

• 检验技术与方法 •

快速检测 hs-CRP 对鉴定胸腹腔积液性质的临床意义

蒋小燕

(四川省医学科学院/四川省人民医院检验科, 四川成都 610072)

摘要:目的 探讨快速法检测超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)对鉴定胸腹腔积液渗出液/漏出液的临床意义。方法 对 100 例患者的胸腹腔积液的总蛋白(TP)、乳酸脱氢酶(LDH)、葡萄糖(GLU)、hs-CRP 值进行测定,并测定患者血清 TP、LDH、GLU 浓度,对检测结果进行比较分析。结果 根据 Light 标准判断,渗出液 82 例,漏出液 18 例。Rivalta 试验、TP(积液)/TP(血)、LDH(积液)/LDH(血)判断胸腹腔积液性质的敏感度分别为 83.14%、80.49%、79.27%。以 5 mg/L 为 hs-CRP 的 cutoff 值,hs-CRP 的敏感度在所有项目中最高(84.15%),特异度为 27.78%。TP(积液)/TP(血)和 LDH(积液)/LDH(血)特异度最高,均为 100.00%。渗出液组的 LDH(积液)/LDH(血)和 hs-CRP 值检测结果显著高于漏出液组,差异有统计学意义($P<0.05$)。在几种方法联合判断胸腹腔积液性质中,以 hs-CRP、TP(积液)/TP(血)、LDH(积液)/LDH(血)三项联合检测的特异度最高,为 100.00%。结论 快速检测 hs-CRP 对判断胸腹腔积液性质有较高的敏感度,与其他方法的联合应用具有很好的特异度,对鉴别胸腹腔积液性质有较高的临床价值。

关键词:胸腹腔积液; 渗出液; 漏出液; C 反应蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.12.040

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)12-1616-03

Clinical values of fast detection of hs-CRP in distinguishing between transudate and exudate

Jiang Xiaoyan

(Department of Clinical Laboratory, Sichuan Academy of Medical Sciences/Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: **Objective** To evaluate the clinical value of fast detection of high sensitivity C-reaction protein(hs-CRP) in distinguishing between transudate and exudate. **Methods** 100 cases of patients were enrolled in the investigation. The levels of TP, LDH, GLU in serum and pleural effusion respectively, as well as the level of hs-CRP in the pleural effusion. **Results** According to Light standard, 82 cases of patients were diagnosed as transudate(transudate group) and 18 cases of patients were diagnosed as exudates(exudates group). The sensitivities of Rivalta test, TP(pleural effusion)/TP(serum) and LDH(pleural effusion)/LDH(serum) were 83.14%, 80.49% and 79.27%, respectively. Hs-CRP showed 84.15% sensitivity and 27.78% specificity at a cutoff value of 5 mg/L. TP(pleural effusion)/TP(serum) and LDH(pleural effusion)/LDH(serum) had the highest specificities, and both were 100.00%. The levels of LDH(pleural effusion)/LDH(serum) and hs-CRP in transudate group were significantly higher than those in exudates group($P<0.05$). Combined detection of hs-CRP, TP(pleural effusion)/TP(serum) and LDH(pleural effusion)/LDH(serum) had the highest specificity (100.00%). **Conclusion** The fast detection of hs-CRP in pleural effusion is sensitive, combining with other tests can prove its specificity. The fast assay of hs-CRP has special clinic value in the distinguish between exudate and transudate.

Key words: pleural effusion; exudate; transudate; C-reactive protein

胸腹腔积液是许多疾病的并发症。因不同疾病引起的胸腹腔积液的性质差异较大,因此临床上需要对胸腹腔积液的性质作出准确判断才能对症治疗。长期以来,通过对胸腹腔积液进行常规和生化检查以确定其性质,但仍有部分结果与临床不符,近期研究表明超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)在判断细菌感染和活性性疾病方面有重要作用,可能是鉴别积液性质的重要指标^[1]。因此,本研究通过对 100 例患者胸腹腔积液的 hs-CRP、乳酸脱氢酶(LDH)、总蛋白(TP)、葡萄糖(GLU)以及血清中 LDH、TP、GLU 进行检测,以探讨 hs-CRP 在鉴别胸腹腔积液中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1~3 月在本院住院治疗的患者,平均年龄 53.88 岁,年龄 11~91 岁,共 100 例,男性 69 例,女性 31 例,胸腔积液 60 例,腹腔积液 40 例。

