

RAMP200 荧光免疫分析仪临床应用评价

戴 燕, 万海英[△](同济大学附属同济医院检验科, 上海 200065)

【摘要】 目的 对 RAMP200 荧光免疫分析仪的性能进行评价, 以符合实验室的质量要求。**方法** 参考临床和实验室标准化协会(CLSI)系列文件, 对 RAMP200 荧光免疫分析仪检测 B 型利钠肽(BNP)的总不精密度、功能灵敏度、分析测量范围、临床可报告范围、孔间偏差、生物参考区间进行验证和评价。**结果** BNP 浓度为 80.4、1 169.6 pg/mL 时的日间总不精密度分别为 4.90% 和 4.02%; 功能灵敏度为 10.58 pg/mL; 分析测量范围为 10.2~1 805 pg/mL; 临床可报告范围为 10.58~5 415 pg/mL; 孔间最大偏差为 14.27%(厂商说明小于 20%); 生物参考区间验证结果为 15~86 pg/mL(厂商参考区间为小于 100 pg/mL)。**结论** RAMP200 荧光免疫分析仪各性能参数与厂商提供的参数基本一致, 可满足临床质量要求, 适用于快速床旁检验。

【关键词】 荧光免疫分析; B 型利钠肽; 性能评价

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.02.025 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)02-0182-02

Clinical evaluation of the RAMP200 fluorescence immunoassay analyzer DAI Yan, WAN Hai-ying[△] (Department of Laboratory, the Affiliated Tongji Hospital of Tongji University, Shanghai 200065, China)

【Abstract】 Objective Abiding by the laboratory quality requirement, to evaluate the performance of RAMP200 fluorescence immunoassay analyzer. **Methods** According to Series of documents of the American Society of Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), following six items: the total precision, functional sensitivity, analytical measurement range, reportable range, the deviation between the holes, biological reference interval of RAMP200 fluorescence immunoassay analyzer were verified and evaluated. **Results** When BNP concentration levels were 80.4 and 1 169.6 pg/mL, the total precisions were 4.9% and 4.02%. The functional sensitivity was 10.58 pg/mL. The analytical measurement range was from 10.2 pg/mL to 1 805.0 pg/mL. The clinical reportable range was from 10.58 pg/mL to 5 415.0 pg/mL. The maximum deviation between the hole was 14.27%. Biological reference interval was from 15 to 86 pg/mL (Vendor reference interval < 100 pg/mL). **Conclusion** The parameters of RAMP200 fluorescence immunoassay analyzer are consistent with the parameters provided by the vendor, so it can fit the clinical quality demand and it is suitable for the POCT.

【Key words】 fluorescence immunoassay; B-type natriuretic peptide; performance evaluation

B 型利钠肽(BNP)作为急性冠状动脉综合征或心力衰竭患者在进行病情估计、疗效监测、预后判断和危险性分类方面有其独特的临床价值, 为临床提供快速、准确的结果, 有利于早期诊断进而使患者及时得到有效治疗^[1-3]。RAMP200 荧光免疫分析仪定量检测 BNP 20 min 内即可报告结果, 可作为快速床旁检验(POCT)在急诊检验室、心脏病监护室使用, 以减少标本转运和处理时间。为了证实该检测系统的分析性能是否能满足临床实验室的要求, 作者根据医学实验室认可国际标准 ISO15189《医学实验室质量和能力的专用要求》和《医疗机构临床实验室管理办法》的要求, 并参考有关文献^[4-7], 对其检测性能进行了验证和评价, 报道如下。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 取自同济医院门诊、住院患者样本和 20 份体检样本, 均为经乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝的静脉血。

1.2 仪器与试剂 RAMP200 荧光免疫分析仪及 BNP 测定配套试剂、伯乐质控品。

1.3 方法 试验前做好仪器维护及校准, 检测期间做好室内质控, 所有操作均严格按照仪器和试剂说明书进行。

1.3.1 精密度验证实验 根据 EP15-A2 文件要求, 取 2 个浓度水平的血浆样本平均分为 5 份, 冷冻保存, 每份样本每天批内重复测定 4 次, 连续 5 d, 记录检测结果。计算批内不精密度和总不精密度, 并与厂商声明的不精密度进行比较。

1.3.2 功能灵敏度(FS)验证实验 用生理盐水稀释低浓度样本至接近检测下限的系列浓度样品, 每个浓度的样品作日间重复测定, 连续 10 d。根据临床和实验室标准化协会(CLSI) EP6-A 文件的要求以日间重复变异系数(CV%)为 20% 或最接近 20% 时对应的检测限样品具有的平均浓度为检测系统可定量报告分析物的 FS。

