

# 实用 检验医学 试验技巧

主编／王金良

副主编／黄繁婧 钟述猷

天津科学技术出版社

shiyongjianyanxueshixianjiquiao



# 实用检验医学试验技巧

主 编 王金良

副主编 黄繁嫱 钟述猷



天津科学技术出版社

**图书在版编目(CIP)数据**

实用检验医学试验技巧/王金良主编. —天津:天津科学技术出版社,2005  
ISBN 7-5308-3841-5

I. 实... II. 王... III. 医学检验 IV. R446

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 026991 号

---

责任编辑:袁向远

版式设计:雒桂芬

责任印制:王 莹

---

天津科学技术出版社出版

出版人:胡振泰

天津市西康路 35 号 邮编 300051

电话(022)23332393(发行部) 23332390(市场部) 27217980(邮购部)

网址:www.tjkjbs.com.cn

新华书店经销

天津市永源印刷有限公司印刷

---

开本 787×1092 1/16 印张 41 插页 1 字数 1 005 000

2006 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

定价:96.00 元

## 编写者

|     |         |
|-----|---------|
| 王金良 | 教授 主任技师 |
| 黄繁嫫 | 主任技师    |
| 钟述猷 | 主任技师、教授 |
| 王学敏 | 主任技师    |
| 刘 丽 | 副主任技师   |
| 李增刚 | 副主任医师   |
| 谢丽莉 | 副主任技师   |
| 高 强 | 副主任技师   |
| 陈 立 | 副主任技师   |
| 郭文茹 | 副主任技师   |
| 穆 红 | 副主任技师   |
| 张坚磊 | 副主任技师   |
| 刘 娟 | 副主任技师   |
| 杨 彬 | 副主任技师   |
| 朱晓东 | 副主任技师   |
| 唐志琴 | 副主任技师   |
| 李代红 | 副主任技师   |
| 张敬伟 | 副主任技师   |
| 胡志东 | 副主任技师   |
| 王英伟 | 主管技师    |
| 李 静 | 主管技师    |
| 付 磊 | 主管技师    |
| 阎 欢 | 主管技师    |
| 王秀芬 | 主管技师    |

# 序

21 世纪是知识经济主导的世纪,知识对生产过程渗入越来越深,知识整体化过程越来越强,知识对人类各种社会活动的实践指导作用也越来越强,知识更新的速度日新月异。随着基础医学、临床医学的飞速发展和两者的密切结合,检验医学作为“古老”而又新兴的边缘学科迅速发展,在结构基因组学、功能基因组学和环境基因组学蓬勃发展的形势下,分子诊断技术取得了突飞猛进的进展。这些工作正逐步从实验室基础研究进入临床实践,为检验医学的发展提供了新的机遇。

自 20 世纪 80 年代以来,特别是近 10 年我国许多医疗机构的实验室改善了工作环境,更新了仪器设备,增加了检验项目,检验医学在疾病的预防、诊断、治疗、健康检查方面发挥着越来越重要的作用。但我们也必须清醒地认识到,仅仅拥有好的自动化仪器并不是解决检验质量和专业开拓的根本所在,而在于掌握先进技术和技能的载体——实验室技术人员。决定于他们掌握的新的技术、新的理论、新的思维和试验技巧。在 2003 年出版的国际标准化组织有关认可医学实验室质量和能力基本要求文件(ISO151898)中,明确指出了技术人员的基本理论、基本技术和基本技能的培训和继续教育的重要意义并作为评价实验室能否完成质量要求重要的指标。有鉴于此,基本技能的培训与提高是非常重要的。

王金良教授是我国著名的实验诊断专家,在他从事医学检验 50 多年的工作中积累了丰富的实践经验和夯实了扎实的理论功底,出于培养我国医学检验人员和促进我国检验医学发展的高度责任感,以严谨求实的作风,锲而不舍的毅力,与时俱进的理念,集腋成裘编写了《实用检验医学试验技巧》这本书。相信此书对于医学实验室工作人员,医学院校检验系学生的技能培训颇有意义,作为继续教材也有重要参考价值,将会对我国检验医学整体素质和学术水平的提高做出贡献。

中华医学会检验分会主任委员

中国医师协会检验医学分会主任委员

《中华检验医学杂志》总编辑

中国临床实验室认可委员会主任委员

中国人民解放军检验医学专业委员会主任委员 **丛玉隆**

2004.2.12.

