

• 论 著 •

成人血细胞分析参考区间适用性验证探讨

杨银芳,张 磊,何 超,李 琳,李燕平[△]
(兰州大学第一医院检验科,甘肃兰州 730000)

摘 要:目的 为了对卫生行业标准 WS/T 405-2012 血细胞分析参考区间中全血细胞计数相关检测指标的参考区间进行验证,以判断该标准是否适用于本实验室。方法 采用美国临床实验室标准化协会(CLSI)文件 C28-A3 中的推荐方法,采集 40 例健康参考个体的临床血液标本进行规范化检测和验证分析。结果 40 例健康参考个体的 18 项血细胞分析相关指标[WBC、RBC、血红蛋白(HGB)、血细胞比容(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板(PLT)等]的检测结果超出 WS/T 405-2012 血细胞分析参考区间的概率均不超过 10%(允许值为大于或等于 90%)。结论 卫生行业标准 WS/T 405-2012 血细胞分析参考区间可以应用于本临床实验室。为了确保参考区间的临床适用性,实验室还应建立合理、完善的参考区间验证程序。

关键词:血细胞; 参考区间验证; 健康参考个体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.020

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)17-2502-03

Study on the validation for reference intervals of adult blood cell analysis

Yang Yinfang, Zhang Lei, He Chao, Li Lin, Li Yanping[△]

(Department of Clinical Laboratory, the First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China)

Abstract:Objective In order to verify the validation of the industry standard WS/T 405-2012 about adult blood cell analysis reference range, and ensuring their clinical application, **Methods** According to Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI) C28-A3 recommendation method, 40 health reference individuals were enrolled in the study whose blood samples were collected, detected and analyzed. **Results** The blood cell analysis indicators involved in the validation included WBC, RBC, hemoglobin(HGB), hematocrit(HCT), mean corpuscular volume(MCV), mean corpuscular hemoglobin(MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration(MCHC), platelet(PLT), etc. The probability of all results of selected 40 reference individuals beyond the WS/T 405-2012 blood cell analysis reference interval were no more than 10% (value 90% or higher). **Conclusion** The WS/T 405-2012 blood cell analysis reference range is suitable for the laboratory. A perfective verification system should be established to ensure its application.

Key words: blood cells; verification of reference intervals; reference individuals

在临床实际工作中,临床检验已经成为医生对临床疾病的诊断、治疗和预后进行判断的重要监测手段,检验项目的参考区间是临床上进行相关疾病诊断及健康评估的重要依据。但其受种族、地域分布、环境、遗传、饮食及年龄、性别等诸多因素的影响。因而参考区间的准确性、可靠性、适用性与临床疾病的诊断效率密切相关。实验室只有给临床科室提供一个准确可靠的检测项目参考区间,才能保证临床医生对健康体检者或患者进行明确的诊断和有效的治疗^[1],否则将会导致临床医生对疾病的误诊,甚至给予错误的治疗。因此建立准确、适用、可靠的参考区间,对于实验室而言意义重大^[2]。但参考区间的建立工作量和成本巨大,对参考个体的选择也有严格的要求,仅依靠单个实验室建立参考区间很难。美国临床实验室标准化协会(CLSI)C28-A3^[3]文件推荐临床实验室可以对生产厂商提供的或由其他实验室制定的参考区间进行引用、转移,并通过进行参考区间的适用性验证,从而建立适合于本实验室的参考区间。本研究采用 WS/T 402^[4]中的推荐方法对 WS/T 405-2012^[5]血细胞分析参考区间在临床实验室的适用性进行验证、探讨。

1 材料与方法

1.1 标本来源 严格按照纳入和排除标准,进行相关问卷调查、实验室检查、体格检查及肝、胆、脾超声检查等^[6-7],共选取 2014 年 8 月兰州大学第一医院体检中心的健康参考个体共 40

例,其中男 20 例、女 20 例,年龄 20~60 岁。本次研究只对成年人的生物参考区间进行探讨。

1.2 仪器与试剂 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪(已经过性能验证和校准)及原装配套试剂、质控物、校准物。

