

Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp xét nghiệm NT-proBNP bằng phương pháp miễn dịch Vi hạt hóa phát quang

Trần Thành Vinh¹ và Diệp Hồng Yến^{2*}

¹Bệnh viện Chợ Rẫy

²Bệnh viện Đa khoa Đồng Nai

TÓM TẮT

Việc xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp xét nghiệm ngày càng phổ biến và có vai trò quan trọng trong các tiêu chuẩn đánh giá chất lượng phòng xét nghiệm. Nhất là đối với các xét nghiệm có giá trị quyết định trên lâm sàng. Trong đó có xét nghiệm NT-proBNP. Mục tiêu nghiên cứu: Xác nhận giá trị sử dụng về độ chụm, độ đúng, của phương pháp xét nghiệm NT-proBNP bằng kỹ thuật vi hạt hóa phát quang trên máy Architect i2000. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả thực nghiệm cho mục tiêu xác nhận giá trị sử dụng. Kết quả: xác nhận độ chụm thực hiện trên mẫu huyết thanh bệnh nhân: độ lặp lại 2.92 %, độ không chính xác trong phòng xét nghiệm là 3.21 % ở mức nồng độ thấp (147.84 ng/mL), và độ lặp lại 2.17 %, độ không chính xác trong phòng xét nghiệm là 2.31 % ở mức nồng độ cao (1,368.22 ng/mL), đều đạt yêu cầu tuyên bố của nhà sản xuất. Kết quả xác nhận độ đúng của xét nghiệm NT-proBNP mức thấp nồng độ (140 ng/ml) giá trị trung bình là 142.51 nằm trong khoảng xác nhận 136.77 – 143.23, mức cao (5,000 ng/ml) có giá trị trung bình 5,089.52 nằm trong khoảng xác nhận 4,839.41 – 5,160.59 đạt yêu cầu tuyên bố của nhà sản xuất. Kết luận: kết quả xác nhận độ chụm thực hiện trên mẫu huyết thanh có độ lặp và độ không chính xác trong phòng xét nghiệm đạt yêu cầu tuyên bố của nhà sản xuất. Kết quả xác nhận độ đúng đạt yêu cầu tuyên bố của nhà sản xuất.

Từ khóa: xác nhận giá trị sử dụng, độ lặp, độ không chính xác trong phòng xét nghiệm, độ đúng

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cùng với sự phát triển của khoa học công nghệ, xét nghiệm là lĩnh vực đang phát triển, được ứng dụng nhiều thành tựu kỹ thuật khoa học mới, cho kết quả xét nghiệm nhanh chóng và có độ tin cậy cao. Ngày nay, các phòng xét nghiệm cũng đã nhận biết được tầm quan trọng của việc đảm bảo chất lượng và kiểm tra chất lượng trong hoạt động xét nghiệm. Các kết quả xét nghiệm tin cậy do phòng xét nghiệm cung cấp sẽ góp phần giúp bác sĩ lâm sàng đưa ra quyết định trong chẩn đoán và điều trị [1].

Hiện nay có nhiều tiêu chuẩn chất lượng liên quan đến vấn đề đảm bảo chất lượng xét nghiệm. Tiêu chuẩn ISO 15189 là tiêu chuẩn quốc tế quy định các yêu cầu về năng lực và chất lượng cụ thể đối với phòng xét nghiệm y khoa đầu tiên được thống nhất áp dụng trên toàn thế giới. Yêu cầu ISO 15189 được chia làm hai nhóm. Các yêu cầu về quản lý và các yêu cầu về kỹ thuật. Trong yêu cầu về kỹ thuật có

mục 5.5 là kiểm soát quá trình thực hiện xét nghiệm, các quy trình xét nghiệm phải được xác nhận để đảm bảo rằng các đặc tính hiệu suất của chúng phù hợp với phạm vi dự định của xét nghiệm, trong mục này có các yêu cầu về xác nhận phương pháp định lượng, tính độ không đảm bảo đo, khoảng tham chiếu sinh học, hoặc giá trị quyết định lâm sàng và các quá trình thực hiện này phải được chứng minh [2, 3]. Tiêu chuẩn trong nước có một số tiêu chí quy định của BHYT trong đó có quyết định 2429/2017 của BHYT quy định tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học, nhằm chuẩn hóa chất lượng kết quả xét nghiệm hướng đến liên thông kết quả trên toàn quốc. Hầu hết các tiêu chuẩn này khá thống nhất nhằm đưa đến một kết quả chính xác, ổn định và tin cậy. Hiện nay đã có một số phòng xét nghiệm đạt được chuẩn chất lượng như ISO 15189, hoặc được đánh giá công

Tác giả liên hệ: Diệp Hồng Yến

Email: hongyen.hoasinh@gmail.com

nhận mức chất lượng theo tiêu chí 2429 của BYT. Tuy nhiên việc chuẩn hóa kỹ thuật, đặc biệt là các xét nghiệm có giá trị mang tính quyết định trên lâm sàng vẫn chưa được quan tâm đúng mức. Trong đó có kỹ thuật xét nghiệm NT-proBNP.

