

· 论 著 ·

自制电化学发光检测 N 末端 B 型利钠肽原室内质控品及应用评价

薛一峰, 黄建荣

(南京医科大学附属无锡市人民医院检验科, 江苏无锡 214023)

摘要:目的 探讨制备电化学发光检测 N 末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)室内质控品的方法。方法 收集 NT-proBNP 检测结果较高的冠心病患者血清及 NT-proBNP 正常者血清,分为低值组和高值组。进行预期靶值及批内重复精度测定、批内天间不精密度测定、稳定性试验,并与罗氏公司原厂质控品比较,评估自制室内质控品与原厂质控品检测结果的偏倚是否在可接受范围内。结果 自制 NT-proBNP 质控品日内重复性和稳定性良好,不精密度符合临床检测标准,在控范围明显小于罗氏公司提供的质控允许范围,可满足室内质控要求。结论 自制 NT-proBNP 室内质控品可以替代进口原配质控品。

关键词: N 末端 B 型利钠肽原; 室内质控品; 检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.19.023

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)19-2718-03

The comparison and evaluation of the self-developed control products and the internal quality control products detection of NT-proBNP by electrochemiluminescence

XUE Yifeng, HUANG Jianrong

(Department of Clinical Laboratory, Wuxi People's Hospital Affiliated of Nanjing Medical University, Wuxi, Jiangsu 214023, China)

Abstract: Objective To investigate the preparation of internal quality control products of NT-proBNP by electrochemiluminescence detection. **Methods** The serum with high and normal levels of NT-proBNP were collected and divided into low-value group and high-value group. The expected target value, inter-batch duplicability, imprecision and the stability within batch were detected. After effective verification, we evaluated the bias between self developed internal quality control products and Roche factory quality control materials by comparative test. **Results** The repeatability, stability and imprecision of self developed NT-proBNP were all appropriate to internal quality control products and meeting meet the clinical testing standards. The control range was significantly less than that permitted by Roche, so it can meet the internal quality control requirements. **Conclusion** The self developed NT-proBNP internal quality control products can replace the imports quality control products.

Key words: NT-proBNP; internal quality control products; detection

N 末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)作为心力衰竭(HF)的标志物,已被广泛应用于 HF 的诊断、鉴别诊断与病死评估中,对 HF、心肌梗死等疾病的预后、危险度分级、手术时机选择也有较高的判断价值,其临床应用也逐渐拓展到治疗领域^[1-2]。临床验证 NT-proBNP 是目前管理 HF 的最佳生化指标,其检测结果为临床诊疗提供客观依据^[3-5]。目前临床上用于 NT-proBNP 的检测方法多为电化学发光法,其中 Cobas E601 采用电化学发光技术、生物素-链霉亲和素技术及二维条码技术,具有高敏感性和特异性、可检测范围宽、检测速度快、标记物稳定无污染、结果准确稳定、操作简便、自动化程度高等诸多优点,精密度和稳定性均可适合临床需求。自 2009 年该科使用 Roche 公司的 Cobas e601 全自动电化学发光分析仪进行 NT-proBNP 检测,现探讨自制 NT-proBNP 室内质控品,并对其稳定性、重复性进行评价,报道如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 Roche 公司的 Cobas e601 全自动电化学发光分析仪及其配套 NT-proBNP 试剂、室内质控品。

1.2 自制质控品

1.2.1 收集多份 NT-proBNP 检测结果较高的住院冠心病患者血清及 NT-proBNP 正常者血清,要求无溶血、无黄疸、无脂浊,乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)、梅毒均阴性,初步定值,分为低值组和高值组。

1.2.2 参照文献[6-7]的方法 将 2 份血清于 65 ℃ 灭活 10 h,1 500 r/min 离心 10 min,取上清液,并加入 5% 的叠氮钠防腐,分装到 1 mL 的 Eppendorf 管中,每支 0.5 mL,保存于一 80 ℃ 冰箱。

1.3 自制质控品的预期靶值及批内重复精度检测 所有测试均在仪器维护保养后,检测项目重新标定,并在原配质控品在控情况下检测。1 d 之内对 2 种不同浓度的自制质控品连续检测 20 次,分别计算平均值(\bar{x})、标准差(SD)、变异系数(CV)。

1.4 批内天间不精密度检测 试验时取出 1 支试管,37 ℃ 水浴融溶。和日常标本一起检测,连续 23 个工作日,每日检测 1 次,月末统计并分别计算 \bar{x} 、SD、CV。