# 目 录

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 第一章 总论                   | 1   |
| 第一节 现代检验医学更加需要试验技巧       | 1   |
| 第二节 认真实践循证检验医学           | 2   |
| 第三节 诊断试验中的循证医学           | 6   |
| 第四节 随机对照试验与 Meta 分析      | 16  |
| 第五节 诊断试验的结局研究            | 18  |
| 第六节 避免试验误差的技巧            | 20  |
| 第二章 检验结果在临床应用中的技巧        | 32  |
| 第一节 检验项目的分类              | 32  |
| 第二节 筛查试验项目的选择与评价         | 33  |
| 第三节 循证检验医学在评估与选择检验项目中的应用 | 33  |
| 第三章 实验室认可的基础知识           | 49  |
| 第一节 常用术语和定义              | 49  |
| 第二节 法定计量单位               | 60  |
| 第三节 统计技术基础知识             | 66  |
| 第四节 抽样技术基础知识             | 75  |
| 第五节 数据处理和测量误差            | 82  |
| 第六节 测量不确定度基础知识           | 88  |
| 第七节 不确定度原理和应用            | 97  |
| 第八节 质量体系的基本概念            | 107 |
| 第九节 量值溯源和能力验证            | 110 |
| 第十节 相关政策                 | 118 |
| 第四章 血栓与止血实验诊断技巧          | 124 |
| 第一节 实验室凝血检查的常规试验         | 124 |
| 第二节 血浆凝血因子实验室检查          | 127 |
| 第三节 生理性抗凝蛋白的实验室检查        | 136 |
| 第四节 凝血因子抑制物测定            | 141 |

|                                   |            |
|-----------------------------------|------------|
| 第五节 纤维蛋白溶解系统的实验室检查 .....          | 144        |
| 第六节 纤维蛋白单体及降解产物检测 .....           | 148        |
| <b>第五章 血液病诊断的试验技巧 .....</b>       | <b>153</b> |
| 第一节 血液病诊断试验概述 .....               | 153        |
| 第二节 血液细胞化学检查的试验技巧 .....           | 154        |
| 第三节 血液病细胞免疫学检查的试验技巧 .....         | 166        |
| 第四节 血液病细胞遗传学检查的试验技巧 .....         | 170        |
| 第五节 溶血性贫血检查的试验技巧 .....            | 175        |
| 第六节 分子生物学在血液病诊断中的应用 .....         | 188        |
| 第七节 血细胞的形态学观察方法及技巧 .....          | 194        |
| 第八节 骨髓的细胞形态学 .....                | 197        |
| 第九节 血液学检验指标在血液病诊断中的应用 .....       | 201        |
| <b>第六章 尿液检验分析的试验技巧 .....</b>      | <b>209</b> |
| 第一节 尿液标本收集的技巧 .....               | 209        |
| 第二节 尿液物理检查的试验技巧 .....             | 210        |
| 第三节 尿液各项常规检查的试验原理、临床意义及试验技巧 ..... | 211        |
| 第四节 尿液沉渣分析的试验技巧 .....             | 220        |
| 第五节 尿液沉渣自动化分析的试验技巧 .....          | 232        |
| <b>第七章 体液检验分析的试验技巧 .....</b>      | <b>241</b> |
| 第一节 浆膜腔积液检查的试验技巧 .....            | 241        |
| 第二节 脑脊液常规检查的试验技巧 .....            | 243        |
| 第三节 胃液检查的试验技巧 .....               | 245        |
| 第四节 精液检验的试验技巧 .....               | 246        |
| 第五节 前列腺液检查的试验技巧 .....             | 249        |
| 第六节 十二指肠引流液及胆汁检查的试验技巧 .....       | 249        |
| 第七节 痰液检查的试验技巧 .....               | 250        |
| 第八节 粪便检查的试验技巧 .....               | 251        |
| <b>第八章 血型鉴定及配血的试验技巧 .....</b>     | <b>255</b> |
| 第一节 血型鉴定 .....                    | 255        |
| 第二节 交叉配血试验 .....                  | 258        |
| <b>第九章 临床生化检验的试验技巧 .....</b>      | <b>264</b> |
| 第一节 肝脏疾病常用的生化试验 .....             | 264        |
| 第二节 肾脏疾病常用的生化试验 .....             | 278        |
| 第三节 血清无机离子检测 .....                | 283        |

