

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.28.019

CD64、降钙素原检测在肝硬化自发性细菌性腹膜炎诊断中的意义

李春英¹, 邹金海², 梁育飞¹, 郑国启¹, 孙鑫义¹, 刘晨第¹

(沧州市中心医院:1. 消化内一科;2. 核医学科, 河北沧州 061001)

[摘要] **目的** 检测肝硬化患者 CD64、血清降钙素原(PCT)水平,探讨 CD64、血清 PCT 检测对自发性细菌性腹膜炎(SBP)的诊断价值。**方法** 将肝硬化患者分为 SBP 组(45 例)、腹水非 SBP 组(93 例)及对照组 3 组(50 例),应用流式细胞术测定 CD64;电化学发光免疫法测定 PCT。分别采集 SBP 组患者在入院后 24 h 内、抗菌药物使用前及抗菌药物有效治疗 7 d 空腹上肢静脉血,测定患者体内 CD64、PCT 水平,同时行血常规、肝功能、肾功能、凝血功能检查。腹水非 SBP 组及对照组一次性采血测定以上指标。**结果** SBP 组 CD64、血清 PCT 水平较腹水非 SBP 组和对照组明显升高($P < 0.01$)。ROC 曲线分析结果显示 CD64 和 PCT 的敏感性和特异性分别为 95.5%、93.8% 和 96.1%、85.2%。**结论** CD64、PCT 可作为肝硬化 SBP 早期诊断、疗效判定的重要指标。

[关键词] 肝硬化;自发性细菌性腹膜炎;CD64;降钙素**[中图分类号]** R575.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)28-3953-03

Clinical significance of CD64 and procalcitonin in diagnosis of liver cirrhosis with spontaneous bacterial peritonitis

Li Chunying¹, Zou Jinhai², Liang Yufei¹, Zheng Guoqi¹, Sun Xinyi¹, Liu Chendi¹

(1. First Department of Digestion; 2. Department of Nuclear Medicine, the Center Hospital of Cangzhou City, Cangzhou, Hebei 061001, China)

[Abstract] **Objective** To detect the level of CD64 and serum procalcitonin (PCT) and investigate the diagnosis value of CD64 and serum PCT in cirrhosis patients with spontaneous bacterial peritonitis (SBP). **Methods** Participants were categorized into three groups including liver cirrhosis with SBP(45 patients), liver cirrhosis without SBP(93 patients) and health personnel(50 persons). CD64 was detected by flow cytometry and serum PCT was measured by electrochemoluminescence immunoassay. The limosis vein blood samples were obtained from the patients with SBP at the time of 24 h after admission, before antibacterial drugs use and 7 days after the effective treatment of antibacterial drugs. The CD64 and serum PCT were detected with the limosis vein blood samples. At the same time, the complete blood count, liver, kidney and blood coagulate functions were tested. The participants in other two groups were detected the CD64, serum PCT, complete blood count, liver, kidney and blood coagulate functions at the same time. **Results** The level of CD64 and serum PCT in cirrhosis patients with SBP were significantly higher than those in liver cirrhosis without SBP and normal controls ($P < 0.01$). ROC curve analysis showed that the sensitivity and specificity of CD64 and serum PCT were 95.5%, 93.8% and 96.1%, 85.2% respectively. **Conclusion** CD64 and serum PCT can be determined as the important indicator in early diagnosis and efficacy criterion.

[Key words] liver cirrhosis; spontaneous bacterial peritonitis; CD64; calcitonin

自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)是失代偿期肝硬化腹水患者最主要的并发症之一,发生于 8%~30% 的住院患者。病死率约 20%^[1-3]。因此,早期诊治成为改善肝硬化患者预后的关键。但肝硬化 SBP 患者临床表现多样,多数患者症状不典型。临床目前常用的诊断方法为腹水培养,但其具有细菌培养阳性率较低及有一定时限性等不足之处。本研究通过观察中性粒细胞 CD64 的表达和血清降钙素原(PCT)的变化,旨在探讨其对肝硬化 SBP 的诊断价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2013 年 6 月至 2014 年 9 月确诊的肝硬化住院患者,诊断均符合《病毒性肝炎防治方案》^[4] 的诊断标准。根据临床表现、实验室检查结果,以及是否存在腹水感染,将患者分为 SBP 组 45 例(其中男 27 例、女 18 例,年龄 35~70 岁)、腹水非 SBP 组 93 例(其中男 58 例、女 35 例,年龄 33~65 岁);另选择同期检测的健康体检者 50 例(其中男 30 例、女 20 例,年龄 38~67 岁)为对照组。3 组患者年龄、性别差异均无