1.3 方法

1.3.1 健康参考个体的选择^[8] 纳入条件:(1)自觉健康,无任何影响血细胞检测结果的相关生理指征;(2)近期末进行饮食治疗或服用药物;(3)精神正常,无营养不良,无肝、胆、肾、胰、心血管和肺等器质性疾病;(4)近期无输血、献血和手术史;(5)妇女不在月经期、妊娠期及哺乳期;(6)无大量饮酒史。无其他一切对检验结果有影响的因素。初步确定符合要求后,进行全面体检,综合所有体检结果,最终选择合格参考个体 40 例。

1.3.2 合格参考个体的确认 检查并剔除离群值,选择符合要求的合格参考个体。离群值检验采用 Dixon 方法^[9-7];首先按照一定顺序对所有检测结果进行排序并计算全距 R,然后再分别计算出最大值、最小值与其相邻数据的差值 D;如果 $D/R \geq 1/3$,则考虑此最大值或最小值为离群值并将其剔除。重复上述步骤对余下的数据进行检验。

1.3.3 标本检测 按照本院临床检验中心采集、处理、分析样品的标准化操作规程(SOP)文件,收集 40 例健康参考个体的血液标本,在 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪上检测标本的 18

项血细胞分析相关指标[WBC、RBC、血红蛋白(HGB)、血细胞比容(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白量(MCH)、平均血红蛋白浓度(MCHC)、血小板(PLT)等]。

1.3.4 参考区间的验证 按照 WS/T 405-2012^[5]有关规定进行:判断参考区间适宜引用的标准为 $R\geqslant 90\%$, R =落在引用参考区间内的检测值的参考个体数/总的参考个体数 $\times 100\%$ 。将健康参考个体(40 例)的检验结果与卫生部颁布的行业标准血细胞分析参考区间值进行比较,如果超出参考区间的数据比例不超过 10%(4 例)则说明验证通过;否则需要重新选择至少 20 名健康参考个体,按照前述的判断标准进行验证。若验证结果符合参考区间适宜引用标准要求,则实验室可以直接使用此参考区间,否则需要进一步分析查找原因^[5,7]。

1.4 统计学处理 使用 Excel2003 软件对 40 例健康参考个体标本的检测结果进行记录;按照 CLSI 参考区间使用指南剔除离群值(Dixon 法则即 1/3 规则);使用统计软件 SPSS19.0 对检测结果进行统计描述分析。

2 结 果

2.1 40 例健康参考个体标本的检测 在已经过性能验证和校准的 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪上进行测定,根据 Dixon 法则判断 40 例健康参考个体检测结果有无离群值存在(以 WBC 为例,其中 $D=0.1$, $R=5.0$, $D/R=0.02<1/3$)。40 例健康参考个体的检测结果均在卫生部行业标准规定的参考区间内[WBC:($3.5\sim 9.5$) $\times 10^9/L$], $R=100\%$,允许值大于或等于 90%。参与本次参考范围验证的 40 例健康参考个体的检

测结果均落在 WS/T 405-2012 血细胞分析参考区间范围内,见表 1。

表 1 健康参考个体的部分检测项目的结果

检测项目	新参考区间	参考范围
WBC($\times 10^9/L$)	3.5~9.5	4.0~9.0
RBC($\times 10^{12}/L$)		
男	4.3~5.8	4.4~5.6
女	3.8~5.1	4.2~5.1
HGB(g/L)		
男	130~175	138~174
女	115~150	128~150
HCT(L/L)		
男	0.40~0.50	0.41~0.49
女	0.35~0.45	0.39~0.45
MCV(fL)	82~100	84~96
MCH(pg)	27~34	28~33
MCHC(g/L)	316~354	328~354
PLT($\times 10^9/L$)	125~350	128~313

2.2 验证结果分析 本次研究中血细胞分析指标 WBC、RBC、HGB、HCT、MCV、MCH、MCHC、PLT 等 18 项检测指标的参考区间验证允许值 $R\geqslant 90\%$,视为参考区间验证通过,故本实验室可以使用 WS/T 405 血细胞分析参考区间。见表 2。