Xét nghiệm NT-proBNP là một xét nghiệm rất có giá trị trong chẩn đoán phân biệt suy tim với các trường hợp khó thở cấp, cũng như loại trừ các trường hợp suy tim. Ngày nay nhiều nghiên cứu còn cho thấy NT-proBNP còn có giá trị theo dõi và tiên lượng tử vong trong suy tim, là chỉ dấu sinh học được đưa vào Guideline của các hiệp hội Tim mạch thế giới như hội tim mạch Châu Âu ESC [4], hội tim mạch Hoa Kỳ AHA, trường môn tim mạch Hoa Kỳ ACC [5] và cũng như hội tim mạch Việt Nam.

Do đó, chỉ dấu xét nghiệm NT-proBNP này rất quan trọng trong lâm sàng. Việc đo lường chính xác là yếu tố quyết định việc ứng dụng hiệu quả. Nếu kết quả sai lệch sẽ rất nguy hiểm.. Để trả lời cho câu hỏi liệu rằng phương pháp xét nghiệm NT-proBNP bằng kỹ thuật miễn dịch vi hạt hóa phát quang tại bệnh viện Đa khoa Đồng Nai có đạt được các tiêu chuẩn chất lượng như nhà sản xuất công bố hay không? Chúng tôi thực hiện xác nhận giá trị sử dụng phương pháp xét nghiệm NT-proBNP bằng kỹ thuật miễn dịch vi hạt hóa phát quang tại Bệnh viện Đa khoa Đồng Nai.

Mục tiêu nghiên cứu: Xác nhận giá trị sử dụng về độ chụm, độ đúng, của phương pháp xét nghiệm NT-proBNP bằng kỹ thuật miễn dịch vi hạt hóa phát quang trên máy Architect i2000.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là mẫu huyết thanh hai mức nồng độ thấp và cao của xét nghiệm NT-proBNP, mẫu control hai mức nồng độ cao và thấp của Abbott.

Tiêu chuẩn chọn mẫu:

- Mẫu huyết thanh còn lại của bệnh nhân nhập khoa Cấp cứu tổng hợp và khoa Tim mạch bệnh viện Đa khoa Đồng Nai được chẩn đoán suy tim, được chỉ định làm xét nghiệm NT-proBNP.
- Mẫu còn lại có thể tích > 300 μ L không bị tán huyết, không nhiễm khuẩn, không đục.
- Mẫu có nồng độ bao phủ các điểm quyết định lâm sàng của xét nghiệm NT-proBNP.

2.2. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả thực nghiệm cho mục tiêu xác

nhận giá trị sử dụng.

- Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- **Địa điểm nghiên cứu:** khoa Hóa sinh bệnh viện Đa khoa Đồng Nai

- **Thời gian nghiên cứu:** từ 01/03/2023 đến 31/12/2023

- **Cỡ mẫu:** Cỡ mẫu cho độ chụm và độ đúng

+ 2 mẫu huyết thanh mức thấp và mức cao của xét nghiệm NT-proBNP thu được bằng cách trộn các mẫu có nồng độ tương đương ở mức thấp, và cao.

+ 2 mẫu QC (Quality control) có nồng độ mức thấp và cao của xét nghiệm NT-proBNP hãng Abbott.

2.3. Phương pháp thu thập và đánh giá số liệu Xác nhận độ chụm

Thực hiện xác nhận độ chụm của thiết bị theo hướng dẫn CLSI 15A3 [6].

Vật liệu khảo sát:

Mẫu bệnh nhân: thực hiện tách chiết mẫu huyết thanh của các mẫu có xét nghiệm NT-proBNP có nồng độ ở mức có giá trị quyết định lâm sàng cần sử dụng không quá 24 giờ, lưu tủ đông ở nhiệt độ -20 °C. Khi thu thập đủ số lượng mẫu tiến hành rã đông cùng một lúc và gộp mẫu. Sau đó phân mẫu thành 6 mẫu nhỏ ở mỗi mức nồng độ cho 5 ngày chạy và lưu tủ âm. Tất cả đều theo khuyến cáo của nhà sản xuất mẫu không rã đông quá 3 lần [7]. Thực hiện gộp 3 mẫu huyết thanh của bệnh nhân ở mức thấp lần lượt có nồng độ: 149.6 pg/mL, 151.0 pg/mL, 149.9 pg/mL lại thu được một mẫu huyết thanh có giá trị ở mức thấp, và 3 mẫu huyết thanh bệnh nhân có giá trị nồng độ ở mức cao lần lượt là 1,392 pg/mL, 1,360 pg/mL, 1,395 pg/mL thu được một mẫu huyết thanh có giá trị ở mức cao. Thu được hai mẫu ở nồng độ cao và thấp.

