

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.07.013

MPO 检测在 COPD 合并铜绿假单胞菌感染中的临床意义^{*}

张小艳,李清祥,刘 勇

南昌市第三医院检验科,江西南昌 330009

摘 要:目的 探究慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者合并铜绿假单胞菌(PA)感染时血清 MPO 水平的改变及临床意义。方法 选取 2018 年 10 月 1 日至 2019 年 9 月 30 日在该院确诊的 COPD 患者 126 例作为研究对象,其中 47 例患者痰培养鉴定出 PA,纳入 PA(+)组,其余 79 例患者痰培养未检出 PA,纳入 PA(-)组。另选取同期体检健康者 40 例作为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA 法)测定血清 MPO 水平,采用 Spearman 分析 MPO 与白细胞介素 6(IL-6)、C 反应蛋白(CRP)和血常规参数之间的相关性,以及 MPO 与肺功能指数之间的关系。结果 PA(+)组血清 MPO 水平 $[(253.39 \pm 88.93) \text{ ng/mL}]$ 显著高于 PA(-)组 $[(152.87 \pm 60.97) \text{ ng/mL}]$ 和健康对照组 $[(61.25 \pm 22.10) \text{ ng/mL}]$,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。MPO 与炎症指标中性粒细胞计数(NEU)、淋巴细胞计数(LYM)、中性粒细胞与淋巴细胞计数比值(NLR)、IL-6 均有一定相关性,其中 MPO 和 IL-6 的相关性最大($r = 0.593, P < 0.001$)。血清 MPO 水平与肺功能指数第 1 秒用力呼气容积占用力肺活量比值(FEV_1/FVC)、第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比($\text{FEV}_1\% \text{ pred}$)呈负相关($r = -0.579, P < 0.001; r = -0.528, P < 0.001$)。MPO 水平在不同 GOLD 分级 COPD 患者中差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 COPD 患者合并 PA 感染时血清 MPO 水平升高,MPO 可用于反映患者体内炎症反应状态,是患者病情监测的潜在生物标志物。

关键词:慢性阻塞性肺疾病; 铜绿假单胞菌; 髓过氧化物酶; 生物标志物

中图法分类号:R563.9;R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)07-0909-04

Clinical significance of MPO detecting in COPD patients with *Pseudomonas aeruginosa* infection^{*}

ZHANG Xiaoyan, LI Qingxiang, LIU Yong

Department of Clinical Laboratory, the Third Hospital of Nanchang,

Nanchang, Jiangxi 330009, China

Abstract: **Objective** To investigate the changes in serum MPO levels and the clinical significance of MPO detection in COPD patients with PA infection. **Methods** Totally 126 patients diagnosed with COPD in the hospital from October 1, 2018 to September 30, 2019 were enrolled in the study. Among them, 47 patients were identified with PA in sputum culture and included in the PA(+) group, while the remaining 79 patients were not detected with PA in sputum culture and included in the PA(-) group. Another 40 healthy subjects were selected as the healthy control group. Serum MPO levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Spearman correlation was used to analyze the correlation between MPO and interleukin 6 (IL-6), C-reactive protein (CRP) and blood routine parameters, as well as the relationship between MPO and pulmonary function index. **Results** The serum MPO level of the PA(+) group $[(253.39 \pm 88.93) \text{ ng/mL}]$ was significantly higher than that of the PA(-) group $[(152.87 \pm 60.97) \text{ ng/mL}]$ and healthy control group $[(61.25 \pm 22.10) \text{ ng/mL}]$, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). There was a certain correlation between MPO and inflammatory indicators such as NEU, LYM, NLR and IL-6, and the correlation between MPO and IL-6 was the most significant ($r = 0.593, P < 0.001$). Serum MPO level was negatively correlated with pulmonary function index FEV_1/FVC ($r = -0.579, P < 0.001$) and $\text{FEV}_1\% \text{ pred}$ ($r = -0.528, P < 0.001$). There was statistically significant difference in MPO level among COPD patients with different GOLD grades ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum MPO level is increased in COPD patients complicated with PA infection. MPO can be used to reflect the inflammatory response status in patients and is a potential biomarker for disease monitoring in patients.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease; *Pseudomonas aeruginosa*; myeloperoxidase; bio-marker

^{*} 基金项目:江西省中医药课题项目(2019A378)。

作者简介:张小艳,女,主管技师,主要从事免疫学相关研究。

本文引用格式:张小艳,李清祥,刘勇. MPO 检测在 COPD 合并铜绿假单胞菌感染中的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(7): 909-912.

