

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.07.017

四种胃蛋白酶原检测试剂的性能比较

李小溪 李筱涵 陈 澎 乔梦然 李 晶 孙志强[△]

(解放军第三〇二医院临床检验医学中心 北京 100039)

摘要 目的:比较四种胃蛋白酶原检测试剂的性能。**方法:**使用 Beckman Coulter AU5800 全自动生化分析仪,采用免疫比浊法,对两种国产和两种进口蛋白酶原检测试剂的校准和质控、精密度、线性范围、检测灵敏度、前带反应影响和抗干扰能力进行比较。**结果:**四家公司的校准和质控指标均达到合格标准,两家进口试剂变异系数较小,在线性、准确性、灵敏度、前带反应等指标全面领先。**结论:**综合各项指标判断,目前使用的胃蛋白酶原检测试剂以两种进口产品性能为佳,国产品尚有一定差距。

关键词:胃蛋白酶原;对比;免疫比浊法

中图分类号:R446 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)07-1270-04

Comparative Analysis of Four Reagents in Detection of Serum Pepsinogen

LI Xiao-xi, LI Xiao-han, CHEN Peng, QIAO Meng-ran, LI Jing, SUN Zhi-qiang[△]

(Center for clinical laboratory, PLA 302 hospital, Beijing, 100039, China)

ABSTRACT Objective: To compare the performance of the four pepsinogen detection reagent. **Methods:** To compare the calibration and quality control, protease precision, linear range and detection sensitivity of the detection of two kinds of domestic reagents and another two kinds of imported reagents by the method of turbidimetric immunoassay with the Beckman Coulter AU5800 automatic biochemical analyzer. **Results:** The calibration and quality control of all reagents were up to standard, the two imported reagents had better performance in coefficient of variation, especially in precision, linear range, detection sensitivity and hook effect. **Conclusion:** The two kinds of imported reagents had better performance than that of the domestic ones.

Key words: Pepsinogen; Comparative analysis; Turbidimetric immunoassay

Chinese Library Classification(CLC): R446 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)07-1270-04

前言

血清胃蛋白酶原(pepsinogen, PG)为胃蛋白酶的前体,根据不同的生化性质和免疫原性可分为两个亚群,其中 PG I 由胃底腺主细胞和黏液颈细胞分泌,而 PG II 的来源除了上述两种细胞外,还包括贲门腺、幽门腺和十二指肠腺^[1]。PG 广泛应用于胃癌、胃溃疡、萎缩性胃炎等胃部疾病的早期筛查与诊断^[2]。目前临床使用的 PG 定量检测方法包括酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、放射免疫分析(radioimmunoassay, RIA)、时间分辨荧光免疫分析、光激化学发光免疫分析、流式荧光发光免疫微球分析技术、化学发光微粒子免疫分析法、乳胶增强免疫比浊法 (particle-enhanced turbidimetric immunoassay, PETIA)等方法^[3],其中 ELISA 法操作自动化程度和检测性能较低;化学发光法操作简单、性能良好,但必须配置发光分析仪;而免疫比浊法在生化分析仪上开展,检测平台开放,操作简单,自动化程度高,检测速度更快,本研究拟通过校准和质控、精密度、线性范围、检测灵敏度、前带反应影响和抗干扰能力的几方面指标的对比,比较目前临床使用的几种免疫比浊法试剂的检测效能。

1 材料与方法

1.1 测试项目和试剂种类

使用乳胶增强免疫比浊法检测胃蛋白酶原 I(PG I)、胃蛋白酶原 II(PG II)。试剂分别来自国产 A 公司、国产 B 公司、进口 A 公司和进口 B 公司。

1.2 参比指标

包括校准和质控、精密度试验、线性范围、检出限(检测灵敏度)、前带反应影响评估、干扰试验。

1.3 仪器与试剂

使用贝克曼全自动生化分析仪(Beckman Coulter AU5800),试剂、校准品和质控品由各参加测评厂家提供,试剂均为液体双试剂剂型。计量单位均为 ng/mL。

1.4 试验方法

按照厂家提供的信息确定生化分析仪各项工作参数,测试工作内容包括:校准品、质控品、各种试验相关试剂的复溶和配制以及上机检测,均由各参评厂家自己派出的工作人员完成。除日间重复性试验外,所有试验均在一个下午完成。由解放军第 302 医院临床检验医学中心实验室工作人员在现场监督确保试验过程和结果的真实。

2 结果

2.1 校准和质控

作者简介:李小溪(1986-),女,本科,主要从事临床检验方面的研究

[△]通讯作者:孙志强, E-mail: sunzhiqiang963@163.com

(收稿日期:2016-10-10 接受日期:2016-10-29)

