

• 论 著 •

## 2020 年血清中总胆红素测定比对试验结果分析

于婷<sup>1</sup>, 张娟丽<sup>2</sup>, 孙晶<sup>1</sup>, 曲守方<sup>1△</sup>, 黄杰<sup>1</sup>

1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 2. 河南省医疗器械检验所, 河南郑州 450003

**摘要:**目的 评价参与比对试验的实验室血清中总胆红素的测定能力。方法 以总胆红素参考方法测定值为指定值, 对各实验室提交的比对试验结果进行分析及检测能力评价。要求比对样本测定值应在  $(27.10 \pm 2.71) \mu\text{mol/L}$  范围内, 全部样本测定值的变异系数均不应大于 5.00%。结果 39 家实验室(共 40 家)按要求提交了有效数据, 其中有 8 家结果不满足要求, 结果满意率为 77.25%。结论 该次比对试验为进一步加强对检测机构、相关企业的监督管理、规范检测市场提供了依据, 少数参加实验室总胆红素检测能力存在一定问题, 应积极寻找产生不满意的原因, 以提高自身检测工作质量和水平。

关键词: 比对试验; 总胆红素; 指定值

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.20.020

中图法分类号: R446.1

文章编号: 1673-4130(2021)20-2523-04

文献标志码: A

## Comparative test of determination for total bilirubin in serum in 2020

YU Ting<sup>1</sup>, ZHANG Juanli<sup>2</sup>, SUN Jing<sup>1</sup>, QU Shoufang<sup>1△</sup>, HUANG Jie<sup>1</sup>

1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China;

2. Henan Province Medical Instrument Testing Institute, Zhengzhou, Henan 450003, China

**Abstract: Objective** To evaluate the capacity of laboratories participated in the comparative test of determination for total bilirubin in human serum. **Methods** Setting the value assigned by reference method to the specified value, we can analyze and evaluate the detection ability of participating laboratories submitted the comparative test results. By taking the measured value of total bilirubin reference method as the specified value, the comparison test results submitted by each laboratory was analyzed and the detection ability was evaluated. It was required that the measured value of the comparative test sample should be within assigned value range  $(27.10 \pm 2.71) \mu\text{mol/L}$ , and coefficient of variation of all samples should not be greater than 5.00%. **Results** A total of 39 laboratories (40 in total) participated in the comparative test submitted valid data according to the requirements. The results of 8 laboratories did not meet the requirements, and the satisfaction rate was 77.25%. **Conclusion** This comparative test provides a basis for further strengthening the supervision and management of testing institutions and related enterprises, and standardizing the testing market. There are some problems in the total bilirubin testing ability of a few participating laboratories. They should actively find the reasons for dissatisfaction, so as to improve the quality and level of own testing work.

Key words: comparative test; total bilirubin; assigned value

血清总胆红素(TBIL)是人体衰老红细胞遭到破坏后产生血红蛋白进而衍化生成, 是诊断新生儿高胆红素血症<sup>[1-3]</sup>及肝胆疾病等的重要指标<sup>[4-6]</sup>。测定方法包括参考方法(Doumas 法)<sup>[7]</sup>及常规方法如重氮法、化学氧化法/钒酸盐氧化法和氧化酶法<sup>[8-10]</sup>等。YY/T 1205-2013 总胆红素测定试剂盒(钒酸盐氧化法)<sup>[11]</sup>行业标准也已发布多年。基于注册检验、监督抽检等任务基础, 国内大部分医疗器械检验机构开展了总胆红素检测项目。为考察检测机构总胆红素的检测能力, 保证结果的准确性和公正性, 同时促进实

实验室间的技术交流, 2020 年中国食品药品检定研究院(下称本院)在全国范围内组织开展 TBIL 测定比对试验。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 本次试验于 2020 年 11—12 月发放 3 份比对试验用样本, 其中 1 份为比对样本, 2 份为干扰样本。收集外观透明、澄清, 无明显黄疸、溶血和脂血的血清, 且传染病 4 项(乙肝病毒表面抗原、丙肝病毒抗体、人类免疫缺陷病毒抗体和梅毒螺旋体抗体)均为阴性。对收集到符合要求的血清样本依次进行普通

作者简介: 于婷, 女, 研究员, 主要从事医疗器械质量控制与评价、标准化研究以及标准物质研制方面的研究。△ 通信作者, E-mail: qushoufang@126.com。

本文引用格式: 于婷, 张娟丽, 孙晶, 等. 2020 年血清中总胆红素测定比对试验结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(20): 2523-2526.