1.2 方法

1.2.1 Rivalta 定性试验 采用冰醋酸法,按照《全国临床检

验操作规程》第 2 版^[2]操作。

1.2.2 hs-CRP 检测 采用免疫比浊法,应用芬兰 Orion Diagnostica 公司提供的 Quick Read CRP 快速分析仪及其配套试剂进行快速检测。操作时,先在专用比浊小管中加入 1 mL 缓冲液,再加入 20 μ L 标本,盖上管盖(管盖内含有抗人 CRP 交联胶乳冻干品)振摇。将小管插入仪器比浊孔,在 30 s 内测出样品空白。然后以手指压盖,使盖内的胶乳冻干品释放入反应液中,取出反应管快速颠倒混匀,再放入仪器测定孔内,仪器在 2 min 内显示结果。hs-CRP >5 mg/L 判断为阳性。

1.2.3 LDH、TP、GLU 检测 采用 OLYMPUS 5400 生化仪进行检测,按照仪器与试剂使用说明书进行操作。

1.3 判断标准 根据 Light 标准(金标准)判断漏出液和渗出液^[3]。渗出液:TP(积液)/TP(血) >0.5 , LDH(积液) >160 U/L, LDH(积液)/LDH(血) >0.6 ,符合以上任意 1 项者判断为渗出液。漏出液:排除渗出液者。cutoff 值:hs-CRP >5 mg/L。2 项指标联合检测时,任一项指标为阳性,则判断为阳性;3

项指标联合检测时,2 项或 3 项指标同时为阳性,则判断为阳性。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 对数据进行统计学分析,数据采用成组 *t* 检验,以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各项指标对鉴别胸腹腔积液性质的效果评价 根据 Light 标准判断^[3]区分,100 例胸腹腔积液标本中,渗出液 82 例,漏出液 18 例。以 Rivalta 试验、TP(积液)/TP(血)、LDH(积液)/LDH(血)、hs-CRP 判断胸腹腔积液性质的敏感度分别为 83.14%、80.49%、79.27%、84.15%,特异度分别为 55.55%、100.00%、100.00%、27.78%,准确度分别为 79.00%、84.00%、83.00% 和 84.00%。以 hs-CRP 判断胸腹腔积液性质的敏感度最高,而 TP(积液)/TP(血)、LDH(积液)/LDH(血)的特异度较好,见表 1。

表 1 单一项目检测判断胸腹腔积液性质的敏感度、特异度和准确度 [% (n/n)]			
项目	敏感度	特异度	准确度
Rivalta 试验	83.14(69/82)	55.55(10/18)	79(79/100)
TP(积液)/TP(血)	80.49(66/82)	100.00(18/18)	84(84/100)
LDH(积液)/LDH(血)	79.27(65/82)	100.00(18/18)	83(83/100)
hs-CRP	84.15(69/82)	27.78(5/18)	74(74/100)

表 3 联合检测在鉴别胸腹腔积液性质中的敏感度、特异性、阳性及阴性预测值 [% (n/n)]				
项目	敏感度	特异度	阳性预测值	阴性预测值
hs-CRP+TP(积液)/TP(血)	95.12(78/82)	27.78(5/18)	85.71(78/91)	55.56(5/9)
hs-CRP+LDH(积液)/LDH(血)	95.12(78/82)	27.78(5/18)	86.67(78/90)	50.00(5/10)
TP(积液)/TP(血)+LDH(积液)/LDH(血)	90.24(74/82)	100.00(18/18)	100.00(74/74)	69.23(18/26)
hs-CRP+Rivalta 试验	86.59(71/82)	16.67(3/18)	81.61(71/87)	23.08(3/13)
hs-CRP+TP(积液)/TP(血)+LDH(积液)/LDH(血)	87.80(72/82)	100.00(18/18)	98.63(72/73)	66.67(18/27)