各厂家均使用自带校准品对检测系统进行校准,通过后进行质控品检测。两种进口试剂的校准曲线更趋于直线,检测结果的准确性受样本浓度影响更小。从质控品检测结果显示(详见表 1),四家公司的结果均在厂家自己设定的范围内,均为合格。

表 1 质控品检测结果

Table 1 Testing results

Items	NO.	Domestic A		Domestic B		Import A		Import B	
		Scale value	Actual value	Scale value	Actual value	Scale value	Actual value	Scale value	Actual value
PG I	1	30.5(25.9-35.1)	28.33	35.9	37.8	14(11.9-16.1)	15.2	38	38.78
	2	69.0(58.7-79.4)	69.63	89.6	90.1	64.8(58.3-71.3)	66.8	95	96.34
PG II	1	9.9(8.4-11.4)	9.27	14.8	14.2	8.1(6.9-9.3)	9.0	13	13.14
	2	36.6(27.5-42.1)	38.03	36.6	34.8	35.1(31.6-38.6)	37.2	37	35.7

2.2 精密度试验

以厂家自带质控品为检测对象,同一检测批次内做重复测定评价其精密度,结果如表 2-3。结果显示,两种进口试剂的结

果变异系数更小。对于高值样本,进口 A 试剂变异系数最小,明显优于其他三个厂家。

表 2 PG I 精密度结果比较

Table 2 Results of accuracy of PG I

Items	Domestic A		Domestic B		Import A		Import B	
	Standard 1	Standard 2	Standard 1	Standard 2	Standard 1	Standard 2	Standard 1	Standard 2
Mean value	29.39	70.51	56.72	/	15.1	66.0	38.75	96.76
Test times	10	10	20	/	10	10	20	20
Standard deviation	0.69	1.70	1.18	/	0.3	0.5	0.85	1.18
Variable coefficient	2.36	2.41	2.09	/	1.8	0.7	2.2	1.22

表 3 PG II 精密度结果比较

Table 3 Results of accuracy of PG II

Items	Domestic A		Domestic B		Import A		Import B	
	Standard 1	Standard 2	Standard 1	Standard 2	Standard 1	Standard 2	Standard 1	Standard 2
Mean value	9.40	38.38	10.15	/	9.0	37.1	13.45	36.70
Test times	10	10	20	/	10	10	20	20
Standard deviation	0.39	1.5	0.4072	/	0.2	0.2	0.40	0.50
Variable coefficient	4.17	3.91	4.01	/	2.6	0.6	2.97	1.41

2.3 线性范围试验

根据试剂厂家提供的线性范围,取接近上限的高值样本,和稀释液按照比例混合,获得 5-11 个比例浓度样本,每个样本

2 次重复测定(国产 B 公司为 3 次重复测定)。在厂家声明的线性范围内,四家试剂线性和准确性均表现良好,进口 A 试剂表现最优(表 4-5)。

表 4 PG I 检测线性范围试验结果

Table 4 Linear range test results of PG I

Items	Domestic A	Domestic B	Import A	Import B
Slope	0.943	0.986	1.026	1.014
R ^{2a}	0.9954	0.9985	0.9995	0.9993
Upper limitation of detect ^b	160 ng/mL	160 ng/mL	200 ng/mL	200 ng/mL

Note: a, Regression coefficient of square; b, Manufacturer statement detection limit

2.4 检出下限试验(分析灵敏度和功能灵敏度试验)

取低浓度的已知样本,使用稀释液对样本进行梯度稀释,每个样本重复测定 10 次(进口 B 试剂 5 次),计算结果。对于检出下限的确定方法,各家公司采用的标准差距较大,为了使结

果具有可比性,参照国际纯粹和应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)的规定,设定如下标准:

①以稀释液重复检测结果的均值 +2.6 倍标准差(Standard

表 5 PG II 线性范围试验结果
Table 5 Linear range test results of PGII

Items	Domestic A	Domestic B	Import A	Import B
Slope	0.973	1.002	1.004	0.9052
R ²	0.9922	0.9996	0.9996	0.9935
Upper limitation of detect	70 ng/mL	70 ng/mL	100 ng/mL	100 ng/mL

Note: a, Regression coefficient of square; b, Manufacturer statement detection limit.

