

AU5831 自动生化分析仪 2 种试剂检测唾液酸化糖链抗原-6 临床应用评价

彭定辉¹ 任玉国² 庄伟² 廖凡路¹ 唐鹏¹ 陈薇¹

[摘要] **目的:**运用 AU5831 自动生化分析仪和 2 种试剂检测唾液酸化糖链抗原-6(KL-6),评价试验产品与参比产品的临床使用效能。**方法:**选取 300 例研究标本,其中间质性肺疾病患者标本 75 例,无间质性肺疾病病症患者标本 205 例,干扰病例样本 20 例,使用 2 种试剂的胶乳免疫比浊法和胶乳凝集法对研究样本进行平行盲法检测,比较试验产品与参比产品的检测结果,进行离群值检验、回归分析、Bland-Altman 一致性分析及医学决定水平的预期偏倚分析。**结果:**试验产品与参比产品各检测 KL-6 300 例。根据 NCCLS EP9-A2 文件进行方法间离群值检查,以绝对差值和相对差值的均值 4 倍为限值,数据均未超出检测限(TLE)数值,无离群值。Deming 回归方程为 $Y=0.9079+0.9951X$ (Pearson 相关系数:0.9999,95%CI 0.9999~0.9999),满足评价标准。Bland-Altman 分析,一致性界限外无散点。试验产品与参比产品的一致性检验发现 $\kappa=0.965$,认为试验产品与参比产品一致性良好。**结论:**AU5831 自动生化分析仪检测 KL-6 的 2 种试剂盒在临床应用中具有可比性,一致性较好,可用于临床检测。

[关键词] 唾液酸化糖链抗原-6;胶乳免疫比浊法;间质性肺炎;临床评价

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.02.010

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Clinical evaluation of AU5831 automatic biochemical analyzer for Krebs Von den Lungen-6 kit

PENG Dinghui¹ REN Yuguo² ZHUANG Wei² LIAO Fanlu¹
TANG Peng¹ CHEN Wei¹

(¹Laboratory Department of Central South Hospital of Wuhan University, Wuhan, 430071, China; ²Jinan People's Hospital)

Corresponding author: CHEN Wei, E-mail: 602400856@qq.com

Abstract Objective: AU5831 automatic biochemical analyzer and two reagents were used to detect Krebs Von den Lungen-6(KL-6), and to evaluate the clinical efficacy of the test kit and reference product. **Methods:** A total of 300 research specimens were selected in our hospital, including 75 specimens from patients with interstitial lung disease, 205 specimens from patients without interstitial lung disease symptoms, and 20 specimens from interference cases. Latex immunoturbidimetry and latex agglutination were used to detect the clinical samples by parallel blind method. Based on the experiment results, outlier test, regression analysis, Bland-Altman consistency analysis, expected bias analysis at the level of medical decision and consistency analysis of qualitative results were selected for the study. **Results:** KL-6 was detected in 300 samples of test product and reference product respectively. According to NCCLS EP9-A2 document, the outliers between methods were checked which was limited to 4 times the mean value of absolute difference and relative difference, and no outlier was found. Deming regression equation was developed as: $Y=0.9079+0.9951X$ with Pearson correlation coefficient: 0.9999. The 95% confidence interval was 0.9999-0.9999. There were no scattered points outside the limits of agreement. The consistency test of the test product and the reference product found that $\kappa=0.965$, and the consistency between the test product and the reference product was considered to be good. **Conclusion:** The two kits for the detection of KL-6 by the AU5831 automatic biochemical analyzer are comparable in clinical application and have good consistency, which can be used for clinical detection.

