

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΔΥΟ ΑΥΤΟΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΕΙΔΙΚΟΥ ΠΡΟΣΤΑΤΙΚΟΥ ΑΝΤΙΓΟΝΟΥ (PSA) ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

ΜΠΕΝΟΥ Ν.¹, ΠΑΠΑΝΔΡΕΟΥ Α.¹, ΜΗΤΡΟΠΟΥΛΟΣ Χ.², ΠΟΥΛΑΚΗ Ε.¹, ΠΡΙΓΚΟΣ Ν.^{1,3}, ΛΥΚΟΚΑ Ε.¹, ΠΠΕΡΑΚΗ Κ.¹, ΣΤΑΘΑΚΗ-ΦΕΡΛΕΡΙΓΟΥ Α.¹

¹ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ, Α.Ο.Ν.Α. «Ο ΑΓΙΟΣ ΣΑΒΒΑΣ»

² MEDICON HELLAS SA

³ ΕΝΔΡΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ, Α.Ο.Ν.Α. «Ο ΑΓΙΟΣ ΣΑΒΒΑΣ»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) είναι ένας βιοχημικός δείκτης που συνεισφέρει μαζί με άλλες διαγνωστικές πρακτικές στην πρώιμη ανίχνευση του καρκίνου του προστάτη. Η μέτρηση αυτού του δείκτη στο αίμα μπορεί να γίνει με μια ποικιλία ανοσοχημικών αναλύσεων, με συνέπεια το αποτέλεσμα για ένα δείγμα να διαφοροποιείται ανάλογα με τη μέθοδο που εφαρμόζεται, δημιουργώντας προβλήματα στις ιατρικές εκτιμήσεις.

Στην παρούσα μελέτη σκοπός μας ήταν η σύγκριση μιας «καθιερωμένης» μεθόδου προσδιορισμού του ολικού PSA στο αίμα, της ανοσοχημικής μεθόδου με ηλεκτροχημειοφωταύγεια του ανοσολογικού αναλυτή Cobas της Roche με την ανοσοθολωσιμετρική μέθοδο του βιοχημικού αναλυτή Olympus AU640 της Medicon.

Δείγματα ορών 102 ανδρών που εξετάστηκαν στο Νοσοκομείο μας μετρήθηκαν ταυτόχρονα και με τις δυο μεθόδους. Η περιοχή συγκεντρώσεων PSA που καλύφθηκε ήταν από 0,10 έως 10 ng/mL.

Η μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έδειξε πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των δυο μεθόδων (συντελεστής $r=0,98$). Η εξίσωση της ευθείας γραμμικής παλινδρόμησης ήταν: (Olympus) = 1,12(Cobas) + 0,92. Στο διάγραμμα διαφορών Bland-Altman φάνηκε πως, σε όλο το εύρος των συγκεντρώσεων, η μέθοδος της Medicon παρουσιάζει θετική απόκλιση που μάλιστα αυξάνεται αναλογικά. Υπολογίστηκε το αναλυτικό συστηματικό σφάλμα των δυο μεθόδων σε δυο κρίσιμες, από ιατρική άποψη, συγκεντρώσεις PSA και βρέθηκε να κυμαίνεται από 27 μέχρι 55%, τιμές που υπερβαίνουν το ανώτατο επιτρεπτό όριο που προκύπτει από τα δεδομένα βιολογικής μεταβλητότητας.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχνουν πως η απόδοση των δυο μεθόδων δεν είναι δυνατό να θεωρηθεί ισοδύναμη. Με δεδομένη όμως την μεγαλύτερη ευκολία και το χαμηλότερο κόστος της μεθόδου του αναλυτή Olympus αξίζει να διερευνηθούν περισσότερο οι όροι εφαρμογής της στο εργαστήριο.