Thiết kế thử nghiệm: mỗi mức nồng độ được chạy lặp lại 5 lần. Thực hiện chạy trong vòng 5 ngày. Tổng cộng 25 lần chạy cho mỗi mức. Sau đó tiến hành thu thập dữ liệu. Quy trình thực hiện như sau:

- Bước 1: Chạy mẫu nội kiểm hàng ngày, tiến hành đánh giá kết quả nội kiểm. Chỉ thực hiện thử nghiệm khi kết quả nội kiểm tra chất lượng hàng ngày của chỉ tiêu nghiên cứu đạt và mẫu thử nghiệm được chạy như mẫu bệnh nhân.

- Bước 2: Lập bảng tổng hợp các giá trị đo được trong thử nghiệm.

- Bước 3: Đánh giá phân phối chuẩn. Các thông số thiết lập chỉ có giá trị khi quần thể thu được là

một phân phối chuẩn.

- Bước 4: Tính \bar{X}_o, SD_o

- Bước 5: Loại bỏ giá trị ngoại lai theo thử nghiệm Grubb's. Một kết quả được xem là giá trị ngoại lai khi nó nằm ngoài giới hạn của Grubb's: Grubb's limits = $X_o \pm G^* SD_o$

- Bước 6: Tính lại \bar{X}_1, SD_1 (đã loại bỏ giá trị ngoại lai)

- Bước 7: Sử dụng phân tích Anova một chiều để tính toán các thông số: SS (Sum of squares), DF (Degrees of freedom), MS (Mean squares)

- Bước 8: Ước tính độ chụm

Độ lệch chuẩn trong lần chạy: (SD_w):

$$SD_w = \sqrt{MS_2}$$

Độ lệch chuẩn qua các ngày : (SD_B):

$$SD_B = \sqrt{(MS_1 - MS_2)/K}$$

+ Độ lệch chuẩn của độ chụm trung gian (SD_{wL}):

Nếu

$$MS_2 > MS_1, SD_{wL} = SD_w = \sqrt{MS_2}$$

Nếu

$$MS_2 < MS_1, SD_{wL} = \sqrt{SD_w^2 + SD_B^2} = \sqrt{MS_2 + (MS_1 - MS_2)/K}$$

+ Tính toán giá trị hệ số biến thiên (CV%):

Hệ số biến thiên trong lần chạy (CV_w):

$$CV_w (\%) = SD_w / \bar{X}_1 \times 100$$

Hệ số biến thiên của độ chụm trung gian (CV_{wL}):

$$CV_{wL} (\%) = SD_{wL} / \bar{X}_1 \times 100$$

+ Tính giới hạn xác nhận cho độ chụm:

Bậc tự do DF = N - K. Trong đó: N: số lần lặp lại, K: số lần chạy.

Tra hệ số FUVL (hệ số độ không đảm bảo đo) cho độ lặp lại tính toán theo DF (degrees of freedom) tại Bảng 7 trong hướng dẫn của EP15-A3: DF = 19, DF = 20 => $F_{UVL} = 1.31$

Tính giới hạn xác nhận độ chụm bao gồm khoảng có chứa độ không đảm bảo đo (UVL_R): $UVL_R = F_{UVL} \times CV_{NSX} (\%)$

Nếu nhà sản xuất không công bố độ chụm của phương pháp thì sử dụng sai số tổng cho phép (TEa) trong bảng biến thiên sinh học theo CLIA, với công thức tính như sau: $CV_w = 0.25 \times TEa$, $CV_{wL} = 0.33 \times TEa$

+ So sánh độ chụm ước tính với giới hạn xác nhận đã tính toán.

Nếu độ chụm ước tính của phòng xét nghiệm nhỏ

hơn giới hạn xác nhận thì độ chụm của phương pháp được đánh giá là “Đạt”.

Nếu độ chụm ước tính của phòng xét nghiệm lớn hơn giới hạn xác nhận thì độ chụm của phương pháp được đánh giá là “Không đạt”.

Trong đó:

+ \bar{X}_o : giá trị trung bình của số liệu thu được bao gồm giá trị ngoại lai

+ \bar{X}_1 : giá trị trung bình của số liệu thu được không bao gồm giá trị ngoại lai

+ G: hệ số của Grubb's được tra từ bảng Grubb's (G = 3.135 cho 25 lần chạy/5 đợt chạy, G = 3.112 cho 24 lần chạy/5 đợt chạy).

+ SD_o : độ lệch chuẩn của số liệu bao gồm giá trị ngoại lai.

+ SD_1 : độ lệch chuẩn của số liệu không bao gồm giá trị ngoại lai

+ MS_1 : bình phương trung bình qua các ngày

+ MS_2 : bình phương trung bình trong lần chạy

Xác nhận độ đúng

Thực hiện xác nhận độ đúng theo hướng dẫn CLSI 15A3[8].

- Vật liệu khảo sát: mẫu nội kiểm, hai mức nồng độ của xét nghiệm NT-proBNP của hãng Abbott, với mức thấp 140 pg/mL và mức cao 5,000 pg/mL

- Thiết kế thử nghiệm: mỗi mức nồng độ được chạy lặp lại 5 lần mỗi ngày. Thực hiện chạy trong vòng 5 ngày. Tổng cộng 25 lần chạy cho mỗi mức.

