

• 论 著 •

CD64 感染指数与细菌感染相关性研究

陈江,熊永红,杨学强,胡伟,石安惠

(四川省宜宾市第二人民医院 644000)

摘要:目的 通过流式细胞术检测白细胞 CD64 荧光强度以鉴别细菌感染。方法 选取 78 例细菌感染患者(细菌感染组),32 例健康对照者(健康对照组),分别检测 CD64 的荧光强度、白细胞计数(WBC)水平、中性粒细胞百分比(Neu),对 2 组结果进行分析比较。结果 细菌感染组的 CD64 感染指数、WBC 均高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。受试者工作特征曲线(ROC 曲线)下面积为 0.92,显著优于 WBC(0.75)和 Neu(0.77)。CD64 感染指数的检测特异性和敏感性分别为 96.0%和 76.0%。结论 CD64 感染指数可以用于鉴别细菌性感染,是一个理想的检测指标。

关键词:CD64 指数; 细菌感染; 白细胞; 中性粒细胞百分比

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.07.025 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)07-0979-03

Research on correlation between CD64 infectious index and bacterial infection

CHEN Jiang, XIONG Yonghong, YANG Xueqiang, HU Wei, SHI Anhui

(Yibin Municipal Second People's Hospital, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: Objective To identify bacterial infection by CD64 fluorescence intensity detected by flow cytometry. **Methods** Seventy-eight patients with bacterial infection(bacterial infection group) and 32 healthy controls(healthy control group) were selected. The CD64 fluorescence intensity, WBC count level and neutrophils percentage(Neu) were respectively in the two groups. The detection results were compared and analyzed. **Results** The CD64 infectious index and WBC in the bacterial infection group were higher than those in the control group, the difference was statistically significant($P < 0.05$). The areas under the ROC curve in the bacterial infectious group was 0.92, which was significantly superior to WBC(0.75) and Neu(0.77). The specificity and sensitivity of CD64 infectious index were 96.0% and 76.0% respectively. **Conclusion** The CD64 infectious index can be used to identify bacterial infection and is an ideal detection index.

Key words:CD64 infectious index; bacterial infection; white blood cell; neutrophils percentage

感染是目前导致人类发病和死亡的主要原因之一,其中以细菌感染发病率最高。判断细菌感染的“金标准”——细菌培养所需时间较长,培养阳性率较低且容易受各种外界条件的影响,并不能较好地运用于细菌感染的早期诊断。判断细菌感染的其他实验室指标还有白细胞计数(WBC)、C 反应蛋白(CRP)和超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、中性粒细胞百分比(Neu)等,但这些指标缺乏敏感性和特异性;虽然血清降钙素原(PCT)与常规炎症指标比较,在特异性和敏感性上有一定程度的提高,但仍会受到自身免疫因素、手术等因素影响,在手术应激反应和非感染性炎症反应中增高^[1];所以,寻找一个既能早期诊断、又有较高敏感性和特异性的指标来进行细菌感染的诊断,是迫在眉睫的问题。近年有研究发现,在细菌感染早期,中性粒细胞膜表面的 CD64 表达水平会增加,可作为诊断细菌感染可靠、敏感的指标。本研究运用流式细胞术对本院 78 例临床细菌感染患者和 32 例健康体检者进行外周血中性粒细胞 CD64 感染指数进行检测;并将 CD64 感染指数与 WBC 和 Neu 诊断细菌感染的敏感性和特异性进行分析比较,探讨其对细菌感染的诊断价值。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取临床送检且已通过细菌培养确诊为细菌感染患者乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)静脉抗凝全血标本 78 例作为细菌感染组,其中男 40 例,女 38 例,年龄 25~78 岁,中

位年龄 40.8 岁;健康对照组 32 例为健康体检者,其中男 16 例,女 16 例,年龄 28~68 岁,中位年龄 38.0 岁。

1.2 仪器与试剂 采用 BD FACSCanto II 流式细胞仪(美国 BD 公司)、Sysmex XE2100 全自动血液分析仪(日本东亚公司)、雷博尔低速自动平衡离心机 LDZ5-2(北京)、XH-B 型漩涡混合器(上海)等。CD64 感染指数检测试剂采用由 BD 公司生产的 FITC-CD64、PE-CD33、PerCP-CD45、APC-CD14;血常规检测试剂为日本东亚公司配套产品;采用 BD FACS 溶血素(10 倍浓缩)、蒸馏水、PBS 缓冲液等。

