

• 论 著 •

应用 CLSI EP15-A2 文件评价 BNP 和 NT-proBNP 测定的精密度性能*

欧阳能良, 王伟佳, 李 飞, 阚丽娟, 索明环, 严海忠, 温冬梅, 张秀明[△]

(中山大学附属中山医院检验医学中心, 广东中山 528403)

摘 要:目的 评价西门子 ADVIA Centaur 化学发光免疫系统检测 B 型利钠肽(BNP)和罗氏 Cobas E601 检测 N 末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)的精密度性能。方法 使用美国临床与实验室标准化协会(CLSI)EP15-A2 文件, 选用 5 个不同浓度的 BNP 和 NT-proBNP 样本, 每个样本每天批内重复测定 4 次, 持续 5 天, 计算批内不精密度(批内 CV)和总不精密度(总 CV), 并与厂商声明的不精密度进行比较。结果 BNP 浓度为 30.6、70.3、452.2、1 069.4、1 736.8 pg/mL 时批内 CV 分别为 2.3%、1.7%、1.8%、1.3%、1.1%, 总 CV 分别为 3.5%、3.2%、2.7%、2.6%、2.3%, 均低于厂家声明的不精密度; NT-proBNP 浓度为 72.9、123.9、466.8、2 123.9、4 322.0 pg/mL 时批内 CV 分别为 2.2%、1.3%、1.9%、1.2%、1.1%, 总 CV 分别为 2.9%、1.9%、2.3%、1.8%、1.5%, NT-proBNP 浓度为 72.9 pg/mL 时的不精密度虽高于厂家声明的不精密度, 但小于经计算得到的验证值, 说明与厂家声明的不精密度无差异, 其他浓度均低于厂家声明的不精密度。结论 化学发光免疫法测定 BNP 和电化学发光免疫法测定 NT-proBNP 测定的精密度性能良好, 可满足临床要求。应用 EP15-A2 文件验证厂商声明的不精密度性能操作简便, 经济实用。

关键词:精密度; 化学发光免疫测定法; B 型利钠肽(BNP); N 末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.05.005

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)05-0538-03

Precision performance evaluation of BNP and NT-proBNP using CLSI EP15-A2 document

Ouyang Nengliang, Wang Weijia, Li Fei, Han Lijuan, Suo Minghuan, Yan Haizhong, Wen Dongmei, Zhang Xiuming
(Center of Laboratory Medicine, ZhongShan City People's Hospital, 528403 Zhongshan, China)

Abstract: Objective To evaluate the precision performance of Siemens ADVIA Centaur Automated B-Type Natriuretic Peptide (BNP) Assay and Roche N-terminal pro B-type Natriuretic Peptide(NT-proBNP) Assay. **Methods** Using document EP15-A2 published in 2004 by American Clinical and Laboratory Standards Institution (CLSI), choose 5 BNP and NT-proBNP samples with different concentration, each sample was tested 4 times intraassay every day and last for 5 days, calculate the intraassay and total CV (%) and compared with that announced by manufactures. **Results** The intraassay and total CV(%) are 2.3%, 1.7%, 1.8%, 1.3%, 1.1% and 3.5%, 3.2%, 2.7%, 2.6%, 2.3% for BNP samples (with concentration 30.6, 70.3, 452.2, 1069.4, 1736.8 pg/ml), which were all lower than that announced by manufacture; The intraassay and total CV(%) are 2.2%, 1.3%, 1.9%, 1.2%, 1.1% and 2.9%, 1.9%, 2.3%, 1.8%, 1.5% for NT-proBNP (with concentration 72.9, 123.9, 466.8, 2123.9, 4322.0 pg/ml), except there shows no difference to the check value by calculation for the 72.9 pg/ml sample, others are also much lower than that announced by manufacture. **Conclusion** The precision performance of BNP and NT-proBNP assay are both well, which meet the clinical needs. The application of document EP15-A2 to verify the precision announced by the manufacture is economical and works easily.