Trước khi bắt đầu thử nghiệm, nên xác định bias cho phép đo, liên quan đến các phép đo lặp lại với nồng độ đã biết gọi là TV, để xác định rằng bias của quy trình đo nằm trong giới hạn cho phép tại nhiều nồng độ liên quan đến lâm sàng. Đối với ước lượng bias. Hai số liệu thống kê cần xác định:

Giá trị trung bình tổng thể của phép đo 5^*5

Sai số chuẩn của trung bình tổng thể Se_x

Bước đầu tiên là tính toán sự khác biệt giữa hai điểm. Bước tiếp theo là tính toán sai số chuẩn của sự khác biệt. Việc cuối cùng là tính toán xác định một khoảng xác nhận VI có xác suất 95 % có chứa sự khác biệt thật sự.

Tính sai số chuẩn của trung bình Se_x

$$Se_x = \sqrt{\frac{1}{nRun} \times (S_{wL}^2 - \frac{nRep - 1}{nRep} \times S_R^2)}$$

Tính sai số chuẩn kết hợp Se_c

$$Se_c = \sqrt{Se_X^2 + Se_{RM}^2}$$

Vì vật liệu sử dụng là QC, nên sai số chuẩn cho tham chiếu chuẩn

$$Se_{RM} = 0 \Rightarrow Se_c = \sqrt{Se_X^2}$$

+ Tính bậc tự do kết hợp $df_c: df_c = df_x + df_{RM}$

+ Vì $df_x = nRun - 1 = 5 - 4 = 1$

Và $Se_{RM} = 0$ nên $df_{RM} = 0 \Rightarrow df_c = df_x = 4$

+ Tính hệ số nhân (m) với $\alpha = 0.05$ và 4 bậc tự do:

$$m = t_{1-(/2/nSam), df_c}$$

+ Giả sử tất cả các mẫu (các mức nồng độ dùng để thử nghiệm) đều quan trọng như nhau, sử dụng xác suất $1-(0.025/nSam)$; tức là sử dụng 0,975 cho một mẫu, 0,9875 cho hai mẫu, 0,9917 cho ba mẫu,... vì vật liệu khảo sát được sử dụng ở 2 mức nồng độ, do đó $m = t_{(0,9875),4} = 3.5$

+ Tính khoảng xác nhận ước lượng (VI): $VI = TV \pm m \times Se_c = TV \pm 3.5 \times Se_c$

+ So sánh \bar{X}_1 và giới hạn xác nhận VI.

Nếu \bar{X}_1 nằm trong giới hạn xác nhận ước lượng thì độ chệch của xét nghiệm được đánh giá là “Đạt”.

Nếu \bar{X}_1 nằm ngoài khoảng xác nhận thì độ chệch của xét nghiệm được đánh giá là “Không đạt”.

Trong đó

df_x : bậc tự do qua các ngày chạy

df_{RM} : bậc tự do đối với tham chiếu chuẩn

nRun: số đợt chạy, số ngày chạy trong thử nghiệm

nRep: số lần chạy trong một đợt chạy

S_{WL} : độ không chính xác trong phòng thí nghiệm

S_R : độ lặp lại trong phòng thí nghiệm

TV: giá trị đúng của mẫu (trong thử nghiệm này TV

là giá trị mà nhà sản xuất công bố cho mẫu)

CV_{NSX} (%): hệ số biến thiên của xét nghiệm do nhà sản xuất công bố

3. KẾT QUẢ

Chất phân tích: NT-proBNP, đơn vị: pg/mL, Hệ thống: Architect i2000

Lô thuốc thử: 11775UP00, Lô chất chuẩn: 902954079

Bảng 1. Bảng thu thập số liệu độ chụm

Lần chạy	Lập lại	Mẫu 1 (pg/ml)	Mẫu 2 (pg/mL)
1	1	147.0	1,390.9
1	2	144.7	1,360.1
1	3	146.5	1,404.3
1	4	149.0	1,363.4
1	5	153.5	1,391.6
2	1	154.6	1,426.4
2	2	155.9	1,370.6
2	3	146.4	1,351.1
2	4	150.3	1,362.6
2	5	141.3	1,367.0
3	1	153.3	1,358.4
3	2	150.8	1,406.5
3	3	146.9	1,404.1
3	4	153.4	1,340.1
3	5	151.0	1,410.8
4	1	148.7	1,293.6
4	2	145.0	1,330.3
4	3	139.0	1,364.8
4	4	143.3	1,377.1
4	5	145.3	1,383.0
5	1	152.7	1,381.9
5	2	149.3	1,328.9
5	3	143.4	1,358.3
5	4	139.4	1,315.8
5	5	145.4	1,363.9

Nhận xét: Độ chụm thực hiện với hai mức nồng độ mức cao và mức thấp, thiết kế thử nghiệm phân tích mẫu liên tục trong 5 ngày, mỗi ngày chạy 2 mức, mỗi mức chạy 5 lần. Mỗi mức thu được 25 số liệu.

