化学发光微粒免疫法评价 B 型尿钠肽体外稳定性

李顺君, 杨 佳, 钱金凤(四川省人民医院检验科, 成都 610072)

【摘要】 目的 利用化学发光微粒免疫分析法(CMIA)检测血浆 B 型尿钠肽(BNP)的浓度, 评价其在体外保存的稳定性。方法 用 ABBOTT 公司的配套 BNP 试剂盒, 在 ARCHITECT 系统 i2000SR 上测定, 观察 BNP 的体外稳定性。选择 2011 年 2 月四川省人民医院住院患者送检标本, 采用室温和普通冰箱两种不同的保存方式, 并间隔一定时间进行测定, 与初次测定值进行比较, 以浓度下降 10% 作为不稳定性判定标准, 从而判断 BNP 的稳定性。结果 CMIA 测定 BNP 浓度, 在全血血浆中, 室温下可稳定 8 h, 4 °C 可至少稳定 12 h; 在分离血浆中, 室温下可稳定 6 h, 普通冰箱 4 °C 下至少可稳定 8 h。结论 BNP 在常规检测中, 全血血浆保存最好, 室温下 8 h 内测定稳定性良好, 如不能及时测定, 则以全血血浆 4 °C 保存, 必须 12 h 内测定。

【关键词】 B 型利尿肽; 化学发光微粒免疫分析; 稳定性评价

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.02.016 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)02-0161-02

Evaluation on stability in vitro of BNP by particulate chemiluminescence immunoassay LI Shun-jun, YANG Jia, QIAN Jin-feng (Department of Clinical Laboratory, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China)

【Abstract】 **Objective** To detect the plasma concentration of B-type natriuretic peptide (BNP) by particulate chemiluminescence immunoassay (CMIA) and to evaluate the stability for preservation in vitro. **Methods** The BNP mating reagent kit by ABBOTT company was adopted and performed the measurement on the ARCHITECT system i2000SR. The in vitro stability of BNP was observed. The testing specimens from the inpatients in February 2011 were selected and preserved with two different methods of indoor temperature and common refrigerator (4 °C). The specimens were detected at different time intervals and the results were compared with the initial measured values. With the concentration fall by 10% as the judging standard of instability, the stability of BNP was evaluated. **Results** The BNP concentration detected by CMIA was stable for 8 h at room temperature and for at least 12 h at 4 °C in whole blood plasma, while for 6 h at room temperature and for at least 8 h at 4 °C in ordinary refrigerator in the separated plasma. **Conclusion** BNP in routine testing is best preserved in whole plasma, the measurement within 8 h at room temperature has better stability. If the determination is unable to be timely performed, whole plasma is best to be stored at 4 °C and measured within 12 h.

【Key words】 B-type natriuretic peptide; chemiluminescence immunoassay; stability evaluation

B 型尿钠肽(BNP)主要来源于左心室, 它的含量与心室压力、呼吸困难程度与激素调节系统的状态相关。心室的体积和压力增高可导致血浆内 BNP 升高, 升高的程度绝大多数与心室扩张和压力负荷成正比^[1], 可敏感、特异地反映左心室功能变化。由于 BNP 的血浆浓度很少受到姿势、盐负荷改变、快步行走等的影响, 只有在相对较长时间的刺激下, 经过 mRNA 的表达增加, 才导致 BNP 的合成及分泌增加。且 BNP 的生物半衰期约为 20 min, 所以更能监测患者的真实状态。近年来, 已被广泛认同并推荐为目前最好的评价心力衰竭(心衰)和左心室功能障碍的实验室检测指标, 同时也广泛用于鉴别诊断呼吸困难病因以及判断心衰的预后。中外专家在 BNP 测定水平上达成一定共识, 以 BNP < 100 pg/mL 作为排除心衰的指标; 以 BNP > 400 pg/mL 作为诊断心衰的高风险指标, 同时提出了 100~400 pg/mL 的灰带定义^[2]可用于入院或出院患者危险度分级^[3-4]。本院使用雅培 i2000 全自动化学发光仪测定 BNP, 该仪器采用化学发光微粒免疫分析法(CMIA)能快速、准确的检测, 有精密度好、灵敏度高^[5]且准确性良好等优点, 在 15 min 内能完成一次 BNP 的急诊测试, 为临床快速、准确、有效的诊断提供了保证。本实验主要就标本保存环节探讨不同水平 BNP 标本在体外的稳定性, 在保证结果准确、稳定的条件

