

罗氏 Modular E170 与 Cobas e601 电化学发光免疫分析系统检测血清甲胎蛋白的比对分析

陈岩松, 陈 燕, 胡敏华, 林莺莺 (福建省肿瘤医院检验科, 福州 350014)

【摘要】 目的 探讨同一临床实验室内罗氏 Modular E170 与 Cobas e601 两台电化学发光仪检测结果的可比性, 确保两套分析系统检测血清甲胎蛋白结果的准确性和一致性。**方法** 根据美国临床和实验室标准协会(CLSI)指南文件 EP9-A2 文件要求, 以罗氏 Modular E170 电化学发光免疫分析仪为对比仪器, 罗氏 Cobas e601 电化学发光免疫分析仪为实验仪器, 采用用患者血清样本检测甲胎蛋白(AFP)含量, 通过实验数据的比对分析, 对两套分析系统之间的预期偏倚进行评估。**结果** 在 AFP 测定的线性范围内, 两系统相关性好, 在 AFP 医学决定水平处的预期偏倚均可接受。**结论** 两套系统检测 AFP 结果具有较好的一致性。临床实验室内同一检测项目同时在两套或两套以上系统检测时应进行比对和偏倚评估, 确保检测结果具有可比性。

【关键词】 电化学发光仪; 方法比对; 甲胎蛋白

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.16.003 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)16-1974-03

Comparative analysis on the results of serum α -fetoprotein with Roche electrochemiluminescence immunoassay system Modular E170 and Cobas e601 CHEN Yan-song, CHEN Yan, HU Min-hua, LIN Yingying (Department of Clinical Laboratory, the Tumor Hospital of Fujian Province, Fuzhou, 350014, China)

【Abstract】 Objective To investigate the comparability of the results of serum AFP detected by Roche electrochemiluminescence immunoassay system Modular E170 and Cobas e601, and to insure the accuracy and the concordance of detecting the serum AFP in two systems. **Methods** The value of AFP of patient's serum detected by Cobas e601 (experimental method) was compared with Roche E170 (control method) according to the document of the CLSI EP9-A2. The comparability and bias of the two systems were evaluated. **Results** The relativity of the two systems in the AFP detecting linearity range was good, and the bias of the AFP concentration on the medicine decide level (MDL) was acceptable. **Conclusion** Two systems have good concordance in detecting the serum AFP. It is necessary to analyze comparison and bias of the results by two or more than two systems in clinical laboratory, which can insure the comparability.

【Key words】 electrochemiluminescence; comparative method; α -fetoprotein

近年来, 临床实验室的检测越来越受到重视, 临床检测标本量也不断增加, 这对临床实验室检验的准确性和及时性提出了更高的要求。为了更好地满足临床检验需求, 越来越多的临床实验室对同一检测项目采用两套或两套以上的系统进行检测。目前, 随着标本量的增加, 本科采用罗氏 Modular E170 和 Cobas e601 两台电化学发光免疫分析仪进行血清甲胎蛋白(α -fetoprotein, AFP)的检测。为保证检验结果的一致性, 按照美国临床和实验室标准协会(CLSI)系列文件之利用患者样本进行方法对比及偏差评估一批准指南第 2 版(EP9-A2)^[1]文件的要求, 对该两台仪器检测血清 AFP 结果进行了比对分析, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本 收集患者新鲜血液标本, 及时分离血清, 排除溶血、脂血、黄疸标本。按照 EP9-A2 文件要求, 浓度覆盖分析方法的线性范围为 0.605~1 210.000 ng/mL, 且在参考值范围(小于 7.000 ng/mL)之外的样本在 50% 以上, 其中 0.605~7.000 ng/mL 范围内 9 份, 7.000~100.000 ng/mL 范围内 20 份, 100.000~500.000 ng/mL 范围内 9 份, 500.000~1 210.000 ng/mL 范围内 2 份。

1.1.2 仪器与试剂 罗氏 Modular E170、Cobas e601 电化学发光免疫分析仪及德国原装 AFP 配套试剂。

1.1.3 质控物 美国伯乐公司肿瘤标志物质控品, 含低、中、高三水平, 批号 54511、54512、54513。

1.2 方法

1.2.1 方法的选择 以近年参加卫生部室间质量评价成绩优秀的罗氏 Modular E170 检测系统为比方法(X), 罗氏 Cobas e601 检测系统为实验方法(Y), 按 CLSI EP9-A2 文件要求进行方法间比对实验。

