

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.06.017

电化学发光免疫分析法检测血清雌二醇的性能验证

张伟娟¹, 江雅平^{2△}, 陈永传¹, 任飒爽¹

1. 北京善方医院检验科, 北京 100027; 2. 北京大学第一医院检验科, 北京 100034

摘要:目的 评估电化学发光免疫分析法(ECLIA)检测血清雌二醇(E₂)的性能。方法 应用相关标准评价 ECLIA 检测 E₂ 的正确度、精密度、分析测量范围、临床可报告范围、功能灵敏度及生物参考区间。结果 5 个批号质控品实测值与靶值的相对偏移均在可接受范围内(≤±25%), 正确度验证通过。低水平质控品批内和批间变异系数(CV)分别为 1.40% 和 1.80%, 高水平质控品批内和批间 CV 分别为 0.80% 和 0.86%, 符合国家临床检验中心室间质量评价标准及基于生物学变异设定的质量规范, 精密度验证通过。E₂ 检测结果在 17.8~11 992.0 pmol/L 范围内呈线性, 证明厂家提供的分析测量范围(18.4~11 010.0 pmol/L)符合要求。临床可报告范围上限为 110 100.0 pmol/L, 最大稀释倍数为 10 倍, 功能灵敏度为 43.5 pmol/L, 符合验证要求。生物参考区间符合可接受标准。结论 ECLIA 检测血清 E₂ 的各项性能基本满足实验室要求, 可为临床提供可靠的检测结果。

关键词: 雌二醇; 电化学发光免疫分析法; 性能验证

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)06-0785-04

Performance verification of electrochemiluminescence immunoassay for detecting serum estradiol

ZHANG Weijuan¹, JIANG Yaping^{2△}, CHEN Yongchuan¹, REN Sashuang¹

1. Department of Clinical Laboratory, Sanfine International Hospital, Beijing 100027, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Abstract: Objective To evaluate the performance of electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) for detecting serum estradiol (E₂). **Methods** The accuracy, precision, analytical measurement range, clinical reportable range, functional sensitivity and biological reference interval of ECLIA were evaluated by relevant standards. **Results** The relative deviation between the measured value and the target value of 5 batches of quality control products was within the acceptable range (≤±25%), and the accuracy was verified. The coefficient of variation (CV) within and between batches of low-level quality control products were 1.40% and 1.80% respectively, and that of high-level quality control products were 0.80% and 0.86% respectively, which met the quality evaluation standard of national clinical laboratory center and the quality specification based on biological variation, precision verification passed. The linear range of E₂ was 17.8—11 992.0 pmol/L, which proved that the analytical measurement range (18.4—11 010.0 pmol/L) provided by the manufacturer met the requirements. The upper limit of clinical reportable range was 110 100.0 pmol/L, the maximum dilution multiple was 10 times, and the functional sensitivity was 43.5 pmol/L, which met the validation requirements. The biological reference interval met the acceptable standard. **Conclusion** The performance of ECLIA in the detection of serum E₂ basically meets the laboratory requirements, and can provide reliable detection results for clinical.

Key words: estradiol; electrochemiluminescence immunoassay; performance verification

雌二醇(E₂)是一种甾体雌激素, 主要由卵巢产生, 睾丸和肾上腺皮质也可产生少量 E₂。在妊娠期, 雌激素主要产生部位为胎盘, 胎盘生成的 E₂ 可在胎儿体内转化为雌三醇。E₂ 可参与女性的整个生殖过程, 其中 17β-雌二醇(17β-E₂)的生物活性最强。E₂ 在月经周期中可对下丘脑和垂体起到双向调节作用, 不仅影响卵泡的募集和优势卵泡的排出, 还影响卵母细