1.3.3 分析测量范围(AMR)验证实验 根据 CLSI EP6-A 文件的要求, 收集经 EDTA 抗凝的血浆标本, 浓度接近厂家提供的检测低限(L)和高限(H)。按 5H, 4H+1L, 3H+2L, 2H+3L, H+4L, 5L 的比例关系配置系列浓度, 各浓度标本上机重复测定 2 次, 计算线性回归方程, 统计相关系数(r)>0.975。

1.3.4 临床可报告范围(CRR)验证实验 收集经 EDTA 抗凝浓度接近厂家提供的检测高限的血浆标本, 同时选取健康体检者的新鲜血浆作为低值稀释液、BNP 专用稀释液、生理盐水

与高值标本分别进行 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 稀释, 各稀释标本上机重复检测 2 次取均值, 根据预期值和实测均值计算稀释回收率, 回收率在 80%~120% 为合格, 确定最大稀释度, 结合功能灵敏度、分析测量范围和最大稀释度确定临床可报告范围。稀释回收率%=(实测均值/预期值)×100。

1.3.5 孔间偏差验证实验 取低、中、高 3 个浓度 EDTA 抗凝的血浆标本, 放入仪器分析孔中测试, 每个浓度检测 2 次, 取均值计算各个孔之间的偏差, 偏差小于 20% (厂商提供的偏差范围) 为合格。

1.3.6 参考区间验证实验 根据 CLSI C28-A2 文件的要求, 选取表面健康、无心脏疾病的体检患者血浆标本 20 例, 年龄 20~70 岁, 其中男、女各 10 例。对结果进行统计, ≥90% 的检测结果在厂商提供的参考区间范围内为合格, 否则进行参考区间确立实验。

1.4 统计学方法 所有数据在 Excel 2003 软件上完成统计处理。

2 结 果

2.1 精密度验证结果 RAMP200 荧光免疫分析仪 BNP 测定不精密度小于厂商声明的不精密度低于 10% 的要求, 见表 1。

表 1 不同浓度水平批内、总不精密度结果

标本	均值 (pg/mL)	批内不精密度		总不精密度	
		s	CV(%)	s	CV(%)
浓度 1	80.4	2.54	3.16	3.94	4.90
浓度 2	1 169.6	41.26	3.53	47.01	4.02

2.2 功能灵敏度验证结果 日间重复测定最接近 20% 时对应的检测限样品浓度为 10.58 pg/mL, 见表 2。

表 2 功能灵敏度检测结果

浓度均值 (pg/mL)	s	CV(%)
7.93	2.16	27.22
10.58	2.06	19.46
15.55	1.76	11.34
24.82	1.95	7.84

2.3 分析测量范围验证结果 选取临床血浆浓度为 10.2 pg/mL 及 1 805 pg/mL 的标本各一份, 按一定比例稀释检测后得到线性回归方程 $Y = 0.998 6X - 33.264$, $r = 0.998 3$, $b = 0.998 6$, 显示其在 10.2~1 805 pg/mL 范围内呈良好的线性关系, 见图 1。

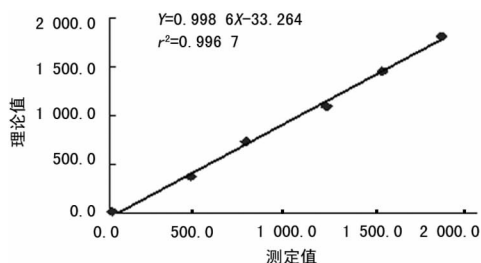


图 1 RAMP200 荧光免疫分析仪 BNP 测定线性曲线

2.4 临床可报告范围 BNP 浓度为 1 805 pg/mL 高值标本使用生理盐水和低值血浆稀释其最大稀释度为 1:3; 用稀释液稀释其最大稀释度为 1:2。结合 FS 值, 使用生理盐水和低值血浆作为稀释液, 其 CRR 上限为 $1 805 \times 3 = 5 415$, 故本检测系统的 CRR 为 10.58~5 415 pg/mL, 见表 3。

表 3 3 种不同稀释液稀释回收率测定结果

稀释溶剂	稀释倍数	实测均值 (pg/mL)	预期值 (pg/mL)	回收率%
生理盐水	1:2	937.0	902.5	103.82
	1:3	698.0	601.7	116.01
	1:4	570.0	451.3	126.32
稀释液	1:2	949.0	902.5	105.15
	1:3	739.5	601.7	122.91
	1:4	570.0	451.3	126.32
低值血浆*	1:2	969.0	902.5	107.37
	1:3	716.0	601.7	119.00
	1:4	570.0	451.3	126.32