统计学意义($P > 0.05$)。肝硬化 SBP 组腹水细菌培养结果为大肠埃希菌 13 例;克雷伯菌 3 例;表皮葡萄球菌 5 例;粪肠球菌 2 例。SBP 组与腹水非 SBP 组患者原发疾病情况见表 1。

表 1 SBP 组与腹水非 SBP 组患者原发疾病情况(n)

原发疾病	SBP 组 (n=45)	腹水非 SBP 组 (n=93)
乙型肝炎肝硬化	39	76
丙型肝炎肝硬化	0	3
酒精性肝硬化	2	6
肝硬化合并肝癌	3	6
原发性胆汁性肝硬化	1	0
隐源性肝硬化	0	1
乙型肝炎合并酒精性肝硬化	0	1

表 2 3 组患者体内 CD64、PCT 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD64(mol/cell)	PCT(ng/mL)	WBC($\times 10^9/L$)	ALT(U/mL)	AST(U/mL)
SBP 组	45	13 679 \pm 1 706 ^{ab}	25.26 \pm 5.42 ^{ab}	11.5 \pm 2.3 ^{ab}	244.67 \pm 16.42 ^{ab}	267.43 \pm 15.91 ^{ab}
腹水非 SBP 组	93	1 274 \pm 183	0.38 \pm 0.17	5.2 \pm 1.1	31.24 \pm 10.62	29.35 \pm 8.47
对照组	50	1 052 \pm 134	0.36 \pm 0.12	4.8 \pm 2.4	24.28 \pm 6.57	25.37 \pm 8.64

a: $P < 0.05$, 与腹水非 SBP 组比较; b: $P < 0.05$, 与对照组比较。

1.2 方法

1.2.1 诊断及排除标准 (1) 诊断标准: SBP 诊断标准^[5-6] 具体如下, ①局部症状和(或)腹膜炎表现: 腹痛、腹部压痛、呕吐、腹泻、肠梗阻; ②高热或低热、寒战、白细胞计数(WBC)异常, 和(或)呼吸急促; ③无明确诱因的肝性脑病; ④无明确原因的急进型肾功能损害; ⑤未予抗菌药物预防用药的胃肠道出血; ⑥肝功能恶化; ⑦休克; ⑧腹水中性粒细胞计数大于或等于 $250 \times 10^6/L$; ⑨腹水细菌培养阳性; ⑩血清腹水白蛋白梯度(SAAG) ≥ 11 g/L。符合⑧及⑩可确诊, 符合⑩及①~⑦或⑨中至少 1 项为临床疑诊。(2) 排除标准: 排除近期有明确继发性腹腔感染及其他感染患者、排除 14 d 内服用过肠道非吸收性抗菌药物的肝硬化患者。

1.2.2 实验室仪器及试剂 (1) 应用美国 BD 公司生产的 FACSCalibur 流式细胞计数仪进行 CD64 检测。(2) 采用电化学发光免疫法(双抗夹心 ELISA 法)检测血清降钙素原。设备为罗氏 e601 电化学发光免疫机, 试剂盒由罗氏提供。

1.2.3 标本采集 分别采集肝硬化 SBP 组患者在入院后 24 h 内、抗菌药物使用前及抗菌药物有效治疗 7 d 左右(恢复期)的空腹上肢静脉血, 测定 CD64、PCT 水平, 同时行血常规、肝功能、肾功能、凝血功能等检查。肝硬化腹水非 SBP 组及对照组一次性采血测定以上指标。

