

广西地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症检测实验室室间质量评价分析*

唐娟, 周向阳[△], 刘晓春, 何毅, 周微雅(广西壮族自治区人民医院广西临床检验中心, 南宁 530021)

【摘要】目的 分析评价广西地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症的实验室检测情况,以提高 G6PD 检测质量。**方法** 2015 年 3 月和 10 月向广西地区 197 家开展 G6PD 检测的实验室发放两批冻干品和新鲜血质控品,分别用于定量与定性试剂检测。所有数据通过 Clinet EQA 网络回报,并按照规定格式上报定量结果,根据各实验室建立的参考范围上报定性结果及方法学、试剂、仪器等相关信息。按照试剂分组,采用 Clinet EQA 程序、Microsoft Excel 2007 软件对各参评实验室检测结果进行统计分析。**结果** 目前该地区 G6PD 定量试剂盒检测内容、检测单位及同种方法学的参考范围不一致。定量试剂检测 G6PD 缺乏质控品及正常质控品符合率均为 100.0%,定性试剂检测缺乏质控品平均符合率为 77.1%。各定量试剂组检测缺乏质控品变异系数(CV)较大,平均 CV 为 17.06%,检测正常质控品 CV 较小,平均 CV 为 10.10%。第 2 次室间质量评价各试剂组平均 CV(10.81%)均低于第 1 次(14.89%)。**结论** 通过参加广西地区 G6PD 室间质量评价计划,能帮助实验室减少误差、改进质量,更好地为 G6PD 缺乏症高发区的临床诊断服务。

【关键词】 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶; 室间质量评价; 变异系数

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.10.009 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)10-1322-03

Analysis of external quality assessment for glucose-6-phosphate dehydrogenase testing in Guangxi region* TANG Juan, ZHOU Xiang-yang[△], LIU Xiao-chun, HE Yi, ZHOU Wei-ya (Guangxi Clinical Laboratory Center, Guangxi Zhuang Autonomous Region People's Hospital, Nanning, Guangxi 530021, China)

【Abstract】Objective To analyze and evaluate the laboratory detection situation of glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PD) deficiency in Guangxi region for improving the quality of G6PD detection. **Methods** Two batches of lyophilized control materials and fresh blood control materials were issued to 197 laboratories carrying out G6PD testing in Guangxi region in March 2015 and October 2015, which were respectively used in the quantitative and qualitative reagent detection. All data were submitted through the Clinet EQA internet procedure and reported their quantitative detection results, qualitative results according to the reference range established by each laboratory and information of methodology, reagent, instrument, etc. The grouping was performed according to different reagents and the detection results of each laboratory were statistically analyzed by adopting the Clinet EQA program and Microsoft Excel 2007 software. **Results** Currently, the detection contents of G6PD quantification reagent kits, detection unit and reference range of the same methodology were inconsistent. The quantitative reagent detection lacked the control materials, the coincidence rate of normal control materials was 100.0%. The qualitative reagent detection lacked the control materials and the average coincidence rate was 77.1%. The detection of each quantitative reagent detection group lacked the control materials and the coefficient of variation(CV) was larger, average CV was 17.06%, and which for detecting normal control materials was small, the average CV was 10.10%. In the second external quality assessment(EQA), average CV in each reagent group was 10.81%, which was lower than 14.89% at the first time. **Conclusion** Participating in G6PD EQA program of Guangxi region can conduce to laboratories to reduce errors and improve the quality for better serving the clinical diagnosis in G6PD deficiency high incidence area.

【Key words】 glucose-6-phosphate dehydrogenase; external quality assessment; coefficient of variation

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PD)缺乏症是人类最常见的酶缺陷病,属于单基因遗传病之一。在我国,G6PD 缺乏症是南方人群中常见的血液遗传病之一^[1],主要集中在广西、广东、云南和四川等西南地区^[2]。据近期资料统计,广西 G6PD 缺乏症的发病率为 10.75%^[3]。该病无法根治,但可以积极地预防,通过密切观察 G6PD 缺乏的新生儿,避免急性溶血、黄疸甚至核黄疸^[4]。在高危地区对大规模人群尤其是孕产妇和新生儿

进行 G6PD 缺乏症筛查是不可缺少的项目。通过外部质量控制,可以帮助实验室发现错误,提出纠正措施,进一步降低错误率,提高实验室间变异系数(CV),确保各实验室检测结果的一致性。由广西临床检验中心(简称为中心)组织的 G6PD 室间质量评价计划调查开始于 2012 年,经过 4 年努力,参评单位由 113 家增加到 197 家。为了解当前广西地区 G6PD 检测实验

