

6种化学发光系统检测肿瘤标志物的应用评估分析

张磊^a, 李德涛^a, 朱艳^a, 甄乾娜^b

(重庆医科大学附属第一医院 a. 医学检验科; b. 内分泌实验室, 重庆 400016)

摘要: 目的 探讨6种化学发光系统检测甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、总前列腺特异抗原(tPSA)、游离前列腺特异抗原(fPSA)、糖类抗原CA199(CA199)、糖类抗原CA153(CA153)和糖类抗原CA125(CA125)仪器参数、西格玛值(σ)、可比性及临床可接受程度。方法 收集6种系统的检测速度,试剂仓位,开展项目数等硬件参数,使用单位半年质控数据,计算各系统检测项目的精密性及 σ 值。以Roche E602电化学发光系统为参考系统,根据EP9-A2文件的要求,对检测结果进行方法比对和偏倚评估。结果 ①比较6种检测系统的检测速度,试剂仓位,软件功能等参数,6种检测系统基本满足临床需求。②Roche E602与A厂家比较,多数检测项目 σ 值多数高于6 σ 水平;B、D和E三家厂家检测项目 σ 值基本处于优秀水平(5~6);C厂家多个项目小于4 σ 水平,存在较大差距。③除B厂家外,其它厂家与Roche E602多数项目偏移超过1/2 TEa,临床不可接受。结论 实验室同时存在多种不同品牌化学发光检测系统检测同一检验项目时,应进行方法比对和偏倚评估,判断其临床可接受性能,以保证检验结果的可比性。

关键词: 肿瘤标志物; 化学发光法; 方法学评估

中图分类号: R446 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2020)02-088-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.02.025

Methodological Evaluation of Six Chemiluminescence Detection Systems for Tumor Markers

ZHANG Lei^a, LI De-tao^a, ZHU Yan^a, ZHENG Qian-na^b

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Endocrine Laboratory, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: **Objective** To discuss the precision, consistency, σ value, instrument parameters and the clinical acceptability of six chemiluminescence detection systems in detecting AFP, CEA, tPSA, fPSA, CA199, CA153 and CA125. **Methods** Compared the parameters of six detection systems, such as detection speed, reagent warehouse, number of items to evaluate whether meeting the clinical needs. Evaluated the precision 6 σ value of 6 kinds of detection systems. The Roche E602 electrochemiluminescence system was used as the reference system and the other five detection systems as the experimental system. According to the EP9-A2 document, bias evaluation were carried out. **Results** ①The detection speed, reagent bin and software function of the six detection systems basically met the clinical needs. ②Most of the test items of Roche E602 and manufacturer A reached the 6 σ level. The 6 σ value of the test items of manufacturer B, D and E was basically excellent (5~6). Many projects of manufacturer C were less than 4 σ level, and there was still a large gap. ③Except for manufacturer B, most of the projects of other manufacturers were clinically unacceptable compared with Roche E602. **Conclusion** The method comparison and bias evaluation should be carried out to ensure the comparability of the the same test item when the laboratory applies for different brands of chemiluminescence detection system.

Keywords: tumor markers; chemiluminescence; methodological evaluation

肿瘤是一种危害人类健康的具有高死亡率、高转移率和高复发率的疾病^[1]。肿瘤标志物的筛检对于肿瘤早期发现具有重要意义。目前检测肿瘤标志物的化学发光分析仪开始普遍推广,然而同一医疗机构常常拥有不同品牌或同一品牌不同型号的检测系统。由于不同仪器的检测原理不同,同一份标本在不同发光免疫分析系统测定的结果是否存在差异是一个值得关注的问题^[2]。如何评估不同检测系统

结果的可比性,实现检验结果的互认是目前检验医学界关注和讨论的热点。本研究通过对不同检测系统在硬件、项目的性能指标等方法学评估分析,探索不同检测系统的临床适用性,评估医院内不同检测系统之间结果的一致性,为制定选购化学发光检测系统标准流程提供思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取本院2019年9月4~9日在

作者简介:张磊(1983-),男,硕士,主管检验师,主要研究方向为临床生化和实验室管理,E-mail:285675443@qq.com。

通信作者:甄乾娜, Tel: 023-89011686。

Roche Cobas E602 检测系统上进行肿瘤标志物项目检测的样本 40 例(排除溶血、黄疸、乳糜)。采集后及时分离血清,参考 CISI EP9-A2^[3] 文件数据分布建议表的要求,尽可能覆盖分析方法线性范围,包括高、中、低值样本。