1.2.2 实验原理 均采用双抗体夹心电化学发光法检测。

1.2.3 质量控制 使用美国伯乐肿瘤标志物质控品分别在两台仪器上做日常室内质控, 保证结果均在控。

1.2.4 样本测定 每日选取 8 份样本, 按照 1、2、3、4、5、6、7、8 和 8、7、6、5、4、3、2、1 顺序在实验方法和对比方法中各进行双份检测。标本在 2 h 内检测完毕。连续检测 5 个工作日, 得到 40 组数据。

1.3 统计学处理 实验方法和比方法测定结果按照 CLSI EP-9A2 指南要求在 EXCEL2003 软件上编制程序进行分析。即将 40 份标本在比方法测定值(X_i)和在实验方法测定值(Y_i)数据输入 X、Y 列。EXCEL2003 软件自动进行数据统计并绘制相应图表。主要有: (1)方法内离群点的检查; (2)绘制相应图表; (3)方法间离群点的检查; (4)比方法(X)测定范围的检验; (5)计算线性回归方程; (6)分部计算残差; (7)计算方法间的预期偏倚并与标准进行比较。

2 结 果

2.1 离群点检查 进行离群点检查,均以同时超过绝对差值和相对差值均值的 4 倍判断为方法内离群点。方法内离群点的检查,比对方法(X)绝对偏差限值为 7.038,相对偏差限值为 0.09;实验方法(Y)绝对偏差限值为 11.4,相对偏差限值为 0.1。方法间离群点检查,绝对偏差限值为 17.63,相对偏差限值为 0.175。经计算,本实验中无离群点数据存在。

2.2 绘图

2.2.1 $\bar{Y}_i$ 对 $\bar{X}_i$ 的散点图 以实验方法每份样本双份测定的均值($\bar{Y}_i$)为 Y 轴,比对方法每份样本双份测定的均值($\bar{X}_i$)为 X 轴作图,使 X、Y 轴的原点和刻度一致,作一条通过原点,斜率为 1.0 的直线,见图 1。

2.2.2 所有实验结果对 $\bar{X}_i$ 的散点图 以实验方法每次测定值(Y_{ij})的结果与比对方法每份样本双份测定的均值($\bar{X}_i$)按 2.2.1 方式作图,见图 2。

2.2.3 偏倚图 以每份样本实验方法与比对方法双份测定的均值差($\bar{Y}_i - \bar{X}_i$)为 Y 轴,比对方法每份样本双份测定的均值($\bar{X}_i$)为 X 轴作图,以 X=0 为水平中线,见图 3。以实验方法单次测定的值与 $\bar{X}_i$ 的差值($Y_{ij} - \bar{X}_i$)为 Y 轴, $\bar{X}_i$ 为 X 轴作偏倚图,以 X=0 为水平中线,见图 4。

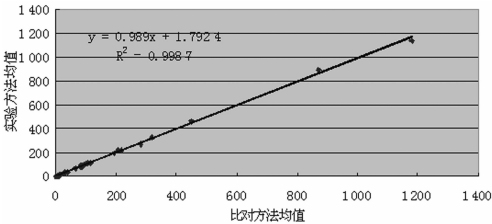


图 1 双份测定均值散点图

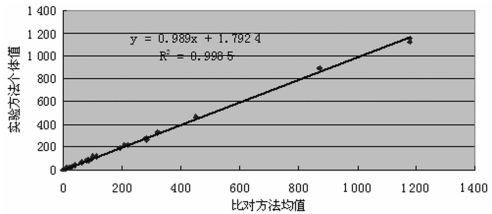


图 2 所有实验方法结果散点图

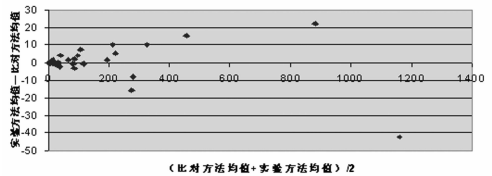


图 3 实验方法双份测定均值差对比方法双份测定均值偏倚图

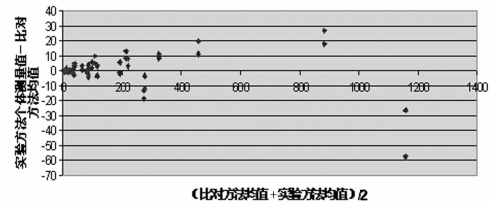


图 4 实验方法和比对方法单次测定结果之差与比对方法双份测定均值偏倚图

2.2.4 线性关系的目测检查 在整个测量范围内,实验方法和比对方法的数据图呈较好的线性关系,见图 1、2。

2.3 比对方法取值范围检查 以实验方法与比对方法的相关系数 r 粗略评估比对方法 X 的分布范围是否合适。一般情况下,如果 $r \geq 0.975$ (或 $r^2 \geq 0.95$),则可认为比对方法取值范围合适。经计算两方法间相关系数 $r^2 = 0.9987$,可以认为比对方法取值范围合适。