胞着床。E₂ 还可作为一种治疗剂, 对女性卵巢 17β-E₂ 分泌不足进行补充。因此, 准确检测 E₂ 在下丘脑-垂体-性腺轴功能紊乱性疾病、卵巢或睾丸肿瘤、肾上腺皮质增生症、不孕不育和辅助生殖中均有着非常重要的临床意义^[1-2]。本研究对电化学发光免疫分析法(ECLIA)检测 E₂ 的正确度、精密度、分析测量范围、临床可报告范围、功能灵敏度、生物参考区间进行

作者简介: 张伟娟, 女, 主管技师, 主要从事临床免疫学检验研究。△ 通信作者, E-mail: zjwjljyp.love@163.com。

本文引用格式: 张伟娟, 江雅平, 陈永传, 等. 电化学发光免疫分析法检测血清雌二醇的性能验证[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(6): 785-788.

了评价,以明确其是否满足实验室用途和临床需求。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取北京善方医院 2019 年 9 月 20 日—12 月 20 日采集的健康男性、卵泡期女性、排卵期女性、黄体期女性、绝经后女性血液标本各 60 份作为研究对象。

1.2 仪器与试剂 罗氏 Cobas 6000 e601 全自动电化学发光免疫分析仪、配套的 E_2 检测试剂(批号 39402903)、配套校准品(批号 36605901)、配套质控品(批号 33009700、33009900),以及 2019 年国家临床检验中心发放的第二次室间质量评价质控品(批号 201921~201925)。

1.3 方法

1.3.1 正确度验证 参考美国临床和实验室标准协会(CLSI) EP15-A2 文件^[3]、《临床实验室管理学》^[4]及文献^[5],采用 2019 年国家临床检验中心发放的第二次室间质量评价质控品(批号 201921~201925)进行正确度验证,每个批号检测 3 次,计算平均值,将实测值与靶值进行比较,计算相对偏移,相对偏移 $\leq \pm 25\%$ 为可接受标准。

1.3.2 精密度验证 参考美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP5-A2 文件^[6],采用两个水平的质控品进行精密度验证。每天对两个水平质控品检测两批,每批重复检测两次,每批检测间隔时间 > 2 h,共检测 20 d,得到 80 个可接受数据。计算批内和批间变异系数(CV)、均值、标准差,当符合国家临床检验中心室间质量评价标准,即批内 CV $< 1/4$ 允许总误差(6.25%),批间 CV $< 1/3$ 允许总误差(8.33%),以及基于生物学变异设定的质量规范(批内及批间 CV $< 11.4\%$)时,通过验证。同时比较本研究得出的批内及批间 CV 与厂家声明的批内和批间 CV 间的差异。

1.3.3 分析测量范围验证 参考 NCCLS EP6-A 文件^[7]和文献^[8],选取新鲜高水平标本(H)和低水平标本(L)各 1 份,按如下比例配制成 7 份不同水平的待测标本:6H+0L、5H+1L、4H+2L、3H+3L、2H+4L、1H+5L、0H+6L。在 2 h 内对每份标本检测 4 次,求其均值,以实测值作为纵坐标,预期值作为横坐标,进行线性回归分析,排除非线性数据点,得出最佳拟合方程。

1.3.4 临床可报告范围验证 选择 E_2 水平在分析测量范围内的 3 份高水平标本 S1、S2、S3,所对应的 E_2 水平分别为 10 371.0、9 220.0、5 945.0 pmol/L,用 E_2 原装稀释液分别将上述标本稀释 2、5、10 倍,并进行检测,将实测值和预期值进行比较,计算相对偏差,以相对偏差 $< 1/3$ 美国临床实验室改进修正法案(CLIA)'88 允许总误差为可接受标准。选取 E_2 水平在分析测量范围外的标本 S4(E_2 水平为 11 568.0 pmol/L),用 E_2 原装稀释液进行 2、5、10 倍稀释,并进

行检测,将实测值与预期值进行比较,计算相对偏差,以相对偏差 $< 1/3$ CLIA'88 允许总误差为可接受标准。临床可报告范围上限=可接受的最大稀释倍数 \times 分析测量范围上限。