1.2 仪器与试剂 分别采用电化学发光法、化学发光微粒子免疫法和酶促化学发光法三种不同检测原理的 6 种不同品牌仪器,包括两台进口仪器,四台国产仪器,其中本实验室采用 Roche E602 电化学发光仪,其它 5 台仪器用 A ~ E 编号代替,仪器均使用配套的具有溯源性的配套校准品和配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 参数评估:比较 6 种检测系统硬件参数,包括项目数、检测原理、检测速度、试剂仓位与保存条件、线性范围、参考区间等,评估各项参数是否满足临床需求。

1.3.2 精密验证:收集 6 种品牌仪器使用单位两个水平质控品连续 6 个月的室内质控数据(去除 1_{3s} 失控数据),计算均值,标准差,变异系数(CV%)。

1.3.3 6 σ 评价:收集 6 种检测系统参加 2018 年卫

计委临检中心组织的肿瘤标志物项目成绩,计算平均偏移(Bia%),参照卫计委临检中心标准^[4],设定 25% 为各项目允许总误差(Tea),根据 Tea, Bia%, CV%, 计算各项目的 6 σ 值,制定各项目西格玛性能验证图。

1.3.4 方法比对和偏倚评估:以 Roche E602 为参考仪器,其他 5 种检测系统为试验仪器,参照 EP9-A2 文件要求,每天选取 8 份新鲜血清标本,按 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 和 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 的顺序分别用试验仪器和参考仪器测定两次,所有测试在 4h 内完成,连续测定 5 天,共 40 例标本,80 个数据。

1.4 统计学分析 测定结果去除离群值,计算相关系数(r),如 $r \geq 0.975$,则认为直线回归统计的斜率和截距可靠。计算回归方程: $Y = aX + b$,将各个项目给出的医学决定水平浓度(X_c)代入回归方程,计算预期偏差(SE)及相对偏差(SE%), $SE = |Y - X|$, $SE\% = (SE / X_c) \times 100\%$ 。以医学决定水平处的系统误差判断两种检测系统间是否可接受^[5]。

表 1 6 种检测系统硬件参数比较

类别	硬件参数	Roche E602	A 厂家	B 厂家	C 厂家	D 厂家	E 厂家
一般参数	反应原理	电化学发光	直接化学发光	酶促化学发光	微粒子化学发光	直接化学发光	酶促化学发光
	标记物	三联吡啶钌	吖啶脂	辣根过氧化物酶 + 鲁米诺	吖啶酯	异鲁米诺衍生物 (ABEI)	ALP+AMPPD
	检测速度 (T/H)	170	200	200	200	280	480
加样参数	测试处理	批量、急诊、自动稀释	批量、急诊、自动稀释	批量、急诊、自动稀释	批量、急诊、自动稀释	批量、急诊、自动稀释	批量、急诊、自动稀释
	一次标本装载数量	250 个	180 个	100 个	110 个	144 个	300 个
	样本针设计	一次性 Tip 头	钢针设计	钢针设计	一次性 Tip 头	钢针设计	钢针设计
	样本加样量 (μ l)	10 ~ 50	10 ~ 150	5 ~ 150	10 ~ 140	10 ~ 100	10 ~ 200
	垂直水平防撞	具备	具备	具备	具备	具备	具备
	空吸凝块检测	具备	具备	具备	具备	具备	具备
	试剂参数						
试剂参数	试剂位 (个)	25	25	24	50	25	36
	试剂冷藏温度 ($^{\circ}$ C)	20 \pm 3	2 ~ 8	4 ~ 10	2 ~ 12	8 ~ 10	2 ~ 8
	试剂瓶规格	100, 200 人份	100~500 人份	100 人份	100~500 人份	50, 100 人份	50, 100 人份
	试剂在线装载	否	否	否	具备	具备	具备
	试剂在机稳定时间	4 ~ 8 周	30 天	28 天	4 ~ 8 周	28 天	28 天
	校准品独立注册	是	是	否	是	否	是
	溯源性	具备	具备	否	具备	否	具备
软件	样本自动重测	具备	具备	不具备	具备	具备	具备
	样本自动稀释	具备	具备	具备	具备	具备	具备
	每日自动维护	否	否	否	否	否	具备

