

• 论 著 •

血清淀粉样蛋白 A 与 C 反应蛋白在小儿手足口病早期诊断中的临床应用价值

赵学芹¹, 梁绮华¹, 黄家良², 杨红玲^{1△}

(1. 广州市妇女儿童医疗中心临床检验部, 广东广州 510623; 2. 广州医科大学, 广东广州 511436)

摘要:目的 探讨血清淀粉样蛋白 A(SAA)、C 反应蛋白(CRP)在小儿手足口病(HFMD)早期诊断的临床应用价值。方法 采用胶体金渗滤法对 81 例 HFMD 患儿(HFMD 组)和 125 例健康儿童(健康对照组)血清/血浆标本进行 SAA、CRP 检测,同时收集血细胞检测参数进行比较分析,并采用受试者工作特征(ROC)曲线分析诊断效能。结果 HFMD 组血清 SAA、CRP 水平、SAA/CRP 比值及白细胞(WBC)计数均高于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。SAA 的 ROC 曲线下面积(AUC)为 0.921,高于 SAA/CRP 比值(0.846)、CRP(0.728)和 WBC 计数(0.721),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。SAA 对小儿 HFMD 的早期诊断效能较 CRP、WBC 计数和 SAA/CRP 比值高。结论 SAA 作为新的感染指标可以更有效地筛查出 HFMD,为临床医生提供更敏感的早期辅助诊断依据,值得临床广泛应用。

关键词:手足口病; C 反应蛋白; 血清淀粉样蛋白 A; 早期诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.18.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)18-2699-03

Clinical application value of serum amyloid A protein and C reactive protein in early diagnosis of hand-foot-mouth disease in children

Zhao Xueqin¹, Liang Qihua¹, Huang Jialiang², Yang Hongling^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong 510623, China; 2. Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 511436, China)

Abstract: Objective To explore the clinical application value of serum amyloid protein(SAA) and C reactive protein(CRP) in early diagnosis of hand-foot-mouth disease(HFMD) in children. Methods The serum/plasma levels of CRP and SAA in 81 children with HFMD(HFMD group) and 125 healthy children(healthy control group) were detected by using dot immunogold filtration assay. Data including white blood cell(WBC) count, levels of CRP and SAA were obtained and analyzed. And diagnostic efficacies of these indicators were evaluated by using receiver operating characteristic(ROC) curve. Results The serum levels of SAA and CRP and WBC count in HFMD group were significantly higher than those in healthy control group, and all had statistically significant differences($P < 0.05$). The area under the ROC curve(AUC) of SAA(0.921) was higher than that of CRP(0.728), SAA/CRP ratio(0.846) and WBC count(0.721) for diagnosing HFMD, there were statistically significant differences($P < 0.05$). Compared with CRP, WBC count and SAA/CRP ratio, SAA had better diagnostic efficacy. Conclusion As a new biomarker of infections, SAA can effectively diagnose HFMD early and provide more sensitive reference to clinicians for early diagnosis, which might be worthy of clinical application widely.

Key words: hand-foot-mouth disease; C reactive protein; serum amyloid A protein; early diagnosis

手足口病(HFMD)是由多种肠道病毒引起的儿童常见传染病。HFMD 疫情频频暴发严重影响儿童的生命和身体健康,寻找简便、快捷的 HFMD 早期鉴别诊断方法意义重大。C 反应蛋白(CRP)和血清淀粉样蛋白 A(SAA)均是炎症、感染密切相关的急性时相反应蛋白^[1-3]。其中, SAA 在病毒感染时也显著升高^[4-6], 在病毒性疾病的早期鉴别诊断和病情监测、预后评估方面有较大优势。因此,本研究采用胶体金渗滤法定量试剂盒即时检测 SAA,并与 CRP、白细胞(WBC)计数等传统指标比较,探讨其在本地区 HFMD 早期鉴别诊断中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2014 年 3~5 月广州市妇女儿童医疗中心就诊患儿或体检(保健)儿童 206 例,年龄 0~12 岁。其中 81 例 HFMD 患儿纳入 HFMD 组,男 57 例(占 70.4%),女 24 例(占 29.6%)。HFMD 判断标准:按 2013 年版《手足口病诊疗指

南》, HFMD 临床诊断病例和确诊病例或肠道病毒特异性核酸检测阳性(柯萨奇病毒 A16、肠道病毒 71 型或肠道病毒三者任何一种或多种为阳性);剔除降钙素原大于 0.5 $\mu\text{g/L}$ 的病例以排除混合感染者。另外 125 例门诊体检或保健健康儿童纳入健康对照组,男 76 例(占 60.8%),女 49 例(占 39.2%),近期均无感染史。