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种以持续性气流受限为特征的慢性气道炎症性疾病,预计到 2030 年,将成为全球第三大死亡病因^[1-2]。铜绿假单胞菌(PA)作为 COPD 患者痰培养检出率最高的细菌之一,可引起肺功能持续恶化、再次入院率增高,被认为与 COPD 病情急性加重和预后不良有关^[3]。髓过氧化物酶(MPO)是一种含血红素过氧化物酶,主要存在于中性粒细胞中,是中性粒细胞活化的标志^[4]。MPO 参与了 COPD 患者肺动脉高压、肺气肿和小气道重塑等病理改变。PA 持续存在于 COPD 患者体内,通过诱导中性粒细胞胞外陷阱形成,活化中性粒细胞释放 MPO,从而加重 COPD 患者疾病严重程度并影响其预后^[5-6]。目前国内尚鲜见 MPO 与 COPD 患者合并 PA 感染的相关性研究的报道。本研究对本院 COPD 合并 PA 感染患者血清 MPO 水平进行研究,并分析其与炎症指标及肺功能的相关性,从而探讨其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 10 月 1 日至 2019 年 9 月 30 日在南昌市第三医院确诊的 COPD 患者 126 例作为研究对象,通过电子病例系统收集入选患者临床资料。其中 47 例患者痰培养鉴定出 PA,纳入 PA(+)组,男 36 例,女 11 例,年龄 (71.49 ± 10.90) 岁;其余 79 例患者痰培养未检出 PA,纳入 PA(-)组,男 59 例,女 20 例,年龄 (73.91 ± 8.31) 岁。另选择同期体检中心健康体检者 40 例为健康对照组,年龄 (71.20 ± 7.67) 岁,男 24 例,女 16 例。3 组研究对象年龄、性别、病程、吸烟史等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。所有受试者均自愿参与本研究,并签署患者知情同意书,本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 纳入及排除标准 纳入标准:(1)临床诊断明确,符合 2017 版《慢性阻塞性肺疾病全球倡议》制定的诊断标准;(2)有完整翔实的临床、影像学资料以及实验室检查结果;(3)连续 3 次痰培养均检出 PA;(4)依从本研究所涉及的实验和检查方案。排除标准:(1)活动性肺结核、支气管哮喘、肺间质性疾病、支气管扩张等呼吸道疾病患者;(2)严重心脑血管疾病,糖尿病,肝、肾功能不全,自身免疫性疾病和恶性肿瘤患者;(3)有明显肺外感染患者和既往有肺部外科手术史患者;(4)痰培养结果为 PA 合并其他细菌(如肺炎克雷伯菌、鲍曼不动杆菌和肺炎链球菌等)感染的病原菌混合感染患者;(5)3 次痰培养中仅 1 次和 2 次检出 PA 的患者。

1.3 方法

1.3.1 痰培养及鉴定 嘱患者清晨起床后,用清水漱口,用力深咳 1~2 口痰液于无菌痰培养器皿中。每 2~3 天按要求留取 1 次痰液标本并送检,进行细菌培养,连续送检 3 次,规定所有标本必须在 1 h 内完成送检。对送检标本进行革兰染色,如果镜下视野中性粒细胞或脓细胞数大于 25 个/低倍镜视野,鳞状上

皮细胞数小于 10 个/低倍镜视野,视为合格痰液标本。所有合格痰液标本严格按照《全国临床检验操作规程》制定的相关标准进行细菌培养:将标本以分区划线法分三区接种在血琼脂平板、麦康凯平板及万古巧克力平板上,置于 35℃、5% CO₂ 恒温培养箱进行 24~48 h 孵育培养,然后根据菌落形态及革兰染色镜下结果做出初步判断,再进一步通过德国全自动细菌鉴定仪(walkaway-40 PLUS)进行细菌鉴定。