1.5 稳定性试验 每天检测自制质控品 1 次,连续检测 4 个月,分别统计每个月的 \bar{x} 、SD、CV,并统计 1~4 个月累计的 \bar{x} 、SD、CV,对每个月及 4 个月累计的 SD 进行单因素方差分析。

1.6 自制质控品与罗氏原厂质控品比较 以 1~4 个月累积为靶值,以 $\bar{x} \pm SD$ 计算自制质控品在控范围,并与罗氏原厂质控品进行比较。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 种自制不同浓度的 NT-proBNP 质控品日间重复性检测 不同浓度的 NT-proBNP 质控品日间重复性良好。见

表 1。

表 1 2 种不同浓度 NT-proBNP 质控品日间重复性检测 (n=20, pg/mL)

项目	低值	高值
\bar{x}	155	5 662
SD	6.6	225
CV	4.26	3.97

2.2 2 种自制不同浓度的 NT-proBNP 质控品批内天间不精密度检测 22 d 不精密度符合临床检测标准。见表 2。

表 2 2 种不同浓度 NT-proBNP 质控品批内天间不精密度检测 (n=22, pg/mL)

项目	低值	高值
\bar{x}	157	5 659
SD	7.11	237
CV	4.53	4.19

2.3 2 种不同浓度的 NT-proBNP 质控品稳定性检测 分别以 1~4 个月的累积、SD 作为中心线,观测 1~4 个月累积和 SD 的走势图,未发现明显的呈连续上升或下降趋势,同时也未发现数据升高或降低超过 $\pm 2SD$ 。见表 3。

表 3 2 种不同浓度 NT-proBNP 质控品稳定性检测 (pg/mL)

时间	n	低值			高值		
		\bar{x}	SD	CV	\bar{x}	SD	CV
第 1 个月	22	157	7.11	4.53	5 659	237	4.19
第 2 个月	20	149	6.78	4.55	5 668	243	4.29
第 3 个月	23	152	6.6	4.34	5 670	225	3.97
第 4 个月	22	155	6.75	4.35	5 658	230	4.07
平均值		153.25	6.81	4.44	5 663.8	233.8	4.13

2.4 自制质控品与罗氏原厂质控物比较 罗氏公司的质控物以靶值 $\pm 18\%$ 为允许范围,而自制质控物的在控范围,经计算得出为靶值 $\pm 8.3\% \sim \pm 8.9\%$,自制质控品的在控范围明显小于罗氏公司提供的质控允许范围,说明完全可以满足室内质控要求。经过 4 个月的评估,自制 NT-proBNP 质控品具有良好的重复性和稳定性,在 -80°C 能较长时间保持稳定。见表 4。

表 4 自制质控品与罗氏原厂质控品靶值及在控范围比较 (pg/mL)

类别	低值				高值			
	靶值	SD	CV	范围	靶值	SD	CV	范围
罗氏质控品	128	7.68	6	105~151	4 280	257	6	3 510~5 050
自制质控品	153.3	6.81	4.44	140~167	5 664	234	4.13	5 196~6 132

3 讨 论

自有关学者从猪脑内分离得到 B 型利钠肽 (BNP) 和首次在人类血浆中发现 NT-proBNP 以来,大量基础和临床研究迅速推动其在临床中的应用。包括 BNP 和 NT-proBNP 在内的利尿肽家族在维持人体循环系统的容量、渗透压、压力稳态方面起着重要作用,也是近年来最受关注的心血管功能性标志

物^[8]。BNP 和 NT-proBNP 有相同的生物学来源,但生物学效应和临床意义不完全相同。心肌细胞受刺激后产生含 134 个氨基酸的 B 型利钠肽原前体 (Pre-proBNP),随后形成含 108 个氨基酸的 BNP 前体 (proBNP),后者在内切酶的作用下裂解生成 2 个产物,即 BNP 和 NT-proBNP^[9]。BNP 由第 77~108 个氨基酸残基组成,半衰期短 (22 min),抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统和肾上腺素活性,体外稳定性差,具有强力的利钠、利尿、扩血管和降压作用;NT-proBNP 由第 1~76 个氨基酸残基组成,半衰期较长 (2 h),无生物活性,体外的稳定性长 ($> 48\text{ h}$)。当心肌受到牵张刺激时将两者同时释放入血液循环中,NT-proBNP 浓度相对较稳定,有效检测时间长,血液中含量较高 (比 BNP 高约 16~20 倍),临床检测多针对相对容易的 NT-proBNP^[10]。临床检测 NT-proBNP 大多采用电化学发光免疫分析法,是免疫分析未来发展方向。

