

實驗室測量血中鉛含量一致性的評估： 國人血中鉛濃度調查研究的經驗

孫建安¹ 張玉坤²
賴錦皇¹ 吳德敏¹ 劉紹興¹

本研究藉由國內七家實驗室參與「國人血中鉛濃度調查研究」的機會，評估實驗室間與實驗室內測試低血鉛含量的一致性。測試樣本由本研究之中心實驗室所在之總醫院的血庫中隨機選取五名沒有職業性鉛暴露的捐血袋(每袋為250毫升)，然後每位捐血者之捐血袋分裝成每管5毫升(共50管)的測試樣本，並冰存於4°C的冰箱中。研究人員於三次不同的時間點(每次間隔兩星期)，從五名捐血者血袋所建構成的測試樣本群中，隨機選取每位捐血者之兩管測試樣本，以乾冰保存的方式送至受測實驗室。每個受測實驗室參考標準的樣本處理分析程序，以石墨爐原子吸收光譜儀來測試血液樣本中的鉛含量，並需於收到測試樣本兩個星期內完成測試工作。評估結果發現，各實驗室在測試同一時間送至實驗室之同一個案的第一管樣本時的變異係數 $[(標準差 \div 平均數) \times 100\%]$ 介於0.7%到58.9%之間，而在測試第二管樣本時的變異係數則為2.7%~102.6%。另外，以中心實驗室為比較基準，使用GEE(generalized estimating equation)分析模式發現各實驗室與中心實驗室之間亦存在有實驗室間的測試變異。這些結果顯示，血中鉛含量的測定存在有顯著性之實驗室間的測量差異。因此，在以血中鉛含量為生物標記的調查研究中應包含監測實驗室測試血中鉛品質的品管程序。本研究提供了評估實驗室測試血中鉛檢驗品質的模式，也提出了實證的數據來驗證實驗室測量血中鉛含量所面臨測試穩定性的實質困難。(中華衛誌 1998；17(2)：103-110)

關鍵詞：血中鉛含量，測試一致性。

前 言

血中鉛含量是監測環境性及職業性鉛暴露的重要測量指標，然而文獻報導指出，血

中鉛含量的測定存在有顯著性的實驗室間(inter-laboratory)與實驗室內(within-laboratory)的測量差異[1-3]。根據統計，鉛中毒是臺灣地區重要的職業性健康危害[4]，而一般民衆可能因環境中的空氣、食物或水被鉛污染而造成環境性的鉛暴露。因此，國內七家具有分析血中鉛經驗的實驗室乃共同進行了國人血中鉛濃度的流行病學調查，以瞭解國人受到環境鉛污染的情形。在此一調查研究中亦包含了為期兩年之實驗室測定血中鉛含量的品質管制計畫，藉以評估參與研究之各實驗

¹ 國防醫學院公共衛生學系暨研究所

² 淡江大學數學系

聯絡人：孫建安

聯絡地址：台北市思源街18號

國防醫學院公共衛生學系

聯絡電話：(02)2364-2513

傳 真：(02)2365-6461

投稿日期：86年6月26日

接受日期：87年1月12日

室在測定血中鉛含量時的正確性(accuracy)及一致性(consistency)。血中鉛濃度測量正確性的評估，乃是經由各實驗室測定已知濃度之商用標準品所得到分析結果來評量；而血中鉛濃度測量一致性的監控，則是藉由各實驗室測定於調查研究期間收集自同一研究對象之同一血液檢體的重覆樣本(replicate)來評估測量的一致性。根據第一年品質管制計畫的評估結果顯示，各實驗室測量血中鉛含量的正確性均在美國疾病管制及預防中心(Centers for Disease Control and Prevention [CDC], U.S.A.)所設定之監測標準的可接受範圍內[3]；而在重覆測量來自於同一研究對象的血液樣本時所呈現測量的一致性則較差，尤其是在測量低血中鉛濃度的血液樣本時為然[5]。基於第一年的評估結果，第二年度的品質管制計畫評量的重點乃著重於低血中鉛濃度測量一致性的評估。本文乃是報告運用處理重覆測量資料之線性模型的統計方法--GEE(generalized estimating equation)[6]來分析第二年度實驗室測定低血中鉛濃度血液樣本之測量一致性的研究結果。