下, 血样从临床采样到实验室检测完成所能接受的保存时间和保存条件, 最终目的在于规范整个检测流程。

1 资料与方法

1.1 BNP 稳定性调查对象 选择 2011 年 2 月本院住院患者送检标本, 根据各项检查结果判断选择可能有 BNP 升高者, 检测其 BNP 浓度, 挑选低、中、高不同浓度若干例标本进行实验。其中以 BNP 浓度为 0~<100 pg/mL 作为低值水平、100~<500 pg/mL 作为中值水平、≥500 pg/mL 作为高值水平来筛选标本。考虑到临床意义, 选择中、高值水平标本所占比例略高于低值水平的标本。

1.2 BNP 稳定性检测方法 受试者清晨空腹采血, 使用 BD 公司 4 mL 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管采集静脉血 4 mL, 立即离心 10 min (3 000 r/min)。所有标本完成第一次测定后, 将测定组分作两份, 分离血浆组标本分离出血浆单独保存, 全血血浆组不作处理, 分别保存于室温、普通冰箱(4 °C), 间隔 0、1、2、4、6、8、12 h 测定并记录 BNP 浓度, 计算出变异系数(CV)值, 判断该标本 BNP 在此保存条件下的稳定性, 最终以对照组稳定标本所占比率大于或等于 80% 作为整体稳定的判断标准, 排除离群值偶然误差。

1.3 仪器与试剂 ARCHITECT 系统 i2000SR 化学发光微

粒免疫分析仪, 配套试剂批号 619867。

1.4 统计学处理 根据公式 $\times 100\%$ 判定不同时间点血浆 BNP 的稳定性, 以 BNP 测得浓度下降 10% 作为单个标本不稳定的判断标准。

2 结 果

2.1 全血血浆 BNP 的稳定性 将 10 例全血血浆标本在室温下保存, 将 10 例全血血浆标本在普通冰箱(4℃)中保存, 分别间隔 1、2、4、6、8、12 h 进行 BNP 浓度检测, 得到如下结论: 全血血浆标本在室温下保存, BNP 稳定性可保持 8 h; 在普通冰箱(4℃)中保存, BNP 稳定性至少可保持 12 h。具体数据结果见表 1。

表 1 BNP 全血血浆保存稳定性

BNP 检测 间隔时间(h)	保存 温度	标本总量 (n)	CV<10% (n)	CV>10% (n)	稳定性 比率(%)
1	室温	10	10	0	100
	4℃	10	10	0	100
2	室温	10	10	0	100
	4℃	10	10	0	100
4	室温	10	9	1	90
	4℃	10	10	0	100
6	室温	10	9	1	90
	4℃	10	9	1	90
8	室温	10	9	1	90
	4℃	10	8	2	80
12	室温	10	4	6	40
	4℃	10	8	2	80

2.2 分离血浆 BNP 的稳定性 将 12 例分离血浆标本在室温下保存, 将 9 例分离血浆标本在普通冰箱(4℃)中保存, 分别间隔 1、2、4、6、8 h 检测 BNP 浓度, 得到如下结论: 分离血浆标本在室温下保存, BNP 稳定性可保持 6 h; 在普通冰箱中保存, BNP 稳定性至少可保持 8 h。具体数据结果见表 2。