* 基金项目:广西壮族自治区卫生厅科研课题(z2012321)。

作者简介:唐娟,女,硕士,主管技师,主要从事临床检验质量管理工作。 [△]通讯作者,E-mail:zhouxyang@126.com。

室现状,对 2015 年 G6PD 室间质量评价进行回顾性分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年参加广西 G6PD 室间质量评价计划的 197 家实验室作为研究对象,其中包括广西地区有新生儿遗传代谢病筛查资质的实验室 8 家,三级甲等综合医院 31 家,妇幼保健院 53 家,中医医院 17 家,独立实验室 1 家,以及部分三级和二级医院。另外有 2 家妇幼保健院同时定期参加中国台湾地区卫生署开展的新生儿 G6PD 筛查品质保证计划。

1.2 室间质量评价方法

1.2.1 质控品来源 质控品为红细胞冻干品,由中心研发自制。发放前对质控品进行均匀性与稳定性评价^[5]。每次发放 5 个样品,一年发放 2 次。3 月质控品批号为 201511~201515;10 月质控品批号为 201521~201525。每次发放均含有 G6PD 正常、缺乏两种浓度(以下分别简称为正常和缺乏质控品)。另外,14 家用比值法测定的实验室发放新鲜血样本,与红细胞冻干品浓度一致。所有质控品均通过 EMS 快递邮寄。

1.2.2 质控品处理方法 将 0.25 mL 蒸馏水加入冻干瓶复融,静置 0.5 h,再颠倒冻干瓶,使其充分混匀,按照各实验室试剂说明操作进行。新鲜血则按患者标本处理。

1.2.3 数据收集 每个实验室在规定时间内完成检测。从检测完成时间起 1 周内通过网络回报结果,包括定量结果及定性结果^[6],定量结果按照单位 U/gHb 或 U/L 记录检测数据。定性结果需根据各实验室切值填写阳性(+)、阴性(-)。G6PD 缺乏为阳性,正常为阴性。

1.2.4 指定值确定 根据检测方法与试剂分组,对超过本组平均数的 3 倍标准差视为离群值。经过 3 次重复循环计算,将其剔除,用本组的平均值或中位数作为指定值。

1.2.5 评价标准 定量结果:每克血红蛋白 G6PD 活性采用指定值±30%,G6PD 活性采用指定值±20%;定性结果:是否符合阴性或阳性。

1.3 统计学处理 采用 Clinet EQA 程序、Microsoft Excel 2007 软件对各参评实验室检测结果进行统计和分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以百分率表示。

2 结 果

2.1 两次室间质量评价实验室使用试剂现状 包括定性试剂

和定量试剂。定量试剂方法学主要是酶学速率法,检测样本不一致包括红细胞比容或抗凝全血,检测内容不一致包括每克血血红蛋白 G6PD 活性或单一 G6PD 活性,结果单位及参考范围均有所不同。定性试剂主要以比值法为主,葡萄糖 6 磷酸盐/6 磷酸葡萄糖酸盐(G6P/6PG),检测样本为抗凝全血,各试剂切值范围一致(>1.0)。见表 1。

2.2 两次室间质量评价统计分析 按照试剂分组,大于或等于 6 家实验室分为 1 组,不足 6 家取参考范围相同的试剂组均值或中位数作为指定值。两次室间质量评价共有 25 家实验室回报每克血红蛋白 G6PD 活性结果;157 家实验室回报 G6PD 活性结果;15 家实验室回报 G6P/6PG。各参评实验室都按各自参考范围填报了阴、阳性结果。定量试剂回报符合率为 100.0%,由于科方试剂组对检测质控品产生基质效应,未对其符合率进行评价。定性试剂检测缺乏质控品的平均符合率为 77.1%。两次室间质量评价共 10 个批号,现以其中 4 个批号(含正常、缺乏质控品)结果为例做分析,计算每个试剂组的 $\bar{x}$ 、s、CV。见表 2、3。

表 1 不同试剂检测要求汇总

方法	使用试剂	检测样本	参考范围(成人)
酶学速率法	汇力 1	全血	>4.20 U/gHb
	北检 1	全血	>4.20 U/gHb
	标佳 1	全血	>6.75 U/gHb
	利德曼	红细胞比容	>130 U/L
	科方 1	红细胞比容	>1 300 U/L
	执诚	红细胞比容	>1 300 U/L
	美康	红细胞比容	>1 300 U/L
	迈瑞	红细胞比容	>1 300 U/L
	博科	红细胞比容	>1 300 U/L
	汇力 2	全血	>638 U/L
比值法	北检 2	全血	>638 U/L
	标佳 2	全血	>900 U/L
	米基	全血	>1.0
	中山生物	全血	>1.0
	科方 2	全血	>1.0

