

• 检验仪器与试剂评价 •

自制尿液视黄醇结合蛋白质控品及其性能评价

张培育¹, 邓演超^{2△}, 李全双²

(1. 江苏省新沂市人民医院检验科, 江苏新沂 221400; 2. 徐州市医学科学研究所/徐州市中心医院/徐州市糖尿病研究所, 江苏徐州 221006)

摘要:目的 探讨胶乳增强免疫比浊法检测尿液视黄醇结合蛋白(RBP)室内质控品的制作及其性能评价。方法 分别收集肾病患者和体检健康人群的尿液标本, 3 500 r/min 离心 5 min 去除沉淀物, 分别调节尿液 RBP 水平, 体检健康人群的尿液为低值, 肾病患者尿液为高值; 然后防腐、分装、-20 ℃ 保存。使用尿液 RBP 商品试剂盒, 应用胶乳增强免疫比浊法检测尿液 RBP, 分别进行批内和批间精密度检测, 然后连续 5 个月对高值和低值的自制质控品每天各检测 1 次。数据处理使用 SPSS13.0 统计软件。最后对自制的尿 RBP 质控品进行性能评价。结果 两个水平的尿液 RBP 质控品的批内不精密度均小于 5.0%, 批间不精密度均小于 6.0%; -20 ℃ 保存稳定期至少 5 个月, 5 个月间不精密度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 自制高低两个水平尿液 RBP 质控品能够满足室内质控品使用要求, 对完善室内质控有重要临床价值。

关键词: 视黄醇结合蛋白; 质控品; 免疫比浊法; 尿

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.16.048

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)16-2231-02

Self-prepared quality control product for urinary retinal-binding protein and its performance evaluation

Zhang Peiyu¹, Deng Yanchao^{2△}, Li Quanshuang²

(1. Department of Laboratory, Xinyi People's Hospital, Xinyi, Jiangsu 221400, China; 2. Xuzhou Municipal Research Institute of Medical Sciences/Xuzhou Municipal Central Hospital/ Xuzhou Municipal Diabetes Research Institute, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract: **Objective** To investigate the preparation of the internal quality controls for urinary retinal binding protein(RBP) detected by the latex enhanced immunoturbidimetry assay and its performance evaluation. **Methods** The urine specimens from the patients with nephropathy and healthy people with physical examination were collected, centrifuged by 3 500 r/min for removing sediment, urinary RBP levels were adjusted to the low value for healthy population and the high value for the patients with nephropathy; then conducted the anticorrosion, packed and stored at -20 ℃. By using the urinary RBP commodity kits, the latex enhanced immunoturbidimetry was adopted to detect urinary RBP, the intra-batch and inter-batch precisions were detected respectively. Then the high and low values of self-prepared controls were detected once per day for consecutive 5 months. The data were processed by using the SPSS13.0 software. Then the performance of self-prepared urinary RBP quality control was evaluated. **Results** The intra-batch imprecision of 2 levels of urinary RBP controls was less than 5% and the inter-batch imprecision was less than 6%; the stable period by storage at -20 ℃ was at least 5 months, the imprecision had no statistical difference within 5 months($P>0.05$). **Conclusion** The high and low levels of self-prepared urinary RBP quality controls can meet the operating requirements of internal quality controls.

Key words: retinal-binding protein; quality control; immunoturbidimetry assay; urine

目前, 尿液视黄醇结合蛋白(RBP)已在部分临床实验室进行检测, 并且应用到临床。研究表明尿液 RBP 是反映近端肾小管重吸收功能的敏感标志物之一^[1]。由于免疫比浊法的检测试剂在全自动生化分析仪上的使用, 使得该检测项目推广应用比较便捷, 但由于各个实验室使用的仪器、试剂等条件不尽相同。使得检测结果的准确性和稳定性不能保证。目前国内尿液 RBP 质控品尚缺乏, 而国外的 RBP 质控品价格昂贵, 严重影响了该检测项目结果质控的开展, 为了解决这一矛盾, 实验室探索自制尿液 RBP 质控品, 并对其性能进行评价。

