

· 论 著 ·

UPT-3A 型上转发光免疫分析仪性能评价

王少容, 邹鹏程

[摘要] 目的 通过肌钙蛋白 I(cTnI)、N 末端脑利钠肽前体(NT-proBNP)以及降钙素原(PCT)定量检测对 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪进行性能评价。方法 收集临床血清标本,通过测定 cTnI、NT-proBNP、PCT 三个项目,分别进行精密度、准确度、线性范围分析及对三个项目进行生物参考区间验证。结果 该分析仪的精密度、准确度、线性范围、参考区间均在仪器的允许范围之内。结论 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪检测结果准确可靠,精密度好,线性良好,符合相应的参考区间。主要性能基本符合质量目标要求,能够满足现有临床需要。

[关键词] 上转发光技术(UPT);精密度;准确度;线性范围;参考区间;性能评价

[中图分类号] R446.6 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.06.013

The performance evaluation of UPT-3A immunoassay analyzer

WANG Shao-rong, ZOU Peng-cheng. Clinical Laboratory, 175 Hospital of PLA, Zhangzhou, Fujian 363000, China

[Abstract] **Objective** By detection of the troponin I (cTnI) and N terminal pro brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and procalcitonin (PCT) to evaluate the performance of type UPT-3A chemiluminescence immunoassay analyzer. **Methods** The clinical serum samples were collected, and the precision, accuracy and linear range of the three items were determined by cTnI, NT-proBNP and PCT, and the biological reference interval of the three items was tested. **Results** The precision, accuracy, linear range and reference interval of the analyzer were within the allowable range of the instrument. **Conclusion** The results of UPT-3A type up conversion immunoassay analyzer are accurate and reliable, and the precision is good. The main performance is basically in accordance with the requirements of the quality objectives, and can meet the needs of the existing clinical.

[Key words] up-converting phosphor technology; precision; accuracy; linearity; reference interval; performance evaluation

随着当代医学的发展及人们对卫生健康的重视,床旁检测(point-of-care test, POCT)的应用越普及。上转发光技术(up-converting phosphor technology, UPT)是典型的亚微米颗粒,由稀土(镧系、钪 Sc 和钇 Y 等 17 种元素)掺杂陶瓷组成,具有更广泛的生物/化学兼容性和表面功能活性,颗粒具有独特的光学上转换属性。可以释放出比激发光波长更短波长的光(将低能光转化为高能光)。UPT-3A 型上转发光免疫分析仪是一台通过将稀土金属纳米颗粒、免疫层析技术以及光电分析技术有机的结合的应急检测 POCT 技术平台,具有微量、快速、简便、结果稳定等优点。主要应用有炎症标志物系列(高敏降钙素原、C-反应蛋白等),心肌标志物系列(肌钙蛋白、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶等),栓塞标志物、肝病检测系列、类风湿系列、肾损伤系列等的快速检测。同时《医学实验室—质量和能力

认可准则》规定,临床实验室在建立或者引进新的检测仪器或检验项目时应应对检测系统/项目进行性能评价,以判断其性能能否满足临床使用要求^[1]。本文列举通过肌钙蛋白 I(cardiac troponin I, cTnI)、N 末端脑利钠肽前体(N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, NT-proBNP)以及降钙素原(procalcitonin, PCT)三个项目的精密度、准确度、线性范围以及生物参考区间验证对 UPT-3A 型上转发光分析仪进行性能验证。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集临床 cTnI、NT-proBNP、PCT 样本,所有样本须覆盖 Roche Cobas E601 电化学发光分析仪、雅培 i2000sr 化学发光分析仪及 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪分析测量范围, -20℃ 冷冻保存,用于准确度及线性范围评估。采用美国 Bio-rad 公司的心肌标志物(批号:23611、23612,有效期至 2017 年 9 月 30 日)及罗氏 PCT 质控品(批号:185523-03,含低值和高值,有效期至 2017 年 2 月)进行精密度评估;同期选择健康体检中心健康体检者 20 名,用于生物参考区间验证。

作者单位: 363000 福建漳州,解放军 175 医院检验科

引用格式: 王少容, 邹鹏程. UPT-3A 型上转发光免疫分析仪性能评价[J]. 东南国防医药, 2016, 18(6): 606-608, 635.