Key words: Precision; Chemiluminescence Immune Detection; B-Type Natriuretic Peptide(BNP); N-terminal pro B-type Natriuretic Peptide(NT-proBNP)

医学实验室认可国际标准 ISO15189《医学实验室质量和能力专用要求》和《医疗机构临床实验室管理办法》均要求检测系统在用于常规工作前应对其分析性能进行验证确认或分析评价, 证实其能够满足预期用途^[1]。精密度是检测系统的主要分析性能之一, 更是其他性能评价的基础。B 型利钠肽(BNP)和 N 末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)是目前诊断心力衰竭的重要标志物。国外和国内有关学术组织发表的《NT-proBNP 检测国际共识》^[2]、《冠状动脉疾病和心力衰竭时心脏标志物临床检测应用建议》等^[3]文件均对 BNP 和 NT-proBNP 测定的精密度提出了明确要求。本文参考美国临床和实验室标准化协会(CLSI)发表的 EP15-A2 文件《用户对精密度和准确度性能的核实试验-批准指南》^[4-5], 对化学发光免疫法测定 BNP 和电化学发光免疫法测定 NT-proBNP 的精密度性能进行评价。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂 BNP 采用西门子 ADVIA Centaur 化学发光免疫分析仪测定, 校准液(批号 038148)、试剂(批号 038153)和消耗品由西门子公司原装配套提供, 质控物(批号 29742)由伯乐公司提供; NT-proBNP 采用罗氏 Cobas E601 电化学发光免疫分析仪测定, 校准液(批号 156070)、试剂(批号 157123)、质控物(批号 155039、155040)和消耗品等由罗氏公司原装配套提供。

1.2 样本制备 (1)质控样本: BNP 质控液 2 个水平, 批号为: 29741、29743, 由伯乐公司提供; NT-proBNP 质控液 2 个水平, 批号为: 155039、155040, 由罗氏公司提供; 质控液按说明书配制混匀后分装。(2)新鲜患者样本: 收集 BNP 浓度约为 30.0、458.0、1736.0 pg/mL 的新鲜 EDTA 抗凝血浆 3 份, NT-proBNP 浓度约为 77.0、450.0、2 100.0 pg/mL 的新鲜血清 3 份, 所有样本均无溶血、无黄疸、无脂浊, 离心后取上清液分装

* 基金项目: 广东省医学科研基金课题(A2009763), 中山市科技局资助课题(20091A038)。 [△] 通讯作者, E-mail: zxm0760@163.com。

成 20 管,置-70℃冰冻保存。

1.3 试验方法 按操作说明书每天对仪器进行维护保养和常规质控,在控后进行检测。样本复溶后上机检测,每份样本每天批内重复测定 4 次,连续 5 d。每天静置复融时间一致且在 30 min 内完成检测。

1.4 统计学处理 按 EP15-A2 文件^[4]进行试验数据的统计学处理,计算批内不精密度和总不精密度,并与厂家声明的不精密度进行比较,必要时进一步计算验证值并与之比较。所有统计学处理在 Excel 上进行。

$$\sigma_{\text{批内}} = CV_{\text{批内}} \times \bar{x}_{\text{批内}}$$
$$\text{验证值} = \frac{\sigma_{\text{批内}} \times \sqrt{C}}{\sqrt{C}}$$

式中 $CV_{\text{批内}}$ 是厂商声明的批内 CV , $\bar{x}_{\text{批内}}$ 是批内分析物所有检测结果的均值, C 是自由度为 V 时百分位点 $(1-\alpha/1)$ 的 χ^2 分布值,可从有关统计书上获得。

$$\sigma_{\text{总}} = CV_{\text{总}} \times \bar{x}_{\text{总}}$$
$$\text{验证值} = \frac{\sigma_{\text{总}} \times \sqrt{C}}{\sqrt{C}}$$

