

• 论 著 •

## 生化检测质控血清和校准品的胆红素稳定性分析

罗 伟, 周学文, 马 奎, 高应萍, 王 静, 梅良英, 罗智敏<sup>△</sup>

(湖北省疾病预防控制中心, 湖北武汉 430079)

**摘要:**目的 掌握在用批号质控血清和校准品中胆红素的变异规律,旨在确保检测质量并合理地使用质控血清和校准品,控制检测成本。方法 将实验室使用的双水平质控血清和经过稀释后的校准品分为 5 个组,连续 12 周全自动生化分析仪检测并记录多项质控血清与胆红素校准品的总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)结果,使用 SPSS 17.0 计算均值、标准差、变异系数、正态性分析并制作结果折线图观察有无趋势变化。结果 Randox 正常值质控血清 TBIL 和 DBIL 检测值变异 RCV% 为 26.0%、48.2%,超过 CLIA 胆红素项目允许总误差值的 1/3(6.67%)。正态性检验, P 值为 0.006、0.012,均小于 0.05,不服从正态分布,检测结果折线图呈下降趋势。Leadman 高值质控血清和胆红素校准品 TBIL 和 DBIL 变异 RCV% < 6.67%,正态性检验  $P > 0.05$ ,服从正态分布,检测结果折线图无趋势变化。结论 通过实验观察掌握了质控血清和校准品胆红素在 12 周内的变异规律。实验员可根据实际情况合理调配使用,不但确保了胆红素检测质量,而且最大限度发挥了质控血清与校准品的使用效能,降低了检测成本。

关键词:胆红素; 质控血清; 校准品; 检测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.15.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)15-2209-03

## Bilirubin of biochemical testing quality control serum and calibration items stability analysis

Luo Wei, Zhou Xuewen, Ma Kui, Gao Yingping, Wang Jing, Mei Liangying, Luo Zhimin<sup>△</sup>

(Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Wuhan, Hubei 430079, China)

**Abstract: Objective** To grasp bilirubin in the quality control serum and calibration items in the same batch the variation law of the designed to ensure that the test quality and the use of reasonable quality control serum and calibration items, control testing cost. **Methods** laboratories use The double level quality control serum and calibration items after dilution is divided into five groups, with automatic biochemical analyzer test for 12 weeks and recorded results of TBIL, DBIL, use SPSS 17.0 to calculate the mean, standard deviation, coefficient of variation, Normal distribution analysis and make the results trend line chart to observe any changes. **Results** RANDOX normal concentration quality control serum TBIL and DBIL values variation RCV% 26.0%, 48.2%, more than CLIA bilirubin projects allow 1/3 of the total error value(6.67%). Normal distribution test, P value was 0.006, 0.012, less than 0.05, do not obey the normal distribution, test results line chart is on the decline. LEADMAN high concentration quality control serum and bilirubin calibration items TBIL and DBIL variation RCV% < 6.67%, normal distribution test all  $P > 0.05$ , obey the normal distribution, test results no trend line chart. **Conclusion** Through the experiment observation to the quality control serum and calibration items bilirubin in the variation law of 12 weeks. Experimenter can be used according to the actual situation to adjust, not only to ensure the quality of the bilirubin test, and to get the most out of the quality control serum and calibration items use efficiency, reduce the test cost.

Key words: bilirubin; quality control serum; calibration items; test

胆红素是常规临床生化检测项目之一,是诊断黄疸的主要依据,也是肝功能重要指标。临床生化实验室在常规生化检测中使用商品化的校准品来校准仪器,并使用质控血清控制检测质量。由于胆红素化学性质不稳定,在光、氧的影响下易分解<sup>[1]</sup>,使质控血清复溶后其水平发生变化,直接影响日常质控分析工作。为了减小这种差异,实验室采取每周配制新鲜质控血清的办法确保质控血清性质相对稳定<sup>[2]</sup>。然而频繁更换质控血清对于样本量少,实验频次低的小型实验室是极大的浪费,同时增加了检测成本。为了降低成本,在保证检测质量的前提下,实验室希望尽可能延长质控血清和校准品使用时限。而目前许多商品化质控血清和校准品产品未明确给出复溶后产品变异参数和使用时限,或参数与时限与实际使用情况不符。查阅近年来有关胆红素检测的文献资料也未见相关报道。为了确保胆红素检测质量,合理的使用质控血清和校准品,根据本室实际使用与需求情况,对实验室日常使用的双水平生化质控血清和胆红素校准品的总胆红素(TBIL)和直接胆红素

