

• 论 著 •

健康成年人血浆 presepsin 正常值参考区间调查*

张召涛¹, 刘晓萍¹, 黄 猛^{2△}, 栗兴伟², 杨佳锦³

(1. 莱西市中医医院检验科, 山东青岛 266600; 青岛大学附属医院检验科; 山东青岛 266071;

3. 中南大学湘雅二医院检验科, 长沙 410011)

摘要:目的 建立健康成年人血浆 presepsin 正常值参考区间。方法 按照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)C28-A3 文件中参考区间研究模式及参考人群筛选标准的要求,测定 1 250 例 20~90 岁健康成年人血浆 presepsin 水平。以非参数百分位数法计算健康成年人血浆 presepsin 的参考区间,并进行验证。结果 不同性别及年龄健康成年人(20~<30、30~<60、60~<90 岁 3 个年龄组)的血浆 presepsin 参考区间:男性分别为 50~195、47~170、41~142 pg/mL;女性分别为 43~173、44~162、38~137 pg/mL。结论 本研究初步建立了健康成年人血浆 presepsin 的参考区间。

关键词:可溶性 CD14 亚型; 健康成年; 参考区间

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.18.011

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)18-2529-03

Reference intervals for plasma presepsin in healthy elderly adults*

ZHANG Zhaotao¹, LIU Xiaoping¹, HUANG Meng^{2△}, LUAN Xingwei², YANG Jiajin³

(1. Department of Clinical Laboratory, the Traditional Chinese Medicine Hospital of Laixi, Qingdao, Shandong 266600, China;

2. Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao, Shandong 266071, China;

3. Department of Clinical Laboratory, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

Abstract: Objective To establish the reference intervals(RIs) for plasma presepsin in healthy population. **Methods** The document C28-A3 issued by CLSI was a guideline about how to define, establish, and verify reference intervals in the clinical laboratory. Plasma values were determined with CLEIA for 1 250 healthy adults(aged 20-90 years old), including 624 males and 626 females. The central 95 percentile of RIs were determined using nonparametric statistical methods. **Results** The presepsin values in elderly population showed a Gaussian distribution and age/sex related changes. The RIs for plasma presepsin in the reference population respective of age(ranged from 20-<30, 30-<60, 60-<90 years) were 50-195, 47-170, 41-142 pg/mL for males and 43-173, 44-162, 38-137 pg/mL for females respectively. **Conclusion** The RIs for plasma presepsin were established according to the gender and age groups in the healthy adults, and could provide a reference for the clinical and laboratory.

Key words: soluble CD14 subtype; healthy adult; reference intervals

血浆 presepsin 即可溶性 CD14 亚型(sCD14-ST)^[1],是 sCD14 在血浆中被组织蛋白酶 D 等切割后所产生的 N 端片段,其相对分子质量为 13 000,为近年来才被发现的—种新型脓毒血症诊断生物学标记物^[1]。研究表明,血浆 presepsin 在脓毒血症的早期诊断和预后评估等方面优于传统的炎症标记物(如 C 反应蛋白、红细胞沉降率、降钙素原及白细胞介素-6 等指标)^[2-5]。目前,血浆 presepsin 测定和应用开始被国内外临床实验室所接受,但尚未建立参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI)文件 C28-A3 文件^[6]研究模式的健康成年人血浆 presepsin 参考区间。建立适合的血浆 presepsin 的参考区间,对脓毒血症的鉴别诊断、治疗、预后评估有重要意义^[9]。因此,本研究按照 CLSI C28-A3 文件的要求,建立了不同性别和年龄分组的健康成年人血浆 presepsin 的参考区间,旨在为临床提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 10 月至 2016 年 10 月长沙地区 1 250 例健康成年人作为研究对象,所有研究对象均签署知情同意书,并按照要求填写健康情况调查问卷(包括:年龄、性别、种族、职业情况、饮食习惯、吸烟和饮酒、用药情况、运动水平及

