

论著·临床研究

新生儿脑脊液总胆红素测定的性能评价^{*}

刘 非,邱先桃,陈小娟,蔡敏敏,麻庆玲,庞舒尹,刘海英[△]

(广州市妇女儿童医疗中心检验部,广东广州 510623)

摘 要:**目的** 新生儿胆红素脑病严重威胁新生儿的生命和健康,其病死率及致残率很高。为满足临床需求,对检验科现有血清胆红素检测系统进行脑脊液胆红素检测的性能确认。**方法** 评价内容包括精密度、正确度、准确度、分析测量范围和回收试验。**结果** 检测系统在 1.0~25.1 $\mu\text{mol/L}$ 时呈线性,且在正常值和病理值浓度处的日间变异系数(CV)均小于行业标准规定的精密度要求(6%);每个样本的偏倚和平均偏倚均小于行业标准规定允许偏倚(5%),总误差小于允许总误差(15%)。**结论** 该检测系统的性能满足行业标准要求,可用于新生儿脑脊液胆红素检测。

关键词:新生儿; 脑脊液; 胆红素; 性能评价

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.04.001

中图法分类号:R446.14

文章编号:1673-4130(2019)04-0385-04

文献标识码:A

Performance evaluation for detecting total bilirubin in neonatal cerebrospinal fluid^{*}

LIU Fei, QIU Xiantao, CHEN Xiaojuan, CAI Minmin, MA Qingling, PANG Shuyin, LIU Haiying[△]

(Department of Clinical Laboratory, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong 510623, China)

Abstract: Objective Newborn bilirubin encephalopathy seriously threatens the life and health of newborns. Both the mortality and morbidity are high. Cerebrospinal fluid bilirubin concentration can better reflect the blood-brain barrier function and brain bilirubin levels, which can help the diagnosis of bilirubin encephalopathy. **Methods** In order to meet the clinical needs, we confirmed the detection performance of the existing serum bilirubin detection system for cerebrospinal fluid bilirubin, including precision, accuracy and analysis of measurement range. **Results** The results showed that the detection system was linear at 1.0—25.1 $\mu\text{mol/L}$, and the daytime CV at normal and pathological values was less than the precision requirement (6%). The bias of each sample and the average bias are less than the allowable bias (5%), the total error is less than the total allowable error (15%). **Conclusion** Therefore, the performance of the detection system meet the industry standards, can be used for neonatal cerebrospinal fluid bilirubin detection.

Key words: neonatal; cerebrospinal fluid; total bilirubin; performance evaluation

新生儿胆红素脑病是指新生儿发生高非结合胆红素血症时,游离胆红素通过血脑屏障,沉积于小脑、延脑、大脑皮质及脊髓等部位,能抑制脑组织对氧的利用,从而导致脑损伤,是新生儿高胆红素血症严重并发症^[1-4]。新生儿胆红素脑病严重威胁新生儿的生命和健康,其病死率及致残率很高,幸存者 75%~90%有神经系统后遗症,如眼球运动障碍、手足徐动症、牙釉质发育不全、听觉障碍和智力低下^[5-7]。因此,早期诊断、早期治疗是减少后遗症发生的关键措施。

目前,临床上诊断主要根据临床表现及血浆总胆红素浓度和未结合胆红素浓度的测定,但是这些指标

的灵敏度低,往往延误治疗时机。以往的研究显示脑脊液中胆红素水平能较好地反映血脑屏障功能状态与脑内胆红素水平,并且脑细胞能量代谢及脑电活动变化程度与脑内胆红素浓度一致,因此,监测新生儿脑内胆红素水平,对胆红素脑病的诊断及病情判断十分重要^[8-13]。

本院检验科目前使用的血清总胆红素检测系统为日立 7600 全自动生化分析仪、迈克常规化学校准品和迈克钒酸盐氧化法血清总胆红素检测试剂盒。由于试剂盒本身未声明可用于脑脊液样本的检测,为满足临床脑脊液检测胆红素的需求,本研究对目前的血清总胆红素检测系统进行了脑脊液样本的性能

^{*} 基金项目:广东省科技厅社会发展项目(2014A020212520)。

作者简介:刘非,男,副主任技师,主要从事临床生化检验相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: liubushi@163.com。

本文引用格式:刘非,邱先桃,陈小娟,等. 新生儿脑脊液总胆红素测定的性能评价[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(4): 385-387.