ABSTRACT

Prostate Specific Antigen (PSA) is a valuable tumor marker for prostate cancer. Together with a digital rectal examination, PSA measurement can be used for the early detection of prostate cancer. The aim of the current study was the comparison of the well established electrochemiluminescence immunoassay of Cobas 6000 (Roche) with an immunoturbidimetric method on Olympus AU 640 analyzer (Medicon). We tested 102 samples with PSA concentrations ranging from 0,10 to 10,00 ng/mL.

Linear regression analysis was performed with the Cobas 6000 method being the comparison method. Differences between test and comparison method were estimated at 2,50 and 4,00 ng/mL PSA concentrations and they were found exceeding the limits imposed by the biological variation databases. As the predicted differences are greater than the acceptable ones, the test method could not be considered equivalent to the comparison method, so the terms for its application in the laboratory should be further investigated.

1.Εισαγωγή

Ο καρκίνος του προστάτη είναι μια από τις κυρίες αιτίες νοσηρότητας και θανάτου για τους άνδρες της Ευρώπης και των ΗΠΑ. Στην πρόωμη ανίχνευση του καρκίνου του προστάτη, μαζί με τις άλλες διαγνωστικές μεθόδους, μπορεί να συμβάλλει και η μέτρηση στον ορό του αίματος ενός βιοχημικού δείκτη, του ειδικού προστατικού αντιγόνου (PSA) (Shariat et al., 2008). Το PSA υπάρχει στο αίμα σε διάφορες ισομορφές, αλλά εκείνες που επικρατούν ποσοτικά, είναι δύο: η μορφή του που είναι συμπλεγμένη με την α1-αντιχυμοθρυψίνη (complexed PSA) και η ελεύθερη (free PSA).

Ο ποσοτικός προσδιορισμός του PSA στο αίμα βασίζεται στην ανοσοχημική ανίχνευση αυτών των δύο επικρατούντων ισομορφών του και για το σκοπό αυτό έχει αναπτυχθεί μια αρκετά μεγάλη ποικιλία αυτοματοποιημένων αναλυτικών τεχνικών. Όμως, η ποικιλία των μεθόδων έχει οδηγήσει και σε ποικιλία αποτελεσμάτων για το ίδιο δείγμα, μια κατάσταση που εξακολουθεί να υπάρχει ακόμα και μετά τη χρήση του του κοινού βαθμονομητή WHO 96/670, που παρασκευάστηκε με την εποπτεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, (Stamey et al., 2000, Roddam et al., 2006).

Στην παρούσα μελέτη σκοπός μας ήταν η σύγκριση μιας «καθιερωμένης» μεθόδου προσδιορισμού του ολικού PSA στο αίμα, της ανοσοχημικής μεθόδου με ηλεκτροχημειοφωταύγεια του ανοσολογικού αναλυτή Cobas της Roche με μια νέα ανοσοθολωσιμετρική μέθοδο, η οποία εφαρμόστηκε στο βιοχημικό αναλυτή Olympus AU 640 της Medicon. Ο απώτερος στόχος μας ήταν η εκτίμηση του μεγέθους των συστηματικών διαφορών μεταξύ των δυο μεθόδων και η επίδραση του στην κλινική εφαρμογή της νέας μεθόδου.

2.Υλικά-Μέθοδοι

Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων στους δυο αναλυτές υπολογίστηκε με την ανάλυση ορών ελέγχου δυο διαφορετικών συγκεντρώσεων (Roche Diagnostics).

Για το πείραμα σύγκρισης των δυο αναλυτικών μεθόδων χρησιμοποιήθηκαν 102 δείγματα ορού ασθενών του νοσοκομείου μας, τα οποία μετρήθηκαν ταυτόχρονα στον Cobas 6000 (Roche Diagnostics) και στον Olympus AU640 (Medicon). Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων σε PSA κυμαίνονταν από 0,10 ng/mL έως 10,87 ng/mL, μετρημένα στον Cobas 6000.

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα Analyse-it, version 1,73 (Analyse-it Software, Leeds, UK). Ο υπολογισμός των συστηματικών διαφορών σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις PSA μαζί με τα αντίστοιχα διαστήματα αξιοπιστίας έγιναν σύμφωνα με τις οδηγίες του κειμένου EP9-A2 του NCCLS (NCCLS, 2002).

