

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.10.008

基于两种不同反应原理检测系统的 B 型尿钠肽检测结果可比性评估*

陈凤君¹, 陈 飞², 肖梦晴², 张玉鹏², 盛慧明^{1△}

(1. 上海交通大学医学院附属同仁医院检验科, 上海 200336;

2. 上海艾瑞德生物科技有限公司, 上海 201114)

摘要:目的 探讨目前临床常用的两种 B 型尿钠肽(BNP)检测系统之间的检测结果是否具有可比性。**方法** 以 B 系统作为参考系统, A 系统为实验系统, 按照美国临床和实验室标准化协会 EP15-A2 和原美国临床和实验室标准化委员会 EP6-A 文件要求设计比对方案, 对两者检测 BNP 项目的精密度、线性范围和临床相关性进行评估。**结果** 两种系统 BNP 检测结果精密度和线性范围相当, 线性回归方程为 $Y=0.9755X-20.021$, 具有良好的临床相关性。**结论** 两种检测系统的 BNP 项目检测结果具有可比性, 两种方法学的差异对测试结果没有明显影响。**关键词:** B 型尿钠肽; 侧向流层析; 化学发光; 可比性

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)10-1340-04

Evaluation on comparability of brain natriuretic peptide measurement results between two instruments based on different reaction principle*CHEN Fengjun¹, CHEN Fei², XIAO Mengqing², ZHANG Yupeng², SHENG Huiming^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Tong Ren Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200336, China; 2. Shanghai I-Reader Biotech Co., Ltd, Shanghai 201114, China)

Abstract: Objective To evaluate the comparability of brain natriuretic peptide (BNP) measurement results between two commonly used BNP detection systems. **Methods** According to the Clinical and Laboratory Standards Institute EP15-A2 and National Committee Clinical Laboratory Standards EP6-A to design project, evaluated the precision, linear range and clinical correlation of BNP measurement results with A detection system (reference instrument) and B detection system (experiment instrument). **Results** The precision and linear range of BNP measurement results on the two detection systems were similar, and the linear regression equation was $Y=0.9755X-20.021$, which indicated that the clinical correlation was well. **Conclusion** The BNP measurement results of the two detection systems has highly association, and difference in methodologies has no significant effect on the test results.**Key words:** brain natriuretic peptide; lateral flow chromatography; chemiluminescence; comparability

B 型尿钠肽(BNP)又称脑钠肽、脑利钠肽、B 型利钠肽,具有很强的利钠、利尿、扩张血管、降低血压的作用,同时具有抑制血管平滑肌细胞和成纤维细胞增殖的作用,在血管再重塑及血压调节中起重要作用。检测 BNP 水平主要用于以下几个方面:(1)辅助诊断充血性心力衰竭(CHF);(2)辅助评估 CHF 的严重程度;(3)用于急性冠状动脉综合征患者的危险分层;(4)用于心力衰竭患者的危险分层^[1-2]。对不同检测系统之间的检测结果进行比对,对保证检测结果的一致性、准确性和可比性极为重要^[3]。作者参考了美国

临床和实验室标准化协会(CLSI)EP15-A2^[4]和原美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)EP6-A^[5]文件要求,对两种检测系统的 BNP 项目进行精密度、线性范围和临床相关性评估,研究二者检测结果的可比性,为检验科临床工作提供数据支持。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 185 份血液标本均采自本院健康体检者或就诊患者,标本要求为新鲜血液,无溶血、无黄疸、无脂血;标本采集严格按照《临床化学检验血液标本的收集与处理》(WS/T225-2002)^[6]相关标准进行。

* 基金项目:上海交通大学医工交叉研究基金项目(YG2016MS69)。

作者简介:陈凤君,男,主管技师,主要从事医学免疫学研究。△ 通信作者,E-mail:shm2783@shtrhospital.com。

1.2 仪器与试剂 B 系统(参考系统)为德国西门子 AVDIA Centaur XP 全自动化学发光免疫分析仪及其配套 BNP 试剂(批号 86596213), A 系统(实验系统)为上海艾瑞德干式免疫分析仪 i-Reader S 及其配套 BNP 试剂(批号 BNP18001)。