Key words Krebs Von den Lungen-6; latex immunoturbidimetric assay; interstitial pneumonia; clinical evaluation

¹ 武汉大学中南医院检验科(武汉,430071)

² 济南市人民医院

通信作者:陈薇,E-mail:602400856@qq.com

唾液酸化糖链抗原-6(Krebs Von den Lungen-6, KL-6)是由日本学者 Kohno 等^[1]在 1985 年研究肺癌时发现的一种分子量为 20 万左右的糖蛋白物质,属于黏液素黏蛋白(MUC1)家族。KL-6 是支气管腺浆液细胞、呼吸性支气管上皮细胞和Ⅱ型肺泡上皮细胞分泌物,不论是增殖的上皮细胞,还是受损的上皮细胞中都有 KL-6 的分泌^[2]。另外在胰腺导管、乳腺导管等正常细胞中也有表达,而在肺泡Ⅰ型上皮细胞、杯状细胞和支气管腺体细胞中的表达很少或不表达^[3]。目前研究发现 KL-6 水平的升高与原发干燥综合征相关间质性肺病患者生存率降低有关,可作为预测患者存活率的血清标志物^[4];也有学者认为 KL-6 与特发性肺纤维化的发生发展、治疗及预后均有明显相关性^[5]。目前市场上已有唾液酸化糖链抗原测定试剂盒(胶乳凝集法)用于临床,但国内应用还比较少。本研究分别应用 2 种 KL-6 的试剂盒在 AU5831 全自动生化仪上检测 300 例临床样本,对其临床应用和性能进行评价,为试剂盒应用于临床提供指导。

1 资料与方法

1.1 对象

样本来自 2021 年 3 月至 2021 年 9 月武汉大学中南医院和济南市人民医院常规检测的剩余血清,样本在 -70°C 超低温下保存,且信息完整。青岛贝美生物技术有限公司申请的 KL-6 测定试剂盒(胶乳免疫比浊法)临床试验已通过武汉大学中南医院伦理委员会和济南市人民医院伦理委员会的伦理审查,并批准同意。依据国家药监局在 2021 年 9 月最新发布的“体外诊断试剂临床试验技术指导原则”的相关要求,本次入组样本共 300 例,其中男 167 例,女 133 例;平均年龄 51 岁;间质性肺病患者血清样本 75 例,无间质性肺疾病病患者血清样本 205 例,干扰血清样本 20 例。

1.2 入组和排除标准

入组标准为间质性肺疾病等确诊样本,具备包括“②”在内的 3 项及以上。①主要症状及体征:a 干咳;b 呼吸困难;c 杵状指;d 特殊啰音如捻发音或者是捻发音。②胸部 X 线所见:a 阴影分布弥漫性、散在型;b 阴影性质,细小的结节状、云絮状、小结节加蜂窝状、多发性蜂窝状;c 肺叶缩小,横膈上升,下肺叶缩小。③肺功能检查:包括肺容量减少,肺弥散功能减低,低氧血症。④血液免疫学检查:a 血沉增快;b 乳酸脱氢酶增高;c 类风湿因子阳性。⑤病理检查:与原发间质性肺炎的病理改变相符合。

无间质性肺疾病病患者样本,样本来源的正常人并非指任何组织和器官的形态和功能都无异常的人,而是指各种生理指标正常波动,并排除相关疾病。

干扰样本:干扰样本为本院常规检测中含浓度约为 20 mg/dL 总胆红素或 500 mg/dL 血红蛋白的血清样本;两者满足其一。

排除标准:①样本收集时间或病例信息不明确;②试验中因操作失误导致样本量不足检测者;③反复冻融的样本;④混浊的样本:溶血、黄疸的样本;⑤研究者认为不能满足检测要求的样本。

1.3 方法

试验设计根据最新发布的“技术指导原则”采用平行盲法进行比对试验,将一个样本在室温下充分反复混匀,再分为 2 等份,分别用 2 种试剂进行测定,评价参比产品与试验产品的可比性。2 种产品同步进行检测,检测结束后进行揭盲。

试验产品:青岛贝美生物技术有限公司的 KL-6 测定试剂盒(胶乳免疫比浊法)(试剂 1 : 60 mL \times 1,试剂 2 : 20 mL \times 1;批号:21040104;保存条件: $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光),线性范围为 50~5000 U/mL。参比产品:KL-6 测定试剂盒(胶乳凝集法)(试剂 1 : 24 mL \times 1,试剂 2 : 8 mL \times 1;批号:805RLR;保存条件: $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 避光),线性范围为 50~5000 U/mL。产品的检测仪器为贝克曼 AU5831 自动生化分析仪。

