

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.19.013

利用转移法和间接法建立儿童肌酐水平参考区间的比较

孟 涛, 陈 剑, 杜佳琳, 逢 璐, 李海霞, 许 冬[△]

北京大学第一医院检验科, 北京 100034

摘 要: **目的** 评价转移法和间接法建立儿童肌酐水平参考区间的可行性。 **方法** 通过检测 292 份血清标本, 将《儿童临床常用生化检验项目参考区间: WS/T 780-2021》推荐的基于酶法建立的儿童肌酐参考区间进行转移得到苦味酸法检测肌酐水平的参考区间。利用 LIS 大数据, 纳入 2018—2021 年该院 24 450 例儿童肌酐检测结果, 用间接法建立适宜该地区儿童肌酐水平的参考区间。上述间接法建立的参考区间进一步验证转移后的参考区间, 得到参考区间上下限的相对偏倚, 再与生物学变异度的参考变化值(RCV)进行比较, 建立适宜于该地区的儿童肌酐水平参考区间。 **结果** 转移法和间接法建立的儿童肌酐水平参考区间分别为 28 d 至 <2 岁: 20~38 $\mu\text{mol/L}$ 、20~38 $\mu\text{mol/L}$; 2~<6 岁: 25~49 $\mu\text{mol/L}$ 、24~49 $\mu\text{mol/L}$; 6~<13 岁: 33~69 $\mu\text{mol/L}$ 、32~63 $\mu\text{mol/L}$; 13~<16 岁, 男: 42~94 $\mu\text{mol/L}$ 、42~94 $\mu\text{mol/L}$; 女: 38~77 $\mu\text{mol/L}$ 、40~76 $\mu\text{mol/L}$; 16~18 岁, 男: 56~102 $\mu\text{mol/L}$ 、46~105 $\mu\text{mol/L}$; 女: 44~78 $\mu\text{mol/L}$ 、42~77 $\mu\text{mol/L}$ 。其上下限的相对偏倚除 16~18 岁组男性肌酐上限比对结果(-17.9%)超出外, 其余年龄、性别分层数据都符合小于 RCV 的要求, 进一步用 66 例 16~18 岁体检男性数据验证转移后参考区间, 验证数据为 66 例中 5 例未通过, 未通过比例为 7.6%(<10%), 故 16~18 岁男性肌酐参考区间验证通过。 **结论** 经间接法验证, 转移法建立的儿童肌酐水平参考区间符合要求, 可作为该地区儿童肌酐水平的参考区间。

关键词: 肌酐; 参考区间; 转移法; 间接法

中图分类号: R446.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2022)19-2639-04

Establish of reference interval for creatinine level in children by transfer and indirect methods

MENG Tao, CHEN Jian, DU Jialin, PANG Lu, LI Haixia, XU Dong[△]

Department of Clinical Laboratory, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China

Abstract: **Objective** To evaluate the feasibility of establishing children's serum creatinine reference interval by transfer method and indirect method. **Methods** The reference interval for picric acid-based creatinine was transferred recommended by "Reference intervals of clinical biochemistry tests commonly used for children: WS/T 780-2021" through the regression equation based on the 292 serum samples. Reference interval for creatinine level in children was established by indirect method, based on the 24 450 valid data from 2018 to 2021 collected from the LIS. The reference interval established by indirect method was used to verify the transferred reference interval, and the relative bias of the upper and lower limits of the reference interval were obtained, and then compared with the reference change value (RCV) of biological variability. **Results** The reference intervals of creatinine of established by transfer method and indirect method were as following: 28 days to <2 years, 20—38 $\mu\text{mol/L}$ and 20—38 $\mu\text{mol/L}$; 2—<6 years, 25—49 $\mu\text{mol/L}$ and 24—49 $\mu\text{mol/L}$; 6—<13 years, 33—69 $\mu\text{mol/L}$ and 32—63 $\mu\text{mol/L}$; 13—16 years, male (42—94 $\mu\text{mol/L}$, 42—94 $\mu\text{mol/L}$); female (38—77 $\mu\text{mol/L}$ and 40—76 $\mu\text{mol/L}$); 16—18 years, male (56—102 $\mu\text{mol/L}$, 46—105 $\mu\text{mol/L}$), female (44—78 $\mu\text{mol/L}$ and 42—77 $\mu\text{mol/L}$). The relative bias of the upper and lower limits of the age-sex stratified data were acceptable, except that the lower limit of creatinine in males aged between 16 and 18 years old (-17.9%). Furthermore, the transfer reference interval was verified with the data of 66 males (16—18 year-old), and 5 cases of 66 males were out of the range (7.6%), which was less than 10%, so the creatinine reference interval for males aged 16—18 years was validated. **Conclusion** By verified of indirect method, the reference interval of creatinine level in children by transfer method meets the requirements and can be used in laboratory.

