

## • 论 著 •

# 新疆地区参加全国新生儿疾病筛查实验室室间质评 7 年回顾<sup>\*</sup>

张 慧,田永芳,王昌敏<sup>△</sup>,刘建勇,李奇凤,吴卫东

(新疆维吾尔自治区人民医院,乌鲁木齐 830001)

**摘要:**目的 分析 7 年来参加全国新生儿疾病筛查苯丙氨酸(Phe)和促甲状腺激素(TSH)室间质量评价的结果,评价实验室检测质量。方法 对 2010—2016 年卫生部临检中心分发的各批次质评样本分别采用荧光法和时间分辨荧光免疫分析法进行 Phe 和 TSH 浓度检测,并对反馈结果进行总结分析。结果 (1)7 年来共接受 21 批次共计 105 份质评样本,偏倚分布范围 Phe(−66.67%~45.71%)、TSH(−62.5%~20.83%);相对偏倚平均值 Phe 2.21%、TSH 0.98%。(2)定量结果分析:6 份 Phe 和 2 份 TSH 测定结果失控(偏倚≥30% 或≤−30%),失控率分别为 Phe 5.71%(6/105) 和 TSH 1.9%(2/105)。(3)定性结果分析:Phe(阴性 36 份,阳性 69 份),TSH(阴性 42 份,阳性 73 份),临床判断结果全部通过,符合率为 100%;每一批次项目评分结果均≥80%,室间质评合格。结论 参加全国新生儿疾病筛查实验室室间质评活动,通过反馈结果评估实验室的检测能力,有助于及时发现和解决存在的问题,减少实验误差,提高检测水平,确保筛查结果的准确可靠。

**关键词:**新生儿疾病筛查; 室间质量评价; 苯丙氨酸; 促甲状腺激素**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.13.002**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2017)13-1732-04

## Review of national external quality assessment for neonatal screening laboratory in Xinjiang for 7 years\*

ZHANG Hui, TIAN Yongfang, WANG Changmin<sup>△</sup>, LIU Jianyong, LI Qifeng, WU Weidong

(People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi, Xinjiang 830001, China)

**Abstract: Objective** To review the phenylalanine(Phe) and thyrotropin(TSH) results of national external quality assessment (EQA) in neonatal screening laboratory for 7 years, evaluate quality control level and summarize the problems in the screening measurement. **Methods** The Phe and TSH values in dried blood spot specimens on filter paper distributed by national center for clinical laboratory were measured by fluorometric method and time-resolved fluorescence immunoassay respectively. The Phe and TSH EQA results from 2010 to 2016 year were analyzed. **Results** Five specimens were distributed by EQA organizer each time, and 3 times each year. (1) In the 105 specimens of 21 batches, the bias ranges of Phe and TSH measurement were wide and their average values were 2.21% and 0.98% respectively. (2) Quantitative results analysis :Six quantitative results of Phe measurement and two quantitative results of TSH measurement were out of aunty control(bias ≥30% or ≤−30%),accounting for 5.71%(6/105)and 1.9%(2/105) respectively. (3)Qualitative results analysis: The Phe and TSH qualitative analysis of specimens conformed to the expected results(100%). The result of every batch was up to 80%. **Conclusion** It is useful to evaluate the measurement competence, find out the problems in the Phe and TSH measurement in neonatal screening laboratory and resolve them in time. Consequently,it is useful to improve the quality of measurement,reduce the error and ensure the accuracy of results.

**Key words:**neonatal screening; external quality assessment; phenylalanine; thyrotropin

新生儿疾病筛查是提高人口素质、减少出生缺陷的重要预防措施,引起了新疆维吾尔自治区各级政府的重视并取得了显著的成绩。新生儿筛查的疾病在早期无特异的临床表现,误诊或漏诊将严重影响患儿的智力和体格发育,严格的质量控制以确保实验结果的准确性就显得尤为重要<sup>[1]</sup>。从 2009 年开始,本实验室参加了卫生部临检中心组织的室间质评活动,现将 2010—2016 年 7 年来的苯丙氨酸(Phe)和促甲状腺激素(TSH)室间质评结果进行回顾性分析。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 卫生部临床检验中心每年用密封干燥锡箔袋寄送质控样本 1 次,共 3 个批次,每批次有 5 份未知浓度的滤纸片干血斑质评样本,收到后保存于 2~8 ℃冰箱待检。2010~2016 年共接收 Phe 和 TSH 质控样本 21 批 105 份。