近年来,随着临床实验诊断技术和检测水平的提高,全面质量控制越来越受到各方面的关注与重视。包括 Cobas e601 在内的各种进口全自动电化学发光检测系统在我国应用非常广泛,Cobas e601 所需试剂、质控品等各种耗材均需进口,成本较高。而室内质控的目的在于监测检测结果的精密度以提高常批间和批内检测结果的一致性,因此质控物是调查检验分析仪器质量控制和实验室检验结果准确度必不可少的物质,其质量与应用是否得当,直接关系到实验室检验结果与检测成绩。临床实验室改进修正案最终规则的标准 493.1256 中要求:实验室可使用商品化定值的质控品,其定值是与实验室所使用方法和仪器有关,实验室需要对其定值进行验证。有学者认为实验室不仅可以购买商品化的质控品,也可以用实验室剩余的检测样品制备质控品,国内已有研究表明自制室内质控品可以替代进口原配质控品^[11],本研究也证实。因此,在日常工作中可以尝试自制各种室内质控品,降低运行成本,提高经济效益。

参考文献

- [1] Janda S, Swiston J. Diagnostic accuracy of pleural fluid NT-pro-BNP for pleural effusions of cardiac origin; a systematic review and meta-analysis[J]. BMC Pulm Med, 2010, 78(11): 58-59.
- [2] 赵艳辉, 丛洪良. 心衰患者血清胱抑素 C、嗜铬粒蛋白 A 与心室重构的关系[J]. 天津医科大学学报, 2015, 21(3): 193-195.
- [3] Sokhanvar S, Shekhi M, Mazlomzadeh S, et al. The relationship between serum NT-Pro-BNP levels and prognosis in patients with systolic heart failure[J]. Journal of Cardiovascular and Thoracic Research, 2011, 3(2): 57-61.
- [4] Lin JF, Hsu SY, Wu S, et al. QT interval independently predicts mortality and heart failure in patients with ST-elevation myocardial infarction[J]. Int J Med Sci, 2015, 12(12): 968-973.
- [5] Knebel F, Schimke I, Pliet K, et al. NT-ProBNP in acute heart failure; correlation with invasively measured hemodynamic parameters during recompensation[J]. J Card Fail, 2005, 11(5 Suppl): S38-S41.
- [6] 郑怀亮. 临床免疫实验室质量管理[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997: 68.
- [7] 王翠, 王云龙, 明亮, 等. N 端前脑钠肽稳定保存体系的优化[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(4): 517-521.
- [8] Lowenthal A, Camacho BV, Lowenthal (下转第 2722 页)

该院鲍曼不动杆菌感染患者主要来自 ICU、呼吸科等住院患者,与刘一力等^[8]报告的 ICU 占 21.1% 较为接近,但显著高于呼吸科的 8.8%。本研究监测结果显示,氨基糖苷类庆大霉素、妥布霉素、阿米卡星各年耐药率变化不大。哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦的耐药率虽呈逐年上升,但仍小于 50.0%。因舒巴坦对鲍曼不动杆菌有天然的抗菌活性,头孢哌酮的抗菌活性可被舒巴坦增强,因此头孢哌酮/舒巴坦可作为治疗该菌感染的首选药物^[9]。由于头孢哌酮/舒巴坦的广泛应用,2011~2015 年该院分离的鲍曼不动杆菌对头孢哌酮/舒巴坦耐药性日益增高,已从 2011 年的 6.1% 上升至 2015 年的 57.1%。

碳青霉烯类曾经是治疗鲍曼不动杆菌重症感染的首选药物,该院美罗培南耐药率从 2011 年的 34.3% 上升至 2015 年的 85.7%,高于 2012 年全国 CHINET 耐药网监测数据 (61.4%)^[10],与蔡瑜等^[6]的报道 81.9% 相近,亚胺培南耐药率有所上升但仍小于 50.0%。

