

脑脊液质控品研制及其稳定性评价

董泽令, 鄢仁晴*

遵义医科大学附属医院医学检验科 贵州遵义

【摘要】目的 研制脑脊液生化质控品, 评价其稳定性。**方法** 自配制不同浓度脑脊液质控品, 在 4℃-20℃、25℃ 下储存 28 天, 采用全自动生化分析仪测定氯离子 (CL)、葡萄糖 (GLU)、脑脊液蛋白质 (CSFP)、乳酸脱氢酶 (LDH)、腺苷脱氨酶 (ADA) 浓度, 计算变异系数 (CV%) 评价其稳定性, 以回收试验评价准确性。评价自制脑脊液、临床收集脑脊液和商品化脑脊液 4℃ 保存 60 天的稳定性。**结果** 自制脑脊液 4℃ 保存 28 天 CL\GLU\LDH\ADA 的 CV 最小; 正常浓度与 B 浓度自制脑脊液各项目均有显著差异 ($P < 0.05$), 正常浓度自制脑脊液质控品中各项指标的回收率分别为 CL: 88%、GLU: 89%、CSFP: 104%、LDH: 98%、ADA: 107%; 4℃ 保存 60 天, 自制正常浓度脑脊液中 CL\GLU\ADA 的 CV 值明显小于临床收集脑脊液和商品化脑脊液, CSFP 变化与临床收集脑脊液接近, 明显小于商品化脑脊液, 但 LDH 浓度明显高于临床收集脑脊液。**结论** 自制脑脊液 4℃ 保存 28 天稳定性好, 正常浓度与 B 浓度自制脑脊液可满足高值和低值质控品要求, 正常浓度脑脊液质控品多数项目正确性好。正常浓度脑脊液质控品在 60 天内 4℃ 下保存稳定性较好, 自制脑脊液多数项目的稳定性均优于商品化脑脊液和临床脑脊液样本。本方法自制脑脊液质控品可满足临床实验室常规使用。

【关键词】 脑脊液; 质控品; 稳定性; 评价

【基金项目】 贵州省科学技术基金项目: Groel1 蛋白介导巨噬细胞抗原提呈在结核分支杆菌感染免疫识别中的机制研究 (黔科合基础 [2017] 1231)

Development and stability evaluation of cerebrospinal fluid quality control products

Zeling Dong, Renqing Yan*

Department of Laboratory Medicine/Affiliated Hospital, Zunyi Medical University, Zunyi of Guizhou Province

【Abstract】 Objective To develop biochemical quality control substance for cerebrospinal fluid and evaluate its stability. **Methods** Different concentration cerebrospinal fluid (CSF) quality control materials (self-made CSF) were prepared and stored at 4℃-20℃ and 25℃ for 28 days, then using automatic biochemical analyzer to determine the concentrations of chloride ion (CL), glucose (GLU), cerebrospinal fluid protein (CSFP), lactic acid Dehydrogenase (LDH) and adenosine deaminase (ADA). Coefficient of variation (CV%) was calculated to evaluate its stability and accuracy was evaluated by recovery test. The stability of self-made CSF, clinical collected CSF and commercial CSF stored at 4℃ for 60 days was evaluated. **Results** The CV% of CL\GLU\LDH\ADA was the smallest in self-made CSF stored at 4℃ for 28 days; There were significant differences between the normal and B concentrations in all items of self-made CSF ($P < 0.05$). The recovery rates of normal concentrations quality control products were CL: 88%, GLU: 89%, CSFP: 104%, LDH: 98%, ADA: 107%; after stored at 4℃ for 60 days, the value of CV% of CL\GLU\ADA in the self-made normal concentration CSF was significantly lower than that of clinical collection CSF and commercial CSF. The change of CSFP was similar to that of clinical collection CSF and significantly smaller than that of commercial CSF, but the concentration of LDH was significantly higher than that of clinical collection CSF. **Conclusion** The self-made CSF has good stability when stored at 4℃ for 28 days. The normal concentration and B concentration of the self-made CSF may meet requirements of high-value and low-value quality control products. Most of the items in normal concentration self-made CSF have a good quality. The normal concentration of self-made CSF has better stability at 4℃ for 60

作者简介: 董泽令 (1984-) 男, 贵州遵义, 主管技师, 研究方向: 病原微生物致病机制。

*通讯作者: 鄢仁晴 (1974-) 女, 贵州遵义, 主任技师, 硕士, 研究方向: 临床生物化学检验及结核分子免疫。

days, the stability of all items in the self-made CSF is better than that of commercial CSF and clinical CSF. The self-made CSF can meet the routine use in clinical laboratories.

