

作规程,加强工作人员技能培训,正确进行各项操作,选购高质量的塑料采血袋等来减少造成离心破损的因素,从各方面总体控制离心破袋率^[6]。

3.6 溶血逐年升高,报废 254 例,报废率为 0.19%。可能的原因有:(1)有些献血者初次献血,由于心理、生理、血管较细以及工作人员穿刺技术等造成血流不畅、多针采血等现象;(2)车内空气流通不畅、温度过高、血液在冰箱外存放时间较长等均可影响血液质量;(3)运输过程中,保存温度的差异;(4)搬运过程中,可能出现过度碰撞的现象。所以建议,在采血车上采血后及时将血液放入冷藏冰箱内保存;血细胞抗摔打能力弱,应该加强责任心,保证血液轻拿轻放;注重加强采血工作人员的业务技能训练,提高一针穿刺率;加强血液运输过程中的冷链管理。

总之,血液属人体生命的宝贵资源,充分利用好无偿献血者所献的血液。在血液的采集、检测、分离制备过程中,把好各道关卡,采取有效的预防措施,采取科学合理的管理方法,在查找原因的同时,应针对报废的统计报表建立预警机制,各部门建立起自我诊断、自我改进和自我完善的机制,加强技术人员的培训,不断提高技术水平和熟练程度,严格按照要求采集血液;

• 质控与标规 •

根据临床需求,制定采供血计划,严控血液库存量,避免盲目采血等综合措施,避免不必要的血液浪费是血站工作者应尽的职责。

参考文献

- [1] 邱艳. 全血成份血质量要求与血液标准化[M]. 北京:中国标准出版社,2003:17-18.
- [2] 叶应妩,王毓三,申子瑜,等. 全国临床检验操作规程[M]. 3 版. 南京:东南大学出版社,2006:164-165.
- [3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 18469-2001 全血及成份血质量要求[S]. 北京:中国标准出版社,2002:4-8.
- [4] 高艳,陈志强,麦永平,等. 茂名市无偿献血人群血液检测情况分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(6):599-600.
- [5] 张健,黎淦平,何小红,等. 深圳市宝安区采供血现状调查分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7):747-748.
- [6] 杨培琴,蔡俊丽. 血液袋离心破损原因分析[J]. 中国输血杂志,2005,18(3):233.

(收稿日期:2011-08-01)

生物学变异在制定临床检验质量规范中的应用

何法霖,王治国,李少男,王 薇,钟 堃,张 妍,白 玉

(卫生部北京医院/卫生部临床检验中心,北京 100730)

摘 要:目的 探讨生物学变异在制定临床检验质量规范中的应用。方法 通过阅读大量关于生物学变异的文献。结果 检验医学所使用的每一种分析方法可以根据其性能特征进行详细的描述。理想情况下,对所有这些特征应该可获得质量规范,特别是不精密度和偏倚。这些质量规范可以用各种策略来建立。考虑到临床使用参考区间来监测和诊断患者,质量规范应该基于生物学变异分量,即个体内(CV_I)和个体间(CV_G)变异。结论 当前的共识是不精密度应该小于 $1/2CV_I$ 和偏倚应该小于 $1/4[CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$,这种策略的优势在于能轻易获得 180 多种检验项目的生物学变异分量的数据,同时可以建立 3 个不同水平的质量规范,即最佳: $CV_A < 0.25CV_I$, $[B_A] < 0.125[CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$;适当: $CV_A < 0.50CV_I$, $[B_A] < 0.250[CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$;最低: $CV_A < 0.75CV_I$, $[B_A] < 0.250[CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 。另外相关的出版物,制造商和室间质评计划组织者需要传播应用客观质量规范的信息。

关键词:偏倚; 质量规范; 精密密度; 生物学变异

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.18.034

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)18-2117-03

每个实验室的实验有许多不同的性能特征——实用性特征(如技能要求、分析速度、要求的样本量及分析的样本类型)和可靠性特征(如精密密度、偏倚、检测限和测量范围)。理想情况下,每一实验室程序的每一性能特征应该可获得质量规范。现阅读文献发现,特别是在临床化学杂志,可能表明在规定的质量规范上几乎没有问题。然而,需要或获得的许多存在的关于分析质量已发布的声明是很主观的。专业文献更详细的阅读可能给出无法抗拒的印象确实没有问题,因为有许多研究论述了质量规范的产生和应用^[1]。事实上,在决定质量规范上依然有问题,特别是精密密度和偏倚这样关键的可靠性特征^[2]。尽管存在这些困难,对质量规范的许多需求是明显的,并已在之前的文献中详细地说明^[1]。普遍地规定质量规范应该是基于“医疗需求”。一些质量规范,特别是对于实用性特征,确实应该通过与临床医师讨论、发放调查问卷或反馈的分析来获得,然而,这样的策略可能不太适合于产生精密密度和偏倚的质量规范。现描述产生这些客观质量规范的最好方法,且将其坚定地基于

