

- [3] 夏明. 从自身免疫性肝病抗体检测看其与病毒性肝病的相关性[J]. 中国民康医学, 2014, 12(17): 50-51.
- [4] 刘燕京. 自身抗体在自身免疫性肝病中的表达及临床价值[J]. 中国实用医药, 2013, 8(28): 102-103.
- [5] 肖潇, 邱德凯, 马雄. 自身免疫性肝炎[J]. 中华消化杂志, 2013, 33(1): 63-66.
- [6] 曾东良, 莫宝妹, 姜焕好, 等. 自身抗体检测在慢性肝病诊断中的意义[J]. 海南医学, 2011, 9(20): 117-119.
- [7] 李香钟. 自身抗体检查在自身免疫性肝病诊断中的应用[J]. 甘肃医药, 2014, 33(1): 48-50.
- [8] 马雄. 自身免疫性肝炎的临床诊治[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(5): 323-325.
- [9] 谢守凤, 杨静, 王宁. 自身抗体检测对肝病患者的鉴别诊断价值[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015, 24(5): 549-552.
- [10] 陈瀑, 严立, 叶获庆, 等. 不明原因肝功能异常患者自身抗体的检测及对自身免疫性肝病的临床意义[J]. 重庆医学, 2011(3): 239-241.
- [11] 仲人前, 耿红莲. 自身免疫性疾病实验室诊断进展[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 20(8): 867-869.
- (收稿日期: 2016-08-03 修回日期: 2016-10-24)
- 临床研究 •

Getein 1600 荧光免疫定量分析仪及 N-端脑利钠肽前体检测试剂盒性能分析

潘练华¹, 王路海², 吴杨林², 黄淑莹¹, 吴旋², 居家东², 李炜焱^{1△}

(1. 广东省佛山市第一人民医院检验科 528000; 2. 基蛋生物科技股份有限公司, 南京 211505)

摘要:目的 评价 Getein 1600 荧光免疫定量系统测定血清中 N-端脑利钠肽前体(NT-proBNP)的性能分析。方法 按照 WS/T 420-2013 原卫生部标准对 Getein 1600 荧光免疫定量析仪及 NT-proBNP 检测试剂盒(荧光定量法)精密度、线性进行评价。按照美国临床与实验室标准协会(CLSI)方法学对比。结果 高值 Q1 质控品重复标准差与期间标准差分别为 88 pg/mL 与 82 pg/mL, 低于厂家声称的标准差为 263 pg/mL, 中值 Q2 质控品重复标准差与期间标准差分别为 90 pg/mL 与 96 pg/mL, 低于厂家声称的标准差为 186 pg/mL, 低值 Q3 质控品重复标准差与期间标准差分别为 33 pg/mL 与 46 pg/mL, 低于厂家声称的标准差为 55 pg/mL, 高中低质控品精密度满足要求; 对 NT-proBNP 为 21 212 pg/mL 与 210 pg/mL 样本按照一定比例进行稀释, 稀释后进行线性实验($r=0.999>0.990$), 理论值与实测值偏差都低于 10%, 厂家声称的线性可靠; 与 ROCHE E602 进行 41 例样本方法学比对($r=0.997>0.975$), 回归方程为 $Y=0.898X+55$, 根据 3 个年龄段参考值 450、900 和 1 800 pg/mL, 偏移分别为 2.02%、-4.09%、-7.14%, 低于厂家声称偏移。结论 Getein 1600 荧光免疫定量分析仪及配套 NT-proBNP 试剂的精密度、线性、准确度符合临床要求。