1.3 方法

1.3.1 CD64 检测方法 流式专用试管标编号,取 EDTA-K₂ 静脉抗凝全血 50 μ L,加入 17 μ L 混合抗体(取 FITC-CD64 80 μ L、PE-CD33 80 μ L、PerCP-CD45 80 μ L、APC-CD14 20 μ L 预先混合)于漩涡混合器上混合均匀,室温避光反应 15 min,再加入 1 000 μ L 预先稀释后的溶血素(1:10 稀释)混合均匀后室温避光反应 15 min,待完全溶血后置于低速离心机 3 500 r/min 离心 4 min,弃上清,加入 2 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞,离心结束弃上清液,再加入 200 μ L PBS 缓冲液于漩涡混合器上混合均匀待检。采用 BD FACSCanto II 流式细胞仪进行检测,运用仪器配套分析软件 BD FACS DIVA 进行分析,根据前向角散色光(FSC)、侧向角散色光(SSC)光信号和 PerCP-CD45 荧光信号分别对中性粒细胞群、单核细胞群及淋巴细胞

群进行正确设门,设置每例标本获取细胞数为 10 000 个以上,以单核细胞和淋巴细胞分别为内部阳性对照和阴性对照,分别测定中性粒细胞群、单核细胞群、淋巴细胞群的平均荧光强度(MFI),并按照以下公式计算 CD64 感染指数。CD64 感染指数=(中性粒细胞 CD64 MFI/淋巴细胞 CD64 MFI)/(单核细胞 CD64 MFI/中性粒细胞 CD64 MFI)。使用此公式需同时满足:(1)以单核细胞作为阳性对照时,单核细胞的 CD64 指数大于或等于 8.00;(2)以每个检测标本的淋巴细胞作为内部阴性对照^[2]。

1.3.2 WBC、Neu 检测方法 采用 Sysmex XE2100 全自动血液分析仪及其配套专用试剂,利用电阻抗、射频电导和流式细胞技术结合核酸荧光染色的检测方法,对外周血进行分类计数;严格按照标准化操作规程(SOP)和仪器说明书进行检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义;绘制出中性粒细胞 CD64 感染指数、WBC 和 Neu 的受试者工作特征曲线(ROC 曲线),确定 3 个感染指标的临界值,分别计算出各指标的敏感性和特异性。

2 结 果

2.1 2 组 CD64 感染指数、WBC、Neu 比较 细菌感染组的 CD64 感染指数、WBC 和 Neu 均高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。细菌感染组和健康对照组的中性粒细胞 CD64 感染指数、WBC、Neu 检测结果见表 1;各组中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的 CD64 表达图,见图 1。

表 1 2 组 CD64 感染指数、WBC、Neu 检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD64 感染指数	WBC($\times 10^9/L$)	Neu(%)
细菌感染组	78	4.62 \pm 1.56	12.05 \pm 3.46	79.01 \pm 11.08
健康对照组	32	0.96 \pm 0.22	6.21 \pm 1.09	56.57 \pm 4.76

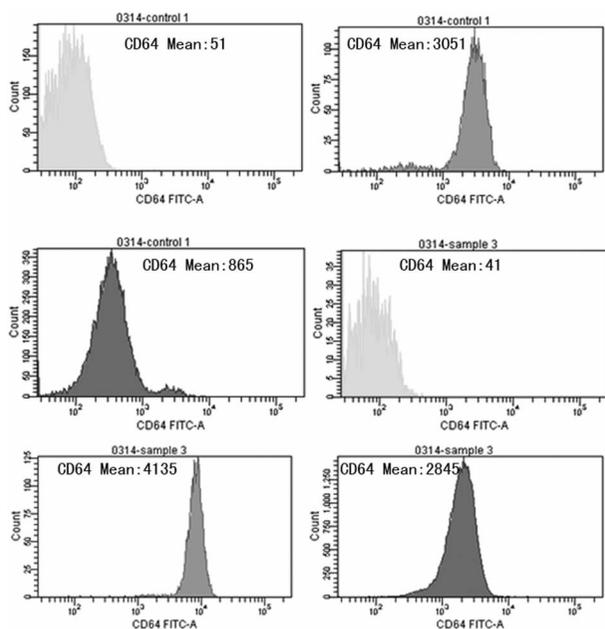


图 1 2 组中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞 CD64 表达强度

2.2 中性粒细胞 CD64 感染指数、WBC、Neu 的 ROC 曲

线 利用 SPSS19.0 统计软件制得中性粒细胞 CD64 感染指数、WBC、Neu 诊断细菌感染的 ROC 曲线。根据 ROC 曲线图得中性粒细胞 CD64 感染指数 ROC 曲线下面积为 0.92(95% CI:0.859~0.973);WBC 曲线下面积为 0.75(95% CI:0.647~0.846);Neu 曲线下面积为 0.77(95% CI:0.688~0.868)。