|                                    |            |
|------------------------------------|------------|
| 第四节 糖代谢常用的生化试验 .....               | 292        |
| 第五节 临床生化检验的质量保证 .....              | 296        |
| <b>第十章 免疫学检验项目的试验技巧 .....</b>      | <b>303</b> |
| 第一节 特种蛋白的检测 .....                  | 303        |
| 第二节 病毒性肝炎的检测 .....                 | 310        |
| 第三节 其他应用项目 .....                   | 326        |
| <b>第十一章 临床微生物试验技巧 .....</b>        | <b>333</b> |
| 第一节 血液及骨髓微生物检验 .....               | 333        |
| 第二节 尿液标本微生物检验 .....                | 338        |
| 第三节 粪便微生物检验 .....                  | 341        |
| 第四节 痰及下呼吸道标本微生物检验 .....            | 346        |
| 第五节 脑脊液微生物检验 .....                 | 349        |
| 第六节 穿刺液标本微生物检验 .....               | 352        |
| 第七节 脓及创伤标本微生物检验 .....              | 355        |
| 第八节 生殖道标本微生物检验 .....               | 356        |
| 第九节 抗菌药物敏感试验 .....                 | 361        |
| <b>第十二章 电泳技术试验技巧 .....</b>         | <b>370</b> |
| 第一节 电泳技术概论 .....                   | 370        |
| 第二节 血清蛋白电泳 .....                   | 375        |
| 第三节 血红蛋白电泳 .....                   | 380        |
| 第四节 糖化血红蛋白电泳 .....                 | 382        |
| 第五节 血清脂蛋白电泳 .....                  | 384        |
| 第六节 血清载脂蛋白电泳 .....                 | 386        |
| 第七节 尿蛋白电泳 .....                    | 389        |
| 第八节 脑脊液蛋白电泳 .....                  | 393        |
| 第九节 同工酶电泳 .....                    | 396        |
| 第十节 毛细管电泳 .....                    | 405        |
| <b>第十三章 临床分子生物学试验技巧 .....</b>      | <b>429</b> |
| 第一节 分子生物学发展的现状和展望 .....            | 429        |
| 第二节 核酸的提取、纯化和鉴定 .....              | 430        |
| 第三节 聚合酶链式反应技术及其应用 .....            | 445        |
| 第四节 聚合酶链式反应技术在乙型肝炎病毒感染研究中的应用 ..... | 447        |
| 第五节 丙型肝炎病毒的分子生物学技术及其应用 .....       | 450        |
| 第六节 聚合酶链式反应技术在结核分枝杆菌研究中的应用 .....   | 452        |
| 第七节 聚合酶链式反应技术在性传播疾病研究中的应用 .....    | 455        |

|             |                       |            |
|-------------|-----------------------|------------|
| 第八节         | 遗传性疾病基因诊断的现状与展望       | 456        |
| 第九节         | 癌基因的检测                | 460        |
| 第十节         | 临床基因扩增检验实验室的规范化设置与管理  | 465        |
| 第十一节        | 临床基因扩增检验实验室质量保证       | 467        |
| <b>第十四章</b> | <b>淋巴细胞抗原技术的试验技巧</b>  | <b>472</b> |
| 第一节         | 淋巴细胞分离技术              | 472        |
| 第二节         | HLA 血清学分型技术           | 475        |
| 第三节         | DNA 提取技术              | 477        |
| 第四节         | 微量 SSP 基因分型           | 480        |
| 第五节         | HLA 抗体筛选技术            | 481        |
| 第六节         | 淋巴细胞毒交叉配合试验           | 484        |
| <b>第十五章</b> | <b>血液流变学及试验技巧</b>     | <b>487</b> |
| 第一节         | 概论                    | 487        |
| 第二节         | 血液流变学指标及其意义           | 488        |
| 第三节         | 血液黏度测定及其应用            | 489        |
| 第四节         | 血浆黏度测定方法              | 492        |
| 第五节         | 红细胞变形的生理及临床意义         | 492        |
| 第六节         | 红细胞聚集性检测及临床意义         | 494        |
| 第七节         | 血小板功能检测及临床意义          | 494        |
| <b>第十六章</b> | <b>微量元素检验的试验技巧</b>    | <b>497</b> |
| 第一节         | 微量元素的基本概念             | 497        |
| 第二节         | 微量元素的测定方法             | 498        |
| 第三节         | 微量元素测定中分析方法的确定        | 501        |
| 第四节         | 分析方法类型及其应用            | 502        |
| 第五节         | 分析中的质量管理及试验技巧         | 505        |
| 第六节         | 微量元素测定                | 507        |
| 第七节         | 分析质量的评价               | 510        |
| 第八节         | 常用的微量元素测定方法概要         | 510        |
| 附:人体        | 几种生物材料中微量元素(参考值)表     | 513        |
| <b>第十七章</b> | <b>治疗药物和毒物检验的试验技巧</b> | <b>515</b> |
| 第一节         | 治疗药物监测                | 515        |
| 第二节         | 毒物分析                  | 517        |
| <b>第十八章</b> | <b>肿瘤标志物测定的试验技巧</b>   | <b>527</b> |
| 第一节         | 肿瘤标志的研究概况             | 527        |

