

失代偿期肝硬化患者发生感染性休克影响因素

乔杰¹ 唐中权² 郭换珍¹ 路遥³ 张璐³

【摘要】目的 探讨失代偿期肝硬化患者发生感染性休克的影响因素。**方法** 收集内蒙古自治区人民医院感染科2013年3月至2018年2月收治的96例失代偿期肝硬化感染性休克患者,就其性别、年龄、住院时间、感染部位、病原微生物、基础疾病、白蛋白(ALB)、C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)和临床转归等与同期未发生感染性休克的失代偿期肝硬化患者进行回顾性对比分析。**结果** 入组的96例患者中肺部感染居首位,占46.8%(45/96),其次为腹腔感染[32.4%(31/96)]。96例患者中培养分离出病原菌者21例(21.9%)共23株,其中革兰阴性杆菌为78.3%(18/23),革兰阳性球菌为21.7%(5/23)。发生感染性休克患者的年龄、糖尿病、住院时间、ALB、CRP和PCT等与同期未发生感染性休克的肝硬化患者差异均有统计学意义($\chi^2 = 27.324, P < 0.001, \chi^2 = 16.146, P < 0.001, \chi^2 = 30.007, P < 0.001, \chi^2 = 26.984, P < 0.001, \chi^2 = 88.821, P < 0.001, \chi^2 = 96.028, P < 0.001$)。96例失代偿期肝硬化患者感染性休克病死率为39.6%,显著高于未发生感染性休克的肝硬化患者(8.5%),差异具有统计学意义($\chi^2 = 77.070, P < 0.001$)。**结论** 失代偿期肝硬化感染性休克患者的病死率较高,与患者年龄、病原微生物、感染部位、糖尿病病史、住院时间相关;ALB、CRP和PCT为失代偿期肝硬化患者发生感染性休克的早期敏感检测指标。

【关键词】 肝硬化, 失代偿期; 感染性休克; 感染部位; 病原菌

Influencing factors of septic shock of patients with decompensated cirrhosis Qiao Jie¹, Tang Zhongquan², Guo Huanzhen¹, Lu Yao³, Zhang Lu³. ¹Infection Department, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010010, China; ²Department of Hepatology, The Second Hospital of Hohhot, Hohhot 010031, China; ³Hepatology 2nd Department, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China
Corresponding author: Zhang Lu, Email: zhanglu1218@126.com

【Abstract】Objective To investigate the influencing factors of septic shock of patients with decompensated cirrhosis. **Methods** From March 2013 to February 2018, a total of 96 patients with decompensated cirrhosis and septic shock were collected from Infection Department, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital. The sex, age, length of stay in hospital, sites of infection, pathogenic microorganism, underlying diseases, albumin (ALB), C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT) and clinical outcomes of the 96 cases were retrospectively compared with decompensated cirrhosis patients without septic shock during the same period. **Results** Among the 96 patients, pulmonary infection ranked the first, accounting for 46.8% (45/96), followed by abdominal infection [32.4% (31/96)]. Total of 23 strains of pathogenic bacteria were isolated from 21 patients (21.9%, 21/96), among which, 78.3% (18/23) were Gram-negative bacilli and 21.7% (5/23) were Gram-positive cocci. There were significant differences in age ($\chi^2 = 27.324, P < 0.001$), diabetes mellitus ($\chi^2 = 16.146, P < 0.001$), length of hospitalization ($\chi^2 = 30.007, P < 0.001$), ALB ($\chi^2 = 26.984, P < 0.001$), CRP ($\chi^2 = 88.821, P < 0.001$) and PCT ($\chi^2 = 96.028, P < 0.001$) between decompensated cirrhosis patients with septic shock and those without septic shock in the same period. The mortality of decompensated cirrhosis patients with septic shock was 39.6%, which was significantly higher than that of those patients without septic shock (8.5%), with significant difference ($\chi^2 = 77.070, P < 0.001$). **Conclusions** The mortality of decompensated cirrhosis patients with septic shock is high, which is correlated with age, pathogenic

