

· 论著 ·

# 基于 MALDI-TOF MS 半定量检测关节液钙卫蛋白诊断假体周围感染

徐影<sup>1</sup> 王驰<sup>2</sup> 马雪婷<sup>3</sup> 刘佳玉<sup>2</sup> 郭浩然<sup>2</sup> 宋佳兴<sup>3</sup> 魏文彬<sup>2</sup> 王成彬<sup>1</sup><sup>1</sup>潍坊医学院医学检验学院 2020 级, 潍坊 261053; <sup>2</sup>解放军总医院第一医学中心检验科, 北京 100853; <sup>3</sup>融智生物科技(青岛)有限公司, 北京 100083

通信作者: 王成彬, Email: wangchin301@163.com

**【摘要】** 目的 探讨关节液钙卫蛋白诊断假体周围感染(PJI)的价值。方法 采用前瞻性研究。选择 2021 年 7 月至 2022 年 6 月解放军总医院第一医学中心髋、膝关节置换术后疑似 PJI 的 82 例患者。根据 2018 年第 2 次国际共识会议提出的诊断标准分为感染组(PJI 组, 39 例)和未感染组(43 例)。采用基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)对各组患者关节液中钙卫蛋白和内部参考标准(IRS)的水平双盲检测,以目标蛋白峰值/IRS 峰值作为结果记录。采用 Mann-Whitney *U* 检验比较两组间 S100A8 和 S100A9 的浓度,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 S100A8 和 S100A9 对 PJI 的诊断效能。结果 钙卫蛋白以 S100A8 单体和 S100A9 单体的形式被检测到。PJI 组关节液 S100A8 水平明显高于未感染组[1.57(0.48, 4.17)比 0.00(0.00, 0.05),  $Z=-7.221, P<0.001$ ]; PJI 组关节液 S100A9 水平也明显高于未感染组[0.74(0.29, 1.70)比 0.06(0.00, 0.10),  $Z=-6.255, P<0.001$ ]。S100A8 和 S100A9 诊断 PJI 的敏感度为 97.4% 和 87.2%, 特异度 86.0% 和 88.4%, ROC 曲线下面积为 0.964(95%CI 0.929~0.998) 和 0.902(95%CI 0.924~0.996)。结论 采用 MALDI-TOF MS 检测关节液 S100A8 和 S100A9 对 PJI 具有较好的诊断价值。

**【关键词】** 感染; 白细胞 L1 抗原复合物; 基质辅助激光解吸电离; 关节形成术

基金项目: 国家自然科学基金(81871731)

## Diagnosis of periprosthetic joint infection based on semi-quantitative detection of synovial fluid calprotectin by MALDI-TOF MS

Xu Ying<sup>1</sup>, Wang Chi<sup>2</sup>, Ma Xueting<sup>3</sup>, Liu Jiayu<sup>2</sup>, Guo Haoran<sup>2</sup>, Song Jiaying<sup>3</sup>, Wei Wenbin<sup>2</sup>, Wang Chengbin<sup>1</sup><sup>1</sup>Grade 2020, School of Laboratory Medicine, Weifang Medical College, Weifang 261053, China;<sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine, the First Medical Centre, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China; <sup>3</sup>Intelligene Biosystems (Qingdao) Co., Ltd., Beijing 100083, China

Corresponding author: Wang Chengbin, Email: wangchin301@163.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the clinical value of synovial fluid calprotectin for the diagnosis of periprosthetic joint infection (PJI). **Methods** Based on prospective cohort study design, a total of 82 patients suspected of PJI after hip and knee arthroplasty in the First Medical Center of the PLA General Hospital from July 2021 to June 2022 were selected. Patients were divided into infection group (PJI,  $n=39$ ) and non-infection group (non-PJI,  $n=43$ ) according to the diagnostic criteria proposed by the Second International Consensus Conference in 2018. The matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) was used for double-blind detection of calprotectin and internal reference standard (IRS) in synovial fluid of patients. The peaks of target protein and IRS were recorded for further analysis. Mann-Whitney *U*

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20220718-00416

收稿日期 2022-07-18 本文编辑 武昱

引用本文: 徐影, 王驰, 马雪婷, 等. 基于 MALDI-TOF MS 半定量检测关节液钙卫蛋白诊断假体周围感染[J]. 中华检验医学杂志, 2023, 46(4): 394-401. DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20220718-00416.



test was used to compare the concentrations of S100A8 and S100A9 between the two groups, and receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the diagnostic efficacy of S100A8 and S100A9 for PJI. **Results** Calprotectin was detected as monomers S100A8 and S100A9. Synovial fluid S100A8 was significantly higher in the PJI group than that in the non-PJI group [1.57 (0.48, 4.17) vs 0.00 (0.00, 0.05),  $Z=-7.221$ ,  $P<0.05$ ]. Synovial fluid S100A9 was also significantly higher in the PJI group than that in the non-PJI group [0.74 (0.29, 1.70) vs 0.06 (0.00, 0.10),  $Z=-6.255$ ,  $P<0.05$ ]. When using S100A8 and S100A9 to diagnose PJI, the sensitivity were 97.4% and 87.2%, the specificity were 86.0% and 88.4%, and the area under the ROC were 0.964 (95%CI 0.929–0.998) and 0.902 (95%CI 0.924–0.996), respectively. **Conclusion** The detection of synovial fluid S100A8 and S100A9 by MALDI-TOF MS can make a satisfactory diagnosis for PJI.