表 2 分离血浆 BNP 保存稳定性

BNP 检测 间隔时间(h)	保存 温度	标本总量 (n)	CV<10% (n)	CV>10% (n)	稳定性 比率(%)
1	室温	12	12	0	100.0
	4℃	9	9	0	100.0
2	室温	12	12	0	100.0
	4℃	9	9	0	100.0
4	室温	12	11	1	91.7
	4℃	9	8	1	88.9
6	室温	12	12	0	100.0
	4℃	9	8	1	88.9
8	室温	12	4	8	33.3
	4℃	9	8	1	88.9

3 讨 论

随着近年来高血压、心脏病等心血管疾病的增多, 心衰的发生率也逐渐呈现上升趋势, 快速、准确地诊断心衰显得越来越重要。BNP 对急性冠脉综合征、心肌梗死以及各种原因所

致心衰的诊断、分级、治疗、预后等评估^[6-7]具有重要意义。故欧盟已将其列入心衰参考指南中, 以指导临床医生治疗。BNP 本身的稳定性随时间的推移会发生改变, 且保存条件不同也会影响其稳定性, 故快速、准确地为临床提供 BNP 检测结果, 对临床诊断、分级、治疗、预后等评估显得尤为重要。

从表 1、表 2 结果可以看出, 全血血浆标本 BNP 稳定性在室温下保存 4 h 检测最佳, 可持续稳定 8 h; 在普通冰箱(4℃)中保存, BNP 稳定性至少可保持 8 h; 分离血浆标本在室温下保存, BNP 稳定性可保持 6 h, 超过 6 h 稳定性下降到 33.3%; 在普通冰箱中保存, BNP 稳定性可持续 8 h。总之, BNP 稳定性检测最佳时间控制在 4 h 之内, 可为临床提供最佳诊疗机会。与王学晶等^[8]报道的在 EDTA 抗凝血浆中, BNP 在室温下可保存 4 h, 4℃下保存稳定 8 h 有一定的差别。也有国外文献报道, BNP 在 EDTA 抗凝血浆中, 室温 4 h 即迅速降解, 4℃24 h 降解, -20℃可以延长至 48 h。此处, 本研究仅针对 EDTA 抗凝血浆中 BNP 的稳定性进行探讨, 室温下 BNP 稳定性与国外报道时间一致。作者认为本实验所涉及的检测标本数较多, 比以上几篇文献仅对单份标本进行检测分析的结果更能反映 BNP 稳定性变化的真实情况, 更适用于临床实际工作。尤其在目前已普遍达成心衰危险分级^[6]的情况下, 控制标本送检时间、保存温度等条件对 BNP 稳定性的影响, 可更及时、准确地将患者的真实状态反馈给临床。同时, 也为实验室检测 BNP 标本选择正确保存条件和时间提供参考依据。

参考文献

- [1] 王立军. BNP 用于心衰筛选诊断的价值探讨[J]. 现代医院, 2008, 8(12): 50-51.
- [2] 刘梅颜. 2008 BNP 中西方专家共识高峰论坛会议纪要[J]. 中国医药导刊, 2008, 10(6): 928-930.
- [3] McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, et al. Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction[J]. Lancet, 1998, 351(1): 9-13.
- [4] Cowie MR, Struthers AD, Wood DA, et al. Value of natriuretic peptides in assessment of patients with new heart failure in primary care[J]. Lancet, 1997, 350(9088): 1349-1353.
- [5] Kjeaar A, Hesse B. Heart failure and neuroendocrine activation; diagnostic, prognostic and therapeutic perspectives[J]. Clin Physiol, 2001, 21(6): 661-672.
- [6] Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin; new neurohormonal predictors of left ventricular function and prognosis after myocardial infarction[J]. Circulation, 1998, 97(19): 1921-1929.
- [7] Zrthelius B, Berglund L, Sundstrom J, et al. Use of multiple biomarkers to improve the prediction of death from cardiovascular causes[J]. N Engl J Med, 2008, 358(20): 2107-2116.
- [8] 王学晶, 徐国宾, 李海霞, 等. 化学发光免疫分析法测定血浆 B 型钠尿肽的评价及其参考区间调查[J]. 临床检验杂志, 2009, 27(4): 283-285.