

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.19.012

电化学发光免疫法检测降钙素原的性能评价及临床应用

姜凤全¹, 陈思怡², 于森琛¹, 肖晓光¹, 谷娅楠^{1△}

1. 大连医科大学附属第一医院检验科, 辽宁大连 116011; 2. 大连医科大学检验医学院, 辽宁大连 116011

摘 要:目的 评价罗氏 Cobas e411 电化学发光全自动免疫分析仪检测降钙素原(PCT)的分析性能,并比较 PCT 在不同类型标本、不同类型微生物感染中的价值。方法 参照美国临床和实验室标准化委员会 EP5-A2 文件,对罗氏 Cobas e411 电化学发光全自动免疫分析仪检测 PCT 的精密度、分析测量范围进行评价,验证其是否符合厂商声明的性能指标。收集微生物培养结果阳性且同时检测 PCT 的 971 份不同类型标本,分析在不同类型标本、不同类型微生物感染中的 PCT 差异。结果 罗氏 Cobas e411 电化学发光全自动免疫分析仪检测的 PCT 参加临检中心的室间质评均通过;批内不精密度和批间不精密度分别为 1.16%、0.86% 和 2.54%、2.17%;分析测量范围为 0.03~96.12 ng/mL,以上指标均符合厂商声明标准。971 份标本中,血培养阳性 170 份,其中检出革兰阴性菌 98 份,革兰阳性菌 68 份,真菌 4 份。痰培养阳性 676 份,尿液及其他体液培养阳性 125 份。血培养中细菌组与真菌组 PCT 水平比较,差异有统计学意义($Z=9.344, P=0.000$);革兰阳性菌组与革兰阴性菌组 PCT 水平比较,差异有统计学意义($Z=11.501, P=0.000$)。血培养标本 PCT 水平明显高于痰培养标本、尿及其他局部体液培养标本,差异有统计学意义($P=0.000$)。结论 罗氏 Cobas e411 全自动电化学发光分析仪检测 PCT 的主要性能与厂家声明一致,PCT 可辅助鉴别革兰阳性菌与革兰阴性菌感染,PCT 结果可作为患者是全身还是局部感染的鉴别指标,为临床诊治及用药提供依据。

关键词:降钙素原; 性能验证; 细菌类型

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)19-2793-04

Performance evaluation and clinical application of electrochemiluminescence immunoassay for the detection of procalcitonin

JIANG Fengquan¹, CHEN Siyi², YU Miaochen¹, XIAO Xiaoguang¹, GU Yanan^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical

University, Dalian, Liaoning 116011, China; 2. College of Medical Laboratory, Dalian Medical

University, Dalian, Liaoning 116011, China

Abstract: **Objective** To evaluate the analytical performance of Roche Cobas e411 electrochemical luminescence automatic immunoanalyzer for the detection of procalcitonin (PCT), and to compare the value of PCT in different types of specimens and different types of microbial infection. **Methods** The precision and analytical measurement range of PCT detected by Roche Cobas e411 electrochemical luminescence immunoassay system were evaluated according to the EP5-A2 document of Clinical and Laboratory Standards Institute, so as to verify its compliance with the performance indicators declared by the manufacturer. A total of 971 samples with positive bacterial culture results and tested PCT at the same time were collected as subjects in this study, and analyzed the differences of PCT in different types of samples and different types of microbial infection. **Results** PCT detected by Roche Cobas e411 electrochemical luminescence automatic immunoanalyzer passed the external quality evaluation of Ministry of Health. The inaccuracies in and between batches were 1.16%, 0.86%, 2.54%, 2.17% respectively. The analytical measurement ranged from 0.03 to 96.12 ng/mL. The above indicators met the manufacturers' declaration standards. Among the 971 samples, 170 cases were positive in blood culture, including 98 cases gram-negative bacteria, 68 cases gram-positive bacteria and 4 cases fungi. Other 676 samples were positive in culture of sputum and 125 samples were positive in culture of urine and other body fluids. In blood culture, there was a statistically significant difference on PCT levels between the bacterial group and the fungal group ($Z=9.344, P=0.000$). There was statistically significant difference on PCT level between the gram-positive group and the gram-negative group ($Z=11.501, P=0.000$). The PCT level of blood culture specimens was significantly higher than those of sputum culture specimens, urine and other local humoral culture specimens ($P=0.000$). **Conclusion** The main analytical perform-

ance of Roche Cobas e411 electrochemical luminescence automatic immuno analyzer for PCT detection is consistent with the manufacturer's statement. PCT could assist in identifying gram-positive bacteria and gram-negative bacteria infection. PCT results could be used as an indicator of systemic or local infection in patients, and provide a basis for clinical diagnosis, treatment and medication.