Key words: creatinine; reference interval; transfer method; indirect method

参考区间是指健康个体中 95% 测量值的分布范围^[1], 是疾病诊断与健康状况评估的标准。由于地域分布、种族、性别、年龄、生活习惯以及检测方法等多方面的差异, 实验室应该建立适合所服务人群的参考区间, 或者对已有的参考区间进行验证。美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 和国际临床化学联合会 (IF-CC) 发布的指南 EP28-A3c 中^[2], 推荐建立本实验室的参考区间, 但大多数实验室很难完成该项工作, 因此建议通过以下两种方法来实现: (1) 实验室收集 20 个健康个体的样本来验证参考区间, 该参考区间的建立是用更严格的标准建立的; (2) 可以通过 CLSI-EP09 文件来转移验证参考区间, 但前提条件是测定结果有可比性, 分析结果高度相关。目前我国成年人慢性肾脏病 (CKD) 的患病率为 10.8%, 儿童 CKD 患病率为 (14.9~118.9)/100 万, 不同研究之间存在较大差异, 且多项研究发现, 随着年龄增大该病发病率逐渐升高^[3]。由于儿童肌酐参考区间明显不同于成人, 因此建立适合不同性别和年龄组的儿童肌酐参考区间在儿童 CKD 的诊断和治疗中有重要意义。目前检测肌酐常用的方法主要有碱性苦味酸法和肌氨酸氧化酶法 (简称苦味酸法和酶法), 研究显示这两种方法间存在一定的差异^[4]。本文研究目的在于通过检测一定数量的标本, 建立酶法和苦味酸法检测肌酐水平的相关性, 从而利用转移法将《儿童临床常用生化检验项目参考区间: WS/T 780-2021》(以下简称为 WS/T 780-2021) 推荐的儿童肌酐参考区间进行转移, 建立苦味酸法检测儿童肌酐水平的参考区间, 同时利用医院 LIS 大数据以及 Hoffmann 方法间接建立本地区儿童肌酐水平的参考区间, 进一步用间接法建立的参考区间来验证转移后参考区间的适用性, 评估两种方法参考区间的差异^[5-7]。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 转移法标本的收集 收集 2022 年 1 月就诊于本院的 CKD 患儿的新鲜剩余血清, 要求标本无溶血、黄疸、脂血, 肌酐水平小于 150 $\mu\text{mol/L}$, 共收集 305 份血清标本, 分别采用 WS/T 780-2021^[8] 推荐的酶法和苦味酸法对肌酐水平进行检测。

1.1.2 间接法数据的处理 利用医院 LIS 选取 2018 年 1 月至 2021 年 12 月本院收治的 18 岁以下 89 916 例儿童肌酐水平的检测结果, 剔除标准: (1) 非儿科门诊患者; (2) 存在脂血、溶血、黄疸等的异常标本; (3) 蛋白尿、血尿及其他肾脏病患者; (4) 无性别、姓名、年龄的患者; (5) 国籍为非中国籍患者; (6) 标本种类为非血清的患者; (7) 同一患者多次检测肌酐时, 第 1 次检测结果后的其他结果; (8) 年龄 < 28 d 或 > 18 岁的患者。最终经筛选后获得 24 450 例儿童肌酐水平检

测结果。

1.2 仪器及试剂 酶法: 罗氏 Cobas702, 配套酶法肌酐检测试剂 (批号 577466)、罗氏生化多项校准品 (批号 499017)。苦味酸法: 贝克曼库尔特 AU5800, 配套苦味酸法肌酐检测试剂 (批号 2634)、贝克曼生化多项校准品 (批号 11220)。质控品为朗道 HUMAN AS-SAYEDMULTI-SERA (批号 1285UN、1006UE)。质控规则采用 Westgard 多规则 (1_{2s} 、 1_{3s} 、 2_{2s} 和 R_{4s}) 进行室内质量控制, 累计变异系数 (CV) 均在设定的范围之内, 室间质评均合格。