滤纸初滤, 0.45 μm、0.22 μm 滤膜过滤。过滤好的血清按照 0.5 mL 分装, -70 °C 或以下条件下保存。

### 1.2 方法

**1.2.1 比对样本的定值** 联合定值的实验室, 近两年内 TBIL 比对或国内参考实验室之间的比对结果, 均达到国际或国内参考实验室及格标准, 且实验室数量不少于 3 家。定值方法均采用国际检验医学溯源联合委员会推荐的 TBIL 参考测量方法 (Dumas 法)。分 3 次进行。每次分别测定有证标准物质-质控品-样本。每个样本每次至少测定 5 个数据。3 次共收集至少 15 个数据。按照以下标准判定数据是否有效: (1) 样本测定结果应在  $(\bar{x} \pm 2s)$  范围内, 且室内变异  $CV\% < 2.0\%$ ; (2) 质控品测定结果应在 (靶值  $\pm 3.0\%$ ) 范围内, 且室内变异  $CV\% < 2.0\%$ 。其中 (1) 中的  $\bar{x}$  和  $s$  分别是指全部实验室所有结果的  $\bar{x}$  和  $s$ 。不满足要求的数据为无效数据, 直接剔除, 取各实验室有效数据的均值, 合并计算总均值, 作为该样本的最终靶值。

**1.2.2 比对样本的均匀性和稳定性分析** 采用参考方法按照 CNAS-GL003:2018《能力验证样品均匀性和稳定性评价指南》<sup>[12]</sup> 进行均匀性、稳定性评价。在样本分装的前期、中期和末期分别抽取 15 支、20 支和 15 支, 采用全自动生化分析仪对抽取样本进行测定, 每份样本测定 3 次。利用单因素方差法进行分析, 当  $F$  值小于自由度为  $(f_1, f_2)$  及显著性水平  $(\alpha=0.05)$  所对应的临界值  $F_{\alpha(f_1, f_2)}$ , 表明样本之间差异无统计学意义。

在第 1、2、3、5、7、12、20、30 天这 8 个时间点上均随机取出 6 支样本, 分别置于 20~25 °C、2~8 °C、-20 °C 条件下各 2 支。在第 31 天将所有样本取出统一测定。所有取样时间保持一致。采用全自动生化分析仪对样本进行测定。每个样本测定 3 次, 取均值。以时间为横坐标, 测定值为纵坐标作图, 进行线性拟合回归分析, 评价样本测定值的趋势性变化, 并计算斜率  $k$ 、截距  $b$  和斜率  $k$  的标准差  $s_k$ 。在自由度为  $n-2$ , 置信水平  $P=0.95$  (95% 的显著水平) 条件下, 查  $t$ -分布临界值表, 得到对应的  $t_{(0.95, n-2)}$  值, 计算  $t_{(0.95, n-2)} \cdot s_k$  的值, 比较  $|k|$  与  $t_{(0.95, n-2)} \cdot s_k$  的值, 如果  $|k| < t_{(0.95, n-2)} \cdot s_k$ , 则斜率不显著, 表明候选品稳定, 反之不稳定。可采取减少时间点重新分析, 以得到候选品在不同条件下的稳定期限。由于胆红素易见光分解, 又对在室温 20~25 °C 下 24 h 内多个时间点的避光稳定性进行了研究。