关键词: N-端脑利钠肽前体; 精密度; 线性评价; 方法学比对

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.04.042

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)04-0537-04

N-端脑利钠肽前体(NT-proBNP)的检测已被证明对评价患有呼吸困难的患者是有用的, 其对急性心衰的诊断要优于临床判断, 并且能够提供患有心衰和急性冠脉综合征的患者的预后信息^[1-5]。对患有急性心衰的患者进行 NT-proBNP 的检测已被证明可减少其住院时长及相关的再住院概率和出院后病死率, 大概是由于较早的诊断和开始有把握的治疗^[6]。NT-proBNP 是脑利钠肽激素原分裂后没有活性的 N 末端片段, 与脑利钠肽(BNP)相比, 半衰期更长、更稳定, 操作的重复性好, 检测早期和(或)轻度心力衰竭时的敏感度更高。由于 NT-proBNP 可反映短暂时间内新合成的而不是贮存的 BNP 的释放, 因此更能反映 BNP 通路的激活^[7-8]。NT-proBNP 由 108 个氨基酸构成, 主要由心室分泌, 然后被裂解为具有生物活性的 BNP 和 NT-proBNP, 生理状态下, 心室、心房分泌少量 BNP, 因此健康人血液循环中仅有低浓度 BNP。病理状态下, 如心室负荷及室壁张力增加时, 引起心室尤其是左心室 BNP 大量分泌, 近年来 BNP、NT-proBNP 在心力衰竭诊断、呼吸困难的鉴别诊断、心力衰竭疗效评价及心力衰竭患者预后评估方面日益受到关注。在心功能受损时, NT-proBNP 增高的比例及绝对值均超过 BNP, 因此, 作为早期心功能损害的标志, NT-

proBNP 可能更为敏感。NT-proBNP 可以用于以下的诊断目的: 提示左心室功能不全的预后; 心源或非心源性疾病的鉴别诊断; 血清和血浆 NT-proBNP 水平的变化, 还可用于评价左心室功能不全的疗效以及心肌重塑的评估, NT-proBNP 是近年来在心血管疾病中受到广泛关注的无损伤性生化指标。

但是, NT-proBNP 检测目前尚无统一的标准, 临床上目前可通过半定量和定量方法检测, 半定量方法有胶体金标志检验, 定量方法包括放射免疫分析法、免疫荧光法、双抗夹心免疫化学发光法等。加拿大 RAMP 方法学为免疫荧光法, 半自动 POCT 仪器, 文献表明 RAMP 测试结果可靠, 与 ROCHE 对比^[9]。Getein 1600 荧光免疫定量分析系统是基蛋生物科技股份有限公司生产的一种全自动 POCT 仪器, 其原理是采用荧光免疫的方法, 结合抗原和抗体的反应, 通过光电转换, 将 NT-proBNP 的浓度定量的表示出来。为了深入了解 Getein 1600 荧光免疫定量分析系统在检测 NT-proBNP 的分析性能及特点, 参照美国临床和实验室标准化协会文件(CLSI)、卫生部标准及相关研究, 以 ROCHE E602 电化学发光系统及其配套原装试剂、校准品、质控品为对照系统, 对 Getein 1600 荧光免疫定量分析仪及配套 NT-proBNP 试剂进行性能分析。

△ 通信作者, E-mail: lwxuan@163.com。

1 材料与方法

1.1 血清标本 来源于就诊患者和健康体检者,参照《全国临床检验操作规程》(4 版)用含有惰性分离胶的真空管采集 3 mL 静脉血,3 000 r/min 离心 15 min,排除溶血、脂血、黄疸及污染标本。

1.2 仪器与试剂 目标系统(Y):Getein 1600 荧光免疫定量分析仪及其配套试剂盒;比对系统(X):ROCHE E602 全自动电化学发光分析仪、ROCHE 原装配套试剂盒及其配套质控品和校准品。(1)Getein 1600 配套 NT-proBNP 试剂盒(批号 P033160183);(2)ROCHE E602 配套 NT-proBNP 试剂盒(批号 141292)。质控品 Q1、Q2、Q3(批号 20160518NTZK)。

1.3 方法

1.3.1 NT-proBNP 测定 严格按照 ROCHE E602 全自动电化学发光分析仪及配套试剂和 Getein 1600 荧光免疫定量分析仪及配套试剂说明书规范流程测定 NT-proBNP。测定标本前进行质量控制,整个评价过程使用同一个批次的试剂。

1.3.2 精密度评价试验 使用精密度质控品 Q1、Q2 与 Q3,根据 WS/T 420-2013 要求,每个质控品需要每天进行 3 次的重复测试,连续进行 5 d 的测试,计算重复标准差与期间标准差,并与厂家声称的标准差进行比较。重复标准差与期间标准差低于厂家声称的标准差,说明试剂精密度可靠。