1.3.5 功能灵敏度验证 依据 NCCLS EP17-A 文件^[9],选择水平略高于检测下限的标本 5 份(A1、A2、A3、A3、A5),每份标本每天检测 1 次,连续检测 10 d,计算均值、标准差和 CV。选取 CV 最接近 20% 的标本的平均水平作为功能灵敏度。

1.3.6 生物参考区间验证 参考 CLSI C28-A3c 文件^[10]和 WS/T 402-2012^[11],将健康男性、卵泡期女性、排卵期女性、黄体期女性、绝经后女性的血液标本各 60 份用于生物参考区间验证,检测其血清 E_2 水平,并与厂家给定的参考区间比较,以 ≤ 2 例的检测结果在给定的参考区间外作为可接受标准。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用简单线性回归进行回归分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正确度验证 5 个批号质控品实测值与靶值的相对偏移均在可接受范围内($\leq \pm 25\%$),验证通过。见表 1。

表 1 正确度验证结果

质控品批号	实测值 (pmol/L)	靶值 (pmol/L)	相对偏移 (%)	评价结果
201921	1 356.0	1 333.0	1.73	通过
201922	2 117.0	2 164.0	-2.17	通过
201923	594.0	551.0	7.80	通过
201924	102.0	121.0	-15.70	通过
201925	58.0	69.0	-15.90	通过

2.2 精密度验证 低水平质控品批内和批间 CV 分别为 1.40% 和 1.80%,高水平质控品批内和批间 CV 分别为 0.80% 和 0.86%,符合国家临床检验中心室间质量评价标准[批内 CV $< 1/4$ 允许总误差(6.25%),批间 CV $< 1/3$ 允许总误差(8.33%)]及基于生物学变异设定的质量规范(批内及批间 CV $< 11.4\%$)。将本研究得出的批内和批间 CV 结果与厂家声明的批内和批间 CV(低水平质控品批内和批间 CV 分别为 2.40% 和 3.80%,高水平质控品批内和批间 CV 分别为 1.20% 和 2.10%)比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),验证通过。见表 2。

2.3 分析测量范围验证 实测值与预期值的线性回归方程为 $Y = 1.018 2X + 19.5$, $R^2 = 0.999 8$, E_2 检测结果在 17.8~11 992.0 pmol/L 范围内呈线性,证明厂家提供的分析测量范围(18.4~11 010.0 pmol/L)符合要求。见图 1。

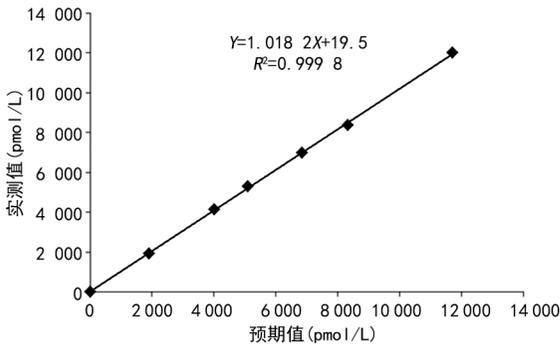


图 1 E₂ 预期值与实测值的线性回归图

2.4 临床可报告范围验证 E₂ 在分析测量范围内稀

释 2 倍和 5 倍时相对偏差均 < 1/3 CLIA'88 允许总误差, 可接受; 而稀释 10 倍后相对偏差 > 1/3 CLIA'88 允许总误差, 不可接受, 因此高水平标本稀释后的检测值必须 > 881.0 pmol/L (厂家声明的稀释后最低检测值)。E₂ 在分析测量范围外时, 当稀释倍数为 2、5、10 倍时相对偏差均 < 1/3 CLIA'88 允许总误差, 因此可接受最大稀释倍数为 10 倍, 与厂家声明的最大稀释倍数一致, 临床可报告范围上限 = 可接受的最大稀释倍数 × 分析测量范围上限 = 10 × 11 010.0 pmol/L = 110 100.0 pmol/L。见表 3。