**1.3 比对试验要求** 本次比对试验, 要求已有 TBIL 检测能力认可资质的医疗器械检测机构必须参加, 其他实验室自愿报名参加。参加实验室应合理选择具有注册证的 TBIL 测定试剂盒及检测仪器, 按照作业指导书进行检测并报告结果, 要求每份样本应重复测定不少于 5 次, 计算测定均值 (保留 2 位小数) 及变异

系数 (保留 1 位小数)。作业指导书中要求: 实验前取出的样本应避光恢复至室温 20~25 °C, 充分混合后检测, 且务必在 4 h 内使用, 整个操作过程中亦应注意避光。

**1.4 试验结果判定原则** 根据定值结果及参考 YY/T 1205-2013 TBIL 测定试剂盒 (钒酸盐氧化法) 中“3.7.1 批内精密度”项“批内精密度应不大于 5.0%”的要求, 确定 2 条判定的基本原则: (1) 比对样本测定值应在  $(27.10 \pm 2.71) \mu\text{mol/L}$  范围内; (2) 3 份样本检测结果的批内精密度应不大于 5.0%。参加实验室的检测结果必须同时满足: 比对样本应满足 (1) 和 (2) 判定原则, 且干扰样本满足判定原则 (2), 方可判定为满意, 否则即判定为不满意。

## 2 结果

**2.1 比对样本均匀性、稳定性及定值结果** 采用单因素方差分析方法对数据进行分析, 比对样本  $F$  值为 1.234 1, 小于  $F_{0.05(1.355, 2)}$ , 说明均匀性良好。结果见表 1。

表 1 比对样本均匀性检验结果

差异源	平方和	自由度	均方	$F$	$F_{0.05}$ 临界值
组间	5.232 6	49	0.106 8	1.23	1.48
组内	8.653 3	100	0.086 5	—	—

注: — 表示无数据。

对比对样本进行 3 种温度条件下的 30 d 短期稳定性评价, 由表 2 结果可知, 样本在 3 种温度条件下放置 30 d 均不稳定, 减少时间点重新进行统计学分析, 结果表明, 在 20~25 °C 条件下, 只在当天稳定; 在 2~8 °C 条件下, 可稳定 2 d; -20 °C 条件下, 可以稳定 5 d。同时对室温 20~25 °C 24 h 内的避光稳定性进行了研究, 结果显示 20~25 °C 4 h 内稳定。见表 2、3。

表 2 比对样本稳定性检测结果 ( $\mu\text{mol/L}$ )

天数 (d)	20~25 °C	2~8 °C	-20 °C
0	28.9	29.6	29.7
1	25.4	28.6	29.9
2	21.7	28.0	30.0
3	18.6	27.6	29.8
4	16.0	27.0	29.4
7	15.2	25.2	29.3
12	14.5	23.0	28.9
20	13.2	20.9	28.0
30	14.1	17.1	27.9

3 家实验室联合定值, 得到 4 组独立数据, 分别为 (26.93、27.14、27.33、26.99  $\mu\text{mol/L}$ ), 比对样本定值结果的实验室内变异系数不高于 0.6%, 表明各实验室建立的参考方法重复性好, 数据可靠。最终以联合定值的均值, 作为比对样本靶值, 结果为 27.10  $\mu\text{mol/L}$ 。

**2.2 比对试验结果** 本次共有 40 家实验室报名参加本次比对试验,来自全国 23 个省(自治区)、直辖市,包括各地医疗器械检验所/食品药品检验机构和大学/企业实验室。其中检验机构 30 家,大学/企业实验室 10 家。最终,共有 39 家按要求提交了结果报告。根据评价原则,34 家实验室的比对样本血清 TBIL 测定值满足要求,35 家实验室 3 份样本测定结果的 CV 满足要求,最终获得结果满意的实验室为 31 家,满意率为 77.25%,结果不满意的实验室为 9 家(含未上报数据的实验室),不满意率为 22.75%。见表 4。