式中 $\sigma_{\text{总}}$ 是厂商声明的总 CV , $\bar{x}_{\text{总}}$ 是总分析物所有检测结果的均值, C 是自由度为 T 时百分位点 $(1-\alpha/1)$ 的 χ^2 分布值,可从有关统计书上获得。

2 结 果

2.1 BNP 测定结果 BNP 测定的不精密度见表 1,精密度与浓度的关系见图 1。各浓度点的不精密度均小于厂商声明的不精密度(厂商声明 BNP 浓度在 29.4~1 736.0 pg/mL 范围内批内不精密为 4.3%~1.8%,总不精密为 4.7%~2.3%)。图 1 显示随着 BNP 浓度的升高, CV 值降低。

表 1 BNP 测定的不精密度

样本	均值 (pg/mL)	批内不精密度		总不精密度	
		标准差(pg/mL)	CV(%)	标准差(pg/mL)	CV(%)
BPC1	70.3	1.2	1.7	2.2	3.2
BPC2	1 069.4	13.9	1.3	27.8	2.6
BHP1	30.6	0.7	2.3	1.1	3.5
BHP2	452.2	8.1	1.8	12.2	2.7
BHP3	1 736.8	19.1	1.1	39.9	2.3

BPC:质控物样本, BHP:新鲜患者血浆样本。

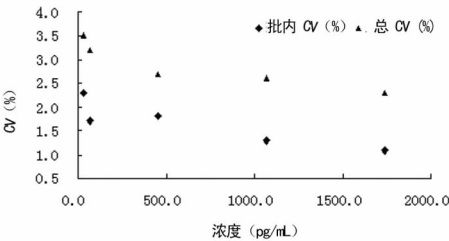


图 1 BNP 测定精密度和浓度的关系

2.2 NT-proBNP 测定结果 NT-proBNP 测定的不精密度见表 2,精密度与浓度的关系见图 2。与厂商声明值比较,除 72.9 pg/mL 浓度水平外,各浓度点的不精密度均小于厂商声明的不精密度(厂商声明 NT-proBNP 浓度在 32.0~32 930.0 pg/mL 范围内批内不精密为 1.9%~1.2%,总不精密为 3.1%~1.7%;NT-proBNP 浓度为 77.0 pg/mL 时批内不精密度和总不精密分别为 1.8%和 2.7%)。随着 NT-proBNP 浓度的升高, CV 值降低。

经计算得到批内不精密度的验证值为 1.8 pg/mL,总不精密度的验证值为 3.2 pg/mL,试验测得的批内标准差和总标准差均小于验证值,厂商声明的不精密仍得到验证确认。

表 2 NT-proBNP 测定的不精密度

样本	均值 (pg/mL)	批内不精密度		总不精密度	
		标准差(pg/mL)	CV(%)	标准差(pg/mL)	CV(%)
PC1	123.9	1.6	1.3	2.4	1.9
PC2	4 322.0	47.5	1.1	64.8	1.5
HS1	72.9	1.6	2.2	2.1	2.9
HS2	466.8	8.9	1.9	10.7	2.3
HS3	2 123.9	25.5	1.2	38.2	1.8

