

基于 EP9-A3 文件对两仪器测定血清甲胎蛋白、癌胚抗原结果的可比性评价

宁萍¹, 王雪婷¹, 李奋荣¹, 何静¹, 徐小婕¹, 王红红², 云发超¹

(1.乌鲁木齐市中医医院检验科, 新疆 乌鲁木齐 830000;

2.新疆军区总医院中西医结合科, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要:目的 探讨甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)在2检测系统上测定结果的可比性。方法 以罗氏 cobas e 601 全自动化学发光免疫分析仪为参比方法(X), 透景 Tesmi F4000 全自动流式荧光发光免疫分析仪作待测方法(Y), 选择待测方法(Y)的检测线性内样本(AFP、CEA 各 40 例)在两仪器上测定。根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)的 EP9-A3 文件, 以 1/2TEa(TEa 为国家卫生健康委临床检验中心室间质量评审允许总误差)为评判标准, 对检测结果进行方法比对、偏倚评估及临床可接受程度分析。结果 两仪器所测 AFP、CEA 结果无统计学意义($P>0.05$), 计算所得偏倚均在允许误差范围内(均 $\leq 12.5\%$), 线性回归方程的相关性良好($r^2>0.95$), 在医学决定水平处的偏倚为临床可接受。结论 在透景流式荧光发光检测系统测定范围内, AFP 和 CEA 在两个仪器中的检测结果呈显著相关, 二者在两个医学决定水平上的相对偏差在临床可接受水平之内, 即两台检测仪器间的测定结果可比性良好, 各级医疗机构可据此来选择合适的仪器。

关键词: EP9-A3; 甲胎蛋白; 癌胚抗原; 测定方法; 偏倚评估

中图分类号: R446.1; R735.7

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2024.05.025

文章编号: 1006-1959(2024)05-0138-05

Comparability of the Results of Serum Alpha-fetoprotein and Carcinoembryonic Antigen Measured by the Two Instruments Based on the EP9-A3 Document

NING Ping¹, WANG Xue-ting¹, LI Fen-rong¹, HE Jing¹, XU Xiao-jie¹, WANG Hong-hong², YUN Fa-chao¹

(1. Department of Laboratory Medicine, Urumqi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang, China;

2. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, General Hospital of Xinjiang Military Region, Urumqi 830000, Xinjiang, China)

Abstract: **Objective** To investigate the comparability of the results of alpha-fetoprotein (AFP) and carcinoembryonic antigen (CEA) on two detection systems. **Methods** The Roche cobas e 601 automatic chemiluminescence immunoassay analyzer was used as the reference method (X), and the Tesmi F4000 automatic flow fluorescence immunoassay analyzer was used as the test method (Y). The detection linear samples (AFP, CEA, with 40 cases in each sample) of the test method (Y) were selected and measured on the two instruments. According to the EP9-A3 document of the American Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 1/2TEa (TEa is the total allowable error of the external quality assessment of the National Health Commission Clinical Laboratory Center) was used as the evaluation standard to compare the test results, evaluate the bias and analyze the clinical acceptability. **Results** The results of AFP and CEA measured by the two instruments were not statistically significant ($P>0.05$). The calculated bias was within the allowable error range (all $\leq 12.5\%$). The correlation of the linear regression equation was good ($r^2>0.95$), and the bias at the medical decision level was clinically acceptable. **Conclusion** Within the measurement range of the flow-through fluorescence luminescence detection system, the detection results of AFP and CEA in the two instruments are significantly correlated, and the relative deviations of the two at the two medical decision levels are within the clinically acceptable level, that is, the measurement results between the two detection instruments are comparable, and medical institutions at all levels can choose the appropriate instrument accordingly.