Deviation, SD)为检测低限。

② 以样本测定值均值 -2.6SD 的数值大于稀释液均值 +2.6SD 的浓度作为分析灵敏度。

③ 以 CV<10% 的最低浓度作为功能灵敏度。

按以上标准计算获得各公司产品的检出限结果如表 6-7。

数据结果显示,两家进口试剂灵敏度较好,其中进口 B 试剂最佳。

表 6 PG I 检出下限结果(ng/mL)
Table 6 Detection limit of PG I

Items	Domestic A	Domestic B	Import A	Import B
Detection limit	0.96	4.23	0.27	0.37
Analytical sensitivity	1.7	9.03	1.22	2.02
Functional sensitivity	4.3	9.03	5.54	4.14

表 7 PG II 检出下限结果(ng/mL)
Table 7 Detection limit of PG II

Items	Domestic A	Domestic B	Import A	Import B
Detection limit	0.64	0.33	0.414	1.116
Analytical sensitivity	1.7	1.36	1.19	1.72
Functional sensitivity	2.4	2.61	2.38	1.72

2.5 前带反应(钩状效应)试验

取超出线性范围的高浓度样本,使用稀释液进行倍比稀释,重复测定各稀释后样本,统计分析结果。判定标准:超高浓度样本前带反应影响后获得的测定值仍高于厂家标示的线性范围上限,为合格。上限越高,该试剂前带反应影响越小。国产 B 试剂未参与此项试验。

两家进口公司的试剂受前带反应影响较小。其中进口 A 试剂还可以通过试剂参数设定,在待测标本出现异常值时会显示警告标记(结果中未能显示),从而有效避免前带反应导致的结果误判。

2.6 抗干扰试验

以混合血清为检测样本,分别添加 5 种干扰试剂(抗坏血酸、血红蛋白、游离胆红素、结合胆红素、乳糜),分析干扰物质对检测的影响。试验结果显示,进口 A 试剂受各项干扰物质的影响最小,抗干扰能力最优,进口 B 试剂的结果也很优秀,国产 A 试剂有待提高,国产 B 试剂未参加 PG I 试剂抗干扰试验和 PG II 抗维生素 C 和结合胆红素干扰试验。

3 讨论

胃癌是我国的主要恶性肿瘤之一,根据中国疾病预防控制中心统计,2013 年我国的胃癌发病率和病死率分别为 84 / 10 万和 23.55/10 万,远高于全球平均水平^[45]。早期胃癌如果可以获得及时诊断和治疗,5 年生存率可以达到 90%以上^[6],然而

受患者认知及医疗条件的限制,对于早期诊断胃癌最为重要的手段 - 胃镜检查在我国的普及率和接受程度不高。有研究表明,胃粘膜癌变及黏膜萎缩、溃疡等癌前病变均与 PG 表达水平的变化及 PG I/II 比值相关^[7],据此认为 PG 的测定可以起到 "血清学活检" 的作用,对胃癌及相关癌前病变进行筛查^[8],此外,近年来研究还发现,PG 的变化还可以用于评估幽门螺杆菌治疗效果和儿童消化性溃疡的诊断^[9,10]。随着对 PG 检测重要性和临床应用价值认识的提高,越来越多的医疗机构已经开展或准备开展这一检测项目,在诸多检测方法中,PETIA 法以其速度快、成本低的特点,在临床上得到广泛应用^[11],目前国内市场上使用的 PETIA 法 PG 检测试剂品种较多^[12],本研究分别选择了两家进口试剂和两家国产试剂进行评测,内容包括校准和质控、精密度试验、线性范围、检出限(检测灵敏度)、前带反应影响评估、干扰试验 6 项试验,综合 6 项试验结果:两种进口试剂明显占优,国产两家产品还有一定差距,特别是在检测灵敏度、前带反应和抗干扰能力等方面,国产试剂存在着明显不足^[13-15]。

综上所述,本研究结果为医学检验机构选择试剂提供了一定的参考依据,除检测效能外,在选择试剂时,还需要综合试剂价格/ 效费比及技术支持的可获得性等因素统筹评判,在更换不同试剂时,需要及时按照操作说明进行相关调整。

参考文献(References)

- [1] Fitzmaurice C, Dicker D, Pain A, et al. The Global Burden of Cancer 2013[J]. JAMA Oncol, 2015, 1(4): 505-527
- [2] Uraoka T, Saito Y, Yahagi N. What are the latest developments in col-