1 材料与方法

1.1 尿液收集 分别收集新沂市人民医院肾科患者和体检健康人员的无细菌污染的尿液各 30 mL, 3 500 r/min 离心 5 min 去除沉淀物, 密封、冷藏备用。

1.2 仪器与试剂 仪器为东芝 TBA120FR 全自动生化分析仪。试剂盒和定标液均购自浙江强盛生物科技有限公司, 生产

批号: 120506, 线性范围: 0~130 mg/L。

1.3 方法

1.3.1 尿液 RBP 质控品的制备方法 分别测定体检健康者尿液和肾病患者尿液 RBP, 并用试剂盒标准品调节; 调节后的体检健康者尿液为低值, 肾病患者尿液 RBP 为高值, 分别用 0.02% 叠氮钠防腐, 按 0.1 mL 分装后, -20 ℃ 保存备用。

1.3.2 自制质控品检测前准备及预处理 在测定尿液 RBP 之前, 把仪器重新校准, 在质控良好的情况下测定; 每次取出尿液 RBP 自制质控品, 经室温平衡 30 min 混匀后测定 RBP 值, 做好 RBP 测定结果的记录。

1.3.3 不精密度测定 批内不精密度测定: 在同一天内, 对两个水平浓度的自制 RBP 质控品连续测定 20 次, 分别计算平均值($\bar{x}$)、标准差(s)、变异系数(CV)。批间不精密度测定: 对两水平浓度的自制 RBP 质控品每天随同标本各测定 1 次, 连续测定 20 d, 分别计算 $\bar{x}$, s , CV 。

1.3.4 稳定性比较 将质控尿液放置-20 ℃冰冻保存,每月每个工作日取出若干支经 37 ℃融化,再经室温平衡 20 min 后测定自制尿液 RBP 质控品各 1 次,即每个工作日测定自制 RBP 质控品 1 次,连续测定 5 个月,分别统计每个月的 $\bar{x}$, s 。

1.3.5 瓶间差异比较 将已分装的高低两水平浓度的尿液 RBP 质控品从-20 ℃冰柜中随机各取出 10 支,经融化后,室温平衡 30 min 后混匀上机测定,计算其 $\bar{x}$, s ,CV 值。

1.4 统计学处理 实验数据使用 SPSS13.0 统计软件分析,多组比较采用方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

自制尿液 RBP 质控品的性能指标评价见表 1~4。

表 1 自制尿液 RBP 质控品批内不精密度检测

项目	低值	高值
$\bar{x}$ (mg/L)	0.220	4.150
s (mg/L)	0.010	0.171
CV(%)	4.550	4.12

表 2 自制尿液 RBP 质控品批间不精密度检测

项目	低值	高值
$\bar{x}$ (mg/L)	0.220	4.15
s (mg/L)	0.013	0.22
CV(%)	5.910	5.32

表 3 自制尿液 RBP 质控品保存 5 个月的稳定性分析(mg/L, $\bar{x}\pm s$)

时间	低值	高值
第 1 月	0.22±0.013*	4.15±0.22*
第 2 月	0.22±0.011	4.14±0.23
第 3 月	0.22±0.014	4.15±0.22
第 4 月	0.22±0.013	4.13±0.23
第 5 月	0.22±0.012	4.16±0.21

*: $P>0.05$,与其他月比较。

表 4 自制尿液 RBP 质控品瓶间不精密度比较

项目	低值	高值
$\bar{x}$ (mg/L)	0.220	4.150
s (mg/L)	0.009	0.159
CV(%)	4.090	3.840

3 讨 论

RBP 主要在肝脏合成结构上为疏水小分子蛋白质,在血液中 RBP 与视黄醇、甲状腺素转运蛋白按 1:1:1 结合,以复合物形式存在,能携带 90% 视黄醇,从肝脏向周围组织运送,当视黄醇与靶细胞受体结合后,视黄醇即进入细胞内,RBP 便于甲状腺素转运蛋白分离。健康人 1 d 合成视黄醇结合蛋白的量大约是 5 mg/kg^[3],在生理状态下,肾小球基底膜有孔径屏障和电荷屏障。肾脏对保持血清视黄醇结合蛋白水平起重

