

3 讨 论

心磷脂是一种具有抗原性的磷脂,在哺乳动物心肌和骨骼肌中含量最高。SLE^[1]、反复流产^[2]、乙型肝炎^[3]等疾病患者体内可检出 ACA。本研究采用 ELISA 检测的 ACA 以血小板和内皮细胞膜上带负电荷的心磷脂为靶抗原,结果 TRUST 阳性 TP 感染患者、反复流产患者、乙型肝炎患者 ACA 阳性率均高于健康者。TRUST 检测原理是用提取自牛心肌的心磷脂,经耦合卵磷脂和胆固醇后悬于含有甲苯胺红的特制溶液中,如血清标本中含有相应抗体则形成可见的凝集颗粒^[4]。本研究中,TP 感染患者 TRUST 阳性率为 40.0%,SLE 患者 TRUST 阳性率为 4.2%,但滴度均较低,其他疾病患者中未检出 TRUST 阳性者,说明 EALIA 和 TRUST 检测的 ACA 并不完全相同,具有明显异质性^[5-6],以 TRUST 诊断 TP 感染可能存在一定比例的假阳性^[7-8]。

普遍认为 TP 感染机体后可造成宿主细胞破坏,导致心磷脂被释放,刺激机体产生 ACA^[9]。另有学者认为 TP 本身释放的心磷脂抗原可刺激机体产生抗梅毒心磷脂抗体^[10]。本研究以 ELISA 和 TRUST 检测在 TP 感染者中检出一定比例的 ACA 阳性患者,且 TPPA 和 TRUST 均为阳性的患者中,TRUST 滴度与 ELISA 检测 ACA 阳性率呈正相关;在其他疾病患者中,ELISA 检测 ACA 呈不同程度阳性,但 TRUST 检测结果几乎均为阴性,考虑可能与 TP 感染者体内存在两种不同来源的 ACA 有关。

参考文献

- [1] 张晓梅,夏小明,连金泉,等. 系统性红斑狼疮患者抗心磷脂抗体
• 经验交流 •

- 的检测及其临床意义[J]. 南昌大学学报(医学版),2010,50(4): 66-68.
[2] 毕燕玲,李圻,宁秋. 不孕及反复流产患者抗心磷脂抗体和 β_2 糖蛋白 1 抗体的检测及意义[J]. 广东医学院学报,2010,27(4):415-416.
[3] Huh JY, Yi DY, Hwang SG, et al. Characterization of antiphospholipid antibodies in chronic hepatitis B infection[J]. Korean J Hematol, 2011, 46(1):36-40.
[4] 周先军. TPPA、TP-ELISA、TRUST 试验在梅毒诊治中的联合应用[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(19):2275-2276.
[5] Sene D, Piette JC, Cacoub P. Antiphospholipid antibodies, antiphospholipid syndrome and infections[J]. Autoimmun Rev, 2008, 7(4): 272-277.
[6] Abuaf N, Laperche S, Rajoely B, et al. Autoantibodies to phospholipids and to the coagulation proteins in AIDS[J]. Tromb Haemost, 1997, 77(5):856-861.
[7] 马开富. 梅毒血清学诊断实验方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(1):63-65.
[8] 杨立新,曾劲峰,许晓绚,等. 血液筛查中梅毒实验方法适用性探讨[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(2):116-117.
[9] 罗晓红,段朝晖,潘昆怡,等. 甲苯胺红不加热血清试验和梅毒螺旋体抗体明胶颗粒凝集试验在梅毒诊治中的应用[J]. 中国自然医学杂志,2007,9(3):219-221.
[10] Radolf JD, Robinson EJ, Bourell KW, et al. Characterization of outer membranes isolated from *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete[J]. Infect Immun, 1995, 63(11):4244-4252.