1.2 仪器和试剂 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪及配套带有稀土金属纳米颗粒的试剂条、稀释液由北京热景生物技术有限公司提供;罗氏 cobas E601 电化学发光分析仪,PCT、NT-proBNP 试剂及校准品由德国 Roche 公司提供;雅培 i2000sr 全自动化学发光免疫分析仪,cTnI 试剂及校准品由美国雅培公司提供。

1.3 方法

1.3.1 精密度验证 参照美国临床和实验室标准化协会(CLSI) EP5-A2 文件评估精密度^[2]。用伯乐心肌标志物质控品和罗氏 PCT 质控品,由检验科熟练的技术人员连续检测 20 次,评估批内精密度。每日采用该质控品检测 1 次,连续检测 20 d,评估批间精密度。收集数据进行统计分析,分别计算批内和批间的均值(\bar{x})、标准差(s)和变异系数(CV)。根据试剂说明书要求,批内精密度 PCT 变异系数 $\leq 12.00\%$,NT-proBNP、cTnI 变异系数 $\leq 15.00\%$;批间精密度三者变异系数均 $\leq 15.00\%$ 。

1.3.2 准确度 参照 CLSI EP9-A2 文件评估准确度^[3]。收集临床 cTnI、NT-proBNP、PCT 高值(3 份)、中值(4 份)及低值(3 份)样本,共计 10 份,每份样本分成 2 套,共计 20 套,于 -20°C 冷冻保存,与 Roche Cobas E601 电化学发光分析仪、雅培 i2000sr 化学发光分析仪同时进行检测,评估 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪的准确度。

1.3.3 线性范围 照 CLSI EP6-A 文件评估现行范围^[4]。收集 cTnI、NT-proBNP、PCT 的临床高值和低值血清,于 -20°C 冷冻保存备用。进行线性范围评估时,复溶,并按 H、0.8H+0.2L、0.6H+0.4L、0.4H+0.6L、0.2H+0.8L、L 配置系列浓度,分别编号,随机排列重复检测 2 次,计算平均值。以平均值作为测定值,以所收集时临床高值样本测定值及稀释后浓

度的理论值作为预期值,二者进行线性回归($Y=bX+a$),并计算相关系数(r)。

1.3.4 参考区间验证 参考 CLSI C28-A2 文件进行生物参考区间验证^[5]。选择 20 名健康体检者作为研究对象,采集其血清并检测三个指标。如果检测结果有 95%以上落在所设定的生物参考区间内,则认为该生物参考区间可接受。假如有 2 名(10%)以上检测结果落在生物参考区间以外,则需重新筛选研究对象,重新检测,如果 95%检测结果在参考区间以内,则认为验证有效;假如超出 2 名(10%),则应检查检测系统是否运行正常,检测程序是否按照 SOP 进行,然后再考虑所选取参考人群的区域性、个体差异等,并进一步进行调查,重新选取合适的区间,必要时自建。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件和 Microsoft Excel 2003 软件进行数据处理。正确度评估所得数据以均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,并进行配对 t 检验、计算两组数据的线性方程($Y=bX+a$)和相关系数(r),以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 精密度验证结果 cTnI、NT-proBNP、PCT 高水平、低水平质控品在 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪上进行精密度试验,结果详见表 1、表 2。根据 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪配套试剂说明书要求,批内精密度 PCT 变异系数 $\leq 12.00\%$,NT-proBNP、cTnI 变异系数 $\leq 15.00\%$;批间精密度三者变异系数都是 $\leq 15.00\%$ 。结果表明,批内、批间精密度均在可接受范围内。

2.2 准确度验证结果 通过 Roche Cobas E601、雅培 i2000sr 和 UPT-3A 的比对分析,两组 cTnI、NT-proBNP、PCT 的结果进行线性回归,所得斜率 b 均

表 1 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪批内精密度测定结果

项目	低水平(L)			高水平(H)			预期目标(%)
	\bar{x}	s	变异系数(%)	\bar{x}	s	变异系数(%)	
PCT(ng/mL)	0.420	0.037	8.81	11.163	0.770	6.90	≤ 12.00
NT-proBNP(pg/mL)	124.59	10.23	8.21	291.34	20.51	7.04	≤ 15.00
cTnI(ng/mL)	0.052	0.005	9.62	2.122	0.171	8.06	≤ 15.00

表 2 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪批间精密度测定结果

项目	低水平(L)			高水平(H)			预期目标(%)
	\bar{x}	s	变异系数(%)	\bar{x}	s	变异系数(%)	
PCT(ng/mL)	0.400	0.047	11.75	11.128	0.914	8.21	≤ 15.00
NT-proBNP(pg/mL)	120.32	12.79	10.63	285.34	24.61	8.62	≤ 15.00
cTnI(ng/mL)	0.047	0.006	12.77	2.065	0.214	10.36	≤ 15.00

表 3 UPT-3A 与 Roche Cobas E601、雅培 i2000sr 间比对结果

项目	UPT-3A	Roche Cobas E601	雅培 i2000sr	斜率 (b)	r 值
PCT(ng/mL)	19.351±15.279	20.139±15.737	- *	0.9705	0.9995
NT-proBNP(pg/mL)	2593.13±3371.51	2592.15±3441.82	- *	0.9792	0.9996
cTnI(ng/mL)	16.49±11.90	- *	16.22±11.70	0.9815	0.9986