1.3.2 研究指标测定 采集所有受试对象空腹 8 h 静脉全血[乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝]2.0 mL,日本 Sysmex-4000i 全自动血球分析仪及配套试剂检测血液分析参数;同时采集非抗凝静脉血 3.0 mL,离心分离血清,采用上海江莱公司 MPO 试剂测定血清 MPO,德国西门子 BNP 特定蛋白检测仪测定血清 C 反应蛋白(CRP)水平,北京热景公司仪器及配套试剂检测白细胞介素 6(IL-6)水平。检测操作严格遵照试剂说明书及该室标准操作程序(SOP)文件进行。通过德国耶格公司提供的 Master Screen Diffusion 型肺功能仪进行肺功能测试,操作方法和相关标准按照美国胸科学会制定的肺功能测量指南。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理分析。计量资料采用 Shapiro-Wilk 检验和 Levene's 检验数据正态性和方差齐性。正态分布资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐时两组间比较采用独立样本 t 检验,否则采用 Mann-Whitney U 检验;正态分布且方差齐时,多组间比较采用单因素方差分析,进一步进行组内两两比较采用 LSD- t 检验;否则采用非参数 Kruskal-Wallis 检验;偏态分布以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用非参数 Kruskal-Wallis 检验;计数资料以频率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Spearman 分析研究指标间相关性及 MPO 与肺功能间相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各种肺功能和实验室检查结果比较 3 组研究对象白细胞计数(WBC)水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);PA(+)组和 PA(-)组中性粒细胞计数(NEU)、淋巴细胞计数(LYM)、中性粒细胞与淋巴细胞计数比值(NLR)、IL-6、CRP、嗜酸性粒细胞计数(EOS)和红细胞分布宽度(RDW)水平显著高于健康对照组($P < 0.05$);PA(+)组 NLR、IL-6 和 CRP 水平显著高于 PA(-)组和健康对照组($P < 0.05$);PA(+)组和 PA(-)组肺功能指数第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比(FEV₁%pred)和第 1 秒用力呼气容积占用力肺活量比值(FEV₁/FVC)比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 各组患者血清 MPO 水平分析 PA(+)组血清 MPO 水平 $[(253.39 \pm 88.93) \text{ ng/mL}]$ 显著高于 PA(-)组 $[(152.87 \pm 60.97) \text{ ng/mL}]$ 和健康对照组 $[(61.25 \pm 22.10) \text{ ng/mL}]$,差异有统计学意义($P < 0.01$),且 PA(-)组和健康对照组 MPO 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 各组肺功能和实验室检查结果比较

指标	PA(+)组(<i>n</i> = 47)	PA(−)组(<i>n</i> = 79)	健康对照组(<i>n</i> = 40)
WBC($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	7.90 ± 3.43	7.31 ± 2.89	6.16 ± 1.30
NEU($\bar{x} \pm s, \%$)	77.34 ± 11.82 ^a	70.98 ± 11.85 ^a	58.95 ± 4.81
LYM($\bar{x} \pm s, \%$)	14.63 ± 9.25 ^a	19.44 ± 9.99 ^a	31.75 ± 4.93
NLR[<i>M</i> (<i>Q</i>)]	5.02(2.74, 10.20) ^{ab}	3.15(2.29, 5.49) ^a	1.76(1.54, 2.25)
IL-6[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), pg/mL]	9.59(5.29, 11.45) ^{ab}	7.25(5.96, 9.84) ^a	2.34(1.28, 2.72)
CRP[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), mg/L]	13.66(6.48, 49.50) ^{ab}	8.28(2.89, 16.72) ^a	4.09(3.20, 5.39)
EOS[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), $\times 10^9/L$]	0.02(0.00, 0.12) ^a	0.05(0.01, 0.15) ^a	0.10(0.08, 0.17)
Hb($\bar{x} \pm s, g/L$)	129.41 ± 22.04 ^a	122.85 ± 17.01 ^a	140.80 ± 12.47
RDW($\bar{x} \pm s$)	14.10 ± 1.59 ^a	13.98 ± 0.97 ^a	12.84 ± 1.59
FEV ₁ %pred[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	46.12(37.52, 50.33) ^b	52.65(50.10, 58.30)	—
FEV ₁ /FVC($\bar{x} \pm s, \%$)	46.64 ± 7.36 ^b	56.37 ± 5.89	—

注: Hb, 血红蛋白; 与健康对照组比较, ^a*P* < 0.05; 与 PA(−)组比较, ^b*P* < 0.05; —表示此项无数据。

2.3 血清 MPO 水平与各实验室指标相关性分析
Spearman 相关性分析结果显示, MPO 与 NEU、LYM、NLR 和 IL-6 均具有一定相关性, 其中 MPO 和 IL-6 相关性最大。见表 2。

2.4 MPO 水平与肺功能指数相关性分析 血清 MPO 水平和肺功能指数 FEV₁/FVC(*r* = −0.579, *P* < 0.001)、FEV₁%pred(*r* = −0.528, *P* < 0.001)呈负相关。

2.5 不同气流受限程度 COPD 患者 MPO 等指标分析 根据肺功能将患者进行 GOLD 分级, 分为轻度、中度、重度 and 极重度 4 组, 分析比较各组患者 MPO 和其他实验室检测指标水平。结果显示, MPO、NEU、LYM、NLR 和 CRP 水平在不同 GOLD 分级患者中差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 3。