1.4 统计学方法

采用医学统计软件 MedCalc 进行数据分析,对数据进行离群值检验、回归分析、Bland-Altman 一致性分析及医学决定水平处的可信区间和预期偏倚的分析。

2 结果

2.1 2 种方法间离群值检验

本临床试验根据参考文献^[6]中的规定进行离群值检验,结果如下,以绝对差值均值的 4 倍为限值:300 例数据方法间绝对差值的均值 $E=10.7137$,检测限(TLE)为 $4 \times 10.7137 \approx 42.8547$,无超出 TLE 值的绝对差值数据,即超出检出限数据占比为零;以相对差值均值的 4 倍为限值:300 例数据方法间相对的平均绝对差值 $E=0.03177$,相对检测限值为 $4 \times 0.03177 \approx 0.1271$,也无超出 TLE 值的相对绝对差值数据,即超出检出限数据占比为零,由以上分析可知,无离群值,因此所有结果均纳入分析。

2.2 相关性分析

相关性分析能很好反映不同试剂的相关性^[7],根据临床试验数据绘制散点图,X 轴表示参比产品的测定结果,Y 轴表示试验产品的测定结果,对 300 例样本进行分析,相关系数 $r=0.9998 > 0.975$,表明试验产品与参比产品相关性良好(图 1)。

2.3 Bland-Altman 一致性分析

一致性分析可以较好评价定量数据 2 种测量结果的一致性,同时控制系统误差和随机误差。离

群值检验结果表明数据无离群,所以所有检测结果均纳入 Bland-Altman 分析^[8-9]。2 种产品测量结果的差值的 Bland-Altman 图,以差值均值的 95% 参考值范围即 $md \pm 1.96 SD$ 作为评价一致性限值(图 2)。结果显示 2 种试剂的测量结果均在 Bland-Altman 的 95% 一致性界限内,表明这两者测定结果的一致性较好。

2.4 医学决定水平的预期偏倚

按试剂说明书中注明了 KL-6 的医学决定水平为 500 U/mL 要求,将 2 种试剂盒在 AU5831 上的检测结果进行比对分析,计算医学决定水平 X_c (500 U/mL) 处的偏倚(预期值 1.534 7)及其 95% CI(下限:0.808 6%,0.172 4%,上限:2.260 8%,0.452 2%)。判断检验结果的可比性,2 种试剂在医学决定水平 X_c (500 U/mL) 处的预期偏倚百分比为 0.307%,完全符合预期偏倚百分比的绝对值 < 20% 的评判标准。

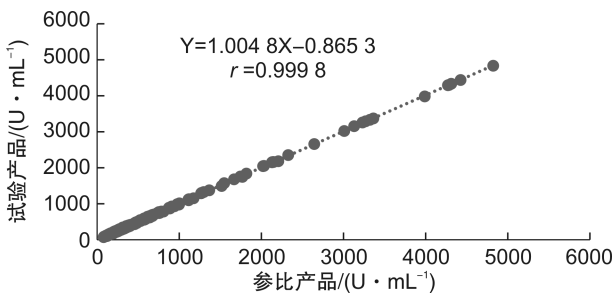


图 1 相关性分析图

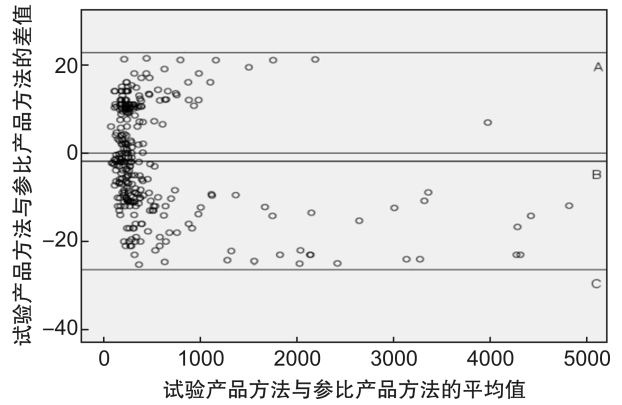


图 2 2 种试剂测定值差值的 Bland-Altman 图

2.5 临床试验结果分析

依据参比产品和试验产品医学决定水平 500 U/mL 来判定阴阳性,高于 X_c 为阳性,低于 X_c 为阴性。对 300 例临床血清样本检测结果分析见表 1。试验产品与参比产品的检测结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 试验产品与参比产品的一致性检验发现 $\kappa = 0.965$, 认为试验产品与参比产品一致性良好。