【**Keywords**】 Cerebrospinal fluid; Quality control substance; Stability; Evaluation

临床生化检验室内质控 (internal quality control, IQC) 是反映检测仪器性能和评价同批检测结果可靠性的实验室内部活动。随着检验项目的不断出现和实验室质控的全面实施, 目前大部分生化常规检验项目都要求有相应的室内质控品, 然而脑脊液检测日常标本量少, 故多数实验室使用常规标本作质控, 加之市售质控品多为国外生产, 价格昂贵且保质期短, 导致脑脊液生化检验项目 IQC 无法有效实施, 造成实验室质量管理盲区。本研究尝试研制一种包含 CL、GLU、CSFP、LDH、ADA 等常规生化项目的自制脑脊液质控品, 与临床脑脊液标本和商品化脑脊液质控品进行比较, 初步评价自制脑脊液质控品的临床应用。

1 材料与方法

1.1 材料

美国库尔特 AU5821 全自动生化分析仪。CL、GLU、CSFP、LDH 试剂和定标液为配套试剂, ADA 试剂

购自中生公司, 商品化脑脊液购自 PERFEMIKER 公司。

1.2 自制脑脊液质控品的配制

参考 Yokoyama T 等^[1]人工脑脊液的配方, 配制 5 种浓度脑脊液, 包括正常浓度和 4 种异常浓度水平 (A、B、C、D), 见表 1, 以 1mL 分装, 具体配方见表 1。

1.3 床脑脊液收集

收集临床脑脊液标本, 各指标范围: CL:120-130 mmol/L、GLU:2.5-4.4mmol/L、LDH:0-40U/L、CSFP:200-400mg/L、ADA:0-45U/L, 离体时间不超过 8h, 混合配制约 300mL, 分装成若干, 作为临床脑脊液组 (对照组 1)。

1.4 商品化脑脊液

将购自 PERFEMIKER 公司的脑脊液分装成若干, 作为商品化脑脊液组 (对照组 2)。

表 1 自制脑脊液质控品配方表

	正常		A		B		C		D	
	加入物浓度 (mmol/L)	加入量 (mg)								
NaCl	124	7247	100	5844	50	2922	124	7247	124	7247
KCl	3	224	3	224	3	224	3	224	3	224
NaHCO ₃	26	2184	26	2184	26	2184	26	2184	26	2184
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	1.24	193	1.24	193	1.24	193	1.24	193	1.24	193
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2	493	2	493	2	493	2	493	2	493
*CaCl ₂	2	222	2	222	2	222	2	222	2	222
*C ₆ H ₁₂ O ₆ ·H ₂ O	10	1982	3	595	5	991	10	1982	10	1982
正常血清	250(mg/L)	5(ml)	400(mg/L)	8(ml)	425(mg/L)	8.5(ml)	500(mg/L)	10(ml)	500(mg/L)	10(ml)
LDH	20(U/L)	0.67	45(U/L)	1.50	20(U/L)	0.67	20(U/L)	0.67	45(U/L)	1.50
ADA	4(U/L)	0.02	10(U/L)	0.05	25(U/L)	0.125	20(U/L)	0.10	15(U/L)	0.11
抗凝全血	/	/	/	/	/	/	/	/	/	50(μl)

*为避免产生沉淀应先加入 NaHCO₃ 最后再缓慢加入 CaCl₂。

表 2 回收样品制作表

样品	自制脑脊液	蒸馏水	标准液
基础样品	0.9ml	0.1ml	/
回收样品	0.9ml	0.09ml	0.01ml

1.5 方法与步骤

(1) 评价各组脑脊液的稳定性

①自制脑脊液质控品三种温度保存 28 天稳定性评价

0 将分装好的自制脑脊液分别置于-20℃、4℃和常温(25℃)保存 28 天,取出室温放置 0.5h 并充分混匀,全自动生化分析仪重复检测 CL、GLU、CSFP、LDH、ADA 浓度 10 次,计算变异系数(CV%)。