表 2 血清 MPO 水平与实验室指标相关性分析

指标	MPO	
	<i>r</i>	<i>P</i>
WBC	0.119	0.127
NEU	0.553	<0.001
LYM	−0.549	<0.001
NLR	0.554	<0.001
IL-6	0.593	<0.001
CRP	0.352	<0.001
EOS	−0.180	0.020
Hb	−0.168	0.031
RDW	0.250	0.001

表 3 不同 GOLD 分级患者实验室指标分析

指标	轻度(<i>n</i> = 38)	中度(<i>n</i> = 32)	重度(<i>n</i> = 32)	极重度(<i>n</i> = 24)	<i>P</i>
MPO($\bar{x} \pm s, ng/mL$)	119.09 ± 19.23	169.29 ± 18.83	218.67 ± 13.89	293.58 ± 25.38	0.001
WBC($\bar{x} \pm s, \times 10^9/L$)	7.21 ± 2.44	7.56 ± 3.37	7.20 ± 3.17	8.39 ± 3.60	0.576
NEU($\bar{x} \pm s, \%$)	65.63 ± 9.60	70.35 ± 11.45	71.52 ± 10.78	78.47 ± 11.82	0.002
LYM($\bar{x} \pm s, \%$)	23.16 ± 9.45	19.76 ± 9.43	19.01 ± 9.10	13.30 ± 9.73	0.003
NLR[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	2.80(2.08, 4.30)	3.58(2.44, 5.82)	3.96(2.45, 7.03)	6.37(3.92, 20.52)	0.002
IL-6[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), pg/mL]	6.68(5.65, 8.30)	7.23(5.86, 10.24)	7.64(4.79, 11.41)	8.98(6.90, 11.77)	0.161
CRP[<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅), mg/L]	6.14(4.10, 11.71)	8.33(3.62, 17.84)	10.04(6.46, 25.77)	15.77(5.56, 49.38)	0.036

3 讨 论

COPD 每年影响着全球约 6 亿人, 在疾病负担中位居第 5 位^[7]。COPD 患者的气道由于长期处于慢性炎症状态下, 其支气管清除能力下降、呼吸道黏膜屏障防御功能被破坏, 加上长期慢性炎症的消耗, 患者身体营养状况不佳, 容易引起气管-支气管多种细菌感染^[8]。在合并细菌感染的 COPD 患者中, PA 是痰培养中检出率最高的病原菌之一, 并且近期报道发现 PA 感染呈现上升趋势^[9], 因此对于合并 PA 感染的

患者研究具有重要的临床意义。

PA 特有的生物被膜结构是一种较强的抗原, 能刺激机体产生抗体, 形成免疫复合物沉积于病变组织表面, 形成慢性炎性反应导致免疫损伤, 帮助其逃避机体免疫系统, 保证其持续感染, 甚至在一定条件下可能导致患者 COPD 急性加重^[10-11]。PA 还通过其生物膜等结构, 引起中性粒细胞大量活化聚集在感染部位, 活化的中性粒细胞释放 MPO, 导致 MPO 水平升高^[12]。本研究中 PA(+)组血清 MPO 水平显著高

于 PA(一)组和健康对照组,与以上结论一致,说明 MPO 作为中性粒细胞局部活化的标志,可能与 PA 感染有关。

气道炎症在 COPD 发展和进展中是极其重要的,炎症因子是调节炎症细胞聚集和活化的主要炎症介质,促进机体释放更多的蛋白酶或氧化剂,进一步加重气道上皮和肺组织的损伤^[13]。本研究结果表明,IL-6 可引起气道黏膜受损,提高细胞外弹性蛋白的溶解度,导致气道重建^[14]。THOMSEN 等^[15]报道,CRP 和 NEU 等炎症指标水平升高的 COPD 患者,即使是症状相对温和,急性加重的风险通常也较高。NLR、IL-6 和 CRP 等均是评估体内炎症反应的良好指标,与多种全身性疾病的预后及转归密切相关,可用于评估 COPD 患者病情的严重程度。本研究结果发现,PA 感染患者体内 NLR、IL-6 和 CRP 水平显著升高,提示患者易发生急性加重,应尽早采取预防措施。另外,通过 MPO 与上述指标的相关性分析,结果发现 MPO 与炎症因子 IL-6、NLR 具有较好的相关性,提示 MPO 也可以作为一种炎症指标用于评估 COPD 患者的炎症水平。