Key words: procalcitonin; performance verification; type of bacteria

电化学发光免疫分析法(ECLIA)是在放射免疫、荧光免疫、化学发光免疫等检测方法之后的最新技术,其原理是双抗体夹心免疫法,此方法的优点是快速、简便、重复性好、灵敏度高,适用于临床实验室特殊项目的检测。在临床上,最常见的感染性疾病是由细菌等病原微生物导致的感染,诊断的主要方法为病原学检测和细菌培养,细菌培养为诊断的“金标准”,然而该方法耗时长,费用较高,给临床诊断带来了不便,延误了最佳的诊断治疗时间。降钙素原(PCT)为感染性疾病诊断及鉴别诊断的有效指标^[1]。研究发现,在细菌感染中 PCT 在早期即可迅速升高^[2],可早期辅助诊断感染性疾病,并可动态监测疾病的发生、发展及预后^[3]。PCT 可以用于细菌与非细菌感染的鉴别,以及细菌感染类型的鉴定,对反映炎症的活动情况及疾病的严重程度具有较高特异度、灵敏度^[4]。同时,PCT 在全身感染性疾病和局部感染中的水平也有不同。本研究旨在通过对 PCT 的定量检测,结合微生物菌培养的鉴定结果,讨论 PCT 在微生物感染性疾病中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集大连医科大学附属第一医院 2017 年 1—12 月微生物培养阳性且检测 PCT 的住院患者 971 例,其中男 459 例,女 512 例,年龄 9~86 岁,平均(58.8±6.3)岁。971 例患者收集血培养标本 170 份,痰培养标本 676 份,尿液及其他体液培养标本 125 份。

1.2 检测系统 血清 PCT 检测应用罗氏 Cobas e411 电化学发光全自动免疫分析仪及原装配套试剂,检测前均进行室内质控,且结果均在控,保证实验数据的准确可靠。血培养采用法国生物梅里埃公司生产的血培养仪及需阳瓶、厌氧瓶,痰液、尿液及其他体液培养均使用相应培养皿及鉴定试剂。

1.3 方法学验证及临床应用

1.3.1 正确度验证 大连医科大学附属第一医院检验科参加了临检中心组织的 PCT 室间质评,将其在 2017 年 4 月发放的 5 份室间质控品在本实验室内进行检测,以室间质评回报结果的靶值作为标准,验证该实验室检测结果是否在允许范围内。

1.3.2 精密度测定 按仪器操作说明对仪器进行维护保养、校准和室内质控,选择低值和高值 2 个水平质控品,按照普通标本检验程序进行测定。根据美国临床和实验室标准化委员会(NCCLS)EP5-A2 文件,批内精密度:同一天内每个水平连续测定 20 次;批间

精密度:每天测定 2 次,连续测定 10 d,同一天两次之间的时间间隔不少于 2 h。分别计算批内和批间精密度的均值、标准差。

1.3.3 分析测量范围 根据 EP6-A2 和 EP7-A2 文件将接近分析仪检测上限的高值标本和检测下限的低值标本混合成 6 个不同浓度的标本,浓度分别为 100%低值、80%低值+20%高值、60%低值+40%高值、40%低值+60%高值、20%低值+80%高值、100%高值。混合后将各浓度标本分别测定 3 次后取均值定为预期值,采用直线回归方程进行数据分析,直线回归方程为 $Y=aX+b$,要求 a 值为 0.97~1.03、 $r \geq 0.975$ 。

1.3.4 临床应用 971 例患者均在入院后、用药前采集标本进行微生物培养,并进行血浆 PCT 检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计数资料以例数或百分率表示,多组间比较采用 χ^2 检验,多组间中的两两比较采用 Fisher 确切概率法;不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 准确度结果 本实验室参加 2017 年临检中心血清 PCT 室间质评,5 份样品的检测结果通过,成绩 100%,当前性能解释为“满意”,累积性能解释为“成功”,见表 1。

表 1 血清 PCT 准确度结果					
样品编号	本室结果 (ng/mL)	靶值 (ng/mL)	偏倚 (%)	允许范围 (ng/mL)	评价 结果
201711	8.33	11.08	-24.82	7.76~14.4	通过
201712	0.36	0.47	-23.40	0.33~0.61	通过
201713	35.69	46.38	-23.05	32.47~60.29	通过
201714	0.06	0.07	-14.29	0.05~0.09	通过
201715	1.53	1.89	-19.05	1.32~2.46	通过