实验结果的主要临床用途,即监测和诊断。

1 监测单个的患者

完成多数实验室的实验是为了监测的目的,其可能是一个短期的监测。如当一例患有急性病的患者住院时,也可能是一个中期的监测,如用肝功能实验来评估肝炎患者的恢复情况,还有可能需要监测许多年,如监测甲状腺激素替代治疗或者使用肿瘤标志物评估可能的复发。不考虑时间的刻度,监测最好是涉及到随时推移来自个体实验结果的比较。在一系列结果上的变化可能是由于患者的病情见好,患者病情转坏,分析前变异,生物变异(个体内生物学变异 CV_I)和分析变异(固有的不精密密度 CV_A)。因此,如果通过良好的采血方式和标准化的样本运输、处理和储存技术最小化分析前变异来源,然后评估患者的状况是转好还是转坏(也就是说是否发生显著性的变化),改变必须超过由于生物学和分析变异的固有变异。这种临界差值或者使用类似于国际临床化学和检验医学联合会(IFCC)使用的术语^[3]。参考变化值(RCV),其必须超过 $2^{1/2}$ •

$Z \cdot [CV_A^2 + CV_I^2]^{1/2}$, 其中 Z 是适合于选择概率的标准偏差数 (如 $P < 0.05$ 时 $Z = 1.96$, $P < 0.01$ 时 $Z = 2.56$)。证明精密度对医学决策的影响是很简单的, 以胆固醇为例, 随着不精密度增大对于显著性 ($P < 0.05$) 所要求改变的增加, 见表 1。

表 1 血清胆固醇在 $P < 0.05$ 时不精密度 ($CV\%$) 对参考变化值 (RCV) 的影响

不精密度[CV, %]	参考变化值(RCV, %)
2	17.5
4	20.0
6	23.5
8	27.7
10	32.3

很清楚, 考虑到分析精密度在监测单个患者变化上的医疗需求环境的影响, 注意生物学变异是必要的, 并且重要的是个体内生物学变异。通过分析 (精密度) 较容易地计算出加到真实实验结果变异性 (生物学的) 的变量^[4], 并且当 CV_A 是 CV_I 不同的分数时, 图形显示增加的变异性见图 1^[5]。当 CV_A 增加时, 增加的误差量也增加, 这种增加不是简单的线性。分析变异应该小于 1/2 平均个体内生物学变异这个概念是由 Ricos 等^[6]提出。Fraser 等^[7]详细阐述了统计学基础, 他证明了如果分析变异系数 (CV_A) 小于平均个体内生物学变异 [CV_I] 的 1/2, 即 $CV_A < 1/2 CV_I$, 则增加的变异性大约是 10% (实际是 11.8%), 其被规定为是“合理的”。

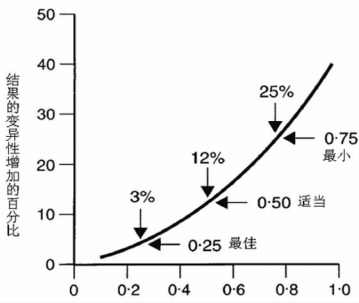


图 1 分析的不精密度与个体生物学变异的比率

实验结果变异性增加的百分数, 显示出基于个体内生物学变异 3 种可能的质量规范。

最近这个概念已得到了扩展^[5]。如上所述, 相对于个体内生物学变异增加分析的不精密度则增加实验结果的变异性。更详细的数值分析显示, 当 $CV_A < 0.75 CV_I$ 时, 则最多 25% 的变异性被增加到实验结果的变异性上, 当 $CV_A < 0.50 CV_I$ 时, 则增加小于 12% 的变异性; 当小于 0.25 时, 增加最多为 3% 的变异性。总之, 如图 1 所示, 也就是 $CV_A < 0.50 CV_I$ 规定为适当的性能且产生的这些质量规范应被视为普遍适用。然而, 基于生物学质量规范的使用者可能认为 $CV_A < 0.25 CV_I$ 能规定为最佳的性能, 使用这个公式产生更为严格的质量规范应用于使用目前的技术和方法学, 能轻松达到适当的性能的那些项目。 $CV_A < 0.75 CV_I$ 规定为最低的性能, 使用这个公式产生不太严格的质量规范应用于使用目前的技术和方法学不能达到适当的性能标准的那些项目。