(DBIL)进行为期 12 周定量检测和观察,现将具体情况报道如下。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 贝克曼(Beckman)AU480 全自动生化分析仪。艾本德(Eppendorf)移液器。0.5 mL 微量离心管。Leadman(利德曼)TBIL 总胆红素(钒酸盐法)、DBIL 直接胆红素试剂盒(钒酸盐法);Randox(朗道)正常值(接近健康人体内的血清浓度)人血清基质冻干多项生化质控血清,规格每瓶 5 mL,批号 888UN;Leadman 高值(患者体内病理血清浓度水平)人血清为基质冻干多项生化质控血清,规格每瓶 5 mL,批号 309061B;Leadman 水基质总胆红素及直接胆红素冻干校准品,规格每瓶 3 mL,批号 401221A。

## 1.2 方法

**1.2.1 质控血清检测前的处理** 将新的正常水平和病理水平冻干质控血清瓶盖打开后,向瓶内各加入 5 mL 去离子水复溶,静置 30 min,将正常值及高值质控血清分装于微量离心管

中,每管 50  $\mu$ L,并用记号笔标记后-20  $^{\circ}$ C 冰箱冷冻保存。

**1.2.2 校准品检测前的处理** 将新的冻干胆红素校准品瓶盖打开后向瓶内加入 3 mL 去离子水复溶后,静置 30 min。取适量按 1:2(1 份血清+1 份水)和 1:10(1 份血清+9 份水)的比例用去离子水进行稀释。将校准品原液、1:2 稀释浓度、1:10 稀释浓度 3 个浓度血清分别分装于微量离心管中,每管 50  $\mu$ L,并用记号笔标记后置-20  $^{\circ}$ C 冰箱冷冻保存。

**1.2.3 实验相关要求及计划** 全自动生化分析仪进行日常维护,按标准操作规程进行校准,使用双水平质控血清,在保证质控结果在控的情况下开展本次实验。连续 12 周,每周对质控血清和校准品的 TBIL 与 DBIL 进行检测 3 次,共 36 次检测。记录检测结果。

**1.3 统计学处理** 检测数据采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计算均值( $\bar{x}$ )、标准差( $s$ )、常规变异(RCV)及检测结果正态性检验, $P < 0.05$  即不符合正态分布<sup>[3]</sup>。

**2 结 果**

**2.1 胆红素检测结果统计** 质控血清与校准品的 TBIL 与 DBIL 检测  $\bar{x}$ 、 $s$  和 RCV% 见表 1。Randox 正常值质控品 TBIL、DBIL 检测 RCV% 为 26.0%、48.2%,均超过该项目临床实验室允许的误差值 6.67%<sup>[4]</sup>,表明该质控血清复溶后冷冻保存稳定性差,检测结果精密低,不符合临床实验室质量要

求。Leadman 高值质控血清 TBIL、DBIL 检测结果 CV% 为 3.1%、4.8%,均低于该项目临床实验室允许的误差值 6.67%,结果表明高值质控血清胆红素性质稳定,在 12 周内-20  $^{\circ}$ C 冷冻保存条件下能够正常使用。Leadman 胆红素校准品 3 个不同浓度的 TBIL 和 DBIL 检测结果 RCV% 均小于 6.67%,表明校准品原液和稀释液-20  $^{\circ}$ C 保存条件下校准品原液不但可以用于校准,其稀释液还可用于 TBIL 和 DBIL 检测的质量控制。表 1 中 CLIA 为美国 CLIA88 临床实验室能力验证分析质量要求允许的总误差,胆红素允许的总误差为  $\pm 20\%$ <sup>[5]</sup>。

