

·论著·

电化学发光免疫法与放射免疫法检测血清皮质醇的对比研究

张海嫦 朱家丽 万景亚 冯学民 秦岚 沈婕

作者单位: 300192, 天津市第一中心医院核医学科

通信作者: 沈婕, Email: shenjie_vip@126.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2017.03.005

【摘要】 目的 采用电化学发光免疫(ECLIA)法与放射免疫(RIA)法测定血清皮质醇水平, 对其结果进行对比分析。**方法** 采用简单随机抽样法抽取我院健康体检者、门诊和住院患者共188例血清样本, 利用ECLIA法和RIA法同时进行检测并进行统计学分析。将质控血清进行两两对比分析, 计算两种方法批内、批间差异系数(CV), 评价其精确性; 将质控血清加入低、中、高(100.2、201.9、310.7 nmol/L)已知浓度的皮质醇血清中, 测定回收率。对样本测定结果的相关性作回归性分析。**结果** ECLIA法检测血清皮质醇表达水平的灵敏度和特异度均高于RIA法。ECLIA法检测的批内与批间CV均低于RIA法, 但两种方法回收率相当。两种方法检测结果具有高度相关性($r = 0.991, P < 0.01$)。**结论** 在检测血清皮质醇水平上, 两种方法各有优势, ECLIA法自动化程度高, RIA法技术成熟、价格低廉。随着技术的发展, ECLIA法要更具优势, 但ECLIA法在检测皮质醇方面是否可以完全替代RIA法, 还有待进一步的探讨。

【关键词】 氢化可的松; 放射免疫测定; 电化学发光免疫法

Comparison of electrochemiluminescent immunoassay and radioimmunoassay for detection of cortisol in human serum Zhang Haichang, Zhu Jiali, Wan Jingya, Feng Xuemin, Qin Lan, Shen Jie

Department of Nuclear Medicine, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Shen Jie, Email: shenjie_vip@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the difference between electrochemiluminescent immunoassay (ECLIA) and radioimmunoassay (RIA) in the detection of serum cortisol. **Methods** A total of 188 patients were selected from healthy outpatients and inpatients. The serum cortisol of the patients and quality control serum cortisol were detected by ECLIA and RIA. The detection accuracy of the methods in the two batches and the coefficient of variation (CV) of within-batch and between-batch were calculated. To evaluate the precision of the test, quality control serum was added to low, medium, and high concentrations of serum cortisol for the evaluation of recovery rate and detection accuracy. The correlation between results was analyzed by regression. **Results** The sensitivity and specificity of the ECLIA method was higher than those of the RIA method. The CV of the ECLIA method was also lower than that of the RIA method, and the recovery rate of the ECLIA method was higher than that of the RIA method. The two methods showed good correlation and highly correlated results ($r=0.991, P<0.01$). **Conclusions** The two methods have their own advantages in the detection of serum cortisol. The degree of automation of ECLIA is high, whereas the RIA method is mature and inexpensive. Although ECLIA is the current and future development trend, RIA retains a certain advantage in terms of sensitivity and specificity. The two methods provide different reference intervals. RIA remains an indispensable method for clinical cortisol testing.

【 Key words】 Cortisol; Radioimmunoassay; Electrochemiluminescence immunoassay

皮质醇是主要的糖皮质类固醇, 其重要的生理机能是升高血糖、抗炎和免疫抑制作用。检测患者血中皮质醇水平可用于诊断肾上腺、垂体和下丘

脑机能是否紊乱。皮质醇水平增高多见于库欣综合征^[1], 降低多见于艾迪生病。临床上检测血清皮质醇多采用放射免疫(radioimmunoassay, RIA)法, 但

随着科技的进步,灵敏度高、特异性强为特征的电化学发光免疫(electrochemiluminescent immunoassay, ECLIA)法得到较多的关注。ECLIA法自动化程度高、检测速度快,仅需18 min,且无放射性污染^[2-3],在临床上得到越来越多的应用。而传统的RIA法因其具有放射性污染、试剂有效期短、操作繁杂等缺点已经被其他标记检测技术所取代,但在检测血清皮质醇水平方面仍然具有不可替代的作用。针对本院两种检测方法并存,临床医生在分析报告时出现的质疑,本研究使用ECLIA法和RIA法同时检测188例临床血清样本中皮质醇水平,并对两种检测方法的数据进行对比分析。

1 资料与方法

1.1 临床资料

采用简单随机抽样法抽取来自我院门诊和住院患者(患者组)血清样本133例,男性59例,女性74例,平均年龄(40.0±21.0)岁;健康体检者(健康体检组)血清样本55例,男性29例,女性26例,平均年龄(35.0±19.0)岁。