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2019.02.003

基金项目: 首都临床特色应用研究专项资助课题(No. Z151100004015122); 北京市医院管理局临床医学发展专项经费资助(No. XMLX 201706); 北京市医院管理局消化内科学科协同发展中心资助课题(No. XXZ0302)

作者单位: 010010 呼和浩特市, 内蒙古自治区人民医院感染科¹; 010031 呼和浩特市, 呼和浩特市第二医院肝病科²; 100015 北京, 首都医科大学附属北京地坛医院肝病科³

通信作者: 张璐, Email: zhanglu1218@126.com

microorganism, infection sites, history of diabetes mellitus and length of hospitalization; ALB, CRP and PCT are sensitive indexes for decompensated cirrhosis patients in early stage of septic shock.

【Key words】Decompensated cirrhosis; Infectious shock; Infection site; Pathogenic bacteria

失代偿期肝硬化患者因肝功能严重受损, 细胞免疫、体液免疫均存在不同程度的缺陷, 患者感染后极易引发感染性休克, 导致临床病死率显著升高^[1-4]。本研究通过对内蒙古自治区人民医院感染科2013年3月至2018年2月收治的96例失代偿期肝硬化合并感染性休克患者的临床资料进行回顾性分析, 旨在探讨失代偿期肝硬化患者发生感染性休克的影响因素, 以提高对该疾病的早期认知, 从而降低失代偿期肝硬化患者的病死率, 现报道如下。

资料与方法

一、一般资料

收集内蒙古自治区人民医院感染科2013年3月至2018年2月收治的826例失代偿期肝硬化患者为研究对象, 其中合并感染性休克患者96例, 男性65例、女性31例、男女之比为2.2:1, 年龄29~75岁、平均年龄(49.1 ± 10.3)岁。病因: 乙型肝炎肝硬化患者59例、酒精性肝硬化患者18例、自身免疫性肝硬化患者14例、丙型肝炎肝硬化患者5例。基础疾病: 合并糖尿病患者22例、高血压患者16例、冠心病患者12例、甲状腺功能减退患者5例、重症肌无力患者2例。

二、入选条件及排除标准

失代偿期肝硬化诊断符合中华医学会肝病学分会制订的《肝硬化腹水及相关并发症的诊疗指南》相关标准^[5]; 感染性休克诊断符合中国医师协会急诊医师分会制订的《中国急诊感染性休克临床实践指南》相关标准^[6]。

排除标准: ①既往存在心、脑、肾功能障碍; ②合并非感染所致的休克; ③合并肝脏或全身其他部位恶性肿瘤; ④真菌感染或合并真菌感染而使用抗真菌药物; ⑤多部位感染。

三、方法

采取回顾性分析对符合入选标准的96例失代偿期肝硬化合并感染性休克患者的性别、年龄、住院时间、感染部位、病原微生物、基础疾病、住院时间以及血清白蛋白(albumin, ALB)、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、降钙素原(procalcitonin, PCT)、临床病死率与同期未发

生感染性休克的失代偿期肝硬化患者进行对比分析。实验室检测指标的入选时段与判定标准: ALB以入院首次肝功能水平为准, CRP和PCT以患者住院期间的最高水平为准。CRP > 8 mg/L、PCT > 0.5 ng/ml判定为阳性^[7-8]。

四、统计学处理

采用SPSS 19.0软件包进行统计学分析, 患者感染部位、病原菌、基础疾病以及死亡病例等计数资料均采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、失代偿期肝硬化患者感染性休克发生率与感染部位

失代偿期肝硬化患者发生感染性休克共96例, 占同期本院收治失代偿期肝硬化患者(826例)的11.6%。感染部位: 肺部感染45例(46.8%)居首位, 其次为腹腔感染31例(32.4%), 其他依次为肠道感染7例(7.4%)、胆道感染5例(5.2%)、泌尿系统和皮肤软组织感染各4例(4.2%)。