1.3.3 线性评价试验 收集高值标本与低值标本,浓度分别为 21 212、210 pg/mL 将高值标本与低值标本按照比例 1:0、3:1、1:1、1:4、1:19、0:1 进行稀释,稀释成 6 个浓度的线性参考品,对试剂线性评价验证,对 6 个浓度的线性参考品进行 2 次测试,做出 6 个浓度线性参考品回算理论值与实测平均值线性回归图,计算理论值与实测值偏差。 $r>0.990$ 且同时理论值与实测值偏差低于 10%,说明试剂盒线性可靠。

1.3.4 方法学对比 与目前临床上检测 NT-proBNP 应用较广的 ROCHE E602 检测系统进行结果比对。按照按照 CLSI EP9-A2 进行方法学对比,每天选择 8 个临床患者的血清标本,第 1 次顺序检测,第 2 次反序检测,连续 5 d 完成 41 份临床标本检测,第 5 天测试 9 个标本。(1)组内、组间离群值检验;(2)做散点图和偏倚图;(3)计算线性回归方程和相关系数 r ;(4)计算参考值,根据罗氏分年龄段参考值,3 个年龄段参考值分别为 450、900、1 800 pg/mL 预期偏移。 $r>0.975$ 且同时 3 个参考值偏移低于 10%,说明试剂准确度可靠。

2 结 果

2.1 精密度试验结果 Getein 1600 荧光免疫量检测系统对精密度质控品 Q1、Q2 与 Q3 连续 5 d 的测试,计算重复标准差与期间标准差,精密度质控品 Q1、Q2 与 Q3 重复标准差与期间标准差均低于厂家声称的标准差,见表 1、2。

表 1 Getein 1600 精密度试验结果 (pg/mL)

次数	精密度质控品 Q1					精密度质控品 Q2(pg/mL)					精密度质控品 Q3(pg/mL)				
	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
第 1 次	2 708	2 605	2 562	2 672	2 546	1 835	1 758	1 897	2 011	2 001	666	532	550	550	550
第 2 次	2 704	2 702	2 472	2 712	2 657	1 650	1 937	1 956	1 809	1 904	604	480	487	534	523
第 3 次	2 499	2 712	2 672	2 542	2 612	1 787	1 897	1 827	1 838	1 838	568	541	554	567	554

2.2 线性评价试验结果 对 6 个浓度的参考品进行 2 次测试,做出 6 个浓度线性参考品回算理论值与实测平均值线性回归图, $Y=1.009X-121.53$, $r=0.998\ 6>0.990$;计算理论值与实测值偏差都低于 10%,见表 3(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)及图 1。

表 2 Getein 1600 精密度试验结果与厂家声称标准差对比 (pg/mL)

精密度质控品	精密度质控品 Q1	精密度质控品 Q2	精密度质控品 Q3
重复标准差	88	90	33
期间标准差	82	96	46
厂家声称标准差	263	186	55

2.3 方法学比对试验结果 Getein 1600 检测系统与对比系统 ROCHE E602 检测系统分别对 41 例标本进行对比,Getein 1600 与 ROCHE E602 检测系统方法学比对数据见表 4,Getein

1600 与 ROCHE E602 相关性见图 2,线性回归方程为 $Y=0.898X+55$, $r=0.997>0.975$,3 个年龄段参考值分别为 450、900、1 800 pg/mL,预期值为 459、863、1 671 pg/mL;偏倚分别为 2.02%、-4.09%、-7.14%;3 个参考值预期偏差都低于 10%,两个条件同时满足,满足厂家声称的发法学比对的准确度。

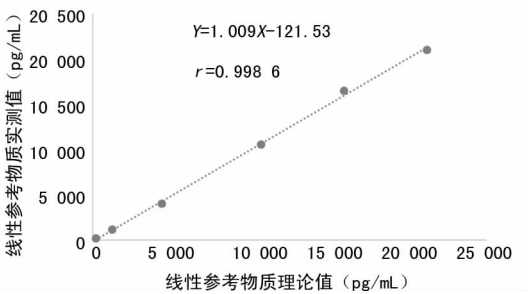


图 1 线性评价实测值与理论值的相关性

表 4 Getein 1600 与 ROCHE E602 方法学对比试验结果 (pg/mL)