1.2 仪器与试剂 SAA 检测采用 SAA 定量试剂盒(广州广州珈源医学试剂公司), Qpad 金标数码定量分析仪(上海奥普生物医疗有限公司); CRP 检测采用 CRP 快速定量试剂盒和 i-CHROMATM Reader 免疫荧光分析仪(韩国 Boditech Med Inc 公司)。血常规检测采用 Sysmex XS-800i 血球分析仪(日本希斯美康公司),均已校准。操作步骤严格按仪器及试剂说明书进行。

1.3 方法 于患儿入院当天取外周静脉血,离心分离血浆/血清($\geq 0.2 \text{ mL}$)于环氧树脂(EP)试管,小于或等于 -70°C 保存

待测。同时取咽拭子做肠道病毒聚合酶链反应核酸检测。健康对照组取体检(保健)当日外周静脉血,同样方法分离冻存待测。SAA 检测采用胶体金渗滤法,CRP 检测采用胶体金法。以 HFMD 病原血清学核酸扩增检测阳性作为诊断小儿 HFMD 的"金标准",建立受试者工作特征(ROC)曲线。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 及 MedCalc 等软件进行数据处理与统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对两组数据进行 Levene 方差齐性检验,两组间比较采用独立样本 t 检验(方差不齐则采用 Satterthwaite 近似 t 检验),多组数据比较采用方差分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。并分别建立 WBC 计数、SAA、CRP 水平和 SAA/CRP 比值的 ROC 曲线,计算 ROC 曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、阳性似然比、阴性似然比的 95% 置信区间(CI),以及临界值(cutoff 值)、约登指数,分析各检测指标对 HFMD 的诊断效率。

2 结 果

2.1 两组各检测指标比较 经 Levene 方差齐性检验,两组 SAA 与 CRP 水平、WBC 计数及 SAA/CRP 比值方差不齐(F 值分别为 164.75、27.58、60.95、21.94, $P < 0.05$)。采用 Satterthwaite 近似 t 检验进行比较分析,HFMD 组 SAA 与 CRP 水平、WBC 计数及 SAA/CRP 比值均高于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 ROC 曲线分析 WBC 计数、SAA 与 CRP 水平、SAA/CRP 比值的 ROC 曲线见图 1。结果显示,SAA 水平、WBC 计数、CRP 水平及 SAA/CRP 比值的 AUC 的中位数(M)分别为

0.921、0.721、0.728、0.846,SAA 高于其他 3 项指标,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。评价各检测指标诊断小儿 HFMD 的各项参数见表 2。

表 1 两组各检测指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	WBC 计数 ($\times 10^9/L$)	SAA (mg/L)	CRP (mg/L)	SAA/CRP
健康对照	125	8.25 $\pm$ 1.96	6.15 $\pm$ 3.16	2.66 $\pm$ 2.31	5.24 $\pm$ 4.51
HFMD 组	81	11.44 $\pm$ 4.68	172.50 $\pm$ 198.59	12.30 $\pm$ 22.86	37.04 $\pm$ 95.45
<i>t</i>		5.819	7.538	3.784	2.997
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

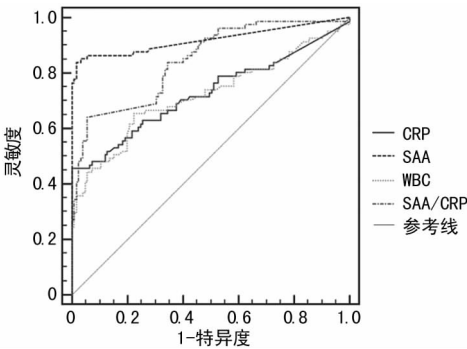


图 1 4 项检测指标诊断小儿 HFMD 的 ROC 曲线

表 2 4 项检测指标对小儿 HFMD 的诊断效能

检测指标	AUC[$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]	cutoff 值	灵敏度[$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]	特异度[$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]	阳性预测值[$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]
WBC 计数	0.721(0.654~0.781)*	9.30	0.67(0.55~0.77)	0.74(0.65~0.81)	0.62(0.51~0.72)
SAA	0.921(0.875~0.954)	10.70	0.86(0.77~0.93)	0.94(0.89~0.98)	0.91(0.82~0.96)
CRP	0.728(0.661~0.787)*	3.45	0.65(0.54~0.76)	0.68(0.59~0.76)	0.57(0.46~0.67)
SAA/CRP	0.846(0.789~0.892)*	9.09	0.73(0.62~0.82)	0.69(0.60~0.77)	0.60(0.50~0.70)

续表 2 4 项检测指标对小儿 HFMD 的诊断效能

检测指标	阴性预测值[$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]	阳性似然比[$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]	阴性似然比[$M(P_{2.5} \sim P_{97.5})$]	约登指数
WBC 计数	0.77(0.69~0.85)	2.53(2.10~3.00)	0.45(0.30~0.70)	0.40
SAA	0.92(0.85~0.96)	15.43(14.00~17.00)	0.16(0.06~0.40)	0.81
CRP	0.75(0.66~0.83)	2.04(1.70~2.50)	0.51(0.30~0.80)	0.33
SAA/CRP	0.80(0.71~0.87)	2.33(2.00~2.80)	0.39(0.30~0.60)	0.42

* : $P < 0.05$, 与 SAA 比较。

3 讨 论

单纯的病毒感染,WBC 计数和分类指标变化不明显,CRP 水平不升高或升高不明显,而感染初期的病毒相关 IgM 抗体滴度也尚未升高,给病毒感染早期诊断带来困难^[7]。SAA 是淀粉样沉积的前体物质,是肝脏分泌的一种急性时相蛋白,在健康人体血液中微量存在,在病毒或细菌感染 8~24 h 内明显升高,且半衰期短,仅 50 min^[8],随病情进展而变化迅速,是感染性疾病早期诊断和动态监测的灵敏指标^[9]。

本研究结果显示,HFMD 患儿 SAA 与 CRP 水平、WBC 计数及 SAA/CRP 比值均高于健康对照组,差异均有统计学意

义($P < 0.05$),其中 SAA 水平上升幅度更大。本研究标本在患儿入院当天采集,因此提示 SAA 可作为小儿 HFMD 早期鉴别诊断和病情监测的一项可靠指标。有研究发现,SAA/CRP 比值与小儿感染性疾病的严重程度存在相关性^[10]。本研究对 SAA/CRP 比值进行初步探讨,结果显示 SAA/CRP 比值是优于 CRP 水平和 WBC 计数的一项指标,有待于进一步监测普通和重症 HFMD 病例的 SAA/CRP 比值,以早期识别和诊断危重病例,减少并发症和降低病死率。

ROC 曲线分析显示,SAA 水平的 AUC(0.921)高于 CRP 水平(0.728)、SAA/CRP 比值(0.846)和 WBC 计数(0.721),

差异均有统计学意义($P<0.05$),表明 SAA 对小儿 HFMD 的诊断效能更高。当 SAA 取最佳截断值 10.70 mg/L 时, SAA 的灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值分别为 86%、94%、91%、92%, 阳性似然比、阴性似然比分别为 15.43、0.16, 约登指数为 0.81, 表明 SAA 可作为较好的辅助诊断指标。但是, SAA 并非 HFMD 的特异性诊断指标, 不能够确认疾病病因, 只提示感染。

CRP 检测在很多医院已作为与血常规同时进行的检测指标, 而对病毒感染诊断更有价值的 SAA 目前尚未广泛开展。本研究用于检测 SAA 的快速定量试剂盒快速简便、成本较低, 能满足门诊实验室的需要, 对感染性疾病快速、高效的筛查起十分重要的作用。

综上所述, SAA 是与细菌和病毒感染密切相关的标志物, 其在判断 HFMD 上明显优于 CRP 和 WBC 计数等传统指标, 对小儿 HFMD 的早期诊断能提供较高的辅助诊断价值, 值得临床推广应用。

参考文献

[1] dos Anjos BL, Grotto HZ. Evaluation of C-reactive protein and serum amyloid A in the detection of inflammatory and infectious diseases in children[J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(4): 493-499.

[2] 陈长强, 顾志东, 樊绮诗. 血清淀粉样蛋白 A 在疾病应用中的研究进展[J]. 检验医学, 2012, 27(9): 776-779.

[3] Hogarth MB, Gallimore R, Savage P. Acute phase proteins, C-reactive protein and serum amyloid A protein, as prognostic markers

in the elderly inpatient[J]. Age Ageing, 1997, 26(2): 153-158.

[4] Fu Y, Chen J, Cai B, et al. The use of PCT, CRP, IL-6 and SAA in critically ill patients for an early distinction between candidemia and Gram positive/negative bacteremia[J]. J Infect, 2012, 64(4): 438-440.

[5] Arnon S, Litmanovitz I, Regev RH, et al. Serum amyloid A: an early and accurate marker of neonatal early-onset sepsis[J]. J Perinatol, 2007, 27(5): 297-302.

