

不同检测系统测定结直肠癌肿瘤标志物 CA242 结果的一致性分析

雷燕^{1,2,3}, 胡帅¹, 王黎¹, 卢小岚^{1,2,3}

(1. 川北医学院附属医院检验科; 川北医学院, 2. 医学检验系; 3. 转化医学研究中心, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 评价全自动化学发光免疫分析系统天津博奥赛斯 (Bioscience) 与深圳新产业 (Snibe) 测定肿瘤标志物 CA242 结果的一致性, 为国产检验仪器及配套试剂的肿瘤标志物的临床应用提供参考依据。**方法:** 以 Snibe 检测系统为参考检测系统、Bioscience 检测系统为比较检测系统, 分别评价两种检测系统测定 CA242 的精密度和准确度。选取 61 例结直肠癌患者及 106 名健康成人的资料为研究对象, 分别采用 Bioscience 和 Snibe 检测系统对血清 CA242 含量水平进行检测, 并对结果进行一致性分析。**结果:** 两个检测系统检测 CA242 批内不精密度 (CV_r) 和总不精密度 (CV_I) 变异系数 (CV) 均 < 10%, 正确度评价试验显示校准品测定值与靶值的偏倚均 < 5%, 回收试验显示回收率均在 95% ~ 105%, 精密度和准确度均满足临床方法学性能要求。两种检测系统检测在健康人群组中血清 CA242 结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 在结直肠癌组中 CA242 结果比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。差值比较分析显示两个系统间 CA242 差值具有混合变化的特征, 故采用 Passing-Bablok 方程对两种检测系统血清 CA242 结果进行分析, 回归方程 $Y = 0.0706 + 1.018X$, 两种检测系统测定血清 CA242 结果存在良好的关系 ($r = 0.981, 95\% CI: 0.974 \sim 0.986, P < 0.05$)。Bland-Altman 图显示两个检测系统的 CA242 结果具有良好的一致性, 相差幅度临床可以接受。**结论:** 国产检测系统 Bioscience 与 Snibe 系统测定 CA242 精密度、准确度均满足临床方法学检测性能要求, 且两个检测系统检测 CA242 结果具有较高的相关性和一致性。

【关键词】 结直肠癌; CA242; 肿瘤标志物; 化学发光法

【中图分类号】 R735.3; R446.61 **【文献标志码】** A

Consistency of tumor marker CA242 results from different detection systems

LEI Yan^{1,2,3}, HU Shuai¹, WANG Li¹, LU Xiao-lan^{1,2,3}

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College; 2. Department of Laboratory Medicine; 3. Translational Medicine Research Center, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To study the consistency of the results of tumor marker CA242 determined by the automatic chemiluminescence immunoassay system Tianjin Bioscience and Shenzhen Snibe, and provide a basis for the clinical application of domestic detection systems for tumor markers. **Methods:** The Snibe detection system was used as a reference system and the Bioscience detection system was used as a comparison system. The imprecision and accuracy of CA242 determined by two detection systems were evaluated. Serum levels of CA242 in 61 colorectal cancer patients and 106 healthy people were collected. Bioscience and Snibe detection systems were used to detect serum CA242 levels, and the results were analyzed for consistency. **Results:** The variation coefficients (CV) of CV_r and CV_I of CA242 detected by the two detection systems were both less than 10%. The accuracy evaluation test showed the bias of the calibrator between the measured value and the target value was less than 5%. The recovery test showed that the recovery rates were between 95% ~ 105%, and the precision and accuracy met the performance requirements of clinical methodology. There was no significant difference between the results of serum CA242 detected by the two detection systems in the healthy population group ($P > 0.05$). There was no significant difference in the results of CA242 in colorectal cancer group ($P > 0.05$). The comparison of CA242 differences between two detection systems showed that the differences between the two detection systems had the characteristic of mixed change. The Passing-Bablok equation was used to analyze the results of CA242 detected by the two detection systems. The regression equation was $Y = 0.0706 + 1.018X$. There was a good correlation between the results of the two detection systems ($r = 0.981, 95\% CI: 0.974 \sim 0.986, P < 0.05$). Bland-Altman diagram showed the CA242 results of the two detection systems were in good agreement and the differences