遗传疾病等)。纳入本研究的健康成年研究对象均符合以下标准:(1)排除肝硬化及其他肝病、糖尿病及其他内分泌疾病、冠心病、慢性肾炎、恶性肿瘤等慢性疾病;(2)排除高血压患者,即收缩压 ≥ 140 mm Hg 或舒张压 ≥ 90 mm Hg,血压升高 ≥ 3 年;(3)排除过去半年之内接受过手术,或 4 个月内接受过输血,或 2 周之内接受过药物治疗者;(4)排除体质质量指数(BMI) ≥ 28 kg/m²;(5)排除长期吸烟、酗酒者;(6)排除血红蛋白(Hb) ≤ 110 g/L,空腹血糖(FBG) ≥ 7.0 mmol/L,三酰甘油(TG) ≥ 2.26 mmol/L,总胆固醇(TC) ≥ 6.22 mmol/L者;(7)排除乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、乙型肝炎核心抗体(抗-HBc)及抗-HIV 抗体阳性者;(8)排除尿常规检查异常者。所有参考个体以每 10 岁为 1 个年龄段并按不同的性别进行分层,所抽取数目以能满足每个年龄段 120 例为最低限。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 健康参考个体严格禁食超过 12 h,于次日上午 8-10 时,抽取右肘静脉血 2 mL 于含有乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝剂的真空采血管(美国 BD 公司)中,轻轻混匀,3 000 r/min 离心 5 min,所有标本均在 4 h 检测完毕。

1.2.2 仪器与试剂 PATHFAST 化学发光免疫测定分析仪

* 基金项目:青岛大学附属医院博士启动基金项目(QDFYBSJJ2014058);青岛大学附属医院青年基金的资助项目(QDFYQNJJ2014063)。

作者简介:张召涛,男,技师,主要从事临床检验方向的研究。△ 通信作者,E-mail:jfjhuangchao@163.com。

(日本三菱化工公司); 血浆 presepsin 试剂(日本三菱化工公司), 配套校准品和质控品(日本三菱化工公司), 对仪器进行校准及对每一批标本分析进行质量控制; 按照 CLSI EP-15A 文件要求对仪器的精密性进行评估, 总变异系数(CV)和偏倚度符合 1/2 美国临床实验室改进修正法规'88(CLIA'88)要求。

1.3 极值的处理 采用 Dixon's range 法, 去除极值^[8]。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS20.0 统计软件进行分析; 连续变量行 Shapiro-Wilk 法进行数据的正态性检验, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验或多组间比较采用单因素方差分析, 后续组间两两比较采用 LSD-*t* 检验; 非正态分布的计量资料以中位数及四分位间距 *M* (P_{25}, P_{75}), 两组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验或多组间采用 Kruskal-Wallis *H* 检验比较不同组别, 后续组间两两比较采用 Bonferroni 检验; 标准正态离差检验判断性别的分组, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义; 按照 CLSI C28-A3 的要求, 以非参数 95% 百分位数法计算血浆 presepsin 参考区间, 并得出参考限 95% 的置信区间(CI)。

2 结 果

2.1 研究对象一般临床资料描述 本研究采用实验室检查及健康问卷调查的方式, 排除了对血浆 presepsin 各种影响因素, 根据上述标准, 最终得到符合筛选标准的参考成年个体 1 250 例, 其中男 624 例, 女 626 例; 参考个体的一般临床资料见表 1。

表 1 1 250 例健康成年人参考个体的一般临床资料($\bar{x} \pm s$)

参数	男(<i>n</i> =624)	女(<i>n</i> =626)	<i>P</i>
年龄(岁)	47.20±18.20	46.70±17.30	<0.05
BMI(kg/m ²)	24.70±2.90	21.70±2.60	<0.05
收缩压(mm Hg)	118.50±12.40	112.60±11.20	<0.05
舒张压(mm Hg)	68.60±9.30	64.50±9.70	<0.05
GLU(mmol/L)	5.28±0.60	4.87±0.51	<0.05
TC(mmol/L)	4.82±0.63	4.36±0.52	<0.05
TG(mmol/L)	1.34±0.48	1.21±0.42	<0.05
Hb(g/L)	146.20±8.10	125.80±6.90	<0.05

