

者采用不同肿瘤标志物联合检测以提高对直肠癌的早期诊断价值。

CEA 是目前临床最常应用的肿瘤标准物之一,大量研究表明,CEA 是直肠癌独立预后指标之一^[2],美国临床肿瘤学会专家小组^[3]和欧洲肿瘤标记组织专门小组^[4]认为由于 CEA 敏感性不高,特异性不强的特点,不适合单独用于肿瘤大规模的筛查。一项 1 146 例肠癌患者的研究采用多因素析证明术前 CEA 水平是非常重要的预后变量,其水平升高指示中位生存时间和 5 年生存率下降^[3]。类似的结果也被另外两个大样本量研究所证实^[5-6]。研究显示 CEA、CA19-9 与 CA242 联合检测的阳性率可达 90%^[7]。

CA19-9 在 1989 年发现,是大肠癌组织中的一种神经节甌脂物质,与 Lewis 血型成分的半抗原有关,研究显示直肠癌、胰腺癌、肝癌等多种恶性肿瘤 CA19-9 均可出现异常增高。CA19-9 检测在一定程度上对于大肠癌诊治也是有意义的^[8],但由于自身敏感性、特异性、依赖性,对结直肠癌的诊治的应用价值相对较小。有报道认为 CA19-9 不能单独作为大肠癌早期筛查指标,也有研究显示 CA19-9 可作为独立预后预测因子^[9],CA19-9 相对于 CEA 而言是更好的预后因子,术前 CA19-9 升高与患者预后不良有关^[10]。

CA125 过去报道多认为具有卵巢癌的主要标记物^[11],最新研究表明 CA125 在胃癌和直肠癌患者中有较高的表达^[12]。CA125 在临床常采用与肿瘤标志物指标联合检测提高直肠癌的诊断率。

研究显示,93 例直肠癌患者中,单项检测 CEA 阳性率 57.0%,单项检测 CA19-9 阳性率 41.9%,单项检测 CA125 阳性率 37.6%,而将 3 种肿瘤标志物联合检测阳性率则为 66.6%,研究表明 CEA、CA19-9、CA125 肿瘤标志物联合检测对直肠癌的诊断、治疗、预后具有重要意义。

参考文献

- [1] 龙驰,胡义德,曹正怀.血清多肿瘤标志物蛋白芯片检测结果在结直肠癌诊断中的价值[J].第三军医大学学报,2012,34(1):13-15.
- [2] Moore RG, Maclaughlan S, Bast RC. Current state of biomarker

• 临床研究 •

development for clinical application in epithelial ovarian Cancer [J]. Gynecol Oncol, 2010, 116(2): 240-245.

- [3] Locker GY, Hamilton S, Harris J, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer[J]. Journal Clinical Oncology, 2006, 24(20): 5313-5327.
- [4] Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, et al. Tumour markers in colorectal cancer; European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use[J]. Eur J Cancer, 2007, 43(9): 1348-1360.
- [5] Fong Y, Fortner J, Sun RL, et al. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal Cancer; a analysis of 1001 consecutive cases[J]. Ann Surg, 1999, 230(3): 309-318.
- [6] Nordlinger B, Guiguet M, Vaillant JC, et al. Surgical resection of colorectal carcinoma metastases to the liver, a prognostic scoring system to improve case selection, based on 1568 patients; Association Française de Chirurgie[J]. Cancer, 1996, 77(7): 1254-1262.
- [7] 朱玉琨, 瞿良, 袁荣国, 等. 大肠癌患者血清 CA242、CA19-9 和 CEA 水平测定的临床意义[J]. 肿瘤研究与临床, 2004, 16(4): 227-229.
- [8] Bruinvels DJ, Stiggelbout AM, Kievit J, et al. Follow-up of patients with colorectal cancer; a meta-analysis[J]. Ann Surg, 1994, 219(2): 174-182.
- [9] 汪晓东, 纳飞飞, 邓磊, 等. 肿瘤标记物在大肠癌临床诊治中的应用进展[J]. 医学与哲学: 临床决策论坛版, 2009, 30(11): 54-56.
- [10] Behbehani AI, Al-Sayer H, Farghaly M, et al. Prognostic significance of CEA and CA 19-9 in colorectal cancer in Kuwait[J]. Int J Biol Markers, 2000, 15(1): 51-55.
- [11] 易琳, 刘兴明, 林丁, 等. 血清 CA153、CA125、CEA 联合检测在乳腺癌诊断中的价值[J]. 重庆医科大学学报, 2012, 37(9): 802-805.
- [12] 付红兵, 王为民, 蔡清萍. 肿瘤标记物的联合检测在结肠癌中的应用[J]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2012, 6(17): 5087-5090.