基金项目: 四川省南充市市校科技战略合作项目 (19SXHZ0198、19SXHZ0274); 四川省医学会科研课题 (Q19041)

作者简介: 雷燕 (1981 -), 女, 硕士, 讲师。E-mail: leiyan6@126.com

通讯作者: 卢小岚。E-mail: lucia121@163.com

were clinically acceptable. **Conclusion:** In this study, the precision and accuracy of the detection of tumor marker CA242 by Bioscience and Snibe systems both meet the requirements, and the results of CA242 by the two detection systems has a good correlation and consistency.

【Key words】 Colorectal cancer; Carbohydrate antigen 242; Tumor marker; Chemiluminescence immunoassay

随着现代生活水平的提高和生活方式的改变, 2019 年国际研究^[1-2]结果显示, 1990 年至 2017 年, 全球胰腺癌和结直肠癌的发病率分别增加了 12% 和 10%, 胰腺癌死亡率均增加了 10%。结直肠癌成为导致癌症死亡的全球第二大主要原因, 仅次于肺癌。早期增加肿瘤标志物的筛查干预措施可在一定程度上减少对结直肠癌、胰腺癌等消化道肿瘤的误诊和延迟治疗。

糖类抗原 242 (carbohydrate antigen 242, CA242) 由人结直肠癌细胞 COL0205 免疫小鼠与小鼠骨髓瘤细胞系 Sp2/0 融合获得, 是一种唾液酸化的糖脂类抗原, 可作为新型糖类肿瘤标志物^[1-2]; 在正常人的胆管细胞、胰管细胞中含少量 CA242; 而在胰腺癌、结直肠癌、胃癌、肝癌和胆管细胞癌等恶性肿瘤中呈高表达, 可用于此类肿瘤的诊断和病情监测^[3-7]。因此采用灵敏和可靠的检测技术检测 CA242, 将为早期发现和预防消化道恶性肿瘤提供新思路。

目前临床检测 CA242 的方法主要有酶联免疫吸附法、化学发光免疫分析 (chemiluminescence immunoassay, CLIA)、蛋白芯片法及流式荧光免疫分析等^[8-10]。相比其他方法, CLIA 法具有准确性好、敏感度高、稳定性高、检测快速且易于自动化等优点, 逐渐成为 CA242 的主要检测方法。但是不同厂家、不同试剂盒测定有差异, 导致血清 CA242 测定结果仍有较大差异。为积极响应国家对国产仪器的研发、转化与应用, 探讨不同国产检测系统之间 CA242 的检测结果的差异和一致性具有一定的前瞻性。本研究以深圳新产业 (Snibe) 的检测系统为参考检测系统、天津博奥赛斯 (Bioscience) 检测系统为检测系统, 对两种检测系统测定血清 CA242 结果的一致性进行评估。

1 资料与方法

1.1 一般资料

根据 2017. V1 版《NCCN 结直肠癌诊治指南》中规定的诊断标准^[11], 选取 2019 年 6 月至 2019 年 12 月川北医学院附属医院收治并诊断为结直肠癌的 61 例患者作为结直肠癌人群组。所有患者中, 男性 54 例, 女性 48 例; 年龄 (53.9 ± 11.2) 岁; 结肠癌 22 例, 直肠癌 39 例。所有患者均排除有严重的脏器 (心、肺、肝、肾等) 功能不全者、严重的感染性疾

病者、以及合并其它严重肿瘤者等。选取同期 106 名进行健康体检的健康人群作为健康人群组, 其中男性 55 例, 女性 51 例; 年龄 (52.5 ± 10.7) 岁。所有研究对象均经体格检查、实验室检查排除肿瘤等其他疾病。两组研究对象一般资料比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 试剂与仪器