1.2.4 中性粒细胞 CD64 的流式细胞学检测 CD64 指数测定采用直接免疫荧光检测法。血浆经离心浓缩后以磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2~7.4)调整细胞数至 $(1 \sim 2) \times 10^6$ 个/mL, 50 μ m 尼龙筛网过滤, 离心浓缩至细胞数不少于 1×10^7 个/mL。取 100 μ L 细胞悬液, 加入以下抗体(所加荧光抗体的体积根据试剂盒使用说明书进行), 抗体组合为 CD45-PerCP+CD64-PE+CD14-FITC, 充分混匀, 室温下避光放置 20 min, 然后加入红细胞裂解液, 避光孵育 10 min, PBS 洗涤 2 次, 上机检测采用侧向角散射光信号(side scatter, SSC)和 CD45 设门检测中性粒细胞群 CD64 阳性细胞数及 PMN、Lym、Mo 平均荧光强度(mean fluorescent intensity, MFI)。采用 FCS Express V3 软件进行数据分析和统计。CD64 指数(成人)计算方法见公式(1)。

$$\text{CD64 指数} = \frac{\text{PMN CD64 MFI} / \text{Lym CD64 MFI}}{\text{Mo CD64 MFI} / \text{PMN CD64 MFI}} \quad (1)$$

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行分析处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验, 计数资料用率表示, 采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组 CD64、PCT 比较 SBP 组 CD64、血清 PCT、外周血 WBC、ALT 和 AST 水平较腹水非 SBP 组和对照组明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。而腹水非 SBP 组和对照组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

2.2 CD64 与 PCT 水平在肝硬化 SBP 诊断中的意义 以

ROC 曲线确定 CD64 ID 指数的最佳截断值为 2.86 ± 0.69 , PCT 以大于 0.5 ng/mL 为阳性。两种指标对 SBP 的诊断意义见表 3。

表 3 CD64 与 PCT 指标在诊断肝硬化 SBP 的意义 (%)

指标	特异度	敏感度	阳性预测值	阴性预测值
CD64 ID	96.1	95.5	95.8	95.6
PCT	85.2	93.8	88.9	92.1

2.3 SBP 组治疗前后 CD64、PCT 比较 SBP 组患者经治疗后, CD64 为每个细胞($2 156 \pm 384$)mol, 较治疗前明显下降, 差异有统计学意义($t = 27.420, P < 0.05$), 但仍比对照组高, 差异有统计学意义($t = 12.68, P < 0.05$)。治疗后 PCT 数值为 (0.45 ± 0.23)ng/mL, 较治疗前显著下降, 差异有统计学意义($t = 17.914, P < 0.05$), 与对照组比较差异无统计学意义($t = 1.586, P > 0.05$)。SBP 组经治疗后, 外周血 WBC、ALT 和 AST 水平均较治疗前明显降低($P < 0.05$)。

3 讨论

失代偿期肝硬化腹水患者机体免疫功能低下, 门静脉高压、肠道充血、水肿、细菌及其产物容易通过受损的肠道黏膜屏障进入循环系统, 导致自发性细菌性腹膜炎^[7]。SBP 的发生预示着患者肝硬化病情较为严重, 如无法及时有效诊断及治疗, 会迅速导致多种并发症(如内毒素血症、感染性休克或全身脏器衰竭等)迅速发展, 危及患者生命。但是 SBP 的临床表现不典型, 因此患病早期常无法有效确诊。目前诊断多依靠腹水中多形核白细胞计数(PMN)及细菌培养结果, 但由于大部分 SBP 患者伴有不同程度的脾功能亢进, 大量腹水稀释了炎性渗出物, 同时 PMN 受大量抗生素及腹水中有形成分红细胞的影响, 其敏感性降低。另腹水细菌培养阳性率低, 多在 10%~15%, 且需时较长。故进一步探讨敏感、准确的诊断指标是十分必要的。本研究旨在寻找简便、特异的指标提高 SBP 的早期诊断率。