Bảng 2. Bảng thống kê và giá trị ngoại lai

	Mẫu 1 (140 pg/mL)	Mẫu 2 (5000 pg/mL)
N (tổng số dữ liệu)	25	25
G (giá trị G từ bảng Grubbs)	3.135	3.135
\bar{X} (giá trị trung bình pg/mL)	147.84	1,368.22
SD (độ lệch chuẩn) pg/mL	4.67	31.31
Giá trị nhỏ nhất	139.00	1,293.60
Giá trị lớn nhất	155.90	1,426.40
Grubbs 1 giá trị thấp nhất cho phép	133.19	1,270.05
Grubbs 1 giá trị cao nhất cho phép	162.50	1,466.39

Nhận xét: giá trị trung bình, SD được tính cho mỗi mẫu. Từ giá trị Grubbs tra bảng theo CLSI 15-A3, tính được giới hạn trên và giới hạn dưới để loại giá trị ngoại lai. Ta thấy không có giá trị ngoại lai bị loại.

Bảng 3. Bảng giá trị Anova, ước tính độ lập và độ tái lập

	Mẫu 1 (pg/mL)	Mẫu 2 (pg/mL)
N	25	25
MS1(betwen-run)	37.6294	1,468.811
MS2(within-run)	18.6902	882.9798
n_o	5	5
V_B (betwin)	3.78784	117.1662
V_W (within)	18.6902	882.9798
\bar{X}	147.84	1,368.22
S_B	1.95	10.82
S_R	4.32	29.71
CV_R	2.92	2.17
S_{WL}	4.74	31.63
CV_{WL}	3.21	2.31

Nhận xét: dùng Anova để ước tính các giá trị MS1, MS2. Từ đó tính các giá trị V_B, V_W . Từ đó tính các giá trị độ lệch chuẩn, $CV_R\%$ giữa các lần chạy và độ lệch chuẩn, $CV_W\%$ của độ chụm trung gian.

Bảng 4. Khoảng xác nhận Upper Verification Limit – UVL

Các thông số	Mẫu 1	Mẫu 2
df_R	20	24
$\rho = \sigma_{WL} / \sigma_R$	1.11	1.02
df_{WL}	20	24
F_R	1.31	1.28
F_{WL}	1.31	1.28

Nhận xét: tính các giá trị UVL của mức thấp và mức cao theo độ lệch chuẩn và hệ số biến thiên của độ lập và độ lập trung gian.

Bảng 5. Tuyên bố của nhà sản xuất về độ không chính xác

	Trung bình pg/mL	Độ lập lại, SD pg/mL, (CV%)	Độ không chính xác PXN, SD pg/mL, (CV%)
Tuyên bố 1	150.2	4.86 (3.2 %)	5.4 (3.6%)
Tuyên bố 2	1,138.8	34.67 (3.0%)	34.88 (3.1 %)

Bảng 6. Kết quả xác nhận độ chụm

	Giá trị trung bình	Độ lệch chuẩn độ lập (SD_R), UVL tương ứng		Hệ số biến thiên độ lập ($CV_R\%$), UVL tương ứng		Độ lệch chuẩn độ không chính xác trong PXN (SD_{WL}), UVL tương ứng		Hệ số biến thiên độ không chính xác trong PXN ($CV_{WL}\%$), UVL tương ứng	
		S_R	UVL	CV_R	UVL	S_{WL}	UVL	CV_{WL}	UVL
Tuyên bố 1	150.2	4.86	6.37	3.2	4.19	5.4	7.07	3.6	4.72
Mẫu 1	147.84	4.32		2.92		4.74		3.21	
Đánh giá		Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
Tuyên bố 2	1,138.8	34.67	44.38	3.0	3.84	34.88	44.65	3.1	3.97
Mẫu 2	1,368.22	29.71		2.17		31.63		2.31	
Đánh giá		Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt

Nhận xét: kết quả xác nhận độ chụm dùng mẫu huyết thanh. Mức thấp và mức cao so với tiêu chuẩn tuyên bố của NSX đạt.

Bảng 7. Bảng thu thập giá trị độ đúng thực hiện trên mẫu QC hai mức nồng độ thấp và cao

Lần chạy	Lập lại	Mẫu 1 (140 pg/mL)	Mẫu 2 (5000 pg/mL)
1	1	142.6	5,262.6
1	2	139.4	5,329.2
1	3	143.8	5,166.7
1	4	143.0	5,146.0
1	5	143.6	5,221.4
2	1	145.9	5,053.0
2	2	148.1	5,056.2
2	3	139.4	4,785.1
2	4	147.1	5,020.5
2	5	149.4	4,929.2
3	1	144.3	4,931.3
3	2	139.1	5,040.9
3	3	141.8	5,099.1
3	4	139.5	4,966.2
3	5	138.1	5,068.7
4	1	143.1	4,973.9
4	2	139.2	5,110.0
4	3	140,9	5,237.0
4	4	142.9	5,009.3
4	5	141.6	5,052.2
5	1	144.0	5,065.3
5	2	140.5	5,159.0
5	3	146.1	5,141.1
5	4	140.3	5,163.6
5	5	139.0	5,250.5

Nhận xét: độ đúng thực hiện theo thiết kế xét nghiệm 5 ngày, với hai mức nồng độ, mỗi mức lập lại 5 lần. Thu được mỗi mức 25 kết quả.

