

体筛选结果分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2014(2):320-321.

[8] 郑楚忠,唐万兵,郑望春,等. 深圳地区无偿献血者不规则抗体筛查结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(12):1693-1697.

[9] 曹红荣,赵艳梅,王照军. 无偿献血者不规则抗体检测分析[J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(2):110-111.

[10] 王娇,李一丁,刘巍. 贵阳市无偿献血稀有血型者不规则抗体检测结果分析[J]. 贵州医药, 2015, 39(1):71-73.

[11] 舒群峰. 339 例初筛 RhD 阴性无偿献血者不规则抗体鉴定结果分析[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(9):877-878.

[12] 李翠莹,李运明,黄菲,等. 四川地区汉族人群血型不规则抗体特征分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(2):533-536.

[13] 王莹. 无偿献血者及临床患者红细胞血型不规则抗体检测结果报告分析[J]. 中国实验诊断学, 2016, 20(9):1582-1584.

[14] 宋小川,刘斌,李玉娇,等. 新疆地区临床患者红细胞血型不规则抗体筛查分析[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(10):1272-1274.

(收稿日期:2016-12-22 修回日期:2017-03-01)

• 临床研究 •

25 个常规生化检验项目的参考区间验证

周 涛,马 润[△],王玉明,陈孝红,程 霞,段胜波,高颖斐,李美玲,林 花
(昆明医科大学第二附属医院检验科,昆明 650101)

摘要:目的 评价该实验室目前的 25 个常规生化检验项目参考区间是否适用于所服务的人群,验证参考区间的适用性。
方法 依据《WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定》的规定,每个项目至少选择 20 例健康参考个体,在该实验室 3 个分析系统(Beckman 公司 DxC800、AU5421 型以及雅培公司 ci16000 型)上,进行了 25 个常规生化检验项目的参考区间验证。
结果 该实验室所开展的 25 个常规生化检验项目的参考区间均通过验证。**结论** 该实验室现在使用的 25 个常规生化检验项目参考区间适用于所服务的人群。

关键词:参考区间; 适用性验证; 生化检验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)09-1253-03

云南省地处高原,是一个多民族的省份,长期生活在此的人群在遗传^[1-2]、生活习惯、饮食等方面和平原地区的人群有一定差异。本院位于省会城市昆明,接诊的患者主要来自全省各地区,为了评价本实验室常规生化检验项目参考区间是否适用于所服务的人群,笔者根据《CNAS-CL02:2012 医学实验室质量和能力认可准则》和《WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定》有关规定,对本室所开展的常规生化检验项目参考区间进行了验证。

1 材料与方 法

1.1 仪器 采用 Beckman 公司 DxC 800 全自动生化分析仪及配套试剂、校准品;Beckman 公司 5421 型全自动生化分析仪及部分原装试剂和国产试剂,Randox 公司校准品;雅培公司 ci16000 型全自动生化分析仪及配套试剂、校准品。室内质控品 3 台仪器均使用 Bio-Rad 公司的多项质控品。验证的项目包括总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、谷氨酰氨基转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、尿素(UREA)、肌酐(CREA)、尿酸(UA)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、血糖(GLU)、钾(K)、钠(Na)、氯(Cl)、钙(CA)、磷(P)、镁(Mg)、铁(Fe)、淀粉酶(AMY)。

1.2 方 法

1.2.1 仪器的准备 3 台仪器按照实验室相关标准操作程序

进行日常维护保养,按照中华人民共和国医药行业标准《YY/T 0654-2008 全自动生化分析仪》进行仪器的校准验证。

1.2.2 分析系统性能评估 (1)精密度验证:分析系统在分析前进行精密度评估,包括测量重复性精密度和测量重现性精密度的评估。精密度满足 WS/T 403-2012 的有关要求。(2)正确度验证:Beckman 公司 DxC 800 为配套系统,参加卫生部临床检验中心的能力验证计划。其余系统按照美国临床和实验室标准协会(CLSI)EP9-A2 文件《用患者样品进行方法比较和偏倚分析》的要求与之比对。