深圳新产业生物医学公司 (Snibe) MAGLUMI 2000 全自动化学发光检测系统及 CA242 配套检测试剂为参考比对检测系统, 试剂盒批号为 (LOT: 06121011)。采用天津博奥赛斯生物科技有限公司 (Bioscience) 的 Axceed 260 全自动化学发光检测系统及其配套 CA242 检测试剂为待比检测系统, 试剂盒批号为 (LOT: G201910013)。采用天津 Bioscience 公司质控品 (LOT: G19091105), 低、高质控标示值分别为 20 U/mL、100 U/mL。

1.3 方法

1.3.1 精密度评价 参考美国临床实验室标准化委员会 (National committee for clinical laboratory, NCCLS) EP15-A2 文件^[12]的要求进行, 分别采用低、高浓度样本分别在 Bioscience 系统和 Snibe 系统上进行 CA242 的测定。每天 1 个批次, 每 1 批次对各浓度样本分别重复测量 3 次, 连续进行 5 d, 然后计算均值、标准差 (standard deviation, SD) 和变异系数 (coefficient of variation, CV), 评价批内不精密度 (CV_r) 和总不精密度 (CV_I) 与厂家声明的 CV 的差异。

1.3.2 正确度评价 参考 NCCLSEP15-A2 文件^[12]和国内毕波等研究^[13]的方案要求进行, 复测不同批号校准品, 重复测定 3 次计算平均值, 将实测值均值与靶值进行比较, 计算相对偏差, 根据当前技术水平, 以厂家声明允许偏差 (10%) 的 1/2 为可接受标准。

1.3.3 回收试验 参考既往报道^[13]的方案要求进行, 180 μL 临床血清样本中加入 20 μL 生理盐水制备成基础样品, 180 μL 临床血清样本中加入 20 μL 的 100 U/mL 的校准品制备成回收样品, 分别用两个检测系统测定 CA242, 重复测定取均值, 并计算回收浓度、加入浓度和回收率, 回收率 = 回收浓度 / 加入浓度 × 100%。

1.3.4 临床样本血清 CA242 的检测 抽取空腹静脉血 3.0 ~ 5.0 mL, 置于 37 °C 恒温孵育至血液凝集

完全,3 800 r/min 离心 10 min 后分离血清, -80 ℃ 冰箱保存,检测前进行复温。采用 Bioscience 检测系统和 Snibe 检测系统同时对临床样本血清中 CA242 浓度水平进行检测;检测前按照仪器的标准作业程序(standard operating procedure,SOP)操作规程进行每日维护,然后做室内质量控制,合格后再进行样本检测,并记录检测的实验数据。

1.3.5 两个检测系统结果的一致性分析 分析 Snibe 系统和 Bioscience 检测系统间的差值变化情况,绘制数值偏差图、百分比偏差图和百分比差值频数分布图,观察两种检测系统之间结果差异分布情况。根据两个检测系统差值图的潜在特征,选择最佳的回归模型对两个检测系统的结果进行拟合分析,计算斜率、截距及 95% CI,并采用 Bland-Altman 图分析平均绝对偏差与相对偏差。

1.4 统计学分析

采用 SPSS18.0 软件和 MedCalc 软件进行统计分析。计量资料分布采用 K-S 检验;配对资料比较采用配对样本 *t* 检验或 Wilcoxon 符号秩检验。偏移和回归分析选择最适回归模型分析;正态分布数据采用 Pearson 相关分析,非正态分布数据采用 Spearman 相关分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 精密度评价结果

Snibe 检测系统测定批内不精密度 (CV_r = 2.87%, 3.41%)、总不精密度 (CV_I = 4.64%, 5.92%) 均符合该检测系统的 CA242 试剂说明书 CV < 10% 的标准;Bioscience 检测系统测定批内不精密度 (CV_r = 3.82%, 3.21%)、总不精密度 (CV_I = 4.88%, 5.70%) 也均符合该检测系统的 CA242 试剂说明书 CV < 10% 的标准。见表 1。