1.3 方法

1.3.1 转移法建立参考区间 将收集的 305 份新鲜血清分别用酶法和苦味酸法对肌酐水平进行检测, 将所得数据进行比对分析, 剔除明显偏倚数据, 剩余 292 份有效数据采用最小二乘法进行回归分析, 得到酶法与苦味酸法检测肌酐水平的回归方程, 将其代入 WS/T 780-2021 推荐的儿童肌酐参考区间^[8], 从而得到转换后的儿童肌酐水平参考区间。

1.3.2 间接法建立参考区间 采用 SPSS19.0 软件中的 Kolmogorov-Smirnov 检验对 24 450 例儿童肌酐数据进行分层并进行正态性分析, 对非正态分布数据利用 BLOM 公式进行正态转换, 将转换后数据采用 Tukey 法^[9] 计算 25% 和 75% 的百分位数的值 (P_{25} , P_{75}) 及四分位间距 (IQR) ($P_{75} \sim P_{25}$), 剔除 ($P_{25} - 1.5 \times \text{IQR}$) $\sim$ ($P_{75} + 1.5 \times \text{IQR}$) 以外的数据, 再将筛选后的数据重复按照 Tukey 法进行离群值筛选, 直至所有数据均落在上、下临界值内为止。剔除后的正态分布的数据, 利用 Hoffmann 法将取得的数据线段上 2.5% 和 97.5% 作为该项目的参考区间。

1.3.3 参考区间验证 参考变化值 (RCV) 是利用室内质控变异数据, 结合健康者和患者体内生物学变异数据计算得出, 利用公式 $RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CV_a^2 + CV_i^2)^{1/2}$ 计算得到肌酐的 RCV^[10], 收集 2018—2021 年内两个水平 (水平 1、水平 2) 室内质控的年度 CV, 计算出中位数 CV 作为分析变异 CV_a , 查询肌酐在健康人群中变异 CV_i (<https://www.westgard.com/biodatabasedisease.htm>), Z 值为标准正态分布的临界值, 取 95% 置信区间 ($Z = 1.96$), 利用公式比较两种方法获得的参考区间之间的偏倚是否在 RCV 的范围之内。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析, 数据进行 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验, 正态数据按 $\bar{x} \pm 1.96s$ 计算参考区间, 非正态数据以百分位数法计算参考区间。计数资料以百分数表示。

2 结果

2.1 转移法回归方程的建立 利用 305 份血清的肌酐水平检测结果, 剔除离群值后建立两种方法检测肌

酐水平的回归方程,计算公式为 $Y = 0.9308X + 7.6399, R^2 = 0.9903$ (Y = 苦味酸法检测的肌酐水平, X = 酶法检测的肌酐水平)。

2.2 苦味酸法检测的肌酐水平参考区间和转移后参考区间差异比较 间接法建立的参考区间与转移法建立的参考区间见表 1。结果显示,随着年龄增加,肌

酐参考区间上下限也随之增加,13 岁之后的同年龄段男性与女性肌酐参考区间上下限有较大差异,呈增加趋势,与儿童生长发育特点相符合。间接法与转移法所确定的参考区间上下限在不同年龄和性别分组的相对偏倚较小。

表 1 间接法建立的肌酐参考区间与转移法建立的肌酐参考区间的差异比较

年龄	性别	WS/T 780-2021 推荐肌酐参考区间 ($\mu\text{mol/L}$)	转移法建立的 参考区间 ($\mu\text{mol/L}$)	间接法 建立的参考区间 ($\mu\text{mol/L}$)	间接法所纳入 的人群数 (n)	间接法建立的参考区间 与转移法建立的参考区间上下限 的相对偏倚[上限(%)/下限(%)]
28 d 至 <2 岁	男、女	13~33	20~38	20~38	3 008	0.0/0.0
2~<6 岁	男、女	19~44	25~49	24~49	6 274	-4.0/0.0
6~<13 岁	男、女	27~66	33~69	32~63	12 695	-3.0/-8.7
13~<16 岁	男	37~93	42~94	42~94	1 175	0.0/0.0
	女	33~75	38~77	40~76	691	5.3/-1.3
16~18 岁	男	52~101	56~102	46~105	420	-17.9/2.9
	女	39~76	44~78	42~77	187	-4.5/-1.3