注: * 低值血浆浓度为 12.6 pg/mL。

2.5 孔间偏差 A、B、C、D 4 个孔之间不同浓度检测结果最大偏差为 14.27%, 符合厂商小于 20% 的要求, 见表 4。

表 4 不同检测孔之间检测结果偏差

孔名	浓度均值 (pg/mL)		偏差%		浓度均值 (pg/mL)		偏差%	
	浓度均值 (pg/mL)	偏差%	浓度均值 (pg/mL)	偏差%	浓度均值 (pg/mL)	偏差%	浓度均值 (pg/mL)	偏差%
A 孔	135.0	3.50*	785.4	0.41	1640.5	3.67		
B 孔	136.7	1.22**	832.5	6.00	1527.0	6.92		
C 孔	156.2	14.27***	780.6	6.24	1627.5	6.58		
D 孔	139.9	10.41****	788.6	1.03	1703.0	4.64		

注: * (D 孔 - A 孔)/D 孔 × 100%; ** (A 孔 - B 孔)/A 孔 × 100%; *** (B 孔 - C 孔)/B 孔 × 100%; **** (C 孔 - D 孔)/C 孔 × 100%。

2.6 参考区间验证结果 20 例健康人标本的血浆 BNP 值为 15~86 pg/mL, 均在厂商提供的参考区间范围内。

3 讨 论

BNP 是含有特异性环状结构的 32 肽, 其生理作用主要是利尿钠, 血管舒张, 拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统与抗利尿激素的分泌。当室壁张力升高, 循环容量增加时 BNP 会相应增高, 对左心室功能障碍或急性心肌梗死 (AMI) 的病率及心力衰竭的程度有独特的预报价值^[1]。

目前, 利用发光免疫检测 BNP 技术已在临床广泛使用, 但由于需使用大型仪器, 试剂昂贵, 而无法作为 POCT 在急诊检验室、心脏监护室使用。本文所评价的 RAMP200 荧光免疫分析仪是我国自主研发的检测系统, 体积小易于携带, 20 min 内即可报告结果, 是 POCT 理想的仪器。该检测系统采用免疫荧光法原理, 当样品中的 BNP 与附着荧光颗粒的抗体结合, 形成荧光标记的免疫复合物, 通过仪器自动识别样品区和质控区带上免疫复合物发射的荧光强度的不同而检测到 BNP 的含量。 (下转第 185 页)

时,肾小球的滤过功能已下降到正常的 1/3^[4],已是肾病中晚期了,且 SCR 检测受多种因素影响,所以 SCR 不能作为肾脏早期损害的检测指标。

本文表 1 结果显示,肾病组血清 CysC 含量为 (2.91 ± 2.09)mg/L,明显高于对照组的 (0.90 ± 0.24)mg/L,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);同时肾病组血清 CysC 平均值为 2.91 mg/L,也明显高于 CysC 的参考范围上限 1.03 mg/L,从而证实 CysC 在肾脏功能受损时可以作为评价肾小球滤过功能的可靠指标。表 2 结果中肾病组 CysC 阳性率为 70.0%,小于王琳和王笔金^[5]报道的 96.08%,明显高于 SCR 阳性率 57.5%,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$),这种结果有可能是因为本文标本例数较少所致。

血清 CysC 是一种小分子蛋白质,是胱氨酸蛋白酶的一种抑制剂,是由机体所有有核细胞产生,产生率恒定。循环血液中 CysC 几乎仅经肾小球过滤而被清除,是反映 GFR 变化的理想的内源性标志物。作为 GFR 的标志物,CysC 的敏感性和特异性均优于 SCR^[6],本文表 2 中结果证明了这一点。

余洪立^[7]、巩继勇和胡剑^[8]报道,血清 CysC 的浓度在不同性别之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),可作为反映糖尿病肾病患者肾损害的良好指标,为肾功能损伤特别是轻微受损或受损早期的糖尿病肾病提供诊断依据。胡蓉等^[9]报道 CysC 作为一种反映 GFR 的指标目前已基本得到确认,国外学者总结了 46 篇有关 CysC 研究论文的荟萃分析表明其与 GFR 具有显著相关性,且灵敏度、特异度均优于 SCR。2002 年美国食品药品监督管理局公布 CysC 是全新的肾脏疾病检测指标,并向全球推荐应用^[10]。