3 讨 论

CRP 由相对分子质量为 23 017 的 5 个完全相同亚单体组成,等电点为 pH5.7~6.0^[4]。在发生各种急慢性感染、自身免疫性疾病、恶性肿瘤、组织损伤、心肌梗死等疾病时,由免疫细胞产生的白细胞介素刺激肝脏产生 CRP,或者由外周淋巴细胞合成。CRP 可结合于细胞表面,激活补体系统及调理免疫细胞和使血小板激活因子活性增加及增强细胞吞噬,具有增强免疫功能及抵御外来病原体侵入的作用,主要对外界的细菌感染有作用^[5-6]。渗出液胸腹腔积液患者因受炎性感染,组织损伤刺激或恶性肿瘤的免疫调节影响下,促进肝细胞合成 CRP,释放入血清内,又由于病原微生物毒素使组织缺氧,炎性介质作用使患者血管壁渗透压升高,使血液中 CRP 浓度都明显升高,而漏出液胸腹腔积液患者因肝细胞不受刺激,合成 CRP 不增加^[7]。因此可将 CRP 作为鉴别胸腹腔积液性质的指标。与 CRP 相比,hs-CRP 敏感度更高,结果更精确,它在人体内可长期保持恒定,不受进食影响。

Rezaeetalab 等^[1]将 cutoff 值 hs-CRP>5 mg/L 作为诊断细菌感染和活性性疾病的重要指标。本文结果显示以 hs-CRP>5 mg/L 为 cutoff 值,在几种方法的单一检测中 hs-CRP 判断胸腹腔积液性质的敏感度最高为 84.15%,TP(积液)/TP(血)特异度最高为 100.00%,与王丹青等^[8]结论相同。胸腹腔积液渗出液组的 LDH(积液)/LDH(血)和 hs-CRP 值检测结果显著高于胸腹腔积液漏出液组,两组结果比较有统计学意

2.2 渗出液与漏出液各项检测指标的比较 胸腹腔积液渗出液组的 LDH(积液)/LDH(血)和 hs-CRP 检测结果显著高于漏出液组,两组结果比较差异有统计学意义(*P* < 0.05),而渗出液和漏出液两组 TP(积液)/TP(血)和 GLU(积液)/GLU(血)差异无统计学意义(*P* > 0.05),见表 2。

表 2 渗出液和漏出液各项指标比较				
项目	渗出液(±s)	漏出液(±s)	<i>t</i>	<i>P</i>
TP(积液)/TP(血)	0.73±0.82	0.23±0.12	2.556	0.484
LDH(积液)/LDH(血)	2.48±3.10	0.19±0.14	3.119	0.001
GLU(积液)/GLU(血)	1.22±1.09	1.47±0.73	-0.935	0.757
hs-CRP(mg/L)	42.11±43.97	15.89±28.06	2.419	0.003

2.3 各项指标联合检测对鉴别胸腹腔积液性质的效果评价 hs-CRP 分别与 TP(积液)/TP(血)、LDH(积液)/LDH(血)、Rivalta 试验联合检测,均使敏感度较单一检测时有较大提高。而 hs-CRP 与 TP(积液)/TP(血)、LDH(积液)/LDH(血)三项联合检测,不仅使检测的敏感度提高到 87.8%,而且特异度较 hs-CRP 单一检测时也有大幅提高,由 27.78% 增加到 100.00%。见表 3。

义(*P* < 0.05)。在几种方法联合检测中,其他方法与 hs-CRP 的联合检测均较其单一检测敏感度有较大提高,而 hs-CRP 与 TP(积液)/TP(血)、LDH(积液)/LDH(血)三项指标的联合检测使特异度提高到 100.00%。由此可见,hs-CRP 在判断胸腹腔积液性质方面的虽特异性不足但敏感性较好,而与其他方法的联合检测使检测在敏感性和特异性都有较大改善。有研究显示,在以白细胞升高为主的渗出液中,CRP>45 mg/L 可作为判断肺炎性胸腔积液的指标^[9]。Assi 等^[10]回顾了 99 例细胞学阳性胸腔积液患者,发现 98 例为渗出液,从而提出漏出液不必找癌细胞的观点。因此,若在区分胸腹腔积液的性质时对其性质即作出正确判断,其对胸腹腔积液的良恶性判断也有较大的预见性。