材料與方法

「國人血中鉛濃度調查研究」是一聯合七家具有分析血中鉛含量經驗的實驗室所進行的流行病學調查研究，參與研究之實驗室、研究對象的選取及研究方法和步驟等細節如參考文獻7所述[7]。在此一流行病學調查研究計畫中，包含了一為期兩年之實驗室測量血中鉛含量的品質管制計畫，俾能利用此一有多家實驗室參予研究的機會來評估國內具有分析血中鉛經驗的實驗室在測定血中鉛濃度所呈現之測量的正確性與一致性。第一年度品管計畫的評估結果[5]已於本文前言部份做了說明，而第二年度的評估重點是依據第一年度的結果，特別著重於評量實驗室測定低血中鉛濃度樣本的一致性。第二年度的品管計畫中，除了參與第一年度品管計畫的六家實驗室(不包括中心實驗室)外，本研究之中心實驗室(central laboratory)的檢驗人員也參與第二年度品管計畫的評估。

一、中心實驗室的設立

由於本研究聯合了七家具有分析血中鉛含量經驗的實驗室來共同進行國人血中鉛含量的流行病學調查，因此需要設立一中心實驗室來協助各實驗室建立檢驗之標準檢量線，並在評估各實驗室血中鉛測量品質時負責寄發品管測試樣本及彙整測試結果。本研究乃擇定從事血中鉛測定已有十年以上經驗之北部某一總醫院的檢驗部作為本研究的中心實驗室。選擇此一檢驗部的考慮除了其具有多年分析血中鉛的檢測經驗外，該檢驗部也持續參與美國臨床化學協會(American Association for Clinical Chemistry)及美國病理學專家協會(College of American Pathologists)所舉行之實驗室間評估計畫(Inter-laboratory Survey)內之鉛測定比試的品管監測，因而具有一定水準的實驗室內部品質管制程序。

二、評估步驟

爲了要評估七家參與品管計畫之實驗室在測定低血中鉛濃度樣本的測量一致性，本研究從中心實驗室所在之總醫院的血庫中隨機選取5名捐血者的捐血袋(每袋為250毫升)作為測試樣本的來源。在隨機選取捐血袋之前，先去除有職業性鉛暴露工作史的捐血者，以使所選取的測試樣本較接近於一般環境中鉛低暴露量的情況。所選取的捐血袋分裝成每管5毫升的待測樣本。也就是說，每位被選取的捐血者共有50管同樣的重覆檢體。這些血液樣本是在laminar floor之空氣清淨的實驗室裝置下來進行分裝的作業，並以進口之不含鉛的試管(LH-Metall-Analytik, Monovette, Germany)來裝置分裝的血液檢體，以期降低處理樣本的过程中受外界因素污染的可能性。這些分裝完成的待測重覆樣本均儲存於4°C冰箱中(在第一年度的評估過程中，中心實驗室測試發現，存放於4°C冰箱內之血中鉛樣本至少半年內不會有濃度的變化[5])。另一方面，待測的重覆樣本完全依照本研究所收取研究對象血液樣本的編碼方式予以編碼標示，以使受測實驗室無法分辨出品管測試樣本來源。研究人員於三次不同的時間點(每次間隔兩星期)，每次隨機選取每名捐血者

之兩管相同的重覆樣本，並以乾冰保存與其他研究對象的血液樣本一同寄送至各受測實驗室，以評估實驗室在測定低血中鉛濃度樣本時的測量一致性。受測實驗室需於收到待測樣本後兩個星期內完成檢驗工作，並將測定結果回報至中心實驗室。本研究於展開正式的品管評估計畫之前，召集了七家參與評估的實驗室開會討論以瞭解各實驗室所採用的樣本處理與分析步驟後，擬定出一標準的樣本處理程序與分析步驟供各實驗室作為操作的參考。各實驗室均是在laminar floor之空氣清淨裝置下以石墨爐原子吸收光譜儀(flameless atomic absorption spectrophotometry, FAAS)來測定血液樣本中的鉛含量。另外，在研究期間受測實驗室若有任何關於測定儀器發生問題或是更換執行實驗工作之檢驗人員等事宜，均需要立刻向中心實驗室回報。綜合言之，在研究期間，總共收集了7(個實驗室)×5(名捐血者)×3(次不同之送樣時間點)×2(個重覆樣本於每一次的時間點)=210筆測試結果。