**【Key words】** Infection; Leukocyte L1 antigen complex; Matrix-assisted laser desorption-ionization; Arthroplasty

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81871731)

假体周围感染 (periprosthetic joint infection, PJI) 是全关节置换术患者中常见的严重并发症。PJI 发生在 1%~2% 的初次关节置换术中和 4% 的翻修关节置换术中<sup>[1]</sup>。术后感染典型的临床症状包括疼痛、发热、水肿、术后伤口长时间积液和关节功能受损<sup>[2]</sup>。但许多 PJI 患者可能不出现这些症状或仅有轻微的临床症状,且 PJI 患者关节液培养阳性率较低,因此临床医生很难在早期将 PJI 与无菌性松动进行鉴别。故寻找临床标志物,对 PJI 的早期诊断至关重要。

钙卫蛋白是 S100 白细胞蛋白家族的成员,是由 S100A8 和 S100A9 亚基组成的异二聚体钙结合蛋白<sup>[3]</sup>。文献报道,钙卫蛋白在骨髓细胞中含量丰富(例如:中性粒细胞、单核细胞等),在感染、炎症和肿瘤时钙卫蛋白分泌明显增加<sup>[4]</sup>。在前期实验中,本课题组通过液相色谱-串联质谱法在 PJI 和关节置换术后未感染患者的关节液中筛选出了包括 S100A8 和 S100A9 在内的差异蛋白<sup>[5]</sup>。

基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱 (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS) 属于自上而下质谱技术,分析样本中未经酶消化处理的完整蛋白质,从而可以检测蛋白质的变体形式,例如翻译后修饰<sup>[6]</sup>。MALDI-TOF MS 根据蛋白质荷比 ( $m/z$ ) 的差异检测样本中的蛋白质,并生成质谱图,而且可以通过添加内部参考标准 (internal reference standard, IRS) 实现对蛋白质的定量检测<sup>[7]</sup>。

本研究拟通过 MALDI-TOF MS 的方法检测髌、膝关节置换术后疑似 PJI 患者的关节液钙卫蛋白的水平,探讨钙卫蛋白对 PJI 的临床诊断价值,为早期诊断提供临床依据。

## 对象与方法

### 一、对象

1. 研究对象:采用前瞻性研究。遵循随机双盲原则选择 2021 年 7 月至 2022 年 6 月解放军总医院第一医学中心髌、膝关节置换术后疑似 PJI 的患者入组。PJI 纳入标准:(1)年龄>18 岁;(2)髌、膝关节置换术后出现任何疑似 PJI 的症状、体征或检查检验结果的患者。排除标准:(1)临床资料不全,无法判断是否感染的患者;(2)全身或其他部位存在感染的患者;(3)存在痛风、风湿性关节炎、强直性脊柱炎等代谢及自身免疫性疾病的患者;(4)患有肿瘤、肝脏、肾脏、肺部疾病及近期活动性心脏疾病者。共纳入 82 例患者,根据 2018 年第二次国际共识会议 (International Consensus Meeting, ICM) 制定的新的 PJI 循证定义标准诊断<sup>[8]</sup>。

感染组 (PJI 组) 39 例,年龄 (66.5±7.1) 岁,男 19 例,女 20 例。未感染组 43 例,年龄 (63.4±9.7) 岁,男 23 例,女 20 例。本研究经解放军总医院第一医学中心伦理委员会批准 (S2022-271-01),所有参与者均签署知情同意书。

2. 样本收集:患者资料通过医院管理信息系统收集,包括患者年龄、性别、病史等信息以及患者临床常规检查项目的相关资料。采集符合纳排标准的患者的关节液,进行双盲编号后,一部分经 1 760×g 离心 5 min 后,将上清分装在 0.5 ml 微量离心 (eppendorf, EP) 管中,−80 °C 冰箱保存备用。另一部分注入血培养瓶中由自动血培养仪进行需氧、厌氧和真菌培养,培养时间延长至 14 d。

### 二、方法

1. 试剂与仪器: MALDI-TOF MS 质谱仪来自融智生物科技(青岛)有限公司;S100A8-His 蛋白标准

品(11138-H08B)购自中国 Sino Biological 公司;芥子酸基质由融智生物科技(青岛)有限公司提供;钙卫蛋白多克隆抗体(MBS2090434)购自美国 Mybiosource 公司;BacT/Alert 3D 全自动血培养仪购自法国生物梅里埃公司;配套血培养瓶、血平板、中国蓝平板和沙保弱氏琼脂平板购自法国生物梅里埃公司;VITEK MS 质谱仪购自法国生物梅里埃公司。

2. MALDI-TOF MS 检测关节液钙卫蛋白:选用 S100A8-His 蛋白标准品作为 IRS, IRS 原液用 25 mmol/L 的  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  稀释 10 倍。将 2  $\mu\text{l}$  关节液和 5  $\mu\text{l}$  IRS 稀释液加入 96 孔板中,吹打混匀。取 2  $\mu\text{l}$  混合液,加入新的 96 孔板中,再加入 10  $\mu\text{l}$  芥子酸基质,混匀后取 2  $\mu\text{l}$  混合液点样在 96 孔上样板上,进行 MALDI-TOF MS 检测,以上步骤均为自动加样器操作。通过与数据库比对和参考相关文献[9-10],确认每个峰所代表的蛋白种类,将“目标蛋白峰值/IRS 峰值”作为结果记录。