1.3 方法

1.3.1 质量控制 采用 BIO-RAD 质控品分别在 A 系统和 B 系统做室内质控,并确保所有质控结果均在控制范围内。

1.3.2 精密度测试 参照 CLSI 的 EP15-A2 评价方案^[4],按标本检测程序进行测定,选择收集的低、中、高 3 个水平混合血浆标本,混合血浆分装后冻存于 -20 ℃ 以下。将 3 个水平的混合血浆连续测定 5 d,每次测定重复测试 3 次。分别计算出批内精密度的标准差($S_{批内}$)和变异系数($CV_{批内}$),批间精密度的标准差($S_{批间}$)和变异系数($CV_{批间}$)。

1.3.3 线性范围测试 参照 NCCLS 的 EP6-A 文件^[5],选取患者高值混合血浆标本作为高值标本(H)(高值标本水平尽量接近线性范围的上限),选取患者低值混合血浆标本作为低值标本(L),将高值标本(H)和低值标本(L)按 5H、4H+1L、3H+2L、2H+3L、1H+4L、5L 的比例配制成 6 个水平,分别用 A 系统和 B 系统对该系列水平标本进行 BNP 测试,每个水平测定 2 次,计算 2 次测定结果的均值,并与理论值进行线性回归分析。以稀释后的理论值为横坐标 X,实测值的平均值为纵坐标 Y,计算回归方程 $Y = aX + b$ 和决定系数(R^2),判定其是否为线性,判定标准为斜率 a 值应为 0.95~1.05, R^2 应大于或等于 0.95,进而判定厂商给定的线性范围是否准确。

1.3.4 相关性测试 A 系统和 B 系统同时检测 185 份新鲜的临床血浆标本,对检测结果进行线性回归分析,得出线性回归方程 $Y = aX + b$,以及 R^2 ,判定 A 系统和 B 系统测试结果一致性是否良好。

1.4 统计学处理 采用 Excel2016 及 SPSS21.0 统计软件对数据进行分析处理,精密度分析采用 CV 表示,线性范围评价采用线性分析,相关性评价采用线性回归分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BNP 精密度评价结果 A 系统和 B 系统测试 BNP 低、中、高 3 个水平混合血浆的批内精密度、批间精密度和总精密度分别见表 1, A 系统和 B 系统批内、精密度和批间精密度均符合厂商声称的要求, B 系统测试 BNP 低、中、高 3 个水平的总精密度 CV 略优于 A 系统。

2.2 BNP 线性范围评价结果 选取 BNP 高水平 and 低水平的混合血浆,根据配制关系稀释并计算出 6 份

标本的 BNP 水平,以理论预期值为横坐标,实测值为纵坐标,进行线性回归分析,结果显示, A 系统回归方程为 $Y = 1.028 1X - 34.055$, R^2 值为 0.994 8,见表 2 及图 1; B 系统回归方程为 $Y = 0.994 9X - 92.95$, R^2 值为 0.996 8,见表 3 及图 2。两者均满足斜率在 0.95~1.05,且 $R^2 \geq 0.95$,说明两种系统在厂商给出的线性范围内均表现线性良好,其中 A 系统厂商给出的 BNP 线性范围为 25.0~5 000.0 pg/mL, B 系统厂商给出的 BNP 线性范围为 2.5~5 000.0 pg/mL。

表 1 两个检测系统 BNP 项目批内和批间精密度

系统及血浆水平	均值 (pg/mL)	CV _{批内} (%)	CV _{批间} (%)	CV _{总体} (%)
A 系统				
低值	102.18	5.00	6.18	7.95
中值	528.55	4.93	5.02	7.03
高值	1 405.81	4.58	4.75	6.60
B 系统				
低值	105.60	2.19	6.97	7.31
中值	563.17	1.15	4.30	4.45
高值	1 781.67	1.04	4.21	4.34

表 2 A 系统 BNP 线性范围测试结果 (pg/mL)

项目	5H	4H+L	3H+2L	2H+3L	H+4L	5L
理论值	4 161.94	3 292.75	2 473.56	1 654.38	835.19	16.00
测定值	4 161.94	3 409.93	2 745.78	1 587.92	760.10	16.00