**表 3 比对样本稳定性分析结果**

保存条件	k	$t_{(0.95, n-2)} \cdot s_k$	结果判定
2~8 ℃ 3 d	0.661 7	0.466 0	不稳定
2~8 ℃ 2 d	0.800 0	2.078 5	稳定
-20 ℃ 7 d	0.084 8	0.078 5	不稳定
-20 ℃ 5 d	0.072 3	0.154 4	稳定
20~25 ℃ 5 h	0.180 0	0.193 4	不稳定
20~25 ℃ 4 h	0.211 4	0.121 4	稳定

**表 4 2020 年血清中 TBIL 测定比对试验数据汇总表**

实验室代码	样本 1		样本 2		样本 3	
	$\bar{x}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	CV (%)	$\bar{x}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	CV (%)	$\bar{x}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	CV (%)
277	7.44	0.8	25.33	0.4	9.84	0.5
116	7.08	2.5	27.1	0.6	9.78	0.8
910*	10.05	5.4	31.56	0.3	12.69	0.9
568	7.76	4.0	29.79	3.0	10.90	2.6
411	7.65	1.8	26.06	0.6	10.07	1.2
072*	—	—	—	—	—	—
992	7.42	1.2	29.22	0.5	10.33	0.8
820	6.93	3.9	9.62	2.1	25.28	1.5
191*	7.60	6.2	9.96	1.2	25.41	0.8
505	7.30	1.4	10.52	0.4	28.48	0.2
838	8.06	4.7	11.06	1.9	29.51	0.6
464	6.87	2.3	9.97	1.0	26.85	0.6
762	7.71	0.8	10.25	1.0	26.26	0.5
160*	7.28	7.5	9.54	2.2	24.88	2.9
699*	26.35	0.3	7.17	5.1	9.57	1.9
770	26.07	0.4	7.07	0.8	10.14	0.7
170	26.32	0.4	6.88	1.3	9.73	0.5
466	27.89	1.0	6.71	1.5	9.30	3.0
437	27.37	0.7	7.29	2.0	10.20	1.9
627	28.38	0.3	8.67	4.6	11.75	0.4
686*	31.66	1.0	9.94	1.8	12.00	0.8
909	28.24	0.6	10.3	1.2	6.91	3.0
371	29.53	0.1	10.60	0.4	8.01	1.1
373	25.88	1.0	9.76	1.2	7.20	3.4

**续表 4 2020 年血清中 TBIL 测定比对试验数据汇总表**

实验室代码	样本 1		样本 2		样本 3	
	$\bar{x}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	CV (%)	$\bar{x}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	CV (%)	$\bar{x}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	CV (%)
979	26.71	0.5	9.47	0.7	6.53	1.4
734	24.40	1.6	10.18	1.3	6.66	2.9
613	24.69	0.2	9.45	0.8	7.24	2.6
729*	30.20	0.5	10.66	1.3	6.98	3.1
859*	11.74	1.1	8.95	4.7	31.14	0.8
021	10.02	1.9	7.65	2.0	27.50	0.7
307	9.41	1.4	25.33	0.6	6.67	2.8
421*	9.48	0.8	6.63	1.8	23.45	1.1
484	9.89	3.3	7.36	4.1	25.33	1.2
005	10.56	1.6	8.08	1.8	28.04	0.9
399	14.26	1.1	11.19	1.3	29.68	0.5
922	9.28	0.9	6.50	2.4	25.44	0.5
296	11.26	0.5	26.58	0.5	8.40	1.7
375	11.06	0.9	27.34	1.1	8.26	0.5
460	10.97	1.8	27.48	0.4	7.76	2.6
416	9.97	0.8	25.77	1.0	7.08	1.2

注: \* 为结果不满意的实验室, — 表示无数据。

### 3 讨 论

本次比对试验选择的是 TBIL 项目,由于胆红素并不稳定,容易见光分解,因此本院对其稳定性进行了较为充分的研究。除了通过 30 d 的短期稳定性了解其在 3 种不同温度下的稳定时间外,还开展了长期稳定性(-70 ℃ 或以下)的定期监测,以及在分发样本前,再次进行了 -20 ℃ 5 d 的监测,结果均满意。在样本正式发放时,选择专业冷链公司采用干冰运输,并对整个运输过程中的温度进行监控,以及确保 5 d 内到达参加实验室,实际 2~3 d 即可到达。本院在作业指导书中亦明确告知参加实验室,收到样本确认完好且温度至少在 -20 ℃ 以下后,应尽快置于 -70 ℃ 或以下保存,开封后应注意避光,并在 4 h 内完成检测。以上措施均保证了本次比对试验不会因样本的问题影响各参加实验室的结果,达到真正评价的是参加实验室的检测能力。

对于本次产生不满意的結果,分析主要可能有以下方面:(1)不严格按照说明书要求进行试验。有两类情况比较突出,一是说明书要求使用配套的校准品或者推荐采用某厂家校准品,实际采用了其他厂家的校准品;二是说明书中给出了试剂及样本的加样量,部分说明书提到试剂和样本用量可根据不同仪器要求按比例改变。然而,部分参加实验室未按照要求加样,或者不按比例减少加样量。比如“样本/R1/R2”的加样量,要求 8  $\mu\text{L}$ /240  $\mu\text{L}$ /60  $\mu\text{L}$ ,实际为 8  $\mu\text{L}$ /200  $\mu\text{L}$ /50  $\mu\text{L}$ ,虽试剂加样量是等比例减少,但样本量并未等比例减少。实验室必须清楚意识到,说明书是厂家通过多次研究确定的操作程序,应严格按照要求进行操作,不应随意调整,如要改变,必须作性能确

认,否则可能存在一定风险;(2)对于试验结果不敏感。本次有 4 家实验室,均出现低值样本检测结果 CV 值超出 5.00%,其中一家达到 7.50%,5 次测值结果在 6.6~8.1  $\mu\text{mol/L}$  内,最小值和最大值之间的偏差为 22.70%。这种结果并不正常。目前全自动生化分析仪无论是国产还是进口,重复性性能理想,一般不会发生这种情况。当波动很大时,仪器检测过程中可能处于一种并不稳定的状态,因此必须要有一定的敏感性,及时发现存在的问题,并尽量找到原因;(3)未能合理选择试剂盒。有 4 家实验室采用了同一家进口试剂盒,3 家比对样本的结果不满意,测值均偏高,1 家虽判为满意,但也是接近靶值的上限,这些数据表明,该试剂盒的准确度可能存在一定的问题。

稳定可靠的检测能力是产品质量检验的基础和前提,而比对试验的结果是检验检测系统质量保证能力和检验水平的客观体现,通过获得满意结果,体现了其检验检测结果的可靠性。如何在比对试验中获得满意的结果,参加实验室尤其是检测机构,要转换思路,应从试剂盒的性能评价转到如何选择合适的比对试剂上来,从考官的位置转到考生的位置上来。笔者认为有以下几点值得借鉴:(1)必须建立检测系统是一个整体的概念。完整的检测系统包括检测仪器、配套试剂与校准品、操作程序的固定组合,而不是各部分的性能,所以应严格按照说明书要求,选择检验适用仪器、配套试剂与校准品等,不能随意更换某一组分,才能确保检测结果符合厂家的性能指标,如有更改,必须进行性能确认。目前,我国生化试剂盒依然存在与进口校准品配合使用的现象,尤其是一些小企业。这种将自己的产品定值准确性完全依赖进口校准品,如若出现问题,无法从源头上分析原因,风险较大;(2)无论选择进口或国产试剂,在开展正式实验前,应在操作过程无误以及确认仪器状态良好的情况下,采用 TBIL 国家或国际标准品进行准确度的确认<sup>[13-14]</sup>,如果所选试剂盒测值结果超过所允许的偏差,那么应该选择其他合适的试剂盒,而不能凭经验认为进口试剂质量一定优于国产试剂。本次实验结果也证明了这一点;(3)试验过程中应细致严谨,当发现结果的不稳定状态时,应及时探寻原因,可从仪器及人员方面进行探查,包括:参数设置和光源是否正确;比色杯和吸样针是否洁净;实验用水是否被污染;反应温度是否正常;仪器是否定期校准;外部环境是否没有干扰;实验人员操作是否熟练等。如不能找到原因,也应更换仪器进行复测,并在复测前,采用其他样本进行预实验,确保仪器处于稳定的状态。