3. S100A9 变体的确证:用钙卫蛋白多克隆抗体富集关节液后,再进行 MALDI-TOF MS 检测:(1)抗体与生物素结合:将钙卫蛋白抗体加入 0.5 ml 超滤管中,用磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤抗体 3 次,加入生物素室温孵育,使抗体与生物素结合。(2)免疫磁珠的制备:向超滤管中加入 PBS 洗涤 3 次,弃去收集管中的液体。取新的 0.5 ml EP 管加入超滤管中生物素标记抗体和亲和素标记的磁珠,将 EP 管置于摇床振荡器上 10 min,使抗体结合在磁珠上。(3)富集关节液:关节液用 PBST 稀释 10 倍,向关节液稀释液中加入免疫磁珠,置于摇床振荡器上 30 min,进行富集。再将富集后的 EP 管置于磁力架上,用 PBS 洗涤 3 次。(4)上机:将洗涤后的 EP 管放在磁力架上,加入芥子酸基质洗脱富集物,取 2  $\mu\text{l}$  富集物点样在 96 孔

上样板上,进行 MALDI-TOF-MS 检测。

4. 关节液微生物培养:采集患者关节液注入血培养瓶由 BacT/Alert 3D 全自动血培养仪培养,阳性瓶报警后转种血平板、中国蓝平板和沙保弱氏琼脂平板培养,分离菌采用 VITEK MS 质谱仪进行菌种鉴定,而没有报警的阴性瓶培养 14 d 后丢弃。

5. 统计学分析:采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 8.3.0 统计学软件对实验数据进行统计学分析。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验对所有数据进行正态性检验。服从正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;非正态分布的数据则以  $M(Q_1, Q_3)$  表示,两组间比较采用 Mann-Whitney  $U$  检验,多组间比较采用 Kruskal-Wallis  $H$  检验。计数资料以频数(%)表示,两组间比较采用 Pearson 卡方检验或 Fisher 精确卡方检验。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评价诊断效能。相关性分析时,则采用 Spearman 相关性分析。双侧  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、两组患者一般资料比较

两组患者年龄( $t=1.634, P=0.106$ )和性别( $\chi^2=0.186, P=0.666$ )比较,差异无统计学意义。PJI 组和未感染组所置换关节的部位差异无统计学意义( $P=0.924$ )。关节液培养的敏感度为 69.23%,特异度为 93.02%。仅有 4 例 PJI 患者发现有窦道存在。PJI 组发病时间显著早于未感染组( $P=0.025$ )(表 1)。

### 二、关节液 MALDI-TOF MS 检测结果

PJI 组和未感染组患者关节液 MALDI-TOF MS

表 1 各组患者一般临床信息

项目	假体周围感染组( $n=39$ )	未感染组( $n=43$ )	统计值	$P$ 值
置换关节[例(%)]			$\chi^2=0.009$	0.924
膝	25(64.10)	28(65.12)		
髋	14(35.90)	15(34.88)		
关节液培养结果[例(%)]			$\chi^2=34.163$	<0.001
阳性	27(69.23)	3(6.98)		
阴性	12(30.77)	40(93.02)		
窦道[例(%)]	4(10.26)	0	-	0.047
术后发病时间[月, $M(Q_1, Q_3)$ ]	8.00(2.00, 54.00)	38.50(10.25, 84.00)	$Z=-2.239$	0.025

注:“-”为无数据





检测结果见图 1, 暂将  $m/z=10\ 833$  附近峰归为 S100A8,  $m/z=12\ 689$  附近峰归为 des-MTCKM S100A9,  $m/z=13\ 151$  附近峰归为 des-M S100A9,  $m/z=13\ 272$  附近峰归为 S-亚硝基化 S100A9。  $m/z=12\ 249$  的峰为添加的 IRS (S100A8-HIS 标准品)。 des-MTCKM S100A9 和 des-M S100A9 均为 S100A9 的截短变体。 des-MTCKM S100A9 为 S100A9 前 5 个氨基酸被截断, 第 6 个氨基酸乙酰化; des-M S100A9 为 S100A9 第 1 个氨基酸被截断, 第 2 个氨基酸乙酰化。 钙卫蛋白以 S100A8 和 S100A9 单体的形式被检测到, 并且检测到 S100A9 的 3 个变体, 但未检测到天然 S100A9。

### 三、S100A8 和 S100A9 变体的验证

经钙卫蛋白抗体富集后的关节液进行 MALDI-TOF MS 检测, 可检测到  $m/z=10\ 833$ 、 $m/z=12\ 689$ 、 $m/z=13\ 151$  和  $m/z=13\ 272$  附近峰值 (图 2)。 因此可确定这 4 个峰属于钙卫蛋白,  $m/z=10\ 833$  为 S100A8,  $m/z=12\ 689$ 、 $m/z=13\ 151$  和  $m/z=13\ 272$  为 S100A9 的 3 个变体。

### 四、感染组和未感染组患者关节液 S100A8 和 S100A9 检测结果

以“10 833 峰值/12 249 峰值”为 S100A8 的半定量结果, 以“12 689+13 151+13 272 峰值/12 249 峰值”为 S100A9 的半定量结果。 PJI 组 S100A8 水平高于未感染组, 差异有统计学意义 [1.57 (0.48, 4.17) 和 0.00 (0.00, 0.05),  $Z=-7.221, P<0.001$ ]; PJI

组 S100A9 水平也高于未感染组, 差异有统计学意义 [0.74 (0.29, 1.70) 和 0.06 (0.00, 0.10),  $Z=-6.255, P<0.001$ ]。