2.2 精密度结果 测定高、低两个水平的质控品批内、批间精密度分别为 1.16%、0.86%、2.54%、2.17%,均小于厂商声称的不精密度标准 1.3%、0.9%、3.7%、4.0%。

2.3 分析测量范围验证 经实验和计算,得出 PCT 的回归直线方程为 $Y=0.998X-0.7639$,回归系数为 0.998 0, r 为 0.999 8,均在合理范围内,PCT 的分

析测量范围验证结果见表 2 及图 1。

表 2 PCT 的分析测量范围结果

稀释度	重复次数(ng/mL)			实测均值 (ng/mL)	理论数值 (ng/mL)	符合度 (%)
	1 次	2 次	3 次			
100%低值	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	100.0
20%高值+80%低值	18.15	18.48	18.50	18.38	19.25	95.5
40%高值+60%低值	37.31	38.12	37.90	37.78	38.46	98.2
60%高值+40%低值	56.67	56.63	56.48	56.59	57.68	98.1
80%高值+20%低值	76.58	76.04	75.86	76.15	76.90	99.0
100%高值	96.47	95.86	96.02	96.12	96.12	100.0

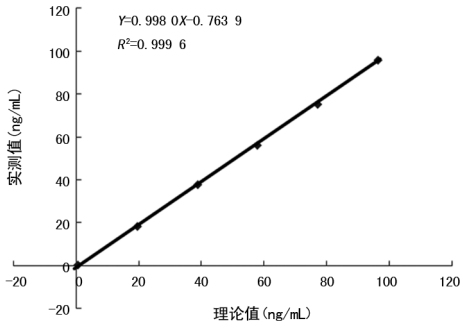


图 1 PCT 的线性分析

2.4 各类型标本培养结果微生物构成情况 971 份标本培养后微生物构成情况见表 3。

表 3 各标本类型培养结果微生物构成情况[n(%)]

标本类型	n	革兰阳性菌	革兰阴性菌	真菌
血培养	170	68(40.00)	98(57.65)	4(2.35)
痰培养	676	99(14.64)	316(46.75)	261(38.61)
尿液及其他局部体液培养	125	84(67.20)	38(30.40)	3(2.40)

2.5 血培养中不同微生物感染组的 PCT 水平比较 170 份血培养标本中检出细菌感染 166 份,真菌 4 份,PCT 水平分别为 1.56(0.21,5.68)、0.07(0.046,0.151)ng/mL,细菌组与真菌组 PCT 水平比较,差异有统计学意义($Z=9.344,P=0.000$)。细菌组中革兰阳性菌 68 份、革兰阴性菌 98 份,PCT 水平分别为 1.56(0.21,5.68)、4.40(1.84,18.44)ng/mL,革兰阳性菌组与革兰阴性菌组 PCT 水平比较,差异有统计学意义($Z=11.501,P=0.000$)。

2.6 各类型标本 PCT 水平比较 血培养、痰培养、尿及其他局部体液培养标本 PCT 水平分别为 3.38(0.39,28.43)、0.14(0.06,0.64)、0.15(0.07,0.93)ng/mL,血培养标本 PCT 水平明显高于痰培养标本、尿及其他局部体液培养标本,差异有统计学意义($P=0.000$)。

3 讨 论

罗氏 Cobas e411 电化学发光全自动免疫分析仪是应用电化学发光原理通过封闭检测系统来完成项目的检测。说明书中提供的所有参数都是厂家在最

佳条件下完成的,这与本院检验科的实验条件及实验室操作人员的能力等因素存在差异,因此,在实验前应对罗氏 Cobas e411 分析仪进行性能验证以确保实验结果的准确性。

PCT 是没有激素活性的降钙素前体物质,也是一种抗炎物质。在正常情况下,PCT 的半衰期为 25~30 h,标本收集 24 h 后,在室温状态下,PCT 水平大约下降 12%,4℃状态下,大约下降 6%,在体外的稳定性较好^[5]。蛋白酶可以特异性地降解 PCT,在细菌感染时可诱导 PCT 产生。健康人在正常情况下血清中 PCT 水平极低,约 2.5 pg/mL,由甲状腺髓质细胞产生。导致 PCT 异常升高的原因是由于体内产生败血症相关因子,人体会应急分泌 PCT,当 PCT 分泌量过多,或者缺少必需的水解酶,会导致体内的 PCT 快速升高。目前,PCT 检测已作为常规监测指标,可监测感染性疾病的发生、发展,被广泛应用于临床诊断中^[6]。