**1.2 仪器与试剂** 2010~2015 年使用仪器为半自动荧光免疫分析仪(TALENT-II 型,广州丰华生物有限公司)、自动振荡器(DELFIA Plate Shake 1296-003 型,芬兰 PerkinElmer 公司)、洗板机(DELFIA Plate Wash 1296-026 型,芬兰 PerkinElmer 公司)、打孔器(内径 3 mm)、电热恒温鼓风干燥箱(BGZ-140 型,上海博讯实业有限公司)。Phe 检测采用芬兰雷勃 Labsystem Phe 测定试剂盒、TSH 检测采用广州丰华生物有限公司 TSH 测定试剂盒。2016 年开始使用全自动荧光免疫分析仪(AutoTRFIA-4 型)和全自动打孔器(Easy DBS600 型),检测仪器与 Phe 和 TSH 检测试剂盒均购自广州丰华生物有限公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 样本检测** 按照卫生部临检中心的要求于每年 5、8、

<sup>\*</sup> 基金项目:新疆维吾尔自治区人民医院科学基金(20140212)。

作者简介:张慧,女,主管技师,主要从事临床医学检验与免疫学的研究。 △ 通信作者,E-mail:wcm224@126.com。

10 月份分 3 个批次测定室间质评样本 Phe 和 TSH 浓度,所有质评样本和临床待检样本同等对待并同批检测,测定后按期上报定量检测结果及临床判断结果,质评结果在 1 个月内反馈统计靶值及得分情况。Phe 和 TSH 浓度测定分别采用荧光法和时间分辨荧光免疫技术,并严格按照新生儿筛查检测技术规范和操作规程进行。

**1.3.2 判断标准** (1)定量判断:按本筛查中心制定的操作规程同步检测质评样本和临床样本,在当次标准曲线良好,室内质控合格时认为定量结果可信。超出卫生部临检中心的定量结果允许范围(靶值±30%)时为失控。(2)定性判断:根据定量检测结果结合 Phe 和 TSH 的可疑阳性临界值对每份质评样本进行临床评估,本筛查中心 Phe 和 TSH 的定性判断标准见表 1。通过定性判断结果与卫生部临检中心反馈结果之间的比对,不符合者判断为未通过。

表 1 Phe 和 TSH 的定性判断标准

测定项目	阴性( <i>n</i> )	可疑阳性	阳性
Phe(mg/dL)	<2.0	2.0~4.0	>4.0
TSH(μIU/mL)	<9.5	9.5~18.0	>18.0

**1.3.3 评分方法** 室间质量评价成绩的评价方式<sup>[2]</sup>:(1)对每一次室间质量评价活动,针对某一分析项目的得分计算公式为(该项目的可接受结果数/该项目总的测定样本数)×100%;(2)对参加室间质量评价的全部项目,其得分计算公式为(全部项目的可接受结果数/全部项目总的测定样本数)×100%。每次活动实验室所有评价项目未达到至少 80% 得分则称本次活动该实验室室间质评成绩不合格,未参加室间质评活动或未在规定时间内回报结果,定为不满意的 EQA 成绩,该次得分为 0 分。

## 2 结 果

**2.1 质评样本偏倚情况** 7 年内共接受卫生部临检中心分发的 21 批次共计 105 份质评样本,Phe 和 TSH 测定结果偏倚分布见图 1、2。Phe 测定结果偏倚分布范围在 -66.67%~45.71%,相对偏倚平均值为 2.21%;TSH 测定结果偏倚分布范围在 -62.5%~20.83% 之间,相对偏倚平均值为 -0.98%。