本次比对试验总体满意率为 77.25%,结果较满意。参加比对试验的实验室主要为试剂盒质量评价的检验检测机构,这些实验室在试剂盒的注册检验、上市后监督抽验等方面发挥重要技术支撑作用。9 家

不满意实验室中,除 2 家为某评价中心外,有 5 家为省或直辖市的检测机构和 2 家试剂生产企业,提示这些机构今后要特别注意加强检验检测能力的提升,也进一步说明了参加比对试验是实验室检测结果质量保证的重要手段,有助于实验室评价和证明其检测数据的可靠性,及时发现和纠正自身存在的问题。各实验室应积极参加比对试验,提升技术能力和实验室管理水平。本次比对试验为进一步加强对检测机构、相关企业的监督管理、规范检测市场提供了依据。

## 参考文献

- [1] 褚秀清. 联合检测溶血三项和血清中总胆红素水平对由 ABO-新生儿溶血病引起高胆红素血症的早期诊断价值[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(4): 677-679.
- [2] 路珊珊. 总胆汁酸及胆红素检测在诊断新生儿黄疸中的应用价值[J]. 当代医药论丛, 2020, 18(19): 110-111.
- [3] 王志红. 新生儿病理性黄疸血清总胆红素水平与心肌损伤的关系[J]. 河南医学研究, 2020, 29(27): 5076-5078.
- [4] 汪晓曼, 朱怡恬, 赵仕成, 等. 联合检测血清总胆红素和直接胆红素等指标对妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇的早期诊断和预后研究[J]. 东南国防医药, 2020, 22(5): 492-496.
- [5] 程序, 周英发, 贾萌萌, 等. 血清前白蛋白总胆红素比值在肝脏 TACE 术患者预后评估中的应用价值[J]. 中国现代医药杂志, 2020, 22(5): 10-14.
- [6] 王志刚, 邓建军, 岳奇俊, 等. T 型管窦道胆道镜联合钦激光治疗肝内外胆管残余结石的疗效及对患者胆红素总胆汁酸和碱性磷酸酶水平的影响[J]. 河北医学, 2020, 26(5): 771-775.
- [7] 尚才兵, 黄美芳, 刘峰, 等. Doumas 参考方法对总胆红素常规检测系统的正确度评价[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(18): 2654-2657.
- [8] 吴素萍. 重氮法与钒酸盐氧化法检测总胆红素差异性分析[J]. 中国保健营养, 2019, 29(16): 316.
- [9] 罗婵. 总胆红素应用重氮法和钒酸盐氧化法测定的对比[J]. 医药前沿, 2016, 6(35): 360-361.
- [10] 戴波, 杨小彤, 韦忠毅. CLSI 方案评价亚硝酸钠氧化法和钒酸盐氧化法测血清总胆红素[J]. 科技视界, 2015, 5(7): 242.
- [11] 孙楠, 刘艳, 王玉梅, 等. YY/T 1205-2013 总胆红素测定试剂盒(钒酸盐氧化法)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [12] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS-GL003:2018 能力验证样品均匀性和稳定性评价指南[S]. 北京: 中国合格评定国家认可委员会, 2018.
- [13] 刘春龙, 邵燕, 胡滨, 等. 血清总胆红素厂家校准品不同示值来源对互换性评价结果的影响[J]. 临床检验杂志, 2016, 34(11): 820-822.
- [14] 邵燕, 刘淑明, 孙慧颖, 等. 血清总胆红素测量原理与测量结果正确度的相关性研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(9): 1052-1055.