Bảng 8. Bảng đánh giá kết quả độ đúng

	Mẫu 1	Mẫu 2
\bar{X} thực nghiệm	142.508	5,089.52
SD thực nghiệm	3.09	123.41
Se_x	0.9237	45.9431
Se_{RM}	0	0
Se_c	0.9237	45.9431
df_x	4	4
df_c	4	4
$m = t$	3.495	3.495
VI	136.77 – 143.23	4,839.41 – 5,160.59
% Bias thiết lập PXN	1.8	1.8
% Bias cho phép 0.5 Tea (Tea = 30%) nguồn CLIA	15	15

Nhận xét: giá trị trung bình tính được từ 25 lần chạy nằm trong khoảng cho phép VI. Đồng thời %bias tính được thỏa < 0.5 %TEa cho phép. Từ bảng trên cho thấy độ đúng của xét nghiệm đã được xác nhận.

4. BÀN LUẬN

4.1. Xác nhận độ chụm

Độ chụm trong nghiên cứu này được thực hiện theo hướng dẫn CLSI 15-A3. Thực hiện xác nhận độ chụm NT-proBNP bằng mẫu huyết thanh bệnh nhân bằng cách trộn 3 mẫu huyết thanh của bệnh nhân ở mức thấp lần lượt có nồng độ: 149.6 pg/mL, 151.0 pg/mL, 149.9 pg/mL lại thu được một mẫu huyết thanh có giá trị ở mức thấp, và 3 mẫu huyết thanh bệnh nhân có giá trị nồng độ ở mức cao lần lượt là 1,392 pg/mL, 1,360 pg/mL, 1,395 pg/mL thu được một mẫu huyết thanh có giá trị ở mức cao. Mỗi mức thực hiện chạy 5 lần trong 5 ngày liên tục, mỗi mức thu được 25 giá trị. Tính được giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, dùng Anova để phân tích tính được CV_R % độ lặp mức thấp là 2.92 %, mức cao là 2.17 %. CV_{WL} % của độ không chính xác trong PXN mức thấp là 3.21 %, mức cao là 2.31 %. Các giá trị thu được đều nhỏ hơn tuyên bố của NSX. So với nghiên cứu của Chin-Shern Lau, Ya Li Liang và cộng sự (2022) thực hiện xác nhận giá trị sử dụng NT-proBNP theo tiêu chuẩn CLSI EP-05A3 [2], trên thiết bị Abbott Architect i2000 thực hiện xác nhận độ chụm phân tích ở 3 mức nồng độ của

QC lần lượt thu kết quả như sau mức thấp 142 pg/mL có CV_R là 2.84 % CV_{WL} là 4.17 %, mức trung bình nồng độ 506 pg/ml có CV_R độ lặp 3.16% và độ không chính xác trong phòng xét nghiệm CV_{WL} là 3.83 %, mức cao nồng độ 4,973 pg/ml có độ lặp CV_R là 3.61% và độ không chính xác trong phòng xét nghiệm CV_{WL} là 4.6 %. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên mẫu huyết thanh có CV_R mức thấp là 2.92% cao hơn so với nghiên cứu của Chin-Shern Lau là 2.84 %, CV_R , CV_{WL} mức cao trong nghiên cứu của chúng tôi nhỏ hơn nghiên cứu của Chin-Shern Lau. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện theo tiêu chuẩn EP15-A3 thiết kế thử nghiệm 5x5, còn của tác giả Chin-Shern Lau thực hiện theo tiêu chuẩn EP05A thiết kế thử nghiệm 20x2x2 thường được sử dụng để thực hiện thẩm định phương pháp thu được 80 giá trị tổng cộng, thực hiện số ngày chạy dài hơn nghiên cứu của chúng tôi, mặc dù nghiên cứu của tác giả sử dụng mẫu QC có độ tinh khiết cao hơn mẫu huyết thanh bệnh nhân để xác nhận giá trị sử dụng và ở điều kiện môi trường, địa lý khác nhau, có thể những nhân tố đó làm cho độ chụm của tác giả đa phần cao hơn nghiên cứu của chúng tôi. So với nghiên cứu của tác giả Francesca Di Serio, Vincenzo Ruggieri và cộng sự (2005) thực hiện xác nhận giá trị sử dụng NT-proBNP theo CLSI EP-05A [8], trên thiết bị Dimension RXL theo phương pháp miễn dịch enzym, thực hiện phân tích xác nhận độ chụm ở ba mức nồng độ QC mức thấp 231 ng/l có CV_R là