表 2 健康参考个体检测结果

检验项目	新参考范围	离群值剔除		R(%)
		D _{最小} /R	D _{最大} /R	
WBC($\times 10^9/L$)	3.5~9.5	0.04	0.02	100.0
RBC($\times 10^{12}/L$)				
男	4.3~5.8	0.213	0.031	100.0
女	3.8~5.1	0.12	0.11	97.5
HGB(g/L)				
男	130~175	0.227	0.136	100.0
女	115~150	0.000	0.087	97.5
HCT(L/L)				
男	0.40~0.50	0.286	0.048	100.0
女	0.35~0.45	0.000	0.113	100.0
MCV(fL)	82~100	0.016	0.088	100.0
MCH(pg)	27~34	0.039	0.039	100.0
MCHC(g/L)	316~354	0.088	0.147	97.5
中性粒细胞(%)	40.0~75.0	0.070	0.026	100.0
淋巴细胞(%)	20.0~50.0	0.045	0.086	100.0
嗜酸性粒细胞(%)	0.4~8.0	0.012	0.151	92.5
嗜碱性粒细胞(%)	0.0~1.0	0	0	100.0
单核细胞(%)	3.0~10.0	0.162	0.027	100.0
中性粒细胞绝对值($\times 10^9/L$)	1.800~6.300	0.146	0.084	97.5
淋巴细胞绝对值($\times 10^9/L$)	1.10~3.20	0.07	0.04	100.0
嗜酸性粒细胞绝对值($\times 10^9/L$)	0.020~0.520	0.023	0.000	97.5
嗜碱性粒细胞绝对值($\times 10^9/L$)	0.000~0.060	0.000	0.292	100.0
单核细胞绝对值($\times 10^9/L$)	0.100~0.600	0.000	0.094	100.0
PLT($\times 10^9/L$)	125~350	0.097	0.043	100.0

3 讨 论

临床检验项目参考区间是解释临床检验结果、判断疾病诊断、进行健康评估的重要依据,准确、可靠的参考区间与临床医生对疾病的诊断效率密切相关。参考区间的不确定性会导致临床医生对疾病的误诊、漏诊,给患者带来不必要的心理和经济负担。目前临床实验室所用参考区间来源于《全国临床检验操作规程》、教科书、仪器厂家说明书、实验室自己制定、其他实验室确定等,这些数据多来源于其他国家二三十年前参考区间或小样本局部地区人群或数据库参考区间的研究结果,而随着社会、经济的发展,人民生活水平的提高,人体的生理状态发生了明显的改变,各项指标也发生了相应的改变,许多项目参考区间不再适用。因此实验室建立血细胞分析参考区间的意义重大。但根据《医学实验室——质量和能力的专用要求》^[9]的要求,临床实验室需要建立适合于自己本实验室的参考区间,同时进行定期评审。由于研究的人群覆盖范围小、项目涉及少,我国地域广袤,人群之间可能会存在较大的生物学变异,使用某家或某几家单位或组织建立的相同参考区间并非合理,参考区间验证更具科学的说服力。

本实验室拟采用 WS/T 405-2012^[5]推荐的血细胞分析参考区间。然而由于不同种族、年龄、性别、生长发育和地理位置等诸多因素的影响,加之不同实验室所使用的检测系统、检测方法不同,同一检测项目采用不同的检测系统也会导致检测结果间的差异;或同一检测方法,由于所使用的检测仪器、试剂来源不同,也会导致检测结果不一致^[8]。因此,临床实验室在使用新的参考区间之前,必须对其进行验证,同时应注意对存在性别差异的检测指标进行分性别验证^[6,10]。按照临床检验项目参考区间适宜引用标准要求,当所选健康参考个体其检测结果有 90%或以上在拟使用参考区间内,此参考区间才可以被引用,即认为此次参考区间验证有效。否则实验室应对所使用的检测系统的性能、整个检测程序进行进一步调查,查找分析原因,重新选择新的参考区间^[6]。

本次全血细胞计数相关检测指标检测数据表明,参与验证的检测项目其验证结果落在 WS/T 405^[5]的参考范围内的比例均达到 90%或以上,说明本实验室可以引用卫生部颁布的 WS/T 405-2012 血细胞分析参考区间。