三、統計方法

基本上，本研究是依據寄送待測血液樣本至受測實驗室的時間加以區分出兩類之測定值變異(variation)來源：一為各受測實驗室於測試同一次的送樣時間點中來自於各捐血者的兩管重覆樣本時，所產生之測量值的差異；另一為測試於三次不同的送樣時間點中每次分別來自於各捐血者之一管重覆樣本時所得到之測量值的差異。在這兩類測定值變異來源的測量條件下，分別計算各實驗室測試每位捐血個案之重覆樣本所測得血中鉛含量數值(單位：ug/dl)之平均數(M)及標準差(S.D.)，然後加以計算變異係數(cv: coefficient of variation = $S.D./M \times 100\%$)來表示實驗室測量血中鉛含量的一致性程度，並以盒狀圖(box plot)來分別圖示七個實驗室間及各實驗室於同一送樣時點的測量變異之變異係數分佈情形。

為了進一步探討各實驗室測試同一送樣時間之重覆樣本(以“重覆樣本”代表此一類別變項)，不同送樣時間之測試樣本(以“送樣

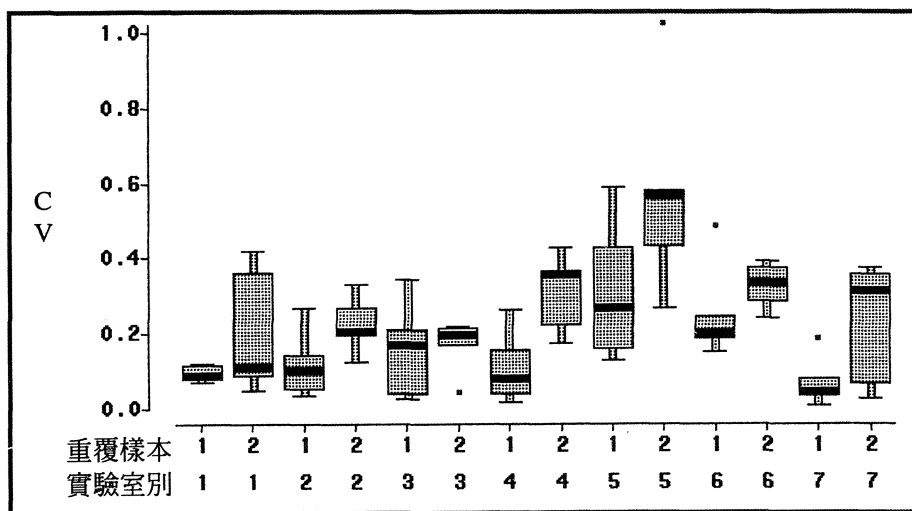
時間”代表此一類別變項)以及各實驗室間(以“實驗室別”代表此一類別變項)的測量變異等三項因素對血中鉛測量值的影響，研究人員使用多變項線性迴歸模式(multiple linear regression model)來檢驗上述三項因素之影響程度。由於每個實驗室所測試的樣本是來自於同一個案(共五名捐血個案)的重覆樣本，因此，來自於同一人的數筆血中鉛測量值彼此間具有相關性。換言之，此種彼此間具相關性的資料性質，已違反一般線性迴歸模式所需資料間具“獨立性”的假設，故需採用Liang和Zeger所提處理“相依資料”之廣義線性模式(generalized linear model)的GEE方法[6]來處理本研究所得之“相依性”測量數據。為了比較前述三項類別變項間的差異，研究人員自各類別變項中選定一組類別當作該變項比較的參考組，並以虛擬變項(dummy variables)的方式進行線性模式的分析：在“重覆樣本”此一變項是以同一捐血者之兩個重覆樣本中先進行測試之重覆樣本的血中鉛值為參考組，在“送樣時間”此一變項是以第一次送樣時間之測試樣本的血中鉛值為參考組，而在“實驗室別”此一變項則是以中心實驗室測得血中鉛值為參考組。研究人員即將前述各影響因素放入GEE的分析模式中來同時評估各實驗室在測試(1)來自於同一送樣時間點之重覆樣本；(2)於不同送樣時間梯次之測試樣本及(3)不同實驗室間測試同一批次的重覆樣本時的測量變異程度。