PC:质控物样本, HS:新鲜患者血清样本。

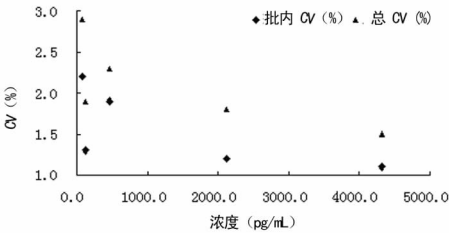


图 2 NT-proBNP 测定精密度和浓度的关系

3 讨 论

CLSI EP 文件是目前最为规范的检验方法或检测系统分析性能评价工具,涉及精密度的有 EP5-A2, EP10-A2 和 EP15-A2^[5]。EP5-A2 是最全面系统的方案,其试验过程较繁琐,统计过程也较复杂,主要适用于新建立的检验方法或检测系统分析性能的评价。EP10-A2 仅适用于初步研究。EP15-A2 是针对临床实验室而设计,试验和统计过程均较简单,主要用于验证确认检验方法或检测系统的精密度性能。西门子 ADVIA Centaur 化学发光免疫检测系统和罗氏 Cobas E601 电化学发光免疫检测系统均为配套检测系统,按照 ISO15189 和《医疗机构临床实验室管理办法》的要求,实验室只需对其主要分析性能进行验证确认,证明其能够满足预期用途即可用于常规标本检测。在验证厂商的精密度性能时,应尽可能选择与厂商声明的精密评价性能接近的样本,便于比较。同时,也要考虑参考区间上限和下限处以及医学决定水平处的不精密度性能。因此,本研究选择 5 个浓度水平进行评价,包括了厂商声明的浓度和医学决定水平处的浓度。考虑到基质效应及样本稳定性,笔者同时检测了新鲜患者标本与质控标本。化学发光免疫检测系统检测成本极高,应用 EP15-A2 文件评价其精密度性能简便实用,在满足质量管理要求的同时,费用也较低廉。

Yeo 等^[6]对罗氏 E1010、E2010 和 E170 电化学发光免疫检测系统的多中心评价结果显示,NT-proBNP 浓度在 30~35 000 pg/mL 范围内,批内不精密为 1.3%~2.4%,总不精密为 2.9%~6.1%,约为 Biosite Triage 分析仪测定 BNP 的 1/4。Wu 等^[7]报道,用西门子 ADVIA Centaur 化学发光免疫分析系统在 BNP 浓度为 47~1 768 pg/mL 范围内,批内不精密为 1.7%~3.1%,总不精密为 2.4%~3.4%,而 Biosite Triage 法和放射免疫法的总不精密为 8%~17%。Rawlins 等^[8]对西门子 ADVIA Centaur 化学发光免疫分析系统测定 BNP 和罗氏 Modular E170 电化学发光免疫分析系统测定 NT-proBNP 等 4 种发光免疫分析系统的分析性能进行了评价,所有自动化系统的总 CV 均小于 6%,ADVIA Centaur 系

统在 BNP 浓度为 44.5、430.6、1 571.8 pg/mL 处的批内 CV 分别为 2.3%、2.2%、1.8%，总 CV 分别为 4.4%、2.6%、2.5%，Modular E170 系统在 NT-proBNP 为 259.6、6 039.2 pg/mL 处的批内 CV 分别为 0.7%、0.4%，总 CV 分别为 0.8% 和 0.8%。本文结果显示，BNP 浓度在 30.6~1 736.8 pg/mL 范围内，批内 CV 为 1.1%~2.3%，总 CV 为 2.3%~3.5%，与国外报道相一致，各浓度点的 CV 值均小于厂商声明的不精密度，其分析性能得到验证确认。NT-proBNP 浓度在 72.9~4 322.0 pg/mL 范围内，批内 CV 为 1.1%~2.2%，总 CV 为 1.5%~2.9%，与国外报道一致，与厂商声明值比较，除 72.9 pg/mL 浓度水平外，各浓度点的不精密度均小于厂商声明的不精密度，经计算验证值，72.9 pg/mL 浓度水平外实验测得的批内标准差和总标准差均小于验证值，说明实验得到的不精密度与厂商声明值没有差异，厂商声明的不精密仍得到验证确认。