|                                                                         |                                      |            |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------|
| 第二节                                                                     | TM 的概念和肿瘤抗原 .....                    | 528        |
| 第三节                                                                     | TM 常用检测技术及 TM 的评价 .....              | 529        |
| 第四节                                                                     | TM 检测的影响因素及试验技巧 .....                | 531        |
| 第五节                                                                     | TM 的研究进展 .....                       | 532        |
| 第六节                                                                     | 糖蛋白类 .....                           | 538        |
| 第七节                                                                     | 黏蛋白类糖蛋白 .....                        | 545        |
| 第八节                                                                     | 肿瘤标志酶类 .....                         | 553        |
| 第九节                                                                     | 激素和异位激素 .....                        | 557        |
| 第十节                                                                     | 癌基因、抑癌基因及基因表型标志 .....                | 560        |
| 第十一节                                                                    | 肿瘤微转移分子 .....                        | 564        |
| 第十二节                                                                    | 转化生长因子- $\beta$ , 细胞黏附分子的表达与肿瘤 ..... | 566        |
| <b>第十九章</b>                                                             | <b>流式细胞术的试验技巧 .....</b>              | <b>572</b> |
| 第一节                                                                     | 流式细胞术总论 .....                        | 572        |
| 第二节                                                                     | 流式细胞术在生物学中的应用 .....                  | 576        |
| 第三节                                                                     | 流式细胞术在肿瘤学中的应用 .....                  | 582        |
| 第四节                                                                     | 流式细胞术在药理学中的应用 .....                  | 584        |
| 第五节                                                                     | 流式细胞术在血液学中的应用 .....                  | 585        |
| 第六节                                                                     | 流式细胞术在免疫学中的应用 .....                  | 589        |
| 第七节                                                                     | 流式细胞术的质量控制 .....                     | 591        |
| <b>第二十章</b>                                                             | <b>氨基酸分析的试验技巧 .....</b>              | <b>594</b> |
| 第一节                                                                     | 氨基酸分析的原理和方法 .....                    | 594        |
| 第二节                                                                     | 氨基酸含量的参考范围 .....                     | 599        |
| 第三节                                                                     | 氨基酸测定的临床意义 .....                     | 599        |
| <b>附录: 实验室管理国家标准 中华人民共和国国家标准 .....</b>                                  | <b>602</b>                           |            |
| <b>GB/T 15481—2000, idt ISO/IEC 17025:1999 代替 GB/T 15481—1995 .....</b> | <b>602</b>                           |            |
| 附录 1: 检测和校准实验室能力的通用要求 .....                                             | 602                                  |            |
| 附录 2: 医学实验室质量管理 ISO/FDIS 15189 .....                                    | 620                                  |            |
| 附录 3: 实验室医学中的道德规范 .....                                                 | 638                                  |            |
| 附录 4: 实验室信息系统(LIS) .....                                                | 640                                  |            |
| 参考书目 .....                                                              | 643                                  |            |

# 第一章 总 论

## 第一节 现代检验医学更加需要试验技巧

在新世纪,随着科学技术的迅速发展,各种先进的技术手段推动着医学的飞速进步。医学进步的标志之一是检验医学的发展,它运用了现代科学技术的先进手段来为疾病的诊断、治疗、治疗监测,预后和预防服务。

现代检验医学发展的显著技术特征是先进仪器和技术层出不穷,检验手段的自动化,信息化,迅速化和微量化保证了检验结果的准确、及时、适用和经济有效。现代检验医学的发展已彻底改变了传统的医学检验的面貌。

现代检验医学发展的现实,使许多界内人士认为“试验技巧”已不起多少作用,实验人员只需正确运用仪器、正确处理标本,将标本输入仪器即可。有何试验技巧而言?一些界外人士也认为化验人员只是“熟练工”“操作匠”无需任何技能与技巧,只要能驾御仪器即可,无甚试验技巧可言,以上观点是大错特错的。

第一,新的检验技术是建立在新的技术理论基础上的,如自动化理论,信息理论、分子生物学理论、标记免疫分析理论,实验室误差理论,质量保证理论……任一领域的理论均可谓博大精深。只有在正确的理论指导下才能有正确的实践,不了解这些理论只能是“盲人骑瞎马,夜半临深渊”,其实践绝不可能正确,其检验结果必不可能服务于患者、服务于临床,甚至会误导临床,贻误患者病情。

第二,正确、可靠的检验结果是一系列、多种影响因素优化的结果。试验条件的优化依赖于优化的环境与管理。从事检验的医学实验室必须合格,应该经过实验室论证,国际上通行的做法是应通过 ISO/IEC 17025 或 ISO/FDIS15189。要符合国家卫生部即将颁发的国家医学实验室管理条例。因此,如何保证实验室合格及了解现代的实验室管理理论是保证检验结果的前提,是首要应掌握的技巧,故本书着重介绍这方面的内容。

