例经 SLEDAI 评分法判断为活动期 SLE 患者血液中 sTNFR1 与 sTNFR2 作为鉴别指标, 经 ROC 曲线分析显示, sTNFR1 诊断活动期 SLE 的 ROC 曲线下面积为 0.792, $P=0.000$, 最佳诊断分界点为 10.61 ng/mL, 诊断指数为 0.54。sTNFR2 诊断活动期 SLE 的 ROC 曲线下面积为 0.834, $P=0.000$, sTNFR2 诊断活动期 SLE 的诊断水平

较高, 取 sTNFR2 为 8.62 ng/mL 为最佳诊断分界点, 正确诊断指数最大, 为 0.57。

3 讨 论

细菌感染在临床上诊断的金标准是实验室培养出致病菌, 但由于培养周期较长, 某些细菌培养要求较高而限制了应用。过去常将患者白细胞计数与分类计数作为细菌感染的指标, 某些非感染因素, 如分娩、剧烈运动、创伤、血液系统疾病等均可引起白细胞数升高。一项 Meta 分析数据表明, 中性粒细胞 CD64 对细菌感染诊断灵敏度为 79%, 特异性为 91%^[1]。但其检测手段为流式细胞术, 仪器与试剂昂贵, 不能广泛应用, 因此寻找与评价新的指标是很有必要的。

PCT 是一种糖蛋白, 由 116 个氨基酸残基组成, Assicot 等首先提出 PCT 可以作为机体炎症或败血症的标志物。近年来, 临床上已将 PCT 广泛应用于各种感染性疾病的检测, 是一种敏感性较高的诊断指标。hs-CRP 是由肝脏合成的蛋白质, 因能与肺炎链球菌细胞壁的 C 多糖起沉淀反应而得名, 当机体在急性炎症、创伤、冠心病时会升高, 与 PCT 一样, 也是敏感性较高的诊断指标^[2-3]。

作为炎症标志物 PCT 的报道很多, PCT 能很好地地区分社区获得性肺炎与肺结核, PCT 联合 hs-CRP 还能预测急性咳嗽患者患肺炎的概率, 通过测定关节腔中滑膜液 PCT 水平可以判断是感染性还是无菌性关节炎^[4-6]。本研究结果显示, 细菌感染组与非细菌感染组 PCT 浓度为 0.178、0.038 ng/mL, 差异有统计学意义, 因此 PCT 与 hs-CRP 只在细菌感染患者中升高, 在非细菌感染组中升高不明显, PCT 与 hs-CRP 有助于区分细菌感染性炎症。ROC 曲线分析显示, PCT 诊断细菌性感染炎症的 ROC 曲线下面积为 0.719, hs-CRP 诊断细菌性感染炎症的 ROC 曲线下面积为 0.852, 二者诊断能力相近, hs-CRP 诊断细菌性感染炎症的诊断水平稍高, 与文献^[7]报道有一定差异, 可能与入选患者细菌的种类不同有一定关系。

然而机体处于炎症状态不仅仅局限于感染, SLE 是一种以免疫功能紊乱为表现的累积多器官的自身免疫系统疾病, 机体也处于炎症状态^[8]。肿瘤坏死因子 TNF- α 是一种炎症促进细胞因子, 与两种可溶性受体 sTNFR1 与 sTNFR2 结合而发挥作用。有研究发现, SLE 患者血清中 TNF- α 与 sTNFR2 含量高于健康对照组, 多因素回归发现 sTNFR2 是预测 SLE 活动度的惟一独立变量。本研究结果提示, 活动期 SLE 患者 sTNFR1 与 sTNFR2 高于静止期 SLE 患者, 与文献^[9]报道相一致。目前临床上对 SLE 活动度的评分缺乏统一标准, 而且其评定带有一定的主观性, sTNFR1 与 sTNFR2 能否用于 SLE 活动度的量化指标, 本研究将 21 例经 SLEDAI 评分法判断为活动期 SLE 患者血液中 sTNFR1 与 sTNFR2 作为鉴别指标, 经 ROC 曲线分析显示, sTNFR1 诊断活动期 SLE 患者的 ROC 曲线下面积为 0.792, sTNFR2 诊断活动期 SLE 患者的 ROC 曲线下面积为 0.834, sTNFR2 诊断活动期 SLE 的诊断水平较高。

综上所述, PCT、hsCRP 可作为感染性炎症的早期诊断指标, sTNFR1 与 sTNFR2 可作为 SLE 活动度的量化指标, 价值大小还有待进一步验证。

参考文献

[1] Cid J, Aguinaco R, Sanchez R, et al. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection, (下转第 3276 页)

品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.6 加样回收率试验 见表 1。精密量取已知含量的样品溶液 6 份,每份 10 mL,分别加入对照品溶液各 1 mL,照“1.2.2”项下方法制成供试品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件测定,分别计算回收率,平均回收率为 92.56%,RSD=1.13%。

表 1 加样回收率试验结果 (n=6)

编号	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	0.415 0	0.500 8	0.882 7	93.39
2	0.415 0	0.500 8	0.874 6	91.77
3	0.415 0	0.500 8	0.883 7	93.59
4	0.415 0	0.500 8	0.874 3	91.71
5	0.415 0	0.500 8	0.872 5	91.35
6	0.415 0	0.500 8	0.883 4	93.53