結 果

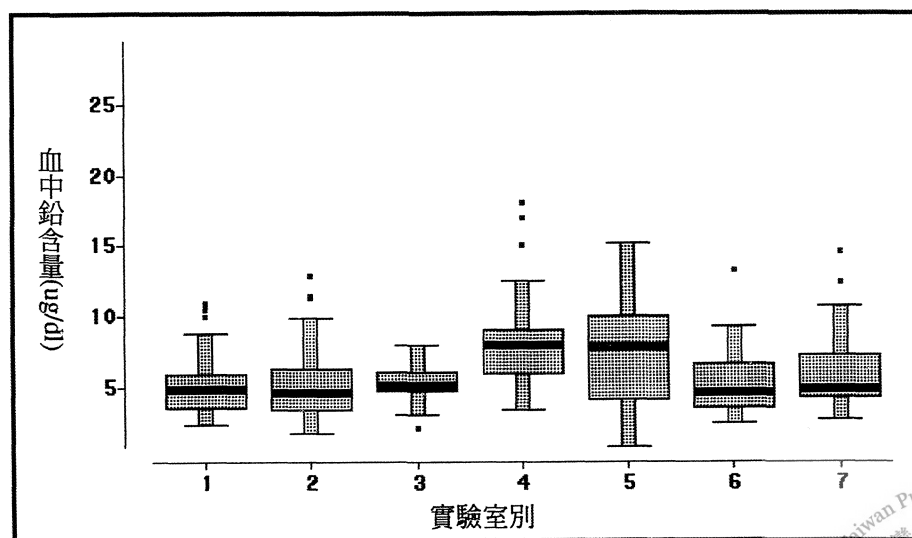
圖一的盒狀圖所顯示的是七個受測實驗室在測試來自於同一送樣時間點之各捐血個案的兩個重覆樣本時之測量變異係數分佈情形。各實驗室測試於三次送樣時間點當中，同一送樣時間梯次之各捐血個案的第一個重覆樣本(圖一橫軸之“重覆樣本”欄位標示為“1”者)時，所得到的變異係數介於0.7%(實驗室7[中心實驗室]測試捐血個案3之第一個重覆樣本)到58.9%(實驗室5測試捐血個案5之第一個重覆樣本)之間；而在測試第二個重覆樣本(圖一橫軸之“重覆樣本”欄位標示為“2”者)時之變異係數則為2.7%(實驗室7測試捐血

個案4之第二個重覆樣本)至102.6%(實驗室5測試捐血個案5之第二個重覆樣本)之間。如果將各實驗室於評估期間所測量30筆血中鉛含量的數值加以互相比較，並以盒狀圖來表示(圖二)，可以得知實驗室1至7之血中鉛測量數據的平均值±標準差(數據範圍)依序為：
 5.50 ± 2.44 ug/dl(2.4–11.0 ug/dl)、 5.88 ± 3.57 ug/dl(1.7–12.9 ug/dl)、 5.19 ± 1.32 ug/dl(2.1–7.6

ug/dl)、 8.56 ± 3.50 ug/dl(3.5–18.0 ug/dl)、 8.19 ± 5.36 ug/dl(0.8–29.5 ug/dl)、 5.25 ± 2.34 ug/dl(2.5–13.2 ug/dl)、 5.97 ± 2.78 ug/dl(2.8–14.6 ug/dl)。由以上數據及盒狀圖的呈現，顯示實驗室4及5的測量值偏高且較不穩定(變異數較大)，其中實驗室5的一筆測量值有異常高出的現象，而實驗室3之測量值間的差異性則較其他實驗室小。



圖一 各實驗室測試於三次送樣時間梯次中，每一送樣時間點之來自於同一捐血個案(共五名捐血個案)的兩個重覆血液樣本之血中鉛含量的測量變異係數(CV)盒狀圖(box plot)分佈情形(實驗室七為此一研究之中心實驗室)



圖二 各實驗室檢驗品管測試樣本之血中鉛含量測量數值的盒狀分佈圖(其中實驗室七為此一研究之中心實驗室)

以GEE模式來同時評估各實驗室在測試(1)來自於同一送樣時間點之重覆樣本；(2)於不同送樣時間梯次之測試樣本及(3)不同實驗室間測試同一批次的重覆樣本時的測量變異程度的分析結果如表一所示。結果發現各實驗室與中心實驗室之間的測量差異對本研究所觀察到血中鉛測量數值之變異的解釋能力最為顯著。其中，在相同之送樣時間及同一批次之重覆樣本的測試條件下，實驗室1所測得之血中鉛含量數值比中心實驗室所測得之數值平均低0.47 ug/dl，且此差異達到統計學上的顯著水準($p=0.024$)。同理，實驗室6之測量值比中心實驗室低0.71 ug/dl ($p=0.038$)。相反的，實驗室4及5則比中心實驗室分別明顯高出2.597 ug/dl及2.193 ug/dl ($p<0.001$)。另外，實驗室2及3之測量值雖低於中心實驗室，但此差異未達統計學上的顯著水準。