### 五、关节液 S100A8 和 S100A9 对 PJI 的诊断效能

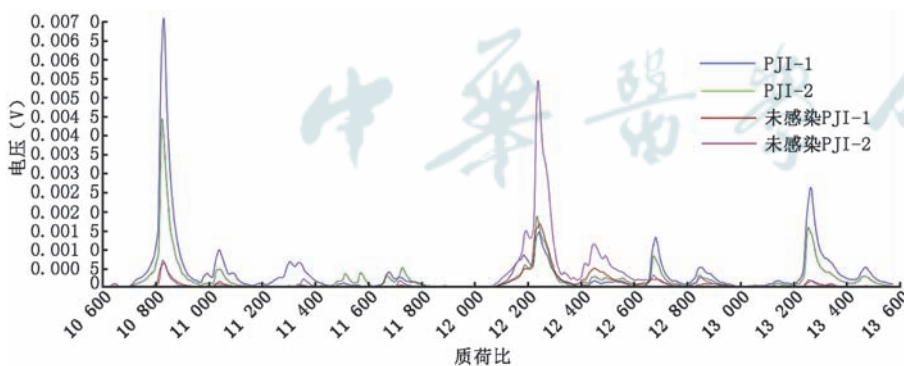
ROC 曲线结果显示, 关节液 S100A8 和 S100A9 对 PJI 均具有较好的诊断效能, 曲线下面积分别为 0.964 (95%CI 0.929~0.998) 和 0.902 (95%CI 0.924~0.996)。 关节液 S100A8 和 S100A9 诊断 PJI 的敏感度为 97.4% 和 87.2%, 特异度为 86.0% 和 88.4%, 阳性预测值为 86.4% 和 87.2%, 阴性预测值分别为 97.4% 和 88.4% (表 2)。 两标记物联合诊断 PJI 的 AUC 值、敏感度和特异度分别为 0.960 (95%CI 0.924~0.996)、97.4% 和 83.7% (图 3, 表 2)。

### 六、关节液 S100A8 和 S100A9 与现有临床指标诊断效能比较与联合诊断

收集怀疑为 PJI 患者的关节液和血液常规检测项目的临床数据, 分析比较可得, 关节液 S100A8 诊断效能优于其他临床指标, 且关节液 S100A8 和 S100A9 较其他临床指标相比具有较高的诊断敏感度 (表 3)。 S100A8 与关节液白细胞计数和关节液多形核中性粒细胞百分比联合诊断 PJI, 可提高诊断的 AUC 值 [0.975 (95%CI 0.943~1.000)] 和特异度 (94.6%); S100A9 与关节液白细胞计数和关节液多形核中性粒细胞百分比联合诊断 PJI, 可提高诊断的 AUC 值 [0.953 (95%CI 0.898~1.000)]、敏感度 (97.0%) 和特异度 (89.2%) (图 4, 表 4)。

### 七、关节液微生物培养结果

39 例 PJI 患者中, 27 例关节液培养结果为阳性, 12 例培养结果为阴性, 葡萄球菌属 14 株, 链球菌属 4 株, 克雷伯菌属 2 株, 变形杆菌属 2 株, 假单胞菌属 2 株, 念珠菌



注: 蓝色和绿色分别代表 2 例感染组患者, 红色和紫色分别代表 2 例未感染组患者; PJI 为假体周围感染

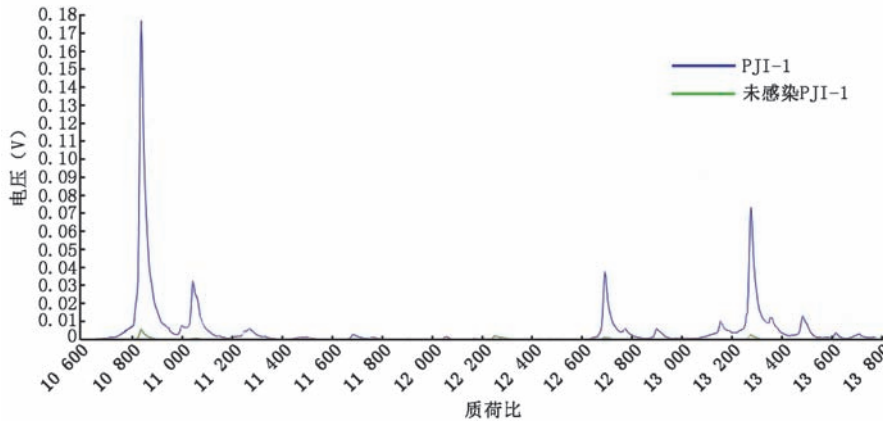
图 1 感染组和未感染组患者关节液钙卫蛋白的质谱检测情况

表 2 各指标单独及联合检测鉴别诊断假体周围感染的诊断效能

指标	AUC	敏感度 (%)	特异度 (%)	95%CI	约登指数	最佳截断值
S100A8	0.964	97.4	86.0	0.929~0.998	0.834	0.104
S100A9	0.902	87.2	88.4	0.823~0.980	0.756	0.150
联合诊断	0.960	97.4	83.7	0.924~0.996	0.811	-

注: AUC 为曲线下面积, 95%CI 为 95% 可信区间, “-” 为无数据

### 讨 论



注:蓝色代表1例感染组患者,绿色分别代表1例未感染组患者;PJI为假体周围感染

图2 感染组和未感染组患者关节液经钙卫蛋白多克隆抗体富集后的质谱检测情况

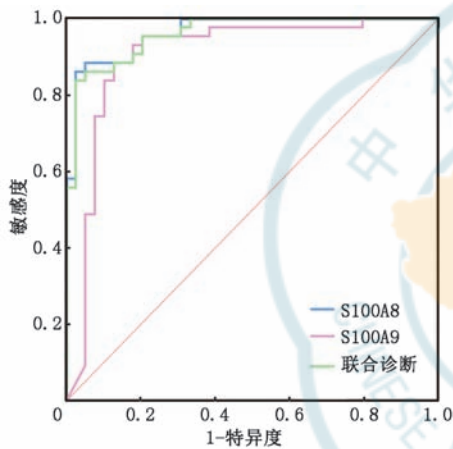


图3 关节液 S100A8 和 S100A9 单独及联合诊断假体周围感染的受试者工作特征曲线

PJI是全关节置换术后常见的严重的并发症,占置换术后并发症的15.3%,仅次于无菌性脱位(36.5%)和假体脱位(17.7%)<sup>[11]</sup>。PJI的诊断一直是骨科医生面临的困难,尚无准确、经济的诊断方法。尽管2018年第2次国际共识会议,提出了ICM诊断标准<sup>[8]</sup>,帮助临床医生诊断PJI。但是仅有少部分患者存在