Key words: EP9-A3; Alpha-fetoprotein; Carcinoembryonic antigen; Assay method; Bias assessment

目前,各级医疗机构的临床实验室为满足检测需求,常会为同一项目配置不同品牌、不同型号、不同检测方法的分析仪^[1],但 ISO/15189《医学实验室

质量和能力认可》有相应的要求,同一检验项目在不同系统间的检验结果需具有可比性^[2]。美国临床和实验室标准化协会(CLSI)发布的 EP9-A3 文件,为厂家和临床医学实验室提供了方法学比对和偏移评估的验证流程^[3]。现对罗氏 cobas e 601 全自动化学发光免疫分析仪(罗氏分析仪)和透景 Tesmi F4000 全自动流式荧光发光免疫分析仪(透景分析仪)的 AFP、CEA 检测结果进行方法比对,以了解两种检测

作者简介:宁萍(1985.9-),女,新疆乌鲁木齐人,本科,检验技师,主要从事临床生化免疫工作

通讯作者:云发超(1994.8-),男,新疆吉木萨尔县人,本科,检验技师,主要从事临床生化免疫工作

系统间的可比性和偏倚情况^[4],旨在为各级医疗机构实验室选择合适分析仪提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 样本来源于乌鲁木齐市某中医三甲医院 2022 年 9 月-2023 年 1 月的住院、体检、门诊患者 40 例。本研究经过院伦理委员会审批,对选定样本的患者告知试验详情,并签订知情同意书。

1.2 样本采集及保存 使用无抗凝剂采血管静脉采集血液。从 AFP、CEA 测定结果在两仪器检测范围内,保存无黄疸、溶血、脂血等其他影响测定因素,浓度涵盖医学决定水平的样本,两项目样本数量符合 EP9-A3 文件要求。根据两仪器操作 SOP 及配套试剂说明书,获得合适样本后,提取血清,可-20℃保存,3 个月内解冻 1 次完成检测。

1.3 仪器与试剂 德国罗氏 cobas e 601 全自动化学发光免疫分析仪(电化学发光法),使用与之配套原装试剂、校准品、质控品,以 AFP:0.605~1210.000 ng/ml、CEA:0.200~1000.000 ng/ml 检测范围作为参比方法(X);透景 Tesmi F4000 全自动流式荧光发光免疫分析仪(中国上海),使用流式荧光发光法测定,实验所用所有试剂以及各种耗材均为该仪器配套原装,以 AFP:4.000~320.000 ng/ml、CEA:3.200~360.000 ng/ml 检测范围作待测方法(Y)。

1.4 操作流程

1.4.1 试验前准备 根据实验室检测要求,使用两检测系统配套定标品、质控品完成两仪器的保养、维护、校准;按照 EP9-A3 文件规定,接连 5 d,逐日检测 AFP、CEA 待测样本各 8 例,浓度处于两个检测系统的测定范围内,且 4 例不在参考区间内的样本进行检测^[5]。

1.4.2 样本测定 将每份 8 例样本随机排列,在 2 系统中正序、反序均测 1 次,用以减少交叉污染及漂移对重测样本均值的影响^[6];当出现失控时,补充样本重新测定,直到达到要求样本数为止,取各样本在两个系统的检测均值进行数据分析^[7]。

1.4.3 离群值检测 根据 EP9-A3 文件描述^[3],应用广义极端学生化偏差(ESD)法进行离群值检验,离群值数量的上限低于样本容量的 5%,如有则需要扩大样本量,寻找出现偏差的原因,补充后再次测量。

1.4.4 方法比对与偏倚评估 计算实验方法(Y)与比较方法(X)之间的误差(SE)和相对偏差(SE%)。 $SE=|Y_c-X_c|$, $SE(\%)=(SE/X_c)\times 100\%$ ^[8]。按照 EP9-A3 文件要求,绘制偏差图、散点图,依照数据特点筛选合适的回归分析模型,计算回归方程,若 $r\geq 0.975$ 或 $r^2\geq 0.95$,将各项目给定医学决定水平浓度(X_c)代入回归方程,计算在给定值处偏倚(Y_c),以 NCCL 规定($CEA、AFP\leq 25\%$)为可接受标准,判断参比方法测定结果的可接受性。

1.5 统计学方法 用 Microsoft Excel 2010、SPSS 17.0 软件进行统计学分析。2 项目待测方法和参比方法间的检测结果比较均采用配对 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。计算回归方程和相关系数,以及方法间的 SE 和 SE%^[9]。