2.2 健康成年人不同性别血浆 presepsin 参考区间的制定 健康男性与女性血浆 presepsin 测定值近似正态分布 ($P > 0.05$), 其参考区间的制定需要按照性别分组, 健康成年男、女血浆 presepsin 参考区间分别为 46~194 pg/mL、39~172 pg/mL, 见表 2。

表 2 健康成年不同性别血浆 presepsin 的参考区间 (pg/mL)

性别	<i>n</i>	$P_{2.5}$	P_{25}	P_{50}	P_{75}	$P_{97.5}$
男	624	46	58	85	138	194
女	626	39	55	76	124	172

2.3 健康成年人各年龄组别血浆 presepsin 水平的分布与制定 本研究进一步以每 10 岁为 1 个年龄组进行分析, 将健康成年男、女分为 5 个不同年龄亚组(即: 20~<30 岁、30~<40 岁、40~<50 岁、50~<60 岁、60~<90 岁); 经 Kolmogorov-Smirnov 检验, 结果显示所有年龄亚组血浆 presepsin 水平均为正态分布 ($P > 0.05$), 见表 3; 男性(30~<40 岁、40~<50

岁、50~<60 岁) 3 组间差异无统计学意义 ($F = 4.936, P > 0.05$), 合并为 30~<60 组制定参考区间; 女性(30~<40、40~<50、50~<60), 3 组间差异无统计学意义 ($F = 3.418, P > 0.05$), 合并为 30~<60 组制定参考区间; 采用方差分析统计分析各年龄段血浆 presepsin 差异, 结果显示: 男性 20~<30 组高于 30~<60 组高于 60~<90 组 ($F = 28.357, P < 0.05$); 女性 20~<30 组高于 30~<60 组高于 60~<90 组 ($F = 16.843, P < 0.05$); 因此, 本研究将健康成年人男、女血浆 presepsin 的参考区间分为 20~<30 组、30~<60 组、60~<90 组制定: 男性 50~195、47~170、41~142 pg/mL; 女性 43~173、44~162、38~137 pg/mL。见表 4。

表 3 健康成年人男、女各年龄组血浆 presepsin 水平的分布情况 (pg/mL)

性别及年龄(岁)	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$	$P_{2.5}$	P_{25}	P_{50}	P_{75}	$P_{97.5}$
男性							
20~<30	124	83±12	50	63	82	136	195
30~<40	125	76±10	46	55	79	124	156
40~<50	125	77±11	48	64	85	133	164
50~<60	127	76±11	47	61	82	135	170
60~<90	123	72±9	41	53	74	124	142
女性							
20~<30	126	80±11	43	52	79	128	173
30~<40	124	77±10	45	57	77	124	157
40~<50	127	76±10	43	60	80	123	160
50~<60	125	77±11	42	59	78	121	162
60~<90	124	71±8	38	51	70	102	137

表 4 健康成年人男、女各年龄组血浆 presepsin 参考区间及各参考限的 95% CI (pg/mL)

年龄(岁)	男性			女性		
	<i>n</i>	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$	<i>n</i>	$P_{2.5}$	$P_{97.5}$
20~<30	124	50(43~62)	195(162~206)	126	43(39~53)	186(152~195)
30~<60	367	47(40~58)	170(154~193)	366	44(36~53)	162(149~177)
60~<90	123	41(35~55)	142(127~166)	124	38(31~45)	137(122~156)