表 1 两个检测系统测定 CA242 精密度评价结果

值域	检测系统	均值 (IU/mL)	批内不精密度		总不精密度	
			SD (U/mL)	CV _r (%)	SD (U/mL)	CV _r (%)
低值	Snibe	22.5	0.66	2.87	1.07	4.64
	Bioscience	22.16	0.88	3.82	1.13	4.88
高值	Snibe	155.3	5.34	3.41	9.26	5.92
	Bioscience	157.01	5.03	3.21	8.93	5.70

2.2 正确度评价结果

正确度评价结果显示 Snibe 检测系统和 Bioscience 检测系统测定 CA242,不同水平校准品检测均值与标示值的偏差分别为 -2.00% ~ 2.61% 和 -2.00% ~ 2.33%,均低于可接受允许误差标准 (5%),即以厂家声明允许偏差 (10%) 的 1/2 为可

接受标准。见表 2。

表 2 两个检测系统测定 CA242 正确度评价结果

检测系统	校准品	标示值 (U/mL)	测定均值 (U/mL)	偏差 (%)	允许偏差 (%)
Snibe	CAL1	50.00	51.33	2.61	5.00
	CAL2	100.00	98.00	-2.00	5.00
Bioscience	CAL1	50.00	49.00	-2.00	5.00
	CAL2	100.00	102.3	2.33	5.00

2.3 回收试验结果

Snibe 检测系统回收率为 97.0% ~ 104.0%, Bioscience 检测系统回收率为 96.0% ~ 103.0%,各系统回收率为 95.0% ~ 105.0%,满足回收试验的性能要求。见表 3。

表 3 两个检测系统测定 CA242 回收试验结果

检测系统	回收样品	加入浓度 (U/mL)	回收浓度 (U/mL)	回收率 (%)
Snibe	低	5.00	5.20	104.0
	高	10.00	9.70	97.0
Bioscience	低	5.00	4.80	96.0
	高	10.00	10.30	103.0

2.4 临床样本血清 CA242 结果的比较

两种检测系统分别对健康人群组 (*n* = 106)、结直肠癌人群组 (*n* = 61) 血清 CA242 水平进行检测。健康组血清 CA242 水平呈正态分布,而结直肠癌组血清 CA242 水平呈偏态分布。健康组中两种检测系统检测 CA242 的结果比较,差异无统计学意义 (*P* = 0.056, *P* > 0.05),结直肠癌组中两种检测系统检测 CA242 的结果比较,差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。见图 1。

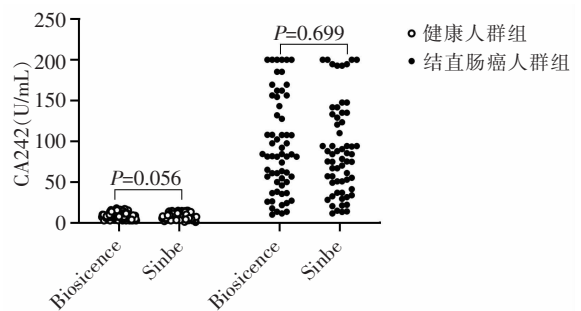


图 1 正常人群和结直肠癌人群中两种检测系统检测血清 CA242 结果的比较

2.5 两种检测系统测定血清 CA242 结果的一致性评价

2.5.1 两种检测系统测定 CA242 差值比较分析 数值偏差图以参照系统 Snibe 系统测定的 CA242 结果为 X 轴,以 Bioscience 系统和 Snibe 系统 CA242 结果的差值 (U/mL) 为 Y 轴。百分比偏差图以参照

