

• 论 著 •

不同化学发光分析系统在皮质醇检测中的性能评价与比较^{*}

陈 翊¹, 李颖能², 陈焕辉¹, 林 涛¹, 汤勇才²

(1. 广东省广州市妇女儿童医疗中心中心实验室 510120; 2. 广东省广州市第一人民医院检验科 510180)

摘 要:目的 比较贝克曼 Access 2 Immunoassay System 化学发光免疫分析系统及罗氏 COBAS E 411 电化学发光免疫分析系统对皮质醇的分析性能与检测结果相关性。方法 按照 ISO15189 中方法评估贝克曼及罗氏分析系统对皮质醇检测的精密性、功能灵敏度、参考范围、方法学、阳性符合率、阴性符合率。结果 贝克曼与罗氏分析系统在皮质醇检测中精密性良好, 功能灵敏度符合各自厂商设定的临床检测的下限, 实验室自建参考范围后, 将两分析系统对皮质醇的测定值进行线性回归分析, 二者间相关性良好, 线性回归系数 $r^2=0.977$, 阳性符合率、阴性符合率均为 100%。结论 两分析系统对于皮质醇的分析性能优异, 均可满足临床检验需求。经过方法学比对, 二者相关性良好, 能够通过回归方程对二者间测定值进行引证。

关键词:皮质醇; 化学发光免疫分析; 电化学发光免疫分析; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.14.019

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)14-1949-03

Performance evaluation and comparison of different chemiluminescence immunoassay systems in detection of cortisol^{*}

CHEN Yi¹, LI Yingneng², CHEN Huanhui¹, LIN Tao¹, TANG Yongcai²

(1. Central Laboratory, Guangzhou Municipal Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Municipal First People's Hospital, Guangzhou, Guangdong 510180, China)

Abstract: Objective To compare the analytical performance and results correlation of cortisol detection by the Beckman Access 2 Immunoassay System chemiluminescence system and the Roche COBAS E 411 electrochemical luminescence system. Methods The precision, functional sensitivity, reference range, positive coincidence rate and negative coincidence rate of both Beckman Access 2 Immunoassay System and Roche COBAS E 411 systems for detecting cortisol were evaluated according to the method of ISO15198. Results Both Beckman Access 2 Immunoassay System and Roche COBAS E 411 system exhibited better precision, the functional sensitivity conformed to the lower limit of clinical detection set by the manufacturers, after establishing the reference range of cortisol by the laboratory, the cortisol values detected by these two systems were performed the linear regression analysis, the results indicated that the correlation between them was good, the linear regression coefficient $r^2=0.977$, and the positive and negative coincidence rates were 100%. Conclusion The two analytical systems have excellent performance for cortisol, which all meet the clinical detection requirements. The methodological comparison shows good correlation between them, and the detection results could be cited between these two systems by the regression equation.

Key words: cortisol; chemoluminescence; electrochemical luminescence; performance evaluation

近年来,化学发光免疫法越来越多地被应用于人体激素的测定,作为一种灵敏度非常高的化学发光测定技术和高特异性免疫反应技术相结合的新型标记免疫测定技术,该方法有着广阔的应用前景。但在实际临床检测的应用中,不同检测系统的测定结果存在差异。如何评估化学发光免疫法的测定结果,推动检测标准化,并达到实验室间的检验结果互认,尚需进一步研究。本课题组以皮质醇为对象,通过对现阶段化学发光免疫法应用最广泛的 2 种方法(化学发光免疫法和电化学发光免疫法)进行方法学评价,探讨化学发光免疫法不同检测仪器间结果的相关性。皮质醇是体内循环系统中的一种高丰度甾类化合物,其主要用于血压维持、抗过敏反应,以及糖类、蛋白质、脂肪的新陈代谢调节等^[1]。皮质醇是一种主要由肾上腺皮质合成和分泌的糖皮质激素,在促肾上腺皮质激素(ACTH)的作用下,肾上腺增加对皮质醇的分泌,而高浓度的皮质醇会抑制 ACTH 的合成,从而使皮质醇浓度维持恒定^[2]。因此,血液中