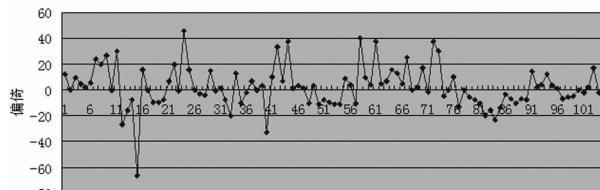


图 1 Phe 质评样本浓度偏倚分布

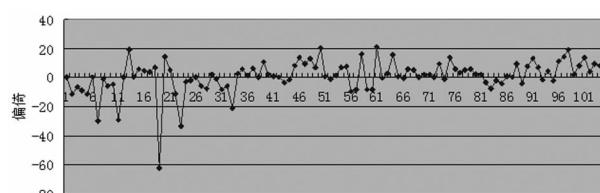


图 2 TSH 质评样本浓度偏倚分布

**2.2 定量结果** 105 份质控标本中,103 份 TSH 测定值和 99 份 Phe 测定值在允许范围内,合格率分别是 98.1% 和

94.29%。2 份 TSH 测定值和 6 份 Phe 测定值偏倚≥30%(失控),失控率分别为 1.9%(2/105) 和 5.71%(6/105)。

**2.3 定性结果** 105 份质评样本反馈结果中,Phe:阴性 36 份,阳性 69 份;TSH:阴性 42 份,阳性 73 份;TSH 和 Phe 实验室检测结果和反馈结果一致,定性符合率均为 100%(105/105)。

**2.4 质评结果评分** 105 份质控样本定量判断和定性判断总评分见表 2。所有项目每批及年度总评分结果均≥80%,历年来检测质量得到卫生部临检中心的认可,获得室间质评成绩合格证书。

表 2 105 份质评标本 TSH、Phe 定量和定性判断  
总评分[n(%)]

标准	TSH	Phe
定量	103(98.1)	99(94.29)
定性	105(100.0)	105(100.0)
平均	104(99.05)	102(97.15)

**2.5 质评结果失控情况** 6 份 Phe 偏倚超出范围的标本批号分别是 201035、201124、201225、201232、201411、201432,2011 年质控失控的原因为温箱温度失控导致整体质控偏高,2010、2012、2014 年质控失控原因检测准确度有偏差,综合分析包括系统误差和随机误差,见表 3。2 份 TSH 偏倚超出范围的标本批号分别是 201114、201123,质控失控原因也是准确度不够,随机误差和系统误差导致。见表 4。

表 3 Phe 6 份失控标本质控结果

批号	上报值	靶值	偏倚(%)
201035	0.1	0.3	-66.67
201124	5.1	3.5	45.71
201225	0.4	0.6	-33.00
201232	0.8	0.6	33.33
201411	1.1	0.8	37.50
201432	1.1	0.8	37.50

表 3 TSH 2 份失控标本质控结果

批号	上报值	靶值	偏倚(%)
201114	0.3	0.8	-62.50
201123	1.0	1.5	-33.33

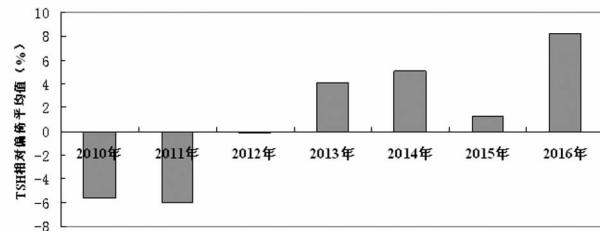


图 3 2010—2016 年度的 TSH 相对偏倚情况

**2.6 2010—2016 每年 TSH、Phe 相对偏倚的平均值** 105 份标本 2010~2016 年度的偏倚情况见图 3、4。TSH 的平均偏倚值的波动幅度较 Phe 小,7 年来总相对偏倚平均值为 TSH 0.

98% 和 Phe 2.21%。

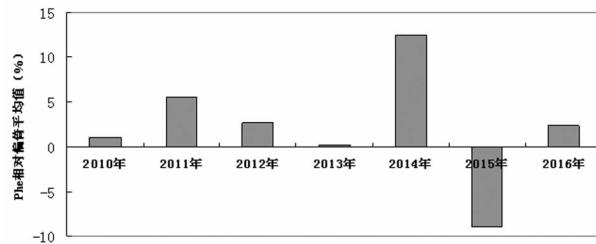


图 4 2010—2016 年度的 Phe 相对偏倚情况

### 3 讨 论

新生儿疾病筛查是减少儿童智力低下和提高出生人口素质的重要预防措施,能早期发现某些先天性遗传代谢病。此类疾病在早期临床表现不特异,并且缺少临床及时发现错误并逆转病情的机会,检验结果是早期发现患儿的重要指标,实验漏诊会让患儿错过治疗的最佳时机,造成残疾或死亡。从 2010—2016 年,本筛查中心参加了全国新生儿疾病筛查室间质评,一直取得满意成绩。近 7 年来共接收卫生部临检中心分发的 21 批次共计 105 份质评样本。Phe 和 TSH 测定结果偏倚分布较广,Phe 相对偏倚平均值为 2.21%,TSH 相对偏倚平均值为-0.98%,比张晓刚等<sup>[3]</sup>的偏倚结果稍低。