(收稿日期:2012-04-01)

反应时间对双向侧流免疫法测定 NT-proBNP 结果的影响

郭景玉,张云林[△],李 宇,孔 雯,王卉妍,李国强
(中国人民解放军第三一六医院检验科,北京 100093)

摘 要:目的 探讨反应时间对于双向侧流免疫法测定 N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)结果的影响。方法 选择心衰患者 101 例,根据美国纽约心脏协会(NYHA)心衰分级标准,I~IV 级患者分别为 22、36、24 和 19 例;另选择健康者 33 例。以双向侧流免疫法分别在反应时间为 20、25、30、35 和 40 min 时进行血浆 NT-proBNP 测定,比较不同反应时间及各研究组间测定结果的差异。结果 各研究组内不同反应时间测定结果比较差异有统计学意义($P<0.05$),各组间测定结果比较差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 以双向侧流免疫法测定 NT-proBNP 应严格控制反应时间,保证结果准确性。

关键词:反应时间; 双向侧流免疫法; N 末端脑钠肽前体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.17.054

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)17-2151-02

N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)主要由心室肌细胞分泌,当左心室容量负荷压力过大或收缩强度增加时,脑钠肽前体(proBNP)被释放,随后被分解为无活性的 NT-proBNP 和有生物活性的脑钠肽(BNP)。研究显示 NT-proBNP 检测对充血性心力衰竭(简称心衰)的诊断、治疗判断和预后评价具有重要价值^[1-5]。以双向侧流免疫法检测 NT-proBNP 具有简便、快速的特点,并可用于床旁检验(POCT)^[6]。对于 POCT 方法,严格的试验条件和必要的质量控制是获得可靠结果的重要保证。本文主要探讨反应时间对双向侧流免疫法测定 NT-

proBNP 结果的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 1~9 月于本院就诊的心衰患者标本 101 例,按美国纽约心脏协会(NYHA)心衰分级标准分为 I 级 22 例、II 级 36 例、III 级 24 例、IV 级 19 例。同期于本院体检健康者 33 例纳入健康组。

1.2 仪器与试剂 SSJ-2 多功能免疫检测仪及 NT-proBNP 检测试剂由瑞莱生物工程(深圳)有限公司提供。

1.3 方法 以肝素锂抗凝管采集患者及健康者静脉血 4 mL,

离心后分离血浆标本进行 NT-proBNP 检测;每例标本检测 5 次,反应时间分别设定为 20、25、30、35 和 40 min,其余步骤严格按照仪器及试剂说明书要求进行操作,比较不同研究组内不同反应时间和不同研究组间测定结果的差异。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件包进行重复测量数据的方差分析^[7],即首先通过球形检验判断重复测量数据间是否存在相关性,确定存在相关性后采用 Greenhouse-Geisser 校正结果进行方差分析,显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

表 1 不同反应时间测定的 NT-proBNP 结果($\bar{x}\pm s$,ng/L)

反应时间(min)	NYHA 分级				
	健康组	I 级组	II 级组	III 级组	IV 级组
20	155.7±51.1	331.6±58.0	939.9±357.5	2 494.4±643.0	6 439.9±2 186.7
25	165.0±52.8	340.4±62.9	1 010.4±394.4	2 724.7±722.5	6 706.7±2 229.1
30	169.2±53.1	347.8±68.1	1 065.6±437.3	2 907.3±802.0	6 873.1±2 228.3
35	172.8±64.9	353.1±67.6	1 144.5±464.5	3 128.7±948.6	6 960.3±2 255.8
40	178.1±70.4	363.0±74.3	1 158.6±496.0	3 155.6±957.0	7 057.9±2 285.9

3 讨 论

双向侧流免疫反应检测原理为双抗体夹心法。标本中的 NT-proBNP 首先与化学耦合垫上的抗 NT-proBNP 抗体耦合物结合形成免疫复合物,免疫复合物随着标本在硝基纤维素膜上的层析流动而移动,移动至检测区时,与预先包被在硝基纤维素膜上的抗 NT-proBNP 抗体结合而被固定在硝基纤维素膜上。标本中 NT-proBNP 含量越高,免疫复合物形成越多,条带上的光密度值越高。同时,DNP-BSA 标记的胶体金作为内控耦合物,可与预先包被在硝基纤维素膜上的抗 DNP 抗体结合,形成两条内控带。反应结束后,SSJ-2 多功能免疫检测仪对内控带和检测带光密度进行分析,并计算相对光密度值,再根据预先设置的标准曲线计算 NT-proBNP 浓度。