1.2 方法

所有受试者均于清晨8:00~10:00抽取4 mL空腹静脉血,离心半径15 cm, 3 500 r/min离心10 min,收集血清放于-20℃冰箱中保存。ECLIA法采用德国罗氏Cobas e411 ECLIA分析系统及原装进口配套试剂;RIA法采用韩国DREAM G-10/5自动伽玛计数器和皮质醇试剂盒。所有受试者血清样本分别采用ECLIA法和RIA法进行检测,然后按照两种方法的正常参考值(ECLIA: 171~536 nmol/L、RIA: 193~690 nmol/L)作为分组标准,分为高值样本组、低值样本组和正常值样本组,然后进行统计学分析,并计算灵敏度和特异度。我们将133例患者的血清标本中的高值样本组和低值样本组视为真阳性人数,正常值样本组视为假阴性人数,根据公式:灵敏度=真阳性人数/(真阳性人数+假阴性人数)×100%,从而计算出两种方法的灵敏度;同理,在健康体检组的55例血清样本中,将正常值样本组视为真阴性人数,高值样本组和低值样本组视为假阳性人数,根据公式:特异度=真阴性人数/(真阴性人数+假阳性人数)×100%,从而计算出两种方法的特异度。

采用ECLIA和RIA两种方法对皮质醇试剂盒

里自带的低、中、高(31.8、133.80、315.70 ng/mL)3种不同浓度质控品进行测定,每种浓度各重复检测10次,计算出批内CV;再分别将低、中、高3种质控样本进行分装,每种浓度的质控品各分装10个试管,总共30个试管,分别做好标记,放于-20℃冰箱中保存,每天分别从分装好的3种浓度的质控品中各取出2管进行检测,连续测定5 d,使得每种浓度的质控品的检测次数都是10次,然后计算出批间CV,以确定两种方法的精密性。在皮质醇浓度分别为100.2、201.9、310.7 nmol/L的血清中分别加入已知皮质醇浓度的血清,以检测回收率,验证方法的可靠性,将得到的3管混合定值血清分别定义为低水平质控、中水平质控和高水平质控,然后对每个水平各测定15次,得到相对应的回收管测定值,按照公式:回收率=(回收管测定值-对照管测定值)/回收管加入的已知浓度,来计算测定的回收率。式中,对照管测定值分别为100.2、201.9、310.7 nmol/L。最后采用以上两种方法对患者组及健康体检组的血清标本行皮质醇测定,以ECLIA法测定值为因变量,RIA法测定值为自变量,对188例血清的皮质醇水平进行二元直线回归分析,计算出相关系数。

1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,ECLIA法和RIA法测定的血清皮质醇水平的比较采用两独立样本资料的 t 检验。两种方法测定回收率的比较采用方差分析。Spearman's相关分析用于评价连续变量之间的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ECLIA法和RIA法测定血清皮质醇的水平

ECLIA法和RIA法测定血清皮质醇水平的结果见表1。由表1可见,与正常参考值比较(ECLIA: 171~536 nmol/L、RIA: 193~690 nmol/L),低值样本组皮质醇水平降低,高值样本组皮质醇水平显著升高,差异具有统计学意义($t = -5.639$ 、 -10.537 ; $P < 0.05$)。同时,本研究还对两种方法检测皮质醇水平进行了性能评价,ECLIA法的灵敏度为69.2%,特异度为90.9%;RIA法的灵敏度为62.4%,特异度为87.3%。研究结果显示,ECLIA法检测血清皮质醇水平的灵敏度和特异度均高于RIA法。

表1 ECLIA法和RIA法测定188例血清样本的皮质醇水平($\bar{x}\pm s$)Table 1 The level of serum cortisol detected by electrochemiluminescent immunoassay and radioimmunoassay($\bar{x}\pm s$)

样本	患者组				健康体检组			
	ECLIA法		RIA法		ECLIA法		RIA法	
	$\bar{x}\pm s$	例数	$\bar{x}\pm s$	例数	$\bar{x}\pm s$	例数	$\bar{x}\pm s$	例数
正常值样本	306.27±108.19	41	351.02±123.07	50	292.75±114.83	50	371.08±93.91	48
低值样本	152.07±47.31	43	168.13±51.47	35	137.94±57.41	3	161.27±49.73	5
高值样本	698.17±92.94	49	762.46±100.12	48	657.01±76.29	2	714.65±57.23	2