标本	日期	序号	实验系统				对比系统
			第 1 次	第 2 次	Y 均值	两系统差	
1	20160627	908	28 765	29 765	29 265	3 478	32 743
2	20160627	808	18 321	17 132	17 727	3 162	20 888

续表 4 Getein 1600 与 ROCHE E602 方法学对比试验结果 (pg/mL)

标本	日期	序号	实验系统				对比系统
			第 1 次	第 2 次	Y 均值	两系统差	
3	20160627	805	8 543	8 014	8 279	1 211	9 489
4	20160627	898	4 876	4 763	4 820	329	5 148
5	20160627	1 012	2 675	2 745	2 710	—135	2 575
6	20160627	1 051	1 027	1 342	1 185	73	1 257
7	20160627	897	601	612	607	—29	578
8	20160627	1 054	250	264	257	10	267.2
9	20160628	1 031	5 625	5 324	5 475	56	5 530
10	20160628	985	5 255	5 201	5 228	—277	4 951
11	20160628	1 035	3 694	3 297	3 496	73	3 568
12	20160628	1 041	4 627	4 415	4 521	—20	4 501
13	20160628	1 047	2 514	3 052	2 783	346	3 129
14	20160628	1 108	2 134	2 013	2 074	212	2 285
15	20160628	1 042	1 897	1 857	1 877	—200	1 677
16	20160628	808	98	110	104	2	106.4
17	20160629	801	29 667	28 742	29 205	3 537	32 741
18	20160629	874	6 543	6 012	6 278	332	6 609
19	20160629	806	4 012	4 124	4 068	—149	3 919
20	20160629	850	1 632	1 603	1 618	225	1 842
21	20160629	812	956	926	941	115	1 056
22	20160629	826	417	430	424	—18	406
23	20160629	866	338	350	344	—19	325
24	20160629	851	180	190	185	15	200
25	20160629	820	96	101	99	8	106
26	20160630	817	2 270	2 312	2 291	—82	2 209
27	20160630	878	571	542	557	—25	531.7
28	20160630	806	745	781	763	54	817.4
29	20160630	896	3824	4 664	4 244	475	4 719
30	20160630	977	5762	5 827	5 795	608	6 402
31	20160630	894	10 212	9 514	9 863	—1 076	8 787
32	20160630	888	>35 000	>35 000	—	—	>35 000
33	20160630	879	3 982	4 012	3 997	—400	3 597
34	20160701	930	9 624	9 532	9 578	498	10 076
35	20160701	822	9 772	10 363	10 068	1 523	11 590
36	20160701	811	7 324	7 421	7 373	660	8 032
37	20160701	904	5 672	5 543	5 608	466	6 073
38	20160701	810	5 345	5 343	5 344	218	5 562
39	20160701	923	4 607	4 524	4 566	253	4 818
40	20160701	809	4 229	4 439	4 334	—445	3 889
41	20160701	820	888	1 012	950	124	1 074

注：—表示无数据。

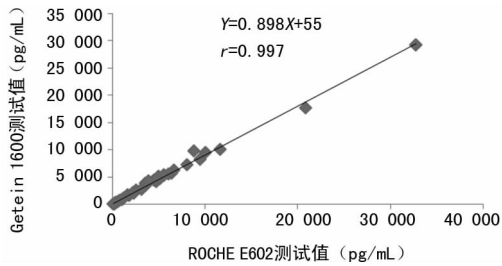


图 2 Getein 1600 与 ROCHE E602 相关性

3 讨 论

心衰是各种心脏疾病的严重和终末阶段,发病率高,是当今最重要的心血管病之一。根据发生的时间、速度、严重程度可分为急性心衰和慢性心衰。据统计,全球每 1 000 人中就有 9 例心衰患者,约 60% 的患者会在确诊 5 年内死亡。随着我国人口老龄化和心血管健康危险因素的广泛流行,心衰患病率未来仍将呈上升趋势,成为全社会的一个沉重负担和公共卫生的严峻挑战。而作为无活性的 NT-proBNP,半衰期为 60~120 min,体外稳定时间长达 24 h,具有更高灵敏度,且不受 rh-BNP 影响,便于临床医生准确发现早期和轻度心力衰竭。临床上在诊断急性心力衰竭(AHF)时,应根据年龄和肾功能不全对 NT-proBNP 水平进行分层。<50 岁成人血浆 NT-proBNP>450 ng/L,50~<75 岁 NT-proBNP>900 ng/L,≥75 岁 NT-proBNP>1 800 ng/L 时,应诊断为 AHF。因此,NT-proBNP 有助于对 AHF 和其他病因引起的急性呼吸困难的鉴别诊断。此外,一项由麻省总医院开展的单中心 PRIDE 研究通过对 NT-proBNP 和临床诊断排除心衰 ROC 曲线曲线进行分析对比发现,NT-proBNP 结合临床表现可有效提高 AHF 诊断效率。