Gorissen 等^[9]报道，使用西门子 ADVIA Centaur 化学发光免疫系统测定 BNP 的批内 CV 平均为 3.66%，批间 CV 平均为 6.05%，而用罗氏 Cobas E170 电化学发光免疫分析系统测定 NT-proBNP 的批内 CV 平均为 1.39%，批间 CV 平均为 2.96%。Prontera 等^[10]对 2005~2008 年意大利参加能力验证试验的 90 至 112 家实验室共 28 个能力验证样本结果的研究表明，BNP 测定方法内 CV 为 20.2%，方法间 CV 为 46.4%，而 NT-proBNP 方法内 CV 为 4.1%，方法间 CV 为 7.3%，BNP 测定平均总的 CV 是 50.6%，明显高于 NT-proBNP 的 8.4%。Wu 等^[7]的一项研究显示，西门子 ADVIA Centaur 化学发光免疫分析系统测定 BNP 个体内生物学变异为 50%，个体间的生物学变异为 28%；依此导出 BNP 精密度质量指标小于 12.5% 较为理想。本研究结果显示，BNP 和 NT-proBNP 测定的不精密度 CV 均小于 10%，表明 2 个检测系统的精密度性能临床均可接受，但 NT-proBNP 测定的批内 CV 和总 CV 均低于 BNP，表明 NT-proBNP 测定具有更好的精密度，提示 NT-proBNP 测定对心力衰竭的诊治在一定程序上要优于 BNP。

参考文献

[1] 张秀明,郑松柏,庄俊华,等.临床化学发光免疫法检测 AFP 的分

(上接第 537 页)

基因 SNP 相比,MxA -88G/T 多态性有望成为 HBV 感染预防 and 药物治疗应答的预测指标。

参考文献

[1] Mahboobi N,Agha-Hosseini F,Mahboobi N,et al. Hepatitis B virus infection in dentistry: a forgotten topic [J]. J Viral Hepat, 2010,17(5):307-316.
 [2] 黄建宏,邹全明.乙型肝炎病毒基因型临床研究近况[J].国际检验医学杂志,2006,27(8):743-745
 [3] Cao B,Liu X,Hou F,et al. The haplotype of the MxA gene promoter is associated with hepatitis B virus infection in a Chinese population[J]. Liver Int,2009,29(9):1383-1388.
 [4] Book H,Yang SJ. Intrinsic cellular defenses against virus infection by antiviral type I interferon [J]. Yonsei Med J,2010,51 (1):9-17.
 [5] King JK,Yeh SH,Lin MW,et al. Genetic polymorphisms in interferon pathway and response to interferon treatment in hepatitis B patients: A pilot study[J]. Hepatology,2002,36(6):1416-1424.
 [6] Knapp S,Yee LJ,Frodsham AJ,et al. Polymorphisms in interfer-

on-induced genes and the outcome of hepatitis C virus infection: roles of MxA,OAS 1 and PKR[J]. Genes Immun,2003,4(6):411-419.
 [7] 张克菊,魏茂提,何丽,等. MxA 基因多态性与病毒性疾病研究进展[J]. 武警医学院学报,2007,14(6):476-478.
 [8] Pandey M,Rath PC. Organization of the interferon-inducible 2',5'-oligoadenylate-dependent ribonuclease L (RNase L) gene of mouse[J]. Mol Biol Rep,2007,34(2):97-104.
 [9] 尹彦涛,夏平安,崔保安,等. MxA 抗病毒蛋白的研究概况[J]. 中国畜牧兽医,2008,35(1):87-89.
 [10] Hijikata M,Mishiro S,Miyamoto C,et al. Genetic polymorphism of the MxA gene promoter and interferon responsiveness of hepatitis C patient: revisited by analyzing two SNP sites(-123 and -88) in vivo and in vitro[J]. Intervirology,2001,44(6):379-382.
 [11] Dienstag JL. Hepatitis B virus infection [J]. N Engl J Med,2008,359(14):1486-1500.
 [12] 张平安,吴健民,李艳. 几种细胞因子基因多态性与乙型肝炎病毒感染关系[J]. 国际检验医学杂志,2006,27(2):173-175.

(收稿日期:2010-08-10)

(收稿日期:2010-08-03)