2.7 样品含量测定 分别取批号为 091221、100806、110411 的样品,照“1.2.2”项下方法制成供试品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件测定并计算含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 (n=3)

批号	含量(μg/mL)	RSD(%)
091221	41.5	1.67
100806	42.7	1.42
110411	43.2	1.53

3 讨 论

黄芪的主要成分黄芪甲苷,其含量测定方法主要有薄层扫描法和 HPLC。由于薄层扫描法受薄层板铺制,色谱展开条件,层析后喷显色剂量及薄层板加热时间等多因素的影响,重复性较差,现在已很少使用。黄芪甲苷分子内没有生色团,仅在近紫外区 200~210 nm 内有微弱的吸收(又称为末端吸收)。而黄芪及其他药材所含的氨基酸、多糖和黄酮类化合物在 200 nm 附近也存在吸收,直接采用 HPLC 测定黄芪甲苷的含量干扰多,准确性低,灵敏度差。而蒸发光散射检测器对于在近紫外区无紫外吸收或紫外吸收较弱的皂苷类化合物灵敏度和准

确性较高,稳定性较理想,故选用 HPLC-ELSD 作为本研究测定黄芪甲苷的方法。

在供试品溶液的制备过程中,比较了萃取法和萃取合并大孔树脂吸附法。结果显示,经萃取法提取的样品在黄芪甲苷保留时间处无干扰峰出现,分离度好,黄芪甲苷的转移率可达 70%~80%;通过大孔树脂吸附洗脱的样品,可去除一部分杂质,但黄芪甲苷也会有损失,转移率为 30%~50%,且重复性也较差。故选用萃取法。

在萃取过程中振摇要充分,动作要轻柔。在用氨试液洗涤时放置时间要长。否则黄芪甲苷提取不完全,含量测定结果易偏低。

本文建立的实验方法稳定,简便,重复性好,可用于养血固冲合剂的质量控制。

参考文献

[1] 段立军,孙博航. 黄芪甲苷的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2011,28(5):410-416.

[2] 黄玫,曲晶,李晓天,等. 黄芪化学成分及对心血管系统作用的研究进展[J]. 中国老年学杂志,2009,29(11):1451-1453.

[3] 陈国辉,黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志,2008,17(17):1482-1485.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:284-285.

[5] 陈祖云,石凌云,黄勇,等. HPLC-ELSD 法测定脑通颗粒中黄芪甲苷和人参皂苷 Rb1 的含量及稳定性[J]. 中国药房,2011,22(23):2164-2166.

[6] 裴彩云,王宗权,贾继明,等. HPLC-ELSD 内标法测定 8 个产地黄芪药材、饮片中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志,2011,36(14):1982-1984.

[7] 李静,林晓,高辉. HPLC-ELSD 法测定阿胶补血口服液黄芪甲苷的含量[J]. 齐鲁药事,2011,30(5):269-270.

[8] 胡端龙,姜丽珍,吴静芸,等. 丹溪玉屏风颗粒中黄芪甲苷的含量测定[J]. 中国现代中药,2011,13(6):41-42.

(收稿日期:2013-05-20 修回日期:2013-08-02)

(上接第 3274 页)

a systematic review and meta-analysis[J]. Infect,2010,60(5):313-319.

[2] 梁秀云. 冠心病患者 hs-CRP 和 IgE 水平变化及临床意义[J]. 检验医学与临床,2012,9(16):2054-2055.

[3] 秦福丽,郭志强,邓梅,等. 降钙素原与 C 反应蛋白在血液病患者感染诊治中的临床应用[J]. 临床内科杂志,2013,30(1):59-60.

[4] 郁秀莉,何元兵,夏宇,等. 血清降钙素原与 C 反应蛋白在社区获得性肺炎和肺结核中的诊断价值[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2013,12(2):190-192.

[5] van Vugt SF, Broekhuizen BD, Lammens C, et al. Use of serum C reactive protein and procalcitonin concentrations in addition to symptoms and signs to predict pneumonia in patients presenting to primary care with acute cough: diagnostic study[J]. BMJ,2013,30:346-348.

[6] Saeed K, Dryden M, Sitjar A, et al. Measuring synovial fluid procalcitonin levels in distinguishing cases of septic arthritis, including prosthetic joints, from other causes of arthritis and aseptic loosening[J]. Infection,2013,41(4):845-849.

[7] 张爱华,付汉东,沈红园,等. PCT、hsCRP 在儿童不明原因发热诊断中的应用[J]. 中国感染控制杂志,2012,11(4):274-277.

[8] 赵小娟,汪国生,余大亮,等. 系统性红斑狼疮外周血树突状细胞的变化及意义[J]. 安徽医科大学学报,2012,47(8):948-951.

[9] 王晓燕,王永福,李青,等. TNF-α 及其可溶性受体在系统性红斑狼疮中的临床意义[J]. 包头医学院学报,2008,24(5):494-496.

(收稿日期:2013-05-13 修回日期:2013-07-12)