注：表中，ECLIA：电化学发光免疫；RIA：放射免疫。

2.2 精密度实验

采用ECLIA法和RIA法对低、中、高不同浓度质控标本行皮质醇水平测定，重复检测，由表2可知，ECLIA法测定皮质醇水平在低、中、高不同浓度的CV值均低于RIA法。

表2 ECLIA法和RIA法测定的批内批间CV比较(%)

Table 2 The comparison with coefficient of variation of intra-batch and inter-assay between electrochemiluminescent immunoassay and radioimmunoassay(%)

质控样本	检测次数	ECLIA法		RIA法	
		批内CV	批间CV	批内CV	批间CV
低值(31.80 ng/mL)	10	4.78	6.71	6.14	7.91
中值(133.80 ng/mL)	10	3.25	6.93	4.87	9.62
高值(315.70 ng/mL)	10	4.91	7.81	5.09	8.35

注：表中，ECLIA：电化学发光免疫；RIA：放射免疫；CV：差异系数。

2.3 回收率实验

用ECLIA法和RIA法测定皮质醇水平的回收率。究结果显示，ECLIA法检测的回收率为98.45%~118.03%，RIA法检测回收率为94.59%~106.18%，二者回收率差异无统计学意义(皮质醇水平 $P>0.05$)。

2.4 相关性和线性实验

对188例血清样本进行皮质醇水平检测，分析得出直线回归方程为 $y=0.23+0.03x$ ，得出两种方法检测结果具有高度相关性($r=0.991$, $P<0.01$)。

3 讨论

一直以来，临床主要应用RIA法或放射受体法、酶联免疫法测定人体血清中皮质醇水平，但因这些方法复杂、检测速度慢以及污染环境等缺点，已不能满足科研及临床工作的要求。随着技术的进步，新的检测方法越来越受到重视。其中ECLIA是以三联吡啶钆为特殊底物，反应时氧化型的三价钆被还原成激发态的二价钆，同时释放光

子，再依据释放光子的量转换，算出待测物质的浓度。与RIA法相比，ECLIA法具有自动化程度高、速度快、灵敏度高优势，且试剂盒有效期长，无放射性污染。以往文献报道显示，CLIA法(包括ECLIA法)与RIA法的比较，因测定项目不同，其测定结果也各不相同^[4-5]。在学者之间持有两种观点：一种观点认为，CLIA法比RIA法重复性好、精密度高。如刘进等^[6]研究结果显示，采用CLIA法测定甲状腺激素，其灵敏度高于RIA法，临床检测可取代之。吴影等^[7]采用ECLIA法检测生长激素，ECLIA法批内与批间CV均明显小于RIA法，回收率略高于RIA法，由此结果得出ECLIA法等同于或优于RIA法。另一种观点认为，两法检测结果符合率较高，一致性好，可相互取代。如杨开洪等^[8]采用ECLIA法与RIA法检测血清促甲状腺激素受体抗体，结果显示两者间差异无统计学意义。张明等^[9]研究结果显示，CLIA法测定血清甲状腺球蛋白抗体和甲状腺过氧化物酶抗体与RIA法测定结果具有良好的一致性，可替代RIA法。综上，因检测项目不同，ECLIA法和RIA法所得结果也是各不相同，这可能与不同方法的原理和过程有关。本研究结果显示，ECLIA法检测的批内与批间CV均低于RIA法，其灵敏度和特异度也略高于RIA法，但二者回收率差异无统计学意义，而且两种方法检测结果具有高度相关性。本研究结果说明ECLIA法优于RIA法，两种方法所测结果在临床上均有指导意义。

皮质醇合成和分泌受下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的负反馈机制的调节。皮质醇自身对垂体和下丘脑起负反馈作用^[10]。机体在应急状态下，皮质醇分泌增加。皮质醇在血中的水平呈现昼夜的周期性变化。清晨皮质醇水平达到最高峰(700 nmol/L或25.4 mg/dL)，白天水平逐渐下降，到夜间降到最低点，约是峰值的50%^[11]。因此，分不同时间点采集

血样是很有必要的。实际中,按照皮质醇的分泌特点,临床上采集0:00、8:00、16:00 3个时间点的血样来系统检测激素的分泌情况。我们为了比较直观地分析两种检测方法,在选取样本时主要考虑了8:00~10:00的时间点。为了能更直观地了解患者体内皮质醇分泌的波动规律,目前本院所采用的cobas e411 ECLIA分析仪给出的参考范围(上午:171~536 nmol/L,下午:64~327 nmol/L)对于临床上的分析比较局限,所以如果实验室能通过科学的方法统计出适合本地区人群的3个时间点(0:00、8:00、16:00)的参考范围,将更有利于临床诊断和治疗。

