

· 临床论著 ·

## 中性粒细胞碱性磷酸酶阳性积分在革兰阳性球菌感染检测中的应用价值

秦卫华 李金秀 李亚霖 荣凤燕 康寿磊

**【摘要】 目的** 探讨中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)在革兰阳性( $G^+$ )球菌中的诊断价值。**方法** 应用快速偶氮偶联法对本科室收治的感染者141例及非感染者425例进行NAP阳性率和阳性积分检测,对比分析革兰阳性菌感染者、革兰阴性菌感染者以及非感染者的NAP阳性率和阳性积分的差异。**结果** 革兰阳性菌感染者的NAP阳性积分为( $127.4 \pm 55.7$ ),显著高于非感染者的( $89.3 \pm 46.3$ )和 $G^-$ 菌感染者的( $87.3 \pm 41.7$ ),差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );感染和非感染组阳性积分分别为( $103.2 \pm 55.7$ )和( $87.3 \pm 41.7$ ),两组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), $G^-$ 菌感染组和非感染组阳性积分差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** NAP阳性积分可以作为判断革兰阳性菌感染的参考依据。

**【关键词】** 感染;中性粒细胞碱性磷酸酶;革兰阳性菌

**Evaluation of neutrophil alkaline phosphatase-positive integration in the detection of  $G^+$  bacteria infection** QIN Weihua, LI Jinxiu, LI Yalin, RONG Fengyan, KANG Shoulei. *Critical Care Medicine, The Second Public Hospital of Liaocheng, Liaocheng 252600, China*

Corresponding author: QIN Weihua, Email: qinweihua114@126.com

**【Abstract】 Objective** To explore the clinical value of analyzing neutrophil alkaline phosphatase (NAP) activity on  $G^+$  bacteria infection detection. **Methods** There were 141 cases with infection in ICU and 425 cases with no infection, patients' NAP positive rate and positive score were measured by AS-BI technique. The two index of different patients were recorded and compared, respectively. **Results** The NAP positive score in  $G^+$  infection patients was ( $127.4 \pm 55.7$ ), which significantly higher than that and in patients with no infection ( $89.3 \pm 46.3$ ) and patients with  $G^-$  infection ( $87.3 \pm 41.7$ ) ( $P < 0.05$ ). But there was no significant difference between patients with  $G^-$  infection and patients with no infection ( $P > 0.05$ ). And the NAP positive score in patients with infection was ( $103.2 \pm 55.7$ ), there was no significant difference compared with patients with no infection ( $87.3 \pm 41.7$ ) ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** NAP positive score could be used as a indication for  $G^+$  bacteria infection identification.

**【Key words】** Infection; Neutrophil alkaline phosphatase activity;  $G^+$  bacteria

目前中性粒细胞碱性磷酸酶(neutrophil alkaline phosphatase, NAP)阳性积分多用于对细菌感染、慢性粒细胞白血病(急变期和加速期)、某些增殖性疾病(如骨髓纤维化、原发性血小板增多症和真性红细胞增多症)、慢性淋巴细胞白血病、急性淋巴细胞白血病、骨转移瘤以及恶性淋巴瘤等的病情判断,并多用来判断是否合并感染<sup>[1-3]</sup>。较早的研究中仅提示细菌感染时NAP积分增高,革兰阳性( $G^+$ )菌感染时NAP阳性积分较革兰阴性高,但未行进一步的研究,现将2013年本院ICU

收治的 $G^+$ 球菌感染的病历资料进行总结,旨在探讨NAP在 $G^+$ 菌感染诊断中的价值,现报道如下。

### 资料和方法

#### 一、一般资料

收集2013年1月至2013年12月,本院ICU病房收治住院患者共919例。剔除增殖性疾病、粒细胞白血病、淋巴细胞白血病、恶性淋巴瘤、骨转移瘤、病毒和真菌感染等诊断后,将无确切证据的可疑感染病例排除。确诊为细菌感染者共141例,其中 $G^+$ 菌感染者68例, $G^-$ 菌感染者73例;确诊为无细菌感染者425例,应用外周静脉血涂成厚薄均匀

的2张血片,进行NAP阳性率和阳性积分检测。

## 二、中性粒细胞碱性磷酸酶染色方法

所有标本均采用珠海贝索生产的中性粒细胞碱性磷酸酶染色液进行偶氮偶联法染色,操作方法如下:使用固定剂将患者的新鲜血片固定0.5 min,用纯水冲洗后晾干。使用新配制基质孵育液(I液和II液预混均匀)将固定好的血涂片浸泡,并置于37℃的恒温水浴加热锅中反应0.5 h,用纯水冲洗后晾干;使用苏木素对样品进行复染1.5 min,用纯水冲洗后晾干,在光学显微镜下进行观察。阳性细胞标准:成熟中性粒细胞浆中出现棕红色沉淀。

