

• 论 著 •

两种非衍生化串联质谱法检测试剂在遗传代谢病筛查中的性能比较及应用评价^{*}

张万巧, 韦秀娟, 闫磊, 杨晓, 陈雨晗[△]

中国人民解放军总医院儿科医学部/中国人民解放军总医院第七医学中心儿科研究所/出生缺陷防控关键技术国家工程实验室/儿童器官功能衰竭北京市重点实验室, 北京 100700

摘要:目的 评价两种非衍生化串联质谱法检测试剂(Neobase 试剂盒及 NSK 试剂)筛查遗传代谢病(IMD)的性能。方法 在同一台 Xevo TQD 串联质谱仪上, 分别利用 Neobase 试剂盒及 NSK 试剂进行 IMD 筛查, 对两种试剂的检测准确性、稳定性、精密度及临床标本检测性能进行验证和比较。结果 NSK 试剂与 Neobase 试剂盒相比, 在内标种类、室内质控品、萃取液及流动相、进样方式等方面存在差异。准确性验证结果显示, NSK 试剂检测的 23 个项目中, 质控合格的(测定成绩 $\geq 80\%$)有 21 项, 测定成绩达 100% 的项目占 82.6%(19/23); Neobase 试剂盒检测的 23 个项目全部合格, 测定成绩达 100% 的项目占 78.3%(18/23)。精密度验证中, Neobase 试剂盒检测羟基异戊酰肉碱、戊二酰肉碱、己酰肉碱低水平标本和十四酰肉碱高水平标本的批内精密度 $> 10.00\%$, 而检测其余项目低、中、高水平标本的批内和批间精密度均优于 NSK 试剂。在稳定性验证中, 两种试剂表现类似, 在启用第 15 天检测各项目中、高水平质控品时表现出良好的稳定性。针对筛查结果未知的 150 份新生儿足底血标本与 20 份已经过 IMD 筛查的患儿足底血标本, NSK 试剂和 Neobase 试剂盒在启用第 3 天、第 15 天、第 28 天的检测结果完全相符。结论 对比 Xevo TQD 串联质谱仪配套的 Neobase 试剂盒, NSK 试剂虽在检测准确性、精密度上稍有不足, 但在稳定性上与 Neobase 试剂盒表现类似, 且二者在临床应用中检测结果一致。

关键词: 非衍生化; 串联质谱; 遗传代谢病; 氨基酸; 酰基肉碱

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.12.002 **中图法分类号:** R446

文章编号: 1673-4130(2021)12-1414-06

文献标志码: A

Performance comparison and application evaluation of two non-derivatized tandem mass spectrometry detection reagents in the screening of inherited metabolic disease^{*}

ZHANG Wanqiao, WEI Xiujuan, YAN Lei, YANG Xiao, CHEN Yuhua[△]

Faculty of Pediatrics, Chinese PLA General Hospital / Pediatric Research Institute, Seventh Medical Center of Chinese PLA General Hospital / National Engineering Laboratory for Birth Defects Prevention and Control of Key

Technology / Beijing Key Laboratory of Pediatric Organ Failure, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To evaluate the performance of two non-derivatized tandem mass spectrometry detection reagents (Neobase kit and NSK reagent) for screening inherited metabolic disease (IMD). **Methods** In the same Xevo TQD tandem mass spectrometer, Neobase kit and NSK reagent were used for IMD screening, respectively. The detection accuracy, stability, precision and clinical detection performance of the two reagents were verified and compared. **Results** Compared with Neobase kit, NSK reagent have differences in the types of internal standards, indoor quality control products, extraction solutions and mobile phases, and injection methods. The accuracy verification results showed that, among the 23 items detected by NSK reagent, 21 items were qualified (detection results $\geq 80\%$), and 82.6% (19/23) of the 23 items had 100% detection results. All the 23 items detected by Neobase kit were qualified, and 78.3% (18/23) of them achieved 100% detection results. In the precision verification, the Neobase kit detected hydroxyisovaleryl carnitine, glutaryl carnitine, hexanoyl carnitine low-level specimens and tetradecyl carnitine high-level specimens with intra-assay precision $>$

* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81901518); 国家重点研发计划“生殖健康及重大出生缺陷防控研究”重点专项(2018YFC1002700)。

作者简介: 张万巧, 女, 主管技师, 主要从事临床质谱应用及疾病代谢组学研究。 △ 通信作者, E-mail: yijimea1@sina.com。

本文引用格式: 张万巧, 韦秀娟, 闫磊, 等. 两种非衍生化串联质谱法检测试剂在遗传代谢病筛查中的性能比较及应用评价[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(12): 1414-1418.