討 論

近年來，生物標記(biomarker)已被廣泛應用於流行病學的研究，以增進對危險因子暴露程度的測量及生物有效劑量所導致早期健康危害的偵測能力[8]。然而，測量生物標記所涉及之實驗室檢測的正確性與一致性是使用生物標記的流行病學研究所必需重視的課題[9,10]。雖然血中鉛含量是常被用來測量人體暴露於鉛污染物的生物標記，然而實驗室之間測量血中鉛含量的一致性並不理想

[1,2]。國內對於實驗室測定血中鉛含量的一致性，尚未有正式的評估報告。本研究藉由七家實驗室參與「國人血中鉛濃度調查研究」的機會，得以針對國內實驗室測定血中鉛含量的正確性與一致性進行正式的評估。

根據本研究第一年品管計畫的評估結果顯示，六家參與評估的實驗室於測量向國外購買“已知濃度”的全血樣本(certified whole blood)時，測試低血中鉛濃度樣本(10 ug/dl)的測量值介於8.2-10.5 ug/dl之間，而測試高血中鉛濃度樣本(55 ug/dl)的測量值則介於51.7-56.6 ug/dl之間。若依據美國CDC於1990年7月所訂定實驗室測量血中鉛濃度「正確性」之可接受標準(血中鉛含量低於40 ug/dl時之可接受標準為 ± 4 ug/dl，而血中鉛含量 ≥ 40 ug/dl時之可接受標準為 $\pm 10\%$)[3]來看，六家實驗室測量血中鉛濃度的「正確性」均在可接受標準的範圍內。然而實驗室間測量低血中鉛含量(10-22 $\mu\text{g/dl}$)之血液樣本的一致性則不理想一部份實驗室的測量變異係數達37%[5]。本文所報告第二年度的評估結果，除了再次驗證前述第一年度關於測量一致性的評估結果外，同時也顯示即使在同一實驗室內針對同一送樣時間或不同送樣時間梯次送達實驗室之測試樣本進行血中鉛含量測量的一致性亦不理想一部份實驗室的測量變異係數可高達58.9%(同一送樣時間)及102.6%(不同送樣時間)。由這些評估結果顯示，參與

表一 實驗室測定低血中鉛含量血液樣本之一致性評估：GEE分析結果

變項	迴歸係數 估計值($\hat{\beta}$)	迴歸係數強韌性標準誤 估計值(robust SE($\hat{\beta}$))	Z 值	p 值
重覆樣本	0.304	0.532	0.57	0.569
送樣時間點2	0.434	-1.90	0.057	
送樣時間點3	-0.196	0.504	-0.39	0.697
實驗室 1	-0.470	0.208	-2.26	0.024*
實驗室 2	-0.600	0.494	-1.21	0.226
實驗室 3	-0.697	0.652	-1.07	0.285
實驗室 4	2.597	0.335	7.76	$<0.001^*$
實驗室 5	2.193	0.485	4.53	$<0.001^*$
實驗室 6	-0.713	0.343	-2.08	0.038*

* 於 $\alpha=0.05$ 水準具統計學顯著性

研究的實驗室在測量低血中鉛含量血液樣本時的測試工作並不穩定。當研究人員親赴各實驗室作現場視察(site visit)以深入瞭解各實驗室檢驗人員和儀器操作情形時，發現測量一致性較差的實驗室5，於評估期間發生了由新進人員接替離職的原先檢驗人員來繼續樣本的分析工作之情形。由於該實驗室並未向中心實驗室回報檢驗人員異動的情形，以致本研究無法針對接替的檢驗人員重新進行檢驗步驟標準化的工作，因此檢驗人員的更動所導致實驗室操作程序的變異是造成實驗室5測量一致性差的重要原因。另外，研究人員亦發現雖然本研究曾嚴格要求各實驗室採用事前擬定好的統一樣本處理程序與分析步驟，然而實驗室4的檢驗人員仍然是按照其內部的檢驗程序來進行樣本血中鉛含量的測定，研究人員認為這是造成實驗室4測量一致性差的原因。另一方面，從中心實驗室檢驗人員參與品管評估所得到的測試結果顯示，即使在沒有發生人員更動的情形下，在測試不同送樣時間點之血液檢體時，也會產生顯著的測量變異(變異係數可達37%)，這亦顯示實驗室在測試低血中鉛濃度確實面臨測試一致性的實質困難。