第三,检验结果的正确,依赖于先进高效的仪器,设备,合格的试剂,优化的试验条件,固然这些均可由厂家或商家提供,检验人员只需按要求去做。但这就不需要试验技巧了吗?否!任何先进的仪器或试剂均需人去掌握去运用,它不能自然而然地产生正确的结果,只有通过人,通过试验者的正确操作,而且需要巧妙地运用,避免可能出现的问题或差错才有正确结果,因为仪器的参数要人为地设置,仪器的运行要人为的维护,试剂的可用性由人去评判,结果的可靠性由人去判断。这些都需要技巧。生动的比喻就像钢琴与弹琴者,多么高级的钢琴在门外汉手里只能是一片噪音,而在娴熟的钢琴家手中就会是悦耳的金曲,有的钢琴家只能奏出“下里巴人”而有的则能奏出“阳春白雪”甚至达到“此曲只应天上有”的地步,其差异就在于技巧。

第四,在影响检验结果正确性的诸因素中最重要的是试验方法的选择。正确地选择试验方法需要遵循原则也需要技巧,如何事半功倍?如何选择最有效的方法?均需要技巧。因此,我们要了解试验方法的溯源性理论,在不同级别的试验室选择不同等级的方法,在诸种常规方法中选择推荐性方法,并依据自己的实验室的条件而运用之。因此,本书需介绍试验方法的溯源性理论及选择原则。

第五,正确的检验结果是操作者努力避免可能发生的误差之后的产物。由此,操作者必须学习与掌握误差理论,分清误差的种类、性质、来源及避免误差的方法。这需要理论指导,也需要避免或减少误差。而技能差者不但不能避免,甚至会加剧误差,这难道不需要试验技巧吗?

第六,正确的检验结果需要一系列的质量保证措施,即质量保证系统。它是一个完整的系统工程,从全面质量管理(TQM)到质量保证(OA)到具体运作的质量控制措施(QC),这一切都服务于质量改进(QI)。现代的质量管理理论是正确检验结果的根本保证。对此,每一位检验工作者都必须娴熟地掌握。

第七,正确的检验结果还必须包括对患者选择最必需最具诊断价值的试验,对合适的病人应用恰当的试验(The right tests for the right patients),努力避免试验的误用与滥用(misused and overused)同时,也应包括对这些检验结果的正确解释。在国外,在医学试验室内有从事此项工作的临床医师,在不同国家名为“病理医师”或“病理学家”(pathologist)以区别于 Technologist。在我国,检验医师系列也已列入医务工作者职称系列之中,我国的检验医师协会已于 2003 年正式成立。表明我国检验医学已逐步与国际接轨。但在目前检验医师尚未广泛进入试验室,检验技术人员应努力肩负起这一任务。

对恰当的临床试验的选择与运用,应依据对诊断试验的正确的、科学的评估。其重要的方法就是循证医学的原理和方法。其应用于检验医学,即循证检验医学。在实践中已取得初步成就。因此,努力学习与巧妙运用循证检验医学的原理与方法,是掌握试验技巧必需具备的理论基础与运用手段。我们必须努力学习循证检验医学,才能与时俱进,发展检验医学的试验技巧。

综上所述,现代检验医学的发展更需要试验技巧。这是广义上的试验技巧,而不单纯仅指操作上的点滴技巧。

## 第二节 认真实践循证检验医学

专家们指出,21 世纪的检验医学将是循证的检验医学。要求临床医学与检验医学密切合作,提供大量、充分、最佳的证据,深入认识和评价诊断试验的科学性,诊断价值及临床适用性,即对诊断试验进行系统的筛选和评估(Systematic Reviewing on Screening and Diagnostic laboratory tests),这标志着检验医学发展的新阶段。我国检验人员应尽快地学习并努力实践循证检验医学,跟上时代发展的步伐。

### 一、循证检验医学——循证医学在检验中的运用

在国际上循证医学是医学发展的方向之一。它要求医师的任何医疗决策(诊断、治疗、手术指征、处方……)都应根据合理的、充分的科学依据。这些依据应联合多个单位提供(多中

心),依据要大量充分(大样本)且应是随机和双盲的。在此种循证基础上得出的结论才能真正指导医疗诊断和治疗,提高疗效,提高医学水平。

20 世纪 70 年代末,Archie Cochran 即提出循证医学。1992 年英国牛津组成 Cochran 协作网,提出国际间协作开展循证医学的 9 项原则。1996 年我国成立循证医学中心,成为此协作网的 14 个成员之一。在国内外,循证医学已取得公认的重要成果,如高血压治疗的 WHO/ISH (1999)诊治指南,对多种心血管药物的大样本、随机、双盲的评价以及控制血脂,血葡萄糖以减少心脑血管疾病的发生。循证医学的原则和方法已深入到医学各学科,其在检验医学中的应用即形成循证检验医学,在近年的国际性检验医学的会议上都有专题研讨。

## 二、实践循证检验医学的步骤

一般遵循如下 5 个步骤:

- (1)明确地提出需要解决的问题;
- (2)对此问题进行系统的文献查阅,在充分占有文献的基础上进行评估;
- (3)应用荟萃分析(meta-analysis)等方法对现有文献,资料进行严格的评价(critical appraisal)得出初步结论;
- (4)应用此初步结论在实践中考核;
- (5)发布新的结论与实践结果,丰富文献资料,并在实践中发现新的问题。