各筛查实验室采用的检测方法和诊断切值不同,同一样本在不同实验室会得到不同的临床假设,定性判断结果对患儿的确诊和漏诊具有重要参考价值,切值对临床工作意义重大,有助于评价一个新生儿是否患病,其准确性临实际上比定量结果更重要。假阴性率高会延误患儿的治疗,假阳性率高导致召回量增多,给相应家庭增添不必要的精神和经济负担<sup>[4]</sup>。

本室 Phe 和 TSH 的切值稍高于盐城市妇幼保健院新生儿疾病筛查中心的设定值<sup>[5]</sup>。收集 2015 年度新疆南疆地区的活产新生儿共 192 633 例的 Phe 和 TSH 检测结果,共确诊经典型苯丙酮尿症(PKU)21 例,高苯丙氨酸血症(HPA)10 例,先天性甲状腺功能减低 15 例。采用用百分位数法 99% 可信限为标准来确定切值,能比较直观地反映了测定标本的真实水平,设定初筛切值以防漏诊为主,选择敏感度高特异性稍低,而且假阴性率为 0.00% 的临界值作为实验切值<sup>[6-7]</sup>。

采用荧光法测定血斑中 Phe 的浓度,Phe $\geqslant$ 2.0 mg/dL 的可疑阳性者召回复查,当 Phe 持续 $\geqslant$ 2.0 mg/dL,或 $\geqslant$ 4.0 mg/dL,即通知进行尿蝶呤谱分析、血二氢蝶啶还原酶活性测定,以鉴别诊断苯丙氨酸羟化酶(PAH)缺乏症和四氢生物蝶呤缺乏症;采用时间分辨荧光分析法检测 TSH 的浓度,对 TSH $\geqslant$ 9.5 μIU/mL 的可疑阳性者召回重新复查,对复查结果仍然 $\geqslant$ 9.5 μIU/mL 或 $\geqslant$ 18 μIU/mL,进行甲状腺功能检测。

7 年 105 份质评样本 Phe 的定量和定性判断总评分为 97.15%,TSH 的定量和定性判断总评分为 99.05%,卫生部临检中心质评要求每一项目的评分 $\geqslant$ 80%,这些数据说明本室对滤纸干血斑 Phe 和 TSH 浓度具有良好持续的检测能力,检测结果合格。105 份质评样本中,Phe 和 TSH 定量结果符合率分别为 94.29% 和 98.1%,定性判断结果符合率均为 100%,说明切值的设定总体来说是可行的,与章晓燕等<sup>[8]</sup>报道的我国 2015 年新生儿遗传代谢病切值调查结果吻合,检测能力合格,检测结果是可信的。

105 份质评样本定性结果中 TSH 和 Phe 实验室检测结果和反馈结果一致,符合率均为 100%,历年来新生儿筛查检测中尚未发现漏诊的病例,为临床诊断治疗提供准确可靠的实验

数据。不足之处在于本实验室 PKU 的假阳性率较高,可能与新疆南疆地区基层医院采血不规范及血片保存条件较差和递送到实验室的时间较长有关,实验人员应当及时进行统计分析,配合临床做好分析后的可疑阳性患儿的随访工作,科学准确的设定筛查阳性切值<sup>[9]</sup>。

105 份质评样本定量结果中,6 份 Phe 结果和 2 份 TSH 结果未通过,失控率分别为 Phe(5.71%) 和 TSH(1.9%)。201114 和 201123 编号的 TSH 结果失控是洗板机未定期冲洗消毒,导致板孔残留液体清洗不彻底所致系统误差引起准确性的下降。201124 编号 Phe 结果失控是孵育箱温度波动和移液不精确使检测值出现随机误差,上报结果超出靶值 45.71%。剩余 5 个编号 Phe 结果出现偏差可能与试剂批号不稳定,标准品的均一性不好,反应混合液的配制及移液不准确,实验室的空气清洁度,实验人员的技术熟练程度等有关,另外新疆南疆地区空气干燥致使血片振荡洗脱不彻底,雾霾粉尘污染,路途遥远标本运输时间长,室温的高低等原因引起的随机误差和系统误差<sup>[10]</sup>。

系统误差的出现与实验仪器状态、试剂批号和实验环境有关,与试剂的纯度、稳定性或被污染、配制方法、非线性标准曲线有关。造成随机误差的原因,常是移液和测量不精确、试剂混合不均匀、血斑洗脱不充分等造成。对于以上情况,最大程度的纠正随机误差和系统误差对日常工作至关重要。定期对实验仪器、移液器等进行校准和维护以保证仪器正常运行;建立实验室标准操作规程,加强实验人员培训,严格进行核对制度,尽可能减少工作失误,减小人为随机误差;开展室内质量控制,通过质控图判断误差是否在允许范围内,出现失控应追查原因并采取相应的纠正措施。

实验室质量控制对提高新生儿疾病筛查质量非常重要。参加质量指标的室间质评计划可以发现检测过程中出现的偏差和错误,寻找偏倚的原因并及时采取相应的整改措施<sup>[11]</sup>。室间质评和室内质控是质量管理体系的重要组成部分,实验室内部应建立适当的质量指标体系,观察失控/在控情况及变化趋势,积极参加卫生部室间质评活动和质量指标的监测活动,及时发现实验室检测中的问题,采取有效的纠正措施,不断提高本室新生儿筛查的检验技术水平,为遗传代谢病的诊断治疗提供准确可靠的检测信息<sup>[12]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] 顾学范. 新生儿遗传性代谢病筛查的回顾和展望[J]. 中华儿科杂志, 2005, 43(5): 321-324.
- [2] 王薇, 王治国, 李少男. 全国新生儿疾病筛查实验室苯丙氨酸和促甲状腺激素检测的质量评价[J]. 广东医学, 2008, 29(3): 353-356.
- [3] 张晓刚, 杨建平, 郁梁, 等. 新生儿疾病筛查实验室 10 年室间质评结果回顾[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(4): 110.
- [4] 王薇, 钟堃, 何法霖, 等. 2003-2012 年全国新生儿遗传代谢病筛查室间质量评价结果分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2013, 21(4): 345-347.
- [5] 孙桂花. 盐城市 2012-2014 年新生儿遗传代谢病筛查结果回顾性分析[J]. 中华全科医学, 2014, 12(11): 1793-1794.
- [6] 陈卫中, 倪宗璇, 潘晓平, 等. 用 ROC 曲线确定最佳临界点和可疑值范围[J]. 现代预防医学, 2005, 32(7): 729-731.

(下转第 1737 页)

为 21.0%，与 Tian 等<sup>[6]</sup>的报道相似，进一步验证了婴幼儿阶段艰难梭菌携带率高这一现象。本研究还发现，在小于 3 月龄的婴儿体内，艰难梭菌的分离率较低，本文中 92.0% (46/50) 的菌株均分离自 3 个月后至 1 岁的婴儿，表明在艰难梭菌在婴儿体内繁殖还需一定时间，通常到 3 个月后检出率才逐渐增高。Rousseau 等<sup>[7]</sup>报道，2~6 月、7~9 月和 10~12 月婴儿艰难梭菌的携带率分别为 36%、67%、75%，携带率也呈现随婴儿月龄上升的趋势，本文的结论与其一致，虽然本文中各月份婴儿艰难梭菌的检出率均较其报道的低，但这可能与人群来源不同有关。

本文对分离到的 50 株艰难梭菌进行分子特征研究，发现 48.0% 为非产毒株，52.0% 的菌株为产毒株，产毒株比例略低于 Tian 等<sup>[6]</sup>的报道 (77.8%，7/9)，但高于 Rousseau 等<sup>[7]</sup>的报道 (26.9%，7/26)。26 株产毒株中，69.2% (18/26) 同时产毒素 A 和 B (tcdA+tcdB+)，30.8% (8/26) 只产毒素 B 而不产毒素 A (tcdA-tcdB+)，这一比例与章黎华等<sup>[8]</sup>和 Huang 等<sup>[9]</sup>报道的成人分离株相当，表明目前导致感染的艰难梭菌主要为同时产毒素 A 和 B 的菌株。

本文中，笔者利用 SlpA ST 方法对菌株进行基因分型，结果显示，50 株菌可分为 11 种 slpA ST 型，在非产毒株和产毒株间，菌株的核糖体型存在明显差异。非产毒株以 slpA ST xr-03 为主，占比达 50.0% (15/24)；产毒株则以 slpA ST fr-02 (8 株) 和 kr-02 (8 株) 为主，两者占比达 61.5% (16/26)。据 Cheng 等<sup>[10]</sup>报道，slpA ST fr-01 和 kr-03 均为目前我国艰难梭菌感染患者中主要的流行基因型。这一现象表明婴儿体内携带的艰难梭菌可能是我国成人艰难梭菌感染的一个重要来源，婴儿在其中扮演着“贮菌库”的角色，导致成人艰难梭菌感染。