综上所述,在检测皮质醇的两种方法中,ECLIA法更具优势,且自动化程度高,检测时间短,是当前发展的趋势,但毕竟本研究只是基于小样本的探讨,随着技术的发展,ECLIA法在检测皮质醇方面是否可以完全替代RIA法,还有待进一步深入研究。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 张海婧负责研究命题的提出、设计与论文撰写;朱家丽、万景亚负责实验和标本收集;冯学民负责数据整理分析;秦岚和沈婕负责论文的审阅和校对。

参 考 文 献

- [1] Loriaux DL. Diagnosis and differential diagnosis of Cushing's syndrome[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(15): 1451-1459. DOI: 10.1056/NEJMra1505550.
- [2] 陈翊,李颖能,陈焕辉,等.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[J].*国际检验医学杂志*,2016,37(14): 1949-1950. DOI:10.3969/J.issn.1673-4130.2016.14.019.
Chen Y, Li YN, Chen HH, et al. Performance evaluation and comparison of different chemiluminescence immunoassay systems in detection of cortisol[J]. *Int J Lab Med*, 2016, 37(14): 1949-1950.
- [3] Manguso F, Bennato R, Lombardi G, et al. Electrochemiluminescence immunoassay method underestimates cortisol suppression in ulcerative colitis patients treated with oral prednisone[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(31): 10895-10899.
- [4] Beko G, Varga I, Glaz E, et al. Cutoff values of midnight salivary cortisol for the diagnosis of overt hypercortisolism are highly influenced by methods[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(5/6): 364-367. DOI: 10.1016/j.cca.2009.11.033.
- [5] Uhl P, Fricker G, Haberkorn U, et al. Radionuclides in drug development[J]. *Drug Discov Today*, 2015, 20(2): 198-208. DOI: 10.1016/j.drudis.2014.09.027.
- [6] 刘进,朱晓丽.两种方法测定甲状腺激素的比较研究[J].*中国民族民间医药*, 2015, 12(6): 94-94.
Liu J, Zhu XL. A comparative study of two methods in detecting thyroid hormone[J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharmacy*, 2015, 12(6): 94-94.
- [7] 吴影,张友华.放射免疫法与化学发光酶免疫法检测生长激素的比较分析[J].*福建医药杂志*, 2012, 34(4): 94-95.
Wu Y, Zhang YH. Comparison of chemiluminescence immunoassay and radioimmunoassay for the detection of serum growth hormone [J]. *Fujian Med J*, 2012, 34(4): 94-95.
- [8] 杨开洪,邹辉祥,曾庆栈.化学发光免疫法与放免法检测血清促甲状腺激素受体抗体的对比研究[J].*实用医技杂志*, 2015, 22(2): 122-123.
Yang KH, Zou HX, Zeng QZ. A comparative study of chemiluminescence immunoassay and radioimmunoassay for the detection of thyrotropin receptor antibody[J]. *J Practical Medical Techniques*, 2015, 22(2): 122-123.
- [9] 张明,王喜青,汪静.两种检测方法测定抗甲状腺球蛋白抗体和抗甲状腺过氧化物酶抗体结果的比较[J].*标记免疫分析与临床*, 2014, 21(6): 722-725. DOI: 10.11748/bjmy.issn.1006-1703.2014.06.032.
Zhang M, Wang XQ, Wang J. Comparison of chemiluminescence immunoassay and radioimmunoassay for the detection of serum anti-thyroglobulin antibodies and anti-thyroid peroxidase antibodies [J]. *Label Immunoassays Clin Med*, 2014, 21(6): 722-725.
- [10] 高通,陈文新,谢丽华,等.血清促肾上腺皮质激素 ECLIA 法与 RIA 法测定结果的比较[J].*福建医药杂志*, 2015, 37(5): 75-77.
Gao T, Chen WX, Xie LH, et al. Comparison of electrochemiluminescent immunoassay and radioimmunoassay for detection of a drenocorticotrophic hormone in human serum[J]. *Fujian Med J*, 2015, 37(5): 75-77.
- [11] Messina G, Chieffi S, Viggiano A, et al. Parachute jumping induces more sympathetic activation than cortisol secretion in first-time parachutists[J/OL]. *Asian J Sports Med*, 2016, 7(1): e26841[2017-02-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4870822/>. DOI: 10.5812/asjasm.26841.

(收稿日期:2017-02-24)