10%，and the intra-assay and inter-assay precision of the other items of low, medium and high-level specimens were better than NSK reagent. In the stability verification, the two reagents performed similarly, and showed good stability when detecting the medium and high-level quality control products of each item on the 15th day of activation. For 150 samples of infant plantar blood with unknown screening results and 20 children who have been screened IMD, the results of NSK reagent and Neobase kit were in good agreement on the third, 15th and 28th days of activation. **Conclusion** Compare with the Neobase kit of Xevo TQD tandem mass spectrometer, the NSK reagent is slightly insufficient in detection accuracy and precision, but it is similar to the Neobase kit in terms of stability, and the detection results of the two are consistent in clinical applications.

Key words: non-derivatized; tandem mass spectrometry; inherited metabolic disease; amino acid; acyl carnitine

遗传代谢病(IMD)是由遗传缺陷引起的包括生化代谢相关酶、受体及细胞膜功能异常在内的一大类疾病的总称^[1]，其可于出生后数小时或数天内起病，起病隐匿，临床表现无特异性，常出现漏诊、误诊^[2]。在造成不可逆的神经系统损害前进行新生儿筛查，实现及时诊断、正确干预，对降低 IMD 致残率，挽救患儿生命有重要意义^[3]。新生儿筛查最早实施于 1960 年，被证实是最成功的公共卫生项目之一，并在全世界多个国家广泛推行^[4-5]。串联质谱技术能分析干血斑中数十种氨基酸(AA)和酰基肉碱(AC)，能快速、简便、高通量地筛查包括 AA、有机酸及脂肪酸代谢异常在内的约 45 种 IMD，是目前常用的新生儿 IMD 筛查技术^[6-7]。最初，串联质谱技术的标本前处理多运用衍生化方法，而现阶段耗时更短、环境污染更小的非衍生化方法逐渐成为主流^[8-9]。当前 IMD 筛查实验室采用的非衍生化试剂种类繁多，对于这些试剂的性能特征、质量管理尚无明确标准^[10-11]。关于非衍生化筛查系统的性能研究多以 Xevo TQD 串联质谱仪及配套的 Neobase 试剂盒作为研究对象，且已有文献证实该筛查系统性能稳定，可按照常规临床化学检验系统的相关标准进行管理^[8,12]。为了对在 Xevo TQD 串联质谱仪上采用 NSK 试剂建立的 IMD 筛查系统进行方法学评估及临床检测分析，本研究在同一串联质谱检测平台上，以 Neobase 试剂盒为参照，同时对两种试剂的检测准确性、精密度、稳定性和临床检测效能进行评价，以验证 NSK 试剂的分析性能是否满足临床需求。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究所涉及标本均为滤纸干血斑，包括中华人民共和国国家卫生健康委员会临床检验中心(以下简称国家临床检验中心)2020 年全国第 1 次新生儿 IMD 串联质谱筛查 AA 和 AC 室间质量评价标本，杭州宝荣科技有限公司生产的新生儿筛查血斑质控品(AA、AC)及中国人民解放军总医院收治的住院新生儿的足底血标本和实验室保存的患儿足底血标本。所有标本均于 4 ℃ 保存。住院新生儿足底血标本共 150 份，未经过 IMD 筛查，检测结果未知。实验室保存的患儿足底血标本 20 份均经过 IMD

筛查，其中 IMD 阴性 3 份、阳性 17 份。17 份阳性标本中检出高苯丙氨酸血症(HPA)3 份、甲基丙二酸血症 5 份、丙酸血症 1 份、鸟氨酸氨甲酰基转移酶缺乏症(OTCD)2 份、瓜氨酸血症(CTLN)2 份、枫糖尿症 1 份、戊二酸血症 1 份、肉碱棕榈酰转移酶缺乏症 1 份及短链酰基辅酶 A 脱氢酶缺乏症 1 份。

1.2 仪器与试剂 Xevo TQD 串联质谱仪、Binary HPLC Pump 1525 二元高效液相泵、2777C 自动进样器均购自美国 Waters 公司；MB100-4A 微孔板恒温振荡器购自杭州奥盛科技有限公司；Neobase 试剂盒(非衍生化串联质谱法多种 AA、肉碱和琥珀酰丙酮测定)购自美国 Perkin Elmer 公司；高纯氩气和高纯氮气(99.999%，Air products)、AA 同位素内标 NSK-A、游离肉碱和 AC 同位素内标 NSK-B 均购自美国 Cambridge Isotope Laboratories 公司；色谱级甲醇、甲酸购自美国 Fisher Scientific 公司。