对检测细胞进行NAP阳性积分统计,积分方法:①阴性反应,细胞中无阳性染色颗粒为0分;②细胞中可见少量颗粒或弥散浅红色为1+分;③细胞中可见中量颗粒或弥散红色为2+分;④细胞中可见丰富颗粒或弥散深色,细胞核清晰为3+分;⑤细胞中可见极丰富粗大颗粒将胞浆充满,或弥散深色,细胞核不清晰为4+分。将100个成熟中性粒细胞阳计分累加得出每例标本的阳性率,将每个标本的加号数乘以倍数求得得出每例标本的NAP阳性积分。

## 三、统计学处理

采用SPSS 18.0软件分析,计数资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,两两比较采用单因素两水平 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

## 结 果

### 一、感染组与非感染组患者中性粒细胞碱性磷酸酶阳性率与阳性积分比较

感染组与非感染组患者相比,其中性粒细胞碱性磷酸酶的阳性率和阳性积分差异均无统计学意义,提示中性粒细胞碱性磷酸酶的两项指标无法用于感染者和非感染者的鉴别。

### 二、G<sup>+</sup>感染组、G<sup>-</sup>感染组与未感染组患者中性粒细胞碱性磷酸酶阳性率与阳性积分的比较

采用 $F$ 检验证实各组患者的阳性积分差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。通过两两对比发现:G<sup>+</sup>菌感染组与未感染组NAP阳性积分比较,差异具有统计学意义( $t = 2.57, P < 0.01$ );G<sup>-</sup>菌感染组与未感染组NAP阳性积分比较,差异无统计学意义( $t = 1.57, P > 0.05$ );G<sup>+</sup>菌感染组与G<sup>-</sup>菌感染组NAP阳性积分比较,差异具有统计学意义( $t = 1.88, P < 0.05$ )。提示通过测定患者的NAP阳性积分可有效地区分G<sup>+</sup>菌感染者与其他患者,其NAP阳性积分与另外两组患者的差异具有显著性和极显著性。

## 讨 论

通过对比感染与非感染者的NAP阳性率发现两组患者的NAP阳性率无统计学差异,考虑因为影响NAP的因素很多,单纯从NAP阳性率方面很难区分是否为感染。而在对NAP阳性积分的比较中发现:感染组与未感染组NAP阳性积分也无统计学意义,其原因可能是由于G<sup>-</sup>菌感染者的NAP阳性积分与未感染者类似,而李加增等<sup>[1,4]</sup>提示细菌感染时NAP阳性积分高于非感染时,与本研究结果不同,考虑ICU患者病情危重、多处于应激状态,侵入性操作多、影响因素多,常有免疫功能低下者,虽然将增殖性疾病、粒细胞白血病、淋巴细胞白血病、恶性淋巴瘤、骨转移瘤、病毒以及真菌感染等影响因素排除,仍有较多不确定因素可能影响NAP阳性积分的结果<sup>[5-6]</sup>。而G<sup>+</sup>感染者与未感染者的NAP阳性积分间的统计学极显著差异,则提示G<sup>+</sup>菌感染时NAP阳性积分有较高的敏感性,对于ICU患者NAP显著升高时,应考虑存在G<sup>+</sup>感染的可能性。

ICU病房医院感染发生率普遍较高,患者抗菌药物使用率、使用强度及使用时间均较普通病房高,

表1 两组患者中性粒细胞碱性磷酸酶阳性率与阳性积分的比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别   | 例数  | 阳性率(%)      | 阳性积分(分)      |
|------|-----|-------------|--------------|
| 感染组  | 141 | 90.8 ± 36.3 | 103.2 ± 55.7 |
| 非感染组 | 425 | 80.5 ± 43.7 | 87.3 ± 41.7  |
| $t$  |     | 1.44        | 1.64         |
| $P$  |     | > 0.05      | > 0.05       |

表2 三组患者中性粒细胞碱性磷酸酶阳性积分的比较

| 组别                 | 例数  | 阳性积分(分)                   |
|--------------------|-----|---------------------------|
| G <sup>+</sup> 感染组 | 68  | 127.4 ± 55.7 <sup>a</sup> |
| G <sup>-</sup> 感染组 | 73  | 89.3 ± 46.3               |
| 非感染组               | 425 | 87.3 ± 41.7               |

注:与非感染组相比,<sup>a</sup> $P < 0.01$

病情复杂,目前降钙素原(procalcitonin, PCT)已普遍应用在临床细菌感染的判断中,而对于何种细菌感染仍需依靠细菌培养判断,但微生物培养结果假阳性较多,需排除细菌定植及细菌污染的因素,因此培养结果阳性不一定能确诊为细菌感染,且细菌培养耗时长、操作繁琐、且增加操作人员医院感染的风险,不能为细菌感染快速诊断提供方便,故寻找快速有效的鉴定患者感染病原体的新方法具有重要意义<sup>[7-12]</sup>。

脓毒症休克治疗指南中要求在取得培养标本后立即应用强力、广谱、全覆盖所有可能的微生素,为下一步抢救措施的实施赢得时间<sup>[13]</sup>,但可能导致抗菌药物的超范围应用、菌群失调、耐药率增加、治疗费用增加、药物毒副作用增加等不利因素。本研究G<sup>+</sup>菌感染组与G<sup>-</sup>感染组NAP阳性积分比较,差异具有显著的统计学意义,提示NAP积分显著增高时,要考虑到G<sup>+</sup>感染的可能,如能与PCT结果相结合,PCT和NAP阳性积分显著增高的患者,G<sup>+</sup>菌感染的可性明显增大,应及时考虑有针对性的抗G<sup>+</sup>菌治疗。

NAP是中性粒细胞成熟颗粒所释放的一种酶,偶氮偶联法染色技术可以直接反映NAP活性强度,NAP的活性可以判断中性粒细胞的成熟程度和功能。NAP阳性积分是将每个标本的(+)号数乘以倍数求和得出,在细胞质内沉淀颗粒越多、染色越深,积分越高,是对NAP阳性率的放大,故能反映NAP的变化,这可能是在NAP阳性率不如阳恶性循环积分意义更大的原因。NAP阳性积分检测已在我国普及开展,成本低、一般1 h即可得出结果,与传统病原菌鉴定方法相比耗时更短,优势明显。

综上所述,NAP阳性积分可以有效提示G<sup>+</sup>菌感染的诊断,方便快捷,检验费用低。

## 参考文献

- 1 李加增,王鸿利,钱忠朝. 血液实验学[M]. 上海科学技术出版社,1997:66.
- 2 Kubota M, Haruta T. Neutrophil alkaline phosphatase activity in respiratory viral infection[J]. J Infect Chemother,2006,12(6):387-390.
- 3 Anna K, Laila K, Klaes D, et al. Neutrophil alkaline phosphatase activity increase in bacterial infections is not associated with a general increase in secretory vesicle membrane components[J]. Infect Immun,1995,63(3):911-916.
- 4 叶应妩,王毓三,申子瑜,等. 全国临床检验操作规程[M]. 东南大学出版社,2006:181-183
- 5 Yoshida Y, Katsurada T, Oguma S, et al. Absent or extremely low neutrophil alkaline phosphatase activity levels in patients with myelodysplastic syndromes[J]. Intern Med,2012,52(4):479-482.
- 6 Ozatli D, Timuragaoglu A, Alanoglu G, et al. BCR-ABL Transcript level and neutrophil alkaline phosphatase activity in CML patients treated with imatinib[J]. J Hemato Onco,2010,20(3):77-81.
- 7 王万海,徐岷,张傅山,等. ICU 患者下呼吸道感染病原菌的分布及其耐药性分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2013,7(3):36-40.
- 8 姜梅杰. 重症监护病房常见革兰阴性杆菌的分布及耐药性研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2012,6(1):39-42.
- 9 陈映,乔岩,赵燕. 医院感染细菌的临床分布及耐药性分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2013,7(1):76-79.
- 10 肖永红. 创新感染防控手段应对细菌耐药挑战[J]. 中华临床感染病杂志,2011,8(6):129-130.
- 11 马国丽,邹滨,王永才,等. 中性粒细胞碱性磷酸酶(NAP)对感染诊断的研究应用[J]. 中国医疗前沿,2010,5(12):67-68.
- 12 张亚男. 中性粒细胞碱性磷酸酶检验的诊断意义[J]. 中外健康文摘,2012,9(19):91-93.
- 13 Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012[J]. Intensive Care Med,2013,39(2):165-228.

(收稿日期: 2014-04-02)

(本文编辑: 孙荣华)

秦卫华, 李金秀, 李亚霖, 等. 中性粒细胞碱性磷酸酶阳性积分在革兰阳性球菌感染检测中的应用价值[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8 (6): 793-795.