临床研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003584

四川片区GSP分析仪新生儿CAH筛查的17α-羟孕酮切值初步探讨

杨丽涓，周婧瑶，欧明才，罗泽民，张　钰，胡　琦，陈雪莲，杨云霞
（四川省妇女儿童医院/成都医学院附属妇女儿童医院新生儿疾病筛查科，成都　610045）

【摘　要】目的：初步探讨四川省新筛中心全自动荧光免疫分析仪（genetic screening processor，GSP）进行先天性肾上腺皮质增生症（ngenital adrenalhyperplasia，CAH）筛查的新生儿干血斑17α-羟孕酮（17α-hydroxyprogesterone，17α-OHP）水平的切值。**方法：**采用时间分辨荧光法检测45 423例新生儿足跟滤纸干血斑17α-OHP浓度，回顾性分析新生儿孕周、出生体重与17α-OHP水平的相关性。筛查结果用百分位数法进行分析，以$P_{99.5}$确定切值。**结果：**孕周与17α-OHP值的r系数为-0.30，呈负相关；出生体重与17α-OHP值的r系数为-0.17，其绝对值小于0.3，可认为无相关性。早产儿17α-OHP水平$M(Q_1,Q_3)$、第99.5百分位数均高于足月儿，差异有统计学意义（Z=-52.52，P=0.000）；低体重儿17α-OHP水平$M(Q_1,Q_3)$、第99.5百分位数均高于正常体重儿，差异有统计学意义（Z=-36.45，P=0.000）。**结论：**建议四川片区新生儿17α-OHP的切值根据孕周进行调整，将新生儿17α-OHP筛查切值修改为早产儿28.5 nmol/L、足月儿13.0 nmol/L。

【关键词】先天性肾上腺皮质增生症；孕周；17-羟孕酮；切值
【中图分类号】R174；R722；R446　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2023-09-28

Preliminary exploration of 17 α-hydroxyprogesterone cut-off value for neonatal congenital adrenal hyperplasia screening using a genetic screening processor in Sichuan region of China

Yang Lijuan，Zhou Jingyao，Ou Mingcai，Luo Zeming，Zhang Yu，Hu Qi，Chen Xuelian，Yang Yunxia
（*Department of Pediatric Medicine and Neonatal Disease Screening，Sichuan Provincial Women's and Children's Hospital / The Affiliated Women's and Children's Hospital of Chengdu Medical College*）

【Abstract】*Objective*：To investigate the cut-off value of 17 α-hydroxyprogesterone（17α-OHP）level in neonatal dried blood spots for congenital adrenal hyperplasia（CAH）screening by using a genetic screening processor（GSP）at Sichuan Neonatal Disease Screening Center. ***Methods*：**The time-resolved fluorescence method was used to measure the concentration of 17α-OHP in the dried blood spots on neonatal heel blood filter paper of 45423 neonates，and a retrospective analysis was performed for the correlation of gestational age and birth weight with 17α-OHP level in neonates. The percentile method was used to analyze the screening results，and the cut-off value was determined at $P_{99.5}$. ***Results*：**The r coefficient between gestational age and 17α-OHP value is -0.30，showing a negative correlation.The r coefficient between birth weight and 17α-OHP value is -0.17，and its absolute value is less than 0.3，indicating no correlation. The $M(Q_1,Q_3)$ and 99.5th percentile of 17α-OHP level in preterm infants were significantly higher than those in full-term infants（Z=-52.52，P=0.000），and the $M(Q_1,Q_3)$ and 99.5th percentile of 17α-OHP level in low-weight infants were significantly higher than those in infants with normal weight（Z=-36.45，P=0.000）. ***Conclusion*：**It is recommended to adjust the cut-off value of 17α-OHP based on gestational age for neonates in Sichuan region and modify the cut-off value of 17α-OHP screening as 28.5 nmol/L for preterm infants and 13.0 nmol/L for full-term infants.

【Key words】congenital adrenal hyperplasia；gestational age；17 α-hydroxyprogesterone；cut-off value

作者介绍：杨丽涓，Email：731658457@qq.com，
研究方向：小儿遗传代谢病筛查。
通信作者：罗泽民，Emali：houp1991@163.com。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.r.20240926.0939.012
（2024-09-27）

先天性肾上腺皮质增生症（ngenital adrenalhyperplasia，CAH）是一种常染色体隐性遗传病，90%以上的患者因为肾上腺皮质激素合成酶21-羟化酶缺失而导致皮质醇合成障碍，从而引起促肾上腺皮

质激素分泌增加，最终导致肾上腺异常增生以及个体发育异常[1-2]。17α-羟孕酮（17α-hydroxyprogesterone，17α-OHP）是皮质醇的前体，只在21-OHD和11β-OHD时才会升高，许多国家将检测末梢血17α-OHP的水平作为新生儿CAH筛查的主要方法[3-4]。目前国内17α-OHP筛查主要参考试剂说明书选用统一切值，但是17α-OHP水平易受筛查方法、试剂、仪器设备、不同种族、地区、出生孕周和出生体重等影响[5]，实验室应根据大数据设置自己的切值。本实验室CAH筛查改变了筛查方法、试剂、仪器设备，之前使用芬兰Ani labsystems公司提供的17α-OHP测定试剂盒和BIOTEK FLX-800荧光分析仪，方法为荧光法；从2022年8月开始使用GSP时间分辨荧光法测定新生儿17α-OHP水平，目前使用切值为试剂盒提供的12 nmol/L。此次主要研究孕周和出生体重对新生儿17α-OHP水平的影响，初步探讨四川省新筛中心使用全自动荧光免疫分析仪（genetic screening processor，GSP）CAH筛查新生儿干血斑17α-OHP水平的切值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性研究。标本来源于在四川省新筛中心筛查片区各市县区开展新生儿疾病筛查的机构，选取2022年8月至2023年7月共计45 423例新生儿的17α-OHP筛查数据作为研究对象。本研究遵循的程序符合本院医学伦理委员会所制定的伦理学标准，得到该委员会批准，征得新生儿监护人的知情同意，并与之签署新生儿疾病筛查知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 按照《2010年卫生部新生儿疾病筛查技术规范》的要求，新生儿出生满72 h且充分哺乳6次后，在其足跟的内、外侧采血，滴于美国S&903滤纸片上，每个血斑要求直径≥8 mm，正反面渗透性好。将血片悬空平置自然晾干，装入塑料封口袋中密封，置于2~8 ℃冰箱保存，每周2次快递到四川省新生儿疾病筛查中心实验室检测。

1.2.2 仪器和试剂 全自动打孔仪（Panthera-PuncherTM9，美国PerkinElmer公司）；美国PerkinElme公司GSP（型号：2021-0010）及其配套的CAH测定试剂盒。实验方法为时间分辨荧光法。

1.2.3 质控 每批实验每块检测板均设标准曲线和质控，保证检测结果的准确性和可靠性。每年参加卫生部临床检验中心干血片17α-OHP室间质量评价，成绩合格。

1.2.4 分组 分组：①孕周：早产儿<37周，足月儿≥37周。②出生体重：低体重儿<2 500 g，正常体重儿≥4 000 g。

1.3 统计学方法

筛查数据应用SPSS 23.0软件进行统计分析。经正态性检验，17-羟孕酮水平呈偏态分布用$M(Q_1,Q_3)$表示；相关性分析采用Spearman检验，2组间比较用曼-惠特尼U检验，率的比较采用卡方检验，检验水准α=0.05。筛查结果用百分位数法进行分析，以$P_{99.5}$确定切值。

2 结 果

2.1 新生儿干血片17α-OHP值正态性检验

17-羟孕酮水平在不同组别情况下绘制17α-OHP值频数分布图和P-P图，可见其均为正偏态分布。使用柯尔莫戈洛夫-斯米诺夫检验进行17α-OHP值正态性检验，均P=0.000，因此均不是正态分布，见表1。

表1 不同组别17-羟孕酮水平的正态性检验

组别	偏度系数	峰度系数	P值
全部数据	3.30	33.00	0.000
早产儿	3.06	22.91	0.000
足月儿	2.24	14.78	0.000
低体重儿	3.21	22.33	0.000
正常体重儿	2.16	12.44	0.000

2.2 新生儿干血片影响因素与17α-OHP值关联性分析

采用Spearman检验，回顾性分析新生儿孕周、出生体质量与17α-OHP水平的相关性。孕周与17α-OHP值的r系数为-0.30，呈负相关；出生体质量与17α-OHP值的r系数为-0.17，其绝对值小于0.3，可认为无相关性。见表2。

表2 新生儿干血片影响因素与17α-OHP值关联性分析

影响因素	相关系数r_s	P值
孕周	-0.30	0.000
出生体质量	-0.17	0.000

2.3 不同组别17α-OHP水平的比较及百分位数值

不同组别17α-OHP水平的比较使用曼-惠特尼U检验，筛查结果用百分位数法进行分析。早产儿17α-OHP水平$M(Q_1,Q_3)$、第99.5百分位数均高于足月儿，差异有统计学意义（Z=-52.52，P=0.000）；低体重儿17α-OHP水平$M(Q_1,Q_3)$、第99.5百分位数均高于正常体重儿，差异有统计学意义（Z=-36.45，P=0.000），见表3。

表3 不同组别17α-OHP水平的比较及百分位数值（nmol/L）

组别	例数（n）	$M(Q_1,Q_3)$	P_{99}	$P_{99.5}$	Z值	P值
全部数据	45 423	4.0（3.0，5.6）	13.4	15.6		
早产儿	2 805	7.2（4.9，7.8）	24.1	28.6	-52.52	0.000
足月儿	42 618	3.9（2.9，5.3）	11.6	13.1		
低体重儿	2 467	6.3（4.1，9.0）	25.1	31.0	-36.45	0.000
正常体重儿	42 956	3.9（2.9，5.4）	12.0	13.7		

2.4 不同组别新生儿17α-OHP初筛阳性率比较

率的比较采用卡方检验，早产儿初筛阳性率高于足月儿，差异有统计学意义（χ^2=2 865.98，P=0.000）；低体重儿初筛阳性率高于正常体重儿，差异有统计学意义（χ^2=1 960.01，P=0.000），见表4。

表4 不同组别新生儿17α-OHP初筛阳性率比较（n，%）

组别		总例数	初筛阳性例数	初筛阳性率	χ^2	P值
孕周	早产儿	2 805	396	14.10	2 865.98	0.000
	足月儿	42 618	353	0.80		
出生体重	低体重儿	2 467	313	12.70	1 960.01	0.000
	正常体重儿	42 956	436	1.00		

2.5 不同切值初筛阳性情况

以$P_{99.5}$确定切值，将新生儿17α-OHP筛查切值修改为早产儿28.5 nmol/L、足月儿13.0 nmol/L为切值时，早产儿初筛阳性病例由396例减少至15例，见表5。

表5 不同切值初筛阳性情况

组别	原定切值初筛阳性例数（n）	现有切值初筛阳性例数（n）	原定切值初筛阳性率（%）	现有切值初筛阳性率（%）
全部数据	749	243	1.65	0.50
早产儿	396	15	14.10	0.50
足月儿	353	228	0.80	0.50

3 讨 论

CAH主要包括21-羟化酶、11β-羟化酶、17α-羟化酶缺陷等类型，其中21-羟化酶缺陷症所占的比例高达90%~95%，是常见的一种类型，依据缺失程度的不同可以分为失盐型、单纯男性化型和非典型性型[6]。临床症状表现为失盐、脱水、皮肤黏膜色素沉着、女性外生殖器男性化、男性假性性早熟，严重者出现休克、循环功能衰竭，甚至会危及生命[7]。CAH在活产新生儿中发病率约为0.5~1.0/万，通过新生儿筛查，及早发现患儿并及时治疗，尽可能预防肾上腺皮质危象的发生，可避免患儿脑损伤或死亡的发生，防止女性患儿由于雄激素分泌增加而引起外生殖器男性化造成的性别误判，进而预防性激素分泌异常可能带来的心理、生理发育障碍，提高患儿及家庭的生活质量[8]。

国际内分泌学会发表的CAH诊疗指南和国内CAH新生儿筛查共识明确建议使用17α-羟孕酮干血片水平作为筛查指标，并根据切值进行判断[9]。由于CAH筛查的假阳性率较高，阳性预测值仅为1.56%~6.6%[10-12]，合理设定17α-OHP的阳性切值是CAH新生儿筛查的关键。根据大量的CAH筛查结果分析，新生儿17α-OHP浓度与其出生孕周和体重密切相关，早产儿和低体重儿的17α-OHP浓度相对增高[13-14]。用出生时孕周代替体重来调节阳性切值可改善筛查特异性，但按照不同孕周、出生体重来设定切值操作繁琐，也未能明显改善早产儿筛查的假阳性率[15]。本研究显示，孕周与17α-OHP值的r系数为-0.30，呈负相关；出生体重与17α-OHP值的r系数为-0.17，其绝对值小于0.3，可认为无相关性。这与专家共识所述一致相符[16]。建议四川片区新生儿17α-OHP的切值根据孕周进行调整，参照《新生儿遗传代谢病筛查指标切值建立方法专家共识》以$P_{99.5}$确定切值。由于CAH患病率较低，宜选用第99.5百分位值确定17α-OHP切值，不适于用第99百分位值确定切值[17-18]。通过分组比较发现，早产儿17α-OHP水平$M(Q_1,Q_3)$、第99.5百分位数均高于足月儿，低体重儿17α-OHP水平$M(Q_1,Q_3)$、第99.5百分位数均高于正常体重儿（表3）；早产儿初筛阳性率为14.1%明显高于足月儿0.8%，低体重儿初筛阳性率12.7%明显高于正常体重儿1.0%（表4）。应将新生儿17α-OHP筛查切值修改为早产儿28.5 nmol/L，足月儿13.0 nmol/L。使用现有切值早产儿初筛阳性病例由396例减少至15例，总初筛阳性病例由749例减少至243例；早产儿初筛阳性率由14.1%减少至0.5%，总初筛阳性率由1.7%减少至0.5%，见表5。

新筛中心对初筛阳性标本需召回复查，通常CAH患儿血17-羟孕酮浓度随着时间延长而升高。对于召回新生儿其血17-羟孕酮浓度较原标本下降，尤其是早产儿或低体重儿、临床无症状及体征者可继续随访，每2周~1个月复查17-羟孕酮浓度，以排除假阳性，必要时仍需要做诊断性检查。使用现有切值能尽可能降低初筛假阳性率减少召回复查的数量，减少人力物力财力的浪费和家长的心理负担，同时避免假阴性造成漏诊[14]。提高先天性肾上腺皮质增生症筛查的准确度和灵敏度，降低复查率。随着筛查量的不断累积，本实验室后期亦会根据新的实验数据重新调整四川片区新生儿筛查17α-OHP切值，以期提供更精准的判断方式。

参 考 文 献

[1] Eshragh N, Doan LV, Connelly KJ, et al. Outcome of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia at two time points[J]. Horm Res Paediatr, 2020, 93(2): 128-136.

[2] Vats P, Dabas A, Jain V, et al. Newborn screening and diagnosis of infants with congenital adrenal hyperplasia[J]. Indian Pediatr, 2020, 57(1): 49-55.

[3] Dabas A, Bothra M, Kapoor S. CAH newborn screening in India: challenges and opportunities[J]. Int J Neonatal Screen, 2020, 6(3): 70.

[4] Verma J, Roy P, Thomas DC, et al. Newborn screening for congenital hypothyroidism, congenital adrenal hyperplasia, and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency for improving health care in India [J]. J Pediatr Intensive Care, 2020, 9(1): 40-44.

[5] Miller WL. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: rare defects in adrenal steroidogenesis[J]. Eur J Endocrinol, 2018, 179(3): R125-R141.

[6] 国家卫生健康委临床检验中心新生儿遗传代谢病筛查室间质评委员会. 新生儿先天性肾上腺皮质增生症筛查与诊断实验室检测技术专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2019, 42(12): 1014-1019.
The Quality Evaluation Committee for the Screening of Genetic Metabolic Diseases in Newborns at the Clinical Laboratory Center of the National Health Commission. Expert consensus on laboratory detection technology for screening and diagnosis of neonatal congenital adrenal hyperplasia[J]. Chin J Lab Med, 2019, 42(12): 1014-1019.

[7] Castro PS, Rassi TO, Araujo RF, et al. High frequency of non-classical congenital adrenal hyperplasia form among children with persistently elevated levels of 17-hydroxyprogesterone after newborn screening[J]. J Pediatr Endocrinol Metab, 2019, 32(5): 499-504.

