

参考区间的理论问题探讨

钟 堃, 王治国[△], 王 薇, 李少男, 白 玉

(北京医院卫生部临床检验中心 100730)

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.04.051

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)04-0526-02

基于人群参考区间最广泛的应用就是解释患者的实验室检验结果。检验结果的临床价值关键依赖于将它们与参考区间所进行的比较,如果相关的参考区间是无效的或某些方面存在缺陷,针对所有确保分析精密的和准确的试验结果的努力,不同程度上将是徒劳的。这里把参考区间的概念作为一个解释工具,当建立和使用参考区间时定义一些相关的术语及解决一些理论方面的考虑。按照这些标准来建立参考区间是一项庞大的工程,在大多数临床实验室的职权范围内是难以完成。相比之下,当向实验室清单中引进一个既定的测试或当改变现有的测试方法/采样操作规程时,验证已知的参考区间是相对轻松得多的工作,所有实验室能够且应该能完成。

1 参考区间的概念

一个“优良”的参考区间是当应用于实验室服务的人群时,正确地包括与参考组具有类似特征的大多数对象并且排除了他人^[1]。优良的“健康相关”参考区间将具有临床上可接受的统计概率的程度,包含那些考虑特定测量参考人群是健康的并且排除那些考虑到的检测与病理(疾病)有关联的所有个体。

参考区间的概念由 Grasbeck 和 Saris^[2]在 1969 年引入,之后得到了广泛的关注, Schneider^[3]回应了一篇文章并阐明正常范围的概念是有缺陷的。当时的做法是将患者的结果与一个定义并不很明确的“数值范围”进行比较,这个“数值范围”(称作“正常范围”)来自一个认为“正常”却错误定义的人群。

2 国际临床化学和检验医学联委会(IFCC)术语定义

2.1 参考个体(reference individual) 根据明确规定的选择(人组)标准,选择出参加实验的个体,通过检验可以得到相应的参考值。通常情况下,“健康人”的标准是难以制定的,但可以制定不健康因素的排除标准。

2.2 参考人群(reference populations) 是参考个体所代表的群体,为数量未知的假设实体,可以只有一个成员(为自身或他人做参考)。

2.3 参考样本组(reference sample group) 指选出代表参考人群的、适当数量的参考个体。统计意义上,一定数量的参考个体是参考人群中的一个抽样组。参考区间的建立过程是对参考样本组的具体研究。

2.4 参考值(reference value) 是对参考个体的某一特定被测量进行检测而得到的值。对一个参考个体进行某项目检测得到的值为该个体的参考值,从参考样本组可以得到一组参考值。参考值反应在健康状态下,人的解剖、生理和生化等机能指标数据的波动状态。

2.5 参考分布(reference distribution) 是指一组参考值的分布状态。

2.6 参考限(reference limit) 是从参考分布得到的界限值,用于描述部分参考值的位置,如小于或等于上限、大于或等于

下限。将参考值由小到大排列,对大多数分析物,可以参考值分布的 2.5% 为低限,97.5% 为高限。当只有单侧参考限具临床意义时,可以确定 5% 或 95% 为参考限。

2.7 参考区间(reference interval) 是在上、下参考限之间的参考值分布范围。依据参考值的分布特性和临床使用要求,选择合适的统计学方法进行归纳分析,确定参考分布中的一部分为参考区间。通常确定的百分范围在 2.5%~97.5% 之间。临床检测结果如果是在确定的参考区间内,临床上视为“正常”;超出参考区间则视为“异常”。

2.8 观测值(患者检测结果) 是由观察或测量获得的特定类型的值并且作出医学决策。可以和参考值、参考分布、参考界限或者参考区间进行比较。

3 参考区间的建立

参考区间的建立过程包括 4 个主要步骤:定义参考人群;选择参考个体;参考个体检验项目的测量;测量数据的统计检验——确定参考界限。

就这 4 个步骤,简要分析围绕参照区间立和使用的一些理论问题。

3.1 定义参考人群 IFCC 建议使用“参考人群”这个术语,却没有定义和描述参考人群。例如,没有暗示存在的健康,也就是允许建立健康和疾病的参考区间。定义参考人群是建立有效参考区间准备的基础。这个定义必须基于明确的认识如何使用参考区间,也必须基于对有关分析项目(被测量)问题的清楚理解,例如,它的病理生理学意义和生物变异。很明显,对于“健康相关”参考区间,参考人群必须健康但也有其他考虑,最有意义的就是年龄和性别。种族和社会经济因素可能在一些情况会有意义。重要的一点就是参考人群应该是患者可接受的“对照”,对检验结果将如何使用具有适当的考虑。无论选择的参考人群是何特征,应明确界定以便选择最适当的参考样本组。