表 2 精密度验证结果

质控品	批内精密度			批间精密度		
	均值 (pmol/L)	标准差 (pmol/L)	CV (%)	均值 (pmol/L)	标准差 (pmol/L)	CV (%)
低水平	289.30	4.05	1.40	356.50	6.42	1.80
高水平	1 862.50	14.90	0.80	1 856.00	15.91	0.86

表 3 临床可报告范围验证结果

标本	原水平 (pmol/L)	稀释倍数	实测值 (pmol/L)	预期值 (pmol/L)	相对偏差 (%)
S1	10 371.0	2	5 337.0	5 185.5	2.92
		5	2 188.0	2 074.2	5.49
		10	892.7	1 037.1	-13.92
S2	9 220.0	2	4 731.0	4 610.0	2.62
		5	1 959.0	1 844.0	6.24
		10	785.0	922.0	-14.86
S3	5 945.0	2	3 077.0	2 972.5	3.52
		5	1 104.0	1 189.0	-7.15
		10	451.7	594.5	-24.02
S4	11 568.0	2	5 908.0	5 784.0	2.14
		5	2 228.0	2 313.6	-3.70
		10	1 244.0	1 156.8	7.53

2.5 功能灵敏度验证 5 份标本的 CV 如表 4 所示, CV 最接近 20% 的标本水平为 43.5 pmol/L, 与厂家声明的功能灵敏度一致。

2.6 生物参考区间验证 卵泡期女性有 2 例检测结果超出参考区间, 排卵期女性有 2 例检测结果超出参考区间, 黄体期女性有 1 例检测结果超出参考区间, 健康男性、绝经后女性检测结果均在参考区间范围内, 结果均符合可接受标准。见表 5。

表 4 功能灵敏度验证结果

标本	均值 (pmol/L)	标准差 (pmol/L)	CV (%)
A1	43.5	3.3	7.59
A2	59.7	4.0	6.70
A3	75.3	4.1	5.44
A4	88.1	4.2	4.77
A5	90.8	4.3	4.74

表 5 生物参考区间验证结果

标本来源	n	均值 (pmol/L)	标准差 (pmol/L)	检测结果范围 (pmol/L)	参考区间 (pmol/L)	不符合 (n)	不符合率 (%)
卵泡期女性	60	483.8	216.0	51.8~915.8	69.4~905.4	2	3.3
排卵期女性	60	1 104.6	495.0	114.6~2 094.6	130.3~2 094.8	2	3.3
黄体期女性	60	496.3	218.0	60.3~932.3	82.2~939.5	1	1.7
绝经后女性	60	74.2	36.0	2.2~146.2	0.0~163.3	0	0.0
健康男性	60	96.5	24.0	48.5~144.5	42.6~151.2	0	0.0

3 讨论

E₂ 在人体血液中水平较低, 但却起着非常重要的作用, 尤其是在内分泌调节方面, 许多内分泌相关疾病均与其有关, 因此, E₂ 的准确检测就显得尤为重要^[12]。根据《临床实验室改进法规修正案》和 ISO15189 要求, 必须在仪器运用于临床实验室前对

仪器进行分析性能验证^[13]。

本研究评价的 E₂ 检测系统正确度验证采用的是 2019 年国家临床检验中心发放的第二次室间质量评价质控品, 其靶值是根据 728 个实验室的 E₂ 平均值计算而来, 本研究 5 个批号的质控品实测值与靶值的相对偏移均在可接受范围内 (≤ ± 25%), 正确度验证