注:比值法无单位。

表 2 批号为 201512 和 201515 室间质量评价结果

试剂组	参评实验室 (n)	正常质控品			缺乏质控品		
		检测值($\bar{x} \pm s$)	CV(%)	符合率(%)	检测值($\bar{x} \pm s$)	CV(%)	符合率(%)
汇力 1	22	(11.02±1.02)U/gHb	9.23	100.0	(1.65±0.46)U/gHb	28.13	100.0
利德曼	41	(2 043.00±163.89)U/L	8.02	100.0	(365.00±39.64)U/L	10.84	100.0
科方 1	11	(1 273.00±112.53)U/L	8.84	—	(231.00±38.29)U/L	16.54	100.0
执诚	11	(2 351.00±206.32)U/L	8.77	100.0	(426.00±51.26)U/L	12.03	100.0
美康	12	(1 594.00±291.76)U/L	18.29	100.0	(340.00±98.07)U/L	28.82	100.0
汇力 2	78	(1 155.00±114.98)U/L	9.95	100.0	(200.00±51.25)U/L	25.28	100.0
标佳 2	4	(1 528.00±321.89)U/L	21.07	100.0	(283.00±46.78)U/L	16.53	100.0
米基	4	—	—	100.0	—	—	100.0
中山生物	8	—	—	100.0	—	—	100.0

注:—为无数据。

表 3 批号为 201521 和 201522 室间质量评价结果

试剂组	参评实验室 (n)	正常质控品			缺乏质控品		
		检测值($\bar{x} \pm s$)	CV(%)	符合率(%)	检测值($\bar{x} \pm s$)	CV(%)	符合率(%)
汇力 1	25	(7.22±0.46)U/gHb	6.32	100.0	(2.79±0.24)U/gHb	8.71	100.0
利德曼	40	(1 522.00±137.74)U/L	9.05	100.0	(564.00±52.24)U/L	9.25	100.0
科方 1	14	(1 038.00±73.05)U/L	7.04	—	(333.00±40.17)U/L	12.03	100.0
执诚	13	(1 621.00±69.15)U/L	4.26	100.0	(604.00±58.79)U/L	9.73	100.0
美康	10	(1 472.00±91.13)U/L	7.59	100.0	(424.00±76.33)U/L	17.99	100.0
汇力 2	85	(850.00±76.98)U/L	9.05	100.0	(319.00±39.39)U/L	12.34	100.0
米基	3	—	—	100.0	—	—	100.0
中山生物	12	—	—	100.0	—	—	66.7

注:—为无数据。

2.3 两次室间质量评价不同试剂组的 CV 结果 第 1 次室间质量评价不同试剂组检测缺乏质控品实验室间 CV 范围在 6.15%~38.83%;检测正常质控品实验室间 CV 范围在 7.46%~19.29%。第 2 次室间质量评价不同试剂组检测缺乏质控品实验室间 CV 范围在 6.72%~17.99%;检测正常质控品实验室间 CV 范围在 4.26%~25.71%。两次 CV 比较得出:第 2 次各试剂组平均总 CV(10.81%)均低于第 1 次(14.89%)。此外,各定量试剂组在检测缺乏质控品平均 CV 为 17.06%,正常质控品平均 CV 为 10.10%。

3 讨 论

2012 年与 2013 年中心开展了广西地区 G6PD 检测的室间质量评价调查计划,通过 2 年摸底与实验室沟通,于 2014 年对参评实验室进行 G6PD 定性检测评价,2015 年进行 G6PD 定量检测评价,同时各实验室根据参考范围填报定性结果。

从表 1 定量试剂现状得出,广西地区 G6PD 定量试剂盒检测内容、检测单位及同种方法学的参考范围均不一致。大部分实验室仅检测单一的 G6PD 活性,报告单位为 U/L,未检测血红蛋白(Hb),未报告每克血红蛋白 G6PD 活性。部分实验室用户未检测 Hb 的原因是加做 Hb 项目多占用 1 个全自动生化分析仪试剂位。但临床试验中,单一检测 G6PD 活性会对贫血、溶血、陈旧血等样本造成假阳性结果^[7]。因此,建议各实验室按照国际标准检测每克血红蛋白 G6PD 活性^[8]。同种方法学、相同操作程序检测同一样本的试剂说明书及实验室参考范围均不一致。汇力、北检参考范围均>4.20 U/gHb,而标佳试剂>6.75 U/gHb。有实验室为提高检出率,自行调整切值。为此,建议实验室应通过临床样本进行参考范围验证。台湾地区 G6PD 新生儿筛查中心根据历年室间质量评价提供的数据,建议实验室使用相同参考范围,这对于实验室间平均 CV 的控制及实验结果能提供统一的解释^[9]。

