· 检验技术与方法 ·

高通量 ELISA 法与电化学发光法测定血清癌胚抗原的比较*

牟晓峰，周爱凤，赵自云，陈 娟，于 华△
（青岛市中心医院检验科，山东青岛 266042）

摘　要：目的　探讨高通量 ELISA 法和电化学发光（ECLIA）法测定血清癌胚抗原（CEA）的可比性。**方法**　分别用 ECLIA 法和高通量 ELISA 法对标本中的血清 CEA 浓度进行定量检测，并对检测结果进行比较。**结果**　2 种检测方法均能相对准确地反映血清中 CEA 浓度，检测结果差异无统计学意义（$P>0.05$）。高通量 ELISA 法 CEA 检测结果在线性范围内与 ECLIA 法高度相关（$r=0.9228$，$P<0.01$）。**结论**　高通量 ELISA 法可准确检测血清中 CEA 浓度。

关键词： 酶联免疫吸附测定；　癌胚抗原；　电化学发光
DOI： 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.22.037　　**文献标识码：** A　　**文章编号：** 1673-4130(2014)22-3088-02

Comparison and evaluation of the determination of serum CEA between high-throughput ELISA and ECLIA*

Mu Xiaofeng, Zhou Aifeng, Zhao Ziyun, Chen Juan, Yu Hua△
(*Department of Clinical Laboratory, the Center Hospital of Qingdao, Qingdao, Shandong* 266042, *China*)

Abstract: Objective　To compare the performance of high-throughput ELISA and ECLIA in the determination of carcinoembryonic antigen (CEA). **Methods**　The CEA concentration of serum samples were respectively determinate by high-throughput ELISA and ECLIA, and the results were compared. **Results**　Two kinds of detection methods could both accurately reflect the concentration of serum CEA. There was no significant difference between the results of two methods ($P>0.05$). Within the linear range, the CEA result of high-throughput was correlate closely with that of ECLIA ($r=0.9228$, $P<0.01$). **Conclusion**　High-throughput ELISA can accurately detect the serum CEA concentration.

Key words: enzyme linked immunosorbent assay;　carcinoembryonic antigen;　electrochemiluminescence

癌胚抗原（CEA）是首先从结肠癌和胚胎肠组织中提取的一种肿瘤相关抗原[1]。CEA 正常存在于妊娠前几个月胎儿的肠道、胰腺以及肝脏中，出生后体内浓度很低，一般在 2.5 ng/mL 以下。作为一种成熟的广谱肿瘤标志物，临床上主要将其用于结直肠癌的诊断、肿瘤分期、疗效监测和复发预报等[2-3]。随着检测技术的发展，CEA 的检测技术得到了不断提高。目前常用的检测方法有放射免疫法、ELISA 法以及电化学发光（ECLIA）法等，以上各种检测方法都能对血清 CEA 进行相对定量，但方法学的不同决定了不同检测方法之间灵敏度、重复性等的差异。本文旨在对高通量 EL1SA 法和 ECLIA 法检测 CEA 的结果可比性进行评估，为高通量 ELISA 法检测 CEA 的系统化、标准化打下基础，现将结果报道如下。

1　资料与方法

1.1　一般资料　青岛市中心医院 2013 年 3～10 月采用罗氏 COBAS e601 电化学发光仪检测的 CEA 血清标本共 349 份，－40 ℃冻存。

1.2　仪器与试剂　罗氏 COBAS e601 电化学发光仪，试剂及定标品均为罗氏配套产品。艾德康 ADDCARE 1100 全自动酶免仪，试剂为北京现代高达提供的 CEA 定量检测试剂盒。

1.3　方法　ECLIA 法按罗氏 CEA 检测试剂说明书进行操作。高通量 ELISA 法定量检测范围为 5～100 ng/mL，检测过程如下：6 个标准品每个平行测定 2 次，检测孔加 55 μL 待测血清（标准品），加 55 μL 酶结合物，充分振荡混匀后，38 ℃孵育 30 min，洗板 5 次（浸泡时间为 10 s），洗板后加底物 A、B 液各 55 μL 显色 15 min，最后加入 55 μL 终止液终止显色，于 450 nm/630 nm 波长处进行定量分析。

1.4　统计学处理　采用 GraphPad Prism 软件进行统计学处理和分析，2 种检测方法检测数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 t 检验比较差异显著性，相关性分析采用 Pearson 相关分析，率的比较采用 χ^2 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　2 种检测方法检测结果比较　将 349 份标本按 CEA 浓度分为 3 组：<5、5～20、>20 ng/mL，对每组标本的 2 种方法检测结果进行比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$），见表 1。

表 1　2 种检测方法检测血清 CEA 结果比较（$\bar{x}\pm s$，ng/mL）

方法	<5 ng/mL 组	5～20 ng/mL 组	>20 ng/mL 组
ECLIA	2.91±0.07	8.69±0.43	46.08±3.33
ELISA	2.98±0.08	8.95±0.65	43.74±3.39

2.2　2 种方法检测结果的相关性分析　2 种方法测定结果的相关性良好，高通量 ELISA 法与 ECLIA 法检测结果的相关系数为 0.9228（$P<0.01$），见图 1。高通量 ELISA 法在定量范围内（5～100 ng/mL），标准曲线的相关系数都能达到 0.99 以上。

* 基金项目：卫生部医药卫生科技发展研究中心专项课题资助项目（28-2-8）；山东省医药卫生科技发展计划项目（2013WS0016）。　作者简介：牟晓峰，男，主任检验技师，主要从事检验医学方法学评价研究。　△ 通讯作者，E-mail：qdyhua279@163.com。

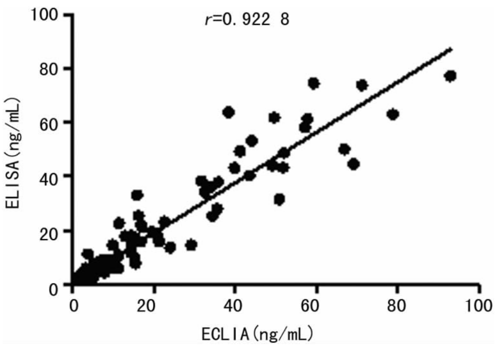

图 1　高通量 ELISA 法与 ECLIA 法检测结果的回归曲线

2.3　2 种方法的重复性比较　选择血清 CEA 浓度分别为 5、20、50、90 ng/mL 的 4 份血清标本,分别采用 2 种方法进行 20 次重复测定,结果表明,ECLIA 法的变异系数(CV)分别为 4.1%、3.3%、5.4%、4.3%,高通量 ELSIA 法的 CV 分别为 13.2%、14.1%、12.7%、14.5%,2 种方法都可达到 $CV<15\%$ 的要求,重复性合格。

2.4　2 种检测方法符合率比较　本实验室既往对 300 例健康体检者血清 CEA 检测结果显示,仅有 1 例体检者血清 CEA>3.54 ng/mL,考虑到该实验对低浓度标本的检测灵敏度相对较低,以及 ELISA 技术本身存在的本底问题等,所以本实验室未将 99%置信区间作为 CEA 的参考区间,而将 CEA 参考范围初步设定在 CEA<3.54 ng/mL。将 3.54 ng/mL 作为高通量 ELISA 法的临界点,5.00 ng/mL 作为 ECLIA 法的临界点,采用高通量 ELISA 法和 ECLIA 法分别对 349 份标本的血清 CEA 进行检测,结果见表 2,高通量 ELISA 法和 ECLIA 法的阳性率分别为 34.67%、35.24%,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 2　2 种方法 CEA 检测结果比较(n)

ELISA 法	ECLIA 法		合计
	阳性	阴性	
阳性	119	2	121
阴性	4	224	228
合计	123	226	349

3　讨　论

目前,国内医学实验室中,ELISA 检测普遍存在准确性和重复性较差等问题,ELISA 检测的标准化和系统化是亟待解决的问题。目前,ECLIA 法仍然是肿瘤标志物检测的金标准,但其成本较高,难以在大规模筛查中应用。CEA 作为较为成熟的广谱肿瘤标志物,在肿瘤的监测中具有重要意义,且血清 CEA 浓度与病情进展和复发有一定的平行相关关系[4-5]。随着检验技术的不断进步,ELISA 试剂盒已拓展到很多领域。高通量 ELISA 由机器代替了手工,减少了人为误差,提高了工作效率。高通量 ELISA 的系统化、标准化不仅可以规范国内现行医学实验室的 ELISA 测定,同时也可为流行病,重大传染病、恶性肿瘤等常见病、生殖健康和食品安全等社会关注焦点等疾病的检测和数据库的建立提供数据支持。为此,本研究首先对高通量 ELISA 法与 ECLIA 法的 CEA 检测结果进行了比较,旨在为高通量 ELISA 的条件摸索以及后续研究奠定基础。

本研究结果显示,因方法学的限制,高通量 ELISA 法检测 CEA 的灵敏度较 ECLIA 法低,但根据本实验室对 CEA 参考范围的初步设定,高通量 ELISA 法以 3.54 ng/mL 为临界点,ECLIA 法以 5.00 ng/mL 为临界点,二者阳性率差异无统计学意义($P>0.05$)。说明虽然高通量 ELISA 法的检测灵敏度不如 ECLIA 法,但并不影响阳性率的判断,不影响临床敏感度。将 349 份标本按 CEA 浓度分为 3 组:<5、5～20、>20 ng/mL,对每组标本的 2 种方法检测结果进行比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),说明高通量 ELISA 法的 CEA 检测结果可信。高通量 ELISA 法与 ECLIA 法检测结果的相关性较好($r=0.922\ 8$,$P<0.01$),在线性范围内(5～100 ng/mL),标准曲线的相关系数都能达到 0.99 以上,其准确性和重复性均可满足试验要求。

本研究同时发现,高通量 ELISA 具有良好的重复性,虽然其灵敏度偏低,线性范围较窄,但结合临床诊断对比发现,以上偏差对临床诊疗无明显影响,但以上 2 种方法的性价比差别甚大。ECLIA 法成本高,而高通量 ELISA 法的检测成本低,这也是高通量 ELISA 法的优势之一。同时,因其从加样到结果判读的全过程均由机器完成,使加样及洗板等过程具有良好的重复性,减少了人为误差,高通量的加样大大提高了工作效率。

虽然高通量 ELISA 法的线性范围较 ECLIA 法窄,在低浓度标本检测的灵敏度也不及 ECLIA 法,但并不影响临床阳性率的判断。CEA 浓度检测对肿瘤的疗效监测具有重要意义,故高浓度样本的稀释,以及临床可报告范围的拓展有待于进一步研究。

参考文献

[1]　Goldstein MJ,Mitchell EP. Carcinoembryonic antigen in the staging and follow-up of patients with colorectal cancer[J]. Cancer Invest,2005,23(4):338-351.

[2]　Sarobe P,Huarte E,Lasarte JJ,et al. Carcinoembryonic antigen as a target to induce anti-tumor immune responses[J]. Curr Cancer Drug Targets,2004,4(5):443-454.

[3]　陈艳宁,姜季,李焕春,等. CA199 和 CEA 联合检测对肠道恶性肿瘤术后复发的诊断价值[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(12):1472-1473.

[4]　Mulcahy MF,Benson Ⅲ AB. The role of carcinoembryonic antigen monitoring in management of colorectal cancer[J]. Curr Oncol Rep,1999,1(2):168-172.

[5]　Saad A,Abraham J. Role of tumor markers and circulating tumors cells in the management of breast cancer[J]. Oncology,2008,22(7):726-731.

(收稿日期:2014-03-26)