1.2.3 健康参考个体的准备 和医院体检科合作,对体检人群进行调查和体格检查,选取满足以下条件者作为参考个体。自觉健康;无急慢性感染、肾脏疾病、烧伤和肌肉损伤、代谢和营养疾病、风湿性疾病、甲状腺疾病、血液系统疾病、肥胖或消瘦(体质量指数 ≥ 28 或 $< 18.5 \text{ kg/m}^2$)、恶性肿瘤、心脏病、高血压(收缩压 $\geq 140 \text{ mm Hg}$ 和/或舒张压 $\geq 90 \text{ mm Hg}$);6 个月内未进行手术,4 个月内未献血、输血或大量失血,2 周内未服用药物;无营养不良、素食、酗酒(长期饮酒或 2 周内大量饮酒)、嗜烟(吸烟量 > 20 支/d);近期无剧烈运动或重体力劳动;女性未处于怀孕或产后不足 1 年。并通过实验室检查排除有以下条件中任意一条者:ALT $> 80 \text{ U/L}$;TC $\geq 6.22 \text{ mmol/L}$;TG $\geq 2.26 \text{ mmol/L}$;UA $> 475 \mu\text{mol/L}$;空腹 GLU $\geq 7.0 \text{ mmol/L}$;HBsAg 阳性、抗-HCV 阳性、抗-HIV 阳性;血红蛋白:男性 $< 120 \text{ g/L}$;女性 $< 110 \text{ g/L}$;尿液检查:蛋白、尿糖任一

[△] 通信作者,E-mail:467161115@qq.com.

项阳性。

1.2.4 标本的采集 血液标本采集与处理原则按 WS/T 225-2002 有关要求进行,具体要求如下。(1)参考个体准备:采血前 3 d 保持正常生活习惯,不做剧烈运动和重体力劳动。采血前一天晚餐后至第二天上午采血前禁食,禁食时间 8~14 h;(2)采血:受检者取坐位,自肘前静脉采血;(3)血液样品处理:血液采用真空采血方式,标本在采集后 2 h 内及时分离血清,检查并剔除溶血、黄疸或乳糜样品,血清分离后 2 h 进行分析。

1.3 统计学处理 采用 Dixon 方法剔除离群值,将检测结果按大小顺序排列并计算极差(R);再计算最大值、最小值与其相邻数之差 D;如果 $D/R \geq 1/3$,则将最大值或者最小值视为离群值剔除;剩余的数据重复上述步骤,直至剔除所有离群值。

1.4 参考区间的验证 将 20 例参考个体的检测结果与待验证的参考区间比较,若超出参考区间的数量不超过 2 例,则通过验证;如超过 2 例,则另选择 20 例合格参考个体重复以上验证过程。如果参考个体大于 20 例,则按超出参考区间数据的例数不超过 10% 的标准作为通过验证的标准。验证结果不通过时,应按要求对各环节进行排查,寻找原因。

2 结 果

2.1 参考区间的来源调查 对本科室现在使用的参考区间来源调查结果:25 个常规生化检验项目中,参考区间来源于《全国临床检验操作规程》第 3 版^[3]的项目占 48% (12/25),其次是卫生部行业标准^{[24%} (6/25)],教材^{[12%} (3/25)],《全国临床检验操作规程(第 4 版)》^[4]占 8% (2/25)和试剂说明书^{[8%} (2/25)]。

2.2 参考个体检测结果与现使用的参考区间的比较验证 24 个项目在 3 个检测系统上的验证结果见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

2.3 参考个体检测结果与行业标准的参考区间的比较验证 18 个项目的参考区间验证按《WS/T 402-2012 临床实验室检验项目参考区间的制定》要求,对 TP、ALB、ALT、AST、GGT、ALP、UREA、CREA、LDH、CK、K、Na、Cl、Ca、P、Mg、Fe、AMY 共 18 个项目进行参考区间验证,见表 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。

3 讨 论

外部参考区间在实验室的适用性主要取决于两个方面:(1)服务人群与参考人群的可比性;(2)实验室检验结果与建立参考区间时的结果的可比性。只有恒定的系统偏倚(检验结果的正确度)才影响参考区间的适用性,过大的实验室内变异是实验室分析质量问题,不是参考区间适用性问题。因此,在验证参考区间时,首先应对方法的精密度和正确度进行评估。当实验室遇到参考区间验证不通过时,不能盲目增加参考个体数,应该从验证工作的各个重要环节认真检查,判断工作是否严格按照标准操作程序进行,行为发生偏离或忽略了重要的干扰因素会导致测定结果不可靠,而影响评价。本实验室在验证工作中总结了以下常见的参考区间验证不通过原因。

参考个体收集不准确,未严格按筛选标准筛选参考个体,直接采用体检科标本。错误在于未认识到体检者并不等于健康者。体检人群的构成是多因素的,包括单位的常规年检、入职入学体检、门诊自检等。在这些不同人群中包括了自觉身体