结合本文研究结果和众多医学专家观点,说明 CysC 不仅可用于肾病患者的诊断及治疗,并且在肾脏受损时比 SCR 更

敏感。故对于肾病患者肾功能损害的早期诊断具有重要意义。

参考文献

[1] 陈玮,段贞,贺蓉,等. 糖尿病肾病早期检测血清胱抑素 C 的临床意义[J]. 实用预防医学,2009,16(1):29-30.
 [2] 傅强,王志宏,姚迪. 胱抑素 C 对于糖尿病早期肾损害的检测意义[J]. 吉林医学,2009,30(3):230-232.
 [3] 张婉华,何雅军,易向民,等. 血清胱抑素 C 在检测糖尿病肾病中的价值[J]. 广州医药,2009,40(1):59-60.
 [4] 段晓星,张国光,梦雅平. 血清胱抑素 C 评价肾功能的新指标[J]. 内蒙古医学杂志,2009,41(1):73-74.
 [5] 王琳,王笔金. 胱抑素 C 在不同疾病的表达[J]. 检验医学与临床,2009,6(12):983.
 [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,2008:470.
 [7] 余洪立. 柳州市健康人群血清胱抑素 C 参考范围调查[J]. 检验医学与临床,2009,6(5):399-400.
 [8] 巩继勇,胡剑. 糖尿病肾病患者检测血清胱抑素 C 的临床意义[J]. 浙江实用医学,2007,12(1):3-4.
 [9] 胡蓉,黄俊云,孟幼莉,等. 血清胱抑素 C 与 β_2 -微球蛋白、微量蛋白测定在 2 型糖尿病早期肾损害诊断中的相关探讨[J]. 现代预防医学,2009,36(7):1397-1398.
 [10] 寿玮龄,邱玲,国秀芝,等. 基于半胱氨酸蛋白酶抑制 C 建立的肾小球滤过率预测公式[J]. 中华检验医学杂志,2011,34(11):962-963.

(收稿日期:2012-05-03 修回日期:2012-11-17)

(上接第 184 页)

作者对该仪器进行了全面的性能评估,结果显示:BNP 浓度在 80.4 pg/mL 和 1 169.6 pg/mL 时,总不精密度为 4.9% 和 4.02%(表 1),与仪器说明书的精密度性能一致,达到国际公认的质量要求(总不精密度小于 6%)^[8];检测系统的 AMR 为 10.2~1 805 pg/mL,上限低于仪器说明书规定的范围(2 000 pg/mL),可能与标本的制备有关;20 例健康人的血浆 BNP 值为 15~86 pg/mL,均在仪器说明书的参考区间(<100 pg/mL)内,按照 CLSI C28-A 的要求可直接使用仪器说明书提供的参考区间;孔间最大偏差为 14.27%,符合厂商小于 20% 的要求。此外,本研究还建立了该检测系统测定 BNP 的 FS 为 10.58 pg/mL;CRR 实验结果表明,本检测系统的最大稀释度为 1:3,其 CRR 为 10.58~5 415 pg/mL。

综上所述,本研究对 RAMP200 荧光免疫分析仪定量检测 BNP 的主要分析性能的验证结果与厂商说明的分析性能一致,基本能满足临床检验的要求。

参考文献

[1] 潘柏申. 应重视心脏标志物的临床应用研究[J]. 中华检

验医学杂志,2005,28(5):881-884.
 [2] 钟振洲. BNP 对心力衰竭与左、右心力衰竭及心功能的评价作用分析[J]. 中国医药指南,2012,10(24):96.
 [3] 宋爱新. 冠心病患者血浆 BNP 水平变化及意义[J]. 河南职工医学院学报,2012,24(4):464-465.
 [4] 毕波,吕元. 定量检测系统方法学性能验证实验结果的评价[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(12):1332-1335.
 [5] 覃志永,吴甲文. 免疫荧光分析仪测定 CRP 和 hs-CRP 性能评价[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(5):600-602.
 [6] 张恬,王露楠. 定性免疫测定的试剂性能评价方法[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(9):893-896.
 [7] 王佳,蔡新. uniceL DXI800 全自动微粒子化学发光免疫分析系统性能评价[J]. 临床检验杂志,2008,26(2):157-158.
 [8] Ricos G, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress[J]. Scand J Clin Lab Invest,1999,59(4):491-500.

(收稿日期:2012-06-01 修回日期:2012-11-13)