1.3 方法

1.3.1 非衍生化方法 分别取内标 NSK-A、NSK-B 各 1 瓶，用 1 mL 甲醇超声溶解 45 min，然后混匀作为工作母液；工作母液用甲醇水溶液按照 1:100 的比例稀释，作为工作液。每份滤纸干血片上用打孔器取 1 个直径约 3.2 mm 的血斑，置于 96 孔板中，再加入工作液 100 μL；将板密封后，40 ℃ 振荡孵育 45 min；取上清液 85 μL 转移至新的 96 孔板，再加入 100 μL 流动相，铝箔覆盖后上机检测。上述前处理步骤适用于 NSK 试剂，Neobase 试剂盒标本前处理方法参见试剂盒说明书。NSK 试剂工作母液及 Neobase 试剂盒中的内标均于 4 ℃ 保存。

1.3.2 质谱方法系数校正 对 NSK 试剂及 Neobase 试剂盒在同一台 Xevo TQD 串联质谱仪上建立数据采集的多反应监测方法文件。两种试剂均采用与 Neobase 试剂盒批次匹配的质控品(低、高水平)进行 5 次以上的重复检测，并将各分析物的检测结果与质控证书上的水平赋值进行比较。按照中国医师协会检验分会临床质谱检验专业委员会推荐的偏倚范围对方法系数进行校正，保证两种试剂的各项目检测值都在允许范围内^[13]。

1.3.3 参考切值的确立 考虑到采用两种试剂检测

时前处理反应原理、分析仪器及分析标本的一致性,且各项目检测值都溯源到 Neobase 试剂盒配套质控品,因此两种试剂均采用 Neobase 试剂盒说明书建议的各项目切值作为参考切值^[14]。

1.3.4 性能验证 在实验前对检测系统进行维护,确认各设备处于良好的运行状态,用同一批 NSK 试剂和 Neobase 试剂盒进行性能验证。(1)准确性验证:对国家临床检验中心 2020 年全国第 1 次新生儿 IMD 串联质谱筛查 AA 和 AC 室间质量评价标本进行检测,依据该质量评价计划的分组及评价方法^[15-16]对所得结果进行分析和对比。(2)精密度验证:检测低、中、高 3 个水平的质控品,计算 AA 各项目[丙氨酸(ALA)、精氨酸(ARG)、瓜氨酸(CIT)、甘氨酸(GLY)、亮氨酸(LEU)、蛋氨酸(MET)、鸟氨酸(ORN)、苯丙氨酸(PHE)、脯氨酸(PRO)、酪氨酸(TYR)、缬氨酸(VAL)]和 AC 各项目[游离肉碱(C0)、乙酰肉碱(C2)、丙酰肉碱(C3)、丁酰肉碱(C4)、羟基异戊酰肉碱(C5OH)、异戊酰肉碱(C5)、戊二酰肉碱(C5DC)、己酰肉碱(C6)、辛酰肉碱(C8)、癸酰肉碱(C10)、十二酰肉碱(C12)、十四酰肉碱(C14)、十六酰肉碱(C16)、十八酰肉碱(C18)]的批内精密度;在 3 个工作日内重复上述实验 3 次,计算 AA、AC 各项目的批间精密度。(3)稳定性验证:在 NSK 试剂及 Neobase 试剂盒启用第 1 天、第 15 天、第 28 天,分别对低、中、高 3 个水平质控品各打孔 3 个血斑进行检测,计算 AA、AC 各项目检测当天检测值的均值,并进行比较。(4)临床标本检测性能验证:将住院新生儿足底血标本 150 份及实验室保存的患儿足底血标

本 20 份分批在 NSK 试剂及 Neobase 试剂盒启用第 3 天、第 15 天和第 28 天进行检测;标本 IMD 筛查结果根据已确立的参考切值进行判断,比较所有标本经两种试剂检测后的结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 NSK 试剂和 Neobase 试剂盒的差异比较 NSK 试剂和 Neobase 试剂盒的主要差异见表 1。NSK 试剂中包含 12 种 AA 的同位素内标,而 Neobase 试剂盒中包含 11 种,两种试剂 10 种内标的 AA 种类相同。NSK 试剂特有的 AA 内标为氘代天冬氨酸(²H₃-ASP)和氘代谷氨酸(²H₃-GLU),Neobase 试剂盒特有的 AA 内标为碳十三代脯氨酸(¹³C₅-PRO)。对于 AC 类内标,NSK 试剂包含 8 种,而 Neobase 试剂盒包含 13 种,其相较 NSK 试剂增加了氘代戊二酰肉碱(²H₆-C5DC)、氘代己酰肉碱(²H₃-C6)、氘代癸酰肉碱(²H₃-C10)、氘代十二酰肉碱(²H₃-C12)、氘代十八酰肉碱(²H₃-C18)。虽然二者涉及的 AC 检测项目相同(都是 31 种),但是在 13 种中链和长链项目[戊二酰肉碱+羟基己酰肉碱(C5DC+C6OH)、C6、己二酰肉碱(C6DC)、C10、癸烯酰肉碱(C10:1)、癸二烯酰肉碱(C10:2)、C12、十二烯酰肉碱(C12:1)、C18、十八烯酰肉碱(C18:1)、羟基十八烯酰肉碱(C18:1OH)、十八碳二烯酰肉碱(C18:2)、羟基十八酰肉碱(C18OH)]的检测中使用的内标不同。另外,Neobase 试剂盒还包含检测琥珀酰丙酮(SA)的内标。