2.3 中性粒细胞 CD64 感染指数、WBC、Neu 诊断细菌感染的敏感性和特异性 根据 ROC 曲线,计算出约登指数,以约登指数最大时对应的 CD64 感染指数、WBC、Neu 为临界值,根据临界值分别计算 3 项指标诊断细菌感染的敏感性和特异性,见表 2。CD64 感染指数临界值为 1.42, WBC 临界值为 $8.38 \times 10^9/L$, Neu 临界值为 69%。

表 2 CD64 感染指数、WBC、Neu 诊断细菌感染的敏感性和特异性

项目	约登指数	敏感性(%)	特异性(%)
CD64 感染指数	0.756	79.6	96.0
WBC	0.530	87.0	66.0
Neu	0.492	85.2	66.0

3 讨 论

CD64 是 IgG 的 Fc 段受体之一,是免疫球蛋白超家族的一员,稳定表达于单核细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞和树突细胞上。一般情况下,CD64 在中性粒细胞表面呈低水平表达,当中性粒细胞接触到脂多糖、补体物质等微生物的细胞壁成分及白介素(IL)-8、IL-12、 γ -干扰素(IFN- γ)和肿瘤坏死因子(TNF)- α 、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)等细胞因子时,CD64 的表达就会上调^[3];在刺激因子的影响下,4~6 h 后中性粒细胞膜表面 CD64 表达就会增高,经过 22 h 就可达到高峰,24 h 内具有较高的敏感性和特异性^[4]。淋巴细胞表面 CD64 在静止和感染状态均低水平表达且变化不显著。近年来,多项研究结果表明,中性粒细胞 CD64 表达强度是诊断细菌感染的 1 个敏感、特异的指标,且对新生儿败血症的诊断有较高临床价值^[5-8]。

CD64 是 1 个高亲和力的受体,作为连接体液免疫和细胞免疫的桥梁,其在免疫复合物的清除、抗原呈递、炎性介质的释放、细菌吞噬等方面有重要作用^[9]。通过抗体依赖细胞介导的细胞毒作用、细胞吞噬和免疫复合物清除作用对病原微生物进行清除,在机体感染和抗感染中发挥重要作用^[10]。CD64 主要表达于单核细胞、巨噬细胞、树突细胞;淋巴细胞低表达 CD64,静止状态和感染状态时无显著变化;中性粒细胞在静止状态是低表达,但在机体感染或细菌内毒素大量入侵时,中性粒细胞受到细菌脂多糖(LPS)或免疫调节因子(如 IL-8、IL-12、TNF- α 、IFN- γ 、G-CSF)的刺激后,CD64 表达大量升高,并在一定时期内保持稳定,因此 CD64 作为诊断细菌感染指标越来越受到重视^[11]。

感染是目前导致人类疾病发生和死亡的最主要原因。其中,由于感染缺乏早期、敏感、特异的诊断指标,细菌感染发病率最高,且容易发展为脓毒血症,导致患者的病死率增加。细菌培养是诊断细菌感染的最客观指标,是判断细菌感染的“金标准”,但培养所需时间较长,加之抗菌药物的广泛应用致使培养阳性率较低且容易受各种外界条件的影响,细菌培养并不能

较好地运用于细菌感染的早期诊断。作为人类非特异性免疫的重要组成部分,白细胞在抵御病原微生物侵袭和机体防御的过程中有着重要作用,检测 WBC 和 Neu 能够对感染做出初步诊断,但其检测影响因素较多;在生理情况下如运动、妊娠、分娩时和急性创伤、急性出血等病理情况下,WBC 和 Neu 会应激性升高;而在某些特殊细菌如伤寒、副伤寒杆菌感染时,WBC 和 Neu 反而会下降。CRP 是肝脏合成的一种急性时相反应蛋白,是临床上常用的炎性指标,但缺乏较高的特异性,在急性心梗死、肿瘤浸润、结缔组织病、急性创伤、外科手术时也会升高^[12]。PCT 与 WBC、Neu、CRP 等炎性指标比较,在特异性和敏感性上虽有一定程度的提高,在严重细菌、病毒、寄生虫、真菌等感染或患脓毒症时会升高,但出现局部有限的细菌感染、轻微感染及慢性炎症反应时,PCT 不一定升高,还会受到自身免疫因素、手术热等因素的影响,诊断价值有限^[2,12]。有研究表明,PCT 在诊断早期细菌感染和非细菌感染的敏感性和特异性方面具有限制性和不一致性,并不能单凭 PCT 来诊断细菌感染^[10]。