3.2 选择参考个体 理想情况下,参照样本组应完全反映参考人群。如果参考个体是随机地从参考人群中选取便可以实现这一要求。由于随机选择要求参考人群中每一个成员——可十万,甚至百万——具有同等机会被选中,如果实际中可能达到,也会是十分困难的。即使这样,随机选择是应该争取的目标,如果可能的话,应该避免明确非随机选择(例如只从实验室工作人员和献血者选择)。

为了“健康相关”参考区间的建立,参考个体必须是健康的,但是健康是个相对概念,难以定义,甚至很难定义个体^[4]。比如,成年人可能患有潜在的或亚临床疾病(如动脉粥样硬化),虽然他们可能表面上看起来很健康。身体健康的主观感觉(“我感觉很好”)并不保证健康状态。由于难以以任何有意义的或有效的方法界定健康,通常务实的解决办法是试图排除

[△] 通讯作者, E-mail: zhiguo-w@hotmail.com。

所有这些疾病以及具有不健康生活方式的个人。为此,选择参考个体的排除标准可能包括:当前疾病、近期住院、使用处方药或者致欣快类药物、肥胖、习惯吸烟、血压升高等。无论什么排除标准用来选择“健康”参考个体,这些将根据有关的分析物的病理生理意义而不同;他们需要作适当的调整。例如,有过黄疸病史的人当建立血清胆红素参考区间时可认为是一个适当的排除标准,而如果目标是血浆钠的参考区间则可能认为不用(必要的)排除。可能要应用到其他的纳入/排除标准(如年龄、性别、种族等)来确保参考个体尽可能的与那些定义的参考人群具有同样的性质。

除了对参考个体选择的定性考虑外,重要的是要考虑参考样本组的大小。很明显,样本量越大,得出的参考区间是“真”的参考人群的参考区间的统计信心就越高。要求最小 40 个样本可以计算 95% 参考区间,其包括来自一组数据中间的 95%,排除范围两端的 2.5%^[6](请看下面的显著性)。IFCC 建议一个参考样本组应不少于 120 个个体。这是需要的最少的个数来计算由非参数统计量确定 95% 参考区间的 90% 可信界限^[6-7]。如考虑的分析物显示出特别明显的偏斜度,则要求大量的参考个体(达到 700 个)^[7]。有可能认为有必要根据年龄或性别来进行分区参考组,以便提供年龄或性别的参照区间^[8]。在这种情况下每组的人数应至少包括 120 个。

3.3 参考个体检测项目的测量 既然选择适当大小的参照样本组,焦点转向在所选择的参考个体上对所研究的分析物的测量。一个关键的考虑因素是减少不必要的或可避免的变异。这会降低了参考区间的“生物噪音”,使它更容易的检测到患者样本疾病的“生物信号”。

变异性可从两个方面考虑:分析前变异性由于分析前的因素作用。分析前变异性可进一步分为由于生物因素的体内变异性和由于非生物因素的体外变异性。体内因素可能影响检测项目浓度包括:样本类型、生物钟节律(每日、每周、每月、每季度)、禁食、自上次进食的时间、体位(站立、坐位、平躺)、最近锻炼情况及在样本采集时止血带的使用。体外变异性与样本采集和处理有关。这里感兴趣的因素包括溶血的程度、样本容器类型、样本容器中的防腐剂、样本收集与离心/分析的时间间隔和样本储存条件。

本研究要求参考区间建立需要考虑所有的可能分析前变异性来源和所研究的分析物他们个体的显著性评价。这允许制定一项特殊规程来规定参考个体的准备、样本收集时间、样本类型、详细的样本采集和样本处理细节等。按照哲学的立场,参考个体是患者的“对照”,至关重要是此规程适用于参考个体,也同样地应用于当采集和处理患者样本时。