表 1 NSK 试剂和 Neobase 试剂盒的主要差异

项目	是否包含 SA 检测	AA 内标种类 (种)	AC 内标种类 (种)	室内质控品	萃取液及流动相	进样方式
NSK 试剂	否	12	8	第三方质控品	甲醇水溶液	流动相稀释后进样
Neobase 试剂盒	是	11	13	配套质控品	未公开	血片提取液直接进样

2.2 准确性验证结果 国家临床检验中心 2020 年全国第 1 次新生儿 IMD 串联质谱筛查 AA 和 AC 室间质量评价计划包括 8 种 AA 和 15 种 AC,共 23 项,每项有 5 个批号的质控标本。按照国家临床检验中心设定的分组原则、各项目靶值及评价方法,本研究 NSK 试剂检测的 23 个项目中,质控合格的(测定成绩 $\geq 80\%$)有 21 项,不合格的项目为 TYR(测定成绩为 60%)和 C10(测定成绩为 25%),测定成绩达 100% 的项目占 82.6%(19/23)。Neobase 试剂盒检测的 23 个项目全部合格,测定成绩达 100% 的项目占 78.3%(18/23)。

2.3 精密度验证结果 对于 AA 各项目,NSK 试剂检测的批内精密度为 0.22%~13.02%(均值为 5.82%),批间精密度为 6.83%~14.35%(均值为

10.19%);Neobase 试剂盒检测的批内精密度为 0.11%~8.63%(均值为 3.88%),批间精密度为 3.45%~7.29%(均值为 5.45%)。对于 AC 各项目,NSK 试剂检测的批内精密度为 0.84%~18.90%(均值为 8.33%),批间精密度为 8.37%~28.78%(均值为 15.17%);Neobase 试剂盒检测的批内精密度为 0.57%~12.88%(均值为 5.73%),批间精密度为 4.39%~18.49%(均值为 9.10%)。Neobase 试剂盒检测 C5OH、C5DC、C6 低水平标本和 C14 高水平标本的批内精密度 $> 10.00\%$,而检测其余项目低、中、高水平标本的批内和批间精密度均优于 NSK 试剂。NSK 试剂检测 AA 6 个项目(ALA、LEU、ORN、PHE、PRO、VAL)中水平标本的批内精密度存在较大偏差,而检测 AC 时有 7 个中、长链项目(C5OH、

C5、C5DC、C6、C10、C16、C18)多于两个水平的精密度存在较大偏差(批内精密度>10.00%,批间精密度>15.00%),精密度验证结果差于 Neobase 试剂盒。

2.4 稳定性验证结果 在 11 个 AA 项目中,启用第 15 天,两种试剂在中、高水平质控品检测中表现出良好的稳定性[启用第 1 天与第 15 天的检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)];而在低水平质控品检测中,两种试剂都有项目出现检测结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Neobase 试剂盒启用第 1 天和第 28 天,检测中水平 ALA、ARG、ORN、VAL,高水平 ALA 的结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$);NSK 试剂启用第 1 天和第 28 天,检测高水平 ALA、CIT、PRO、TYR 的结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。在 14 个 AC 项目中,启用第 15 天,两种试剂在中、高水平质控品检测中表现出良好的稳定性[启用第 1 天与第 15 天的检测结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)];而在低水平质控品检测中,两种试剂都有项目出现检测结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。Neobase 试剂盒启用第 1 天和第 28 天,检测中水平 C0、C2、C5OH、C5、C12、C14,高水平 C2、C5DC、C6、C14 的结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$);NSK 试剂启用第 1 天和第 28 天,检测高水平 C2、C5DC、C14 的结果比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 2 AA 各项目稳定性验证结果(P)