系统 Snibe 系统测定的 CA242 结果为 X 轴,以两种检测系统结果百分比差值(%)为 Y 轴。数值偏差图和百分比偏差图显示两种系统间 CA242 差值在低浓度差值变化较大,在高浓度时差值变化较为恒定,差值具有混合变化的特征。百分比差值频数分布图以两种检测系统结果百分比差值(%)为 X 轴,百分比差值出现的频数(%)为 Y 轴,结果显示两种方法间的百分比差值呈非正态分布。见图 2 及图 3。

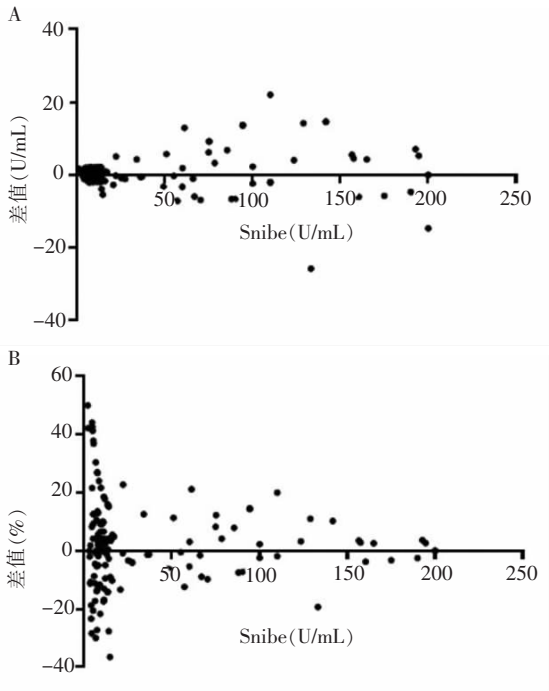


图 2 两种检测系统测定 CA242 差值散点图

A. 数值偏差图;B. 百分比偏差图。

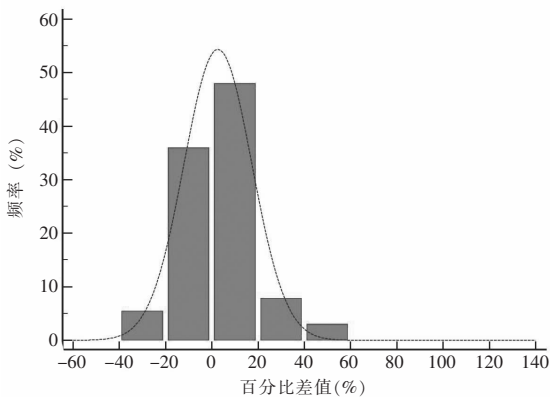


图 3 两种检测系统 CA242 百分比差值频数分布图

2.5.2 两种检测系统测定 CA242 结果一致性分析

根据差值数据变化特征,选择采用 Passing-Bablok 模型进行拟合分析两个检测系统间 CA242 结果的相关性。以 Snibe 检测系统测定的血清 CA242 结果作为 X 轴,以 Bioscience 检测系统测定的血清 CA242 结果作为 Y 轴,绘制 Passing-Bablok 回归分析图。回归方程为: $Y = 0.0706 + 1.018X$,斜率为

1.018,95% CI: 0.996 ~ 1.030,截距为 0.0706,95% CI: -0.151 ~ 0.299,Bioscience 与 Snibe 检测系统测定的血清 CA242 结果存在良好的关系($r = 0.981,95\% \text{ CI}: 0.974 \sim 0.986, P < 0.05$)。以两个检测系统测定的 CA242 均值为 X 轴,两个检测系统差值结果作为 Y 轴,绘制 Bland-Altman 散点图,评价两个检测系统间 CA242 结果的一致性。两个检测系统的平均差值为 0.6 U/mL(95% CI: 0.156 ~ 1.308),95% 的一致性界限范围为 -8.8 ~ 10.0 U/mL,其中 4.19% (7/167) 点在一致性界限外,其它 95.81% 的点均分布在平均差值水平线上下及一致性界限内。在一致性界限范围内,最大差值为 9.23 IU/mL,相差幅度在临床上可接受范围内。两种检测系统测量 CA242 结果具有很好的相关性和一致性。见图 4 及图 5。