2 结果

2.1 离群值检测 采用 ESD 法检验本次比对试验中各项目的测试结果,未发现离群值。

2.2 检测结果统计分析 AFP、CEA 实验方法(X)与参比方法(Y)检测结果比较,两项目结果差异无统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.3 回归分析 根据偏差图(图 1~图 4)可知,待测方法的 AFP、CEA 测定结果偏倚均在允许误差范围内,差值散点带随 X 轴浓度或秩次增大而成比例变宽,百分比散点带宽随 X 轴浓度或秩次增大基本不变,偏差呈恒定 CV 变化(SD 呈比例变化);在散点图(图 5、图 6)中随 X 轴浓度增大,散点带宽逐渐增大,呈恒定 CV 的数据特征,因此采用 WLS 回归模型进行分析。结果显示,两台检测仪器测定结果 AFP、CEA 均有显著相关性($AFP:r^2=0.9912$; $CEA:r^2=0.9915$);回归方程分别为 $AFP:Y=0.9611X-0.0162$; $CEA:Y=0.9892X+0.2738$ 。

表 1 参比方法(X)待测方法(Y)与测定结果的比较

项目	检测方法	n	\bar{X}	S	S_x	\bar{d}	S_d	t	P
AFP	X	40	54.416	82.221	13.000	2.136	1.282	1.666	0.104
	Y	40	52.281	79.370	12.549				
CEA	X	40	55.512	84.500	13.361	0.330	1.243	0.265	0.792
	Y	40	55.841	85.058	13.449				