皮质醇水平常用于诊断肾上腺相关疾病,如阿狄森症和库欣综合征等^[3-4]。临床上皮质醇的检验主要通过免疫法进行。其中,化学发光免疫法和电化学发光免疫法同时具备化学发光法灵敏度及免疫法高特异性的优点,在皮质醇的定量测定中应用广泛。本文按照临床实验室标准化协会(CLSI)的 EP12-A2 文件及 ISO15189 医学检验实验室认可的要求^[5-6],对本实验室贝克曼 Access 2 Immunoassay System(化学发光免疫法)与罗氏 COBAS E 411(电化学发光免疫法)检测系统的皮质醇检测结果进行比对,并对二者结果进行评估,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 样本来自广州市第一人民医院 2015 年 3~6 月门诊、住院患者血清,年龄 5~73 岁。血清样本按照相应检测需求进行收集,样本无溶血与脂血,待测血清样本保存于 -20℃。

1.2 仪器与试剂 贝克曼 Access 2 Immunoassay System 分

^{*} 基金项目:广东省广州市科技计划项目(2014Y2-00031)。

作者简介:陈翊,女,副主任检验技师,主要从事临床检验研究。

析仪(化学发光免疫法),罗氏 COBAS E 411 分析仪(电化学发光免疫法),皮质醇检测试剂盒、校准品、质控品均为各自仪器配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 样本检测 所有测试均严格按照相应仪器和试剂操作规程进行,保证测试时仪器校准合格,质控在控。

1.3.2 精密度试验 收集临床皮质醇样本,配制成皮质醇高、低值两浓度样本。将两样本当日内各重复检测 20 次,计算测定值结果均值、标准偏差及变异系数(CV),得出批内重复性。将两样本每天测定 1 次,连续测定 20 d,计算测定值结果均值、标准偏差及 CV,得出批间重复性。

1.3.3 功能灵敏度验证 以空白样本对低值质控进行稀释,稀释最终浓度为各自宣称检出限附近(贝克曼 0.4 μg/dL 和罗氏 0.018 μg/dL)。利用两分析系统分别对上述浓度皮质醇样本进行测定,每天测定 1 次,连续测定 10 d,计算各分析系统对上述样本测定结果的均值、标准偏差及 CV。

1.3.4 参考范围建立 选取 120 例健康人血清临床样本(早晨 10:00 前取血),分别以贝克曼和罗氏免疫分析仪进行检测,并根据检测结果进行参考范围建立。

1.3.5 方法学比对 选取 40 例能够均匀覆盖皮质醇检测范围的临床样本,利用贝克曼 Access 2 Immunoassay System 分析系统和罗氏 COBAS E 411 分析系统分别检测上述样本,并对两分析系统的测定值相关性进行比对分析。

1.3.6 阴性符合率与阳性符合率 结合实验室自建的参考范围及 40 例临床样本的检测结果,统计两分析系统对皮质醇检测的阴性符合率与阳性符合率。

2 结 果

2.1 精密度评价 贝克曼和罗氏分析系统对皮质醇测定的精密度通过批内精密度和批间精密度呈现,见表 1。贝克曼和罗氏分析系统对皮质醇测定的批间、批内 CV 均小于 10%,具备良好的精密度,符合临床检验要求。

表 1 贝克曼和罗氏分析系统检测皮质醇的精密度

检测系统	样本	批内		批间	
		检测结果 (μg/dL)	CV (%)	检测结果 (μg/dL)	CV (%)
贝克曼	低值样本	6.23±0.43	6.90	6.40±0.61	9.53
	高值样本	39.11±1.61	4.12	39.94±1.72	4.30
罗氏	低值样本	8.15±0.27	3.31	8.27±0.43	5.20
	高值样本	44.96±0.62	1.38	45.18±0.82	1.81

2.2 功能灵敏度评估 本文测定贝克曼与罗氏分析系统在皮质醇测定中的功能灵敏度,用于评估二者功能灵敏度的差异。利用皮质醇低值质控品分别配制检出限(贝克曼 0.4 μg/dL 和罗氏 0.018 μg/dL)附近的浓度样本 0.50 μg/dL 和 0.05 μg/dL,以两分析系统每日分别测定 1 次,连续测定 10 d。贝克曼分析系统的检测结果为(0.55±0.07) μg/dL, CV 为 12.9%,罗氏分析系统的检测结果为(0.052±0.009) μg/dL, CV 为 17.3%,两分析系统对于各自宣称皮质醇检出限附近浓度的样本检测结果 CV<20%,表明二者宣称检测限能够作为临床检测的下限。