健康,既往无疾病的健康人群,也包括了有或大或小、或多或少有健康问题的人群。实验室应该制定参考个体筛选标准,将那些符合筛选标准的个体选择为参考个体。

未根据项目需要分不同性别、不同年龄组进行参考个体选择。由于部分项目不同性别或不同年龄间的生物学变异较大,需要分组设置参考区间,实验室应列出待验证项目中需要分性别、分年龄组进行参考个体准备的项目清单,严格选择参考个体。例如本室现使用的参考区间需根据不同性别分组的项目有 GGT、CK、UREA、CREA、UA、Fe。WS/T 402-2012 所涉及的 18 个项目的参考区间中有分组的项目如下,性别分组:ALT、AST、ALP、GGT、UREA、CREA、CK 和 Fe;年龄分组:ALP、UREA 和 CREA。其中,ALP 除男女分组外,女性 50~79 岁应独立分组验证,以及 UREA、CREA 均应分别验证 60 岁以上男女组的参考区间,但由于老年健康参考个体较难获得,此部分验证工作尚未能进行。

实验室操作人员仪器操作不熟练,未及时分析待测标本,造成结果偏高或偏低。如在 Beckman DxC800 上进行尿酸的参考区间验证时,由于标本杯中标本量少(150~200 μL),加上操作者先准备好标本,再编制工作表,待测标本敞口置于仪器上等候进样,使得测定结果偏高,有 4 个超出待验证的参考区间。考虑可能由于标本敞口置于仪器上较长时间等候进样,导致较后进仪器的标本中水分挥发,使得标本浓缩,测定结果偏高。由此,实验室应该加强工作人员的仪器操作培训考核,严格按照相关仪器的标准操作程序定期维护、使用仪器;并考虑仪器的特点,优化操作流程,合理安排进样节奏,缩短分杯后样品暴露于空气中的时间,减少环境和人为因素对试验结果的影响。

不同分析系统间差异较大时,可能造成验证不通过。这一条本身应该是正确度的问题引起的。同一个项目在不同分析系统检测会存在一定的差异,实验室应该制定并执行各系统的正确度验证计划及实验室内部比对的标准操作程序来判断此差异是否可接受。

本实验室生化自动分析仪有 3 种:Beckman DxC800、Beckman AU5421、和雅培 C16000。Beckman DxC800 使用原装配套的试剂和校准品,2015 年参加卫生部临床检验中心和云南省临床检验中心的室间质评活动,故以此系统为参考系统,其余系统按照 CLSI EP9-A2 文件用患者样品进行方法比较和偏倚分析的要求与配套检测系统的结果进行比对。比通过后,各系统于不同时间(雅培 C16000 于 2015 年底新装机),分别选取了不同参考个体标本进行了参考区间验证工作。

另外,同一项目有不同分析方法,其间也存在一定的差异。如葡萄糖测定有氧气速率分析法、葡萄糖氧化酶法和己糖激酶法,总胆红素测定有重氮法和钒酸氧化法,肌酐有苦味酸法和酶法。在实施正确度验证和实验室内部比对后,对不符合的分析方法应采取相应的整改措施。

分析方法的精密度未达到要求,测定结果不可靠。进行参考区间验证工作的分析系统必须首先通过精密度验证。实验室应按相应仪器和试剂说明书规定的标准操作程序运行分析系统,精密度评估通过(重复性精密度 $< 1/4\text{TEa}$,重现性精密度 $< 1/3\text{TEa}$)是进行其他验证工作的首要条件。

3.6 统计分析中常见错误是未剔除离群点。离群值,是与标本中大多数数据不一致的观测值,相对于标本假设分布的模型来说是极端的数值,可能不是该模型所产生的,应该排除于模型以外^[5]。离群点极容易成为未通过点,增加参考区间验证未通过的概率。实验室在完成分析后,对测定数据应首先使用 Dixon 方法剔除离群值,并增加新的参考个体标本,直至获得的 20 例测试结果没有离群值,再行判断是否通过验证^[6]。

总之,当参考区间验证不通过时,要首先检查回顾,排出各环节控制不当的问题后,再重新选择参考个体进行验证。如果仍不通过,实验室可考虑此参考区间不适合所服务人群,应参考 WS/T 402-2012 自行建立参考区间。

通过本次验证工作,本实验室现行使用的参考区间通过验证,适用于所服务的人群。同时,WS/T 402-2012 所涉及的 18 个项目的参考区间也通过了验证,此验证结果与文献[7-9]的验证结果一致。但本室还缺乏部分项目老年人参考区间的验证以及临床评价,有待后期完成后方可采用。