评价。

1 材料与方法

1.1 材料来源 由于脑脊液高胆红素样本难获得，且真实值未知，没有可供比对的参考系统或标准物质，采用浓度已知的血清胆红素高值样本，无色透明脑脊液稀释后组成实验样本。

1.2 仪器与试剂 检测系统为日立 7600 全自动生化分析仪、迈克常规化学校准品(四川迈克生物股份有限公司,批号:0117011)和迈克血清总胆红素检测试剂盒(钒酸盐氧化法,四川迈克生物股份有限公司,批号:0417031,)。质控品采用朗道常规化学质控品(英国朗道实验诊断有限公司,批号:766UE 和 1012UN)。胆红素标准物质标准值为(108.1±1.9) μmol/L(北京中科质检)。

1.3 方法

1.3.1 精密度评价 选取稀释倍数较高,浓度代表正常值和病理值的样本各一个,进行日间精密度评价。2 个实验样品各分成 20 管,每天测定 1 次,连续 20 d。全部实验过程均有常规质量控制,在控时检测实验样品,计算 20 次测量结果的均值、标准差和变异系数(CV)。评价标准以我国卫生行业标准制定的质量指标[允许总误差(TEa)≤15%]为依据^[14],日间 CV≤6%为精密度满足要求。

1.3.2 正确度评价 以稀释后样本计算的理论值作为靶值,每个样品重复检测 3 次,计算每个样品重复测量的均值与靶值的相对偏倚。评价标准以我国卫生行业标准制定的质量要求偏倚≤5%为满足要求,级别为优等^[14]。

1.3.3 准确度评价 计算在精密度实验正常值和病理值浓度处的实验总误差(TE),TE=|偏倚|+2CV,并评价准确度的西格玛(σ)水平,σ=(TEa-|偏倚|)/CV。

1.3.4 分析测量范围评价 以线性稀释回收法进行分析测量范围评价。等间距混合高值(H)和低值(L)样本,根据低浓度样品和高浓度样品配制比例关系计算各个样品的理论值,实际测量结果为实测值,以理论值为 X,实测均值为 Y,进行直线相关与回归分析,若 R²≥0.975,b 与 1 差异无统计学意义(通常在 0.97~1.03),a 和 0 差异无统计学意义,可判断为线性;再按以下公式计算稀释回收率,稀释回收率=(实测值/理论值)×100%,允许稀释偏差为 7.5%(1/2 TEa),各样品稀释回收率在 92.5%~107.5%为可接受。此时实验所选择浓度即为分析测量范围。若上述任何一项不满足条件,则去掉最高数据点重新实验。

回收试验:将胆红素标准溶液以无色透明脑脊液稀释,一般检验方法要求回收率在 95%~105%之间,最为理想的回收率应是 100%。加入标准液的体积控制在整个反应液体积的 10%以内,最好使实验标本的

被测定浓度达到医学决定水平。加入浓度计算:加入浓度(μmol/L)=标准液浓度×[标准液量(mL)/实验样本总量(mL)];回收浓度(μmol/L)=回收样品测得浓度-基础样品测得浓度;回收率计算:回收率=回收浓度/加入浓度×100%

1.4 统计学处理 实验数据应用 R 语言 3.3 软件进行统计,其中分析测量范围数据,用 lm 函数进行线性回归。

2 结果

2.1 日间精密度评价 选择胆红素浓度为 133.4 μmol/L 的血清,用无色透明脑脊液样本进行 1:20 和 1:10 倍稀释,2 个样本的浓度分别接近 6.5 μmol/L(接近报道的正常值上限)和 13.5 μmol/L(病理值)。正常值和病理值浓度处的日间 CV 均小于行标规定的最佳精密度要求(6%),满足质量要求,见表 1。

表 1 日间精密度实验结果				
实验样品	检测时间(d)	均值	标准差	CV(%)
正常值(μmol/L)	20	6.69	0.11	1.70
病理值(μmol/L)	20	13.82	0.17	1.24

2.2 正确度评价 根据文献报告,选择临床上有意义的脑脊液胆红素浓度区间,以计算的理论值作为靶值,计算每个样品重复测量的均值与靶值的相对偏倚,结果见表 2。平均偏倚为-1.18%,小于允许偏倚(5%),并且每个样本的偏倚均小于允许偏倚,满足质量要求。

2.3 准确度评价 根据接近正常值和病理值浓度的 CV 和相对偏倚,计算出的 TE 分别为 7.40%和 4.01%,均小于行业标准规定的 15%;根据 TEa、CV 和相对偏倚计算出 σ 值分别为 6.5 和 10.9,均达到了优秀。

表 2 已知理论浓度的稀释样品测量结果(μmol/L)						
序号	测量 1	测量 2	测量 3	测量均值	靶值	相对偏差(%)
1	25.1	25.1	25.2	25.1	25.1	0.13
2	22.1	20.8	20.6	21.2	21.1	0.32
3	17.9	16.5	16.8	17.1	17.0	0.39
4	14.1	13.3	12.5	13.3	13.1	1.53
5	9.5	8.5	8.4	8.8	9.1	-3.30
6	5.2	4.8	4.4	4.8	5.0	-4.00
7	1.0	0.9	1.0	1.0	1.0	-3.33

2.4 分析测量范围评价 选择浓度为 25.1 μmol/L 的高值样本(H)和浓度为 1.0 μmol/L 的低值样本(L)各 1 份,制备成七个等间距的实验样本(6H、5H+1L、4H+2L、3H+3L、2H+4L、1H+5L、6L),按实验方法重新测定,绘制散点图,见图 1。计算回归方程和回归系数 R²,R²=0.999 7,b=0.990 9,在 0.97~

1.03 之间, $\alpha=0.137\ 8$, 与 0 差异无统计学意义 ($t=1.074, P=0.332$), 因此判定为线性。计算每个样品的稀释回收率, 见表 3。回收率为 96.0%~101.5%, 均在评价标准 92.5%~107.5%, 因此实验所选择的浓度 1.0~25.1 $\mu\text{mol/L}$ 即为分析测量范围。

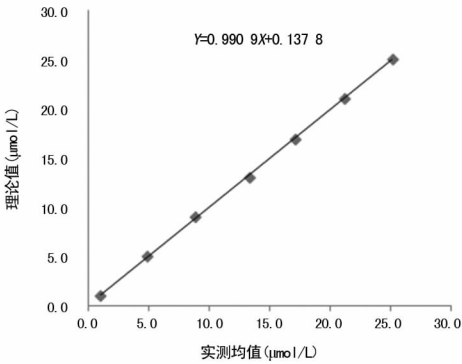


图 1 实测均值与预期值散点图

表 3 线性稀释回收率计算

序号	理论值 ($\mu\text{mol/L}$)	实测值 ($\mu\text{mol/L}$)	稀释回收率 (%)
1	25.1	25.1	100.1
2	21.1	21.2	100.3
3	17.0	17.1	100.4
4	13.1	13.3	101.5
5	9.1	8.8	96.7
6	5.0	4.8	96.0
7	1.0	1.0	96.7

2.5 回收试验 回收样品制备: (1) 基础样品: 无色透明脑脊液 0.9 mL+0.1 mL 蒸馏水; (2) 回收样品 I: 无色透明脑脊液 0.9 mL+0.1 mL 108.1 $\mu\text{mol/L}$ 胆红素标准液; (3) 回收样品 II: 无色透明脑脊液 0.9 mL+0.05 mL 108.1 $\mu\text{mol/L}$ 胆红素标准液+0.05 mL 蒸馏水。混匀, 平衡 30min 后检测。2 个回收试验样品的回收率均在 95%~105%, 说明检测系统对于脑脊液基质中胆红素检测, 不受基质效应影响。见表 4。

表 4 胆红素回收试验结果 ($\mu\text{mol/L}$)

项目	测定浓度				加入浓度	回收浓度	回收率 (%)
	测定 1	测定 2	测定 3	平均浓度			
基础样本	0.9	0.9	1.0	0.9	—	—	—
回收样品 I	11.8	11.9	11.9	11.9	10.8	11.0	101.9
回收样品 II	6.5	6.4	6.5	6.5	5.4	5.6	103.7

注: —表示无数据

3 讨 论

高胆红素血症患儿发生胆红素脑病主要取决于脑内胆红素水平, 血清总胆红素水平越高, 游离胆红素水平就越高, 通过血-脑屏障进入脑组织的可能性就越大, 也容易导致胆红素脑病的发生。脑脊液胆红素

水平可更好地反映血-脑屏障功能状态和脑内胆红素水平。

目前, 医学实验室胆红素检测一般使用生化分析仪, 且只检测血清标本, 检测试剂盒生产厂家说明书通常不会声明可用于脑脊液胆红素检测。为满足临床的客观需求, 现有的胆红素检测系统进行临床脑脊液标本检测前, 必须要进行性能确认。需要评价检测系统的精密度、正确度、准确度、分析测量范围和参考区间等指标。

本研究选择分别代表病理值和正常值的两个浓度水平进行精密度实验, 结果表明日间 CV 小于行业标准要求, 甚至小于 1/6 行业标准规定的 $TEa (15\%/6=2.5\%)$, 精密度达到了最佳的质量要求。

正确度评价时, 因无法获得可供比对的参考系统或标准物质。本研究在检测系统经过校准, 且检测原卫生部能力验证样本控制在偏倚 $<5\%$ 的前提下, 检测血清胆红素样本, 获得高值血清样本, 以无色透明脑脊液进行 5 倍稀释, 检测稀释后样本, 确认无明显的基质效应后, 作为脑脊液工作样本高值 (H), 此高值样本与无色透明低值脑脊液样本 (L, 浓度为 1.0 $\mu\text{mol/L}$) 等间距稀释后的理论值作为靶值。结果表明在 1.0~25.1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内, 偏倚为 $-4.00\%\sim1.53\%$, 平均偏倚为 -1.18% , 小于允许偏倚 (5%), 满足质量要求。并且, 根据病理值和正常值浓度处的不精密度和偏倚算的 TE 均小于行业标准, σ 值小于 5, 准确度达到优秀。

根据文献[15]报道的脑脊液胆红素水平, 本课题组选择在小于 25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内评价检测系统的线性, 结果表明脑脊液胆红素检测系统的分析测量范围可覆盖 1.0~25.1 $\mu\text{mol/L}$, 稀释回收率满足质量要求。

文献报道, 正常足月新生儿, 脑脊液胆红素平均为 $(4.10\pm1.71)\mu\text{mol/L}$ 或 $(4.3\pm1.4)\mu\text{mol/L}$, 上限均接近 7.5 $\mu\text{mol/L}$ [15]。因此, 暂定新生儿脑脊液胆红素参考区间为 $<7.5\mu\text{mol/L}$, 需进一步通过正常组脑脊液样本进行验证。

4 结 论

脑脊液胆红素测定可协助临床更早期预测和发现新生儿胆红素脑病, 及时干预。本研究通过对现有检测系统的精密度、正确度、准确度和分析测量范围进行评价, 证明在 1.0~25.1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内, 检测系统的日间 CV, 偏倚, TE 均能满足质量要求, 现有检测系统可用于脑脊液胆红素的测定。

参考文献

[1] HACHIYA Y, HAYASHI M. Bilirubin encephalopathy: a study of neuronal subpopulations and neurodegenerative mechanisms in 12 autopsy cases[J]. Brain Dev, 2008, 30 (4): 269. (下转第 391 页)

- 京医学, 2013, 35(4): 241-242.
- [2] 陆国平, 程晔. 2012 版儿童严重脓毒症与脓毒性休克治疗国际指南解读[J]. 中国小儿急救医学, 2013, 20(1): 4-8.
- [3] 李祥东, 王安才. NT-proBNP、cTn I、H-FABP 对呼吸困难鉴别诊断及预后判断的价值[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2015, 20(5): 562-566.
- [4] 中华医学会儿科学分会急救学组, 中华医学会急诊医学分会儿科学组, 中国医师协会儿童重症医师分会. 儿童脓毒性休克(感染性休克)诊治专家共识(2015 版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2015, 30(22): 1687-1691.
- [5] 朱记法, 李凌, 张晓. 急诊冠脉介入治疗时间对急性心肌梗死患者炎症及心肌损伤的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2011, 46(6): 931-933.
- [6] VALL BOCKEL E A, TULLEKEN J E, MULLER KOB-OLD A C, et al. Cardiac troponin I release and cytokine response during experimental human endotoxaemia[J]. Intensive Care Med, 2003, 29(9): 1598-1600.
- [7] KLOUCHE K, POMMET S, AMIGUES L, et al. Plasma brain natriuretic peptide and troponin levels in severe sepsis and septic shock: relationships with systolic myocardial dysfunction and intensive care unit mortality[J]. J Intensive Care Med, 2014, 29(4): 229-237.
- [8] 唐玉蓉, 牟佩佩, 王际亮, 等. 脑钠素与肌钙蛋白 I 检测在小儿心力衰竭诊断中的应用观察[J]. 陕西医学杂志, 2016, 45(7): 918-920.
- [9] 黄娇甜, 祝益民, 卢秀兰. 重症脓毒症患儿血清肌酸激酶同工酶和肌钙蛋白 I 水平与预后的相关性分析[J]. 中国循证儿科杂志, 2011, 6(1): 31-36.
- [10] JOHN J, WOODWARD D B, WANG Y, et al. Troponin-I as a prognosticator of mortality in severe sepsis patients[J]. J Crit Care, 2010, 25(2): 270.
- [11] RAVINDRANATH T, NASREEN S, DAVID L. Cardiac troponin I does not independently predict mortality in critically ill patients with severe sepsis[J]. Emerg Med Australas, 2012, 24(2): 151-158.
- [12] CHENG H, FAN W Z, WANG S C, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiac troponin I for the prognostic utility in elderly patients with severe sepsis or septic shock in intensive care unit: a retrospective study[J]. J Crit Care, 2015, 30(3): 654.
- [13] 胡甜甜, 赵光举, 洪广亮, 等. 心肌肌钙蛋白 I 独立预测严重脓毒症及感染性休克患者死亡率的价值研究[J]. 中国急救医学, 2016, 36(4): 294-298.
- [14] RIMACHI R, BRUZZI C F, ORELLANO J C, et al. Lactate/pyruvate ratio as a marker of tissue hypoxia in circulatory and septic shock[J]. Anaesth Intensive Care, 2012, 40(3): 427-432.
- [15] 王玲玲, 李辉煜, 肖晓文. 重症肺炎致急性呼吸窘迫综合征患者血 NT-proBNP、cTnI 水平的临床观察及其与炎症反应的相关性研究[J]. 重庆医学, 2015, 44(31): 4364-4366.
- [16] 钟晓晴, 孙文玥. 脓毒症患儿肌钙蛋白 I 与血清降钙素原相关性分析[J]. 深圳中西医结合杂志, 2017, 27(4): 63-65.

(收稿日期: 2018-08-10 修回日期: 2018-10-21)

(上接第 387 页)

- [2] OGUNLESI T A, DEDEKE I O, ADEKANMBI A F, et al. The incidence and outcome of bilirubin encephalopathy in Nigeria: a bi-centre study[J]. Niger J Med, 2007, 16(4): 354-359.
- [3] BRITES D, FERNANDES A, FALCAO A S, et al. Biological risks for neurological abnormalities associated with hyperbilirubinemia[J]. J Perinatol, 2009, 29(1): 8-13.
- [4] 田静, 阴怀清, 杨金慧. 新生儿血-脑脊液屏障发育及胆红素对其影响的研究进展[J]. 中国新生儿科杂志, 2015, 30(3): 233-236.
- [5] SGRO M, CAMPBELL D, BAROZZINO T, et al. Acute neurological findings in a National cohort of neonates with severe neonatal hyperbilirubinemia[J]. J Perinatol, 2011, 31(6): 392-396.
- [6] 黄华兴, 易仲琼. 新生儿血清胆红素对其听力的影响[J]. 中国妇幼保健, 2008, 23(30): 4288-4289.
- [7] 吴晓翠, 陈新. 新生儿黄疸[M]. 北京: 人民军医出版社, 2001: 156-157.
- [8] 高建慧, 杨华姿, 陈宇明, 等. 新生儿重度高间接胆红素血症脑脊液胆红素浓度测定及其临床意义[J]. 中华围产医学杂志, 2004, 7(1): 52-53.
- [9] 程琪, 金瑞峰, 杨春燕, 等. 脑脊液中未结合胆红素检测在高胆红素血症新生儿中的临床应用价值[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(27): 4423-4425.
- [10] 李先红, 张健, 郑洪, 等. 新生儿胆红素脑病脑脊液总胆红素及颅脑 MRI 检查的临床意义[J]. 实用临床医学, 2014, 15(4): 76-79.
- [11] 孙路璐, 金玉莲, 刘光辉, 等. 新生儿脑脊液胆红素在胆红素脑病诊断中的研究[J]. 中华全科医学, 2013, 11(8): 1181-1183.
- [12] 马红梅. 新生儿病理性黄疸患儿血清与脑脊液胆红素水平变化及其在病情评估中的价值[J]. 临床合理用药, 2016, 9(1): 92-93.
- [13] 高金萍, 王琨. 脑脊液胆红素, 头颅 MRI, BAEP 及 NBNA 在新生儿胆红素脑病早期诊断中的价值[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(29): 3279-3281.
- [14] 中华人民共和国卫生部. WS/T 403-2012, 临床生物化学检验常规项目分析质量指标[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012.
- [15] 俞善昌. 新生儿胆红素脑病的危险因素与发病机制[J]. 中国实用儿科杂志, 1999, 14(2): 6-8.

(收稿日期: 2018-10-18 修回日期: 2018-12-29)