2 结果

2.1 6 种检测系统硬件参数比较 见表 1。可以发现 6 种检测系统在硬件参数方面存在较大区别,主要表现在以下方面:①反应原理:反应底物、检测

过程和溯源性等不同,其中 B 厂家和 D 厂家不具备独立溯源。②检测速度。6 种检测系统单一模块检测速度为 200 测试/h,其中 E 厂家的单模块检测速度最快(480 测试/h)。③试剂规格及试剂仓位:C

厂家的试剂仓位最多(50个),试剂规格有100, 200, 500人份三种选择,具备试剂在线装载功能,表现最佳。④加样方式。Roche E602和C厂家采用一次性Tip头加样方式,其他4家采用钢针加样方式。采用一次性Tip头减少了交叉污染,但增加耗材成本;采用钢针加样减少了耗材成本,但增加了堵针、交叉污染的风险。

2.2 6种检测系统精密度、偏移、 σ 值比较 见表2。比较6种检测系统的 σ 值发现Roche E602系统除CA153(5.1)外,其他项目均大于 6σ ,处于世界一流水平。A厂家除CA153(4.0)外,其他项目均大于 6σ 。B厂家除CA153(4.6)、tPSA(5.9)外,其他项目均大于 6σ 。C厂家有5个项目 σ 值处于3~4水平,2个项目处于4~5水平,D厂家和E厂家的项目 σ 值总体处于5~6水平,与进口仪器差距不大。

表2 6种检测系统精密度、偏移、 σ 值比较

厂家		E602	A	B	C	D	E
AFP	CV	3.6	2.5	3.2	4.8	5.8	3.9
	Bias	3	4.6	5.2	3.8	3.6	4.3
	σ	6.2*	8.2*	6.2*	4.4	5.1	5.3
CEA	CV	3	3.1	2.9	4.5	5.5	3.9
	Bias	3.6	5.7	4.3	2.8	4.2	5.3
	σ	7.1*	6.2*	7.1*	4.9	5.3	5.1
tPSA	CV	3.1	2.8	3.6	6.6	3.5	3.4
	Bias	2.6	4.5	3.7	3.8	5.3	4.9
	σ	7.2*	7.3*	5.9*	3.7	5.6	5
fPSA	CV	1.9	2.3	3.2	7.3	3.7	3.9
	Bias	3.5	4.3	5.4	3.7	4.3	5.1
	σ	11.3*	9*	6.1*	3	5.6	5.1
Ca199	CV	3	2.5	2.9	6.2	3.2	3.5
	Bias	4.4	6.7	7.1	3.9	5.4	6*
	σ	6.9*	7.3*	6.2*	3.7	6.1*	5.4
Ca153	CV	4	5.3	4.3	6	3.9	4.2
	Bias	4.5	3.9	5.3	4.3	5.7	2.9
	σ	5.1	4	4.6	3.5	5.0	5.3
Ca125	CV	1.9	2.6	2.5	5.6	3	3.4
	Bias	4.6	6.7	4.9	4.8	3.2	6.4
	σ	10.7*	7*	8*	3.7	7.3*	5.5

注: CV代表6个月内去除 1_{3s} 失控的质控数据; Bias为2018年卫生部临检中心肿瘤标志物项目的平均偏移; $\sigma = (TEa - Bias) / CV$ 。*代表 $\sigma \geq 6$ 。

2.3 6种检测系统测定结果的相关性评估 见表3。结果显示,各项目回归方程的相关系数除了A厂家的fPSA, CEA, C厂家的CEA, Ca199外,其余项目各方法检测的相关系数 $r \geq 0.975$,说明实验数据范围适合,回归方程的截距和斜率可靠。

2.4 6种检测系统测定结果方法比对和偏移评估 以B厂家作为实验仪器为例,确定AFP, CEA, CA125, CA199, tPSA, fPSA和CA153的参考值上限分别为20 ng/ml, 5 ng/ml, 35 U/ml, 35 U/ml, 4 ng/ml, 1 ng/ml和25 U/ml; AFP, CEA, CA125, CA199的医学决定水平分别为400 ng/ml,