綜合本研究兩個年度針對國內參與研究的實驗室所進行血中鉛測試品管評估的經驗，可以發現不管是單一實驗室或多家實驗室合作所進行血中鉛含量測定的流行病學研究，需要在研究過程中包含實驗室測量品質的監測程序，特別是針對一般低暴露量的族群進行流行病學調查為然。此一監測程序不僅應包括品管血液樣本的測試評估，更應包含實驗室內部檢驗作業的監測及建立適當的實驗室遇有內部作業調整情形的回報流程；而在聯合多家實驗室合作所進行血中鉛含量測定的流行病學研究時，尤其要包含研究人員定期赴各實驗室作現場視察的研究步驟，以確實達到實驗室測量品質的監測效果。由於血中鉛含量的測定是我國唯一勞工健康檢查時所實施的生物偵測項目，而血中鉛含量測定的不穩定性將會增加勞工健康檢查落實的困難。本研究所採行之監測實驗室檢驗品質的品管步驟提供了評估實驗室測量

血中鉛含量品質的模式，也提供了實證的數據以驗證實驗室測量血中鉛含量所面臨測試穩定性的實際困難。

致 謝

本研究承蒙衛生署經費補助之「國人血中鉛濃度調查研究」(計畫編號：DOH82-HP-072-2M03)提供研究資料，特此致謝。

參考文獻

1. Keppler JF, Maxfield ME, Moss WD, Tietjen G, Linch AL. Interlaboratory evaluation of the reliability of blood lead analyses. *Am Ind Hyg Assoc J* 1970; **31**:412-29.
2. Boone J, Hearn T, Lewis S. Comparison of interlaboratory results from a definitive method. *Clin Chem* 1979; **25**:389-93.
3. Parson PJ. Monitoring human exposure to lead: an assessment of current laboratory performance for the determination of blood lead. *Environ Res* 1992; **52**:149-62.
4. Wu TN, Shen CY, Yang GY, et al. Establishment of an occupational diseases surveillance system to monitor blood lead levels in Taiwan. *Prev Med* 1995; **24**:85-8.
5. Liou SH, Yang GY, Wu TN, et al. Assessment of interlaboratory performance on the measurement of blood lead levels in Taiwanese adults. *Industrial Health* 1995; **33**:181-90.
6. Liang KY, Zeger SL. Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika* 1986; **73**:13-22.
7. Liou SH, Wu TN, Chiang HC, et al. Blood lead levels in the general population of Taiwan, Republic of China. *Int Arch Occup Environ Health* 1994; **66**:255-60.
8. Perera FP. Molecular epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment, and prevention. *J Natl Cancer Inst* 1996; **88**:496-509.

9. Schiffman MH, Schatzker A. Test reliability is critically important to molecular epidemiology: an example from studies of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Cancer Res* 1994; **54(suppl)**:1944-7.
10. Sun CA, Lai CH, Wu DM. Variability of biological measurements in molecular epidemiology: intra-individual biological variability and test reliability. *J Med Sci* 1997; **17**:195-204.

ASSESSMENT OF TEST CONSISTENCY OF BLOOD LEAD LEVELS: THE EXPERIENCE FROM A STUDY ON BLOOD LEAD LEVELS IN TAIWANESE POPULATION

CHIEN-AN SUN¹, YUE-CUNE CHANG²,
CHING-HUANG LAI¹, DER-MIN WU¹, SAOU-HSING LIOU¹

A proficiency study was done to assess the consistency of analyses for blood lead levels (BLLs) when performed by different laboratories. Specimens of blood were aliquoted into a series of test samples from five healthy blood donors and were sent to each laboratory on three separate occasions with two-week interval between each occasion. All test samples were handled identically during processing, storage, and retrieval, and were labeled in ways which would preclude their identification by the receiving laboratory. Blood lead concentrations were analyzed by seven participating laboratories, each used flameless atomic absorption spectrophotometry (FAAS) and followed the same protocols for BLL measure-

ments. Statistical analysis of the data showed that the coefficients of variation (CVs) of laboratory performance on the first replicate of each subject were between 0.7% and 58.9% and the corresponding CVs for assays on the second replicate were in the range of 2.7% to 102.6%. In addition, results from the analysis based on generalized estimating equation (GEE) revealed a statistically significant variation in interlaboratory measurements of BLLs. These study results emphasized the need for rigorous evaluation and increased monitoring of laboratory performance in epidemiological studies using BLLs as biomarkers. (*Chin J Public Health. (Taipei): 1998; 17(2): 103-110*)

Key words: *blood lead levels, test consistency.*

¹ School of Public Health, National Defense Medical Center.

² Department of Mathematics, Tamkang University.