本次研究通过采用流式细胞术对细菌感染组和健康对照组外周血中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞 CD64 表达强度进行测定,通过公式计算出 CD64 感染指数,结果显示,细菌感染组中性粒细胞 CD64 感染指数高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),证明中性粒细胞 CD64 的表达水平与细菌感染密切相关。既往有研究表明,病毒感染和非感染性炎症反应不会导致中性粒细胞 CD64 表达增高^[13]。所起凤等^[8]研究发现,CD64 感染指数是早期诊断细菌感染严重程度的良好指标,对 CD64 感染指数进行动态检测有助于评价抗菌药物的治疗效果,在指导临床医师合理运用抗菌药物、降低危重患者病死率方面有重要意义。

CD64 感染指数 ROC 曲线下面积为 0.92,较 WBC(0.75)和 Neu(0.77)大,诊断细菌感染价值高;其临界值为 1.42,诊断细菌感染的敏感性(79.6%)及特异性(96.0%)均高于 WBC(87.0%、66.0%)和 Neu(85.2%、66.0%),说明 CD64 感染指数较 WBC、Neu 有更高的诊断效能,可以较好地诊断细菌感染。研究表明,细菌感染程度越重,中性粒细胞表面 CD64 表达水平越高,感染严重程度与 CD64 表达强度密切相关,而 CD64 感染指数是反应 CD64 变化的最佳指标^[14]。郝猛等^[15]研究结果显示,根据 ROC 曲线,CD64 感染指数对细菌感染的诊断效能优于 PCT、CRP 和 Neu,CD64 感染指数、WBC、PCT、CRP 联合检测可提高细菌感染检测的敏感性和特异性。

本研究结果表明,中性粒细胞 CD64 感染指数的 ROC 曲线下面积、敏感性和特异性均高于 WBC 和 Neu,中性粒细胞 CD64 表达强度与细菌感染直接相关,CD64 感染指数可作为诊断早期细菌感染敏感、特异的指标。

参考文献

[1] 王芊,华川.中性粒细胞 CD64 在感染诊断中的研究进展

[J]. 临床军医杂志,2015,43(1):78-80.

- [2] 李德红. 诊断感染性疾病的新指标:中性粒细胞 CD64 [J]. 检验医学,2012,27(1):67-70.
- [3] 党燕,娄金丽. 中性粒细胞 CD64 表达在疾病诊疗中的应用进展[J]. 标记免疫分析与临床,2015,22(4):348-351.
- [4] Mancardi DA, Albanesi M, Jonsson F, et al. The high-affinity human IgG receptor FcγRI (CD64) promotes IgG-mediated inflammation, anaphylaxis, and antitumor immunotherapy[J]. Blood, 2013, 121(9):1563-1573.
- [5] 张晓微,赵丽,张羿,等. 中性粒细胞 CD64 检测对感染性疾病的诊断价值分析[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(19):2315-2316.
- [6] 许文芳. CD64、CRP 在重症细菌感染中的诊断价值[J]. 检验医学,2011,26(2):127-129.
- [7] Cid J, Aguinaco R, Sanchez R, et al. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis[J]. J Infect, 2010, 60(5):313-319.
- [8] 所起凤,录卫华,唐宗生,等. 中性粒细胞 CD64 表达在重症感染患者中的意义[J]. 免疫学杂志,2015,31(9):795-798.
- [9] 于倩倩,王会平,翟志敏,等. 流式细胞仪检测 CD64 平均荧光强度指数在感染性疾病中的意义[J]. 临床荟萃,2011,26(5):383-387.
- [10] 林阳,万岁桂. 中性粒细胞表面 CD64 在细菌感染诊断与鉴别诊断中的应用价值[J]. 标记免疫分析与临床,2014,21(2):111-114.
- [11] 苏密龙,苏智军,余雪平,等. 流式细胞术检测单核细胞、中性粒细胞 CD64 临床价值研究[J]. 中国免疫学杂志,2013,29(10):1072-1076.
- [12] 李超,袁宝军,张淑青,等. 血液细菌感染患者中性粒细胞 CD64 指数、CRP 及 WBC 水平变化[J]. 中国实验诊断学,2015,19(10):1693-1696.
- [13] Allen E, Bakke AC, Purtzer MZ, et al. Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections[J]. Ann Rheum Dis, 2002, 61(6):522-525.
- [14] 蔡鹏威. 中性粒细胞 CD64 定量检测在感染性疾病检测中的应用[J]. 实验与检验医学,2014,32(6):719-721.
- [15] 郝猛,李观华,梅锦,等. 中性粒细胞 CD64 检测在感染性疾病中的临床诊断意义[J]. 实验与检验医学,2015,33(5):627-629.

(收稿日期:2016-12-17 修回日期:2017-01-08)

欢迎投稿

欢迎订阅