2.4 线性回归 经实验方法与比对方法线性回归方程截距 $a = 1.805$,斜率 $b = 0.989$ 即直线回归方程为: $Y = 1.805 + 0.989X$ 。

2.5 目测检查离散度 在 AFP 数据范围内高值样本和中低值样本的标准差之间差异有统计学意义(大于 3:1),提示在高浓度样本中有非恒定精密度,标准估计误差不适合用于评价围绕回归线的变异,此时应使用分部残差方法作变异评估和平均偏倚的说明,见图 3、4。

2.6 偏倚的标准差的计算 按 X 递增的顺序制表,从偏差图的两端计算点数到 $2N/3$ 处作为每组的分界点将数据分成三组(低值、中值、高值),对每组数据分别进行偏倚的标准差的计算,计算得 $s_1 = 1.68, s_2 = 1.86, s_3 = 14.7$ 。

2.7 计算预期偏倚及与性能标准的比较 选取 $X_c = 25 \text{ ng/mL}$ 和 $X_c = 400 \text{ ng/mL}$ 两点作为 AFP 医学决定水平观察点,分别计算相应的预期偏倚和 95% 可信区间。实验表明,在 AFP 医学决定水平 $X_c = 25 \text{ ng/mL}$ 及 $X_c = 400 \text{ ng/mL}$ 处,预期偏倚的 95% 可信区间上限小于规定的可接受偏倚,表明预期偏倚小于可接受偏倚的概率很高($>97.5\%$),因此实验方法与比对方法的偏差可以接受,两者检测结果具有可比性。见表 1。

表 1 医学决定水平处预期偏倚计算(%)

医学决定水平 $X_c(\text{ng/mL})$	允许 偏倚	允许 偏倚值	实验方法与比对方 法的预期偏倚	预期偏倚 95%可信区间	
				负偏倚	正偏倚
25	20	5.0	1.53	0.59	2.5
400	20	80.0	-2.66	-10.53	5.22

3 讨 论

当前,实验室检测在疾病诊断、治疗等方面越来越受到临床的重视。随着标本量的不断增加,越来越多的临床实验室采用两套或多套检测系统来检测同一项目。为了提高临床实验室管理水平,有不少临床实验室按照 ISO15189 的要求来规范实验室检测工作。ISO15189 文件指出,当同样的检验应用不同程序或设备,或在不同地点进行,或以上各项均不同时,应有确切机制以验证整个临床适用区内检验结果的可比性^[2],另外,应按适合于程序和设备特性的规定周期进行验证。因此,同一项目采用不同方法或仪器检测时应按要求做好比对工作,以保证检测结果的可比性。

目前,临床上仍采用血清 AFP 作为原发性肝癌早期诊断的标志物^[3]。作为一种肿瘤标志物,其临床检测中一个较为突出的问题就是不同检测系统存在较大的差异,主要的原因是:不同分析系统的检测原理不同,各个产家试剂所采用的抗原、抗体存在较大的差异,目前多数免疫分析项目所采用的校准品尚不能溯源到国际一级参考标准等^[2]。因此对不同免疫分析检测系统进行比对以了解各检测项目结果的可比性和偏倚评估是非常必要的^[4]。目前,国际上 AFP 临床可接受性能的标准主要有美国临床实验室改进修正规 88(CLIA'88)靶值 $\pm 3s$ 和澳大利亚室内质评标准靶值 $\pm 20\%$ 作为判断标准^[5-7],作

者认为后者的可操作性更好。

目前,本科采用罗氏 Modular E170 和 Cobas e601 电化学发光免疫分析仪检测 AFP,为了评估两台仪器检测 AFP 的可比性,保证检验结果的准确可靠,应做好两套检测系统的方法学比对和偏倚评估。国内有研究人员对 AFP 在不同系统的比对分析采取计算医学决定水平处实验方法和比对方法的相对误差与临床可接受性能比较做可比性判断和偏倚评估^[7-8]。但作者认为在整个分析测量范围内具有恒定的不精密度的方法很少,对不具有均匀离散度的分析应采取分段残差计算各段的偏倚估计。目前,临床上常以 AFP 20 ng/mL 和 400 ng/mL 作为临床诊断的临界值^[9-10],本研究按照 CLSI EP9-A2 文件要求,对罗氏 Modular E170 和 Cobas e601 检测 AFP 的结果进行比对分析和偏倚评估,在 20 ng/mL 和 400 ng/mL 医学决定水平处其结果具有较满意的可比性。这与两台仪器检测原理一致且使用同一产家相同配套试剂、校准品有关。因此,临床实验室如有必要使用多套检测系统检测同一项目时,应尽可能在检测原理相近、试剂互通性强的检测系统中选择,以保证不同系统之间的检测结果具有较满意的可比性,以满足临床的需求。

参考文献

- [1] The National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wanye, PA, NCCLS, 2002.
- [2] 魏昊,丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北

京:中国计量出版社,2004:72-93.

- [3] 朱豆,李宜铮,吴意. 电化学发光法与 ELISA 法检测甲胎蛋白的比较[J]. 实用预防医学,2011,18(1):145-147.
- [4] 林向阳,王忠永,周武,等. 不同检测系统甲胎蛋白测定结果的可比性及偏倚评估研究[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(8):908-909.
- [5] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:104-106.
- [6] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东. 临床实验管理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:111-114.
- [7] 秦辛玲,黄立伟,石青峰,等. 罗氏 E170 与 E601 检测系统间甲状腺激素测定结果的偏倚分析及可比性研究[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(1):109-111.
- [8] 蔡新,余清,杨丽,等. 血清甲胎蛋白在两个免疫分析系统间检测的比对评估[J]. 数理医药学杂志,2008,21(2):169-173.
- [9] 王桂荣,实验室诊断原发性肝癌几种方法的比较与评价[J]. 中国民康医学,2008,4(20):724-725.
- [10] Trevisani FD, Intino PE, Morselli-Labate AM, et al. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease; Influence of HBsAg and anti-HCV status[J]. J Hepatol, 2006, 34(4): 570-575.

(收稿日期:2012-02-16)

(上接第 1973 页)

- type-2 helper T cells and their cytokines in humans[J]. Int Rev Immunol, 1998, 16(3/4):427-455.
- [12] Meiler F, Zimmermann M, Blaser K, et al. T-cell subsets in the pathogenesis of human asthma[J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2006, 6(2):91-96.
- [13] Zhu C, Anderson AC, Schubart A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity[J]. Nat Immunol, 2005, 6(12):1245-1252.
- [14] Nagahara K, Arikawa T, Oomizu S, et al. Galectin-9 increases Tim-3⁺ dendritic cells and CD8⁺ T cells and enhances antitumor immunity via galectin-9-Tim-3 interactions[J]. J Immunol, 2008, 181(11):7660-7669.
- [15] Klibi J, Niki T, Riedel A, et al. Blood diffusion and TH1-suppressive effects of galectin-9-containing exosomes released by Epstein-Barr virus-infected nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Blood, 2009, 113(9):1957-1966.
- [16] Frisancho-Kiss S, Nyland JF, Davis SE, et al. Cutting edge: T cell Ig Mucin-3 reduces inflammatory heart disease by increasing CTLA-4 during innate immunity [J]. J Immunol, 2006, 176(11):6411-6415.
- [17] Geng H, Zhang GM, Li D, et al. Soluble form of T cell Ig mucin 3 is an inhibitory molecule in T cell-mediated immune response [J]. J Immunol, 2006, 176(3):1411-1420.
- [18] Xu G, Cheng L, Lu L, et al. Expression of T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-1 (TIM-1) is increased in a mouse model of asthma and relationship to GATA-3 [J]. Life Sci, 2008, 82(11/12):663-669.

- [19] Kearley J, Mc Millan SJ, Lloyd CM. TH2-driven, allergen-induced airway inflammation is reduced after treatment with anti-Tim-3 antibody in vivo [J]. J Exp Med, 2007, 204(6):1289-1294.
- [20] de Souza AJ, Oriss TB, O'malley KJ, et al. T cell Ig and mucin 1 (TIM-1) is expressed on in vivo-activated T cells and provides a costimulatory signal for T cell activation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(47):17113-17118.
- [21] Encinas JA, Janssen EM, Weiner DB, et al. Anti-T-cell Ig and mucin domain-containing protein 1 antibody decreases TH2 airway inflammation in a mouse model of asthma [J]. J Allergy Clin Immunol, 2005, 116(6):1343-1349.
- [22] Wu WK, An YF, Zhao CQ. Immunoglobulin domain and mucin domain-1 in helper T lymphocytes in allergic rhinitis[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2008, 88(48):3392-3396.
- [23] Feng BS, Chen X, He SH, et al. Disruption of T-cell immunoglobulin and mucin domain molecule (TIM)-1/TIM4 interaction as a therapeutic strategy in a dendritic cell-induced peanut allergy model [J]. J Allergy Clin Immunol, 2008, 122(1):55-61.
- [24] Fukushima A, Sumi T, Fukuda K, et al. Antibodies to T-cell Ig and mucin domain-containing proteins (Tim)-1 and-3 suppress the induction and progression of murine allergic conjunctivitis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 353(1):211-216.

(收稿日期:2012-02-14)