肺功能指数 FEV₁/FVC、FEV₁%pred 是 COPD 患者 GOLD 分级指标,直接代表患者病情的严重程度。研究中 MPO 水平与 FEV₁/FVC、FEV₁%pred 负相关,提示 MPO 水平与患者病情严重程度相关。COCKAYNE 等^[16]在研究中发现,MPO 水平与 COPD 患者肺功能快速下降有关,证实 MPO 参与了 COPD 病程进展。MPO 参与了 COPD 患者肺气肿、小气道重塑和肺动脉高压发生、发展,通过小分子物质抑制 MPO 可以阻止吸烟引起的 COPD 病理和生理变化的进展^[5]。本研究结果还发现,MPO 水平与 COPD 严重程度分级有关,病情越重 MPO 水平越高,因此 MPO 可能成为一种潜在的非侵入性生物标志物,用于 COPD 合并 PA 的病情监控和预测。

目前,国内外有关生物标志物用于 COPD 合并 PA 感染的研究较为少见,关于 MPO 在 COPD 合并 PA 感染中的研究也鲜见报道。但由于本次研究纳入的标本量较少,因此需要进一步扩大标本量来证实。

参考文献

- [1] BHATT S P. Diagnosis of chronic obstructive pulmonary disease;breathing new life into an old debate[J]. Ann Am Thorac Soc,2018,15(2):163-165.
- [2] PUTCHA N,DRUMMOND M B,WISE R A,et al. Comorbidities and chronic obstructive pulmonary disease: prevalence,influence on outcomes,and management[J]. Semin Respir Crit Care Med,2015,36(4):575-591.
- [3] WANG L,ZHOU K H,CHEN W,et al. Epidemiology and risk factors for nosocomial infection in the respiratory intensive care unit of a teaching hospital in China;a prospective surveillance during 2013 and 2015[J]. BMC Infect Dis,2019,19(1):145.
- [4] KHAN A A,ALSAHLI M A,RAHMANI A H. Myeloperoxidase as an active disease biomarker;recent biochemical and pathological perspectives[J]. Med Sci(Basel),2018,6(2):33-54.
- [5] CHURG A,MARSHALL C V,SIN D D,et al. Late intervention with a myeloperoxidase inhibitor stops progression of experimental chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med,2012,185(1):34-43.
- [6] ZHU A,GE D,ZHANG J,et al. Sputum myeloperoxidase in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Eur J Med Res,2014,19(1):12-23.
- [7] VOGELMEIER C F,CRINER G J,MARTINEZ F J,et al. Global strategy for the diagnosis,management and prevention of chronic obstructive lung disease 2017 report:GOLD executive summary[J]. Respiriology,2017,22(3):575-601.
- [8] SU Y C,JALALVAND F,THEGERSTROM J,et al. The interplay between immune response and bacterial infection in COPD: focus upon non-typeable haemophilus influenzae[J]. Front Immunol,2018,9(4):2530-2556.
- [9] 叶华,戴元荣,徐显,等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者医院感染病原菌特点与相关因素分析[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(16):3655-3657.
- [10] CHALMERS J D,HILL A T. Mechanisms of immune dysfunction and bacterial persistence in non-cystic fibrosis bronchiectasis[J]. Mol Immunol,2013,55(1):27-34.
- [11] CIOFU O,TOLKER-NIELSEN T. Tolerance and resistance of pseudomonas aeruginosa biofilms to antimicrobial agents-how P. aeruginosa can escape antibiotics[J]. Front Microbiol,2019,10(9):913-928.
- [12] FAURE E,KWONG K,NGUYEN D. Pseudomonas aeruginosa in chronic lung infections;how to adapt within the host? [J]. Front Immunol,2018,9(8):2416-2426.
- [13] NUNEZ B,SAULEDA J,GARCIA-AYMERICH J,et al. Lack of correlation between pulmonary and systemic inflammation markers in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a simultaneous, two-compartmental analysis [J]. Arch Bronconeumol,2016,52(7):361-367.
- [14] WEI Y,WANG S,WANG D,et al. Expression and clinical significance of serum amyloid A and interleukin-6 in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Exp Ther Med,2020,19(3):2089-2094.
- [15] THOMSEN M,INGEBRIGTSEN T S,MAROTT J L,et al. Inflammatory biomarkers and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease [J]. JAMA,2013,309(22):2353-2361.
- [16] COCKAYNE D A,CHENG D T,WASCHKI B,et al. Systemic biomarkers of neutrophilic inflammation,tissue injury and repair in COPD patients with differing levels of disease severity[J]. PLoS One,2012,7(6):e38629.