

电化学发光法测定鳞状上皮细胞癌抗原的性能验证

杜秀环,陶 耕[△]

福建医科大学附属第二医院检验科,福建泉州 362000

摘 要:**目的** 对电化学发光法检测鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)进行性能验证。**方法** 依据美国临床实验室标准化委员会系列文件,对电化学发光法检测 SCCA 的精密度、正确度、线性范围、参考区间及可报告范围进行验证和评价。**结果** 电化学发光法检测 SCCA 高、低值质控血清批内变异系数(CV)分别为 1.20%和 2.19%,批间 CV 分别为 2.72%和 5.43%,均小于厂家声明的不精密度;正确度验证试验中高、低值质控血清相对偏差分别为 0.98%和 3.68%,均<1/2 允许总误差;线性回归方程和判定系数为 $Y=1.020\ 3X-0.277\ 9$, $r^2=0.998\ 5$,线性范围为 0.142~58.120 ng/mL;20 例健康体检者检测结果均在厂家提供的参考区间内,可报告范围上限为 944.000 ng/mL。**结论** 电化学发光法检测 SCCA 的验证指标均达到规定要求,可用于临床检测。

关键词:电化学发光法; 鳞状上皮细胞癌抗原; 性能验证
中图法分类号:R446.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2020)02-0186-04

Performance of electrochemiluminescence techniques in determination of squamous epithelial cell carcinoma antigens

DU Xiuhuan,TAO Geng[△]

Department of Clinical Laboratory,Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University,
Quanzhou,Fujian 362000,China

Abstract: Objective To verify the performance of electrochemiluminescence in the detection of squamous cell carcinoma antigen (SCCA). **Methods** Precision, accuracy, linear range, reference range and reducible range of electrochemiluminescence for SCCA were verified and evaluated according to the NCCLS series of documents. **Results** The within-assay coefficient of variation (CV) of high and low value quality control products by electrochemiluminescence in detecting SCCA were 1.20% and 2.19% respectively, and inter-assay of CV were 2.72% and 5.43% respectively, which were all lower than imprecision that manufacturer's stated. In the test of accuracy verification, the relative deviation of the high and low value quality control serum were 0.98% and 3.68% respectively, both were lower than 1/2 of the total allowable error (TEa). The linear regression equation and the determination coefficient were $Y=1.020\ 3X-0.277\ 9$, $r^2=0.998\ 5$, and the linear range was 0.142—58.120 ng/mL. The test results of 20 healthy subjects were all within the reference range provided by the manufacturer. The upper limit of the reportable range was 944.000 ng/mL. **Conclusion** Electrochemiluminescence technique can be used in clinical detection of SCCA.

Key words: electrochemiluminescence; squamous epithelial cell carcinoma antigens; performance validation

鳞状上皮细胞癌抗原(SCCA)是 1977 年由 KA-TO 等^[1]从子宫颈鳞状上皮细胞癌组织分离的 TA-4 的一个亚片段,TA-4 是相对分子质量为 48×10^3 的糖蛋白,该蛋白是一种癌抗原。SCCA 以 SCCA1 和 SCCA2 两种亚型存在,两种亚型均在肺、外阴、宫颈下部、食管和皮肤的鳞状上皮细胞中共同表达,而且均可在血清中被检测到。在鳞状上皮细胞癌(SCC),特别是肺癌、宫颈癌患者血液中两种 SCCA 亚型水平均有升高。近年来众多文献表明,SCCA 血清水平与

肺癌和宫颈癌的肿瘤分期、大小、治疗后残余肿瘤、复发或进展、生存率相关^[2-4]。德国罗氏诊断公司近来推出电化学发光法检测 SCCA 试剂盒,本实验室拟开展此项目,根据 ISO15189 实验室认可的要求^[5],验证检测系统的基本分析性能符合本实验室及临床需求,与厂家资料一致,才可用于临床检测。因此,本实验室对罗氏电化学发光法检测 SCCA 的精密度、正确度、线性范围、参考区间及可报告范围进行验证,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 8 月 1 日至 11 月 30 日在本院就诊的患者和健康体检者血清,标本无溶血、黄疸及乳浊。