- orectal endoscopic submucosal dissection [J]. World J Gastrointest Endosc, 2012, 4(7): 296-300
- [3] Yoshihara M, Sumii K, Haruma K, et al. Correlation of ratio of serum pepsinogen I and II with prevalence of gastric cancer and adenoma in Japanese subjects[J]. Am J Gastroenterol, 1998, 93(7): 1090-1096
- [4] Mukoubayashi C, Yanaoka K, Ohata H, et al. Serum pepsinogen and gastric cancer screening[J]. Intern Med, 2007, 46(6): 261-266
- [5] Zeng Z, Fu S, Hu P, et al. The diagnostic value of monoclonal gastric cancer 7 antigen: A systematic review with meta - analysis [J]. Clin Exp Med, 2014, 14(3): 337-343
- [6] Ma Di-wa, Niu Xiao-dong, Tian Hong-liang, et al. Value of Mass Screening of Serum Pepsinogen Test for Asian Population with High-risk Gastric Carcinoma: A Meta-analysis [J]. Chin J Evid-based Med, 2015, 15(2): 176-180
- [7] Ling Meng-zhi, Liu Yang-he, Zhang Yan, et al. Portal hypertensive gastropathy serum pepsinogen change and significance [J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2015, 24(6): 654-656
- [8] Zhang Y, Weck MN, Sch ttker B, et al. Gastric parietal cell antibodies, Helicobacter pylori infection, and chronic atrophic gastritis: evidence from a large population-based study in Germany [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2013, 22(5): 821-826
- [9] Shafaghi A, Mansour-Ghanaei F, Joukar F, et al. Serum gastrin and the pepsinogen I / II ratio as markers for diagnosis of premalignant gastric lesions[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(6): 3931-3936
- [10] Hu Li-bo, Xie Jin-bi, Wan Jian, et al. Expression and significance of serum pepsinogen and gastrin in gastric disease [J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2015, 24(3): 281-283
- [11] Xu Yan-ping, Li Min, Zhao Rong-ping. Flow fluorescence technique serum pepsinogen I / II performance evaluation methodology and application evaluation[J]. Chin J Clin Lab Sci, 2014, 32(6): 474-477
- [12] Massarrat S, Haj-Sheykholeslami A. Increased Serum Pepsinogen II Level as a Marker of Pangastritis and Corpus-Predominant Gastritis in Gastric Cancer Prevention[J]. Arch Iran Med, 2016, 19(2): 137-140
- [13] Cho EJ, Kim HK, Jeong TD, et al. Method evaluation of pepsinogen I/II assay based on chemiluminescent immunoassays and comparison with other test methods[J]. Clin Chim Acta, 2016, 15(452): 149-154
- [14] Hoshino T, Hanai K, Tanimoto K, et al. Development and Evaluation of a New Creatine Kinase MB Mass Determination Assay Using a Latex Agglutination Turbidimetric Immunoassay with an Automated Analyzer[J]. Clin Lab, 2016, 62(5): 877-885
- [15] Kamijo-Ikemori A, Sugaya T, Yoshida M, et al. Clinical utility of urinary liver-type fatty acid binding protein measured by latex-enhanced turbidimetric immunoassay in chronic kidney disease [J]. Clin Chem Lab Med, 2016, 54(10): 1645-1654
- (上接第 1236 页)
- [11] Barson JR, Morqanstem I, Leibowitz SF. Complementary roles of orexin and melanin-conce ntrating hormone in feeding behavior[J]. Int J Endocrinol, 2013, 2013: 983964
- [12] Gan L, Enqland E, Yanq JY, et al. A 72-hour high fat diet increases transcript levels of the neuropeptide galanin in the dorsal hippocampus of the rat[J]. BMC Neurosci, 2015, 16: 51-61
- [13] Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, et al. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity[J]. Peptides, 1986, 7: 1189-1192
- [14] Chee MJ, Pissios P, Prasad D, et al. Expression of melanin-concentrating hormone receptor 2 protects against diet-induced obesity in male mice[J]. Endocrinology, 2014, 155(1): 81-88
- [15] Tempel DL, Leibowitz SF. Diurnal variations in the feeding responses to norepinephrine, neuropeptide Y and galanin in the PVN [J]. Brain Res Bull, 1990, 25: 821-825
- [16] Murakami M, Ohba T, Kushikata T, et al. Involvement of the orexin system in sympathetic nerve regulation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 460(4): 1076-1081
- [17] Gumbs MC, van den Heuvel JK, la Fleur SE. The effect of obesogenic diets on brain Neuropeptide Y [J]. Physiol Behav, 2016, S0031-9384(16): 30196-30202
- [18] Stanley BG, Thomas WJ. Feeding responses to preifornical hypothalamic injection of neur opeptide Y in relation to circadian rhythms of eating behaviour[J]. Peptides, 1993, 14: 475-481
- [19] Messina G, Dalia C, Tafuri D, et al. Orexin-A controls sympathetic activity and eating behavior[J]. Front Psychol, 2014, 5: 997
- [20] Boss C, Roch C. Recent trends in orexin research--2010 to 2015[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2015, 25(15): 2875-2887
- [21] Mavanji V, Perez-Leighton CE, Kotz CM, et al. Promotion of Wakefulness and Energy Expenditure by Orexin-A in the Ventrolateral Pre-optic Area[J]. Sleep, 2015, 38(9): 1361-1370