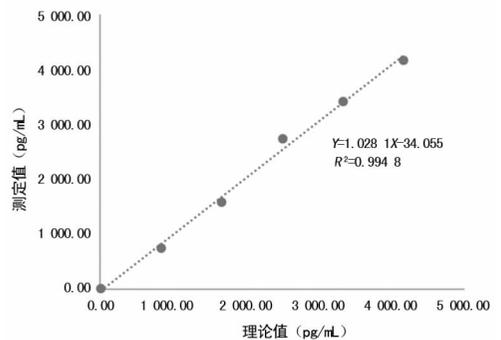


图 1 A 系统 BNP 线性范围相关性

表 3 B 系统 BNP 线性范围测试结果 (pg/mL)

项目	5H	4H+L	3H+2L	2H+3L	H+4L	5L
理论值	3 926.07	3 142.29	2 358.52	1 574.75	790.97	7.20
测定值	3 926.07	2 988.34	2 175.59	1 405.54	679.13	7.20

2.3 相关性评价 对 A 系统和 B 系统测试 185 份新鲜血浆标本的 BNP 结果进行统计,以 B 系统检测结果为横坐标, A 系统检测结果为纵坐标,进行线性回归分析, $Y = 0.975 5X - 20.021$, $R^2 = 0.966 2$ 。其中斜率为 0.975 5,在 0.95~1.05,且 $R^2 = 0.966 2 >$

0.95,说明 A 系统和 B 系统在 BNP 检测结果上具有很好的一致性。见图 3。

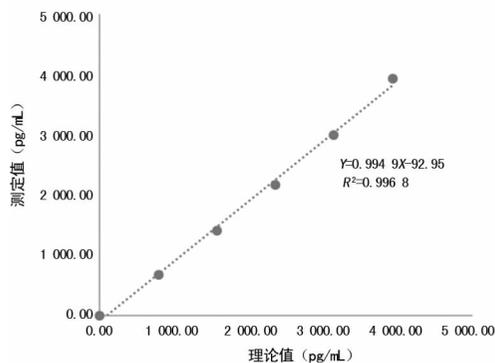


图 2 B 系统 BNP 线性范围相关性

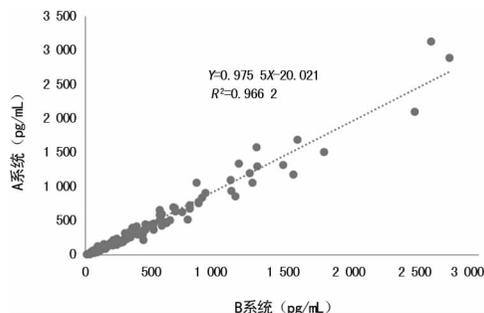


图 3 A 系统和 B 系统 BNP 检测结果相关性分析

3 讨 论

当心脏发生容量超负荷,或发生其他引发心室牵张的情况时,机体合成 BNP^[7]。陈小龙等^[8]证明了血浆 BNP 检测有利于早期诊断心力衰竭。黄晓佳等^[9]的研究表明,血清 BNP、同型半胱氨酸(Hcy)及肌钙蛋白(cTnI)在 CHF 患者中明显升高,BNP 与 Hcy 和 cTnI 的水平均呈正相关,BNP 和 Hcy 的水平与左室射血分数(LVEF)均呈明显负相关,BNP、Hcy、cTnI 的联合检测对 CHF 的诊断及预后判断具有重要意义。

自 1988 年首次被分离得到以来,BNP 的检测历经竞争性放射免疫检测技术(RIA)阶段、非竞争性放射免疫检测技术(IRMA)阶段,现在已经全面进入全自动化、快速反应的荧光标记和化学发光免疫检测技术阶段^[10],准确性和时效性取得了长足进步。检测系统是指某检验项目完成所需要的仪器、试剂、校准品和操作流程。准确的检测结果直接影响疾病的诊断和治疗,近年来,不同免疫检测系统测量结果是否具有可比性逐渐成为研究的热点^[11-12],因此,应定期对检测系统之间的检测结果进行对比分析,以保证检测结果的一致性、准确性。