200 ng/ml, 500 U/ml, 200 U/ml。参考值上限和医学决定水平处计算2种检测系统的预期偏差和相对偏差分别为AFP(2.9, 0.14), CEA(8.3, -5.29), CA125(6.97, 3.28), CA199(-4.66, -8.24), tPSA(2.25), fPSA(3.00), CA153(0.76)。结果显示,2个检测系统的测定结果具有良好的一致性(见表4)。根据上述方法分别计算A, C, D, E 4种检测系统测定结果的临床可接受度,结果显示A厂家的CEA, CA199, tPSA相对偏差 $>1/2Tea$, C厂家的CEA, CA199, CA153相对偏差 $>1/2Tea$, D厂家的AFP, CEA, CA199, CA153相对偏差 $>1/2Tea$, D厂家的AFP, CEA, CA199, CA153相对偏差 $>1/2Tea$ 。

表3 6种检测系统测定结果的线性回归方程和相关系数

项目	厂家	回归方程	相关系数
AFP	A厂家	$Y=1.00X-1.53$	0.995
	B厂家	$Y=1.00X+0.58$	0.999
	C厂家	$Y=0.92X-1.02$	0.989
	D厂家	$Y=0.83X+0.09$	0.989
	E厂家	$Y=0.85X+0.20$	0.994
CEA	A厂家	$Y=1.73X-33.96$	0.953*
	B厂家	$Y=0.94X+2.43$	0.985
	C厂家	$Y=1.20X-13.80$	0.943*
	D厂家	$Y=1.50X-22.08$	0.977
	E厂家	$Y=1.54X-23.80$	0.986
tPSA	A厂家	$Y=0.85X-0.21$	0.999
	B厂家	$Y=0.99X-0.13$	0.999
	C厂家	$Y=0.84X+1.11$	0.99
	D厂家	$Y=0.80X+0.61$	0.996
	E厂家	$Y=0.80X+0.61$	0.996
fPSA	A厂家	$Y=0.86X+0.02$	0.965*
	B厂家	$Y=1.08X-0.05$	0.99
	C厂家	$Y=1.13X-0.01$	0.993
	D厂家	$Y=1.10X-0.02$	0.999
	E厂家	$Y=1.10X-0.02$	0.999
CA199	A厂家	$Y=2.62X-93.33$	0.978
	B厂家	$Y=0.86X-105.59$	0.998
	C厂家	$Y=0.89X-11.99$	0.916*
	D厂家	$Y=0.39X+17.96$	0.976
	E厂家	$Y=0.84X+1.22$	0.996
CA125	A厂家	$Y=1.04X+0.79$	0.99
	B厂家	$Y=1.03X+1.39$	0.98
	C厂家	$Y=0.88X+5.96$	0.98
	D厂家	$Y=1.17X-2.63$	0.994
	E厂家	$Y=1.95X-25.49$	0.982
CA153	A厂家	$Y=0.95X-1.85$	0.995
	B厂家	$Y=1.43X-10.56$	0.999
	C厂家	$Y=0.81X+0.61$	0.984
	D厂家	$Y=0.99X-5.50$	0.975
	E厂家	$Y=0.54X+2.64$	0.975

注: *代表 $r < 0.975$

表4 Roche E602与B厂家检测结果的临床可接受度分析

项目	设定值	预期值	预期偏差	相对偏差 (%)	1/2Tea (%)	是否接受
AFP	20	20.58	0.58	2.90		是
	400	400.58	0.58	0.14		是
CEA	10	10.83	0.83	8.30		是
	200	189.43	-10.57	-5.29		是
CA125	35	37.44	2.44	6.97		是
	500	516.39	16.39	3.28	12.5	是
CA199	35	33.37	-1.63	-4.66		是
	200	183.52	-16.48	-8.24		是
tPSA	4	4.09	0.09	2.25		是
fPSA	1	1.03	0.03	3.00		是
CA153	25	25.19	0.19	0.76		是

3 讨论

化学发光免疫分析技术快速发展^[6],多种国产品牌也越来越多的用于临床,出现同一项目多种检测系统检测的现象。从方法学来看,肿瘤标志物测定方法很多,有放射免疫测定法、酶联免疫测定法、化学发光免疫测定法等,导致部分项目检测结果有较大误差,给临床医生和患者带来较大的困扰。其原因可能是由于使用的单克隆抗体针对抗原的位点不同所致。即使使用同一抗体,也可能因抗原异质性或基质的影响而得到不同的结果。这也是医院间肿瘤标志物项目互认急需解决的关键问题。