CD64 属于免疫球蛋白超家族成员, 是免疫球蛋白 IgG 的受体。主要存在单核细胞及巨噬细胞表面, 在性粒细胞表面呈低水平表达。当受到细菌细胞壁的脂多糖、细胞集落刺激因子和干扰素- γ 等的刺激可导致 CD64 可在中性粒细胞表面大量表达^[8]。Allen 等^[9]指出, 非感染性炎症和病毒均不会使 CD64 在中性粒细胞表达增加, 因此说明 CD64 的高表达在细菌感染性炎症中具有很高特异性。因此当机体受到细菌感染时, 体内中性粒细胞 CD64 分子表达在 4 h 内明显增高^[10], 可以作为早期诊断的依据。

本研究结果显示, SBP 组中性粒细胞 CD64 表达水平较腹水非 SBP 组和对照组显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 说明外周血中性粒细胞 CD64 的表达与肝硬化自发性细菌性腹膜炎密切相关。SBP 组患者经治疗后 CD64 表达水

平较治疗前虽有下降,但仍高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明随着感染进一步被控制,中性粒细胞 CD64 的表达水平升高恢复平缓。因此可以得出中性粒细胞 CD64 表达可有效反映肝硬化 SBP 治疗效果。结果还显示,CD64 对诊断 SBP 具有很高的敏感度(95.5%)和特异度(96.1%)。说明 CD64 的表达能够有效地反映肝硬化 SBP 的治疗效果,是诊断肝硬化 SBP 的一个有效标志。因此,CD64 对 SBP 的早期诊断、病情判断、治疗效果评价,以及预后评估具有较高的应用价值。

PCT 在正常生理状态下只由甲状腺 C 细胞合成,是 1 种无激素活性的降钙素前体,在血浆中水平很少。机体受感染时甲状腺外组织可大量产生 PCT^[11]。有学者研究表明,PCT 在细菌感染患者体内水平急剧升高。从感染后 4 h 开始,6~8 h 到达峰值,此后 24 h 持续保持较高水平^[12]。因此 PCT 对肝硬化 SBP 早期诊断具有较高的特异度和敏感度。

本研究结果提示,SBP 组 PCT 水平显著高于腹水非 SBP 组和对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明血清 PCT 与 SBP 有一定关系,且对诊断 SBP 有较高特异度(85.2%)和敏感度(93.8%)。SBP 组患者经抗菌药物有效治疗 7 d 后,体内 PCT 水平较治疗前明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$),证明 PCT 在 SBP 治疗过程中可以动态观察、判断治疗效果,指导临床用药。研究表明肝硬化患者血清 PCT 明显升高者往往感染程度也随之加重,此类患者进行抗感染治疗效果明显优于常规治疗;而 PCT 水平升高不明显或不升高者抗感染治疗与常规治疗效果无明显差异,因此 PCT 可作为监测肝硬化患者是否需要抗感染治疗的重要指标之一,使抗感染治疗更具有针对性,同时能够避免抗生素滥用。