1.2 仪器与试剂 罗氏公司 Cobas e601 全自动电化学发光免疫分析仪,所用试剂为其原装配套试剂(批号 32267301)、标准品(批号 33315501)、质控品(批号 29984599)。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 根据 CLSI EP15-A3 文件要求^[6],选择低浓度和高浓度质控品,每种浓度每天重复测定 4 次,连续测定 4 d,分别计算 $\bar{x}$ 、s 和变异系数(CV)。判断标准为批内 CV 及批间 CV 均小于试剂说明书要求的 CV。

1.3.2 正确度验证 根据 CLSI EP15-A3 文件要求^[6],选择德国罗氏公司提供的具有定值的两种浓度质控品,连续检测 3 次,取平均值,计算其绝对值和相对偏差,绝对值=测定值-靶值,相对偏差=绝对值/靶值×100%。若相对偏差≤1/2 允许总误差(TEa),结果可接受,其正确度被认可。

1.3.3 线性范围验证 根据 NCCLS EP6-A 文件要求^[7],选择低浓度(L)和高浓度(H)两种浓度的患者标本各 1 份,并且要求其分别接近厂家提供的参考范围的下限和上限,按 5L、4L+H、3L+2H、2L+3H、L+4H、5H 配制成 6 种浓度的血清,每种浓度的血清连续检测 2 次,取其平均值作为实测值,并计算每种

浓度的预期值。判断标准:将实测值与预期值进行回归统计,若斜率在 0.97~1.03, $r^2 \geq 0.975\ 0$,则为线性范围验证通过。

1.3.4 参考区间验证 选择本院健康体检者血清标本 20 份,男女各 10 份,年龄 18~65 岁。参考 NCCLS C28-A2 文件^[8],如果 20 例受试者中≤2 例的检测结果不在厂家提供的参考区间内,则说明本实验室可直接引用试剂说明书提供的 95%置信区间。

1.3.5 可报告范围验证 收集临床高值标本 1 份,其浓度为 60 ng/mL,用厂家配套的稀释液分别以 1:2、1:4、1:8、1:16 进行手工稀释,并重复检测 2 次,取其平均值,同时将高值标本原倍检测 2 次,取其平均值作为标本靶值。根据稀释倍数计算其目标值,回收率=测定均值/目标值×100%,回收率允许误差为 80%~120%。回收率在允许误差范围的最大稀释比例参考临床可报告范围上限计算。可报告范围上限=最大稀释倍数×标本靶值。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2007 软件及 SPSS 21.0 软件进行数据统计分析处理,计算相关系数和回归分析。

2 结果

2.1 精密度验证 见表 1。SCCA 低值和高值质控血清批内 CV 分别为 2.19%、1.20%,均小于厂家试剂说明书的 5.00%、6.50%;批间 CV 分别为 5.43%、2.72%,符合厂家提供的批间 CV<10.00%。

表 1 批内及批间不精密度比较

SCCA 质控 血清	批内				批间			
	测定均值(ng/mL)	标准差(ng/mL)	CV(%)	厂家声明 CV(%)	测定均值(ng/mL)	标准差(ng/mL)	CV(%)	厂家声明 CV(%)
低值	1.97	0.043	2.19	<5.00	1.97	0.107	5.43	<10.00
高值	19.28	0.230	1.20	<6.50	19.28	0.524	2.72	<10.00

2.2 正确度验证 见表 2。SCCA 低值和高值质控血清测定均值均在允许范围内,其相对偏差分别为 3.68%、0.98%,相对偏差均小于 1/2TEa,验证通过。

表 2 正确度验证结果

SCCA 质控血清	验证值 (ng/mL)	靶值 (ng/mL)	允许范围 (ng/mL)	绝对值 (ng/mL)	相对偏差 (%)
低值	1.97	1.90	1.50~2.30	0.07	3.68
高值	18.52	18.70	14.8~22.6	0.18	0.98

2.3 线性范围验证 不同浓度范围血清检测均值与理论值见表 3,以理论值为 Y,实测值为 X 进行回归分析得线性方程:Y=1.020 3X-0.277 9, $r^2 = 0.998\ 5$,见图 1。其斜率为 0.97~1.03, $r^2 >$