注: * 表示评估项目未在该设备上开展

在(1.00±0.03)之间,相关系数(r)均大于 0.975,配对 t 检验所得 P 均大于 0.05,见表 3。

2.3 线性范围验证 通过配置系列浓度,不同浓度实测值与预测值进行直线回归分析,见表 4。

表 4 UPT-3A 三项目检测线性范围

相关参数	PCT	NT-proBNP	cTnI
截距(a)	0.0433	-698.23	-0.8027
斜率(b)	0.9765	1.0102	1.0201
决定系数(R^2)	0.9983	0.9948	0.995
线性范围	0.185~44.746	7.95~30 005.65	0.43~31.05
厂家声明范围	0.01~50.00	5.00~35 000.00	0.10~40.00

2.4 参考区间验证 各指标检测结果均在预设生物参考区间范围内,验证后的生物参考区间如下: PCT: 0 ~ 0.1 ng/mL; NT-proBNP: 0 ~ 125 pg/mL; cTnI: 0~0.5 ng/mL。

3 讨 论

UPT 是使用上转发光材料(up-converting phosphor,UCP)作为示踪标记物,UCP 是由稀土金属元素(镧系、钪 Sc 和钇 Y 等 17 种元素)所构成的一系列晶体合成材料,其具有绝无仅有的上转发光现象,即在红外光(波长>780 nm)的激发下,发射可见光(波长 475~670 nm)。这一特性使其作为标记物应用于生物领域,与荧光素或荧光颗粒相比,可发挥快速、无淬灭、无背景、高敏感性、高稳定性等特点,可进一步作为标记物应用于免疫层析,即上转发光免疫层析(简称 UPT 免疫层析)。利用上转发光免疫分析仪(简称 UPT 免疫分析仪),对在层析过程中通过特异免疫反应结合于特定区域(检测带与质控带)的 UCP 颗粒进行扫描分析,即可实现精确定量。

上转发光免疫分析仪是应用稀土元素纳米颗粒、免疫层析分析技术以及光电分析技术有机结合建立起来的应急检测 POCT 平台。具有快速、灵活、可靠、环保等特点。基于该平台可用于感染检测(高敏降钙素原、C-反应蛋白等)、心脑血管检测(肌钙蛋白、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶

等)、肝纤维化(透明质酸、层粘连蛋白、Ⅳ型胶原蛋白、甲胎蛋白等)、肾脏损伤系列、早产预测系列等等。

心脑血管疾病和感染性疾病在临床较为常见,且病情发展迅速,患者死亡率仍处于较高水平。然而我们医院在这方面应用也比较多,心血管疾病诊断过程中,肌钙蛋白是心肌损伤的敏感标记物,目前,国际上多个组织已将肌钙蛋白升高定义为心肌梗死^[6],不需要心电图改变的支持。肌钙蛋白作为心肌梗死的敏感指标因其检查快速性和特异性而发挥重要作用,这对非手术患者的预后具有预测价值^[7]。而感染性疾病 PCT 可作为脓毒症诊断中的一个独立、特异有用的指标^[8]。同时,PCT 的检测对早期细菌感染性疾病的诊断具有重要的临床价值。

近年来,急性心机缺血、细菌性感染等疾病越发常见,各种临床生化免疫标志物的普及率也越来越高,准确的检测结果和诊疗的及时性、有效性面临着巨大挑战。如何实现快速、精确的检测,以期减少诊治时间和精力,得到更好的救治效果,已成为临床医生抢救和治疗的一大难题^[9-12]。随着快速发光检测系统的发展,发光免疫分析仪快速检测系统也被越来越多实验室和临床科室投入应用。而本实验三个检测项目(PCT、NT-proBNP、cTnI)的精密度验证结果满足厂家声明,结果显示 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪具有较好的精密度。在准确度方面,因为目前尚无国际统一的标准方法(物质),故实验室选择目前在临床应用比较广泛的检测系统(罗氏 cobas E601 和雅培 i2000sr)与 UPT-3A 进行方法学比对实验,实验结果表明三者相关系数均在 0.975 以上,均满足实验室质量目标要求。通过对三者线性范围的验证,结果示 PCT 验证范围为 0.185 ~ 44.746 ng/mL, NT-proBNP 为 7.95 ~ 30 005.65 pg/mL, cTnI 为 0.43~31.05 ng/mL。由于临床高值、低值样本留取具有一定时限性和特殊性,虽然验证结果未能达到厂家声明的最大范围,但该验证范围已基本能够覆盖临床需求范围。对