2.6 干扰试验分析

血清样本加入干扰物质后,分别用 2 种试剂检测加入干扰物质后的样本,将 2 种试剂检测结果相互比较,试验产品与参比产品检测结果差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 2,证明试验产品与参比产品抗干扰能力一致。

表 1 试验产品和参比产品检测结果分析表

项目	分组	参比产品		κ	灵敏性/%	特异性/%	总符合率/%	P
		阳性例数	阴性例数					
试验产品	阳性例数	74	2	0.965	97.37 (93.84,100.00)	99.11 (95.58,100.00)	98.59 (95.06,100.00)	1.00
	阴性例数	2	222					

表 2 干扰试验方差分析

差异源	SS	DF	MS	F	P	Fcrit
组间	66.822 25	1	66.822 25	0.017 823	0.894 501	4.098 172
组内	142 471.6	38	3 749.252			
总计	142 538.4	39				

3 讨论

间质性肺炎、间质性肺疾病是一组主要累及肺泡腔和肺间质,导致肺泡-毛细血管功能单位丧失的弥漫性肺疾病。在病情发展的过程中,肺泡上皮细胞被损伤并释放促纤维化物质,这些物质诱导肺泡上皮间充质转化为肌成纤维细胞,再分泌过量的细胞外基质,在肺间质和肺泡沉积,导致不可逆转的肺脏结构重塑和功能丧失^[10]。这些改变严重者会影响患者的生存期。KL-6 在多种间质性肺病患者血清中明显升高,包括特发性肺纤维化、结缔

组织相关间质性肺病、药物诱导性间质性肺疾病、结节病及肺泡蛋白沉着症等;KL-6 能将间质性肺疾病和其他良性肺部疾病区别开来,当医学决定水平为 500 U/mL 时,其诊断间质性肺疾病的特异性和敏感性分别为 94.51% 和 77.75%^[11]。

除了作为诊断标志物外,KL-6 还能评估疾病的活动和预后。研究表明,血清中高水平的 KL-6 不仅见于间质性肺炎、间质性肺疾病,也见于一些抗合成酶综合征合并间质性肺疾病,高水平的 KL-6 与肺功能指标呈负相关,且提示患者预后较

差^[12];与单纯的风湿性关节炎患者比较,风湿性关节炎相关间质性肺疾病的患者 KL-6 水平明显升高,且与间质病变程度相关,其升高可能反映病变加重^[13];同样在结节病和结核病患者所致间质性肺疾病中,KL-6 水平变化能评估疾病的活动及生存预后^[14]。最新研究表明,严重新冠肺炎患者血清 KL-6 浓度显著升高^[15]。另外,间质性肺炎、间质性肺疾病等疾病的检查过程复杂,创伤性操作多不被患者及家属接受,故血清 KL-6 的出现对间质性肺疾病的临床诊断带来了十分重要的意义。目前市场上使用较多的唾液酸化糖链抗原测定试剂盒(胶乳凝集法),近年来也有一些国产 KL-6 检测试剂盒上市。本试剂盒是利用胶乳免疫比浊法配合 AU5831 全自动生化分析仪进行检测,评价了 300 例临床血清样本,对其临床检验效能做了初步评价。与采用胶乳凝集法的试剂盒比较,本试剂盒的检测结果一致。

试验结果表明,2 种试剂盒检测结果基本一致,相关性良好;离群值检查结果显示,所有试验结果均不离群;Bland-Altman 一致性分析表明 2 种试剂的所有检测结果均在 Bland-Altman 的 95% 一致性界限内,表明 2 种产品的测定结果一致性较好;医学决定水平(500 U/mL)处的预期偏倚分析显示,预期偏倚处的百分比为 0.307%,符合预期偏倚百分比的绝对值<20%的要求;干扰试验分析显示,2 种试剂盒检测结果差异无统计学意义。血清 KL-6 在间质性肺疾病患者中的表达水平显著高于健康人群。这提示本产品可适用于间质性肺疾病患者的诊断治疗。

本研究表明,试验产品和参比产品在临床应用中具有可比性,一致性较好,可用于临床检测。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Kohno N, Akiyama M, Kyoizumi S, et al. Detection of soluble tumor-associated antigens in sera and effusions using novel monoclonal antibodies, KL-3 and KL-6, against lung adenocarcinoma [J]. *JPN J Clin Oncol*, 1988, 18(3): 203-216.