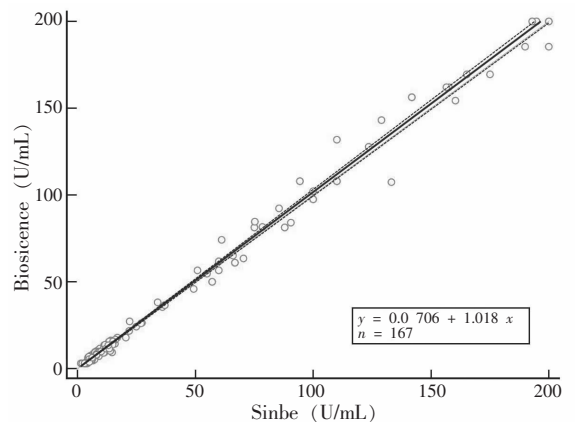


图 4 两种检测系统 CA242 相关性分析 Passing-Bablok 回归分析

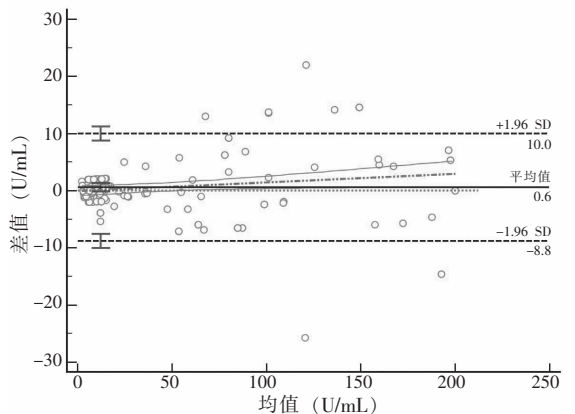


图 5 两种检测系统 CA242 一致性分析 Bland-Altman 图

3 讨论

肿瘤标志物是由肿瘤细胞或细胞膜表面产生,或由机体对肿瘤产生免疫反应而生成,分泌或脱落 to 人体液或组织中的物质,其在肿瘤的早期筛查、辅助诊断、疗效检测、预后判断及治疗指导过程中都有着举足轻重的地位。CA242 是一种唾液酸化的

糖链抗原,能被人结肠癌细胞株 Colo205 经杂交瘤技术获得的单克隆抗体识别^[3-4];常见于结直肠癌、胰腺癌诊断及疗效监测^[6-7]。CA242 在胰腺癌中的诊断价值与 CA19-9 相似^[14-15],但其表达不受 Lewis 抗原和胆汁分泌的影响,较 CA19-9 具有更高的特异性和敏感性。Nilsson 等^[16]认为,CA242 和 CEA 联合检测对诊断结直肠癌的敏感性更高;并且 CA242 随着临床病期的进展而呈现浓度显著增高趋势,提示结直肠癌的分期、淋巴结转移、肿瘤侵犯深度及预后。此外,CA242 对胃癌、肺部恶性肿瘤等其他恶性肿瘤都有一定的诊断及鉴别诊断价值^[17-18]。