参考文献

[1] 周大鸣,梅方权.多重证据法与族源研究——以中国西南族群生物遗传多样性与区域文化研究为例[J].中山大学学报(社会科学版),2003,43(4):56-61.
 [2] 李德林,邹苹,邹浪萍,等.云南傣僳和布依族六个基因座的

遗传多态性分析[J].昆明医学院学报,2002,23(1):35-38.
 [3] 叶应妩,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006.
 [4] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4版.北京:人民卫生出版社,2015:79-85.
 [5] 王治国.临床检验生物学变异与参考区间[M].北京:人民卫生出版社,2012:12.
 [6] 王治国,王薇,李娅,等.临床检验方法确认与性能验证[M].人民卫生出版社,2009:12.
 [7] 杨俊英.多项生化项目参考区间验证分析[M].国际检验医学杂志,2015,36(10):1435-1436.
 [8] 杨俊英,张萍,侯临平.钾钠氯生物参考区间验证分析[J].山西医药杂志,2014,43(1):95-96.
 [9] 窦会东,李国江.北京房山区健康人群 6 项生化指标参考区间验证分析[J].国际检验医学杂志,2015,36(14):2115-2116.

(收稿日期:2016-11-12 修回日期:2017-01-11)



• 临床研究 •

胎儿无创染色体非整倍体基因检测应用于产前诊断的临床研究

罗俭权,赵立忠,吕镜雄,李树平,陈春梅
 (广东省四会市人民医院 526200)

摘要:目的 研究无创染色体非整倍体基因检测技术(NIPT)在产前诊断中的应用。方法 选择 2014 年 2 月至 2015 年 9 月来该院诊断中心就诊的 360 例孕妇(高龄、唐氏生化筛查中等风险及高风险孕妇),采取高通量大规模平行测序方法进行 NIPT 检测。评估 NIPT 对染色体非整倍体检测的特异性与敏感性。结果 360 例 NIPT 检测孕妇中,5 例显示性染色体异常,B 超与核型检查结果均正常。NIPT 检测结果提示 27 例 18-三体、21-三体高风险的孕妇全部经核型确诊。结论 无创染色体非整倍体基因检测技术对 18-三体、21-三体综合征具有较高的特异性、敏感性,值得推广应用。

关键词:染色体病; 临床症状; 无创检测技术; 产前诊断

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.09.039

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)09-1255-02

染色体病很难彻底治愈,多发的染色体非整倍体疾病有性染色体异常、13-三体综合征、18-三体综合征及唐氏综合征。主要由于双亲生殖细胞减数分裂时染色体分配失衡所致,临床症状表现在器官发育、心脏病及智力等方面^[1]。截至目前产前诊断染色体病的方法有胎儿部分组织活检、脐血穿刺、染色体核型分析、羊水穿刺及绒毛活检。这些检查稍有不慎可导致流产、宫腔内感染甚至胎死宫内等严重后果,其中染色体核型分析检验周期较长,多数孕妇难以接受。胎儿染色体非整倍体基因无创检测技术(NIPT)是近几年新兴的一种非侵入性检测技术,不仅流程简单,而且安全、可靠^[2-3]。本研究通过回顾分析本院诊断中心收集的 360 例孕妇资料,旨在探析无创基因检测技术在产前诊断中的应用,现总结报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究选择的 360 例对象,均为 2014 年 2 月至

2015 年 9 月本院诊断中心就诊的孕妇。年龄 20~43 岁,平均年龄 27.2 岁,孕周 13~27 周,平均孕周(18±2)周。其中 108 例为高龄孕妇;122 例为唐氏生化筛查高风险;80 例为唐氏生化筛查中等风险。50 例为唐氏生化筛查低风险。主要检测指征为:唐氏生化筛查中等风险(18-三体风险、唐氏风险)孕妇。唐氏生化筛查高风险(18-三体风险≥1/350、唐氏风险≥1/270)及高龄孕妇(年龄在 35 岁以上)。

1.2 方法 孕妇签署知情同意书后,抽取 5 mL 孕妇外周血,然后置于 EDTA 抗凝管中,8 h 内经双重离心法处理,取上清液,再二次离心 10 min,去掉残留细胞。剩余无细胞血浆置于-80 °C 冰箱冻存,冻存完好后 24 h 内送至深圳华大基因研究院检测。采用高通量测序仪(Illumina HiSeq2000)进行检测,获取分布在每条染色体上真实的核酸片段数量,按照生物学分析,统计出每条染色体对应的覆盖深度值,确定胎儿患 18-