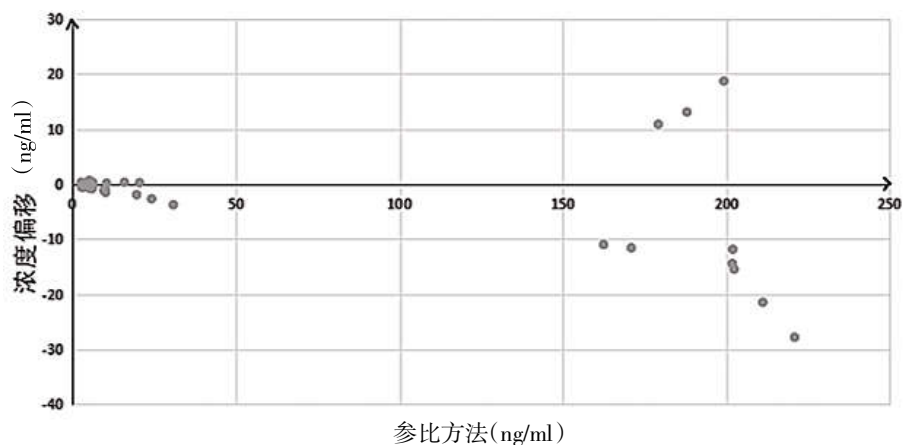


图 1 两种方法检测 AFP 浓度偏差图

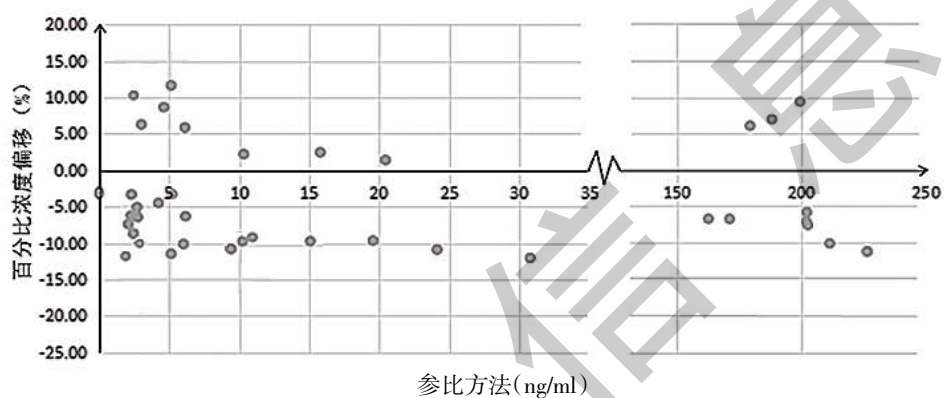


图 2 两种方法检测 AFP 浓度百分比偏差图

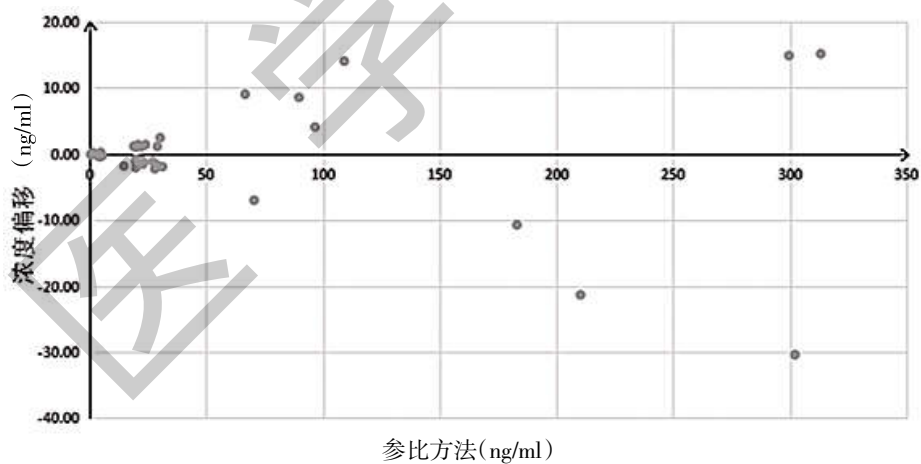


图 3 两种方法检测 CEA 浓度偏差图

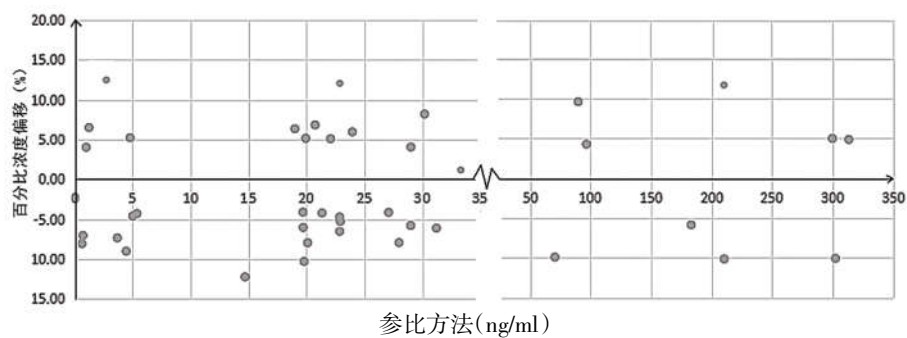


图 4 两种方法检测 CEA 浓度百分比偏差图

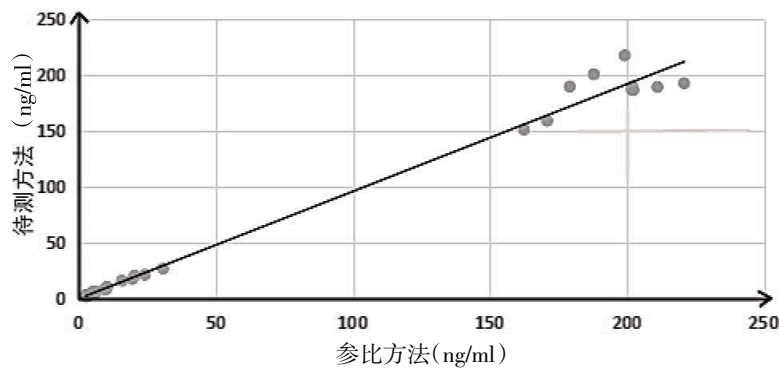


图 5 两种方法检测 AFP 浓度关系散点图

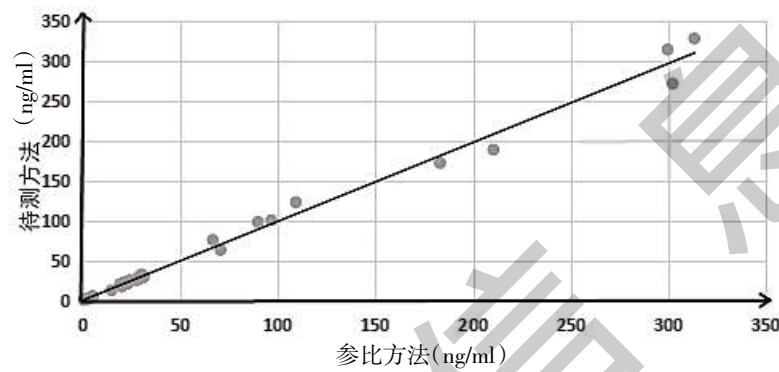


图 6 两种方法检测 CEA 浓度关系散点图

2.4 偏倚评估 将 AFP、CEA 的医学决定水平处值代入回归方程,计算预期偏倚^[10]。分析结果表明,AFP 医学决定水平为 20 ng/ml 和 200 ng/ml 时,待测方法相对参比方法的 SE 和 SE%临床可接受;CEA 在医学决定水平为 5 ng/ml 和 20 ng/ml 时的 SE 和 SE%临床可接受,见表 2。

表 2 实验方法的偏倚及临床的可接受性

检测项目	回归方程	Xc(ng/ml)	Yc(ng/ml)	SE	SE%	可接受范围(%)	临床可接受性
AFP	Y=0.9611X-0.0162	20	19.206	0.794	3.790	±12.5	接受
		200	192.203	7.796	3.898		
CEA	Y=0.9892X+0.2738	5	5.220	0.220	4.396	±12.5	接受
		20	20.058	0.058	0.298		

3 讨论