2.3 确认两种方法建立的参考区间偏倚 利用 RCV 值验证参考区间,根据实验室 2018—2021 年肌酐的年度 CV,计算得 $CV_a = 2.5\%$,见表 2。通过查询数据库得到肌酐的 $CV_i = 4.3\%$,计算 $RCV = 13.8\%$ 。从间接法建立的参考区间和转移法建立的参考区间上下限的的相对偏倚可以看出,除 16~18 岁男性肌酐上限的相对偏倚为 -17.9%,其绝对值超过了肌酐的 RCV 外,其余结果均在 13.8%以内,满足参考区间验证的要求。为进一步验证 16~18 岁男性肌酐参考区间是否适合本地区人群,从 LIS 数据库中筛选出 2018—2021 年 16~18 岁体检男性数据 67 条,剔除 1 例明显异常数据,共有 5 条数据在转换后的参考区间 56~102 $\mu\text{mol/L}$ 之外,未通过比例为 7.6%(<10%),满足 EP28-A3c 中关于参考区间验证数据大于 20 例时,参考区间以外数据<10%的要求,验证通过。

表 2 2018—2021 年实验室肌酐年累计 CV(%)

年份(年)	水平 1	水平 2
2018	3.29	2.04
2019	3.21	2.04
2020	3.14	1.83
2021	2.97	1.81

3 讨 论

CLSI 指南中对于参考区间建立时参考个体的选择有两种方式,一种方式称之为先验,即为标准的参考个体筛选方式,通过纳入严格的排除标准,经过正规评价、表观调查筛选出合适的参考人群;另一种方

式称之为后验,即从参加健康体检、疾病预防或者虽患病但证明对研究项目没有影响的非健康人群中获取大量的已进行医学检验的人群数据,通过预设的排除标准获得参考个体^[2],后验的优势在于较便捷的获取大量的相关数据,节省人力物力,不足之处在于所获得的数据较先验方式会存在一定的偏倚,间接法参考区间的建立就是来自后验方式。

实验室引用某一项目的参考区间,需要经过生物参考区间的综合评估及选择、验证、临床评审后,才能应用于临床。在选择参考区间时,应根据实验室的检测体系、质量要求以及适用人群,选择适合本实验室的参考区间。当实验室检测系统及适用人群与所选参考区间有差异时,在满足所引用参考区间建立时的分析系统与实验室使用相同或具有可比性的标准物质或校准物质,有相近的不精密度、干扰,报告单位及方法学比较试验在可接受的范围内时,可以将所引用的参考区间转移到现有的分析系统。用回归方程来检验两者的关系,其标准为线性关系拟合较好($r > 0.90$)且没有高阶项存在(比如没有二次方项 X^2)时,可以用回归模型来实现参考区间上下限的转移^[11]。EP28-A3c 中关于参考区间的验证,明确规定对于每一分层数据选用 20 例健康个体进行验证,3 例及以上(>10%)超出范围则需要重新选择 20 例再进行验证,再次验证失败则证明此参考区间不适用于本实验室,需要重新选择或自建参考区间。这里需要关注的是如果提供的参考区间过宽,那么使用 20 个值进行验证,大概率会落入到参考区间内,这时就需要较大的样本量(如 40 个)或重复验证来减少落入参考区间