如此循环往复,可促进检验医学的深入发展。使我们对检验医学的认识更加科学和全面。使之更好地服务于临床诊断和治疗。

上述 5 步骤见图 1-2-1:

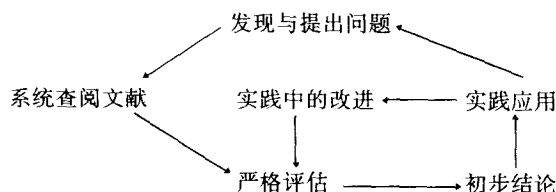


图 1-2-1 循证检验医学步骤

## 三、善于发现和提出问题是实践循证检验医学的出发点和关键

如心肌损伤标志物从心肌酶(CK, CK-MB)心肌蛋白(Mb, cTnT, cTnI)扩展到检测感染标志物(CRP),血栓形成标志物(血栓前体蛋白 TpT),p 选择素等,心肌缺血标志物(糖原磷酸化酶,脂肪酸结合蛋白等)和坏死标志物( $\alpha$  肌动蛋白)就是对心肌损伤标志物的不断深入评价的过程,是在试验中不断发现老试验的局限性而发展的新试验。这些新试验的特点和优势也将接受循证检验医学的评估。

应用 RIA 或 EIA 法测定血清中胰岛素和 C 肽含量用于估测胰岛  $\beta$  细胞功能已经多年,现有人发现实验中均将其前体物和中间物测入(因共同的单抗识别位点)。因此,它只能称之为“免疫反应性胰岛素”和“免疫反应性 C 肽”含量,从而推动了对测定“真”(或特异性)胰岛素, C 肽的研究以及胰岛  $\beta$  细胞功能的重新评价问题,这说明善于发现问题的重要性。

许多诊断试验的评价不一, Rao JK 等检索 1995 年前发表的以中性粒细胞抗体诊断 Wegen-

er 肉芽肿文献 747 篇, 试验敏感性从 34% 到 92%, 特异性从 88% 到 100%。如此大的差异岂不是问题? 正需要循证检验医学加以解决。

#### 四、对该问题的相关文献进行系统查阅

发现与提出问题的目的在于解决问题, 应完整地搜集符合和不符合现有观点的论据, 系统地整理分析。如有人曾收集 1910 年至 1986 年的 642 篇文献, 证明末梢血的出血时间试验既不能反映止血功能的缺陷, 也不能提示血小板功能。

Sandborg 等提出系统查阅文献的 7 个步骤:

- (1) 明确系统查阅文献的目的和范围;
- (2) 收集相关文献重温;
- (3) 确定原来研究(观点)的有效性;
- (4) 应用条目或编码法从中提取有用信息;
- (5) 对有用信息进行分析(如评估试验的诊断准确性);
- (6) 增加新资料再重新分析;
- (7) 确定进一步分析研究的目标。

电子计算机和 Internet 为查阅文献和分析资料提供了方便的工具。在对实验方法评价中必须注意试验原理的合理性, 实验方法的正确性, 结果数据的可靠性, 多种体内、外因素对实验的干扰, 评价其批内差异, 批间差异, 线性范围, 患者结果可报告范围, 评价其阳性, 阴性临界值的设定, 试验性能, 试验对仪器试剂的要求……对实验的临床应用价值的评价必须包括参考值和参考范围, 诊断敏感性, 特异性, 阳性和阴性预示值, 临床适用性, 假阳性和假阴性的疾患, 疾患的不同阶段的结果变动, 药物及治疗手段对实验结果的影响等。

#### 五、利用荟萃分析对文献严格评价

医学文献的荟萃分析是建立在循证医学和临床流行病学基础上的新研究方法, 是对成千上万篇相关文献进行全面、科学、系统分析的科学方法。荟萃分析方法很多, 如简单的“投票法”和常用的数据整合法, 它又分为固定效果模型(Fixed Effective Model)和随机效果模型(Random Effective Model), 对此可参考有关专著。

荟萃分析首先要从纳入评价范围的文献中提取有用的信息, 对诊断试验的准确性进行系统评价所需的信息条目, Cochrane 协作组于 1996 年提出如下要求。

##### (一) 研究文献有效性的标准

(1) 实验要与公认的参考方法比较过: ①试验与参考方法已独立地相互比较(最佳); ②已用参考方法测定但未相互比较; ③试验中独立地应用参考标准, 但未相互应用; ④两者未曾独立地相互比较(最差)。

