

慢性阻塞性肺疾病合并肺部感染者 病原菌分布及相关血清细胞因子水平 对临床转归的影响

范莎 郭磊

【摘要】目的 分析慢性阻塞性肺疾病(COPD)合并肺部感染者病原菌分布以及相关血清细胞因子水平对患者临床转归的影响。**方法** 选取2015年2月至2017年2月长治医学院附属和济医院收治的178例COPD合并肺部感染者作为研究对象;采用呼吸道9项病毒荧光标记PCR进行病毒鉴定;采用BD BACTEC™ FX40全自动细菌鉴定仪鉴定细菌种类;采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清白细胞介素(IL-6、IL-10)、干扰素(IFN- α 、IFN- γ)和肿瘤坏死因子(TNF- α 、TNF- β)水平;并分析以上指标对COPD合并肺部感染者临床转归的影响。**结果** 178例入组患者根据感染病原体不同分为病毒感染组36例(20.22%)和细菌感染组(142例),其中细菌感染组患者中革兰阳性菌感染者47例(26.41%),革兰阴性菌感染者95例(53.37%)。细菌感染组患者血清IL-6、IL-10、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 和TNF- β 水平均显著高于病毒感染组,差异均有统计学意义(P 均 < 0.001)。178例患者中住院天数 ≥ 7 d者和死亡者IL-6、IL-10、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 和TNF- β 水平分别显著高于住院天数 < 7 d者和生存者,差异均有统计学意义(P 均 < 0.001)。Logistic回归分析显示,高龄、阻塞性肺疾病全球倡议(GOLD)分级(3/4)、革兰阴性菌感染和高水平IL-6均为患者短期临床转归的重要影响因素($P = 0.01$ 、 0.01 、 0.04 、 0.03);而高龄、GOLD分级(3/4)、吸烟史、住院天数 ≥ 7 d和第1秒用力呼气量(FEV1)(%预测值)则均为患者长期临床转归的重要影响因素(P 均 < 0.05)。**结论** COPD合并肺部感染以革兰阴性菌感染最多见,因病原菌种类不同,IL、IFN和TNF等细胞因子水平差异较大,其中IL-6对患者短期临床转归影响较为显著。

【关键词】 慢性阻塞性肺疾病;肺部感染;病原菌分布;细胞因子;临床转归

Effects of pathogenic bacteria distribution and serum cytokine levels on clinical outcomes of patients with chronic obstructive pulmonary disease complicated with pulmonary infection Fan Sha, Guo Lei. Department of Respiratory Medicine, Heji Hospital Affiliated to Changzhi Medical College, Changzhi 046000, China

Corresponding author: Fan Sha, Email: gary201y@163.com

【Abstract】Objective To investigate the distribution of pathogenic bacteria in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) complicated with pulmonary infection, and to analyze the effect of related serum cytokine levels on the clinical outcome of patients. **Methods** From February 2015 to February 2017, a total of 178 patients with COPD complicated with pulmonary infection were treated in Heji Hospital Affiliated to Changzhi Medical College. Virus identification was done by nine respiratory tract viruses fluorescent labeling PCR. The species of bacteria were identified by BD BACTEC™ FX40 automatic bacterial identification instrument. Serum interleukin (IL-6 and IL-10), interferon (IFN- α and IFN- γ) and tumor necrosis factor (TNF- α and TNF- β) were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA); while the effect of the above indexes on the clinical outcome of COPD patients complicated with pulmonary infection were analyzed, respectively. **Results** Total of 178 patients with COPD were divided

into virus infection group (36 cases, 20.22%) and bacterial infection group (142 cases) according to the detected pathogen. Among the 142 cases with bacterial infection, 47 (26.41%) patients were with Gram-positive bacteria infection and 95 (53.37%) with Gram-negative bacteria infection. The levels of serum IL-6, IL-10, IFN- α , IFN- γ , TNF- α and TNF- β in bacterial infection group were significantly higher than those of virus infection group, all with significant differences (all $P < 0.001$). The levels of IL-6, IL-10, IFN- α , IFN- γ , TNF- α and TNF- β of patients with hospitalization days ≥ 7 days and the died cases were significantly higher than those with hospitalization days < 7 days and the survivors, respectively, all with significant differences (all $P < 0.001$). The results of Logistic regression analysis showed that elderly, Global Initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD) grade (3/4), Gram-negative bacterial infection and high level of IL-6 were all important factors affecting the short-term clinical outcome of patients ($P = 0.01, 0.01, 0.04$ and 0.03). And elderly, GOLD grade (3/4), smoking history, hospitalization days ≥ 7 d, forced expiratory volume in the first second (FEV1) (% predictive value) were important factors for the long-term clinical outcome of the patients (all $P < 0.05$). **Conclusions** Gram-negative bacteria infection is most common among patients with COPD complicated with pulmonary infection. COPD and complicated with pulmonary infection is the most common infection of Gram-negative bacteria. Due to the different kinds of pathogenic bacteria, the levels of cytokines such as IL, IFN and TNF vary greatly; among whom, IL-6 has a significant effect on the short-term clinical outcome of patients.

【Key words】 Chronic obstructive pulmonary disease; Pulmonary infection; Pathogenic bacteria distribution; Cytokine; Clinical outcome

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是呼吸内科最常见的慢性疾病之一, 持续气流受限及呼吸症状是其典型特征, 与有毒气体及颗粒暴露相关^[1-2]。根据疾病状况及病程可将COPD分为急性加重期和稳定期COPD, 前者多伴肺部感染, 短期内可出现咳嗽、咯痰、气短和(或)喘息等症状加重, 痰量明显增多, 呈黏脓性或脓性, 且伴发热等炎性表现; 因诊断及处理方式不同, 临床转归相差甚远; 若不及时正确处理易导致迁延不愈, 并发肺源性心脏病, 最终演变成呼吸功能衰竭和心功能衰竭, 严重危害患者的生活质量及生命^[3-4]。近年数据显示, COPD致死率在所有疾病中位居第4位, 故早期准确诊断是保证COPD患者预后的关键^[5-6]。目前临床多检测血常规、降钙素原、C-反应蛋白及细菌培养及鉴定等进行诊断, 但其因耗时长、特异性及阳性率低而延误了患者诊疗, 故寻找快速有效的检查方法迫在眉睫^[7-8]。有研究发现, 血清细胞因子与COPD和肺部感染发生发展密切相关, 尤以白细胞介素(interleukin, IL)、干扰素(interferon, IFN)及肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)最为显著, 但关于以上指标对COPD合并肺部感染临床价值的报道较见^[9-10]。故本研究选取178例COPD合并肺部感染者的临床资料, 探讨病原菌分布和相

关血清细胞因子对该病患者临床转归的影响, 为COPD诊疗提供更多依据, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

选取2015年2月至2017年2月于长治医学院附属和济医院诊治的178例COPD合并肺部感染者为研究对象, 根据病原菌类型不同可分为病毒感染组(36例)和细菌感染组(142例); 其中细菌感染组患者根据革兰染色结果分为革兰阳性菌组(47例)和革兰阴性菌组(95例)。根据临床转归将178例COPD合并肺部感染者按照短期临床转归(包括住院天数 ≥ 7 d和 < 7 d)和长期临床转归(生存和死亡)各分为两组。

纳入标准: ①COPD诊断符合《2017年GOLD慢性阻塞性肺疾病指南》, 肺部感染符合人民卫生出版社第8版教材^[11]中“肺部感染诊断标准”者; ②病程 > 10 年; ③依从性良好者。

排除标准: ①合并呼吸系统以外其他感染性疾病者; ②合并肺结核、肺水肿和肺占位性病变等相关疾病者; ③近半年使用免疫制剂者; ④就诊时已使用抗菌药物者; ⑤混合感染者。

病毒感染组中男性患者20例, 女性患者16

例;平均年龄(53.82 ± 5.31)岁;细菌感染组中男性患者88例,女性患者54例;平均年龄(54.15 ± 5.44)岁。病毒感染组和细菌感染组患者性别($\chi^2 = 0.496$ 、 $P = 0.481$)和年龄($t = 0.327$ 、 $P = 0.744$)差异无统计学意义。

本研究入组患者均签署知情同意书,并通过本院伦理委员会批准。

二、方法

(一) 标本采集及病毒鉴定

1. 标本采集:采用咽拭子采集标本(患者采用生理盐水漱口,医者应用压舌板轻压患者舌后,拭子深入咽部取由气管或肺部喷出的分泌物),并立即送检。

2. 病毒核酸提取:采用高纯度病毒总核酸提取试剂盒(瑞士-罗氏公司)提取咽拭子中病毒核酸,具体步骤参照试剂盒说明书。

3. 病毒类型检测:参考呼吸道9项病毒荧光标记聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)试剂盒(购自常州百代生物有限科技公司)说明书进行,并于美国ABI 7500 PCR仪检测。试剂盒病毒鉴定种类包括呼吸道合包病毒、副流感病毒1/2/3型、甲型/乙型流感病毒、腺病毒、冠状病毒及鼻病毒。

(二) 标本采集及细菌鉴定

1. 标本采集:未使用抗菌药物前,指导患者清晨使用生理盐水漱口2次,收集其喉咙深部痰液于无菌痰培养专用杯,剔除不合格标本,同时备好革兰染色涂片标本以供显微镜下观察,30 min内送检。

2. 细菌培养及鉴定:所有送检痰液标本常规接种于血琼脂平板、中国蓝平板和巧克力平板(上海广锐生物科技有限公司)后置于BD BACTEC™ FX40全自动细菌鉴定仪中培养,24 h后完成初步判断,3 d后作出确诊,对于真菌须培养7 d后给予诊断。

(三) 病毒及细菌结果分析

以上检测结果分析由检验及临床医师共同完成:当病毒核酸检测和培养基培养出一种以上病原菌时,应与临床医生联系,结合患者临床症状、痰涂片染色镜下检测及该患者近期病史综合考虑后分离优势菌,再次涂片确认后发出报告。

(四) 采用ELISA检测血清细胞因子

本研究所分析的血清细胞因子包括白细胞介

素(IL-6和IL-10)、干扰素(IFN- α 和IFN- γ)和肿瘤坏死因子(TNF- α 和TNF- β),均采用ELISA进行检测,试剂盒购自武汉默沙克生物科技有限公司,具体步骤如下:①标本收集:抽取空腹静脉血5 ml于肝素抗凝管中,后用Routine Benchtop Centrifuges型Thermo Fisher离心机4 000 r/min离心10 min(离心半径 $r = 40$ cm),分离血清于 -80 °C冰箱保存;②ELISA检测,具体参照试剂盒说明书进行,将终产物置于DNM-9602G型全自动酶联免疫检测仪(购自上海朗普有限公司)检测,记录吸光度值(A),并将其转化成浓度值。

(五) 观察指标

收集178例COPD合并肺部感染者的详细临床资料,如性别、年龄、阻塞性肺疾病全球倡议(Global Initiative for chronic obstructive lung disease, GOLD)分级、第1秒用力呼气量(forced expiratory volume in the first second, FEV1)(%预测值)、平均住院天数(短期临床转归)和随访18个月生存率(长期临床转归)等。

三、统计学处理

所有数据均用SPSS 19.0软件进行分析,患者年龄、IL-6、IL-10、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 和TNF- β 为计量资料,且符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 描述,两组间比较采用独立样本 t 检验,三组间比较采用单因素方差分析;患者性别和肺部感染病原菌分布为计数资料,用构成比(%)描述,采用Fisher精确概率法进行组间比较;采用Logistic回归分析临床转归影响因素;以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、肺部感染病原菌分布

178例COPD合并肺部感染者中病毒感染者36例(20.22%),细菌感染142例(79.78%),其中细菌感染者中革兰阳性菌感染者47例(26.41%)和革兰阴性菌感染者95例(53.37%),见表1。

二、各组患者血清细胞因子水平

细菌感染组患者血清IL-6、IL-10、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 和TNF- β 水平均显著高于病毒感染组患者,差异均有统计学意义(P 均 < 0.001);但细菌感染组中革兰阳性菌者和革兰阴性菌者以上指标差异均无统计学意义(P 均 > 0.05),见表2。

表4 患者短期临床转归影响因素的 Logistic 回归分析

影响因素	P值	OR值	95%CI
高龄	0.01	1.68	1.24~2.13
GOLD分级(3/4)	0.01	1.93	1.51~3.02
革兰阴性菌感染	0.04	1.14	0.94~1.74
高水平IL-6	0.03	1.04	0.84~1.66

表5 患者长期临床转归影响因素的 Logistic 回归分析

影响因素	P值	OR值	95%CI
高龄	0.01	1.69	1.10~2.34
GOLD分级(3/4)	< 0.001	1.86	1.36~3.17
吸烟史	0.03	1.10	0.83~1.53
住院天数≥ 7 d	0.03	1.36	1.14~1.59
FEV1(%预测值)	0.01	1.46	1.11~1.93

讨 论

COPD是全球发病率最高的慢性疾病之一,其病死率可与获得性免疫缺陷综合征“并驾齐驱”,已引起世界卫生组织关注^[12-13]。我国现有2 500万COPD患者,每年约100万死亡,1 000万残疾,严重影响我国人民的生命及生活质量^[14-16]。有文献报道,肺部感染是COPD患者最常见并发症,也是导致其死亡的关键危险因素之一;治疗过程中若不及时准确诊断可导致抗菌无效或耐药,治疗难度加大,可并发多重感染、多器官功能衰竭等严重致死并发症^[17-18]。近年,白细胞介素、干扰素和肿瘤坏死因子等被广泛用于评价感染性疾病,主要包括IL-2/4/6/10、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 和TNF- β 等^[19-20]。故分析COPD合并肺部感染病原菌分布、寻找快速有效指标,并探讨其对肺部感染临床转归影响十分重要,可帮助临床工作者降低致残率及病死率^[21-22]。

本研究通过呼吸道9项病毒荧光标记PCR和BD BACTEC TM^{FX}40全自动细菌鉴定仪联合鉴定发现178例COPD合并肺部感染者中病毒感染者36例(20.23%)、革兰阳性菌感染者47例(26.40%)和革兰阴性菌感染者95例(53.37%),甲型流感病毒、肺炎链球菌和铜绿假单胞菌/肺炎克雷伯菌在以上3类病原菌中占较大比例,与我国主流研究结果基本一致^[23-24]。本研究选取IL-6、IL-10、IFN- α 、IFN- γ 及TNF- β 进行研究,发现白细胞介素、干扰素及肿瘤坏死因子均可作为鉴别肺部病毒感染和细菌感染的有效指标,但对鉴别革兰阳性和革兰阴性菌意义不大;本研究还发现住院天数≥

7 d者和死亡者血清IL-6、IL-10、IFN- α 、IFN- γ 、TNF- α 和TNF- β 均显著高于住院天数< 7 d者和生存者,提示以上细胞因子与患者临床转归有一定关联,且细胞因子水平越高,短期和长期临床转归均越差。经Logistic回归分析发现,IL-6是影响短期临床转归的重要因素,但对长期转归意义不大,可能因IL-6是炎症反应中重要趋化因子,可有效杀死病原菌;此外,还发现高龄和GOLD分级(3/4)均可影响患者临床转归,对此类患者应特别关注;Logistic回归还提示革兰阴性菌感染为影响短期临床转归又一重要因素,吸烟史、住院天数≥ 7 d和FEV1(%预测值)为长期临床转归的其他重要影响因素,需引起临床工作者及患者自身关注。以上部分研究结果与钟国泽等^[25]基本一致。但本文未阐明关于病原菌分布及细胞因子对临床转归的作用机制,有待后续继续研究。

综上,COPD合并肺部感染以革兰阴性感染最多见,病原菌种类不同,白细胞介素、干扰素及肿瘤坏死因子等细胞因子差异甚大,其中IL-6对短期临床转归影响较大,具有一定临床参考价值。

参 考 文 献

- [1] 黄晓梅,贺云鹏,许元文.慢性阻塞性肺疾病-哮喘重叠综合征和COPD患者临床特征的差异性[J].实用医学杂志,2016,32(15):2491-2494.
- [2] Pouwels SD, Hesse L, Faiz A, et al. Susceptibility for cigarette smoke-induced DAMP release and DAMP-induced inflammation in COPD[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2016, 311(5): L881-L892.
- [3] 张弘,蔡柏嵩.慢性阻塞性肺疾病急性加重临床研究进展[J].中国呼吸与危重症监护杂志,2016,15(2):198-202.
- [4] 张金彪,胡海涛,刘玉欣,等.改良NAP活性检测在慢性阻塞性肺疾

- 病急性加重期诊治中的应用价值[J]. 山东医药,2016,56(12):65-67.
- [5] 黄书明,王永莉. COPD急性加重期与COPD合并社区获得性肺炎的对比分析[J]. 国际呼吸杂志,2017,37(21):1618-1622.
- [6] Sheikh K, Coxson HO, Parraga G. This is what COPD looks like[J]. *Respirology*,2016,21(2):224-236.
- [7] Corrao S, Brunori G, Lupo U, et al. Effectiveness and safety of concurrent beta-blockers and inhaled bronchodilators in COPD with cardiovascular comorbidities[J]. *Eur Respir Rev*,2017,26(145):11035-11042.
- [8] Çolak A, Yılmaz C, Toprak B, et al. Procalcitonin and CRP as biomarkers in discrimination of community-acquired pneumonia and exacerbation of COPD[J]. *J Med Biochem*,2017,36(2):122-126.
- [9] 胡绘,赵苏,孔德勇,等. 联合检测hs-CRP、PCT和BNP在COPD急性恶化期中的诊断价值[J]. 重庆医学,2015(35):5010-5012.
- [10] Barnes PJ. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*,2016,138(1):16-27.
- [11] 葛均波,徐永健主编. 内科学. 第8版[M]. 人民卫生出版社,2013.
- [12] Negewo NA, Gibson PG, McDonald VM. COPD and its comorbidities: Impact, measurement and mechanisms[J]. *Respirology*,2015,20(8):1160-1171.
- [13] 高晶晶,程意,罗勇. COPD常见共患病及其流行病学特点和临床意义[J]. 国际呼吸杂志,2017,37(1):70-75.
- [14] Tripple JW, McCracken JL, Calhoun WJ. Biologic therapy in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Immunol Allergy Clin North Am*,2017,37(2):345-355.
- [15] 刘慧. 慢性阻塞性肺疾病流行病学及危险因素的研究进展[D]. 南昌大学,2017.
- [16] 肖甜,陈晓英,王娜,等. 中国大城市社区慢性阻塞性肺部疾病患者药物使用现状研究[J]. 中华流行病学杂志,2017,38(2):142-146.
- [17] López-Campos JL, Tan W, Soriano JB. Global burden of COPD[J]. *Respirology*,2016,21(1):14-23.
- [18] Hare KM, Smith-Vaughan HC, Chang AB, et al. Propensity of pneumococcal carriage serotypes to infect the lower airways of children with chronic endobronchial infections[J]. *Vaccine*,2017,35(5):747-756.
- [19] 刘欣艳,拓西平. 细胞因子/炎症因子及其通路在COPD合并营养不良中的研究进展[J]. 临床和实验医学杂志,2017,16(14):1454-1457.
- [20] Barnes PJ. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. *J Allergy Clin Immunol*,2016,138(1):16-27.
- [21] 潘丽娟,毛毅敏,孙瑜霞,等. 慢性阻塞性肺疾病患者肺部感染程度与肺功能的相关性分析[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(14):3161-3164.
- [22] 金敬顺. 影响急诊高龄肺部感染患者预后危险因素的Logistic回归分析[J]. 临床急诊杂志,2016,17(7):521-523.
- [23] 刘道喜,刘慧,王小明,等. 慢阻肺患者肺部感染对呼吸功能与细胞因子表达的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(5):1019-1022.
- [24] 周敏,余祖琳,王美芳,等. 慢性阻塞性肺疾病患者肺部感染的临床特征及病原菌分布[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(14):3158-3160.
- [25] 钟国泽. 不同病原体致COPD患者急性加重期血清炎症标志物改变及对患者临床转归的影响[J]. 中国微生态学杂志,2018,30(4):456-460.

(收稿日期:2018-11-01)

(本文编辑:孙荣华)

范莎,郭磊. 慢性阻塞性肺疾病合并肺部感染者病原菌分布及相关血清细胞因子水平对临床转归的影响[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2019,13(3):202-207.