通过。检测系统的精密度用于反映重复检测值间的一致性,本研究参考 NCCLS EP5-A2 文件,采用两个水平的质控品进行精密度验证,结果符合国家临床检验中心室内质量评价标准及基于生物学变异设定的质量规范。分析测量范围验证是从统计学和临床要求两个方面判定线性,对数据进行回归分析,得到最佳拟合方程^[14]。本研究中,在 17.8~11 992.0 pmol/L 范围内 E₂ 检测结果呈线性,证明厂家提供的分析测量范围(18.4~11 010.0 pmol/L)符合要求。临床可报告范围上限为 110 100.0 pmol/L,最大稀释倍数为 10 倍,当检测标本的水平超过临床可报告范围上限时需稀释后再进行检测,最大稀释倍数不能超过 10 倍,否则结果不可靠;高水平标本稀释后的检测值必须>881.0 pmol/L(厂家声明的稀释后最低检测值),如果稀释后的检测值<881.0 pmol/L 应把稀释倍数缩小,以保证稀释后的检测准确性。功能灵敏度是在低水平标本的基础上,用于区分“从有到无”的分析能力,本研究选择水平略高于 E₂ 检测下限的 5 份标本进行功能灵敏度验证,结果显示,CV 最接近 20%的标本水平为 43.5 pmol/L,符合厂家声明的功能灵敏度标准^[15]。生物参考区间是指项目检测结果在健康人群中的分布范围,是标本检测结果正常与否的参考依据。本研究随机选取健康男性、卵泡期女性、排卵期女性、黄体期女性、绝经后女性的血液标本各 60 份进行生物参考区间验证,与厂家给定的参考值比较,结果均通过验证,证实该生物参考区间可应用于临床。

综上所述,ECLIA 检测血清 E₂ 的各项性能基本能满足临床实验室要求,且其简便易行、稳定性高、便于自动化,可为临床诊疗提供可靠的 E₂ 检测结果。

参考文献

- [1] 贺侠琴,孙桂荣,王如琨,等.血清抗缪勒管激素与性激素联合检测对多囊卵巢综合征的诊断价值[J].中华检验医学杂志,2018,41(6):456-461.
- [2] 杨旭辉,莫国柱,梁嘉颖,等.抗苗勒氏激素、年龄、窦卵泡、雌二醇和促卵泡刺激素预测卵巢反应及 IVF 结局的临床研究[J].广东药学院学报,2016,32(5):647-653.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness, approved guideline second edition:EP15-A2[S]. Wayne, PA, USA: CLSI,2005.
- [4] 王惠民,王清涛.临床实验室管理学[M].北京:高等教育出版社,2012:68-71.
- [5] 杨俊梅,刘倩倩,崔宁华,等.应用 CLSI EP12-A2 和 EP15-A2 评估腺病毒 IgM 抗体的磁微粒化学发光法检测试剂[J].中华实验和临床病毒学杂志,2019,33(4):432-436.
- [6] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods, approved guideline second edition:EP5-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS,2004.
- [7] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures, approved guideline:EP6-A[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS,2003.
- [8] 林斐然,刘文彬,欧元祝,等.11 种同型半胱氨酸检测系统的性能评价[J].检验医学,2019,34(1):51-55.
- [9] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Protocols for determination of limits of detection and limits of quantitation, approved guideline:EP17-A[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS,2004.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory, approved guideline:C28-A3c[S]. Wayne, PA, USA: CLSI,2008.
- [11] 中华人民共和国卫生部.临床实验室检验项目参考区间的制定:WS/T 402-2012[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [12] 罗立梅,张彬,陈刚.化学发光微粒子免疫分析法检测性激素 6 项的性能验证[J].国际检验医学杂志,2017,38(5):1214-1217.
- [13] 毕波,吕元.定量检测方法学性能验证的系统设计[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):143-145.
- [14] 安崇文,李海霞,孟群,等.顺磁性微粒子化学发光免疫分析法检测血清维生素 B12 的性能评价[J].中国免疫学杂志,2014,30(11):1508-1513.
- [15] 高海丽,莫俊鑫,龚春梅,等.直接化学发光免疫法测定血清 25 羟维生素 D 的性能验证[J].卫生研究,2019,48(4):633-637.

(收稿日期:2020-07-23 修回日期:2020-11-22)