2.3 参考范围确认 两分析系统各自的宣称参考范围分别为 6.7~22.6 μg/dL(贝克曼)和 6.2~19.4 μg/dL(罗氏),考虑到

本实验室所处地区、人群及操作差异,应建立实验室内部参考范围以辅助临床判断。根据 C28-A3 文件^[7],分别采用两分析系统对 120 例健康人血清样本(早晨 10:00 前取血)进行皮质醇测定,评估本实验室内各检测系统的参考范围,贝克曼与罗氏分析系统说明书建议的参考范围分别为 6.7~22.6、6.2~19.4 μg/dL,本实验室自建参考范围分别为 6.5~21.3、7.1~24.4 μg/dL。

2.4 方法学比对 利用两分析系统对均匀分布于检测区间的 40 例临床血清样本进行测试,将测定值结果进行线性回归,如图 1 所示。两分析系统比对回归方程为 Y=1.08X+1.84(其中 X 为贝克曼测定值结果, Y 为罗氏测定值结果),线性回归系数 r²=0.977。上述结果表明,二系统测试结果存在偏差(斜率 k=1.08),但二者相关性良好。利用二分析系统进行临床判断时,应考虑到二者间测定值差异。

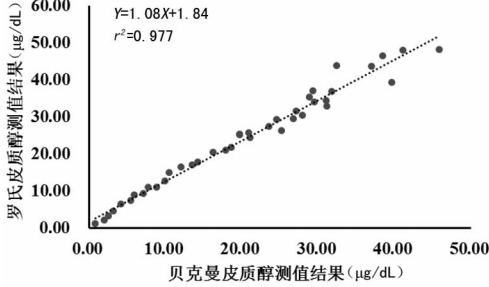


图 1 贝克曼与罗氏分析系统测定皮质醇结果的线性回归分析

2.5 阳性符合率和阴性符合率 按照本实验室自建的临床参考范围,对上述 40 例临床样本的测试结果进行阳性符合率和阴性符合率分析,对比分析二者的检测结果,确认其阴性符合率和阳性符合率均为 100%。两分析系统对皮质醇的检测结果表明,两者对临床判断的一致性较好。

3 讨 论

化学发光免疫法在临床检验中的应用日益增多,建立相应的评估方法,推动实验标准化,使检验结果更具溯源性,有着重要的意义。另一方面,根据 CLSI 的 EP12-A2 文件及 ISO15189 医学检验实验室认可的规定,临床检验科室应对分析试剂及配套检测仪器的主要分析性能(如精密度、功能灵敏度、方法学、符合率等)进行评估,以确保测定值的准确性。

化学发光免疫法和电化学发光免疫法结合发光系统高灵敏检测以及免疫法高特异性的优点,易于实现高通量、自动化分析,且具备优异的分析性能,受到临床检验科室的青睐。但在实际工作中,实验室人员发现两者的测定结果会有差异,如何对结果进行解读,是本次试验的出发点。

本文对实验室内贝克曼 Access 2 Immunoassay System 化学发光免疫分析系统和罗氏 COBAS E 411 电化学发光免疫分析系统的皮质醇定量检测分析性能进行评估。由于发光原理的区别,这两套检测系统在试剂、仪器设计方面均存在显著区别,因而二者测定值结果可能存在系统性差异。试验结果表明,两分析系统均具备良好的精密度,其批间与批内 CV 均小于 10%,符合 CLSI 的 EP5-A2 标准^[8]。两分析系统的功能灵敏度均满足皮质醇临床检测的要求。为了进一步比较两分析系统间测定值准确性,实验室自建参考范围,并对 40 例临床样本进行检测结果的方法学比对,以及阳性符合率、阴性符合率分析,数据表明两分析系统对皮质醇的检测结果相关性好,线性相关系数 r²=0.977,测定值略有偏差(线(下转第 1953 页)

制备,用于分配包被抗体,洗涤和封闭试剂。此外,微孔板可以冷冻存储,性能上没有任何损失,至少可存储 3 个月。因此,在处理便利性、稳定性和重现性方面,它可以与一个商用的试剂盒媲美。本研究建立的 ELISA 法在试剂成分、实验条件、实验时间、灵敏度上都作了优化和改进,并做了质控阴性对照和空白对照使实验更符合标准操作规范,与文献报道采用的其他方法相比,解决了检测时间长、对实验人员有危害等不足之处。

综上所述,本研究建立的方法与已有技术相对照,其效果是积极和明显的。由于快速、经济、简便、检测数量大,本方法可以应用于临床医疗单位及血站的常规血液检测,为 IgA 缺乏症患者减少输血风险,提高了输血的安全性,接下来利用已建立的这种可靠的方法进行中国汉族健康献血者的缺乏筛查。