2 诊 断

尽管实验结果能够与固定的标准相比, 如基于风险的项目 (胆固醇), 协商一致的临床指南 (葡萄糖) 或者地方同意的算

法, 大多数的诊断决策看来是基于与人群的参考限的比较。

参考区间的分散由分析变异、个体内生物学变异和个体间生物学变异组成。如果忽略分析变异, 则分散相当于 $1.96 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$, 也就是 1.96 倍“组”生物学变异。每一参考限以外人群增加的百分数为偏倚与组生物学变异的比率的函数, 见图 2^[5]。一个正偏倚将增加在参考上限以外的百分数并且降低在参考下限以外的百分数。一个负偏倚将有相同的影响, 但是在相反的参考界限上。

理想的概念是, 从医疗需求的观点, 同质人群地区整个实验室应该使用相同的参考区间, 其最早由 Gowans 等^[8]提出, 他指出要达到这一要求, $[B_A] < 1/4 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 。可以计算出来当 $[B_A] < 0.375 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 时, 则 1.0% 会在一侧的参考限外, 5.7% 会超过另一侧参考限; 当 $[B_A] < 0.250 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 时, 则 1.4% 会在其中一侧参考限外, 4.4% 会在另一侧参考限外; 当 $[B_A] < 0.125 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 时, 则 1.8% 会在其中一侧参考限外, 3.3% 会在另一侧参考限外。总之, 类似于之前的精密度, 最近认为是如图 2 所示^[5], 由 $[B_A] < 0.250 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 规定为适当的性能, 且产生的这些质量规范应被视为普遍适用的。然而, 基于生物学质量规范的使用者可能认为 $[B_A] < 0.125 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 能规定为最佳的性能, 使用这个公式产生更为严格的质量规范应用于目前的技术和方法学能轻松达到适当的性能的那些项目。 $[B_A] < 0.375 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 规定为最低的性能, 使用这个公式产生不太严格的质量规范应用于目前的技术和方法学不能达到适当的性能标准的那些项目。

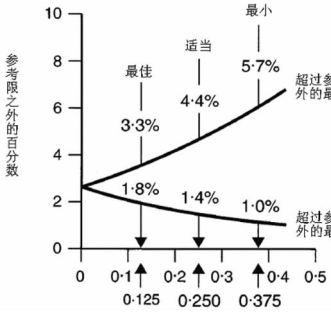


图 2 偏倚与组生物学变异的比率

实验结果变异性增加的百分数, 表示基于个体内生物学变异 3 种可能的质量规范。

3 其他的性能特征

目前欧洲一致认为不精密度小于 $0.5 CV_I$, 偏倚小于 $0.250 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$ 。此外, 其他的性能特征的质量规范也可以基于生物学。对在一个实验室内分析相同项目所使用的两种分析方法之间所允许的差异设定质量规范, 如允许差值小于 $1/3 CV_I$ ^[9]。生物学变异数据可以用于在室间质量评价计划 (EQAS) 中建立固定接受限, 即 ($P < 0.01$): $2.33 [1/2 CV_I] + 1/4 [CV_I^2 + CV_G^2]^{1/2}$, 这是精密度和偏倚的适当的质量规范的简单结合。

已经建议当参考方法用于常规方法的确认时, 推荐使用之前论述过的较严格的质量规范, 但对于在此的应用, 这个标准需要减半。当在 EQAS 中设值时, 用在 EQAS 可接受的固定限 ($P < 0.01$) 应该除以 5。

4 当前的共识

因此, 目前欧洲的专家一致认为最好的质量规范是基于利用生物学变异计算。这些策略的优势在于它们直接与医疗需

求相关。而且,对于许多项目可获得生物学变异分量的数据,且在容易获得的文献中有大量的汇编。最近的出版物使得这些数据很容易获得。另外,这些估计值好像普遍地独立于研究场所、研究对象的数量、研究的时间、分析方法、研究对象的年龄或者其是否处于健康状态,或虽有慢性疾病但是处于稳定状态,因此可以无所不在地使用已发表的数据。

5 质量规范的传播

关于质量规范的产生和应用已做了大量的工作,它们的传播主要是通过发表的论文、读者来信、综述、书籍中章节和会议论文集。然而,应该鼓励正确地应用规范。与新的方法、试剂盒或分析系统评价有关的文章作者并没有使用客观的质量规范作为可接受性的准则,杂志编辑和审稿人应该鼓励作者使用这些客观的规范;另外,杂志在给作者的须知中就应包括这些内容。工业上不仅要使用客观的规范来识别急需在方法上和系统的发展上需要改进的那些项目,而且它们能帮助传播质量规范的有关资料,即在它们的标识上文件记录这些资料,就像当前介绍的性能特征和参考值一样。能力验证(PT)计划和室内质量评价计划(EQAS)的组织者在鼓励使用客观质量规范上扮演着重要的角色,即通过使用这些质量规范作为固定限来评估实验室的性能和通过使用这些准则强调可接受的和不可接受的方法。希望通过这些努力鼓励对于实验室程序的性能特征更多的使用基于生物学变异的质量规范。

参考文献

[1] Petersen HP, Fraser CG, Kallner A, et al. Strategies to set global

analytical quality specifications in laboratory medicine[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1999, 59(11): 575-585.