②三组脑脊液 4℃保存 60 天稳定性评价

将分装好的自制脑脊液正常浓度和对照组 1、2 样本分别置于 4℃冰箱保存 60 天,取出室温放置 0.5h 并充分混匀,全自动生化分析仪重复检测 CL、GLU、CSFP、LDH、ADA 浓度 10 次。

(2) 自制脑脊液的正确性

按表 2 制备基础样品及回收样本,全自动生化分析仪测定各项目,按以下公式计算各项指标的回收率。

$$\text{加入浓度} = \text{标准液浓度} \times \frac{\text{标准液量}}{\text{总体积}}$$

$$\text{回收浓度} = \text{分析样品测定浓度} - \text{基础样品测得浓度}$$

$$\text{回收率}(\%) = \frac{\text{回收浓度}}{\text{加入浓度}} \times 100\%$$

1.6 统计学分析

采用 SPSS18.0 软件对数据进行统计分析,计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计算 CV 值评估稳定性;单因素方差分析同一温度不同组间和同一组不同温度下的变异,独立样本 t 检验分析同一时间不同浓度间差异,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 制脑脊液质控品 5 个浓度水平各项目分析

自制正常浓度质控品 5 个项目的平均水平均在参考区间内,可作为质控品一个浓度水平, B 浓度质控品的 5 个项目与正常浓度均有显著差异,可作为质控品另一浓度水平。结果见表 3。

2.2 5 个自制脑脊液质控品浓度不同温度保存 28 天稳定性评价

5 个浓度自制脑脊液样本在 4℃保存 28 天 CL、GLU、LDH、ADA 的 CV 值最小;正常浓度自制脑脊液样本 CSFP、GLU 在-20℃的 CV 值最小;4 个异常浓度和正常浓度比较,CL 在-20℃变化明显,GLU 在-20℃、25℃变化明显,LDH 和 CSFP 三种温度的变化明显,ADA 在 4℃、25℃变化差异有统计学意义($P < 0.05$)。具体见表 4。

2.3 三组脑脊液 4℃保存 60 天稳定性评价

4℃保存 60 天,自制正常浓度脑脊液 CL、GLU、ADA 的 CV 分别为(1.61%、1.56%、9.65%)值均明显小于对照组 1(6.52%、6.70%、156.64%)、对照组 2(2.23%、1.94%、137.34%),CSFP 与对照组 1 接近(6.66%VS5.01%),但小于对照组 2(88.88%);而 LDH 明显高于对照组 1(51.79%VS22.06)。

2.4 回收试验评价自制脑脊液质控品准确性

正常浓度自制脑脊液质控品中各项指标的回收率分别为 CL: 88%、GLU: 89%、CSFP: 104%、LDH 8%、ADA: 107%,结果较理想。

3 讨论

脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)对中枢神经系统起着缓冲、保护、物质运输等作用。有报道^[2]CSF 中 CL、GLU、CSFP、LDH、ADA 等测定,可以作为化脓性脑膜炎、结核性脑膜炎、病毒性脑膜炎等中枢神经系统感染的鉴别诊断、疗效监测;国内外有报道^[3]采用人工脑脊液(artificial cerebrospinal fluid, ACSF)替代生理盐水充当冲洗液,但采用自制脑脊液用于脑脊液生化 IQC 的报道很少。正常生理条件下 LDH 很难通过血脑屏障,故 CSF 中 LDH 水平可反映中枢神经受损;ADA 主要分布淋巴细胞,结核杆菌入侵时中枢 T、B 细胞增加,继而 ADA 水平升高^[5]。

表 3 自制脑脊液质控品 5 个浓度水平各项目分析

项目	$\bar{x} \pm s$				
	CL (mmol/L)	GLU (mmol/L)	LDH (U/L)	CSFP (mg/L)	ADA (U/L)
正常	120.9±0.76	3.55±0.12	34±1.01	262±2.65	3.7±0.58
A	105±0.89	3.28±0.15	4±0.85*	403±1.32*	9.11±0.68*
B	57.2±0.92*	5.38±0.24*	7±1.14*	421±1.89*	25.97±0.74*
C	129.5±0.78	10.6±0.19*	13±1.05*	482±1.54*	20.73±0.62*
D	123.5±0.82	10.56±0.17*	39±1.09	491±1.63*	15.31±0.82*