本实验室同时采用国产 A 系统和德国产 B 系统检测同一份乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血浆临床标本中 BNP 水平,A 系统为 POCT 设备,采用侧向流层析介导的双抗体夹心免疫测定方法。B 系统

为本院急诊科原有设备,采用直接化学发光双抗夹心免疫测定方法。A、B 两个检测系统均采用高特异性的免疫分析方法来实现 BNP 抗体捕获 BNP 抗原。A 系统采用新型侧向流免疫层析技术,以大孔径的微孔硝酸纤维素膜为载体,以荧光微球作为固相载体,通过毛细作用侧向移动实现待测标本中的抗原与滤膜上抗体的特异性结合,最终通过仪器检测光信号来得到标本中 BNP 水平。B 系统采用化学发光技术和磁性微粒子分离技术相结合的测定方法,用高敏感性的吖啶酯作为化学发光标记物,以极细的磁性颗粒(PMP)作为固相载体,在液相环境中进行化学发光反应,通过仪器将化学发光的强度转化为标本中 BNP 水平。

本研究以 B 系统为参考系统,以 A 系统为实验系统,在两种检测系统上对 BNP 项目进行精密度、线性范围和相关性评估验证。B 系统和 A 系统的精密度(批内和批间)和线性范围均能符合仪器公司声称的产品性能,两者 $R^2=0.966 2$,回归方程为 $Y=0.975 5 X-20.021$ 。因此可以认为这两种检测系统在 BNP 测定结果上具有很好的一致性和可比性。

在临床应用中,对于检测系统的选择则需根据具体情况进行分析。从检测空间角度分析,A 系统体积较小,相应空间占用率小,而 B 系统体积相对较大,对检测室空间需求更大。从检测速率角度分析,B 系统测试速度为每小时 300 次测试,A 系统测试速度为每小时 60 次测试。可见空间占用和检测速度呈正比,即空间占用大,同时检测速率快。从操作要求角度分析,B 系统由于基于化学发光免疫原理,试剂需每隔 28 d 定标一次,每次定标 6 点。而 A 系统在出厂前进行定标,且为 12 点定标;每批试剂匹配相应的定标曲线,临床检测中无需进行定标,操作更加便捷。建议实验室根据实际工作进行选择。

参考文献

- [1] 中华医学会心血管病学分会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(2): 3-10.
- [2] MCMURRAY J J, ADAMOPOULOS S, ANKER S D, et al. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012; the task force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 of the european society of cardiology. Developed in collaboration with the Heart[J]. Eur J Heart Fail, 2012, 14(14): 803-869.
- [3] 吴可嘉. 不同生化分析系统间的可比性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(4): 454-455.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. User verification of performance for precision and trueness: EP15-A2 [S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2005. (下转第 1347 页)

能关系最密切^[15],本研究脑功能监测结果均为入院后 72 h 内 aEEG 结果,2 例脑炎患儿入院后监测为正常 aEEG,但预后不良,提示需动态监测 aEEG,动态 aEEG 监测能够反映病情演变过程,能够更准确判断患者预后。

综上所述,aEEG 作为昏迷患儿神经电生理研究的热点,与 GCS 评分、VEEG 分度具有较强的相关性。aEEG 分度、VEEG 分度能够很好地预测昏迷患儿预后,其中重度异常 aEEG 在预测昏迷患儿不良预后方面特异度更高,而 VEEG 在识别癫痫发作方面仍有其不可替代的作用。aEEG 是一种更客观、可靠的脑功能监护手段,适用于危重患者床边监测脑功能,应在工作中积极推广并进行深入研究,以期在 aEEG 监护下指导临床治疗,进而观察疗效,提高患儿的神经功能预后。

参考文献

[1] 王秀霞,张艳格,卢艳,等. 振幅整合脑电图在新生儿科应用的研究进展[J]. 脑与神经疾病杂志,2012,20(2):159-161.

[2] 张贵萍,杨冰竹,李磊,等. 视频脑电图在儿童重症颅内感染中的诊断价值研究[J]. 中华医院感染学杂志,2017,27(22):5255-5258.

[3] 张玉玲. 本院 PICU 8 年死亡病例死亡病因分析[J]. 内蒙古医学杂志,2016,48(3):334-336.