综上所述,单一检测 hs-CRP 对鉴别胸腹腔积液性质有较高的敏感度,但特异性较差,但与 LDH(积液)/LDH(血)和 TP(积液)/TP(血)联合检测,可使敏感度和特异度明显升高,对鉴定胸腹腔积液的性质有重要诊断价值。有研究^[11-12]表明,CRP 快速分析法与免疫散射比浊法及定性胶乳法相比,结果相关性较好。而快速法检测 hs-CRP 具有耗时短、标本用量少、操作简单等特点,能减少样本周转时间,更快地为临床提供诊断依据。

参考文献

[1] Rezaeetalab F,Parizadeh SMR,Esmaeely H, (下转第 1619 页)

表 3	洗板条件对血清标本 e 抗原检测结果的影响		
洗板条件	n	临界值标本数(n)	比例(%)
不冲洗	2 852	423	3. 15
自来水冲洗	2 944	236	2. 92*
蒸馏水冲洗	2 760	152	2. 82#

*: $P<0.05$, 与不冲洗比较; #: $P<0.05$, 与自来水冲洗比较。

3 讨 论

ELISA 法检测 HBV 血清标志物是一种定性或半定量的方法, 很多因素都会干扰检测结果^[5]。厂商在研发试剂时, 已考虑内源性因素对检测结果的影响, 基本可避免内源性干扰因素对检测结果的影响。就外源性干扰因素而言, 本研究中检出的临界值标本均无溶血、细菌污染和反复冻融等情况。在操作上, 要严格按照 SOP 文件进行操作, 但要做到百分之百的规范化确实很难, 再加上 ELISA 方法学检测的局限性, 因此本研究主要从一些细微操作上着手研究高临界结果出现的原因来进行分析。

ELISA 法操作过程^[6-9]包括从标本的采取和保存, 到试剂的准备、加样、保温、洗涤、显色和比色, 再到最后的结果判断。每一个环节都可能引起结果的偏差。试剂的准备: 从冰箱中取出的试验用试剂应待温度与室温平衡后使用。试剂盒中本次试验不需用的部分应及时放回冰箱保存。加样: 在 ELISA 中一般有 3 次加样步骤, 即加标本、加酶结合物、加底物, 加样时应将所加物加在 ELISA 板孔的底部, 避免加在孔壁上部, 并注意不可溅出, 不可产生气泡。温育: 在 ELISA 中一般有 2 次抗原抗体反应, 即加标本和加酶结合物后, 抗原抗体反应的完成需要有一定的温度和时间, 这一保温过程称为温育, ELISA 属固相免疫测定, 抗原、抗体的结合只在固相表面上发生。37℃是实验室中常用的保温温度, 也是大多数抗原抗体结合的合适温度。洗涤: 洗涤在 ELISA 过程中虽不是一个反应步骤, 但却也决定着实验的成败。ELISA 就是靠洗涤来达到分离游离的和结合的酶标记物的目的。通过洗涤以清除残留在板孔中没能与固相抗原或抗体结合的物质, 以及在反应过程中非特异性地吸附于固相载体的干扰物质。显色和比色: 反应的温度和时间仍是影响显色的因素。在一定时间内, 阴性孔可保持无色, 而阳性孔则随时间的延长而呈色加强。适当提高温度有助于加速显色进行。可以说在 ELISA 操作中, 加样是最主要的关键技术^[10], 也是最难做到精确的步骤, 应引起操作者的高度重视。因此, 笔者认为本研究中的高临界值标本比例极有可能与标本加样过程中很难完全加到板孔底部有关, 当加样尤其是加

酶结合物时如果碰到孔壁上部, 则最后显色的时候容易产生非特异性的颜色, 从而导致临界值标本比例的升高。

本研究显示, 洗板后用自来水冲洗和用蒸馏水冲洗反应板均可有效降低乙肝表面抗原和表面抗体的临界值标本比例, 但对乙肝 e 抗原的临界值标本比例无影响。用蒸馏水冲洗与用自来水冲洗所测的临界值标本比例差异有统计学意义($P<0.05$)。分析原因为: (1) 用自来水或蒸馏水冲洗反应板数秒能够有效去除反应孔壁上部污染的酶结合物或其他反应试剂; (2) 因蒸馏水的 pH 值更接近反应所需的 pH 要求, 自来水则存在一定的偏差, 因此蒸馏水洗板比自来水更能有效降低临界值标本比例; (3) 对于用蒸馏水冲洗后, 仍然存在较低比例的临界值标本, 它们是特异性的, 出现这种情况可能与病毒感染的量少或者患者刚刚处于感染的初期阶段有关。因此, 结合本科室实际情况, ELISA 法检测 HBV 血清标志物时, 考虑通过加完酶结合物的洗板步骤后, 再次用蒸馏水冲洗反应板数秒来降低临界值标本比例。