**2.2 正态性检验分析** 质控血清正常值、高值及校准品 3 个浓度连续 12 周的检测 TBIL 和 DBIL 检测结果进行正态性检验,结果见表 2。RANDOX 正常值质控品 TBIL 与 DBIL 的统计量 Kolmogorov-Smirnov  $Z^{[3]}$  为 1.705、1.598, $P$  为 0.006、0.012, $P < 0.05$ ,检验结果不服从正态分布,说明 TBIL 与 DBIL 检测结果不是在均值两侧分布,不符合 Levey-Jennings 质控图规则。Leadman 高值质控血清及校准品 3 个浓度 TBIL、DBIL 检测结果经检验  $Z$  值为 0.646、0.547; 1.247、0.856; 0.647、0.643; 1.189、0.819, $P > 0.05$ ,表明其检测结果服从正态分布,可以使用 Levey-Jennings 质控图规则开展质量控制图分析。

**表 1 质控血清中胆红素与胆红素校准品检测结果 ( $n=36$ )**

项目	$\bar{x}(\mu\text{mol/L})$		$s(\mu\text{mol})$		RCV(%)		CLIA 总误差 1/3(%)
	TBIL	DBIL	TBIL	DBIL	TBIL	DBIL	
质控正常值	19.2	8.3	5.0	4.0	26.0	48.2	6.67
质控高值	113.4	23.1	3.5	1.1	3.1	4.8	6.67
校准品原液	192.9	154.3	6.7	4.7	3.5	3.0	6.67
校准 1:2	96.1	81.0	4.4	3.5	4.5	4.3	6.67
校准 1:10	20.2	16.2	1.0	0.6	4.9	3.7	6.67

**表 2 TBIL 和 DBIL 检测结果正态性检验结果**

项目	正常值质控血清		高值质控血清		校准品原液		校准品 1:1		校准品 1:9	
	TBIL	DBIL	TBIL	DBIL	TBIL	DBIL	TBIL	DBIL	TBIL	DBIL
$Z$	1.705	1.598	0.646	0.547	1.247	0.856	0.647	0.643	1.189	0.819
$P$	0.006	0.012	0.798	0.926	0.089	0.456	0.796	0.802	0.118	0.514

**2.3 不同分组胆红素折线图分析** 使用折线图观察检测结果有无趋势变化,以印证 RCV 与正态性检验结果。Randox 正常值质控血清 TBIL 和 DBIL 检测结果在前 4 周不断降低,折线图呈明显的下降趋势以及 Leadman 高值质控血清和胆红素校准品的 TBIL 和 DBIL 在 12 周内-20  $^{\circ}$ C 保存检测结果无趋势变化,见图 1~3(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

**3 讨 论**

商品化多项质控血清不但提供项目定值参数,而且稳定性强使用方便。实验员根据质控血清测定结果绘制的质控图分析,根据相关规则判断批间和日间误差类型和原因,以便及时采取纠正措施确保检测误差符合控制要求。CLIA88 临床实验室关于胆红素检测允许总误差是  $\pm 20\%$ ,根据 Levey-Jennings 质控图  $\pm 3s$  的控制原理,胆红素质控图  $1s$  应控制在 6.67% 以内,超过此范围将使总误差大于 20%,使检测结果在控范围增大,失去质控的意义。通过本次 12 周的实验观察,发现 Randox 正常值质控血清 TBIL 和 DBIL 检测结果 RCV 较

大,达到 26.0% 和 48.2%。均超出允许的误差范围。正态性检验结果证明检测结果不是分布在平均值的两侧,可能存在趋势性变化,而检测结果折线图证实 TBIL 和 DBIL 均呈下降趋势。这种变化可能与胆红素冷冻保存期间受到光和氧的影响后生成红紫素和水溶性无色产物<sup>[6]</sup>,使胆红素水平下降。而胆红素水平下降使钒酸盐与胆红素反应生成胆绿素的量也下降,从而造成吸光度也发生相应的变化造成检测值降低<sup>[7-8]</sup>。实验员需及时更换同批号的质控血清或采取其他措施,以免错误分析实验结果而影响检测工作。