2.4 %, CV_{wL} là 3.6 %, mức trung bình 842 ng/L CV_R là 1.8 %, CV_w là 3.1 %, mức cao 9,471 ng/L có CV_R là 2.1%, CV_w là 2.6 %, xác nhận trên mẫu huyết tương nồng độ 842 ng/L có CV_R 1.8 %, CV_w là 3.2%. Và thực hiện phân tích độ chụm trên thiết bị Elecsys 2010 bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang bằng mẫu QC hai mức nồng độ với nồng độ thấp 271 ng/L có CV_R là 2.6 %, CV_w là 3.7 %, nồng độ cao 6,062 ng/ có CV_R là 3.0 %, CV_w là 4.7%, thực hiện trên mẫu huyết thanh có nồng độ 1429 ng/l có CV_R là 3.4 % và CV_w là 4.5 %. Nghiên cứu của chúng tôi cũng có độ lập và độ không chính xác trong phòng xét nghiệm tương đương với thiết bị Dimension RXL và thấp hơn thiết bị Elecsys 2010 so với nghiên cứu của Francesca Di Serio. Theo nghiên cứu của tác giả Jong-Han Lee, Sang-Guk Lee và cộng sự (2023) thực hiện phân tích độ chụm trên 3 hệ thống máy của Siemens Healthcare phân tích theo hướng dẫn CLSI EP05A, Abbott Laboratories, Roche Diagnostics theo CLSI EP15-A3 [9]. Thu được độ lập của NT-proBNP của cả 3 hệ thống máy CV_R từ 1.5 % đến 3.0%. Độ không chính xác trong phòng xét nghiệm CV_w từ 1.6 % đến 4.5 %. Nhìn chung nghiên cứu của chúng tôi có độ lập và độ không chính xác trong phòng xét nghiệm nhỏ hơn hoặc tương đương với các nghiên cứu trên thế giới. Tuy nhiên không thể khẳng định được thiết bị của chúng tôi tốt hơn vì độ chụm nhỏ hơn, đa phần các nghiên cứu trên thế giới sử dụng theo tiêu chuẩn EP05A, có ngày thực hiện dài hơn và nghiên cứu của chúng tôi sử dụng tiêu chuẩn EP15A3, sử dụng khác thiết bị, phương pháp, hóa chất thuốc thử của các hãng khác nhau cùng thực hiện trên một xét nghiệm NT-proBNP. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đạt yêu cầu xác nhận của nhà sản xuất.

4.2. Xác nhận độ đúng

Độ đúng được thực hiện theo hướng dẫn của CLSI EP-15A3, Chúng ta có thể xác nhận độ đúng ưu tiên theo thứ tự các loại mẫu như sau: thứ nhất bằng mẫu CRM (Certificated Reference Material), nhưng mẫu CRM rất khó mua, giá thành rất đắt. Thứ hai giá trị nhóm tham chiếu nội kiểm liên phòng. Thứ ba là sử dụng mẫu ngoại kiểm, nhưng điều này không khả thi khi thực hiện vì mẫu ngoại kiểm phải chờ một tháng sau mới biết được giá trị của mẫu, việc bảo quản mẫu chờ

kết quả sẽ làm ảnh hưởng đến giá trị thực của mẫu, số lượng mẫu ít không đủ để thực hiện, và cuối cùng là sử dụng giá trị nội kiểm của NSX. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng mẫu QC hai mức nồng độ thấp 140 pg/ml và cao 5,000 pg/mL, mỗi mức phân tích lặp lại 5 lần, thực hiện liên tục trong 5 ngày. Mỗi mức thu được 25 giá trị. Bias ước tính của mức nồng độ thấp là 1,8% và mức nồng độ cao là 1,8%. Cả hai giá trị này đều nhỏ hơn 50% giá trị TEa chấp nhận được của NT-proBNP là 30% thông số này được lấy từ trang Westgard [10]. Và giá trị trung bình tính được của mức thấp và mức cao đều nằm trong khoảng VI cho phép với nồng độ thấp là 136.77 – 143.23. nồng độ cao là 4,839.41 – 5,160.59. Trong nghiên cứu của Chin-Shern Lau, Ya Li Liang và cộng sự (2022) nghiên cứu hiệu suất của xét nghiệm NT-proBNP bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang của Abbott Architect đã chỉ ra rằng NT-proBNP của Roche có độ lệch âm dai dẳng hơn NT-proBNP Abbott tỉ lệ phần trăm sai lệch giảm khi nồng độ NT-proBNP càng tăng, mức NT-proBNP <125 pg/mL, độ lệch là 25%, trong khi ở mức > 125 pg/mL, độ lệch là < 15% [11]. Trong nghiên cứu của chúng tôi độ lệch của hai mức là tương đương nhau, và thỏa điều kiện độ lệch nhỏ hơn 50% TEa.