本研究表明,不同品牌系统测定性激素肿瘤标志物项目,其硬件参数包括检测速度、试剂仓位等都能满足临床需求,各品牌之间差距不大。但在精密度、 σ 值、结果一致性上存在一定差异。当然由于此研究收集的质控数据为抽样调查,各实验室的质量水平存在差异等原因,可能存在一定偏差。

对于肿瘤标志物的检测,标准化是实现测定结果可比性的前提,而标准化并非单一因素,其由诸多关键性环节组成,核心是标准物质的研制及应用。各生产企业应利用现有资源,加强国际合作,研制更多的肿瘤标志物标准物质,用正确的方法和途径实现量值的正确传递,提高肿瘤标志物免疫测定结果的可比性,消除医院使用不同厂家诊断试剂,其测定结果不能互认所带来的经济负担。

ISO 15189指出当同样的检验应用不同程序或设备时应有确切机制以验证在整个临床适用区内检测结果的可比性^[7]。随着科室业务发展,实验室申购新的检测系统时,原则上为了保证检测结果一致性应该选用同一品牌的检测系统,避免同一项目不同检测系统带来的误差。如果实验室拥有多种化学发光系统,应对各系统检测项目进行性能评价,对于不能实现一致性的项目,建议采用单一的系统进行检测,

以保证检验结果在临床的一致性及唯一性^[8]。

参考文献:

- [1] 中华医学会检验分会,卫生部临床检验中心,中华检验医学杂志编辑部. 肿瘤标志物的临床应用建议[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(2): 103-116. Chinese Society of Laboratory Medicine, Clinical Laboratory Center of Ministry of Health, Editorial Board of Chinese Journal of Laboratory Medicine. Clinical application suggestions of tumor markers [J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2012, 35(2):103-116.
- [2] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 11-149. FENG Renfeng. Basic quality management practice in clinical laboratory[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Literature Publishing House, 2003: 11-149.
- [3] National Committee for Clinical Laboratory Standards. CLSI EP9-A2: Method comparison and bias estimation using patient sample approved guideline second edition[S]. Wayne: PA, CLSI EP9-A2, 2002.
- [4] 史清梅, 杨晓燕, 孟繁君, 等. WS/T 403-2012和6 σ 标准在临床生化检验质量评估中的应用[J]. 宁夏医学杂志, 2016, 38(5): 452-454. SHI Qingmei, YANG Xiaoyan, MENG Fanjun, et al. Application of industry standard WS/T 403-2012 in the quality of clinical biochemistry [J]. Ningxia Medical Journal, 2016, 38(5):452-454.
- [5] 王露, 徐红珍, 王平. 雅培i2000SR和BeckmanDXI800全自动化学发光仪测定AFP、CEA水平的可比性研究[J]. 中国医药科学, 2013, 3(21): 122-123, 142. WANG Lu, XU Hongzhen, WANG Pin. Comparative study on AFP and CEA levels detected by Abbott i2000SR and Beckman DXI800 automatic immunoassay analyzers [J]. China Medicine and Pharmacy, 2013, 3(21): 122-123, 142.
- [6] 翟艳, 王卉. 化学发光免疫分析及其进展[J]. 长春中医药大学学报, 2009, 25(4): 619-621. ZHAI Yan, WANG Hui. Chemiluminescence immunoassay and its progress[J]. Journal of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2009, 25(4): 619-621.
- [7] 康凤凤, 王治国. ISO 15189:2012与临床检验定量检测方法确认和性能验证[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(12): 881-884. KANG Fengfeng, WANG Zhiguo. ISO 15189: 2012 and confirmation and performance verification of quantitative detection methods for clinical examinations [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2013, 31(12): 881-884.
- [8] 禹松林, 周伟燕, 程歆琦, 等. 3种化学发光免疫分析法检测系统与同位素稀释液相色谱串联质谱法检测总甲状腺素的一致性评价[J]. 临床检验杂志, 2018, 36(12): 16-19. YU Songlin, ZHOU Weiyan, CHENG Xinqi, et al. Harmonization evaluation for results of total thyroxine determined by three chemiluminescence immunoassay methods compared with isotope diluted liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2018, 36(12):16-19.

收稿日期: 2019-11-03 修回日期: 2020-01-29