参考文献

[1] 汪德宇. 酶联免疫吸附法出现假阳性的原因分析和解决方法[J]. 中国当代医药, 2009, 16(19): 137-138.

[2] 陈保民. 酶免法检测 HBsAg 中实验操作个体差异及可疑区域的界定[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2007, 42(5): 904-906.

[3] 陈保民. 酶免法检测结果可疑区域的界定及应用[J]. 职业与健康, 2001, 17(5): 40-42.

[4] 伍伟健, 郭如华. ELISA 试验灰区设置方法的探讨[J]. 中国生物制品学杂志, 2008, 21(10): 911-912.

[5] 曹文飞. 酶联免疫测定的干扰因素与对策[J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1998, 10(3): 60-64.

[6] 王支兰. ELISA 试验的质量控制[J]. 现代预防医学, 2004, 31(1): 148.

[7] Carlander D, Larsson A. Avian antibodies can eliminate interference due to complement activation in ELISA[J]. Ups J Med Sci, 2001, 106(3): 189-195.

[8] 岳化葵, 陈月, 程娟. 乙肝血清标志物 ELISA 检测过程中的质量控制[J]. 亚太传统医药, 2008, 4(5): 84-85.

[9] 张熹. ELISA 操作要求及质量控制[J]. 中国牧业通讯, 2008(9): 35-37.

[10] 段元宏. 浅谈 ELISA 操作中由加样差异造成的 OD 值偏差[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(6): 749-749.

(收稿日期: 2014-02-02)

(上接第 1617 页)

et al. Tumor necrosis factor alpha and high sensitivity C-reactive protein in diagnosis of exudative pleural effusion[J]. J Res Med Sci, 2011, 16(11): 1405-1409.

[2] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 149.

[3] Light RW. Pleural effusion[J]. N Engl J Med, 2002, 346(25): 1971-1977.

[4] 陈志. C 反应蛋白的检测及其临床意义[J]. 国外医学: 临床生物化学及检验分册, 1994, 15(3): 98-99.

[5] 许凯声, 黄洪, 杨旭峰, 等. C 反应蛋白检测在判断胸腹水积液性质中的价值[J]. 检验医学, 2006, 21(3): 241-243.

[6] Garcia-Pachon E, Soler MJ, Padilla-Navas I, et al. C-reactive protein in lymphocytic pleural effusions: a diagnostic aid in tuberculous pleuritis[J]. Respiration, 2005, 72(5): 486-489.

[7] 王立, 吕苏成. CRP 鉴别渗出液, 漏出液性质的可行性观察比较

[J]. 职业与健康, 2000, 16(3): 18.

[8] 王丹青, 林斌, 孙冰梅. 胸腹水鉴别诊断的实验探讨[J]. 临床医学, 2003, 23(4): 10-11.

[9] Porcel JM, Bielsa S, Esquerda A, et al. Pleural fluid C-reactive protein contributes to the diagnosis and assessment of severity of parapneumonic effusions[J]. Eur J Intern Med, 2012, 23(5): 447-450.

[10] Assi Z, Caruso JL, Herndon J, et al. Cytologically Proved Malignant Pleural Effusions Distribution of Transudates and Exudates[J]. Chest, 1998, 113(5): 1302-1304.

[11] 陆青, 俞国荣. 全血 CRP 测定仪及其试剂的评估[J]. 上海医学检验杂志, 1999, 14(5): 268-269.

[12] 巩丽颖, 卢燕平, 宋瑞群, 等. 两种方法测定 C-反应蛋白的评价和比对[J]. 中华全科医学, 2011, 9(1): 122.

(收稿日期: 2014-01-16)