2.4 健康成年人血浆 presepsin 水平与年龄的相关性 对健康人群血浆 presepsin 水平与年龄进行相关性分析, 男、女亚组人群血浆 presepsin 水平与年龄并不存在显著的相关性 (r 分别为 0.087、0.058, $P > 0.05$); 男、女亚组人群血浆 presepsin 水平随着年龄的增长存在相似的变化, 即 20~<30 年龄组最高, 然后开始下降; 30~<40、40~<50、50~<60 年龄组血浆 presepsin 水平随着年龄的增长略有增高, 到 60~<90 年龄组时又下降至最低。

2.5 健康成年人各年龄组血浆 presepsin 水平参考区间的验证 按 CLSI C28-A3 文件要求, 选取各年龄组健康成年人各 20 例, 用相同检测系统检测血浆 presepsin 水平, 与本研究建立的参考区间进行比较, 健康参考个体标本经过性能验证(男性 3 个年龄组的结果分别为 52~183、56~174、55~140 pg/mL; 女性分别为 54~170、51~161、48~125 pg/mL) 结果

全部落在本研究所建立的参考区间范围内。

3 讨 论

Presepsin 是 2004 年才被发现的—种新型脓毒症诊断标志物。正常情况下,健康人群中血 presepsin 水平较低,而细菌感染 2 h 后其表达迅速升高^[1-2]。研究证实了 presepsin 检测能够极大提高脓毒症诊断的正确率,在对脓毒症的早期诊断、预后评估等方面都要优于传统的炎症标志物,如 C 反应蛋白、白细胞介素-6、降钙素原等^[4-5,7-9]。基于其临床应用价值,血浆 presepsin 受到了国内外临床和实验室的普遍重视。由于血浆 presepsin 参考区间尚未见明确的报道,使得其在临床上的应用存在很多缺陷。因此,了解适合健康人群,尤其是国人血浆 presepsin 的参考范围,充分发挥血浆 presepsin 在炎症疾病的诊断和预后评价中的作用,是临床实验室亟待解决的一个重要现实问题。

本研究在综合健康调查问卷的基础上,依靠临床和实验室诊断方法进一步筛选表观健康的人群作为研究对象,参考个体更符合 CLSI C28-A3 文件《医学实验室参考区间的定义、建立和确认》中参考区间研究模式及参考人群筛选标准的要求^[6],每个年龄组的参考个体均达到 120 例的标准。本研究显示健康成年人男和女之间由于生理差异等因素引起的人群血浆 presepsin 水平差异具有统计学意义($P < 0.05$),提示需按照性别分别建立参考区间。将纳入的参考个体以每 10 岁为 1 个年龄组,分析显示,年龄与血浆 presepsin 水平之间无相关性,但男、女各年龄组间的差异具有统计学意义($P < 0.05$)。因此健康成年男、女血浆 presepsin 水平需要按照年龄分组(最终分为 20~<30、30~<60、60~<90 3 个年龄组),建立参考区间分别为:男性 50~195、47~170、41~142 pg/mL;女性 43~173、44~162、38~137 pg/mL;与试剂厂商提供的参考值(320 pg/mL)比较,本研究参考区间上限明显较低。目前,临床血浆 presepsin 的测定主要采用商业的化学发光酶免疫分析法(CLEIA,日本三菱化工公司)^[10-11],其提供参考区间上限为 320 pg/mL;国内外关于血浆 presepsin 的研究显示,该值为诊断脓毒血症的截断值。随着研究深入,发现在其他一些炎症疾病中,如社区获得性肺炎、类风湿性关节炎,以及一些其他非炎症疾病中血浆 presepsin 的水平也明显高于健康对照组,但要低于试剂厂商提供的截断值^[7-9,12-13]。因此,每一个临床实验室不能盲目直接使用试剂厂商提供的参考范围,应该基于所处地区的健康人群建立属于自己的正常参考区间。