Kết quả xác nhận độ đúng đạt yêu cầu phù hợp với tiêu chuẩn của NSX và quy trình đo có thể đưa vào sử dụng. Kết quả xác nhận độ chụm và độ đúng của xét nghiệm NT-proBNP theo CLSI 15-A3 đạt yêu cầu của NSX.

5. KẾT LUẬN

Dựa vào kết quả nghiên cứu chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

Kết quả xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp xét nghiệm NT-proBNP trên hệ thống máy Architect i2000:

- Kết quả xác nhận độ chụm thực hiện trên mẫu bệnh nhân: độ lập lại 2.92 %, độ không chính xác trong phòng xét nghiệm là 3.21 % ở mức nồng độ thấp (147.84 ng/mL), và độ lập lại 2.17 %, độ không chính xác trong phòng xét nghiệm là 2.31 % ở mức nồng độ cao (1,368.22 ng/mL), đều đạt yêu cầu tuyên bố của nhà sản xuất.

Kết quả xác nhận độ đúng của xét nghiệm NT-proBNP nằm trong khoảng xác nhận đạt yêu cầu tuyên bố của nhà sản xuất

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trần Hữu Tâm, "Những vấn đề cơ bản trong đảm bảo chất lượng xét nghiệm Y khoa". Nhà xuất bản Y học, p.12, 2015.
- [2] 15189-2022_VN, Tiêu chuẩn quốc tế ISO, "Phòng xét nghiệm Y học - yêu cầu về tiêu chuẩn và năng lực", 2022.
- [3] Antonelli, G., et al., "Verification of examination procedures in clinical laboratory for imprecision, trueness and diagnostic accuracy according to ISO 15189:2012: A pragmatic approach", *Clin Chem Lab Med.*, 55(10), pp. 1501-1508, 2017.
- [4] McDonagh, T. A., et al., "2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure", *Eur Heart J.* 42(36), pp. 3615-3617, 2021.
- [5] Heidenreich, P. A., et al., "2022 AHA/ACC/HFSA Guideline for the Management of Heart Failure: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines", *Circulation.* 145(18), p. 911, 2022.
- [6] R. Neill Carey, PhD, FACB A. Paul Durham Walter W. Hauck, PhD Anders Kallner, MD, PhD Marina V. Kondratovich, PhD (2014), "User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline-Third Edition", *Clinical and Laboratory Standards Institute EP15A-3.* 34. 12, pp. 7-62, 2014.
- [7] Laboratories, Abbott (2020), *Alere NT-proBNP for ARCHITECT*, accessed 03/06-2024, from www.labcentral.corelaboratory.abbott/int/vi/secure/technical-library.html.
- [8] Di Serio, F., et al., "Analytical evaluation of the Dade Behring Dimension RxL automated N-Terminal proBNP (NT-proBNP) method and comparison with the Roche Elecsys 2010", *Clin Chem Lab Med.*, 43(11), pp. 1267-1268, 2005.
- [9] Cho, J., Lee, J. H., and Lee, S. G., "Evaluation of Analytical Performances and Comparison of 3 NT-proBNP Assays for Diagnosing Heart Failure", *Arch Pathol Lab Med.* 147(8), p. 4, 2022.
- [10] WESTGARD, JAMES, 2024 *CLIA Proposed Acceptance Limits for Proficiency Testing*, accessed 04/01- 2023, from <https://www.westgard.com/2024-clia-requirements.htm>.
- [11] Lau, C. S., et al., "Performance of the Abbott Architect Immuno-Chemiluminometric NT-proBNP Assay", *Diagnostics (Basel)*, 12(5), pp. 15, 2022.

Confirming the method verification of the testing NT-proBNP by immunology luminous microparticles

Tran Thanh Vinh and Diep Hong Yen

ABSTRACT

Confirming the validity of testing methods is increasingly popular and plays an important role in laboratory quality assessment standards. Especially for tests that have decisive clinical value. This includes the NT-proBNP test. Research objective: Confirm the validity of the precision and accuracy of the NT-proBNP testing method using the chemiluminescence microparticle technique on the Architect i2000 machine. Research method: Experimental descriptive research for the purpose of validating. Results: Precision confirmation performed on patient serum samples: repeatability 2.92 %, laboratory imprecision 3.21% at low concentration level (147.84 ng/ml), and precision repeatability of 2.17%, laboratory imprecision of 2.31% at high concentration level (1,368.22 ng/ml), all meeting the manufacturer's declared requirements. The results confirm the accuracy of the NT-proBNP test with a low concentration level (140 ng/ml), an average value of 142.51, within the confirmation range of 136.77 - 143.23, a high level (5,000 ng/ml).) has an average value of 5,089.52 within the confirmation range of 4,839.41 – 5,160.59 meeting the manufacturer's declared requirements. Conclusion: The

precision confirmation results performed on the control sample had independence and intermediate independence that met the manufacturer's declared requirements. The results confirm that the accuracy meets the manufacturer's declared requirements.

Keywords: *method verification, repeatability, intermediate, accuracy*

Received: 26/03/2024

Revised: 28/04/2024

Accepted for publication: 02/05/2024