3. Αποτελέσματα

Στον Πίνακα I παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του ελέγχου της επαναληψιμότητας των μετρήσεων, από μέρα σε μέρα, για τις δυο μεθόδους. Οι συντελεστές διακύμανσης (CV) που βρέθηκαν είναι παραπλήσιοι με αυτούς που δίνονται από τους κατασκευαστές, για τις αντίστοιχες αναλυτικές μεθόδους.

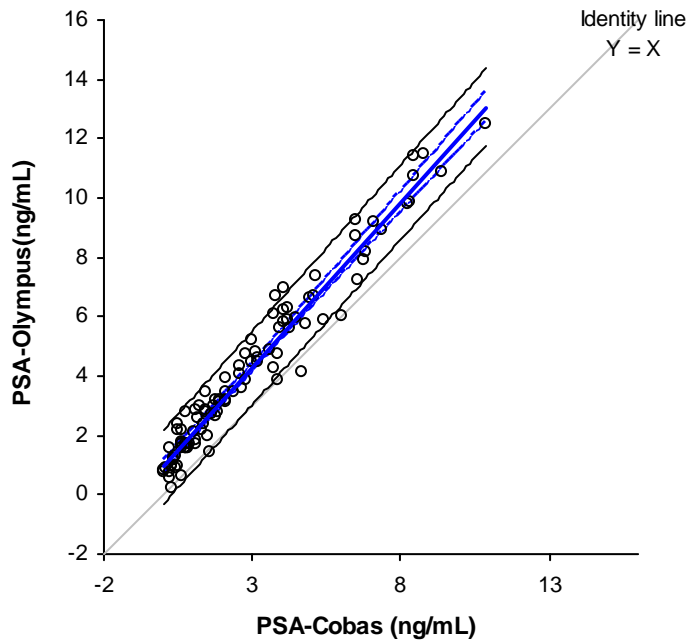
Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης συνοψίζεται στο Σχήμα 1. Η συσχέτιση ανάμεσα στις δυο μεθόδους είναι πολύ καλή (συντελεστής Pearson: 0,98, $p < 0,0001$) και η ευθεία γραμμικής παλινδρόμησης έχει κλίση 1,12 (95%CI: 1,07-1,16) και τομή στον άξονα των y, 0,92 (95%CI: 0,74-1,10).

Για να εκτιμηθεί το κατά πόσο συμφωνούν οι δυο μέθοδοι στη μέτρηση της προσδιοριζόμενης ουσίας χρησιμοποιήθηκε το διάγραμμα του Σχήματος 2, στο οποίο απεικονίζονται οι διαφορές των μετρήσεων ως προς τους αντίστοιχους μέσους όρους. Στο διάγραμμα φαίνεται πως, σε όλο σχεδόν το εύρος των συγκεντρώσεων PSA, υπάρχει θετική απόκλιση της μεθόδου του Olympus AU640, με μέση τιμή αυτής της διαφοράς αυτής τα 1,25 ng/mL.

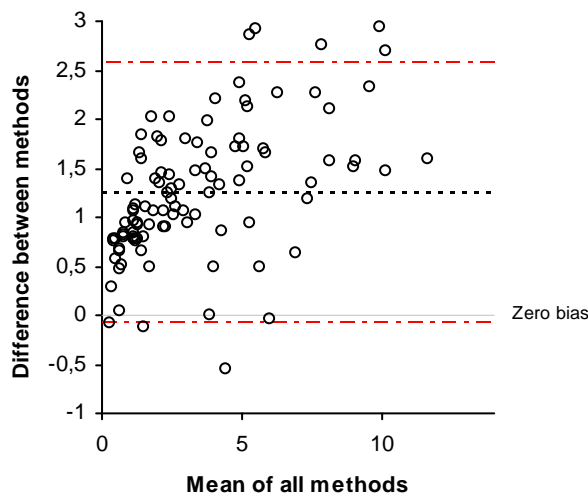
Στο Σχήμα 3, στο οποίο οι διαφορές μεταξύ των μεθόδων εμφανίζονται ως εκατοστιαία ποσοστά, φαίνεται πως η μέθοδος του αναλυτή Olympus μπορεί να δώσει μετρήσεις ακόμα και 100% υψηλότερες από αυτή του Cobas, σε συγκεντρώσεις μικρότερες του 1ng/mL. Οι εκατοστιαίες διαφορές σταθεροποιούνται για συγκεντρώσεις PSA μεγαλύτερες από 3 ng/mL.