[2] 蒋林娜, 邵春磊, 姜纹姣, 等. KL-6 在呼吸系统疾病中的研究进展[J]. *国际呼吸杂志*, 2019, 39(21): 5-5.

[3] 王妍亭, 颜浩, 韩娟, 等. KL-6 在部分肿瘤及间质性肺病中的应用进展[J]. *临床肺科杂志*, 2017, 22(2): 339-343.

[4] Kim YJ, Choe J, Moon SJ, et al. Blood KL-6 predicts prognosis in primary Sjögren's syndrome-associated interstitial lung disease[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 5343.

[5] 翟胜爽, 雷小红, 赵子铤, 等. 涎液化糖链抗原-6 在老年特发性肺纤维化诊治中的应用[J]. *中华老年病研究电子杂志*, 2020, 7(2): 26-31.

[6] Krouwer JS, Tholen DW, Garber CC, et al. Methods Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples[M]. 2nd ed. Approved Guideline; NCCLS document EP9-A2, 2002: 11-12.

[7] 陈明军, 张燕, 吕永磊. 梅毒化学发光与酶联免疫试剂的性能对比分析[J]. *临床血液学杂志*, 2022, 35(2): 126-129.

[8] 刘甜甜, 钟伟华, 陆梦洁, 等. 2014~2016 年中国 Bland-Altman 方法一致性评价的报告质量研究[J]. *中国循证医学杂志*, 2018, 18(1): 67-73.

[9] 陈家颖, 黄达, 耿帆, 等. 4 种新型冠状病毒核酸检测试剂的分析性能评价[J]. *临床血液学杂志*, 2022, 35(8): 547-551.

[10] Selman M, Pardo A. The leading role of epithelial cells in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Cell Signal*, 2020, 66: 109482.

[11] 范亚丽, 叶俏. 肺纤维化疾病诊断与风险预测的生物标志物[J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(12): 893-898.

[12] 孙迪, 程哲, 蒋天赐, 等. 肺功能和 KL-6 在抗合成酶综合征相关间质性肺疾病与特发性肺纤维化中的特点及临床意义[J]. *中华医学杂志*, 2020, 100(10): 748-752.

[13] Kim HC, Choi KH, Jacob J, et al. Prognostic role of blood KL-6 in rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease[J]. *PLoS One*, 2020, 15(3): e0229997.

[14] Hu Y, Wang L S, Jin YP, et al. Serum Krebs von den Lungen-6 level as a diagnostic biomarker for interstitial lung disease in Chinese patients[J]. *Clin Respir J*, 2017, 11(3): 337-345.

[15] Peng DH, Luo Y, Huang LJ, et al. Correlation of Krebs von den Lungen-6 and Fibronectin with pulmonary fibrosis in Coronavirus Disease 2019 [J]. *Clin Chim Acta*, 2021, 517(8): 48-53.

(收稿日期: 2022-09-02 修回日期: 2022-11-09)

(上接第 120 页)

[13] Lim TB, Foo SYR, Chen CK. The Role of Epigenetics in Congenital Heart Disease [J]. *Genes (Basel)*, 2021, 12(3): 390.

[14] Nezami A, Heidari G, Tarhani F, et al. Prevalence of Congenital Heart Disease among Children in Khorramabad (West of Iran) [J]. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 2021, 21(1): 61-65.

[15] Waern M, Mellander M, Berg A, et al. Prenatal detec-

tion of congenital heart disease—results of a Swedish screening program 2013-2017 [J]. *BMC Pregnancy Childbirth*, 2021, 21(1): 579.

[16] 万楠, 王璐, 孟冬娅, 等. 血浆 miR-324-5p 对单纯性先天性心脏病预后风险分级的评估[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(5): 603-605.

(收稿日期: 2022-07-08 修回日期: 2022-08-27)