[4] 韩琨,项骁,王旻,等. 北京市 7 334 例住院儿童意外伤害流行病学特征分析[J]. 中华疾病控制杂志,2015,19(5):431-434.

[5] KYU H H, STEIN C E, BOSCHI P C, et al. Causes of death among children aged 5-14 years in the WHO European Region: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. Lancet Child Adolesc Health,2018,2(5):321-337.

[6] SHAH N A, WUSTHOFF C J. How to use: amplitude-integrated EEG (aEEG) [J]. Arch Dis Child Educ Pract Ed,2015,100(2):75-81.

[7] 朱玲. 持续脑电监测在儿童重症监护室中的应用进展[J]. 临床儿科杂志,2015,33(11):994-997.

[8] MIDDEL R G, BRANDENBARG N, VAN BRAECKEL K N, et al. The predictive value of amplitude-integrated electroencephalography in preterm infants for IQ and other neuropsychological outcomes at early school age[J]. Neonatology,2018,113(4):287-295.

[9] 何超,陈坤,王虑,等. 振幅整合脑电图对 ICU 中枢功能障碍患者脑功能评价及生存预后评估的研究[J]. 临床急诊杂志,2017,18(2):102-105.

[10] 林正豪. 振幅整合脑电图对昏迷患者昏迷程度及其预后的预测研究[D]. 广州:南方医科大学,2009.

[11] 陈艳瑞,周仁,伏冬梅,等. 7 例脑死亡患者 24 小时 AEEG 与 TCD、BAEP、SLSEP 检测分析[J]. 中国伤残医学,2011,19(1):72-73.

[12] 管巧,李珊,李星,等. 儿科重症监护病房医护人员应用振幅整合脑电图识别癫痫发作的可行性[J]. 中华儿科杂志,2016,54(11):823-828.

[13] CABEZA M B, GARCIA F M, PEREZ M A, et al. Cerebral electric monitoring in pediatric intensive care unit (PICU) through amplitude integrated electroencephalogram and video electroencephalogram [J]. Pediatr Crit Care Med,2014,15(Suppl14):19.

[14] 宁书尧,杨思达,陈文雄,等. 振幅整合脑电图对儿童重症病毒性脑炎继发非惊厥型癫痫持续状态的诊断意义[J]. 中国临床神经科学,2017,25(4):368-375.

[15] 邢鹏飞,周晖,管军,等. 振幅整合脑电图在缺氧缺血性脑病患者中的应用[J]. 癫痫与神经电生理学杂志,2016,25(1):1-5.

(收稿日期:2018-10-18 修回日期:2019-01-10)

(上接第 1342 页)

[5] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: EP6-A[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2003.

[6] 张丽霞,孙艳虹,孙芹敏,等. 临床化学检验血液标本的收集与处理: WS/T225-2002[S]. 北京:中国标准出版社,2002.

[7] WU A H B, ANDREW S. Biological variation of the natriuretic peptides and their role in monitoring patients with heart failure [J]. Eur J Heart Fail,2014,6(3):355-358.

[8] 陈小龙,杜婷婷,魏延虎. 心力衰竭患者发生心血管事件的危险因素及脑钠肽的早期诊断价值[J]. 检验医学与临床,2017,14(3):364-366.

[9] 黄晓佳,梅敏,李成德,等. 脑钠肽、同型半胱氨酸及肌钙蛋白 I 在慢性心力衰竭中的表达及临床意义[J]. 检验医学与临床,2016,13(13):1852-1854.

[10] 易维京,杨艳,胡川闽. BNP/NT-proBNP 免疫检测技术的研究进展[J]. 检验医学与临床,2008,5(18):1127-1128.

[11] 刘春龙,孙慧颖,胡滨,等. 日立 7600 和贝克曼 DXC800 测量结果可比性的评估[J]. 检验医学与临床,2016,13(5):580-582.

[12] 胡树珍,廖明,钟结兴. 贝克曼 LX-20 和西门子 AD-VIA2400 生化仪多项目检测结果比对与偏倚评估[J]. 检验医学与临床,2015,13(24):3753-3755.

(收稿日期:2018-10-14 修回日期:2019-01-06)