参考文献

- [1] 冯仁丰. 临床检验质量管理技术基础[M]. 上海:上海科学技术文献出版社,2003:1-136.
- [2] 陈桂山,杨志钊,何秀娟,等. 血细胞分析指标生物参考区间适用性验证探讨[J]. 实验与检验医学,2009,27(2):151-152.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. C28-A3 Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2008.
- [4] 卫生部临床检验标准委员会. WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [5] 卫生部临床检验标准委员会. WS/T 405-2012 血细胞分析参考区间[S]. 北京:中国标准出版社,2012.
- [6] 王秋菊,杨改平. 血细胞分析指标生物参考区间在山西省临汾地区适用性验证[J]. 实用医技杂志,2014,21(8):819-821.
- [7] 韩临凤. 血细胞生物参考区间适用性验证分析[J]. 实用医技杂志,2014,21(7):751-752.
- [8] 冯新平,张保平,董莉,等. 性激素六项的生物参考区间在呼和浩特地区的验证分析[J]. 内蒙古医学院学报,2011,33(3):253-255.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 22576-2008 医学实验室——质量和能力的专用要求[S]. 北京:中国标准出版社,2010.
- [10] Sinton TJ, Cowley DM, Bryant SJ. Reference intervals for Calcium, phosphate, and alkaline phosphatase as derived on the basis of multichannel-analyzer profiles[J]. Clin Chem, 1986, 32(1 Pt 1): 76-79.

(收稿日期:2015-01-08)

AMH 性激素测定指导女性不孕症个体化诊疗

日前,在天津召开的“2015 年体外诊断新技术高峰论坛”上,北京协和医院妇产科主任医师孙爱军教授深入剖析了抗缪勒管激素(AMH)检测在判断卵巢储备功能中的应用。国内首个全自动 AMH 检测——罗氏诊断 Elecsys® AMH 已于今年 4 月正式获批上市,将对女性不孕症个体化诊疗等生殖健康领域产生重要意义。

女性生育能力与体内各类生殖激素和卵巢储备功能密切相关。通常随着年龄增长,卵泡数量和质量下降,但育龄期女性也可能因为卵巢储备功能差和卵泡闭锁加速导致卵巢功能早衰(POF),导致孕育能力变差,是引发女性不孕症的直接原因。防治不孕症需更高效、准确、稳定的检测全面评估卵巢储备功能。

临床上用于判断女性卵巢储备功能的参考指标或方法包括年龄、激素检测、卵巢动力学试验、卵巢超声、体外受精指标等,然而却在检测时间和操作上有诸多限制,无法提前提示生育能力下降,导致诊断延误。

AMH 能够反映整个生命周期卵泡活性,其值随卵巢功能的变化而起伏。通过检测 AMH 能有效评估卵巢储备功能,预测绝经期,将生育能力的保留进行个体化设计。“相对于其他指标,AMH 值相对稳定,不受月经和激素药物影响,即时生成准确、可靠的标准化结果,更早反映卵巢储备功能的改变。AMH 是目前预测卵巢反应、评估卵巢储备功能的最理想生物标志物。”孙爱军教授表示。

AMH 检测水平能预测卵巢反应性,识别具有卵巢过度刺激综合征风险的女性,定制个体化治疗方式,提升体外受精的有效性和安全性,提高试管婴儿成功率。AMH 指标也正逐渐纳入其他女性生殖疾病诊断标准中,如 POF、多囊卵巢综合征 PCOS 等。预计未来,AMH 检测将会应用到体外受精之外的更多领域,帮助改善女性健康管理现状。

与 ELISA 检测 AMH 相比,作为全国首个全自动 AMH 检测, Elecsys® AMH 结果更稳定,对低浓度标本检测更灵敏。欧洲多中心研究显示, Elecsys® AMH 检测比常规 ELISA 检测显示精密度更优($CV < 5\%$),在不同检测标本、温度、储藏时间条件下结果均稳定,仅需 18 min 即可得到更为可靠的检测结果。