内的概率^[2]。实验室获得的参考区间还需要经过临床评审,来验证是否能满足临床需要。

酶法和苦味酸法是检测肌酐水平的主要方法,这两种检测方法在检验领域应用范围很广,在临床应用中各有其优缺点:影响酶法检测肌酐水平的干扰物质主要有羟苯磺酸钙、酚磺乙胺、胆红素、维生素 C 等,影响苦味酸法检测肌酐水平的干扰物质主要是维生素 C、蛋白质、丙酮酸以及头孢唑啉、青霉素 G 等抗菌药物^[12],对于常用这些药物的人群应尤其关注其对于肌酐水平的影响。WS/T 780-2021 中明确指出,儿童肌酐水平检测方法为酶法,计量学溯源到同位素稀释质谱法^[8],本院对儿童肌酐水平的检测方法为苦味酸法,与酶法的溯源一致,故可以转移参考区间。从转移后的回归方程可以看出,两者的线性关系较好,满足两个系统间转移的条件,转移后的参考区间经过验证满足要求。EP28-A3c 指南中指出,通过建立严格的筛选标准,选取合适及足量的参考个体是建立生物参考区间的标准方法(直接法),同时指南中允许利用间接法建立参考区间。利用间接法建立参考区间,可以充分利用现有数据,运用适当的统计学方法对医院数据库中合适的数据进行正态转换,剔除离群值,建立不同性别、年龄的生物参考区间。虽然利用 LIS 获得的数据经过了严格的筛选,但仍然存在一定数量的离群值,但相关研究证实,即使在 30% 偏态数据的干扰下,其对最终结果的影响较小^[13]。

本文通过对比研究验证了转移法建立参考区间的可行性,为难以获得标本的人群,如新生儿、婴幼儿、老年人等血液指标参考区间的建立提供了一种较为可行的方法,当实验室不能直接引用或建立参考区间时,在满足所服务人群及实验室分析系统具有可比性的前提下,可考虑采用参考区间转移的方式,获得适合本实验室的参考区间。转移的对象可以是行业标准、说明书或者实验室之前建立的参考区间,但该方法不是参考区间建立的推荐方法,而是仅适用于上述特殊情况下的替代方法。通过间接法获得的参考区间验证转移法参考区间,比较两种方法的相对偏倚,以参考变化值作为验证是否通过的依据,两者结果相近,转移后的参考区间可用于本实验室。

本研究中,采用间接法计算所得 16~18 岁男性肌酐水平参考区间下限较转换后参考区间下限相对偏倚较大,原因可能与该年龄段收集的数据较少有关,可适当扩大数据量,重新验证。本研究不足之处在于仅采用本院数据,可能具有一定的局限性,且

13~18 岁数据偏少,仍需要增加检测数据进行验证。经过与临床医生咨询和沟通,结合临床经验与实际情况分析,临床普遍认同转移后的参考区间可以作为本地区儿童肌酐水平参考区间。

综上所述,经间接法验证,转移法建立的儿童肌酐水平参考区间符合要求,可作为实验室本地区儿童肌酐水平的参考区间。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部. 临床实验室检验项目参考区间的制定: WS/T402-2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [2] Clinical Laboratory and Standards Institute. Defining, establishing, and verifying reference intervals in the clinical laboratory: EP28-A3c [S]. 3rd ed. Wayne, PA, USA: CLSI, 2010.
- [3] 石鑫淼, 刘贝妮, 钟旭辉, 等. 儿童慢性肾脏病流行病学研究进展[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(9): 721-724.
- [4] 李丽红, 张国军. 酶法与苦味酸法测定血清肌酐差异的 Meta 分析[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(7): 3046-3051.
- [5] 沈隽霏, 宋斌斌, 潘柏申, 等. 间接法建立生物参考区间[J]. 检验医学, 2015, 30(4): 391-396.
- [6] 吴群, 沈隽霏, 吴文浩, 等. 间接法建立总胆红素和直接胆红素参考区间的探讨[J]. 检验医学, 2020, 35(8): 749-752.
- [7] 刘晓文, 沈隽霏, 吴文浩, 等. 采用间接法建立上海地区游离甲状腺素和促甲状腺激素参考区间[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(5): 380-383.
- [8] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 儿童临床常用生化检验项目参考区间: WS/T780-2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [9] TUKEY J W. Exploratory data analysis[M]. New York: Addison-Wesley, 1977: 506.
- [10] 陈红燕, 裘海文. 检验结果参考变化值建立的探讨[J]. 检验医学, 2015, 30(5): 529-532.
- [11] 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: 137-139.
- [12] 王正印, 尹元, 王伟灵. 肌酐检测方法及相关药物对肌酐检测干扰的研究进展[J]. 检验医学, 2018, 33(4): 370-373.
- [13] LINNETK. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrap-based procedures[J]. Clin Chem, 2000, 46(6 Pt 1): 867-869.

(收稿日期: 2022-01-11 修回日期: 2022-05-08)