Πίνακας Ι. Επαναληψιμότητα μεταξύ ημερών των μετρήσεων PSA στους δύο αναλυτές (n=10)

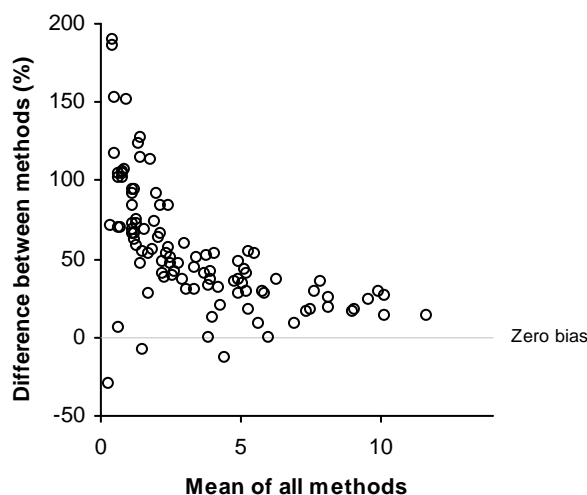
Αναλυτής	Ορός ελέγχου 1			Ορός ελέγχου 2		
	M.O.(ng/mL)	SD	CV(%)	M.O.(ng/mL)	SD	CV(%)
<i>Cobas 6000</i>	4,09	0,15	3,6	9,75	0,45	4,6
<i>Olympus AU640</i>	5,44	0,15	2,8	11,42	0,24	2,1



Σχήμα 1. Διάγραμμα σύγκρισης των μεθόδων προσδιορισμού του PSA στους αναλυτές Olympus και Cobas. Η ευθεία γραμμικής παλινδρόμησης είναι $y=1,12x+0,92$ και ο συντελεστής $r=0,98$.



Σχήμα 2. Διάγραμμα των διαφορών (Altman Bland) των δυο μεθόδων ως προς το μέσο όρο των μετρήσεων.



Σχήμα 3. Εκατοστιαίες διαφορές των μετρήσεων των δυο μεθόδων ως προς το μέσο όρο τους

Με τα δεδομένα της ανάλυσης παλινδρόμησης και σύμφωνα με τις οδηγίες που αναφέρονται στο κείμενο του NCCLS, υπολογίστηκαν οι διαφορές των δύο μεθόδων στις κρίσιμες συγκεντρώσεις των 2,5 και 4,0 ng/mL PSA και παραθέτονται στον Πίνακα II.

Πίνακας II. Αποκλίσεις των δυο μεθόδων προσδιορισμού του PSA, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις

<i>Κρίσιμη συγκέντρωση PSA (ng/mL)</i>	<i>Διαφορά (95% διάστημα αξιοπιστίας) (ng/mL)</i>	<i>Απόκλιση (%)</i>
2,50	1,21 (1,05-1,37)	42-55
4,00	1,39 (1,09-1,69)	27-42