在窦道,本研究纳入的39例PJI患者仅有4例患者存在窦道。另外,由于低毒力微生物感染、过早使用抗菌药物治疗以及未能使用富集培养基培养等因素,使得许多PJI患者培养结果为阴性<sup>[12]</sup>,本研究中关节液培养的敏感度仅为69.23%。文献报道,培养阴性PJI的患病率可达5%~42%<sup>[13]</sup>。2018年ICM共识文件总结了许多可以提高培养阳性率和促进微生物鉴定的策略,包括重复取样、延长培养时间和植入物超声处理等。但是,即使在实施上述策略以提高培养阳性率后,培养的敏感度仍然仅为39%~70%<sup>[14]</sup>。此外,次要标准中,许多指标也存在低灵敏度或低特异度的问题<sup>[15]</sup>。为了提高PJI的检出率和检出速度,近年来不断开发一些新的诊断技术,如分子生物学诊断、抗原抗体技术以及血液和关节液中生物标记物的检测<sup>[16]</sup>。

钙卫蛋白在感染和炎症中起关键作用,其在病原菌刺激下从中性粒细胞颗粒中释放,引起局部浓度明显升高,通过激活由Toll样受体或晚期糖基化终产物受体介导的先天免疫通路,导致多种促炎细胞因子上调<sup>[17-18]</sup>。本研究通过MALDI-TOF MS检测

属3株,芽孢杆菌属2株,埃希菌属1株。其中2例患者为混合感染,培养结果分别为金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌和高海拔/小芽孢杆菌;路邓葡萄球菌和耳葡萄球菌。

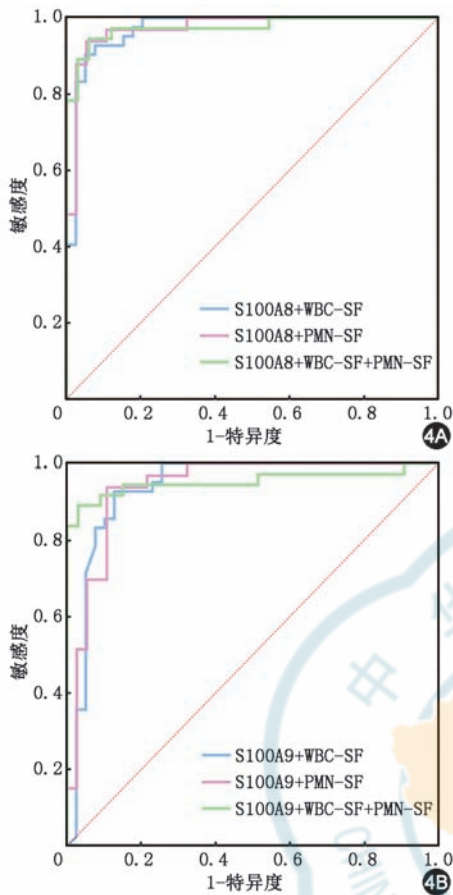
#### 八、关节液 S100A8 和 S100A9 水平的影响因素

关节液培养结果和感染发病时期对关节液 S100A8 和 S100A9 的水平的影响差异均无统计学意义( $P>0.05$ )(表5)。

表3 关节液 S100A8 和 S100A9 与各临床指标鉴别诊断假体周围感染的诊断效能

指标	AUC	敏感度(%)	特异度(%)	95%CI	约登指数	最佳截断值
S100A8	0.964	97.4	86.0	0.929~0.998	0.834	0.104
S100A9	0.902	87.2	88.4	0.823~0.980	0.756	0.150
WBC-SF	0.923	82.1	92.9	0.860~0.986	0.750	2.36
PMN-SF	0.931	83.8	97.0	0.870~0.992	0.808	0.695
ESR	0.856	81.1	81.4	0.767~0.945	0.625	27.5
CRP	0.855	76.3	83.7	0.771~0.940	0.667	0.60
D-D	0.587	74.3	45.2	0.447~0.726	0.195	1.44

注: AUC为曲线下面积,95%CI为95%可信区间,WBC-SF为关节液白细胞计数,PMN-SF为关节液多形核中性粒细胞百分比,ESR为红细胞沉降率,CRP为C反应蛋白,D-D为D二聚体



注: WBC-SF 为关节液白细胞计数; PMN-SF 为关节液多形核中性粒细胞百分比

图 4 关节液 S100A8 和 S100A9 与 WBC-SF 和 PMN-SF 联合诊断假体周围感染的受试者工作特征曲线

置换术后疑似 PJI 患者的关节液钙卫蛋白水平, 结果显示, 钙卫蛋白以 S100A8 和 S100A9 单体的形式被检测到, 这与 Dubois 等<sup>[19]</sup>的研究结果一致, 可能是 S100A8 和 S100A9 在体液中是以非共价结合的方式存在的。通过侧向流动分析、酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 等方法检测钙卫蛋白, 提示钙卫蛋白可以作为生物标记物辅助 PJI 的诊断, 但未对钙卫蛋白的 2 个亚基 S100A8 和 S100A9 对 PJI 的诊断价值进行研究<sup>[20-24]</sup>。