此外，本文分析了艰难梭菌基因型与毒素编码基因的关系，发现产毒株共包含 7 种 slpA ST 型，其中 6 种的毒素编码基因携带模式均为 tcdA+tcdB+cdtA-cdtB-，只有 slpA ST fr-02 这一种型的毒素编码基因携带模式为 tcdA-tcdB+cdtA-cdtB-，本研究中发现的 9 株 slpA ST fr-02 中有 8 株均为这一模式，其对应的核糖体型为 RT017，以前的相关报道显示 RT017 均为 tcdA-tcdB+cdtA-cdtB-<sup>[7,10]</sup>，本文的结果与之一致，表明这一核糖体型的菌株产毒模式有其特异性。

总之，本研究表明 1 岁内的婴儿具有较高的艰难梭菌携带率，且过半菌株为产毒株，产毒株的主要基因型与我国目前成人艰难梭菌感染者基因型一致，表明婴儿可能作为艰难梭菌的“贮菌库”，导致成人感染。

(上接第 1734 页)

- [7] 邓俊耀, 蒙娟, 胡卫, 等. 桂林地区新生儿先天性甲状腺功能减退症静脉血片筛查实验 hTSH 切值建立 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(15): 2193-2196.
- [8] 章晓燕, 王薇, 赵海建, 等. 我国 2015 年新生儿遗传代谢病筛查指标切值的调查 [J]. 临床检验杂志, 2016, 34(9): 706-709.
- [9] 刘志娟, 叶明刚, 赵海燕, 等. 新疆地区新生儿苯丙酮尿症筛查切值的研究 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(9): 69-70.

## 参考文献

- [1] 曲芬, 汤一苇. 艰难梭菌感染的流行状况及诊治进展 [J]. 传染病信息, 2010, 23(1): 1007-8134.
- [2] Miyajima F, Roberts P, Swale A, et al. Characterisation and carriage ratio of Clostridium difficile strains isolated from a community-dwelling elderly population in the United Kingdom [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22804.
- [3] Kubota H, Makino H, Gawad A, et al. Longitudinal investigation of carriage rates, counts, and genotypes of toxigenic clostridium difficile in early infancy [J]. Appl Environ Microbiol, 2016, 82(19): 5806-5814.
- [4] 肖克林, 金萍, 黄丽清, 等. 高毒力艰难梭菌的基因型和毒力相关基因检测 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 35(8): 1673-4130.
- [5] 黄丽清, 肖克林, 周天祥, 等. 莫西沙星耐药的艰难梭菌多重聚合酶链反应检测和基因分型 [J]. 中华传染病杂志, 2015, 33(5): 1000-6680.
- [6] Tian TT, Zhao JH, Yang J, et al. Molecular characterisation of clostridium difficile isolates from human subjects and the environment [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0151964.
- [7] Rousseau C, Poilane I, De Pontual LA, et al. Clostridium difficile carriage in healthy infants in the community: a potential reservoir for pathogenic strains [J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(9): 1209-1215.
- [8] 章黎华, 董丹凤, 江岑, 等. 院内感染艰难梭菌的毒素检测及核糖体分型研究 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2012, 32(11): 1674-8115.
- [9] Huang H, Wu S, Wang M, et al. Clostridium difficile infections in a Shanghai hospital: antimicrobial resistance, toxin profiles and ribotypes [J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 33(4): 339-342.
- [10] Cheng JW, Xiao M, Kudinha T, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of Clostridium difficile isolates from a university teaching hospital in China [J]. Front Microbiol, 2016, 7(1): 1621.

(收稿日期: 2017-03-01 修回日期: 2017-05-02)

- [10] 顾颜. 参加全国新生儿疾病筛查实验室室间质评 5 年回顾 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(8): 87-88.
- [11] 王治国. 临床检验质量控制技术 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2014.
- [12] 费阳, 康凤凤, 王薇, 等. 2015 年全国临床检验质量指标室间质量评价 [J]. 中华检验医学杂志, 2016, 39(6): 433-437.

(收稿日期: 2017-02-24 修回日期: 2017-04-24)