4.Συζήτηση

Στη βιβλιογραφία έχει πλέον καλά τεκμηριωθεί η διαφοροποίηση των μετρήσεων PSA στον ορό ανάλογα με την εφαρμοζόμενη μέθοδο. Το είδος των αντισωμάτων έναντι του PSA, η διαδικασία της ανάλυσης (π.χ. ο χρόνος επώασης ή το μέγεθος μικροσωματιδίων), ο χρησιμοποιούμενος βαθμονομητής καθώς και το σύστημα ανίχνευσης του σήματος συμβάλλουν στην εμφάνιση των αποκλίσεων μεταξύ των μεθόδων. Η εισαγωγή του βαθμονομητή WHO 96/670 σε κάποια αναλυτικά συστήματα μείωσε τις διαφορές, αλλά η πλήρης εναρμόνιση των μεθόδων φαίνεται να είναι ακόμα μακριά (Kort et al., 2006, Slev et al., 2008).

Στην συγκεκριμένη μελέτη οι δύο μέθοδοι προσδιορισμού του PSA έχουν πολύ καλή συσχέτιση, όμως οι διαφορές τους στις κρίσιμες για τη λήψη αποφάσεων, συγκεντρώσεις των 2,50 και 4,00 ng/mL ξεπερνούν κατά πολύ τη μέγιστη επιτρεπτή διαφορά του 19%, που προτείνεται με βάση τα δεδομένα βιολογικής διακύμανσης για το PSA (Soletormos et al., 2005). Οποσδήποτε, οι δυο μέθοδοι δεν μπορεί να θεωρηθούν ισοδύναμες στην κλινική εφαρμογή, δηλαδή, δεν είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν αδιακρίτως για την παρακολούθηση ασθενών, ή για την κατάταξη τους σε ομάδες που έχουν ανάγκη από παραπέρα διερεύνηση για ενδεχόμενο καρκίνο του προστάτη.

Με δεδομένη όμως την μεγαλύτερη ευκολία και το χαμηλότερο κόστος της ανοσοχλωσιμετρικής μεθόδου του αναλυτή Olympus αξίζει να εξεταστούν πιο προσεκτικά οι συνθήκες εφαρμογής της στο εργαστήριο. Για παράδειγμα, μια πιθανή λύση θα ήταν η εξέταση

της διαγνωστικής ευαισθησίας και ειδικότητας της μεθόδου και δημιουργία τιμών αναφοράς προσαρμοσμένων στη συγκεκριμένη μέθοδο.

5. Βιβλιογραφία

- Kort S., Martens F., Vanpoucke H., van Duijnhoven H. and Blankenstein M.A., “Comparison of 6 Automated Assays for Total and Free Prostate-Specific Antigen with Special Reference to Their Reactivity toward the WHO 96/670 Reference Preparation”, *Clinical Chemistry*, 52 (2006), 1568.

-NCCLS (The National Committee for Clinical Laboratory Standards), Document EP9-A2 “Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples: Approved Guideline-Second Edition”, Pennsylvania, USA, 2002.

-Shariat S.F., Scardino P.T. and Lilja H., “Screening for Prostate Cancer: An Update”, *Can. J. Urol.*, 15(6) (2008), 4363.

-Slev P.R., La’ulu S.L. and Roberts W.L., “Intermethod Differences in Results for Total PSA, Free PSA and Percentage of Free PSA”, *Am. J. Clin. Pathol.*, 129 (2008), 952.

-Soletormos G., Semjonow A., Sibley P., Lamerz R., Petersen P.H., Albrecht W., Bialk P., Gion M., Junker F., Schmid H-P. and Van Poppel H., “Biological Variation of Total Prostate – Specific Antigen: A Survey of Published Estimates and Consequences for Clinical Practice”, *Clinical Chemistry*, 51(8) (2005), 1342.

-Stamey T.A., Chen Z. and Prestigiacomo A.F., “Reference material for PSA: the IFCC standardization study. International Federation of Clinical Chemistry, *Clin. Biochem.*, 31 (1998), 475.

-Roddam A.W., Rimmer J., Nickerson C. and Ward A.M., “Prostate-specific antigen: bias and molarity of commercial assays for PSA in use in England”, *Ann. Clin. Biochem.*, 43 (2006), 35.