广西地区 G6PD 室间质量评价计划帮助实验室减少了分析误差。表 2、3 显示不管检测正常质控品还是缺乏质控品,两次室间质量评价各试剂组实验室间 CV 值有较大变化:第 2 次 CV 小于第 1 次,实验室质量有所改进,说明第 1 次室间质量评价中对出现离群值数据的实验室进行沟通联系是有效的。第 1 次室间质量评价离群值包括由系统误差引起的 5 个批号样本全部偏高或偏低。经调查该误差与人员操作不当有关。个别实验室在使用英国朗道 G6PD 质控品作为室内质控检测时,把质控品的均值作为校准品的校准值,调整参数后,结果偏高。另有实验室不按照试剂说明书取样标准(说明书要求取红细胞

比容稀释),自行改用全血样本稀释,未经临床验证,导致在同组结果偏低。有实验室用 A 试剂(检测红细胞比容样本)检测 G6PD 活性,再用 B 试剂(检测全血样本)检测同一样本 Hb,自行配套组合,参照 B 试剂的参考范围填报结果,导致 5 个样本在 B 试剂组中整体偏高。通过对操作不当的实验室进行积极地纠正,并将总结公布于广西临检中心网站,为其他实验室用户起到了警示作用。

室间质量评价定性结果显示,使用定量试剂盒检测的各实验室两次室间质量评价结果 G6PD 符合率均正确(科方试剂因基质效应除外不做评价)。但比值法在检测缺乏质控品时,两次符合率为 87.7%和 66.5%,说明个别实验室存在漏检情况。室间质量评价定量数据显示,正常质控品浓度在 7~12 U/gHb 或 1 300~2 500 U/L,CV 可控制在 10.0%左右,与近年台湾地区室间质量评价公布的数据(CV 低于 10.0%)相近。缺乏质控品浓度在 1.5~3 U/gHb 或 200~700 U/L,平均 CV 为 17.06%,高于台湾地区室间质量评价数据(CV 低于 10.0%)。

实施广西地区 G6PD 室间质量评价计划中尚不对临界值质控品评价,仅用于调查。美国病理家协会(CAP)在 2006、2007 年公布了 G6PD 室间质量评价调查中两个临界值样品结果。两样品均值分别是 3.86、4.18 U/gHb,各实验室回报值是 2.3~5.3、1.8~6.7 U/gHb。CAP 规定 90%实验室结果一致才评价。回报数据未达成统一,CAP 未对临界质控品评价,仅提供了反馈信息。台湾地区 G6PD 质评样本包含高、中、低值,中值即临界值浓度通常在 3.0~4.3 U/gHb 或 4.4~6.0 U/gHb^[10],由于长期的外部质量计划保证,几乎所有实验室 CV 都能较好地控制在 10%以内^[6]。

目前广西地区 197 家参评实验室有 95 家实验室进行 G6PD 室内质量控制,约 100 家实验室未建立执行自己的内部质量控制程序。因此做好 G6PD 项目实验室内部必须严格执行室内质量控制,同时参加广西地区 G6PD 室间质量评价计划,减少实验室误差、改进质量,更好地为 G6PD 缺乏症高发区的临床诊断服务。

参考文献

[1] von Seidlein L, Auburn S, Espino F, et al. Review of key knowledge gaps in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency detection with regard to the safe clinical deployment of 8-aminoquinoline treatment regimens;a workshop report[J]. Malar J,2013,35(12):112-133. (下转第 1327 页)

疗方案有着积极的作用。

利福平耐药相关突变主要集中在 rpoB 基因,其中最常见的是 531 位和 526 位,除此以外还有 513、511、522 等位点突变也可导致利福平出现耐药性^[9-10]。本研究中 rpoB 基因出现 531、526、513 位点的突变,其中最主要的是 531 位(52 株,66.7%)和 526 位(21 株,26.9%)。之前王峰等^[11]研究结果中 531 位(76.3%)、526 位(13.9%)和 516 位(6.3%)为主要突变位点。虽然不同研究当中的突变位点略有差异,但是总体来说利福平耐药突变相对比较集中。由于结核分枝杆菌对异烟肼的耐药分子机制涉及多个基因,目前还没有完全明确,其中研究较多的有 inhA、ahpC、katG 等基因。其中 katG 基因突变可导致结核分枝杆菌对异烟肼产生高度耐药性,突变位点多出现在 315 位密码子,大约有 90% 的异烟肼耐药菌株中都会出现。本研究中耐异烟肼菌株中 84.1% 发生了 katG 基因突变,9.8% 发生了 inhA 基因突变,仅有 6.3% 的菌株发生 ahpC 基因突变。