本实验室前期研究结果提示 S100A8 和 S100A9 可能作为 PJI 诊断的关节液标记物<sup>[5]</sup>, 为进一步探讨二者在 PJI 患者关节液中的水平以及是否存在变体形式, 通过 MALDI-TOF MS 对 39 例 PJI 患者和 43 例未感染患者的关节液 S100A8 和 S100A9 进行半定量检测。结果显示, PJI 组关节液 S100A8 和 S100A9 水平高于未感染组, 且关节液 S100A8 和 S100A9 对 PJI 的诊断具有较好的诊断效能。与其他临床常规检测指标相比, 关节液 S100A8 具有较高的诊断效能, 且关节液 S100A8 和 S100A9 具有较高的诊断敏感度, 因此关节液 S100A8 和 S100A9 对 PJI 的临床诊断具有一定可靠性。ROC 曲线分析表明, S100A8 和 S100A9 与关节液白细胞计数和关节液多形核中性粒细胞百分比联合诊断 PJI, 可具有更好的诊断效能。另外, 关节液 S100A8 和 S100A9 不仅能很好地反映局部感染情况, 而且其水平基本不受培养结果和感染发病时期的影响, 这与张泽宇<sup>[25]</sup>对钙卫蛋白的研究结果一致。

MALDI-TOF MS 的优势包括: 前处理过程简单, 即无需对样本进行酶切前处理就可直接上机检测; 高通量, 即可以自动化上样, 1 h 内可以同时检测 96 个样本进行检测; 可同时检测多个标记物, 即无需添加 IRS, 可以同时检测多种标记物进行半定量检测; 此外, MALDI-TOF MS 不仅能检测样本中完整的蛋白质, 还能够发现目标蛋白经翻译后修饰产生的多种变体形式, 有助于研究疾病发生发展过程中蛋白发生的变化<sup>[26-27]</sup>。目前已存在 ELISA 等钙卫蛋白的检测方法<sup>[28]</sup>, 但 ELISA 等方法属于免疫方法, 是通过吸光度来表征蛋白含量的一种蛋白间接定量方式, 所有与抗体结合的物质都参与定量, 假阳性率高。而本检测方法可以直接通过检测图谱看到目标蛋白, 并且可以看到目标蛋白的各种变体形式, 是一种直接蛋白检测方法。另外, ELISA 等方法尚存在灵敏度低, 操作复杂, 检测时间长, 无法实现高通量以及无法检测各蛋白质的变体形式等不

表 4 关节液 S100A8 和 S100A9 与 WBC-SF 和 PMN-SF 联合诊断假体周围感染的诊断效能

指标	AUC	敏感度 (%)	特异度 (%)	95%CI	约登指数
S100A8+WBC-SF	0.971	94.9	90.5	0.936~1.000	0.854
S100A8+PMN-SF	0.973	94.6	93.9	0.939~1.000	0.885
S100A8+WBC-SF+PMN-SF	0.975	93.9	94.6	0.943~1.000	0.811
S100A9+WBC-SF	0.935	87.2	92.9	0.874~0.997	0.801
S100A9+PMN-SF	0.938	89.2	93.9	0.879~0.996	0.831
S100A9+WBC-SF+PMN-SF	0.953	97.0	89.2	0.898~1.000	0.862

注: AUC 为 ROC 曲线下面积, 95%CI 为 95% 可信区间, WBC-SF 为关节液白细胞计数; PMN-SF 为关节液多形核中性粒细胞百分比



表5 各影响因素对关节液 S100A8 和 S100A9 水平的  
影响 [ $M(Q_1, Q_3)$ ]

项目	S100A8	S100A9
关节液培养		
阳性	1.57(0.48, 9.51)	0.74(0.29, 4.14)
阴性	1.48(0.57, 2.56)	0.75(0.21, 1.28)
感染分期		
急性感染(<3个月)	0.91(0.63, 5.55)	0.42(0.13, 1.55)
迟发性感染(3~12个月)	2.62(0.94, 4.17)	1.11(0.78, 4.64)
慢性感染(>12个月)	1.42(0.23, 4.50)	0.73(0.31, 1.54)

足。MALDI-TOF MS 解决了这些不足,此方法具有较高的检测敏感度(97.4%),检测所需的关节液量少(2  $\mu$ l),检测时间短并实现高通量检测(96个/h),检测费用低,且一次上样可同时检测多种标记物,降低了临床医生的劳动成本,具有较好的临床应用前景。

但本研究尚存在不足之处。首先,纳入的研究病例数相对较少,且为单中心研究,因此未来需要进一步扩大样本量进行检测。此外,由于 MALDI-TOF MS 的基质竞争效应<sup>[29]</sup>,本研究只能对钙卫蛋白进行半定量检测,后续需要采用钙卫蛋白抗体富集关节液,再用免疫质谱分析的方法对钙卫蛋白进行绝对定量检测<sup>[30]</sup>。