Leadman 高值的质控血清 TBIL 和 DBIL 检测结果 RCV 为 3.1%、4.6%,均小于胆红素项目允许的误差范围。而检测结果正态性检验均为  $P > 0.05$ ,表明 TBIL 和 DBIL 服从正态分布,且折线图无趋势变化。实验结果证明高值质控血清复溶后经过较长时间冷冻保存,胆红素结果仍保持较好稳定性而没有大的变化。这可能与血清浓度水平为健康人数倍,其基质环境有利于胆红素 IX 氢键稳定<sup>[9]</sup>。该质控(下转第 2213 页)

因此在临床发现以上病原体感染时,应特别注意排除与其他病原体的混合感染。30~<40 岁妇女、中学教育程度、使用 IUD 避孕是 RTI 发生的相关因素。生殖道混合感染的发病率由于每个报道观察的 RTI 的病原体种类不同,以及种族、地域、时间、各研究单位设备、实验技术以及研究人员水平等的差异,而有所差异<sup>[9-12]</sup>。值得注意的是在不同年龄组,好发病原体也有所不同,如 AV、BV、TV 在 40~<50 岁呈高发趋势,而 VVC、UU/MH、NG 的感染在 19~<30 岁为易感人群。RTI 诱因多,易发生多种病原体混合感染,并具有协同作用的情况日益严重,这给疾病的彻底治疗带来了相当的难度,因为各种病原体对抗菌药物的敏感性不同,而临床上并不常规的对多种病原体同时进行检测,由此造成女性生殖道疾病的经久不愈或反复发作,严重地增加了患者的精神和经济负担,同时也不利于疾病的控制,尤其是多种病原体呈现出的协同致病作用应引起足够的重视。

育龄妇女是性活跃及生育旺盛期,这个时期的分娩、流产、手术操作、经期不卫生、精神压力大等各种内源性感染、医源性感染及性传播感染易引起病原菌侵入,而多数妇女对这些往往不够重视,做不到早发现早诊断、早治疗,部分妇女滥用抗菌药物,也造成阴道菌群失调而引发感染。混合性 RTI 感染与单一 RTI 的临床表现往往相同,但症状、体征不典型,诊治较单一生殖道炎症更为复杂,易漏诊及误诊而导致临床诊断不足以及治疗过度<sup>[13]</sup>。因此,政府、社会、医院应共同加强 RTI 知识的宣传与教育,提高育龄期妇女的自我保健意识,倡导健康的生活方式;同时医务工作者应不断加强业务学习,了解本地区 RTI 的流行状况,尽可能地对 RTI 进行全面分析和正确诊疗,减少 RTI 患病率,有效改善育龄女性生殖健康水平。

参考文献

[1] Donders GGG, Vereecken A, Bosmans E, et al. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis;