在感染性疾病中,如急性胰腺炎、新生儿肺炎、菌血症和脓毒血症等,细菌内毒素的释放是引起 PCT 早期快速升高的主要原因,PCT 可为早期诊断和临床用药提供可靠依据^[7-9],若 PCT 长期维持高水平状态往往预示该患者预后效果差^[10]。

本研究旨在探讨不同标本类型、不同类型微生物感染情况下,PCT 水平的差异。从结果中可以看出,细菌感染患者的 PCT 水平明显高于真菌感染患者,由此结果可以证明 PCT 的异常升高是由细菌分泌的内毒素导致的,而真菌感染并不引起 PCT 的明显变化,因此,临床应将 PCT 的监测结果与细菌培养的结果相结合,提高细菌性感染所致脓毒血症患者临床早期诊断效率及准确性^[11]。细菌感染可大体分为革兰阳性菌感染和革兰阴性菌感染,革兰阴性菌所致感染患者的血清 PCT 水平相对于革兰阳性菌所致感染患者明显升高,这表明革兰阴性菌血流感染后诱导 PCT 水平升高的能力强于革兰阳性菌,这可能与革兰阴性菌细胞壁中的内毒素成分有关^[12]。有研究表明,革兰阴性菌细胞壁的特有成分内毒素在无其他细胞因子辅助的条件下,可在体外直接诱导培养细胞迅速产生高水平的 PCT,而革兰阳性菌的细胞壁中没有该成分^[13]。病理情况下,PCT 的升高是由于细菌对外周单核细胞和巨噬细胞等的刺激使其合成增加^[14]。PCT 检测对于革兰阴性菌感染的灵敏度高于革兰阳性菌感染,这有助于区别细菌感染的类型,为诊断和用药提供更多依据^[15]。通过收集和分析不同类型标本的 PCT 水平,发现血培养标本 PCT 水平明显高于痰培养标本、尿及其他局部体液培养标本,这是因为血培养阳性代表的是全身感染,而其他体液培养,如痰液、尿液、分泌物、胃液、引流物等代表的是局部感染,血清中的 PCT 水平更能代表全身感染情况,PCT 对于全身感染的敏感程度高于局部感染,这对于临床

快速诊断非常重要,有助于早期诊断疾病类型,减少患者的检测项目,为患者减少不必要的花费。本研究还是存在一定局限性,纳入的研究对象没有包含混合微生物感染和多部位同时感染的情况,对更复杂的感染程度评估及鉴别不能提供有效的信息。PCT 是目前临床应用较为广泛,对细菌感染,特别是革兰阴性菌感染较敏感和特异的指标,期待更多的相关研究提供更多的有效信息辅助感染性疾病的诊断及鉴别诊断。

参考文献

- [1] DUBOS F, KORCZOWSKI B, AYGUN D A, et al. Distinguishing between bacterial and aseptic meningitis in children: European comparison for two clinical decision rules [J]. *Arch Dis Child*, 2010, 95(12): 963-967.
- [2] 时兢, 宋秀琴, 谢卫星, 等. 降钙素原对脓毒症的早期诊断价值[J]. *现代诊断与治疗*, 2004, 15(4): 214-216.
- [3] 黄华振, 钟琼, 叶中绿. 小儿肺炎血清降钙素原检测的临床意义[J]. *检验医学与临床*, 2011, 8(15): 1829-1830.
- [4] SOMECH R, ZAKUTH V, ASSIA A, et al. Procalcitonin correlates with C-reactive protein as an acute-phase reactant in pediatric patients[J]. *Isr Med Assoc J*, 2000, 2(2): 147-150.
- [5] 李俊达, 何剑琴. 慢性腹泻患者内毒素和降钙素原水平的研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2008, 18(6): 766-767.
- [6] KIP M M, KUSTERS R, IJZERMAN M J, et al. A PCT algorithm for discontinuation of antibiotic therapy is a cost-effective way to reduce antibiotic exposure in adult intensive care patients with sepsis[J]. *J Med Econ*, 2015, 18(11): 944-953.
- [7] OOSTENBRIN K. Implementation of procalcitonin in the

management of febrile children[J]. *Pediatr Infect Dis L*, 2012, 31(7): 793-799.