(下转第 635 页)

- 武汉大学学报(医学版), 2008, 29(5): 610-616.
- [26] Shido Y, Nishida Y, Suzuki Y, et al. Targeted hyperthermia using magnetite cationic liposomes and an alternating magnetic field in a mouse osteosarcoma model[J]. J Bone Joint Surg Br, 2010, 92(4): 580-585.
- [27] Gonçalves M, Figueira P, Maciel D, et al. pH-sensitive Laponite®/doxorubicin/alginate nanohybrids with improved anti-cancer efficacy[J]. Acta Biomater, 2014, 10(1): 300-307.
- [28] Haussecker D. The business of RNAi therapeutics in 2012[J]. Mol Ther Nucleic acids, 2012, 1(2): e8. doi: 10.1038/mtna.2011.9.
- [29] Rousseau J, Escriou V, Perrot P, et al. Advantages of bioluminescence imaging to follow siRNA or chemotherapeutic treatments in osteosarcoma preclinical models[J]. Cancer Gene Ther, 2010, 17(6): 387-397.
- [30] Rousseau J, Escriou V, Lamoureux F, et al. Formulated siRNAs targeting Rankl prevent osteolysis and enhance chemotherapeutic response in osteosarcoma models[J]. J Bone Miner Res, 2011, 26(10): 2452-2462.
- [31] Zhao Y, Tu MJ, Yu YF, et al. Combination therapy with bioengineered miR-34a prodrug and doxorubicin synergistically suppresses osteosarcoma growth[J]. Biochem Pharmacol, 2015, 98(4): 602-613.
- (收稿日期:2016-07-26;修回日期:2016-08-30)
(本文编辑:黄攸生)

(上接第 608 页)

所得检测结果进行线性回归分析显示,所有项目斜率均在 0.97~1.03 之间,相关系数 r 均大于 0.975,检测结果表明 UPT-3A 检测结果与罗氏、雅培具有较好的可比性。在生物参考区间验证实验中,实验室参照 CLSI C28-A2 文件要求对厂家声明的生物参考区间进行验证,验证结果表明,三个检测项目所有结果均落在当前使用的参考区间范围之内,厂商提供的生物参考区间满足漳州地区常住人群。以此同时,在我院卫生装备贯彻“平战结合”的方针上,根据特点(体积小、快速、精确、稳定)符合方舱野战医院的特点,在应急保障能力上起到重要意义^[13]。

总之,笔者根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)的相关要求,通过对 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪检测系统进行性能评价,结果表明该设备性能良好,引用的生物参考区间适用,可满足临床需求。

【参考文献】

- [1] 中国合格评定国家认可委员会.ISO1518:2007 医学实验室质量和能力认可准则[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2008.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline-Second Edition[S]. EP5-A2, CLSI, 2004.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition[S]. EP9-A2, CLSI, 2002.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures; A Statistical Approach; Approved Guideline[S]. EP6-A, CLSI, 2003.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory [S]. C28-A2, CLSI, 2000;1-31.
- [6] Jneid H, Alam M, Virani SS, et al. Redefining myocardial infarction;what is new in the ESC/ACGF/AHA/WHF third universal definition of myocardial? [J] Methodist Debakey Cardiovasc J,2013,9(3):169-172.
- [7] Jaffe AS. Peri-operative myocardial infarction and high sensitive cardiac troponin;a start but by no means a finish [J].Heart,2012,98(19):1402-1403.
- [8] 朱星成,段 勇.降钙素原与感染性疾病的临床研究进展[J].医学综述,2014,20(2):231-233.
- [9] 张 庆,王泉旻,王素琴,等.血浆 NT-proBMP 在老年慢性充血性心力衰竭诊断中的价值及其与心功能的关系[J].实验与检验医学,2014,32(5):498-499.
- [10] 易红根,曾国强,肖金元,等.降钙素原测定在诊断儿童感染性疾病中的临床意义[J].实验与检验医学,2012,30(1):67-68.
- [11] 蔡利勋,陈 玉,郑剑峰,等.降钙素原在上呼吸道诊治中的应用[J].实验与检验医学,2012,30(6):546-547.
- [12] 双 田,丁雪燕,马丽萍,等.急性心肌梗死患者血清肌钙蛋白 I 抗体检测的临床意义[J].东南国防医药,2013,15(1):14-17.
- [13] 余 海,郁毅刚,胡永狮,等.方舱野战医院登陆场快速展开及保障能力生成探讨[J].东南国防医药,2015,17(1):103-104.
- (收稿日期:2016-04-10;修回日期:2016-10-28)
(本文编辑:叶华珍; 英文编辑:王建东)