综上所述,CD64、PCT 在肝硬化 SBP 的诊断中具有较高的灵敏度和特异度,可作为早期诊断、疗效判定的有效指标。

参考文献

- [1] Rimola A, García-Tsao G, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. International Ascites Club [J]. *J Hepatol*, 2000, 32(1): 142-153.
- [2] Fernández J, Bauer TM, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prevention of spontaneous bacterial peritonitis [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2000, 14(6): 975-990.
- [3] Strauss E, Caly WR. Spontaneous bacterial peritonitis: a therapeutic update [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2006, 4(2): 249-260.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8: 324-329.
- [5] Runyon BA, AASLD Practice Guidelines Committee. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update [J]. *Hepatology*, 2009, 49: 2087-2107.
- [6] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2010, 53(3): 397-417.
- [7] Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation (BT) in cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2005, 41: 422-433.
- [8] De Haas M. IgG-Fc receptors and the clinical relevance of their polymorphisms [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2001, 113(20/21): 825-831.
- [9] Allen E, Bakke AC, Purtscher MZ, et al. Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections [J]. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(6): 522-525.
- [10] Danikas DD, Karakantza M, Theodorou GL, et al. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(1): 87-97.
- [11] 梁玉美. 降钙素原在新生儿感染性疾病中的临床价值 [J/CD]. *中华妇幼临床医学杂志: 电子版*, 2007, 3(6): 345-346.
- [12] Mussap M, Degrandi R, Cataldi L, et al. Biochemical markers for the early assessment of neonatal sepsis: the role of procalcitonin [J]. *J Chemother*, 2007, 19 Suppl 2: S35-38.
- [1] Rimola A, García-Tsao G, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. International Ascites Club [J]. *J Hepatol*, 2000, 32(1): 142-153.
- [2] Fernández J, Bauer TM, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prevention of spontaneous bacterial peritonitis [J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2000, 14(6): 975-990.
- [3] Strauss E, Caly WR. Spontaneous bacterial peritonitis: a therapeutic update [J]. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2006, 4(2): 249-260.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8: 324-329.
- [5] Runyon BA, AASLD Practice Guidelines Committee. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update [J]. *Hepatology*, 2009, 49: 2087-2107.
- [6] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis [J]. *J Hepatol*, 2010, 53(3): 397-417.
- [7] Wiest R, Garcia-Tsao G. Bacterial translocation (BT) in cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2005, 41: 422-433.
- [8] De Haas M. IgG-Fc receptors and the clinical relevance of their polymorphisms [J]. *Wien Klin Wochenschr*, 2001, 113(20/21): 825-831.
- [9] Allen E, Bakke AC, Purtscher MZ, et al. Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections [J]. *Ann Rheum Dis*, 2002, 61(6): 522-525.
- [10] Danikas DD, Karakantza M, Theodorou GL, et al. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(1): 87-97.
- [11] 梁玉美. 降钙素原在新生儿感染性疾病中的临床价值 [J/CD]. *中华妇幼临床医学杂志: 电子版*, 2007, 3(6): 345-346.
- [12] Mussap M, Degrandi R, Cataldi L, et al. Biochemical markers for the early assessment of neonatal sepsis: the role of procalcitonin [J]. *J Chemother*, 2007, 19 Suppl 2: S35-38.

(收稿日期: 2015-04-24 修回日期: 2015-07-10)

(上接第 3952 页)

- of skeletal maturation phase [J]. *Eur J Orthod*, 2012, 34(4): 487-492.
- [8] Baccetti T, Franchi L, McNamara JA. The cervical vertebral maturation (CVM) method for the assessment of optimal treatment timing in dentofacial orthopedics [J]. *Semin Orthod*, 2005(11): 119-129.
- [9] Hagg U, Taranger J. Maturation indicators and the pubertal growth spurt [J]. *Am J Orthod*, 1982, 82(4): 299-309.
- [10] Mito T, Sato K, Mitani H. Predicting mandibular growth potential with cervical vertebral bone age [J]. *Am J Orthod*, 2003, 124(2): 173-177.
- [11] 张咏梅, 王邦康. 北京地区儿童颈椎生长发育的观察与骨龄测定 [J]. *中华口腔医学杂志*, 1997, 32(3): 24-26.

- [12] 吴尽红, 吕婴. 腕骨骨龄与颈椎骨龄相关性的研究 [J]. *北京口腔医学*, 2006, 14(2): 108-109.
- [13] 陈建伟, 刘泽萍, 郭婧, 等. Demirjian 法测定成都地区 8~16 岁青少年牙龄 [J]. *国际口腔医学杂志*, 2009, 36(3): 273-275.
- [14] 冯驰, 李丛华, 曾兴琪, 等. 采用锥形束 CT 测量牙体长度的准确性研究 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2014, 32(1): 36-39.
- [15] 张舒, 王璟, 谭英, 等. 成都地区儿童和青少年牙龄与颈椎骨龄的相关性分析 [J]. *华西口腔医学杂志*, 2012, 30(6): 620-623.

(收稿日期: 2015-04-10 修回日期: 2015-05-16)