头孢他啶、头孢吡肟的耐药率基本接近 50.0%。复方新诺明从 2011 年的 43.3% 上升至 2015 年的 85.7%。米诺环素、替加环素耐药率较低,都保持了良好的敏感性。替加环素是米诺环素、四环素的衍生物,其抗菌活性高于米诺环素、四环素,克服或限制了细菌对多种抗菌药物产生的外排泵和核糖体保护的主要耐药机制,具有广谱抗菌活性,对大多数常见的病原菌及耐药菌株具有较高的抗菌活性,因此对多重耐药鲍曼不动杆菌(MDRAB)、泛耐药鲍曼不动杆菌(XDRAB)的感染,耐碳青霉烯类鲍曼不动杆菌(CRAB)可根据药敏选择该类药物^[11]。国外研究发现多黏菌素 E 对鲍曼不动杆菌的敏感性最高^[12];但我国缺乏多黏菌素 E 大规模的耐药监测数据。有研究提示其耐药率最低,为 10.8%,其次是头孢哌酮/舒巴坦和米诺环素^[13]。

2010 年中国 CHINET 监测数据显示,不动杆菌对头孢哌酮/舒巴坦耐药率为 30.7%,米诺环素为 31.2%,其他药物如亚胺培南、美罗培南、头孢吡肟、头孢他啶、哌拉西林/他唑巴坦、氨苄西林/舒巴坦、阿米卡星、庆大霉素、环丙沙星等耐药率均在 50.0% 以上,这与该院有很多不同,表明鲍曼不动杆菌耐药性存在明显的地域差异。该院美罗培南、复方新诺明耐药率均大于 85.0%,与该院抗菌药物使用率有关,是抗菌药物选择性压力所造成。

参考文献

[1] 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,2006:738-741.

(上接第 2719 页)

S, et al. Usefulness of B-Type natriuretic peptide and N-Terminal Pro-B-Type natriuretic peptide as biomarkers for heart failure in young children with single ventricle congenital heart disease[J]. American Journal of Cardiology, 2012, 109(6): 866-872.

[9] Clerico A, Delme RS, Giannessi D. Measurement of cardiac natriuretic hormones (ANP, BNP and related peptides) in clinical practice: The need for a new Generation of immunoassay methods[J]. Clin Chem, 2000, 46(10): 1529-

[2] Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational Supplement [M]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2014: 62-63.

[3] 陈佰义,何礼贤,胡必杰,等. 中国鲍曼不动杆菌感染诊治与防控专家共识[J]. 中国医药科学, 2012, 2(8): 3-8.

[4] Falagas ME, Kopterides P, Siempos II. Attributable mortality of Acinetobacter baumannii infection among critically ill patients[J]. Clin Infect Dis, 2006, 43(3): 389-390.

[5] Lockhart SR, Abramson MA, Beekmann SE, et al. Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the United States between 1993 and 2004[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(10): 3352-3359.

[6] 蔡瑜,梅亚宁,文怡,等. 2013 年某教学医院鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2015, 9(4): 502-505.

[7] 陈萌,李春玉. 呼吸内科病房感染鲍曼不动杆菌的耐药情况分析[J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(24): 24-25.

[8] 刘一力,石毅. 2010~2014 年鲍曼不动杆菌临床分布及耐药性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(13): 1899-1901.

[9] 邵海连,汪定成,郭静,等. 多重耐药鲍曼不动杆菌体外抗菌活性分析[J]. 中国感染控制杂志, 2014, 13(3): 138-140.

[10] 汪复,朱德妹,胡付品,等. 2012 年中国 CHINET 细菌耐药性监测[J]. 中国感染与化疗杂志, 2013, 13(5): 321-330.

[11] Liu JW, Wang LS, Cheng YJ, et al. In vitro activity of tigecycline against clinical isolates of Acinetobacter baumannii in Taiwan[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 32(Suppl 3): S188-S191.

[12] Galani I, Kontopidou F, Souli M, et al. Colistin susceptibility testing by Etest and disk diffusion methods[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(5): 434-439.

[13] Zhou H, Yang Q, Yu YS, et al. Clonal spread of imipenem-resistant Acinetobacter baumannii among different cities of China[J]. J Clin Microbiol, 2007, 45(12): 4054-4057.

(收稿日期:2016-03-25 修回日期:2016-05-20)

1535.

[10] Yeo KJ. Multicenter evaluation of the Roche NT-proBNP assay and comparison to the Biosite Triage BNP assay [J]. Clin Chem Acta, 2003(338): 107-115.

[11] 姜新华,赵燕飞,吴小明,等. 自制雌二醇性激素室内免疫质控制品及其性能评价[J]. 检验医学, 2010, 25(5): 403-404.

(收稿日期:2016-02-18 修回日期:2016-04-13)