CLIA 法是一种将特异性高的抗原抗体反应与灵敏度极高的化学发光技术相结合的测定方法,相比与其他方法,CLIA 法具有准确性好、敏感度高、稳定性高、检测快速且易于自动化等优点。但是包括 CLIA 法在内的免疫检测技术平台由于长期被进口品牌霸占,并且 CLIA 检测技术由于技术壁垒相对较高,国产试剂发展相对较晚,目前大多数检测试剂被进口品牌占据^[19]。但是随着国内检验技术行业的发展,CLIA 检测领域肿瘤标志物等主流项目国产品牌的占比不断提升。为积极响应国家对国产仪器的研发、转化与应用,探讨不同国产检测系统之间 CA242 的检测结果的差异和一致性。本研究以川北医学院常用的深圳新产业(Snibe)的检测系统为参考检测系统,天津博奥赛斯(Bioscience)检测系统为比较检测系统,对化学发光免疫分析法测定血清 CA242 结果的一致性进行评估,为国产检测仪器及配套试剂的临床应用提供依据。本研究中选择深圳新产业(Snibe)检测系统为参考检测系统,主要是因为川北医学院以该系统检测 CA242 的室间质评结果参加了国家卫生健康委临床检验中心(NCCL)的能力验证,验证结果均为满意,且该系统目前为国内市场占有率较高的肿瘤标志物检测系统。

本研究在对 Snibe 和 Bioscience 检测系统结果进行一致性评价前,根据自身条件对两个仪器检测系统分别进行了基本的方法学性能验证,主要包括检测系统精密度和正确度的性能评价指标。试验结果显示两个检测系统测定 CA242 的精密度和正确度性能指标均小于厂家声明的误差标准,回收率均 < 5%,两个检测系统均能满足实验室方法性能指标要求。然后分别采用 Bioscience 检测系统和 Snibe 检测系统对健康对照组和结直肠癌组患者血清 CA242 进行测定,在两组对象中两个检测系统的 CA242 测定结果比较,差异无统计学意义($P >$

0.05)。为了评估比较 Snibe 系统和 Bioscience 检测系统间的差值变化情况和结果的一致性,通过绘制数值偏差图、百分比偏差图和百分比差值频数分布图,观察两种检测系统之间结果差异分布情况。两个检测系统差值具有混合变化的特征,同时两种方法间的百分比差值呈非正态分布,所以选择最佳的回归模型 Passing-Bablok 模型进行拟合分析,并采用 Bland-Altman 图分析判断两个检测系统间结果的差异和一致性分析。Passing-Bablok 模型拟合分析显示两个检测系统测定的血清 CA242 结果存在显著的线性相关($r = 0.981, P < 0.05$)。Bland-Altman 图分析对两个检测系统 CA242 的结果进行一致性分析,95.81% 的点均分布在平均差值水平线上下及一致性界限内,说明两个检测系统结果具有较高的一致性,两者在临床应用中可以相互替代,能够为临床提供可靠准确的检验结果。但本研究也存在一定的局限性,由于实验条件限制,未能同时与进口设备及试剂进行比较。此外,部分检测高浓度检测样本数较少,可能会导致分析结果有所偏差,存在的问题有待后面进一步研究解决。

目前肿瘤物标志物检测由于不同厂家、不同试剂盒存在,检验结果可能存在差异。实验室人员在使用相关检测系统之前,应做好检测系统性能验证和标本比对,以避免不同检测系统带来的检验结果不一致对临床诊断、治疗的影响。为了积极响应国家对国产医学检验仪器的研发、转化与应用,对国产仪器进行临床应用性能的验证和评价工作,对于促进及帮助国内生产企业提升产品性能,促进国产仪器品牌影响力、用户认可度和市场销量有重要作用。

综上,天津 Bioscience 检测系统和深圳 Snibe 检测系统测定 CA242 精密度、准确度均满足临床方法学检测性能要求,且两个检测系统检测 CA242 结果具有较高的相关性和一致性。

参考文献

- [1] Spink Health. Colorectal and pancreatic cancer rates up 10% in last 30 years, major study reveals [EB/OL]. (2019-10-23) [2022-04-05]. <https://medicalxpress.com/news/2019-10-color-rectal-pancreatic-cancer-years-major.html>
- [2] GBD 2017 Pancreatic Cancer Collaborators. The global, regional, and national burden of pancreatic cancer and its attributable risk factors in 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 4(12): 934 - 947.

(下转第 18 页)