aerobic vaginitis[J]. Br J Obstet Gynaecol, 2002, 109(1): 34-43.  
 [2] Tempera G, Bonfiglio G, Cammarata E, et al. Microbiological/clinical characteristics and validation of topical therapy with kanamycin in aerobic vaginitis: a pilot study[J]. Int J Antimicrob Agents, 2004, 24(1): 85-88.  
 [3] 乐杰. 妇产科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 236.  
 [4] 刘迷森. 生殖道感染的流行状况、影响因素及防治对策[J]. 中国性病艾滋病防治, 2002, 8(2): 120-124.  
 [5] 张丽杰, 岑阳, 张大春, 等. 北京市计划生育机构生殖道感染防治能力调查[J]. 中国公共卫生, 2004, 20(5): 578.  
 [6] 刘克玲, 张德英, 王临虹, 等. 中国部分城市已婚妇女妇科常见病流行病学调查[J]. 中国妇幼保健, 2001, 16(5): 298-301.  
 [7] Gerrmain A, Holmes KK, Piot P. Reproductive Tract Infection [M]. New York and London: Plenum Publishing Corporation, 1992: 1-55.  
 [8] Sweet RL, Gibbs RS. Infectious diseases of the female genital tract [M]. 3rd ed. Baltimore; Williams & Wilkins, 1995.  
 [9] Cepicky P, Malina J, Libalova Z, et al. "Mixed" and "miscellaneous" vulvovaginitis: diagnostics and therapy of vaginal administration of nystatin and nifuratel[J]. Ceska Gynekol, 2005, 70(3): 232-237.  
 [10] Ozyurt E, Toykuliyeva MB, Danilyans IL, et al. Efficacy of 7-day treatment with metronidazole + miconazole (Neo-Penotran)-a triple-active pessary for the treatment of single and mixed vaginal infections[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2001, 74(1): 35-43.  
 [11] 范爱萍, 薛凤霞. 需氧菌性阴道炎及其混合感染的临床特征分析[J]. 中华妇产科杂志, 2010, 45(12): 904-908.  
 [12] 刘菲, 张岱, 刘朝晖, 等. 女性不同人群下生殖道感染状况调查及危险因素分析[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(9): 1256-1259.  
 [13] 薛凤霞, 岳莹利. 女性下生殖道混合感染[J]. 国际妇产科学杂志, 2011, 38(6): 72-474.

(收稿日期: 2015-03-21)

(上接第 2210 页)

血清使用说明未给出 -20℃ 冷冻保存有效期限和偏差范围, 但经本次实验观察, Leadman 高值质控血清复溶后 -20℃ 冷冻保存至少可以正常使用 12 周。

承担临床检测的仪器一定要进行校准, 并要选择合适的校准品和及频率<sup>[10]</sup>。Leadman 公司生产的胆红素校准品为配套 Leadman 总胆红素和直接胆红素试剂盒使用, 可溯源至 SRM916a。开瓶稳定性为 -20℃ 冷冻保存 14 d, 偏差小于 ±7%。通过 12 周实验观察, 校准品原液和经过稀释后的 3 个浓度 TBIL 和 DBIL 检测结果 RCV 均小于 7%, 且正态性检验与折线图无异常。表明胆红素校准品复溶后在 -20℃ 保存条件下至少可稳定 12 周, 使用期限远远超过说明书规定的 14 d。而经过 1:10 稀释后, 浓度水平与人体正常生理水平接近, 可在日常检测中当做 TBIL 和 DBIL 正常值质控品使用。从而有可能减少 Randox 正常值质控血清更换频率, 前提是质控血清其他组分变化在可接受范围之内。

参考文献

[1] 牛建军, 董绍俊. 水对胆红素在二甲基甲酰胺中电化学氧化反应的影响[J]. 化学学报, 1996, 54(1): 160-166.  
 [2] 焦明远, 聂庆东, 李家伟. 质控血清中总胆红素的稳定性分析及意

义[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(7): 862-863.  
 [3] 马斌荣. SPSS(PASW) 17.0 在医学统计中的应用[M]. 4 版. 北京: 科学技术出版社, 2010: 32-35.  
 [4] 汪旭强, 赵娟, 陶永东. 不同保存条件下复溶生化质控品稳定性的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(2): 174.  
 [5] 杨振华. 临床实验室质量管理[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 23.  
 [6] 刘继红, 张业茂, 高颖, 等. 胆红素与胆绿素的电化学转化[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1995, 30(4): 71-76.  
 [7] 李晓恒. 血液标本放置时间对生化检验结果的影响[J]. 吉林医学, 2011, 54(3): 529.  
 [8] 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: 456-457.  
 [9] 姚光弼. 胆红素代谢[J]. 肝脏, 2004, 9(1): 44-45.  
 [10] 申子瑜, 李萍. 临床实验室管理[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 105-186.

(收稿日期: 2015-03-20)