[6] Lannergård A, Larsson A, Kraghsbjerg P, et al. Correlations between serum amyloid A protein and C-reactive protein in infectious diseases[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2003, 63(4): 267-272.

[7] 杨红玲, 郑磊, 周才, 等. 胶体金渗滤法检测血清淀粉样蛋白 A 方法评价及其在儿童感染性疾病诊断中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2014, 37(11): 836-841.

[8] 杨兰辉, 苏艳丹, 丁恒, 等. C-反应蛋白和淀粉样蛋白 A 在手足口病诊疗中的应用研究[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(22): 2838-2839.

[9] Nakayama T, Sonoda S, Urano T, et al. Monitoring both serum amyloid Protein A and C-Reactive protein as inflammatory markers in infectious diseases[J]. Clin Chem, 1993, 39(2): 293-297.

[10] Huttunen T, Teppo AM, Lupisan S, et al. Correlation between the severity of infectious diseases in children and the ratio of serum amyloid A protein and C-reactive protein[J]. Scand J Infect Dis, 2003, 35(8): 488-490.

(收稿日期: 2015-07-22)

(上接第 2698 页)

率, DNA 荧光定量扩增法可能由于提取 DNA 过程会造成假阴性, 也会由于抑制物的存在造成假阴性^[13]。

SAT 法检测胸腔积液的前处理过程与罗氏培养法基本相似, 菌体裂解过程仅需 15 min, 超声裂解过程仅需 1 h, 操作简便、快速, 采用 42℃ 扩增, 起始靶标和扩增产物都是 RNA, 可直接检测活菌, 突出了活菌的价值和临床意义。而且由于自然条件下, RNA 很容易降解, 能方便地解决污染问题。

综上所述, SAT 法检测胸腔积液标本中 MTB 的特异度、灵敏度高, 污染率低, 检测时间较短, 且在一般实验室用常规配备的实时定量 PCR 仪即可进行检测, 该方法是一种较有前景的实验室诊断方法^[14]。

参考文献

[1] 中国防痨协会. 结核病诊断细菌学检验规程[J]. 中国防痨杂志, 1996, 18(1): 28-31.

[2] 中国防痨协会基础专业委员会. 结核病诊断实验室检验规程[M]. 北京: 中国教育文化出版社, 2006: 36.

[3] Rishi S, Sinha P, Malhotra B, et al. A comparative study for the detection of Mycobacteria by BACTEC MGIT 960, Lowenstein Jensen media and direct AFB smear examination[J]. Indian J Med Microbiol, 2007, 25(4): 383-386.

[4] Escudero Bueno C, Garcia Clemente M, Cuesta Castro B, et al. Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural biopsy specimens with Cope's needle. Study of 414 patients[J]. Arch Intern Med, 1900, 150(6): 1190-1194.

[5] Valdés L, Alvarez D, San José E, et al. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients[J]. Arch Intern Med, 1998, 158(18): 2017-

2021.

[6] Kim HJ, Lee HJ, Kwon SY, et al. The prevalence of pulmonary parenchymal tuberculosis in patients with tuberculous pleuritis[J]. Chest, 2006, 129(5): 1253-1258.

[7] Liang QL, Shi HZ, Wang K, et al. Diagnostic accuracy of adenosine deaminase in tuberculous pleurisy: a meta-analysis[J]. Respir Med, 2008, 102(5): 744-754.

[8] 徐宁. 痰中结核杆菌的检测方法及临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2009, 14(4): 536.

[9] Greco S, Girardi E, Navarra A, et al. Current evidence on diagnostic accuracy of commercially based nucleic acid amplification tests for the diagnosis of pulmonary tuberculosis[J]. Thorax, 2006, 61(9): 783-790.

[10] Yang YC, Lu PL, Huang SC, et al. Evaluation of the Cobas Taq-Man MTB test for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex in respiratory specimens[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(3): 797-801.

[11] 夏辉, 尚美, 刘冠, 等. rRNA 扩增方法对结核分枝杆菌临床诊断作用的评估[J]. 中国防痨杂志, 2010, 32(9): 576-580.

[12] 王永忠, 张宏宇, 刘小琴, 等. 痰液标本结核分支杆菌 RNA 恒温扩增检测及临床应用[J]. 山东医药, 2011, 51(41): 83-84.

[13] 付晓燕, 王学军, 刘石泉, 等. 结核分枝杆菌诊断技术研究进展[J]. 生物技术通讯, 2009, 20(2): 249-252.

[14] 倪丽丽, 罗柳林, 景玲杰, 等. 恒温扩增实时荧光检测技术在肺结核诊断中的临床价值[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(8): 702-705.

(收稿日期: 2015-07-08)