国内外的研究表明,血浆 presepsin 水平随着年龄的增长呈现逐渐下降的趋势,但本研究经相关性分析发现血浆 presepsin 与年龄之间无相关性,按年龄分层后的分析结果显示不同年龄组间血浆 presepsin 水平的差异有统计学意义($P < 0.05$);这与 Gianarina 等^[8]在的研究结果一致;血浆 presepsin 水平随着机体的衰老而下降的机制尚不明确。作者推测 presepsin 是一种蛋白质,随着年龄的增长蛋白合成的能力逐渐下降,其具体的机制仍有待更深入的研究。

按 CLSI C28-A3 文件要求,本研究对血浆 presepsin 参考区间进行验证前须对检测仪器的不准确度和不精密度进行性能评价,各年龄组选取的 20 例健康成年人的血浆 presepsin 验证结果均符合本研究所建立的参考区间。但本研究的局限性在于仍为单中心、单次测定结果的研究。根据 CLSI C28-A3 文件的要求,生物学参考区间只有进行多中心研究,才能降低地区、环境、饮食等差异带来的影响。

参考文献

- [1] Yaegashi Y, Shirakawa K, Sato N, et al. Evaluation of a newly identified soluble CD14 subtype as a marker for sepsis[J]. J Infect Chemother, 2005, 11(5): 234-238.
- [2] Caironi P, Masson S, Spanuth E, et al. Compared values of presepsin(sCD14-ST) and procalcitonin as early markers of outcome in severe sepsis and septic shock: a preliminary report from the Albumin Italia Outcomes Sepsis (ALBIOS) study[J]. Crit Care, 2013, 17(2): P35.
- [3] Enguix-Armada A, Escobar-Conesa R, García-De La Torre A, et al. Usefulness of several biomarkers in the management of septic patients: C-reactive protein, procalcitonin, presepsin and mid-regional pro-adrenomedullin [J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54(1): 163-168.
- [4] Masson S, Caironi P, Spanuth E, et al. Presepsin(soluble CD14 subtype) and procalcitonin levels for mortality prediction in sepsis: data from the Albumin Italian Outcome Sepsis trial[J]. Crit Care, 2014, 18(1): R6.
- [5] 刘波, 陈云霞, 李薇, 等. 血浆 Presepsin 水平对急诊室脓毒症患者发生多器官功能障碍的预测作用[J]. 中华急诊医学杂志, 2015, 24(8): 819-824.
- [6] Clinical Laboratory and Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: C28-A3c[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2008.
- [7] Endo S, Suzuki Y, Takahashi G, et al. Presepsin as a powerful monitoring tool for the prognosis and treatment of sepsis: A multicenter prospective study[J]. J Infect Chemother, 2014, 20(1/2): 30-34.
- [8] Giavarina D, Carta M. Determination of reference interval for presepsin, an early marker for sepsis[J]. Biochem Med (Zagreb), 2015, 25(1): 64-68.
- [9] 李真玉, 赵华杰, 赵君, 等. 血清 presepsin(sCD-14 ST)对脓毒症早期诊断价值及预后意义[J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(7): 896-902.
- [10] Kurihara T, Yanagida A, Yokoi H, et al. Evaluation of cardiac assays on a benchtop chemiluminescent enzyme immunoassay analyzer, Pathfast[J]. Anal Biochem, 2008, 375(1): 144-146.
- [11] Okamura Y, Yokoi H. Development of a point-of-care assay system for measurement of presepsin (sCD14-ST) [J]. Clinica Chimica Acta, 2011, 412(23/24): 2157-2161.
- [12] Soichiro T, Ayako K, Akie K, et al. Elevated soluble CD14-subtype (PRESEPSIN; P-SEP) levels in rheumatoid arthritis (RA) patients with bacterial infection [J/O]. Mod Rheumatol, 2016, <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14397595.2016.1246119>.
- [13] Arai Y, Mizugishi K, Nonomura K, et al. Phagocytosis by human monocytes is required for the secretion of presepsin[J]. J Infect Chemother, 2015, 21(8): 564-569.