两检测仪器测定同一项目时检测值是否具备可比性,以及偏倚程度能否被临床接受,会对患者病情的诊断、治疗及预后产生直接影响。EP9 文件则用于验证两仪器可比性,CLSI 最新发布的 EP9-A3 文件与 EP9-A2 文件比较^[11],对此有着更为合理详尽的要求,在实验标本量、离群值选择及处理方法、回归模型选择、医学决定水平处的偏倚计算等方面有明显修改^[12],如 EP9-A3 文件要求,须先对偏差图和散点图进行目测分析,根据方法间差值的变化特点选择合适回归模型进行分析^[13]。

目前,AFP、CEA 已作为常规项目在体检中在临床中广泛应用^[14]。AFP 与肝细胞癌、睾丸肿瘤、21 三体(唐氏综合征)等密切相关^[15],而 CEA 是一种广谱性肿瘤标志物,主要用于对恶性肿瘤患者进行动态监测以及辅助判断疾病进程或治疗效果。Hao C 等^[16]也阐述了其在不同类型癌症和非癌症疾病中应用。两者常联合其他肿瘤标记物检测用于辅助诊断肿瘤,均是诊疗效果评价、疾病情况进展、疾病观测和预后评估的重要标志物^[17-20]。

另有数据显示,AFP、CEA 的检测下限,透景分析仪是罗氏分析仪的 6.612 倍和 16 倍,罗氏远比透

景灵敏;在某些疾病诊断或监测中,例如肝细胞性肝癌患者,血清 AFP 水平超过 400.000 ng/ml^[21],但透景分析仪检测上限为 320.000 ng/ml,无法对 AFP 高值患者的病情监测以及预后效果提供支持。对于 CEA 检测,罗氏免疫分析仪临床应用广泛^[22],且有同样的优势,还可进行自动或手动稀释,结果上限可提高 50 倍。根据本实验结果中,两方法测定 AFP、CEA 的结果比较,差异无统计学意义($P>0.5$),表示两种方法测定时并无明显差异。根据偏差图、散点图采用 WLS 回归模型进行分析,相关系数 r^2 均大于 0.99,即 AFP 和 CEA 的检测结果在两仪器间具有良好的相关性。经过计算,使用待测方法测定 AFP 和 CEA 的结果,在其医学决定水平上 SE%均在允许偏差范围之内,因此可被临床所接受。

综上所述,在仪器均使用原装试剂、校准品和质控品,且定期进行校准和保养等情况下,透景流式荧光发光免疫分析仪对其检测线性内的结果,有着良好的可比性,可得到具有一致临床意义的检测结果。但也有着一定的局限性,各级医疗单位实验室可根据患者类别、财政分配情况以及日检测样本数量等选择合适的检测仪器。

参考文献:

- [1]林巧智,王德成,马嘉玮,等.6 家通过 ISO15189 认可医学实验室血清白蛋白检测结果一致性研究[J].标记免疫分析与临床,2022,29(2):353-355,360.
- [2]Assadi Gazvini C,Coquemont C,Bluze E,et al.A simulation model for organization and management skills assessment that meets ISO 15189[J].Clin Chem Lab Med,2022,61(3):e67-e70.
- [3]CLSI.Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples; approved guideline - third edition [S].CLSI document EP09 -A3, Wayne,PA,USA,Clinical and-Laboratory Standards Institute,2013.
- [4]孙嘉峰,王军军,邱丽萍,等.两台荧光定量 PCR 仪检测 HBVDNA 结果的一致性分析 [J]. 临床医药实践,2019,28(2): 122-124.
- [5]时磊,刘晨,欧红玲,等.依据 CLSIEP9-A3 文件评价两种方法学检测降钙素原的可比性[J].标记免疫分析与临床 2022,29(7):1184-1188.
- [6]王秋慧,李娜,张和平,等.根据 CLSIEP9-A3 文件对两种方法检测降钙素原的可比性分析[J].国际检验医学杂志,2017,38(22):3198-3200.
- [7]Zhu G,Fu X,Ren Y,et al.Comparative analysis of three serum-free light-chain detection systems in the diagnosis of multiple myeloma[J].Int J Lab Hematol,2022,44(3):576-581.
- [8]叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:中华人民共和国卫生部医政司,2006:68.
- [9]王治国.临床检验质量控制技术[M].北京:人民卫生出版社,2004:274.
- [10]李敏,孟祥兆,孙江漫,等.基于 CLSIEP9-A3 的总胆红素方法学比对及偏移评估 [J]. 标记免疫分析与临床,2022,29(07): 1215-1218.
- [11]Huang R,Fu S,Lv YJ,et al.The Application of the EP9-A Protocol in the Analysis of the Performance of the Immunofluorescence Assay for HCG Detection [J].Int J Gen Med,2021,14: 2459-2464.
- [12]王秋慧,云发起,薛克俭,等.根据 CLSIEP9-A3 方案对 2 种仪器测定血脂水平的可比性分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2018,39(4):489-492.
- [13]傅金可,赵华,陈亚芳.基于 CLSIEP9-A3 的血清人绒毛膜促性腺激素 β 亚单位方法学比对及偏移评估[J].中国卫生检验杂志,2020,30(11):1352-1355.
- [14]刘宏涛,柴秀华,孙琰.流式荧光发光法检测北京市 23566 名健康人群血清 AFP、CEA 结果分析[J].临床检验志,2015,33(05):400.
- [15]马燕粉,王晓琴,樊雪英,等.3283 例健康体检者血清 AFP 水平和血脂指标的相关性分析 [J]. 中国实验诊断学,2022,26(11):1581-1586.
- [16]Hao C,Zhang G,Zhang L.Serum CEA levels in 49 different types of cancer and noncancer diseases [J].Prog Mol Biol Transl Sci,2019,162:213-227.
- [17]孙忠怡,孟凡东,隋承光,等.GPC3 联合 AFP、CEA、CA199 检测对肝细胞癌的临床诊断价值[J].中国实验诊断学,2022,26(1):31-34.
- [18]张莹,李静,徐有青.血清 CEA、AFP、CA199、CA125 联合检测诊断胃癌的 ROC 曲线分析及临床指导意义[J].湖南师范大学学报(医学版),2022,19(4):81-84.
- [19]魏丽,刘博,赵楠.CEA、AFP、CA125、CA199 联合检测对结肠癌的早期诊断价值分析[J].实用癌症杂志,2022,37(8):1335-1338.
- [20]余道武,余天雾,苟毅,等.血 AFP/CEA 与 HCY 联合检测在诊断原发性肝细胞癌中的应用 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022,14(4):552-555.
- [21]陈家豪,叶彩玲,孙恒昌,等.血清 AFP 和 AFP-L3 及 PIV-KA-II 在肝细胞癌诊断中的应用价值 [J]. 热带医学杂志, 2022,22(5):677-680.
- [22]杨寿林,吴路发,李勇.罗氏 CobasE601 全自动电化学发光免疫分析仪检测癌胚抗原(CEA)的临床分析[J].现代诊断与治疗,2021,32(17):2769-2770.

收稿日期:2023-04-02;修回日期:2023-04-26

编辑/肖婷婷