(2) 参考法中所选的患者是否独立于实验结果(避免取样偏差)。

(3) 实验结果是否独立于其他临床信息。

(4) 用参考方法测定是否在可能影响结果的任何治疗之前(避免治疗干扰)。

##### (二) 比较实验研究的有效性标准

1. 比较实验的设计有效性

(1) 所有试验均独立进行(即每人对每试验均为未知), 最为有效;

- (2)不同的人随机分配于不同的试验;
- (3)一个人做所有的试验但未独立分配;
- (4)不同人做不同的试验,而未随机分配(最差)。

## 2. 结果适用性的有关标准

### 1) 临床方面

- (1)疾病的种类(如应用标准方法对肿瘤分期);
- (2)非疾患组(应符合参考标准的要求);
- (3)部门(如门诊或住院,保健等);
- (4)试验前的病程;
- (5)过去曾作过的试验;
- (6)合并症;
- (7)个体信息,年龄、性别或对上述有影响者。

### 2) 试验方面

- (1)试验的类型(如生化试验的方法等);
- (2)明确临界值;
- (3)对评估结果不适用资料的排除率;
- (4)试验重复性。

## (三) 文献质量和应用性间接评定

- (1)研究(或发表)年代;
- (2)疾病发病率;
- (3)样本数量;
- (4)回顾性或前瞻性研究;
- (5)以文章或以摘要形式发表。

荟萃分析虽是新的科学方法,但其结论也受多种因素的影响,如文献检索不全面,包容的文献质量差,文献的入选标准和发表时间的差异以及应用的荟萃分析方法不当等,因此,荟萃分析的结论仍需进一步的实践验证。

检验医学在其长期的发展中积累了许多成熟的对实验方法的评价方案,应自觉地在评价中加以运用。NCCLS 已制定一整套评价方案(Evaluation Protocols. EP)自觉地运用这些方案符合循证检验医学的原则和方法,当然,这些方案也需在实践中不断完善。

在荟萃分析中对诊断实验的系统评价要应用正确的统计学方法,对固定效果模型要用变量分析法, Mantel - Haenszel 法, Peto 法, Prentice - Thomas 法, Greenland 法等;对随机效果模型要用综合性 ROC 曲线法(Summary Receiver Operating Characteristics, SROC), Der simonion Laird 法。其中 SROC 曲线法是评价和对比实验性能的最佳方案,国内已有初步介绍。国内应用此法评价 4 种测定体内缺铁的指标(血清铁、血清总铁结合力、铁蛋白和血清中可溶性转铁蛋白受体),结果以后者为最佳。国外应用 SROC 评价十余种诊断“甲亢”的指标,结果初筛实验以 TSH 最佳,初筛后的鉴别诊断再应用不同的实验。

## 六、在严格评价的基础上将最佳方案用于实践

循证的目的是为了指导实践,即在临床上应用最佳的诊断试验。发达国家在经过试验项

目用于诊断的“激增期”后已进入“冷静期”。这一方面是由于检验项目的增多,尤其是基因诊断、生物芯片等均需高昂的费用,使医疗开支不断上扬,难承重负;另一方面是循证检验医学的深入,要求诊断试验重新评价,做到合理、正确地使用诊断试验,避免滥用和误用。专家们建议将试验分为筛查试验(Screening tests)、鉴别性试验(Differential tests)和确证性试验(Confirmative tests)三层次,不应不加区别地对每个患者都做一套不同层次的试验。一些发达国家已制定了基本的实验项目,如日本病理学会发布的门诊患者的基本试验项目(Essential Laboratory tests, ELT),分为 ELT(1)和 ELT(2)两个层次,其项目是按循证检验医学确定的,并逐步扩展到提供对各类疾患的诊断基本试验,鉴别试验和确证试验,对临床医师可通过实验室专家系统和信息系统(LES, LIS)指导他们选择正确的实验项目。这些无疑会更好地展现循证检验医学的重要性和成果。

## 七、循证检验医学就在我们的日常工作中

通过上述介绍,人们会以为循证检验医学只是专家的事,离我们太远。其实,它就在我们的日常工作中。如我们每日的室内质控或参加室间质评就是发现问题,然后找原因,查文献,得出结论加以改进,再用于实践,由此改进了质量,其过程就是循证检验医学 5 个步骤的体现。又如我们发现试验中的一些问题,欲加以改进,也是循着发现问题→查阅文献→提出改进方法进行严格评估→将新方法用于实践的过程。如果我们能自觉地运用循证检验医学可使我们的工作结果得到普遍承认,事半功倍;如果对此不了解,则可能是事倍功半,甚至徒劳无效。因此自觉地学习与实践循证检验医学是当前每个检验工作者的迫切任务。

## 第三节 诊断试验中的循证医学

所有的诊断试验在临床广泛应用前,均应采用公认可靠的方法学为标准进行评估,目的在于淘汰差的或无用的诊断方法,提高诊断试验的质量,降低医疗保健费用,改善病人的医疗保健。这正是 EBM 的最基本任务。