(收稿日期: 2015-07-15)

乳胶增强免疫比浊法检测血清降钙素原的空白限、检出限和定量限的建立与评价

陈雪莹

(库车县人民医院检验科, 新疆库车 842000)

摘要:目的 建立并评价乳胶增强免疫比浊法降钙素原(PCT)试剂的空白限(LoB), 检出限(LoD)和定量限(LoQ)。方法 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)EP-17A 文件, 采用乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂检测空白样本(生理盐水)和一系列 1~4 倍该项目 LoB 梯度浓度的血清标本, 依据数据的分布规律并采用相应的统计学方法, 建立该方法试剂的 LoB, LoD 和 LoQ。结果 按 EP17-A 方案建立的 LoB 为 0.044 ng/mL, LoD 为 0.088 5 ng/mL, LoQ 为 0.1 ng/mL。结论 确定了乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂的 LoB, LoD 和 LoQ, 且该试剂的 LoD 符合厂家说明书上面的要求, 也为临床诊断和治疗提供了有价值的信息。

关键词:降钙素原; 空白限; 检出限; 定量限

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.059

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)20-3054-03

近年来降钙素原(PCT)越来越被国际医疗界公认为是具有重要临床价值的炎症反应标志物, 可以判断感染的严重程度、治疗效果和预后, 现已广泛应用于临床感染性疾病的诊疗^[1-2]。PCT 在普通健康人群血清中的浓度非常低, 且临床采

用的细菌性感染诊断界值也低至 0.25~0.5 ng/mL, 所以为了检测结果的可靠性, 检测仪器一般为免疫发光分析仪, 如罗氏的电化学发光分析仪。目前国内逐渐开始推广乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂, 在全自动生化分析仪上面使用, 为了保证该

方法测定患者标本结果(尤其是低浓度血清标本的检测结果的)的可靠性,为临床的抗菌药物使用提供更好的参考价值。本实验依照美国临床与实验室标准化协会(CLSI)EP-17A 文件建立乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂的 LoB,LoD 和 LoQ^[3]。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 日立公司的全自动生化分析仪,型号为 7180;乳胶增强免疫比浊法 PCT 试剂盒由宁波美康生物科技股份有限公司提供,试剂批号为 20140207,配套校准品批号为 20140113,配套质控品批号为 20140218。

1.2 空白样品 将生理盐水作为空白样品,用于空白限(LoB)的检测。

1.3 低浓度样本 取低浓度的新鲜血清标本,保证为非黄疸、溶血、脂浊标本。将该标本配制成一系列低浓度的 PCT 样品,其理论浓度分别为 0.044、0.066、0.088、0.100、0.132、0.154 ng/mL,介于预期检测限浓度 1~4 倍。将低浓度样本配置好后分装,储存于-20℃的冰箱中备用,每次检测时各取出一份样本复融。

1.4 方法 按要求对仪器进行日保养和周保养,每天对 PCT 试剂进行开机校准,并保证质控在控后再检测样品。

1.4.1 LoB 的建立 将空白样品分为 5 批,每天检测 2 次,每次重复 2 次,5 天内完成,共得到 60 个检测结果。若空白值符合高斯分布(正态分布、对称分布),按下式计算: $LoB = \mu_B + 1.645\sigma_B$ (式中 μ_B 和 σ_B 分别为空白样品检测值的均值和标准差)。若空白样本检测结果呈非正态分布,则用非参数方法估计第 95 百分位数(PctB)的值,即 $LoB = PctB_{100-\alpha}$,即 $LoB = [NB(95/100) + 0.5]$ 位置的结果,式中 NB 是重复检测的次数。