* $p < 0.05$, 与正常浓度比较

表 4 5 种自制脑脊液质控品不同温度保存的稳定性评价

浓度	温度	CV%				
		CL	GLU	LDH	CSFP	ADA
A	4℃	1.18	3.43*	49.55*	6.57*	5.26*
	25℃	2.39	3.98*	36.88	6.72*	58.58*
	-20℃	22.12*	19.81*	65.77*	24.59*	24.04*
B	4℃	1.74	3.18	39.73*	6.12*	1.83*
	25℃	4.43*	3.84*	29.98*	6.44*	13.93*
	-20℃	15.02*	15.54*	33.79*	18.76*	17.38
C	4℃	0.76	2.80	27.93	5.29*	2.35*
	25℃	1.94	3.73*	21.88*	6.76*	17.30*
	-20℃	12.25*	11.57*	49.04*	13.76*	20.11
D	4℃	0.79	3.05	11.48*	5.27*	3.12*
	25℃	2.02	3.36*	11.59*	14.63*	15.92*
	-20℃	17.01*	17.63*	33.43*	30.97*	19.52
正常	4℃	0.80	2.62	27.43	11.46	13.71
	25℃	2.11	14.32	39.66	20.19	22.40
	-20℃	2.74	2.73	102.65	9.40	18.94

*p<0.05, 与正常浓度组比较

故本研究自制脑脊液质控品增加 LDH 和 ADA, 同时参照廖忠建和 Yokoyama T 等^[1]的配方, 研制含 CL、GLU、CSFP、LDH、ADA 项目的自制脑脊液质控品。根据不同病理性脑脊液成分的变化, 配制 5 种不同浓度的脑脊液。

研究结果显示自制脑脊液正常浓度与 B 浓度各项目存在显著差异, 且自制脑脊液正常浓度与 B 浓度可作临床高值和低值使用, 但有项目高低值存在交叉, 需进一步优化。另本研究评价自制脑脊液质控品不同温度保存 28 天的稳定性, 结果显示 4℃ CL\GLU\LDH\ADA 的 CV 值最小, 正自制脑脊液常浓度样本 CSFP\GLU 在-20℃的 CV 值最小, 提示自制脑脊液 4℃保存 28 天各浓度各项目均较稳定, 正常浓度自制脑脊液质控品在-20℃保存 CSFP\GLU 稳定, 与前期报道一致^[1]。另外 4℃保存 60 天, CL\GLU\ADA 以自制脑脊液最稳定, CSFP 的变化与临床样本接近, 但小于 ACSF, LDH 变异高于临床样本。提示正常浓度脑脊液质控品在 60 天内 4℃下稳定性较好, 自制脑脊液多数项目均稳定。本研究回收试验意义在于评价加入的纯分析物对自制脑脊液准确性的影响, 结果发现自制脑脊液质控品中 CSFP、LDH、ADA 回收率较理想, CL、GLU 的回收率欠佳, 考虑可能污染, 需进一步验证。

综上所述, 本研究自制脑脊液保存 28 天时保存于 4℃稳定性最好、60 天自制脑脊液质控品也很稳定。自制正常浓度与 B 浓度脑脊液可分别作为质控品的高值和低值使用。本研究自制的脑脊液质控品与人体的脑脊液渗透压、离子浓度、PH 值近似, 简单易行、便于保存, 可望作为临床实验室脑脊液质控品常规使用。

参考文献

- [1] Yokoyama T, Tanoue T, Hasegawa E, et al. Evaluation of the protective effects of cyclosporin a and FK506 on abnormal cytosolic and mitochondrial Ca²⁺ dynamics during ischemia and exposure to high Glutamate concentration in mouse brain slice preparations[J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2012, 120 (3): 228-240.
- [2] 牛文娟. 脑膜炎患者脑脊液三项生化检测结果分析[J]. 中国实用医药, 2015, (30): 30-31.
- [3] Kuwabara M, Sadatomo T, Yuki K, et al. The effect of irrigation solutions on recurrence of chronic subdural hematoma: a consecutive cohort study of 234 patients [J]. Neurol Med Chir (Tokyo), 2017, 57(5): 210-216.

收稿日期: 2022 年 6 月 15 日

出刊日期: 2022 年 7 月 19 日

引用本文: 董泽令, 鄢仁晴, 脑脊液质控品研制及其稳定性评价[J]. 国际医学与数据杂志, 2022, 6(2): 36-40.

DOI: 10.12208/j.ijmd.20220045

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2022 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS