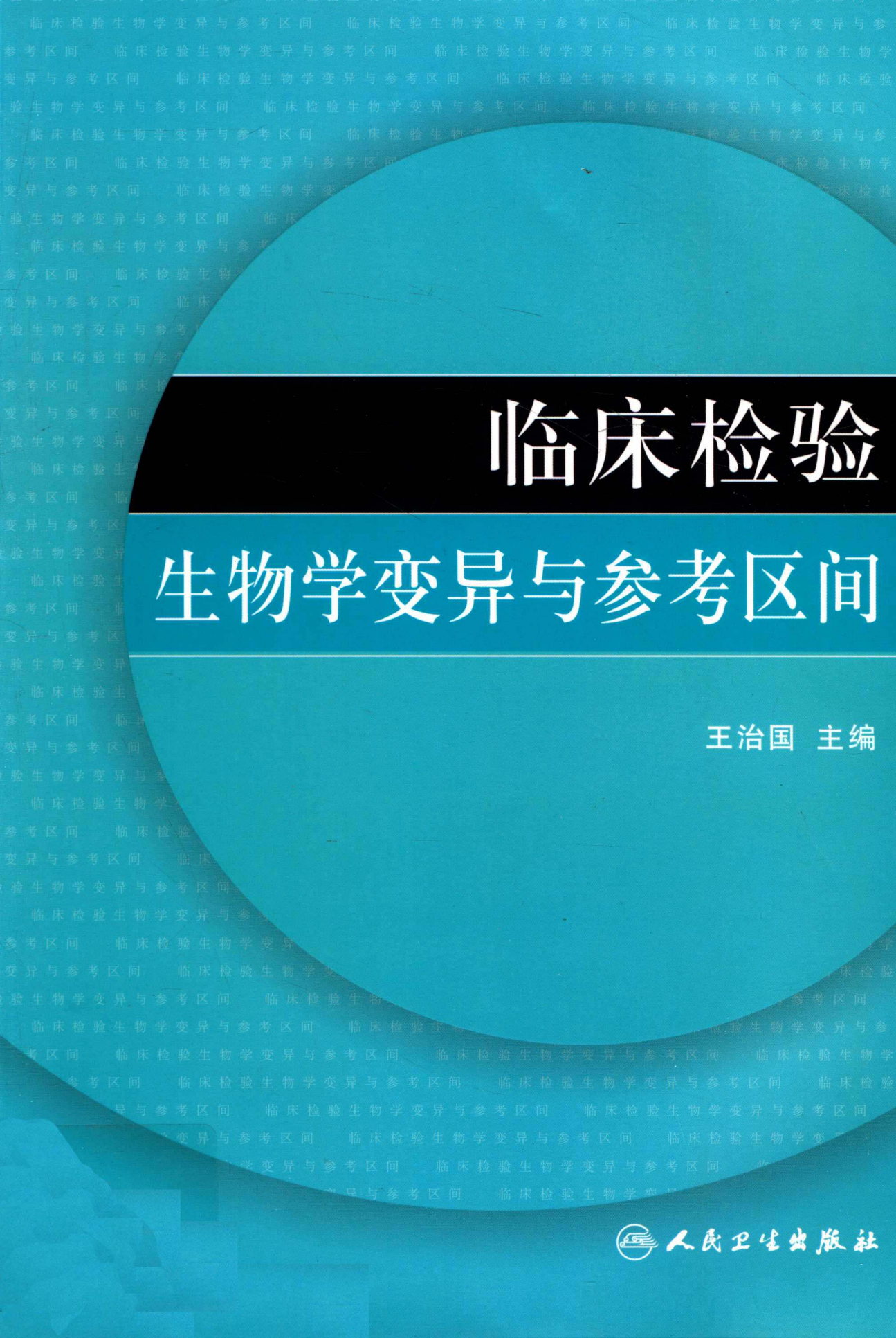




临床检验 生物学变异与参考区间

王治国 主编



人民卫生出版社

临床检验

生物学变异与参考区间

王卫华 主编

清华大学出版社



临床检验生物学变异与参考区间

主 编 王治国

编 者 (按姓氏笔画排序)

王 薇 (卫生部临床检验中心)

王治国 (卫生部临床检验中心)

杨 雪 (北京协和医学院研究生院)

何法霖 (卫生部临床检验中心)

赵海舰 (卫生部临床检验中心)

胡丽涛 (中南大学湘雅医院)

钟 堃 (卫生部临床检验中心)

康凤凤 (北京协和医学院研究生院)

曾 蓉 (四川大学华西第二医院)

曾 洁 (卫生部临床检验中心)

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

临床检验生物学变异与参考区间/王治国主编. —北京:
人民卫生出版社, 2012. 12

ISBN 978-7-117-16218-0

I. ①临… II. ①王… III. ①病原微生物-医学
检验-研究 IV. ①R446.5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 216459 号

人卫社官网 www.pmph.com 出版物查询, 在线购书
人卫医学网 www.ipmph.com 医学考试辅导, 医学数
据库服务, 医学教育资
源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

临床检验生物学变异与参考区间

主 编: 王治国

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京中新伟业印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 16

字 数: 389 千字

版 次: 2012 年 12 月第 1 版 2012 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

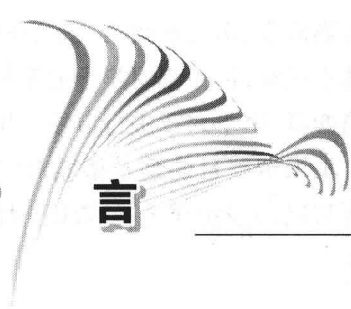
标准书号: ISBN 978-7-117-16218-0/R · 16219

定 价: 35.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

前言



人体内很多生物学指标在临床实验室的检测结果都随着时间在变化,引起这些变化的原因之一是人体的生物学变异。在人的一生中,某些特殊的生理阶段会使这些指标发生变化,例如新生儿期、儿童期、青春期、绝经期或者老年期。引起检测结果变化的因素主要来自三个方面:分析前的因素、分析中的因素和人体本身的生物学变异(称为个体内生物学变异)。通过实验可获得平均个体内生物学变异和个体间生物学变异。但是,在医院的临床实验室一般很少进行类似的实验,相关的生物学变异数据主要来源于文献报道。通过对这些数据的分析可以制订适当的临床实验室质量规范,包括允许不精密度、允许偏倚、允许总误差;方法间的允许偏差、能力验证计划或室间质量评价计划评价标准。更重要的是,实验室检测人员有必要在检测结果变化的解释中考虑到生物学变异对结果变化产生的影响。

检验医学生物参考区间定义为覆盖中心 95% 的数值的分布,这些数值来源于对参考人群进行随机抽样并进行检测得到的数据。生物参考区间研究的人群一般是健康个体。区分非健康个体中健康个人有一定的困难。生物参考区间反映的是健康个体检验项目的数值。决定界限是用于评价患者所得到的结果是否应采取治疗措施。

ISO 15189:2007《医学实验室—质量和能力的专用要求》是中国合格评定国家认可委员会对医学实验室进行认可的准则,即 CNAS-CL02 医学实验室质量和能力认可准则。其中有条款(5.5.5)明确规定,应定期评审生物参考区间;如果实验室通过实验证明某一特定参考区间不适用于参考人群,应对参加区间进行重新调查并采取必要的纠正措施。当实验室更改检验程序或检验前程序时,也应评审生物参考区间。

本书部分章节内容参考了英国学者 Callum G. Fraser 有关生物学变异的研究与理论(Biological Variation: From Principles to Practice),以及 James Westgard 网站上生物学变异相关的数据(<http://www.westgard.com/guest17.htm>)。本书共分十九章。第一章至第四章介绍了生物学变异性质,利用生物学变异出三个层次允许不精密度、允许偏倚和允许总误差的质量规范,以及生物学变异在系列结果改变中的应用。第五章介绍生物学变异导出质量规范在临床化学室内质量控制和室间质量评价中的应用。第六章至第十六章介绍参考区间基本概念及参考区间建立有关问题。第十七章介绍利用多中心建立群体参考区间。第十八章介绍全国常规检验项目参考区间调查结果。第十九章介绍实例分析。

杨雪编写第一章,胡丽涛编写第三章和附录,曾洁编写第四章,何法霖编写第五章,曾蓉



临床检验生物学变异与参考区间

编写第六章、第七章和第八章,康凤凤编写第九章、第十章和第十一章,赵海舰编写第十二章和第十三章,钟堃编写第十七章和第十八章。其余章节由王治国、王薇编写。曾蓉对第一章至第四章、第十六章进行审核。钟堃、胡丽涛对第六章至第十五章、第十九章进行审核。

本书编写目的是希望能对广大检验人员在临床检验生物学变异与参考区间的实践中有所帮助。但由于本人知识、水平有限,书中难免存在缺点和错误,恳请广大读者批评指正。

主编

2012年10月

目 录

第一章 生物学变异的性质	1
第一节 案例	1
第二节 检测结果变异的来源	2
第三节 随机生物学变异	8
第四节 生物学变异的组分	11
第五节 个体内生物学变异的稳定性	13
第二章 临床检验质量规范	16
第一节 质量规范概述	16
第二节 设定质量规范的层次模式	18
第三节 总误差概念	19
第四节 设定质量规范的策略	20
第五节 基于生物学变异设定质量规范的策略	32
第三章 系列结果的改变	45
第一节 计算参考改变值和概率	45
第二节 患者检验结果的质量检测	52
第四章 生物学变异数据的其他用途	59
第一节 流行病学	59
第二节 其他用途	60
第五章 生物学变异导出质量规范的应用	64
第一节 常规化学室间质量评价和室内质量控制	64
第二节 内分泌室间质量评价和室内质量控制	69
第三节 肿瘤标志物室间质量评价和室内质量控制	76
第四节 特殊蛋白室间质量评价和室内质量控制	80
第五节 糖化血红蛋白室间质量评价和室内质量控制	82
第六节 脂类项目室间质量评价和室内质量控制	83

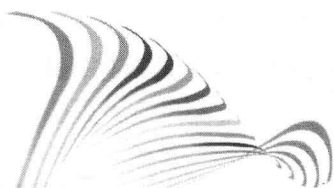


第七节 心肌标志物室间质量评价和室内质量控制	85
第六章 参考区间概述	89
第一节 概述	89
第二节 制订参考区间的必要性	90
第三节 参考区间标准	91
第四节 数学服务医学	93
第七章 总体分布	95
第一节 分布类型	95
第二节 重尾和偏态样本或总体	97
第三节 数据的 Box-Cox 转换	99
第四节 分析项目的分布和转换	102
第五节 其他数据转换方法	105
第八章 离群值	107
第一节 检测离群值的方法	107
第二节 离群值检测程序	108
第三节 健康和非健康样本中的离群值	109
第九章 单个样本的参考区间计算	113
第一节 参考区间和百分位数估计	113
第二节 正态理论方法	113
第三节 数据转换	114
第四节 顺序统计量的非参数方法	115
第五节 参考区间上下限的精密度	117
第十章 稳健估计	119
第一节 稳健百分位数估计	119
第二节 对称分布的稳健预测区间和百分位数估计	119
第三节 偏态分布的稳健预测区间和百分位数估计	121
第四节 稳健百分位数估计及其在参考区间中的应用	122
第五节 稳健参考区间上下限的精密度	124
第十一章 特定人群的参考区间	126
第一节 参考区间分组	126
第二节 参考区间分组因素	127

第十二章	小样本量研究	130
第一节	正态原理	130
第二节	稳健方法	131
第三节	离散数据	131
第四节	小样本研究实例	131
第五节	扩大样本量	132
第十三章	回归方法与参考区间转换	134
第一节	回归方法	134
第二节	参考区间转换	137
第十四章	将参考区间宽度作为比较工具	140
第一节	参考区间宽度: 比对和校准	140
第二节	仪器噪声与参考区间宽度	142
第十五章	参考区间估计中的问题	143
第一节	标准化的需要	143
第二节	个体变异和参考区间的失效	143
第三节	没有整体分析数据	144
第四节	计算非正态分布数据的正态参考区间	145
第五节	数据的选择截取	145
第十六章	基于人群参考值的实用性	147
第一节	参考值术语	147
第二节	参考区间的建立	148
第三节	参考值的转换性	153
第四节	参考值的个体影响	154
第五节	个性化指数	157
第十七章	利用多中心建立群体参考区间	163
第一节	材料与方法	164
第二节	结果和讨论	171
第十八章	全国常规检验项目参考区间调查结果	173
第一节	常规化学参考区间	173
第二节	干化学参考区间	190
第三节	新生儿遗传代谢病筛查项目决定限	202



第十九章 实例分析	208
第一节 问与答	208
第二节 辅酶 Q_{10}	214
附录 生物学变异导出的质量规范	215
参考文献	233



第一章 生物学变异的性质

患者的病史中往往不止有一套实验室检查结果。任意抽查同一人连续的实验室检查数据,会发现不同时间点上的检测结果不同。实际上,检测结果的变异是可以预测的。本章主要讨论检测结果为什么以及怎样发生变异,同时简要叙述分析前变异、分析中变异和生物学变异的来源。

第一节 案 例

某医学研究者非常关注自身健康,并进行定期检查。在其 53 岁的时候,申请了肾功能、肝功能、脂类、甲状腺功能以及前列腺特异性抗原(prostate special antigen, PSA)检查。部分检查结果见表 1-1。除了血清胆红素浓度超出了参考范围上限外,其余指标都正常。此研究者对“不正常”结果产生了深入探索的兴趣。实验室一般通过重复检测确认“异常”胆红素结果和其他“正常”检测结果。注意以下几点:①随时间变化血清胆红素浓度不相同,但是其值都高于参考范围上限值(进一步采用新的分子遗传技术检测,结果证实是常见但无危害的 Gilbert 综合征,这完全可以解释血清胆红素的高浓度水平);②其他检测结果仍在参考范围内,但是实验室报告的实际数值不相同。

表 1-1 某医学研究者的检测结果(53 岁,男性)

检测项目	第 1 次结果	单位	参考范围	第 2 次结果
钠	139	mmol/L	135 ~ 147	139
钾	4.3	mmol/L	3.5 ~ 5.0	4.1
尿素	4.0	mmol/L	3.3 ~ 6.6	4.4
肌酐	88	$\mu\text{mol/L}$	64 ~ 120	97
丙氨酸氨基转移酶	40	U/L	12 ~ 40	28
胆红素	19	$\mu\text{mol/L}$	0 ~ 17	21
碱性磷酸酶	49	U/L	30 ~ 105	46
GGT	57	U/L	11 ~ 82	49
钙	2.39	U/L	2.10 ~ 2.55	2.33
白蛋白	44	g/L	35 ~ 50	48
胆固醇	4.60	mmol/L	理想值<5.00	4.82
甘油三酯	0.48	mmol/L	≤ 2.30	0.52
TSH	2.03	mU/L	0.42 ~ 4.0	2.19
PSA	1.5	$\mu\text{g/L}$	≤ 4.0	2.5



以下可能是一些更重要的问题:为什么实验室报告的结果会随时间变化? 这些结果的明显增加或减少是否有意义? 数值上的变化是否反映出早期的或可能的病理迹象?

第二节 检测结果变异的来源

一、分析前变异

(一) 患者准备

在进行标本采集前,患者必须进行充分准备。标本采集、标识、运送和处理过程中都可能会发生变异,即分析前阶段的因素会影响到实验室检测。本书中列出了部分影响标本采集的因素,见表 1-2。

表 1-2 影响样品采集的因素

进食	假若患者短时间内有进食,血清甘油三酯、天门冬氨酸氨基转移酶、胆红素、葡萄糖、磷酸盐、钾以及丙氨酸氨基转移酶的值都会增高,通常增高 5% 以上
饥饿	长期饥饿使血清蛋白质、胆固醇、甘油三酯及尿素的值偏低,尿酸盐和肌酐的值会偏高
运动	长期运动会增加血清中包括肌酸激酶、乳酸脱氢酶和天门冬氨酸氨基转移酶的活性,这些酶通常出现在肌肉细胞内
海拔	在高海拔地区生活一段时间后(长期的过程,也可能是数周)血清 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、血清尿酸盐、血红蛋白以及血细胞比容的值会增加
刺激	咖啡因、尼古丁、酒精以及其他药物的滥用会影响到部分常规检测项目的结果
体位	体位的变化会影响到: (1) 大分子物质,比如总蛋白 (2) 酶 (3) 完全或部分结合的大分子物质,比如钙(半结合)、铁、类固醇以及甲状腺激素类 (4) 细胞 站位采集的标本检测结果较卧位采集得出的结果约高出 10%,坐位采集的样品结果介于两者之间(图 1-1)

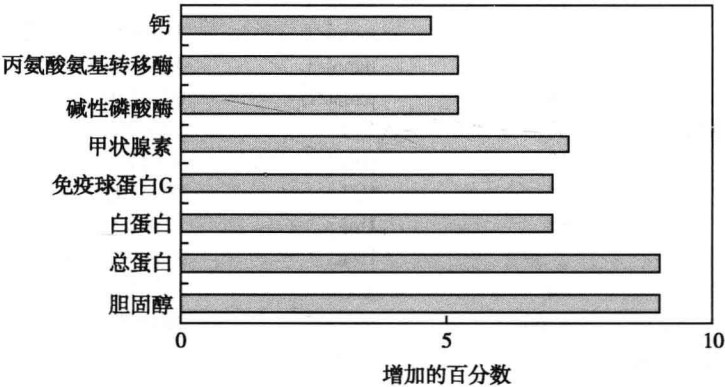


图 1-1 体位的变化致某些分析物增加的百分数(从卧位到站位)

(二) 样本采集和处理

理想情况下,样本采集、运送、识别、处理和储存过程中,应仔细记录与检测结果解释相关的变异来源。分析前阶段的第二部分(样本采集)可能存在的变异也会很多。表 1-3 给出了一些重要的变异来源。

表 1-3 标本采集中可能的变异来源

标本的类型	毛细血管血和静脉血得出的结果不等同,尤其是葡萄糖;毛细血管血和动脉血标本的氧分压不同
抗凝剂	血清和血浆得出的结果并非对所有成分是等同的。血清中的总蛋白、白蛋白结果高于血浆。血清有较高含量的钾、乳酸脱氢酶以及磷酸盐,这可能是由于凝块的形成和收缩所致
压脉带的使用	长时间压脉带的使用迫使小分子物质和水分从血管内出来,留下大分子物质,小分子结合到大分子的物质(比如胆红素和钙,钙约 50% 结合)以及细胞,因此血浆变得更浓缩了。结果造成血液停滞的分析物有较高的值(图 1-2)
运送时间	标本中的葡萄糖如果没有被保护好会很快降解;标本在离心前长时间的储存会造成血清钾、磷酸盐、天门冬氨酸氨基转移酶以及乳酸脱氢酶含量增高(假如标本是冷冻保存的,短时间内钾的实际含量会降低)
离心	标本经过不同短时间离心后可能会在血浆或血清中存有细胞成分,可能会发生人为的高酶活性和高钾。不稳定的分析物,如同型半胱氨酸,要求快速分离新鲜标本
储存	标本分析前必须得到适当的储存。正确的储存为复杂的过程,要求考虑到多方面的因素。例如,需检测胆红素的标本储存时必须避光,尽量减少空气对总浓度及其他物质的影响,比如 CO ₂ 的丢失。为了确保分析物的稳定性,一些标本必须在分离后快速冷冻

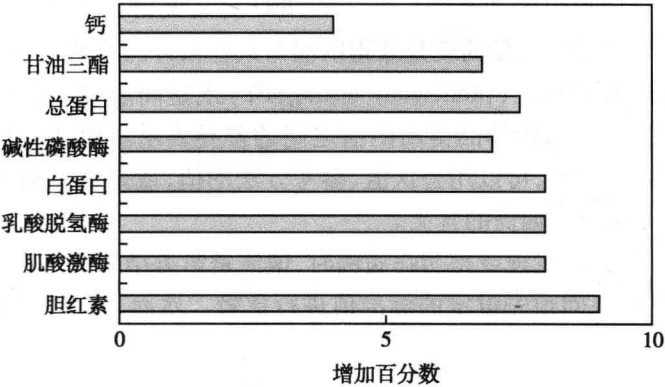


图 1-2 长时间静脉血液停滞一些分析物增加的百分数

二、分析中变异的来源

每一种检测技术都存在方法固有的变异来源。尽管不能全部消除方法的固有变异,但是可以通过选择良好的方法学并严格按照标准操作规范进行检测可以减少固有变异。

传统意义上,变异分为两种:随机变异和系统变异,常常分别以精密度和偏倚表示。

(一) 随机变异(精密度)

国际标准化组织(international standards for organization, ISO)将精密度定义为“规定条件下获得的独立检测结果之间的接近程度”。实际上,精密度的测量是通过重复测量同一样品



得出的。值得注意的是,精密度结果可能会受到分析条件的影响。例如在短时间内使用一台仪器、一套试剂以及同一校准品进行重复测量,这样得出的精密度会小于在较长时间内使用不同仪器、不同批次试剂以及不同校准品重复测量得出的精密度。

由正态分布可知,随机测量变异的结果呈对称、钟形分布。分布的宽度可由标准差(s)计算出。变异系数(coefficient variation, CV)可由 $(s/\bar{x}) \times 100$ 计算出,其中 $\bar{x}$ 指均值, s 为标准差(也称SD)。分布的性质可以使用在 $\bar{x} \pm n \times s$ 内的值所占的百分数来表示,如图 1-3 所示。图中正态分布的特征为:均值 $\pm 1s$ 涵盖了约 68.3% 的值,均值 $\pm 2s$ 涵盖了约 95.5% 的值,均值 $\pm 3s$ 涵盖了约 99.7% 的值。

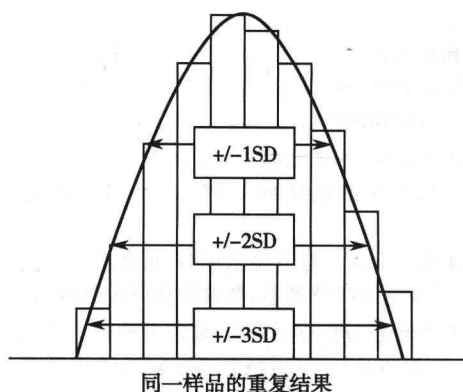


图 1-3 同一样品的重复检测结果分布特征

随机变异固有地存在于分析系统和所采用方法内,可来源于温度的波动、移液管或稀释的使用导致样品和(或)试剂容量发生变化、环境的变化,以及材料不一致的处理。若一种方法有好的精密度,那么它的随机变异将会比较小,而且由该方法获得的结果不会随着时间变化而变化很多,至少从分析中影响小。相反,假如一种方法的精密度不好,分析随机变异大,可能会影响到许多重要的临床结果。例如,可能因为分析的“噪声”而看不到临床重要的“信号”。这方面内容会在本书后面部分进行探讨。

(二) 系统变异(偏倚)

ISO 定义偏倚为“期望的测量结果与真实测定值之间的偏差”。实际上,偏倚就是获得的值与某些估计的真值之间的差值。偏倚的估计可以用实验室检测能力验证(proficiency testing, PT)或室间质评计划(external quality assessment scheme, EQAS)发放的样品得出的值之间的差异表示。PT 和 EQAS 组织者来确定如何比较实验室结果。例如,可以用公认值、参考方法的值,或是由一群更佳(参考)的实验室建立的值。图 1-4 阐释了偏倚的含义。

当检测结果用于诊断、发现或是初筛病例时,偏倚是影响结果的一个关键因素。在这种情况下,常常将检测结果同预先设定的标准值进行比较。然而,若是实验室的偏倚恒定,在

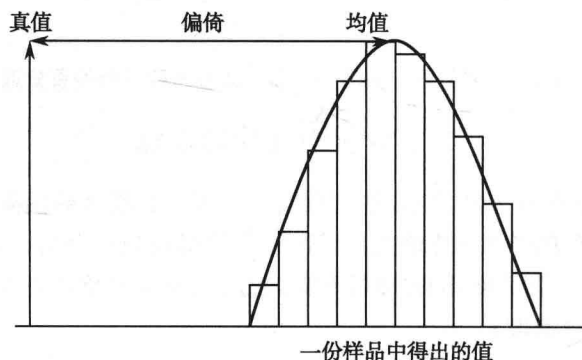


图 1-4 偏倚:检测结果与“真值”之间的差值

临床监测中明显的系统变异没有问题,至少评估同一个体一段时间内的变化。虽然可能所有的检测结果将会比真值更高或更低,但是随时间改变得到的变异将不能归因于偏倚。

注意一点,偏倚并不总是恒定的。假若仪器或方法学发生了变化,将同一个人的样品检测结果进行前后比较,那么偏倚的变化会影响到检测结果的前后变化。进一步来讲,假如使用不同的仪器或分析系统,产生的偏倚大小也不同,例如常规或急诊(STAT)、实验室内和床旁检验(point-of-care testing, POCT),或是其他环境下仪器可能会有不同的偏倚。因此,在报告分析结果前应该评估已知的偏倚。当不同的分析系统有不同的偏倚的时候,认定其中一种为“金标准”,其他系统据其进行校准。

在短期或中期内,如下情况可能改变一种方法的偏倚:更换校准物批号,更换试剂批号以及其他耗材批号,更换仪器——作为个体而言可能完成得很一致,但可能与他人很不同。在传统的内部质量控制图上,这些改变均以均值规律移动的形式清楚显示出,然而短期的 s 或 CV 几乎是相同的(图1-5)。

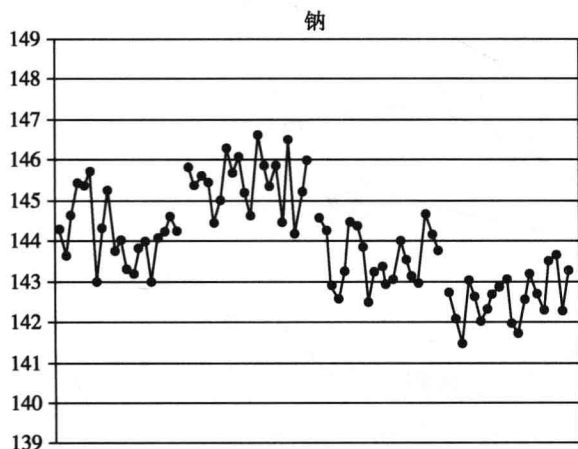


图1-5 随着时间变化同一样品的重复检测结果(钠,mmol/L)

图1-5显示了4次钠重复检测结果。这4次检测前都进行了重新校准,检测结果有较大的偏倚。伴随着现代化检测系统的使用,校准引起的偏倚的改变远大于固有的分析随机变异。校准引起的变异成为了现代实验室质量控制和管理中的重要方面。若使用这4次检测时间内的所有数据计算标准差 s ,得到的精密度包括了校准引起的变异。为了客观反映检测体系的变异情况,可以通过采用适当的实验室管理技术来描述和分析检测结果的变异规律。

当进行了重新校准时,要将偏倚降到最低则必须要改进质量控制方法。通常重新校准之后应该迅速对质控品进行重复检测,并使用复杂的质控规则和多个质控观测结果。校准后的质控通常与常规质控不同,以确保校准引起的变异很小(确保精密度和偏倚都满足质量规范)。

三、生物学变异的来源

分析物在个体的生命周期内发生着变化,通常根据年龄对参考值进行分层。另外,某些分析物有生物学周期或节律可以预测。因此,当标本来自不同的生命周期时,所得的系列结果的变异可由生物学周期或者节律解释。例如,当分析物在一天内存在变化节律时,一天不同的时间的标本存在变异;当分析物在一个月内存在变化的节律时,一个月内的不同的时间的标本存在变异;当分析物在一个季节内存在变化的节律时,一个季节内不同的时间的标本存在变异。

对于许多分析物,没有临床重要的周期性节律(尽管非常详细的研究会发现许多分析物有微小的节律),周期性变化不是一个主要的问题。然而,知道这些节律也是有益的,可以帮



助理解生物学变异数据是如何产生或被发现的,然后将其应用到实际工作中去。

(一) 理解生物学变异

固有生物学变异是指在内环境稳态点附近的随机波动。这种随机变异称为个体内生物学变异。不同的个体的内环境稳态点会不同,个体间内环境稳态点的差异称为个体间生物学变异。也有些分析物通过非随机方法发生变化。理解非随机变异不仅对正确使用参考值有十分重要的价值,而且可以帮助正确申请检验项目以及合理解释结果。

(二) 寿命期内的生物学变异

许多分析物随年龄发生变化,特别是在生命的不同时期,如新生儿期、儿童期、青春期、成人期(以及女性的绝经期)和老年期。许多分析物随年龄变化的数据可以获得,在此不全部列出。除了许多有关医学实验室参考值的著作外,现已出版有关儿童和老年人参考区间方面的书籍。

理想情况下,每一个检测结果都应该附有相应年龄的参考值。问题在于即使非常准确地知道实际年龄,但是有时要估计所有重要的生物学年龄更困难(图 1-6)。

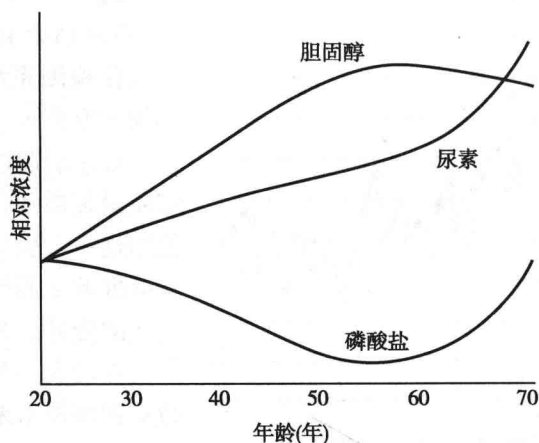


图 1-6 男性 20~70 岁 3 种血清分析物的浓度
(分析物年龄相关变化的特有模式)

(三) 每日生物学节律

一般将每日生物学节律认为是“生理节奏”。一些文献报道每日节律实际上与时钟时间或睡眠/清醒(昼夜的)模式无关。相反,会因姿势改变(改变到卧位时、常见的睡姿、蛋白质及其结合物下落)、食物的摄入(例如影响到了葡萄糖及甘油三酯浓度)以及剧烈的身体活动(增加肌酸激酶活性)而发生改变。

皮质醇和生长激素(以及其他有着每日节律的分析物)有不同的周期模式,应该单独进行考虑。相对于激素,皮质醇有延迟效应(数天)。另外,每日节律在整个寿命期内不是恒定的。例如,睡眠后生长激素浓度在青春期前和青春期通常是高的,但在晚年峰值会降为一半。

生物学节律对临床检验质量的影响应该考虑如下情况:①要研究出给定的周期每个点适当的参考值是不可能的,是个复杂且耗时的过程。②理想情况下,所有的检测样品都应该早晨采集,以便将每日节律影响降到最低(以及减少分析前变异)。③某些分析物的样品,比

如血清皮质醇,应该在重要的时间采集(例如9:00和24:00,此时的浓度为最高点和最低点,可以获得较准确的参考值)。^④节律的消失可能提示疾病。例如,库欣综合征的特征是皮质醇的昼夜节律消失(皮质醇分泌过多);可疑缺乏生长激素的患者,入睡后采样来评估生长激素是否会出现较大的增长是一种有效的方法。然而,由于患者的准备复杂而且要使用内置导管采样,因此目前很少做(图1-7)。

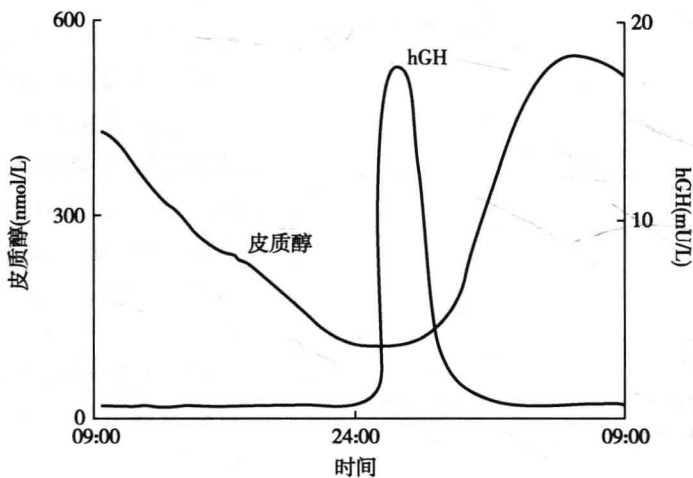


图 1-7 典型的睡眠/清醒模式一天中血清皮质醇和生长激素浓度

(四) 每月周期

育龄期女性的每月周期在临床检验中很重要。类似分析物遵循每日节律,与生殖周期相关的分析物表现出不同的周期模式,因此必须单独考虑。此外,其他许多的激素有着每月周期,如肿瘤标志物 CA153。

以下是受每月周期影响的对分析物检测结果需要考虑的因素:①没有必要对周期中的每个点建立参考值,复杂且耗时。②某些分析物的样品应该在特定的、相关的时间点采集。例如,要检测是否排卵和黄体是否形成,孕酮的检测应该在周期的第21天进行。③用于检查不孕或辅助怀孕时,了解分析物的预期周期值是重要的。图1-8显示了每日节律的4种分析物有着重要的每月周期:促黄体生成素(LH)、尿促卵泡素(FSH)、雌二醇、孕酮。这些线是光滑的、相当理想的曲线。

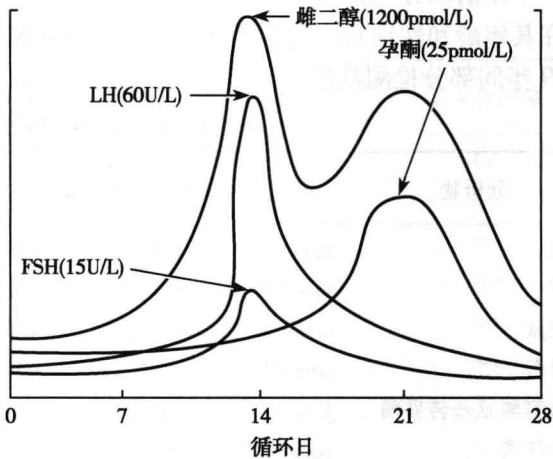


图 1-8 在一个经典的 28 天月经周期中 4 种激素的浓度

(五) 季节性节律

季节性节律比其他生物学周期的记录更少,部分原因是由于此类研究要进行多个循环。因此季节性节律研究需要数年。图1-9描述的是季节对钙代谢的影响,通常一年中紫外线最大量发生在