1.4.2 检出限(LoD)的建立 将介于预期检测限浓度 1~4 倍的低浓度标本各分为 5 批,每天检测 2 次,每次重复 2 次,3 天内完成,各个浓度都得到 60 个检测结果。如果样本测定结果符合高斯分布(正态分布、对称分布),计算公式: $LoD = LoB + 1.645\sigma_B$ (式中 σ_B 为空白样品检测值的标准差)。如果空白样本测定结果非正态分布(默认 $a=b=5$),则计算公式: $LoD = LoB + DS\beta(Ds, b; \text{中位数} - \text{第 } b \text{ 位数})$ 。

1.4.3 定量限(LoQ)的建立 将建立该项目 LoD 的 6 个低浓度标本分别检测,每天 8 次,每组共得到 40 个数据。按下式分组计算总误差: $TE = |bias| + 2SDs$,其中 bias = 每个样本测定均值 - 参考值。每个样本测定结果与参考值的偏差与 TEa 相比较。计算小于 TEa 所占比例是否符合($b=5\%$)要求,见表 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2 结果

2.1 LoB 的计算 将以 PCT 空白标本检测得到的 60 个结果作统计学分析,并建立图表,见图 1。可知 PCT 的空白标本检测结果呈正态分布,按下式计算: $LoB = \mu_B + 1.645\sigma_B = 0.0015 + 1.645 \times 0.0259 = 0.044 \text{ ng/mL}$ 。

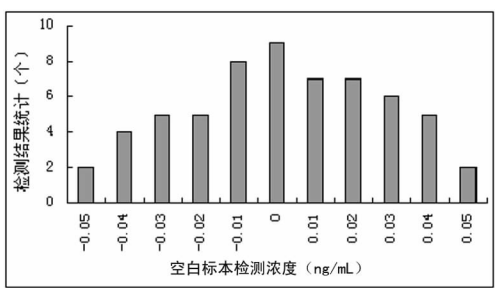


图 1 空白标本检测结果的分布图

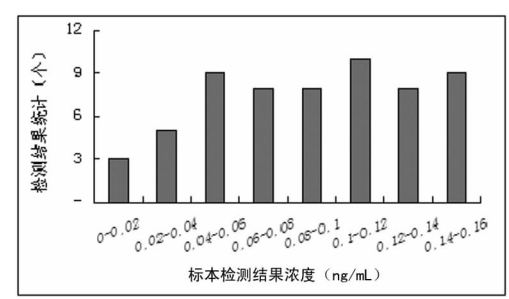


图 2 梯度浓度样品检测结果的分布图

2.2 LoD 的计算 取校准品稀释得到的 6 个低浓度样品,浓度分别为 0.044、0.066、0.088、0.1、0.132、0.154 ng/mL。将检测得到的 60 个结果作统计学分析,并建立图表,见图 2。可知该批标本检测得到的 60 个检测结果呈非正态分布,按下式计算: $LoD = LoB + DS\beta$, $DS\beta$: 中位数 - 第 b 位数。将低浓度标本检测得到的 60 个标本按升序排列,见表 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)其中位数值所在位置为 $[N \times 50\% + 0.5]$,即第 30.5 位的位置结果,其第 5 百分位数值所在位置为 $[N \times 5\% + 0.5]$,即为第 3.5 位的位置结果。 $DS\beta = N(30.5) - N(3.5) = 1/2(N(30) + N(31)) - 1/2[N(3) + N(4)] = 0.077 - 0.0325 = 0.0445 \text{ ng/mL}$, $LoD = 0.044 + 0.0445 = 0.0885$ 。

2.3 LoQ 的计算 分别计算 6 个低浓度标本 bias(每个样本测定均值 - 参考值)与 TE(总误差),将每个样本测定结果和参考值的偏差与 TEa 相比较,再计算每组标本中小于其 TEa 所占比例是否符合($b=5\%$)要求(参考表 1)。结果显示当参考值(即预期检测浓度)浓度为 0.1 ng/mL 时,该组标本 40 个检测结果,见表 3(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)的均值为 0.10525 ng/mL,标准差为 0.00823 ng/mL, bias 为 -0.005925 ng/mL, TE 为 0.02238 ng/mL,统计共有 40 个检测结果符合要求,占 100%,满足($b=5\%$)要求。