用来产生参考值的方法学理想的情况下应该与产生观察值(患者检验结果)的方法相一致。如果不一样,方法必须在精密度和准确度方面具有可比性,并且可溯源至共同标准。当然重要的是观察值的分析变异性要与参考值的相同。为此,应与患者样本一起分析样本来确定参考值。它们应该多批次的分析来考虑患者样本不可避免地会受到长时间的分析变异性(批间变异性)的影响。

3.4 测量数据的统计检验 最后一部分探讨参考个体测量所生成的数据(参考值)用于建立参考区间的方法。这是一个任意的,而且是长期持有的广泛应用惯例就是观测值(患者测试结果)没有与较全面的参考值比较,而是与位于参考分布的中间范围截断 95% 的值进行比较。每一末端 2.5% 的值被排除

在外,这样规定参考区间的 2 个参考界限就参考分布第 2.5 百分位和第 97.5 百分位的值。

参考界限可由参数或非参数统计方法进行估计。参数方法仅可以应用于高斯分布,如果分析项目显示偏态(非高斯)分布,必须将参考值转换(比如对数转换)为对数-高斯分布以应用于参数方法。但是实际中的复杂统计工具必须被应用到参考数据(和转换后的参考数据)为了确定在应用参数方法之前大约足够接近高斯分布来确定参考界限。一旦确认为高斯分布,就可以计算参考值的均值和标准差,然后使用这些参数会确定参考界限。对于一个高斯分布,95% 的数值落在均值 ± 1.96 标准差以内,这样 2.5% 和 97.5% 参考界限分别是 $\bar{x} - 1.96SD$ 和 $\bar{x} + 1.96SD$ 。

非参数统计方法更加简单并且可应用于不考虑分布特性的数据。IFCC 推荐估计参考区间的方法是非参数方法,主要涉及简单地不包括最低和最高 2.5% 的参考值。

常见的做法是为两个估计的参考界限的每一个计算 90% 的置信区间(CI)。这表明如果估计从整个参考人群所得参考值,“真实”参考界限将会落在 90% 置信区间以内,提供估计参考界限可靠性的指标。

4 总 结

参考区间理论目前已经成为教科书里诸多用于解释实验室结果的多种工具之一。IFCC 的术语定义,加强突出的参考区间科学基础,讨论一些与参考区间建立和使用有关的问题(和解决方案)。目前已有部分国内研究采用了本文介绍的方法学原理^[9-10],很有希望在以后的文章中为一个更实际的问题讨论建立良好的基础。

参考文献

- [1] Cerriotti F. Pre-requisites for use of common reference intervals [J]. Clin Biochem Rev, 2007, 28(12): 115-121.
- [2] Grasbeck R, Saris NE. Establishment and use of normal values [J]. Scand J Clin Lab Invest, 1969, 26(Suppl 110): 62-63.
- [3] Schneider AJ. Some thoughts on normal or standard values in clinical medicine [J]. Pediatrics, 1960, 26(5): 973-984.
- [4] Grasbeck R. Reference values, why and how [J]. Scand J Clin Lab Invest, 1990, 50(210): 45-53.
- [5] Jones R, Payne B. Data for diagnosis and monitoring (chapter 3) in: clinical investigations and statistics in laboratory medicine [M]. ACB Venture Publications, 1997.
- [6] Horn PS, Pesce AJ. Reference intervals; an update [J]. Clin Chim Acta, 2003, 334(3): 5-23.
- [7] Linnet K. Two-stage transformations for normalization of reference distributions evaluated [J]. Clin Chem, 1987, 33(68): 381-386.
- [8] Harris EK, Boyd JC. On dividing reference data into subgroups to produce separate reference ranges [J]. Clin Chem, 1990, 36(11): 265-270.
- [9] 陈月生. 婴幼儿血液中肌酐正常参考值的研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(5): 432-435.
- [10] 高才凤. 甘肃藏族地区玛曲县健康成人静脉血细胞参考范围调查 [J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(6): 507-510.

(收稿日期: 2010-05-04)