本研究以罗氏绝对浓度法作为金标准,比较基因芯片法和罗氏绝对浓度法对利福平和异烟肼药物的耐药性检测,结果显示 2 种方法均具有较好的灵敏度、特异度和准确度,具有较好的一致性。就方法学而言,基因芯片法较罗氏绝对浓度法有快速、灵敏、重复性好等优势。因此,在条件允许的情况下,可应用基因芯片法对结核分枝杆菌耐药性进行检测,这也是对传统药敏试验方法的补充,同时也为临床开展有效、快速的治疗提供有利条件。

参考文献

[1] 苏丽萍,连素琴,李向国,等.武威市结核病患者膳食多样化水平及营养素摄入状况调查[J].现代生物医学进展,2013,13(33):65-66.

[2] 金福妹,薛强,邹明强,等.结核分枝杆菌临床检测技术的研究进展[J].中国冶金工业医学杂志,2015,32(2):155-

(上接第 1324 页)

[2] Yan T,Cai R,Mo O,et al. Incidence and complete molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the Guangxi Zhuang autonomous region of southern China; description of four novel mutations [J]. Haematologica,2006,91(10):1321-1328.

[3] 郑敏,罗建明.广西地区葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症的流行病学调查和基因突变型鉴定[J].临床荟萃,2006,21(11):775-777.

[4] Elyassi AR,Rowshan HH. Perioperative management of the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patient: a review of literature[J]. Anesth Prog,2009,56(3):86-91.

[5] 居漪,吕元.能力验证提供者认可准则在检验医学领域中的应用策略探讨[J].检验医学,2015,30(11):1055-1058.

[6] 唐娟,谭毅.葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症检测方法的研究进展[J].中国临床新医学,2015,8(1):92-96.

[7] 杨发达,贾璋林,谭佳彩,等.葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性检

157.

[3] 张学志,陈丽,葛亚萍,等.比例法与绝对浓度法测试结核分枝杆菌药物敏感性探讨[J].中国防痨杂志,2009,31(3):164-166.

[4] 李晓非,梁桂亮,普冬,等.基因芯片技术在结核分枝杆菌鉴定和结核耐药性检测中的应用及评价[J].中国实验诊断学,2015,19(2):204-207.

[5] 张俊仙.基因芯片技术及其在结核分枝杆菌菌种鉴定及耐药性检测方面的研究进展[J].实用医学杂志,2009,25(21):3718-3720.

[6] 中国防痨协会.结核病诊断细菌学检验规程[J].中国防痨杂志,1996,18(3):127-135.

[7] 孙炳奇,张娟,孙娇,等.基因芯片技术检测结核杆菌耐药的临床研究[J].中国实验诊断学,2014,18(3):434-436.

[8] 李晓非,梁桂亮,汪亚玲,等.2 种快速检测技术在结核分枝杆菌利福平耐药性检测中的应用评价[J].中国卫生检验杂志,2015,25(10):1661-1672.

[9] Park H,Song EJ,Song ES,et al. Comparison of a conventional antimicrobial susceptibility assay to an oligonucleotide chip system for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates [J]. J Clin Microbiol,2006,44(5):1619-1624.

[10] 姚春艳,张立群,府伟灵.应用基因芯片技术检测结核分枝杆菌耐药基因[J].中华医院感染学杂志,2010,20(17):1501-1504.

[11] 王峰,桂静,赵广录,等.基因芯片检测结核分枝杆菌利福平异烟肼耐药性的应用评价[J].中华检验医学杂志,2012,35(12):1125-1129.

(收稿日期:2015-10-20 修回日期:2015-12-28)

测标本的相关探讨[J].国际检验医学杂志,2010,31(7):639-640.

[8] Sameer YA, Amina SA, Fahima LA, et al. Lower reference limits of quantitative cord glucose-6-phosphate dehydrogenase estimated from healthy term neonates according to the clinical and laboratory standards institute guidelines:a cross sectional retrospective study[J]. BMC Pediatr,2013,13(1):137.

[9] Chiang SH,Wu KF,Liu TT,et al. Quality assurance program for neonatal screening of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health,2003,34(3):130-134.

[10] Chiang SH,Fan ML,Hsiao KJ. External quality qssurance program for newborn screening of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency[J]. Ann Acad Med Singapore,2008,37(3):84-87.

(收稿日期:2015-11-19 修回日期:2016-01-07)