[8] 张 虹, 袁 帅. 宿迁地区先天性肾上腺皮质增生症筛查结果的探讨分析[J]. 临床检验杂志(电子版), 2020, 9(3): 362-364.
Zhang H, Yuan S. Analysis of screening results of congenital adrenal hyperplasia in Suqian area[J]. Clin Lab J Electron Ed, 2020, 9(3): 362-364.

[9] 龙琪琛, 张天娇, 赵海建, 等. 重视17α-羟孕酮的准确测定并加快推进其标准化进程[J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(12): 1172-1180.
Long QC, Zhang TJ, Zhao HJ, et al. Accuracy and standardization of 17α-hydroxyprogesterone routine measurements[J]. Chin J Lab Med, 2020, 43(12): 1172-1180.

[10] Jiang X, Tang F, Feng Y, et al. The adjustment of 17-hydroxyprogesterone cut-off values for congenital adrenal hyperplasia neonatal screening by GSP according to gestational age and age at sampling[J]. J Pediatr Endocrinol Metab, 2019, 32(11): 1253-1258.

[11] de Hora MR, Heather NL, Patel T, et al. Measurement of 17-hydroxyprogesterone by LCMSMS improves newborn screening for CAH due to 21-hydroxylase deficiency in New Zealand[J]. Int J Neonatal Screen, 2020, 6(1): 6.

[12] Tsuji-Hosokawa A, Kashimada K. Thirty-year lessons from the newborn screening for congenital adrenal hyperplasia (CAH) in Japan [J]. Int J Neonatal Screen, 2021, 7(3): 36.

[13] Witchel SF. Newborn screening for congenital adrenal hyperplasia: beyond 17-hydroxyprogesterone concentrations[J]. J Pediatr, 2019, 95(3): 257-259.

[14] Pode-Shakked N, Blau A, Pode-Shakked B, et al. Combined gestational age- and birth weight-adjusted cutoffs for newborn screening of congenital adrenal hyperplasia[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2019, 104(8): 3172-3180.

[15] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会新生儿筛查学组, 中国医师协会青春期医学专业委员会临床遗传学组, 中华医学会儿科学分会内分泌遗传代谢学组. 先天性肾上腺皮质增生症新生儿筛查共识[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(6): 404-409.
Newborn Screening Group of the Birth Defects Prevention and Control Professional Committee of the Chinese Association of Preventive Medicine. Consensus of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia [J]. Chin J Pediatr, 2016, 54(6): 404-409.

[16] 中华医学会儿科分会罕见病学组, 中国医师协会医学遗传医师分会, 中国妇幼保健协会出生缺陷防治与分子遗传分会, 等. 21羟化酶缺陷导致的先天性肾上腺皮质增生症的实验室诊断共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2023, 40(7): 769-780.
Rare Diseases Group, Pediatric Branch of Chinese Medical Association; Medical Geneticists Branch of Chinese Medical Doctor Association; Birth Defect Prevention and Molecular Genetics Branch of China Maternal and Child Health Care Association, et al. Consensus on the laboratory diagnosis of congenital adrenal hyperplasia due to 21 hydroxylase deficiency[J]. Chin J Med Genet, 2023, 40(7): 769-780.

[17] 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.
Han LS, Tian GL, Wang WP. Interlaborarory Quality Evaluation Committee of Screening for Hereditary and Metabolic Diseases in the Newborn, Clinical Testing Center, National Health Commission. Expert consensus on the method of establishing the cutoff value of screening indexes for hereditary and metabolic diseases in the newborn[J]. Chin J Pract Pediatr, 2019, 34(11): 881-884.

[18] 中华预防医学会出生缺陷预防与控制专业委员会新生儿遗传代谢病筛查学组. 新生儿筛查遗传代谢病诊治规范专家共识[J]. 中华新生儿科杂志(中英文), 2023, 38(7): 385-394.
Screening Group of Neonatal Genetic Metabolic Disease, Special Committee of Birth Defects Prevention and Control, Chinese Preventive Medical Association. Consensus on diagnosis and treatment of inherited metabolic diseases by newborn screening[J]. Chin J Neonatol, 2023, 38(7): 385-394.

（责任编辑：李青颖）