二、失代偿期肝硬化感染性休克患者的一般资料

失代偿期肝硬化患者中, 男女患者比例分别为11.4%和12.2% ($\chi^2 = 0.096$, $P = 0.757$); 年龄<60岁、≥60岁患者感染性休克的发生率分别为6.9%和21.1% ($\chi^2 = 27.324$, $P < 0.001$); 住院时间<30 d、≥30 d患者感染性休克的发生率分别为6.2%和20.6% ($\chi^2 = 30.007$, $P < 0.001$), 差异均有统计学意义, 详见表1。

三、失代偿期肝硬化感染性休克患者的病原学检测

96例患者中有21例分离培养出病原菌23株, (21.9%, 21/96)。其中, 革兰阴性杆菌18株(78.3%, 18/23), 革兰阳性球菌5株(21.7%, 5/23)。病原菌分布详见表2。

四、失代偿期肝硬化感染性休克患者的基础疾病

失代偿期肝硬化患者的基础疾病中, 合并与不合并高血压冠心病者感染性休克发生率分别为15.1%和10.3%, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.625$, $P = 0.105$); 合并与不合并糖尿病患者与感染性休克发

生率分别为28.2%和9.9%，差异有统计学意义 ($\chi^2 = 16.146$ 、 $P < 0.001$)；合并与不合并甲状腺功能减退者感染性休克发生率分别为18.5%和11.4% ($\chi^2 = 0.996$ 、 $P = 0.326$)，合并与不合并重症肌无力者感染性休克发生率分别为28.5%和11.5% ($\chi^2 = 1.359$ 、 $P = 0.244$)，差异均无统计学意义，见表3。

五、失代偿期肝硬化患者发生感染性休克的生物化学指标

96例失代偿期肝硬化发生感染性休克患者相

关生物化学指标见表4，ALB、CRP和PCT差异均有统计学意义 (P 均 < 0.001)，见表4。

六、失代偿期肝硬化合并感染性休克死亡患者感染部位

96例感染性休克患者中，死亡38例，其中肺部感染者26例 (68.4%)，腹腔感染者8例 (21.1%)，肠道、胆道、泌尿系统、皮肤软组织感染者各1例 (2.6%)。肺部感染者病死率最高57.8% (26/45)、其次为腹腔感染25.8% (8/31)，见表5。

表 1 826 例失代偿期肝硬化患者中发生感染性休克者的一般资料

失代偿期肝硬化患者	例数	发生感染性休克患者 [例 (%)]	χ^2 值	P 值
性别				
男	572	65 (11.4)	0.096	0.757
女	254	31 (12.2)		
年龄 (岁)				
< 60	551	38 (6.9)	27.324	< 0.001
≥ 60	275	58 (21.1)		
住院时间 (d)				
< 30	515	32 (6.2)	30.007	< 0.001
≥ 30	311	64 (20.6)		

表 2 96 例失代偿期肝硬化感染性休克患者的病原菌分布

病原菌	株数	构成比 (%)
革兰阴性杆菌	18	78.3
大肠埃希菌	8	34.8
肺炎克雷伯菌	5	21.7
铜绿假单胞菌	3	13.1
鲍曼不动杆菌	2	8.7
革兰阳性球菌	5	21.7
金黄色葡萄球菌	2	8.7
粪肠球菌	2	8.7
表皮葡萄球菌	1	4.3

表 3 826 例失代偿期肝硬化患者中发生感染性休克者的基础疾病

失代偿期肝硬化患者基础疾病	例数	发生感染性休克患者 [例 (%)]	χ^2 值	P 值
高血压冠心病				
有	185	28 (15.1)	2.625	0.105
无	661	68 (10.3)		
糖尿病				
有	78	22 (28.2)	16.146	0.000
无	748	74 (9.9)		
甲状腺功能减退				
有	27	5 (18.5)	0.996	0.326
无	799	91 (11.4)		
重症肌无力				
有	7	2 (28.5)	1.359	0.244
无	819	94 (11.5)		

表4 96例失代偿期肝硬化感染性休克者的生物化学指标

失代偿期肝硬化患者生物化学指标	发生感染性休克患者[例(%)]	χ^2 值	P值
ALB (g/L) ^a		26.984	< 0.001
< 30.0	79 (17.5)		
≥ 30.0	17 (4.5)		
CRP (mg/L)		88.821	< 0.001
≤ 8.0	11 (1.6)		
> 8.0	85 (55.2)		
PCT (ng/L) ^b		96.028	< 0.001
≤ 0.5	7 (0.9)		
> 0.5	89 (72.9)		

注: ^a: ALB 30.0 g/L 为失代偿期肝硬化患者出现腹水的临界值; ^b: PCT 0.5 ng/L 为临床检测正常值上限^[7-8]

表5 失代偿期肝硬化感染性休克患者中死亡者的感染部位

失代偿期肝硬化感染性休克患者感染部位	例数	死亡患者[例(%)]
肺部	45	26 (57.8)
腹腔	31	8 (25.8)
肠道	7	1 (14.3)
胆道	5	1 (20.0)
泌尿	4	1 (25.0)
皮肤软组织	4	1 (25.0)

七、失代偿期肝硬化感染性休克患者的病死率

本研究收集的826例失代偿期肝硬化患者中,未发生感染性休克者730例,死亡62例,病死率为8.5%。发生感染性休克96例,死亡38例,病死率为39.6%。发生感染性休克与未发生感染性休克患者病死率差异有统计学意义($\chi^2 = 77.070$ 、 $P < 0.001$)。

讨 论

感染性休克为临床急危重症之一。失代偿期肝硬化患者一旦发生感染,若未得到及时有效的抗菌治疗,机体发生促炎症细胞因子和血流动力学紊乱,患者短期内将出现肝功能急性恶化和感染性休克^[9-10],导致病死率显著上升。本研究中96例失代偿期肝硬化合并感染性休克患者,病死率为39.6%,显著高于未合并感染性休克患者(8.5%),提示感染性休克可显著增加肝硬化患者的病死率,故积极探讨失代偿期肝硬化患者感染性休克诱发因素和临床生物化学指标,并进行积极预防具有重要的临床意义。

细菌感染是肝硬化患者最常见的并发症,感染率达54.5%~83.9%^[11-12],国内外文献均显示肝硬化患者易感部位以腹腔感染为最多见,占肝硬化细菌感染者的70.0%以上^[12-13]。本研究96例失代偿期肝硬化合并感染性休克患者中,肺部感染占首位(46.8%),提示肝硬化肺部感染者更易发生感染性休克。因失代偿期肝硬化患者多存在大量、顽固性腹水。腹水抬高膈肌,压迫肺组织,肺呼吸功能受限,加之肝硬化患者相关免疫功能长期障碍肺组织易发生感染^[11]。同时肝硬化期的肺动-静脉、肺-门静脉等循环结构异常,病原体直接进入肺部而引发感染^[12]。此外,肺部感染时肺泡氧弥散功能下降,出现低氧血症,组织处于乏氧状态,酸中毒加重,在细菌内毒素作用下,外周微循环发生障碍^[11],这也是肝硬化肺部感染者易发生感染性休克的另一重要因素。

本研究96例失代偿期肝硬化感染性休克患者中,病原菌阳性检出率为21.9%,与文献报道的20.0%相近^[14];本研究病例共分离出23株病原菌,其中革兰阴性杆菌占78.3%,提示失代偿期肝硬化患者易出现感染性休克与革兰阴性杆菌感染率较高相关^[12]。分析原因与革兰阴性杆菌在失代偿期肝硬化患者中易发生肠道菌群移位和(或)其释放的内毒素易损伤血管内皮细胞相关^[15-16]。

抗菌药物是肝硬化合并感染者重要的治疗手段,也是降低病死率的关键措施^[13, 17]。本研究所分离的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌占所分离病原菌的56.5%。有文献报道大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌天然耐药率高^[18-19],对多种抗菌药物不敏感也是导致失代偿期肝硬化患者易发生感染性休克的原因之一。

万古霉素对细菌天然耐药率低,为肝硬化等终末期肝病患者发生革兰阳性菌感染的首选药物^[20-21]。有文献报道,低ALB血症与万古霉素有效血药浓度具有显著相关性^[22]。低ALB血症是失代偿期肝硬化患者最常见的临床特征,因ALB检测水平易受血制品影响,故评估ALB水平应以临床使用血制品前的检测结果为宜。本组ALB < 30.0 g/L失代偿期肝硬化患者的感染性休克发生率为17.5%,显著高于ALB ≥ 30.0 g/L患者(4.5%),提示伴低ALB血症的肝硬化患者更易发生感染性休克。分析其原因,除低ALB血症患者肝功能低下,免疫物质合成严重不足外,推测与低ALB血症致抗菌药物的有效血药浓度低下相关。有文献报道抗菌药物联合人血ALB治疗肝硬化自发性细菌性腹膜炎患者,较单一使用抗菌药物可显著降低患者的病死率^[23]。目前针对肝硬化患者低蛋白血症的血药浓度研究较少,尚待进一步证实。

PCT和CRP为重要的炎性标志物。CRP为急性非特异性时相蛋白,敏感度为51.4%~65.9%^[7, 24],可用于炎症的早期诊断^[13]。PCT为降钙素前体,细菌感染3~6 h即开始升高,于8~24 h达峰值,敏感性为71.4%~93.3%^[7, 25],且其含量不受非感染因素影响,是判定细菌感染的可靠指标^[26-27]。本研究显示,96例感染性休克患者中CRP和PCT阳性率分别为55.2%和72.9%,显著高于CRP ≤ 8 mg/L和PCT ≤ 0.5 ng/ml者的1.6%和0.9%,提示CRP、PCT对于失代偿期肝硬化合并感染性休克患者具有重要的诊断价值。

本研究96例失代偿期肝硬化感染性休克患者中死亡38例,其中肺部感染者的病死率占首位[57.8% (26/45)],提示肺部感染不仅易发生感染性休克,且更易导致患者死亡。有文献报道肝功能衰竭合并肺部感染者的病死率可达48.6%^[28],提示肝硬化合并肺部感染者,无论是否发生感染性休克,均预后不良,故积极防治肺部感染也是降低失代偿期肝硬化患者病死率的重要措施。

综上,感染性休克是失代偿期肝硬化患者最严重的并发症之一,与年龄、感染部位、细菌种类、低蛋白血症、糖尿病病史和住院时间均具有一定相关性。对高龄、肝硬化病史长、合并糖尿病、反复长时间住院的失代偿期肝硬化患者,发生肺部细菌感染,特别是伴低ALB血症、CRP > 8.0 mg/L、PCT > 0.5 ng/L的患者,需高度警惕感染性休克的