项目	试剂	低水平		中水平		高水平	
		1 vs. 15	1 vs. 28	1 vs. 15	1 vs. 28	1 vs. 15	1 vs. 28
ALA	NSK 试剂	0.99	<0.001	0.89	0.06	0.50	<0.001
	Neobase 试剂盒	0.05	0.04	1.00	0.01	0.79	0.01
ARG	NSK 试剂	0.84	0.98	0.94	0.68	0.67	0.27
	Neobase 试剂盒	0.02	<0.001	0.82	<0.001	0.74	0.83
CIT	NSK 试剂	0.48	0.56	0.99	0.42	0.10	0.02
	Neobase 试剂盒	0.08	0.74	0.39	0.15	0.87	0.60
GLY	NSK 试剂	0.14	0.09	0.72	0.23	0.34	0.05
	Neobase 试剂盒	0.92	0.90	0.88	0.15	0.55	0.99
LEU	NSK 试剂	0.02	0.16	0.66	0.96	0.58	0.62
	Neobase 试剂盒	0.02	0.37	0.98	0.09	0.49	0.92
MET	NSK 试剂	0.07	0.39	0.85	0.64	0.37	0.06
	Neobase 试剂盒	0.56	0.53	0.36	0.79	0.73	0.21
ORN	NSK 试剂	0.02	0.03	0.48	0.64	0.75	0.35
	Neobase 试剂盒	0.01	0.26	0.98	0.01	0.40	0.98
PHE	NSK 试剂	0.03	0.07	0.98	0.82	0.23	0.19
	Neobase 试剂盒	0.20	0.36	0.33	0.07	0.83	0.30
PRO	NSK 试剂	0.01	0.93	0.13	0.29	0.68	0.02
	Neobase 试剂盒	0.04	0.59	0.90	0.12	0.72	0.48
TYR	NSK 试剂	0.20	0.09	0.78	0.39	0.17	0.02
	Neobase 试剂盒	0.15	0.69	0.51	0.11	0.92	0.74
VAL	NSK 试剂	0.01	0.03	0.37	0.79	0.92	0.18
	Neobase 试剂盒	<0.001	0.08	0.58	0.04	0.33	0.49

注:1 vs. 15 为试剂启用第 1 天与第 15 天检测结果比较;1 vs. 28 为试剂启用第 1 天与第 28 天检测结果比较。

2.5 临床标本检测性能验证结果 针对筛查结果未知的 150 份住院新生儿足底血标本,NSK 试剂和

Neobase 试剂盒在启用第 3 天、第 15 天、第 28 天均对同一份标本检出 HPA 阳性,对其余 149 份标本检测结果为阴性。在 20 份实验室保存的患儿足底血标本中,针对已确证 IMD 阴性的 3 份标本,两种试剂在启用第 3 天、第 15 天、第 28 天均检测出阴性结果;针对已确证为 IMD 阳性的 17 份标本,两种试剂在启用第 3 天、第 15 天、第 28 天的检测结果与确证结果相符。

表 3 AC 各项目稳定性验证结果(P)

项目	试剂	低水平		中水平		高水平	
		1 vs. 15	1 vs. 28	1 vs. 15	1 vs. 28	1 vs. 15	1 vs. 28
C0	NSK 试剂	0.16	0.14	0.99	0.66	0.45	0.33
	Neobase 试剂盒	0.84	0.04	0.09	0.02	0.70	0.05
C2	NSK 试剂	0.01	0.03	0.37	0.30	0.07	0.01
	Neobase 试剂盒	0.37	0.31	0.18	0.01	0.33	0.01
C3	NSK 试剂	0.24	0.20	0.92	0.61	0.25	0.63
	Neobase 试剂盒	0.85	0.89	0.57	0.98	0.42	0.06
C4	NSK 试剂	0.16	0.61	0.92	0.72	0.95	0.69
	Neobase 试剂盒	0.82	0.10	0.67	0.06	0.99	0.33
C5OH	NSK 试剂	0.21	0.07	0.27	0.69	0.38	0.65
	Neobase 试剂盒	0.57	0.32	0.89	<0.001	0.14	0.69
C5	NSK 试剂	0.81	0.01	0.32	0.13	0.50	0.13
	Neobase 试剂盒	0.61	0.31	0.19	<0.001	0.13	0.11
C5DC	NSK 试剂	<0.001	0.01	0.06	0.06	0.67	0.02
	Neobase 试剂盒	0.49	0.90	0.25	1.00	0.93	0.01
C6	NSK 试剂	1.00	0.37	0.06	0.65	0.36	0.37
	Neobase 试剂盒	0.77	0.77	0.39	0.63	0.16	0.01
C8	NSK 试剂	0.04	0.21	0.73	0.69	0.76	0.33
	Neobase 试剂盒	0.10	0.39	0.15	0.22	0.57	0.08
C10	NSK 试剂	0.15	1.00	0.81	0.77	0.92	0.51
	Neobase 试剂盒	0.75	0.72	0.42	0.39	0.35	0.06
C12	NSK 试剂	0.02	0.37	0.59	0.41	0.87	0.19
	Neobase 试剂盒	0.29	<0.001	0.85	<0.001	0.58	0.19
C14	NSK 试剂	0.01	0.04	0.10	0.11	0.81	0.02
	Neobase 试剂盒	0.01	<0.001	0.20	<0.001	0.89	<0.001
C16	NSK 试剂	0.33	0.28	0.52	0.63	0.46	0.80
	Neobase 试剂盒	0.39	0.21	0.75	0.76	0.88	0.29
C18	NSK 试剂	0.32	0.47	0.29	0.41	0.77	0.14
	Neobase 试剂盒	0.85	1.00	0.42	0.85	0.90	0.30