要作用,低分子量的蛋白质,包含游离 RBP,能被肾小球滤过,而结合了的 RBP 不被肾小球滤过,因此,健康人 RBP 完成转运视黄醇至靶细胞后即能被肾小球滤过但绝大部分在近曲小管重吸收和分解,尿中排泄量很小,使血清中 RBP 水平稳定^[4],肾小球滤过率降低时,则可引起血中 RBP 增高;肾小管的功能损害,造成 RBP 重吸收与分解障碍时,RBP 就会被滤出,尿液 RBP 就增高。测定尿液视黄醇结合蛋白能早期发现肾小管的功能损害,并能灵敏反映肾近曲小管的损害程度。也有研究表明,RBP 能灵敏反映肾近曲小管的损害程度,并由此作为早期损害和监护治疗的指标^[5]。

在临床上,尿液 RBP 已经作为肾脏、高血压、心血管疾病等的常规检查项目,而国内各医疗单位对 RBP 检测水平高低不均,使得参考值、灵敏度、准确性相差悬殊,即使用同一方法检测,RBP 在实验室间的变异系数也相差很大,使得 RBP 作为肾脏、肝脏疾病、糖尿病性肾病、高血压性肾病等疾病的诊断和疗效监测的指标作用大打折扣;因此,确保尿液 RBP 检测的质量,从而完善室内质控是应用这一指标指导临床的重要环节,故尿液 RBP 质控品是不可或缺重要物质。良好的质控品^[5-6]应满足:(1)基质效应尽量的小;(2)至少需要高值和低值 2 个浓度水平;(3)瓶间差非常小,最好是液体质控品;(4)稳定时间足够长;(5)无已知的传染性。

本文分别评价了低值和高值两个水平自制尿液 RBP 质控品的不精密度、稳定性及瓶间差异等性能指标,能满足上述要求。低值、高值两个水平批内不精密度分别是 4.55%,4.12%,批间不精密度分别是 5.91%,5.32%,均符合 NACB 检验要求^[7], -20 ℃保存稳定期至少 5 个月($P>0.05$);表 4 显示瓶间变异系数较小,差异无统计学意义($P>0.05$)。自制尿液 RBP 质控品能符合胶乳增强免疫比浊法测定 RBP 室内质控品的要求,制作方法简单、结果稳定,一般实验室都能实施,尤其是目前国内缺乏尿液 RBP 质控品供应情况下,可以作为价格较高的进口质控品的替代品,对保证临床实验室 RBP 的检测质量及完善质控的有着重要意义。

参考文献

[1] 何萍,何艳佩,陈艳华.血清视黄醇结合蛋白测定在 2 型糖尿病肾病中的临床意义[J].检验医学,2009,24(6):461.

[2] 向淑华.尿液中 mAlb 与 RBP 在糖尿病早期肾损伤中的诊断价值[J].右江医学杂志,2012,40(1):50-52.

[3] 毕月华.测定视黄醇结合蛋白对高血压早期肾损害的实验研究[J].医学理论与实践,2004,17(1):754-755.

[4] Marino M, Andrew SD, Brown D, et al. Transcytosis of retinal-binding protein across renal proximal tubule cells after megalin-mediated endocytosis[J]. Am Soc Nephrol, 2001, 12(1): 637-648.

[5] 狄邦成,邓演超,李全双,等.自制尿液微量清蛋白质控品及其性能评价[J].国际检验医学杂志,2012,33(20):2535-2536.

[6] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:358.

[7] 冯仁丰.临床检验质量管理技术基础[M].2 版.上海科学技术文献出版社,2007:70-410.

(收稿日期:2014-03-22)