0.975 0,验证试验得出的线性范围为 0.14~58.12 ng/mL,与厂家说明书提供的结果(0.10~70.00 ng/mL)比较一致。

表 3 线性范围验证结果(ng/L)

浓度	实测值 X	理论值 Y
5L	0.14	0.15
4L+1H	12.37	11.93
3L+2H	22.86	23.71
2L+3H	36.51	35.49
1L+4H	45.72	47.28
5H	58.12	59.06

2.4 参考区间验证 厂家试剂说明书提供的中国健

康个体 95% 参考范围为 2.7 ng/mL (95% CI: 2.2 ~ 3.3 ng/mL), 此次验证试验 20 例健康体检者 SCCA 检测值为 0.98 ~ 2.01 ng/mL, 均在厂家声明的参考区间范围内, 说明实验室可直接引用厂家提供的参考区间。

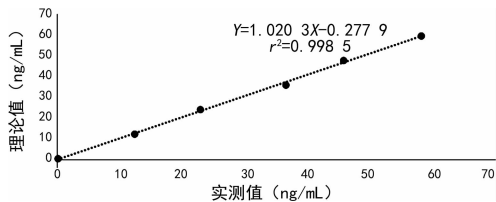


图 1 线性范围回归分析

2.5 可报告范围验证 收集到的临床高值标本浓度及其各稀释梯度的检测结果见表 4, 各稀释梯度检测结果的回收率均在 80% ~ 120%, 最大稀释比例为 1 : 16, 可报告范围上限为 $59 \times 16 = 944.00$ ng/mL。

表 4 可报告范围验证结果

稀释度	平均值 (ng/mL)	目标值 (ng/mL)	回收率 (%)
原倍	59.00	60.00	98.33
1 : 2	30.81	30.00	102.70
1 : 4	16.49	15.00	109.93
1 : 8	8.17	7.50	108.93
1 : 16	4.23	3.75	112.80

3 讨 论

SCCA 的生物功能是抑制酶活性, SCCA1 能抑制木瓜蛋白酶类半胱氨酸蛋白酶, SCCA2 能抑制糜蛋白酶类丝氨酸蛋白酶、组织蛋白酶 G 和胃促胰酶。在正常鳞状上皮细胞中, SCCA 可抑制细胞凋亡和参与鳞状上皮分化, 而在鳞状上皮细胞癌中, 其参与肿瘤细胞的生长增殖^[9-10], 是反映鳞癌生物学特性的重要肿瘤标志物之一。目前, SCCA 已广泛应用于鳞癌特别是肺癌和宫颈癌的疾病诊断、病情监测及疗效评价。

目前, 用于检测 SCCA 的免疫放射法因放射性同位素的辐射影响已逐渐遭到淘汰, 而 ELISA 重复性差, 操作复杂, 线性范围窄, 现较多实验室使用的是精确度高、检测快速的化学发光免疫分析法。电化学发光免疫分析是继放射免疫分析、酶联免疫分析、荧光免疫分析和化学发光免疫分析之后发展起来的一项最新免疫测定技术, 该方法灵敏度高、特异性强且检测快速, 为免疫诊断提供了一个新方向。电化学发光法检测 SCCA 能以等摩尔方式检测人血清和血浆中 SCCA 总量 (SCCA1 和 SCCA2)。根据 ISO15189: 2007《医学实验室质量和能力认可准则》要求, 临床实验室在使用新的检测试剂或系统时, 应对厂家声明的各项性能指标进行验证。本研究主要针对电化学发光法检测 SCCA 的精密度、正确度、线性范围、参考区间及可报告范围进行验证。