3 讨论

早期准确地诊断脓毒症并监测是改善预后的决定性因素之一。PCT 与感染和脓毒症的相关性很好,经过近 20 年的研究和实践,已经被推荐用于细菌感染性脓毒症的诊断、分层、治疗监测和预后评估^[4]。按照《降钙素原急诊临床应用的专家共识》, $PCT < 0.1 \text{ mg/mL}$ 时不建议使用抗菌药物(取决于临床的实际情况,甚至可低于 0.25 mg/mL); $PCT > 0.5 \text{ mg/mL}$ 提示存在严重细菌感染或脓毒症,排除其他导致 PCT 增高的原因,则需要开始抗菌药物治疗。评价检测系统或方法的灵敏度的性能指标主要有 LoB、LoD、LoQ。LoB 是测量空白样本时可能得到的最高检测结果^[5],LoD 是检测方法可检测出的最低被测物浓度,也称为检测低限或最小检出浓度^[6]。LoQ 是指在精密度和正确度可接受的情况下检测系统能够得到可靠结果的被测物最低浓度,分析物在这个浓度下被可靠检出,上述乳胶增强免疫比浊法的 pct 试剂的分析灵敏度分别为 $LoB = 0.044 \text{ ng/mL}$, $LoD = 0.0885 \text{ ng/mL}$, $LoQ = 0.1 \text{ ng/mL}$,建立的 LoB、LoD 和 LoQ 的关系符合 $LoB < LoD \leq LoQ$ 。即该分析方法能够检测出的 PCT 最低浓度为 0.0885 ng/mL,检测系统能够得到可靠结果的最低被测物浓度为 0.1 ng/mL。参考《降钙素原急诊临床应用的专家共识》里患者存在严重细菌感染或脓毒症的 cut-off 值(0.5 ng/mL),临床医生可以放心使用 $PCT > 0.5 \mu\text{g/mL}$ 的结果用于临床检验结果诊断和治疗监测^[7],目前由此,参考目前临床对 PCT 分析灵敏度的要求,乳

胶增强免疫比浊法 PCT 试剂已经能够为细菌感染性脓毒症的诊断、分层、治疗监测和预后评估提供有价值的信息。

参考文献

[1] 熊明洁,范红,郭靓. 80 例脓毒血症患者血清降钙素原监测和预后评估的临床研究[J]. 重庆医学, 2011, 40(30): 3076-3078.

[2] Gilbert DN. Use of plasma procalcitonin levels as an adjunct to clinical microbiology[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48 (7): 2325-2329.

[3] Clinical and Laboratory Standards Institute. EP17 Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation, approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.

[4] 降钙素原急诊临床应用专家共识组. 降钙素原(PCT)急诊临床应用 • 临床研究 •

用的专家共识[J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21(9): 944-948.

[5] 冯仁丰. 分析灵敏度(检测限)[J]. 上海医学检验杂志, 2002, 17 (3): 133-136.

[6] 杨有业,张秀明. 临床检验方法学评价[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 142-167.

[7] Linnet K, Kondratovich M. Partly nonparametric approach for determining the limit of detection[J]. Clin Chem, 2004, 50(4): 732-740.

(收稿日期: 2015-06-08)



IgA-RF、IgG-RF、抗-CCP 检测与 IgM-RF 阴性 类风湿性关节炎患者疾病活动性的关系

舒 铭¹, 陈秋莹², 王 燕¹

(1. 上海市浦东新区周浦医院检验科, 上海 201318; 2. 上海市浦东新区精神卫生中心检验科, 上海 200126)