EBM 对诊断性研究有严格的方法学要求。

学会如何应用正确的方法客观地评价临床诊断性试验,是提高临床诊断性试验的技巧,增强试验的科学性的关键。

### 一、诊断试验研究设计的基本原则

(一)金标准 金标准是指本专业公认的可以明确诊断和排除某种疾病的最佳标准、最可靠的诊断方法。由于金标准对疑诊病人(指研究对象)诊断的准确度(即是否能将疑诊病人正确分为病例组和对照组)是正确评价新的诊断试验的前提,如果金标准选择不当,就会造成对受试者诊断分类上的错误,使整个试验的评价失去准确性的基础,因此金标准的选择至关重要。

临床常用的金标准包括病理学检查(组织活检和尸体解剖)、外科手术所见、特殊的影像学检查,以及因缺乏特异性诊断方法而采用的医学权威机构颁布的或临床医学专家共同制定的公认的综合诊断标准。对于一些慢性进展的非自限性疾病,使用金标准可能风险太大,而长期

随访过程中疾病可能变得明确并获得诊断,对这部分疾病随访的结果也可以作为金标准。一般诊断关心的金标准是手术中所见,诊断肿瘤的金标准一般是病理活检,诊断心肌病的金标准是心肌活检。

**(二)选择研究对象** 如果研究的目的是评价某诊断试验的临床价值,研究对象应为某病的疑诊病例。病例组应该包括所研究疾病的各种临床类型,如轻、中、重型,典型与非典型,病程长与病程短,经治疗和未经治疗的患者;对照组应包括相当比例的临床上容易与所研究的疾病相混淆而需要鉴别的其他疾病患者。

如果研究目的是评价筛选试验价值,研究对象应选自筛检人群。为了保证研究对象能较好地代表目标人群的实际情况,选择研究对象时应充分注意病例组内各临床类型间的构成比例,尽可能注意对照组中各病种间的构成比例,因为研究对象的代表性可影响评价指标的真实性。

**(三)估算样本量** 诊断性研究要求有一定数量的观察对象,即样本量,如果受试病人太少,诊断指标就可能不稳定。足够的样本量是排除机会干扰,如实反映诊断性试验准确性的保证。通常随样本量的增加,真正反映试验的评价指标(如敏感性、特异性)的准确性也增加。样本量至少应在 30 以上,才能保证结果受机会影响的程度在能接受的范围。

四格表表示诊断试验样本量的估算,可以参照统计学中关于配对计数资料的样本量估算公式进行计算。此外,也可以根据待评价诊断试验的敏感性和特异性,按照统计学中有关总体率的样本含量估算方法,分别计算病例组和对照组的样本含量。样本量大小的估算公式如下:

$$n = \frac{U_a^2 P(1-P)}{\delta^2}$$

公式中  $P$  为敏感性或特异性,  $\delta$  为允许波动范围,  $a$  为第一类错误的概率,  $U$  值由  $U$  值表查得。病例组样本量由敏感性估计,对照组样本量由特异性估计。

**(四)诊断试验临界值的制定** 评价诊断试验时,需要把疑诊病人按试验结果的阳性和阴性进行分类。但大多数诊断试验特别是实验室诊断多为生理性连续指标,对于这种连续变量需要选择一个(或多个)区分正常与异常的诊断临界值(Cut off point),又称为截断点或界值,以便根据临界值将定量测定的数据转换成诊断性试验指标的评价。

由于诊断试验的测量结果在病例组及健康人中常有重叠,临界值水平的选择直接影响到敏感性和特异性等评价指标。为使诊断试验的应用更加合理,不仅应当了解健康人的参考值范围和其他疑诊疾病患者该结果的分布范围,而且必需掌握该试验在某病不同病情时的变化范围。因此,诊断试验不仅要有区分健康或非某病与某病的界值,最好还有需要治疗与判断预后后的界值。临界值水平的选择取决于诊断试验的目的与权衡漏诊和误诊的利弊。如果是为了防止漏诊,应选用敏感性稍低的水平作为界值。有时还要根据研究对象中不同年龄组、不同临床特征时临界值的差异对诊断试验准确性的影响等多种临床实际情况,分别选用多个临界值。采用 ROC 曲线法确定诊断试验临界值是目前较为理想的方法。

正常参考值的获得可根据常用的统计学方法,如正态分布法及百分位数法。基本要求是,资料必需来源于健康人的检测结果,同时要注意不同人种、地区、性别、年龄、不同的检测方法和系统误差等对参考值的影响。正态分布法要求资料呈正态分布,且样本含量要大(至少在 100 例以上),以保证样本的代表性和结果的稳定性,一般用均数加减 2 倍标准差作为正常参考值。资料呈偏态分布时,要求使用百分位数法。区分正常与异常的界点可根据需要选取正