参考文献

- [1] Ozsoylu S. About selective IgA deficiency[J]. Turk J Pediatr, 2011, 53(6): 717.
- [2] Robitaille N, Delage G, Long A, et al. Allergic transfusion reactions from blood components donated by IgA-deficient donors with and without anti-IgA: a comparative retrospective study[J]. Vox Sang, 2010, 99(2): 136-141.
- [3] Sandler SG, Eckrich R, Malamut D, et al. Hemagglutination assays for the diagnosis and prevention of IgA anaphylactic transfusion reactions[J]. Blood, 1994, 84(6): 2031-2035.
- [4] Petz LD, Swisher SN, Kleinman S, et al. Clinical practice of transfusion medicine[M]. 3rd ed. Glasgow: Churchill Livingstone, 1996: 914-915.

(上接第 1950 页)

性回归方程 $Y=1.08X+1.84$, 其中 X 与 Y 分别代表贝克曼与罗氏皮质醇测定值结果), 但此测定值偏差并不影响临床判断, 二者的阳性符合率、阴性符合率均为 100%。

综上所述, 本次研究遵循 ISO15189 实验室认可要求, 建立了化学发光免疫法不同检测系统间的性能评价方法, 应用贝克曼和罗氏化学发光免疫分析系统对皮质醇的分析性能进行评估, 两分析系统均满足临床检验性能要求, 并且系统间的测值相关性良好, 但相互引证时需考虑二者间存在的系统性测定值偏差, 在临床判断时需结合各自参考范围进行分析。

参考文献

- [1] Foster LB, Dunn RT. Single-antibody technique for radioimmunoassay of cortisol in unextracted serum or plasma[J]. Clin Chem, 1974, 20(3): 365-368.
- [2] Beisel WR, Diraimondo VC, Chao PY, et al. The influence of plasma protein binding on the extra-adrenal metabolism of cortisol in normal, hyperthyroid and hypothyroid subjects[J]. Metabolism, 1964, 13(10): 942-951.
- [3] Newell-Price J, Trainer P, Besser M, et al. The diagnosis

- [5] Foudoulaki-Papazizos L, Tzavara V, Stamoulis K E, et al. Prevalence of IgA deficiency in Greek blood donors[J]. Haema, 2002, 5(4): 330-332.
- [6] Laschinger C, Gauthier D, Valet JP, et al. Fluctuating levels of serum IgA in individuals with selective IgA deficiency[J]. Vox Sang, 1984, 47(1): 60-67.
- [7] Haun M, Wasi S. An enzyme immunoassay for the determination of low levels of IgA in human serum[J]. J Immunol Method, 1989, 121(2): 151-155.
- [8] Eckrich RJ, Mallory DM, Director SGSM. Laboratory tests to exclude IgA deficiency in the investigation of suspected anti-IgA transfusion reactions[J]. Transfusion, 1993, 33(6): 488-492.
- [9] Hansen AL, Turner TR, Kurach JD, et al. Quality of red blood cells washed using a second Wash sequence on an automated cell processor[J]. Transfusion, 2015, 55(10): 2415-2421.
- [10] Rumilla KM, Winters JL, Peterman JM, et al. Development and validation of a fluorescent microsphere immunoassay for anti-IgA[J]. Immunohematology, 2009, 25(1): 24-28.
- [11] Butch AW. Dilution protocols for detection of hook effects/prozone phenomenon[J]. Clin Chem, 2000, 46(10): 1719-1721.

(收稿日期: 2016-01-11 修回日期: 2016-03-22)

and differential diagnosis of Cushing's syndrome and pseudo-Cushing's states[J]. Endocr Rev, 1998, 19(5): 647-672.

- [4] Schein RM, Sprung CL, Marcial E, et al. Plasma cortisol levels in patients with septic shock[J]. Crit Care Med, 1990, 18(3): 259-263.
- [5] CLSI. EP12-A2 User protocol for evaluation of qualitative test performance; Approved guideline[S]. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [6] 李金明, 申子瑜. 正确认识临床实验室认可与提高检验质量之间的关系[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 136-139.
- [7] CLSI. C28-A3 Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory; Approved guidelines[S]. 3rd ed. Wayne, PA: CLSI, 2008.
- [8] CLSI. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; Approved guideline[S]. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI, 2004.

(收稿日期: 2016-01-12 修回日期: 2016-03-18)