在正确度验证试验和精密度验证试验中, 本研究均采用了试剂配套的质控品。正确度是检测结果与被测量物真值之间的接近程度, 以偏差来表示, 偏差越大正确度越差。在正确度验证检测中, 将检测结果与厂家给定的质控品靶值进行比较, 其低值与高值检测结果均在允许范围内, 相对偏差分别为 3.68% 和 0.98%, 均小于 $1/2TEa$, 表明该检测系统性能良好, 正确度较高。精密度是在规定条件下获得的独立测量结果之间的接近程度, 通常用 CV 表示。在该验证试验中, SCCA 低值与高值质控品批内 CV 分别为 2.19%、1.20%, 批间 CV 分别为 5.43%、2.72%, 均小于厂家提供的参数。低值 SCCA 批间 CV 相对较高, 可能与其浓度较低及挥发有关。

线性范围是整个检测系统对应于系列分析浓度的仪器最终输出的信号间是否呈恒定比例的性能, 是一项很重要的检测系统性能分析指标。每个实验室的检测系统实际条件各不相同, 因此, 应建立自己的线性参数, 不应该直接引用厂家的线性范围。本研究的线性范围为 0.14 ~ 58.12 ng/mL, 与厂家说明书提供的 0.10 ~ 70.00 ng/mL 比较一致, 因此高于此检测上限的标本应进行稀释后再测定, 才能得到可靠的结果。由于各个地区环境、人们生活习惯等不同, 因此生理生化指标也不同, 推荐每个实验室应根据目标人群建立各自的期望参考范围。由于试剂成本较高, 以及各方面因素限制, 本实验室拟采用试剂说明书提供的参考区间并进行验证。本研究选取的 20 例健康个体 SCCA 检测结果均在厂家提供的参考区间内, 因此, 本实验室可直接引用试剂说明书提供的 95% 置信区间。在可报告范围验证中, 由于可收集到的高值标本受限, 只收集到 60.00 ng/mL 标本 1 例, 用此标本进行验证得到 SCCA 的可报告范围上限为 944.00 ng/mL。

综上所述, 电化学发光法检测 SCCA 的主要性能指标达到了厂家说明参数或相关指标, 能满足临床检测的要求, 可用于临床检测。

参考文献

[1] KATO H, TORIGOE T. Radioimmunoassay for tumor antigen of human Cervical squamous cell carcinoma[J]. Cancer, 1977, 40(1): 1621-1628.

[2] HOLDENRIEDER S, MOLINA R, QIU L, et al. Technical and clinical performance of a new assay to detect squamous cell carcinoma antigen levels for the differential diagnosis of cervical, lung, and head and neck cancer[J]. Tumor Biology, 2018, 40(4): 1-13.

[3] 吴凤丽, 马晓光. 血清四项肿瘤标志物检测对肺癌的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(18): 2462-2463.

[4] 余晓辉, 周阳春. SCCA、TSGF 和 CA125 在宫颈癌患者血清中的表达水平及其与宫颈癌分期的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9): 1131-1134. (下转第 191 页)

对照组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。而糖代谢、脂代谢异常对于心血管疾病患者而言属于独立危险因素^[4]。FBG、血脂异常是脑卒中发病与进展的相关因素,其中血脂水平对脑卒中、冠心病等易感人群的预测及筛选有良好价值^[5]。有研究表明,近 30 年来,中国人群血脂水平逐渐升高,成年人血脂异常总患病率高达 40.4%,血脂异常人群缺血性心血管疾病风险增加 50%^[6]。尽管男性高尿酸血症与年龄相关性较弱^[7],但与心血管疾病之间的关系日益受到广泛关注^[8]。高尿酸的临床发生率呈逐年升高趋势,且与痛风、肾脏疾病、代谢性疾病、心脑血管疾病等存在密切关联^[9]。

A1、A2、A3、A4、A5 组 UA 测定结果均高于对照组,且 A3、A5 组与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),与史丽璞等^[10]报道结果一致。何帆^[11]报道显示,可将 UA 水平作为高血压、高血脂、肥胖症等的预测因子之一。尽管 FBG 所有组测定水平相关性较弱,但 A1、A2、A3、A4、A5 组均高于对照组,与 UA、血脂组类似,随着 Hb 水平增高呈上升趋势。