SSJ-2 多功能免疫检测仪测定 NT-proBNP 采取了一系列质控措施以保证结果准确性,如:设置内对照,当内控带光密度值超过或低于预设值时,系统报告检测无效;采用相对光密度值进行结果计算,降低批内变异;预先设定每批产品的标准曲线,降低批间变异;使用智能温控系统,确保每次试验条件一致。

多种 POCT 仪器可用于 NT-proBNP 检测,与自动化检测设备相比,POCT 仪器可明显缩短标本周转时间,能够更为快速地得到结果。有研究表明,POCT 仪器与自动化检测设备的结果具有高度一致性^[8-10]。因此,POCT 的临床应用日趋广泛。但不规范的操作会对 POCT 检测结果产生影响。本研究探讨了反应时间对双向侧流免疫法测定 NT-proBNP 的影响,结果显示,心衰患者和健康者标本在不同反应时间下的测定结果比较差异有统计学意义,且随着反应时间延长,检测结果呈上升趋势,这可能与随着反应时间延长,胶体金形成的条带颜色逐渐加深有关。因此,采用双向侧流免疫法测定 NT-proBNP 时,应严格按照说明书的要求进行操作,从而保证结果的准确可靠,为临床提供及时、准确的结果。

2 结 果

不同反应时间 NT-proBNP 测定结果见表 1,球形检验显示重复测量数据间存在相关性($P<0.05$),Greenhouse-Geisser 校正结果方差分析显示,不同研究组内不同反应时间测定结果比较差异有统计学意义($F=76.93,P<0.01$),随着反应时间的延长,各研究组检测结果呈上升趋势;各研究组间测定结果比较差异有统计学意义($F=15.83,P<0.01$)。

参考文献

[1] 赵艳,苏延平,王清平. NT-proBNP 检测在慢性支气管炎急性发作患者中诊断急性充血性心力衰竭的价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(12):1375-1377.

[2] 冼中任,陈秋霞,黄爱群,等. 慢性心力衰竭患者肾功能变化与 NTproBNP 的关系[J]. 检验医学与临床,2011,8(12):1435-1436.

[3] 马锦洪,姜庆波. NT-proBNP 在心力衰竭诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(20):2355-2356.

[4] 韦丙奇,张健,杨跃进,等. N 末端 B 型利钠肽原在陈旧性心肌梗死患者中诊断心力衰竭的价值[J]. 中华心血管病杂志,2012,40(1):34-38.

[5] 唐金国. 心房纤颤心室率对心力衰竭患者血清 NTproBNP 浓度的影响[J]. 检验医学与临床,2012,9(2):179-182.

[6] 伍树芝. 血清 NT-proBNP 测定在心力衰竭患者中的应用价值[J]. 检验医学,2010,25(10):753-755.

[7] 邱宏,金国琴,金如锋,等. 水迷宫重复测量数据的方差分析及其在 SPSS 中的实现[J]. 中西医结合学报,2007,5(1):101-105.

[8] Lee-Lewandrowski E, Januzzi JL, Green SM, et al. Multi-center validation of the Response Biomedical Corporation RAMP NT-proBNP assay with comparison to the Roche Diagnostics GmbH Elecsys proBNP assay[J]. Clin Chim Acta, 2007, 386(1/2): 20-24.

[9] Bertsch T, Dikkeschei B, Gurr E, et al. Development and calibration of a new point-of-care test for the determination of NT-proBNP in whole blood[J]. Clin Lab, 2007, 53(7/8): 423-431.

[10] Zaninotto M, Mion MM, Di Serio F, et al. PATHFAST NT-proBNP (N-terminal-pro B type natriuretic peptide): a multicenter evaluation of a new point-of-care assay[J]. Clin Chem Lab Med, 2010, 48(7): 1029-1034.