摘 要:目的 研究抗类风湿因子(RF)的 IgA(IgA-RF)、IgG(IgG-RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(抗-CCP)与 IgM-RF 阴性类风湿性关节炎患者疾病严重性的相关性。**方法** 选取 2014 年 1~12 月该院 62 例活动期 IgM-RF 阴性类风湿性关节炎患者, 进行 X 射线检查, 血清 IgA、IgG-RF 和抗-CCP 测定, 采用酶联免疫吸附法。IgA-RF 检测值大于 15 U/mL 为阳性, IgG-RF 检测值大于 20 U/mL 为阳性, 抗-CCP 大于 20 个单位为阳性。同时评估疾病严重程度(DAS-28 分数)。**结果** IgA-RF 阳性患者的风湿性关节炎活动度评分(DAS-28)分数明显高于 IgA-RF 阴性患者[(6.03±0.33)分 *vs.* (5.44±0.76)分, *P*<0.05], IgG-RF 阳性患者的 DAS-28 分数与 IgG-RF 阴性患者比较, 差异无统计学意义[(5.64±0.58)分 *vs.* (5.46±0.78)分, *P*>0.05], 抗-CCP 阳性患者的 DAS-28 分数高于抗-CCP 阴性患者, 差异有统计学意义[(5.72±0.61)分 *vs.* (5.38±0.79)分, *P*<0.05]。**结论** IgA-RF 和抗-CCP 的阳性结果与 IgM-RF 阴性类风湿性关节炎患者疾病严重程度有关。

关键词: 类风湿因子; 抗环瓜氨酸肽抗体; 风湿性关节炎活动度评分

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.20.060 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)20-3056-02

类风湿因子(RF)是一种抗人或动物 IgG 分子 Fc 片段抗原决定簇的抗体, 是以变性 IgG 为靶抗原的自身抗体^[1], 主要为 IgM, 也有 IgA 和 IgG。RF 是类风湿关节炎主要的血清学标志^[2], 目前 RF 检测已为临床所常用, 但 RF 也可出现于慢性炎症和感染性疾病中, 其特异性较低, 不利于早期诊断^[3]。后来的研究发现, 抗环瓜氨酸肽抗体(抗-CCP)和 AKA 可出现于早期类风湿性关节炎且特异性高, 可以使 RA 患者尽早得到治疗, 改善预后^[4]。本文旨在探讨 IgA-RF、IgG-RF、抗-CCP 与 IgM-RF 阴性类风湿性关节炎患者疾病严重性的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1~12 月本院 1 134 例门诊和住院类风湿关节炎患者, 其中 IgM 阴性的 RA 患者 62 例, 男 3 例、女 59 例, 年龄(53.4±11.8)岁。均接受 X 光检查, 同时空腹抽血进行 IgG-RF、IgA-RF、抗-CCP 检测。

1.2 方法 检测 IgA-RF 和 IgG-RF 的检测试剂是由上海卡迈舒生物科技有限公司提供, 采用酶联免疫法吸附测定, 抗-CCP 的检测试剂由上海富纯中南生技术有限公司提供, 也采用酶联免疫吸附法, 依说明书 IgA-RF 数值大于 15 U/mL 为阳性, IgG-RF 检测值大于 20 U/mL 为阳性, 抗-CCP 大于 20 个单位为阳性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据分析, 采用 *u* 检验进行统计学处理, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 一般检查 62 例患者患病时间的均值为 24 个月, 风湿性关节炎活动度评分(DAS-28)分数为(5.49±0.75)分, 其中有 10 例患者(16.1%)有关节外的表现, 5 例患者(8.1%)IgA-RF 阳性, 9 例患者(14.5%)IgG-RF 阳性, 20 例(32.3%)抗-CCP 阳性。

表 1 62 例 RA 患者的 DAS-28 分数统计

项目	<i>n</i>	DAS-28 评分(分)	<i>P</i>
IgA-RF			
	阳性	6.03±0.33	0.035
	阴性	5.44±0.76	
IgG-RF			
	阳性	5.64±0.58	0.396
	阴性	5.46±0.78	
抗-CCP			
	阳性	5.72±0.61	0.049
	阴性	5.38±0.79	

2.2 DAS-28 分数的比较 IgA-RF 阳性的 RA 患者 DAS-28 分数高于 IgA-RF 阴性患者, 差异有统计学意义[(6.03±0.33)分 *vs.* (5.44±0.76)分, *P*<0.05]; IgG-RF 阳性患者 DAS-28 分数与 IgG-RF 阴性患者比较, 差异无统计学意义[(5.64±0.58)分 *vs.* (5.46±0.78)分, *P*>0.05]; 抗-CCP 阳性的