注:1 vs. 15 为试剂启用第 1 天与第 15 天检测结果比较;1 vs. 28 为试剂启用第 1 天与第 28 天检测结果比较。

3 讨 论

本研究在同一串联质谱检测平台上,同时对用 NSK 试剂构建的筛查系统和配套的 Neobase 试剂盒筛查系统从准确性、精密度、稳定性和临床标本检测性能 4 个方面进行对比和评价,以期为临床应用提供参考。

本研究对 NSK 试剂和 Neobase 试剂盒的主要成

分进行分析发现,NSK 试剂特有的 AA 内标²H₃-ASP 和²H₃-GLU, 分别对应检测项目 ASP 和 GLU。ASP 是筛查 CTLN I 型的一级指标, GLU 是筛查 N-乙酰谷氨酸合成酶缺乏症的一级指标以及筛查 OTCD 和氨甲酰磷酸合成酶缺乏症的二级指标。Neobase 试剂盒特有的 AA 内标¹³C₅-PRO 对应检测项目 PRO, 是筛查高脯氨酸血症的一级指标; 其还可额外检测 SA, SA 是筛查酪氨酸血症 I 型的二级指标。因此, 对于 AA 代谢异常类 IMD 的筛查, 两种试剂在检测范围上各有所长。对于 AC 类项目, 相较于 NSK 试剂, Neobase 试剂盒增加了内标²H₆-C5DC、²H₃-C6、²H₃-C10、²H₃-C12、²H₃-C18, 因此, 在 13 种中、长链项目的检测上, Neobase 试剂盒使用的内标理化性质(碳链长度)更接近被检测物, 理论上具有更准确的定量检测结果。

本研究的准确性验证中, 检测 C10 时 Neobase 试剂盒达标而 NSK 试剂未达标, 可能与 Neobase 试剂盒使用²H₃-C10 内标而 NSK 试剂使用的是氘代十四酰肉碱(²H₃-C14)内标相关。而检测 TYR 时两种试剂所用内标相同, 都是碳十三代酪氨酸(¹³C₆-TYR), 但 NSK 试剂检测时未达标, 考虑与前处理操作方法有关, 使用 NSK 试剂时, 血片提取液经流动相稀释后再上样, 省去了 V 型底 96 孔板的使用; 而使用 Neobase 试剂盒则是将血片提取液移入 V 型底 96 孔板中直接进样。本研究中, NSK 试剂的前处理方法虽然节省了对 V 型底 96 孔板的使用, 但稀释血片提取液可造成内标及待测物水平降低、上样不均一, 从而导致检测准确度、精密度下降。在精密度验证中, 不同检测项目的精密度偏倚范围相差较大, 即使同一检测项目其低、中、高水平的检测偏倚程度也无规律可循, 与已有报道类似^[8,12], 推测与各检测项目所对应的同位素内标的稳定性各不相同有关。本研究发现, 在 AC 7 个中、长链项目的检测精密度上, Neobase 试剂盒的表现普遍优于 NSK 试剂, 这可能与前面提到的内标选择相关。在稳定性验证中, 启用第 1 天与第 15 天的检测结果比较显示, 两种试剂对各项目低水平质控品的检测稳定性低于中、高水平, 考虑可能与低水平质控品易降解及其检测易受基质干扰有关。两种试剂在启用第 15 天时, 对各项目中、高水平质控品的检测均表现出良好的稳定性, 而在启用第 28 天时有部分项目出现检测稳定性不佳的情况, 特别是 ALA、C2、C5DC、C14, 考虑与上述项目所对应内标降解的快慢程度相关。后续研究为提高 NSK 试剂筛查的准确性和精密度, 可考虑增加其内标种类, 并采取血片提取液直接上样的方式。在临床标本检测性能验证中, 针对筛查结果未知的 150 例新生儿足底血标本及已确证筛查结果的 20 份患儿足底血标本, 两种试剂所得筛查结果完全一致, 且与已确证结果相符, 证明本实验室构建的 NSK 试剂筛查系统具有与 Neobase 试