综上所述,本研究通过 MALDI-TOF MS 检测到的关节液 S100A8 和 S100A9,对 PJI 均具有较好的诊断效能和临床应用价值,可作为生物标记物辅助 PJI 的诊断。后续将采用免疫质谱分析的方法实现关节液 S100A8 和 S100A9 的绝对定量,以期为临床诊断提供更加简便快捷的诊断方法和诊断效能较高的标记物。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 徐影: 酝酿和设计实验、实施研究和起草文章;王驰: 酝酿和设计实验、分析/解释数据、对文章的知识性内容作批评性审阅;马雪婷: 实施研究、分析/解释数据;刘佳玉: 采集数据;郭浩然: 统计分析;宋佳兴: 分析/解释数据;魏文彬: 分析/解释数据;王成彬: 酝酿和设计实验、对文章的知识性内容作批评性审阅、获取研究经费、行政、技术或材料支持、指导、支持性贡献

## 参 考 文 献

- [1] Izakovicova P, Borens O, Trampuz A. Periprosthetic joint infection: current concepts and outlook[J]. EFORT Open Rev, 2019, 4(7): 482-494. DOI: 10.1302/2058-5241.4.180092.
- [2] Wang K, Li W, Liu H, et al. Progress in prevention, diagnosis, and treatment of periprosthetic joint infection [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021:

3023047. DOI: 10.1155/2021/3023047.

- [3] Jukic A, Bakiri L, Wagner EF, et al. Calprotectin: from biomarker to biological function[J]. Gut, 2021, 70(10): 1978-1988. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-324855.
- [4] Wang S, Song R, Wang Z, et al. S100A8/A9 in Inflammation[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1298. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01298.
- [5] Wang C, Wang Q, Li R, et al. LTF, PRTN3, and MND A in synovial fluid as promising biomarkers for periprosthetic joint infection: identification by quadrupole orbital-trap mass spectrometry[J]. J Bone Joint Surg Am, 2019, 101(24):2226-2234. DOI: 10.2106/JBJS.18.01483.
- [6] Cupp-Sutton KA, Wu S. High-throughput quantitative top-down proteomics[J]. Mol Omics, 2020, 16(2): 91-99. DOI: 10.1039/c9mo00154a.
- [7] Greco V, Piras C, Pieroni L, et al. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical proteomics[J]. Expert Rev Proteomics, 2018, 15(8): 683-696. DOI: 10.1080/14789450.2018.1505510.
- [8] Parvizi J, Tan TL, Goswami K, et al. The 2018 definition of periprosthetic hip and knee infection: an evidence-based and validated criteria[J]. J Arthroplasty, 2018, 33(5): 1309-1314.e2. DOI: 10.1016/j.arth.2018.02.078.
- [9] Gao J, Meyer K, Borucki K, et al. Multiplex immuno-MALDI-TOF MS for targeted quantification of protein biomarkers and their proteoforms related to inflammation and renal dysfunction[J]. Anal Chem, 2018, 90(5):3366-3373. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b04975.
- [10] Lim SY, Raftery M, Cai H, et al. S-nitrosylated S100A8: novel anti-inflammatory properties[J]. J Immunol, 2008, 181(8):5627-5636. DOI: 10.4049/jimmunol.181.8.5627.
- [11] Otto-Lambertz C, Yagdiran A, Wallscheid F, et al. Periprosthetic infection in joint replacement[J]. Dtsch Arztebl Int, 2017, 114(20): 347-353. DOI: 10.3238/arztebl.2017.0347.
- [12] Kalbian I, Park JW, Goswami K, et al. Culture-negative periprosthetic joint infection: prevalence, aetiology, evaluation, recommendations, and treatment[J]. Int Orthop, 2020, 44(7): 1255-1261. DOI: 10.1007/s00264-020-04627-5.
- [13] Palan J, Nolan C, Sarantos K, et al. Culture-negative periprosthetic joint infections[J]. EFORT Open Rev, 2019, 4(10):585-594. DOI: 10.1302/2058-5241.4.180067.
- [14] Kalbian I, Park JW, Goswami K, et al. Culture-negative periprosthetic joint infection: prevalence, aetiology, evaluation, recommendations, and treatment[J]. Int Orthop, 2020, 44(7): 1255-1261. DOI: 10.1007/s00264-020-04627-5.
- [15] Li C, Renz N, Trampuz A, et al. Twenty common errors in the diagnosis and treatment of periprosthetic joint infection[J]. Int Orthop, 2020, 44(1):3-14. DOI: 10.1007/s00264-019-04426-7.
- [16] Arvieux C, Common H. New diagnostic tools for prosthetic joint infection[J]. Orthop Traumatol Surg Res, 2019, 105(1S):S23-S30. DOI: 10.1016/j.otsr.2018.04.029.
- [17] Austermann J, Zenker S, Roth J. S100-alarmins: potential therapeutic targets for arthritis[J]. Expert Opin Ther Targets, 2017, 21(7): 739-751. DOI: 10.1080/14728222.2017.1330411.
- [18] Austermann J, Spiekermann C, Roth J. S100 proteins in rheumatic diseases[J]. Nat Rev Rheumatol, 2018, 14(9):