[2] Fraser CG, Petersen HP. Analytical performance characteristics should be judged against objective quality specifications[J]. Clin Chem, 1999, 45(26): 321-323.

[3] Petersen HP, Horder M. Influence of analytical quality on test results[J]. Scand J Clin Lab Investing, 1992, 58(19): 65-87.

[4] Fraser CG. Biological Variation: from principles to practice[M]. Washington DC: AACC Press, 2001.

[5] Fraser CG, Petersen HP, Libeer JC, et al. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology[J]. Ann Clin Lab Invest, 1997, 34(16): 8-12.

[6] Ricos C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress[J]. Scand J Clin Lab Invest, 1999, 59(21): 491-500.

[7] Fraser CG, Petersen HP, Ricos C, et al. Proposed quality specifications for reference methods and operating specifications for networks of reference laboratories[J]. Eur J Clin Chem Clin Biochem, 1992, 30(13): 949-957.

[8] Fred SA, Mauro P, Jan R, et al. Quality specifications for B-Type natriuretic peptide assays[J]. Clin Chem, 2005, 51(21): 486-493.

[9] Fraser CG. Quality specifications for imprecision of B-Type natriuretic peptide assays[J]. Clin Chem, 2005, 51(14): 1307-1309.

(收稿日期: 2011-02-12)

(上接第 2112 页)



图 2 依次稀释 10 倍的扩增条带

3 讨论

近年来,随着分子生物学技术的发展,实时荧光 RT-PCR 技术为快速检测各种病毒提供了强有力的技术支持。同时实时荧光 RT-PCR 检测方法普通的 RT-PCR 检测方法相比,具有独特的优势:(1)扩增反应和结果分析是在完全封闭的反应管内进行的,能有效防止扩增产物在空气中的扩散。发生交叉污染的概率更小,确保了检测结果的准确。(2)试剂和标本核酸是在 PCR 扩增仪上进行扩增和分析,扩增效率高,又无需进行琼脂糖电泳,因此实验人员不需要接触到溴化乙锭等致癌物,有效地保障了实验人员的身体健康并且节省了电泳的时间。(3)结果不需要用紫外灯进行观测,可直接通过电脑软件收集荧光信号并及时在电脑上显示扩增曲线,具有结果直观、重复性好、特异性和灵敏性强、操作简便等优点^[4]。

通常实验室对流感标本的核酸检测多会选择普通 RT-PCR 方法,但在暴发疫情时,本组建议还是选择实时荧光 RT-PCR,因为通过本实验证明,实时荧光 RT-PCR 敏感性更高,这样在检测时就不会因为浓度低而不能被检测到的标本^[5]。

本实验中,对原液浓度为 41.6 ng/ μ L 的 RNA 标本分别

稀释了 10、100、1 000 倍,即稀释 1 000 倍时, RNA 浓度仅为 0.041 6 ng/ μ L,相当于 41.6 pg/ μ L,此时,实时荧光 RT-PCR 仍能看到扩增曲线,而普通 RT-PCR 则在 RNA 浓度为 41.6 pg/ μ L 时就不能检测出条带了。经实验表明该方法具有良好的特异性和重复性,敏感度与 RNA 浓度有极大的相关性。本研究可对流感核酸检测工作提供良好的技术支持。

综上所述,实时荧光 RT-PCR 法检测具有敏感性和特异性高、定性准确、重复性好等特点,有助于动态反映病毒复制和突变情况,预测抗病毒治疗效果,是了解病情严重程度、病情转归及预后的有效手段之一^[6]。

参考文献

[1] 严安,丁国徽,周正峰,等. 利用 RT-PCR 特异扩增甲型流感病毒 HA 基因多变区片段并测序确定分型的方法[J]. 科学通报, 2009, 54(12): 1648-1651.

[2] 张欣,闫惠平,刘秀红,等. 甲型 H1N1 流感病毒核酸检测的应用及临床相关性的探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2010, 33(9): 872-874.

[3] 中国疾病预防控制中心. 甲型 H1N1 流感监测方案[S]. 2009-05-11[EB/OL]. <http://www.chinacdc.net.cn/n272442/n272530/n273736/n273781/n4624704/n4661330/index.html>.

[4] 廖国东,陈家图,李晖,等. 应用实时荧光 RT-PCR 技术检测诺如病毒感染[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 91-92.

[5] 尹惠琼,刘松婷,史利军,等. 甲型 H1N1 流感病毒核酸荧光定量 RT-PCR 检测技术[J]. 生物技术通讯, 2010, 21(2): 244-247.

[6] 张金菊,牛恒彩. 实时荧光 RT-PCR 在麻疹和风疹病毒检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 256-257.

(收稿日期: 2011-08-21)