剂盒筛查系统一致的临床标本检测性能。

本研究首次对利用 NSK 试剂构建的非衍生化串联质谱法 IMD 筛查系统进行临床性能验证和评价。对比配套的 Neobase 试剂盒, NSK 试剂虽在检测准确性、精密度上稍有不足, 但在稳定性上与 Neobase 试剂盒表现类似, 且二者在临床应用中检测结果一致。在改进非衍生化串联质谱法 IMD 筛查系统的检测质量上, 本研究结果提示: (1) 选取稳定性更高、理化性质更接近被测物(目标检测物的同位素)的内标可提高检测精密度和准确性; (2) 通过增加内标种类来增加检测项目, 从而增加系统的筛查病种, 提高疾病检出率; (3) 前处理后上机的血片提取液应控制合适的体积范围, 避免因内标或被测物过度稀释导致检测精密度、准确性下降。

参考文献

- CARLOS R F, KARNEBEEK C D. Inborn errors of metabolism[J]. Handb Clin Neurol, 2019, 162: 449-481.
- FERREIRA C R, HOFFMANN G F, BLAU N. Clinical and biochemical footprints of inherited metabolic diseases. I. Movement disorders[J]. Mol Genet Metab, 2019, 127(1): 28-30.
- SAUDUBRAY J-M, GARCIA-CAZORLA A. Inborn errors of metabolism overview: pathophysiology, manifestations, evaluation, and management[J]. Pediatr Clin North Am, 2018, 65(2): 179-208.
- WRIGHT S J, JONES C, PAYNE K, et al. The role of information provision in economic evaluations of newborn bloodspot screening: a systematic review[J]. Appl Health Econ Health Policy, 2015, 13(6): 615-626.
- WILCKEN B, WILEY V. Fifty years of newborn screening[J]. J Paediatr Child Health, 2015, 51(1): 103-107.
- OMBRONE D, GIOCALIERE E, FORNI G, et al. Expanded newborn screening by mass spectrometry: new tests, future perspectives[J]. Mass Spectrom Rev, 2016, 35(1): 71-84.
- MORDAUNT D, COX D, FULLER M. Metabolomics to improve the diagnostic efficiency of inborn errors of metabolism[J]. Inter J Mol Sci, 2020, 21(4): 1195-1202.
- 田明新, 张道杰, 崔小昭, 等. 氨基酸及肉碱非衍生化串联质谱法检测系统的性能验证[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(21): 3021-3023.
- 田国力, 王燕敏, 许洪平, 等. 非衍生化串联质谱技术筛查上海部分地区新生儿遗传代谢病的回顾性分析[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(12): 909-912.
- 张道杰, 田明新, 王小慧, 等. 氨基酸及肉碱非衍生化串联质谱法检测程序的测量不确定度评估[J]. 国际检验医学杂志, 2016, 37(17): 2423-2425.
- DE JESSUS V R, CHACE D H, LIM T H, et al. Comparison of amino acids and acylcarnitines assay methods used in newborn screening assays by tandem mass spectrometry[J]. Clin Chim Acta, 2010, 411(9/10): 684-689.
- ZHENG Y, CHEN Y, QIU X, et al. (下转第 1422 页)

2016年相比,2018年导尿管使用率明显上升,但CAUTI发生率明显下降,出现该结果可能与本院2018年以来采取了有效的医院感染控制措施有关,说明有创性操作所导致的医院感染是可防可控的,继续加强医院感染防控,就能有效减少医院感染的发生。

综合ICU是医院危重患者相对集中的区域,定期进行目标性监测,及时通报医院感染情况,有助于医务人员准确了解医院感染的动态变化。本研究通过对本院综合ICU进行连续4年的目标性监测,及时了解到引起医院感染的高危因素,同时发现对VAP的管理和干预是降低医院感染的重点,提示目标性监测是降低医院感染发生的科学方法,根据监测结果进行有效干预可提高重症患者的救治成功率,降低病死率,从整体上提高医院的综合效益。