发生,宜积极预防、早期给予合理诊治以改善失代偿期肝硬化患者的预后。

参 考 文 献

- [1] Huang YW, Hu JT, Yang SS. Complications of alcoholic liver cirrhosis: active assessment by endoscopy and sonography[J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1864-1865.
- [2] Fernandez J, Gustot T. Management of bacterial infections in cirrhosis[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(Suppl 1): S1-S5.
- [3] 武健, 尹芳, 罗贯虹, 等. 失代偿期肝硬化患者低钠血症与肝损伤程度及并发症的关系[J]. *临床肝胆病杂志*, 2017, 33(2): 277-280.
- [4] 董刚, 凌宾芳, 徐晨. 肝硬化相关性免疫功能障碍的研究进展[J]. *实用医学杂志*, 2014, 30(24): 4049-4050.
- [5] 中华医学会肝病学分会. 肝硬化腹水及相关并发症的诊疗指南[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2017, 9(4): 6-21.
- [6] 中国医师协会急诊医师分会. 中国急诊感染性休克临床实践指南[J]. *中国急救医学*, 2016, 36(3): 193-206.
- [7] 毛辉, 李海强. 血清降钙素原与C-反应蛋白联合检测在肝硬化并肺部感染患者中的诊断价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2016, 23(12): 1447-1449.
- [8] 景富春, 张素梅, 高英, 等. 血清PCT与CRP检测在肝硬化并肺部感染患者诊治中的临床价值[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(11): 1457-1458.
- [9] Dirchwolf M, Ruf AE. Role of systemic inflammation in cirrhosis: from pathogenesis to prognosis[J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(16): 1974-1981.
- [10] Bunchorntavakul C, Chavalitdharmrong D. Bacterial infections other than spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis[J]. *World J Hepatol*, 2012, 4(5): 158-168.
- [11] 骆文君, 郑媛钰, 叶秋, 等. 肝硬化患者并发肺部感染92例临床分析[J/CD]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2017, 10(3): 337-339.
- [12] 王梅. 肝硬化并发细菌感染的原因及防治措施[J]. *系统医学*, 2017, 2(3): 39-41.
- [13] Thévenot T, Briot C, Macé V, et al. The periscreen strip is highly efficient for the exclusion of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic outpatients[J]. *Am J Gastroenterol*, 2016, 111(10): 1402-1409.
- [14] 王大刚, 朱剑功, 华菲, 等. 多指标联合检测在肝硬化合并感染诊断中的价值[J]. *第二军医大学学报*, 2015, 36(10): 1148-1151.
- [15] 尹文, 李俊杰. 感染性休克发病机制的研究进展[J]. *中国急救医学*, 2015, 35(3): 196-202.
- [16] 彭伯坚, 曹天生, 王健, 等. CRP和血清降钙素原联合检测诊断肝硬化腹水非多形核细胞性自发性细菌性腹膜炎的价值[J]. *沈阳医学院学报*, 2017, 19(4): 322-325.
- [17] Wong F, Pappas SC, Boyer TD, et al. Terlipressin improves renal function and reverses hepatorenal syndrome in patients with systemic inflammatory response syndrome[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2017, 15(2): 266-272.
- [18] 李怡, 陈玲, 李婧, 等. 2012-2016年革兰阴性菌的临床分布及耐药性分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(8): 1166-1169.
- [19] 胡月, 王宇, 刘景院, 等. 社区获得性肺炎病原学及耐药现状研究进展[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2018, 12(3): 209-

- 211.
- [20] Chen CT, Tseng YC, Yang CW, et al. Increased risks of spontaneous bacterial peritonitis and interstitial lung disease in primary biliary cirrhosis patients with concomitant sjögren syndrome[J]. *Medicine*,2016,95(2):e2537-e2539.
- [21] 陈茜,廖完敏,龚风云,等.重症肝病患者病原菌感染分布及耐药性分析[J].*解放军医学杂志*,2018,43(1):28-32.
- [22] 代伟,陈瑞祥,温瑾,等.重症肺炎患者应用万古霉素后血谷谷浓度影响因素[J].*热带医学杂志*,2018,18(6):795-798.
- [23] Thevenot T, Bureau C, Oberti F, et al. Effect of albumin in cirrhotic patients with infection other than spontaneous bacterial peritonitis. A randomized trial[J]. *J Hepatol*,2015,62(4):822-830.
- [24] Alexopoulou A, Vasilieva L, Agiasotelli D, et al. Extensively drug resistant bacteria as an independent predictive factor of mortality in spontaneous bacterial peritonitis and spontaneous bacteremia[J]. *J Hepatol*,2016,64(2):S248-S248.
- [25] Ison MG. Empiric treatment of nosocomial spontaneous bacterial peritonitis: one size does not fit all[J]. *Hepatology*,2016,63(4):1083-1085.
- [26] 鲁炳怀,时琰丽,李雪清,等.血清降钙素原在诊断老年肺部感染中的临床价值[J].*首都医科大学学报*,2014,35(4):456-462.
- [27] 繆希莉,梅四清,高贵民.血清降钙素原联合炎症指标对慢性重型乙型肝炎合并自发性细菌性腹膜炎的诊断价值[J].*广东医学*,2016,37(17):2625-2628.
- [28] 陈明胜,甘巧蓉,江晓燕,等.乙型肝炎病毒相关慢加急性肝功能衰竭患者合并肺部感染的临床分析[J].*中华传染病杂志*,2015,33(4):193-197.

(收稿日期: 2019-01-23)

(本文编辑: 孙荣华)

乔杰,唐中权,郭换珍,等.失代偿期肝硬化患者发生感染性休克影响因素[J/CD].*中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2019,13(2):99-104.