A1、A2、A3、A4、A5 组各参数异常百分数除 A5 组统计样本数随 Hb 水平升高而升高,且均高于对照组。A1、A2、A3、A4、A5 组与对照组 TG 异常百分数比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),除 A5 组外,TC 异常百分数与对照组比较,差异也均有统计学意义($P<0.05$)。由此表明,成年男性 Hb 水平升高与其血脂所占人群的百分比升高高度相关,而 A1 组与 A4 组 FBG 与 TC 异常百分数比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),表明 Hb $>175\sim180$ g/L 的成年男性比 Hb $>160\sim165$ g/L 时具有更高出现 FBG 与 TC 升高的风险。本研究结果显示,成年男性 Hb 水平升高与其生化项目 FBG、UA 及血脂的变化有一定相关性,而目前这些生化项目的检测已广泛应用于非传

性流行病的辅助诊断。

因此,当成年男性血常规检测出现 Hb 水平升高时,有必要进一步进行 FBG、UA 及血脂检测,作为诊断非传染性流行病的初筛检测项目。

参考文献

- [1] 刘艳,智永超.高尿酸血症联合血脂血糖对冠心病的诊断价值研究[J].中国现代药物应用,2017,11(4):79-80.
- [2] 邓丽萍.全民健康体检人群尿酸、血糖及血脂水平研究[J].世界最新医学信息文摘,2018,18(83):206.
- [3] PALMER S C, NAVANEETHAN S D, CRAIC J C, et al. Meta-analysis: e-rythropoiesis-stimulating agents in patients with chronic kidney disease [J]. Ann Intern Med, 2010, 153(1):23-33.
- [4] 唐亚楠.19~44 岁门诊就诊者 3 180 例空腹血糖及血脂结果分析[J].深圳中西医结合杂志,2018,28(8):69-70.
- [5] 林健贤.血脂、血糖与脑卒中的病因学关系探讨[J].深圳中西医结合杂志,2018,28(15):33-35.
- [6] 李旭琴,周建红,李萍,等.药学服务对社区老年慢性病患者尿酸、血糖、糖化血红蛋白及血脂的影响[J].世界临床药物,2018,39(6):403-406.
- [7] 王岚,叶山东,陈超,等.血尿酸与其他代谢指标的相关性研究[J].中国临床保健杂志,2017,20(4):424-426.
- [8] 邢淑清,田永芳,郭艳英,等.2 型糖尿病患者血脂、尿酸检测的临床分析[J].医学检验与临床,2016,27(9):12-13.
- [9] 李辉,王婷婷,魏佳.老年高尿酸血症人群血脂和血糖监测地价值[J].江苏医药,2016,42(20):2246-1148.
- [10] 史丽璞,张露月,郇稳,等.8 906 例健康人群血尿酸与性别、年龄、血脂、肝功能、血糖、体质量指数的相关性研究[J].风湿病与关节炎,2017,6(10):41-43.
- [11] 何帆.高尿酸血症与骨质疏松、高血糖、肥胖等在体检人群中的相关性研究[J].中外医学研究,2017,15(28):156-157.

(收稿日期:2019-05-28 修回日期:2019-09-11)

(上接第 188 页)

- [5] 丛玉隆,邓新立.实验室 ISO15189 认可对学科建设的几点启示[J].中华检验医学杂志,2007,30(2):128-131.
- [6] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of precision and estimation of bias; approved guideline-third edition; EP15-A3[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014.
- [7] National Lommittee for Clinical Laboratory Standards. Evaluatin of the linearity of quantitative measurement procedures; a statistical approach; approved guideline: EP6-A[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.
- [8] National Lommittee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the

clinical laboratory; apporved guideline-second edition; C28-A2[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2000.

- [9] CHARAKORN C, THADANIPON K, CHAIJINDARA-TANA S, et al. The association between serum squamous cell carcinoma antigen and recurrence and survival of patients with cervical squamous cell carcinoma; a systematic review and meta-analysis [J]. Gynecologic Oncology, 2018, 150(1), 190-200.
- [10] 许利芳,胡克.血清 CEA、SCCA、CYFRA21-1、NSE 与血浆 D-D 联合检测对肺癌诊断的临床意义[J].临床肺科杂志,2017,22(2):233-237.

(收稿日期:2019-05-26 修回日期:2019-09-06)