本论文根据卫生部临床检验标准与 CLSI 对 Getein 1600 荧光免疫定量分析仪及配套 NT-proBNP 检测试剂盒进行精密度、线性、准确度评价验证,NT-proBNP 作为定量检测心衰的标志物之一,临床医院实验室必须对仪器与试剂进行验证和评价,作为检测系统的主要分析性能之一;精密度也是其他性能评价的基础,本次精密度分析验证中,使用精密度质控品 Q1、Q2、Q3 浓度分别为 2 630、1 860、550 pg/mL,高值 Q1 质控品重复标准差与期间标准差分别为 88 pg/mL 与 82 pg/mL,低于厂家声称的标准差为 263 pg/mL,中值 Q2 质控品重复标准差与期间标准差分别为 90 pg/mL 与 96 pg/mL,低于厂家声称的标准差为 186 pg/mL,低值 Q3 质控品重复标准差与期间标准差分别为 33 pg/mL 与 46 pg/mL,低于厂家声称的标准差为 55 pg/mL,高中低质控品精密度满足要求。对浓度为 21 212 pg/mL 与 210 pg/mL 按照一定比例进行稀释,然后进行线性实验, $r=0.999>0.990$ 且理论值与实测值偏差都低于 10%,厂家声称的线性可靠;与 ROCHE E602 进行多样本方法学比对, $r=0.997>0.975$,回归方程为 $Y=0.898X+55$,3 个根据年龄段的参考值(450、900 和 1 800 pg/mL)的偏移可以接受,实验室质量目标 NT-proBNP 最大允许偏移为 10%^[10]。实验结果表明,Getein 1600 荧光免疫定量分析仪及配套 NT-proBNP 检测试剂盒精密度、线性、准确度均符合实验室质

量要求,能为临床提供准确可靠的检测结果。

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证: WS/T 420-2013 [S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2013.
- [2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 method comparison and bias estimation using oatient samples[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 1986.
- [3] Sakhuja R, Green S, Oestreicher M, et al. Amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and troponin T for prediction of mortality in acute heart failure[J]. Clin Chem, 2007, 53(3): 412-420.
- [4] Januzzi JL, Camargo CA, Anwaruddin S, et al. N-terminal ProBNP for emergency evaluation of shortness of breath: the ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) study[J]. Am J Cardiol, 2004, 95(1): 948-954.
- [5] Bibbins-Domingo K, Gupta R, Na B, et al. N-terminal fragment of the prohormone brain-type natriuretic peptide (NT-proBNP), cardiovascular events, and mortality in patients with stable coronary heart disease[J]. JAMA, 2007, 297(1): 169-176.
- [6] Green S, Redmond P, Lewandrowski E, et al. The impact of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide testing on hospital length of stay and morbidity in patients with acute destabilized heart failure[J]. Arch Pathol Lab Med 2007, 131(1): 473-476.
- [7] Bettencourt M. Clinical usefulness of B-type natriuretic peptide measurement: present and future perspectives[J]. Heart, 2005, 91(11): 1489-1494.
- [8] Gustafsson F, Badsk J, Stensgaard Hansen F, et al. Value of N-terminal proBNP in the diagnosis of left ventricular systolic dysfunction in primary care patients referred for echocardiography[J]. Heart Drug, 2003, 20(3): 141-146.
- [9] Lee-Lewandrowski E, Januzzi L, Green M, 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.
- [10] 张秀明, 温冬梅, 袁勇. 临床生物化学检验质量管理与标准操作程序[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 55-88.

(收稿日期: 2016-09-26 修回日期: 2016-11-17)