参考文献

- [1] 任继欣,吴连杰,冯燕.某二甲中医院2018年重症监护室临床分离病原菌的分布特点及耐药性分析[J].检验医学与临床,2019,16(15):2220-2224.
- [2] 王蓉芬,莫明露,陶媛,等.2016—2018年某院ICU医院感染目标性监测及干预[J].医学信息,2019,32(23):96-99.
- [3] 刘卫平,乔一峰,许彬彬,等.内蒙古自治区医院感染目标性监测资料分析[J].中华医院感染学杂志,2017,27(8):1871-1874.
- [4] 中华人民共和国卫生部.医院感染监测规范:WS/T 312-2009[S].北京:中国标准出版社,2009.
- [5] 许琴芬,张敏燕,仇桑桑,等.我院重症监护病房医院感染目标性监测分析[J].中国医药导报,2016,13(33):72-75.
- [6] 杨彩丽,黄辉萍.综合ICU近三年医院感染现状调查分析[J].中国卫生标准管理,2019,10(21):132-134.
- [7] 姬海燕,王红霞,窦学梅.综合医院重症监护病房医院感染目标性监测分析[J].天津护理,2020,28(2):205-207.
- [8] 江冬萍,顾成武,李艳霞,等.某三级综合医院综合重症监护病房医院感染目标性监测分析[J].华西医学,2017,32(3):881-884.
- [9] 许川,熊薇,赖晓全,等.湖北省47所医院连续4年ICU医院感染目标性监测分析[J].中华医院感染学杂志,2019,29(21):3334-3338.
- [10] 许川,梁艳芳,谭莉,等.湖北省25所医院ICU医院感染目标性监测结果分析[J].现代预防医学,2019,46(8):1503-1506.
- [11] 李六亿,李洪山,郭燕红,等.加强医院感染防控能力建设,提升医院感染管理水平[J].中国感染控制杂志,2015,14(8):507-512.
- [12] 樊雯婧,杨丽华,欧万秋,等.2018年某教学医院ICU医院感染目标性监测研究报告[J].辽宁医学杂志,2019,33(5):1-5.
- [13] 李茵,王箭,骆融融,等.某三甲医院重症监护病房医院感染目标性监测分析[J].中国卫生工程学,2018,17(5):702-703.
- [14] 张莉,周芳,茅一萍,等.23所医院综合ICU目标性监测分析[J].中华医院感染学杂志,2017,27(8):1875-1878.
- [15] 张倩茹,李甲,孙向东,等.综合重症监护病房病人医院感染的目标性监测分析[J].蚌埠医学院学报,2017,42(3):399-401.
- [16] 刘程琳,袁艳玲,翁晓芳,等.2015—2017年上海市某区综合ICU器械相关感染现状分析[J].中华医院感染学杂志,2018,28(18):2778-2782.
- [17] ROSENTHAL V D, BAT-ERDENE I, GUPTA D, et al. International nosocomial infection control consortium (INICC) report, data summary of 45 countries for 2012—2017: device-associated module[J]. Am J Infect Control, 2020, 48(4):423-432.
- [18] 周宏,姜亦虹,李阳,等.176所医院连续6年ICU医院感染目标性监测分析[J].中国感染控制杂志,2017,16(9):810-815.
- [19] GANDRA S, ELLISON R T. Modern trends in infection control practices in intensive care units[J]. J Intensive Care Med, 2014, 29(6):311-326.

(收稿日期:2020-12-16 修回日期:2021-02-07)

(上接第1418页)

- A verification of the application of the non-derivatized mass spectrometry method in newborns screening of metabolic disorders[J]. Medicine, 2019, 98(19):e15500.
- [13] 马志军,韩连书,李水军,等. MS/MS技术在新生儿氨基酸、有机酸及脂肪酸氧化代谢障碍性疾病筛查中的应用共识[J].检验医学,2019,34(6):479-485.
- [14] 韩连书,田国力,王维鹏.新生儿遗传代谢病筛查指标切值建立方法专家共识[J].中国实用儿科杂志,2019,34(11):881-884.

- [15] 中华人民共和国国家卫生健康委员会临床检验中心.2020年全国第1次新生儿遗传代谢病串联质谱筛查-氨基酸和酰基肉碱(血斑)室间质量评价结果报告[R].北京:中华人民共和国国家卫生健康委员会临床检验中心,2020.
- [16] 何法霖,高振翔,王薇,等.串联质谱检测氨基酸和酰基肉碱的室间质量评价[J].中国医药导报,2014,11(20):24-27.

(收稿日期:2020-11-19 修回日期:2021-02-11)