- 528-541. DOI: 10.1038/s41584-018-0058-9.
- [19] Dubois C, Payen D, Simon S, et al. Top-down and bottom-up proteomics of circulating s100a8/s100a9 in plasma of septic shock patients[J]. *J Proteome Res*, 2020, 19(2):914-925. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00690.
- [20] Salari P, Grassi M, Cinti B, et al. Synovial fluid calprotectin for the preoperative diagnosis of chronic periprosthetic joint infection[J]. *J Arthroplasty*, 2020, 35(2): 534-537. DOI: 10.1016/j.arth.2019.08.052.
- [21] Trotter AJ, Dean R, Whitehouse CE, et al. Preliminary evaluation of a rapid lateral flow calprotectin test for the diagnosis of prosthetic joint infection[J]. *Bone Joint Res*, 2020, 9(5): 202-210. DOI: 10.1302/2046-3758.95.BJR-2019-0213.R1.
- [22] Warren J, Anis HK, Bowers K, et al. Diagnostic utility of a novel point-of-care test of calprotectin for periprosthetic joint infection after total knee arthroplasty: a prospective cohort study[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2021, 103(11): 1009-1015. DOI: 10.2106/JBJS.20.01089.
- [23] Wouthuyzen-Bakker M, Ploegmakers J, Kampinga GA, et al. Synovial calprotectin: a potential biomarker to exclude a prosthetic joint infection[J]. *Bone Joint J*, 2017, 99-B(5): 660-665. DOI: 10.1302/0301-620X.99B5.BJJ-2016-0913.R2.
- [24] Grzelecki D, Walczak P, Szostek M, et al. Blood and synovial fluid calprotectin as biomarkers to diagnose chronic hip and knee periprosthetic joint infections[J]. *Bone Joint J*, 2021, 103-B(1): 46-55. DOI: 10.1302/0301-620X.103B1.BJJ-2020-0953.R1.
- [25] 张泽宇. 关节液钙卫蛋白在慢性人工关节感染的诊断价值[D]. 福州:福建医科大学, 2017.
- [26] Zhong J, Sun Y, Xie M, et al. Proteoform characterization based on top-down mass spectrometry[J]. *Brief Bioinform*, 2021, 22(2): 1729-1750. DOI: 10.1093/bib/bbaa015.
- [27] Nickerson JL, Baghalabadi V, Rajendran S, et al. Recent advances in top-down proteome sample processing ahead of MS analysis[J]. *Mass Spectrom Rev*, 2023, 42(2): 457-495. DOI: 10.1002/mas.21706.
- [28] Zhang Z, Cai Y, Bai G, et al. The value of calprotectin in synovial fluid for the diagnosis of chronic prosthetic joint infection[J]. *Bone Joint Res*, 2020, 9(8): 450-457. DOI: 10.1302/2046-3758.98.BJR-2019-0329.R2.
- [29] Wang J, Qiu S, Chen S, et al. MALDI-TOF MS imaging of metabolites with a N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride matrix and its application to colorectal cancer liver metastasis[J]. *Anal Chem*, 2015, 87(1): 422-430. DOI: 10.1021/ac504294s.
- [30] Trenchevska O, Nelson RW, Nedelkov D. Mass spectrometric immunoassays in characterization of clinically significant proteoforms[J]. *Proteomes*, 2016, 4(1):13. DOI: 10.3390/proteomes4010013.

## · 会议纪要 ·

### 《中华检验医学杂志》第九届编委会第三次工作会议在线举行

本刊编辑部

《中华检验医学杂志》第九届编辑委员会第三次工作会议于2023年3月1日在线召开,潘柏申总编辑总结国内外期刊编委会和审稿专家队伍建设情况,结合多年来工作体会,分享了审稿经验,并对编委审稿意见提出要求。干岭主任总结杂志工作。与会副总编、编委共同探讨杂志发展方略。75位编委和编辑部全体同志参加了会议。

潘总编作了题为“关于杂志审稿及社论、专家观点和综述一些要求”的报告,从编委审稿经验及要求、各种评述类文章撰写要求两个方面进行阐述。

编委(期刊审稿人),既要享受荣誉,也要承担义务。了解期刊的规则,审稿人应该先了解期刊对不同栏目的文章制定了哪些具体的撰写要求。初步阅读稿件,对文章整体把握,高屋建瓴提出综合意见。精读稿件,对文章细节进行审阅,查找问题语句。审稿中需要关注的问题,文题、摘要、引言、资料与方法、结果、讨论、参考文献每一部分都有需要注意的常犯错误。撰写审稿意见,要考虑作者感受,帮助作者提高,提出改进建议。审稿人的意见是决定稿件刊用与否的主要因素,应给编辑和作者提出明确的取舍建议,如录用、退修、修后再审或退稿。国外基本知名期刊的审稿周期大多在2周左右,应在审稿期内及时反馈审稿意见。

潘总编从社论、专家观点和综述3种常见的评述类文章入手,分别比较了不同栏目文章的写作背景、交流职能、

内容结构、语言要求、参考文献等方面进行了分析,建议编委会和编辑部共同商讨,落实具体要求细则,有针对性地指导作者撰写文章。

干岭主任就2021—2022年中华检验医学杂志的工作进行总结。向编委们汇报了杂志概况、编辑工作、新媒体建设、期刊学术指标、举办的学术活动等,分析了学术指标、投稿和高发文机构及作者、高被引或高阅读量文章、存在的问题等,并感谢审稿专家的及时审稿。在潘总编的领导下,在编委会的帮助下,杂志学术指标不断进步,总被引频次、影响因子、综合评分和影响力指数不断提高,保持了杂志的较高影响力,被中国科技核心期刊、中国科学引文数据库核心库、中文核心期刊要目总览收录,并连续入选“中国精品科技期刊”。在此也衷心感谢各位编委多年来对杂志的奉献与支持!

副总编崔巍、关明、府伟灵教授发言,对编委会和编辑部的各项工作表示肯定,提出了几点希望。王辉、贾克刚、谢小兵等编委踊跃发言,认可编辑部取得的成绩和付出的努力,并对杂志下一步发展建言献策,表示将继续关注和支持杂志的发展。

凡是过往,皆为序章。成绩代表过去,未来任重道远。编辑部将不断总结提高,以创一流期刊为目标,走精品发展之路,打造中国最优秀的检验医学期刊!