- [8] 申广生. 血清降钙素原检测在儿科感染性疾病中的应用价值[J]. *中国现代药物应用*, 2014, 30(12): 69-70.
- [9] 张剑, 刘宏, 张宁, 等. 降钙素原及简化临床肺部感染评分对呼吸机相关性肺炎患者预后的临床评估[J]. *中华医院感染学杂志*, 2012, 22(22): 4937-4939.
- [10] STOLZ D, CHRIST-CRAIN M, MORGENTHALE N G, et al. Copeptin, C-reactive protein, and procalcitonin as prognostic biomarkers in acute exacerbation of COPD [J]. *Chest*, 2007, 131(4): 1058-1067.
- [11] 徐正鹏, 施燕, 窦懿, 等. 头孢舒巴坦复合制剂对血流感染革兰阴性杆菌的体外抑菌效应[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2015, 35(2): 229-232.
- [12] POURAKBARI B, MAMISHI S, ZAFARI J, et al. Evaluation of procalcitonin and neopterin level in serum of patients with acute bacterial infection[J]. *Braz J Infect Dis*, 14(3): 252-255.
- [13] TAVARES E, MALDONADO R, OJEDA M L, et al. Circulating inflammatory mediators during start of fever in differential diagnosis of gram-negative and gram-positive infections in leucopenia rats[J]. *Cline Diane Lab Immunol*, 2005, 12(9): 1085-1093.
- [14] 杨朴强, 顾勤, 刘宁, 等. 可溶性髓样细胞触发性受体 1 对感染性疾病的诊断价值[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2010, 21(2): 213-215.
- [15] 徐瑛, 谢服役, 何立忠, 等. PCT、IL-6 及 hs-CRP 在新生儿感染性疾病早期诊断中的价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2011, 21(9): 1934-1935.

(收稿日期: 2019-02-12 修回日期: 2019-04-28)

(上接第 2792 页)

- [7] GUPTA K, GUPTA V K, JAYASHREE M, et al. Randomized controlled trial of interrupted versus continuous sedative infusions in ventilated children[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2012, 13(2): 131-135.
- [8] 余卓文, 顾莺. 应用 Lewin 变革理论指导“每日唤醒”镇静方案的实施[J]. *全科护理*, 2018, 16(28): 36-38.
- [9] ADAY A W, DELL'ORFANO H, HIRNING B A, et al. Evaluation of a clinical pathway for sedation and analgesia of mechanically ventilated patients in a cardiac intensive care unit(CICU): the Brigham and Women's Hospital Levine CICU sedation pathways[J]. *EHJACC*, 2013, 2(4): 299-305.
- [10] SHEHABI Y. Early goal directed sedation, a bridge to better clinical outcomes[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(10): 1969-1972.
- [11] 郭晓夏, 安友仲. ICU 后综合征在镇痛镇静谵妄指南、镇痛镇静集束化措施及 eCASH 中的干预建议[J/CD]. *中华重症医学电子杂志(网络版)*, 2017, 3(4): 250-253.
- [12] PATEL J, BALDWIN J, BUNTING P, et al. The effect of a multicomponent multidisciplinary bundle of interven-

tions on sleep and delirium in medical and surgical intensive care patients[J]. *Anaesthesia*, 2014, 69(6): 540-549.

- [13] 李勇, 金兆辰, 蔡燕, 等. 实施每日唤醒对多发伤病人血糖波动和病死率影响的临床研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(4): 233-238.
- [14] 郭昆, 张红英, 彭四萍. 每日唤醒与舒适化镇痛镇静两种方案在 ICU 机械通气患者中的应用比较[J]. *中华危重病急救医学*, 2018, 30(10): 950-952.
- [15] 秦燕明, 李勇, 王鹏. 多发伤患者实施每日唤醒时氧化应激指标变化的研究[J]. *临床与病理杂志*, 2016, 36(9): 1266-1271.
- [16] AUGUSTES R, HO K M. Meta-analysis of randomised controlled trials on daily sedation interruption for critically ill adult patients[J]. *Anaesth Intens Care*, 2011, 39(3): 401-409.
- [17] AITKEN L M, BUCKNALL T, KENT B, et al. Sedation protocols to reduce duration of mechanical ventilation in the ICU: a cochrane systematic review[J]. *J Adv Nurs*, 2016, 72(2): 261-272.

(收稿日期: 2019-04-01 修回日期: 2019-06-28)