临床生物化学指标测量不确定度的评估

刘密凤, 刘蔚, 郭海, 韩晓禹, 林凌云, 黄山[△] (首都医科大学附属北京中医医院 100010)

【摘要】 目的 通过对临床生物化学指标测量不确定度的评估, 探讨医学实验室认可工作中测量不确定度的评估方法和程序。**方法** 利用室内质控数据计算批内变异及批间变异系数, 卫生部临检中心室间质评数据计算偏倚不确定度, 利用 3 个来源的不确定度综合评估丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶、乳酸脱氢酶、肌酸激酶、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)、总蛋白、血清清蛋白、葡萄糖、尿素、肌酐、尿酸、三酰甘油、总胆固醇、钠(Na)、钾、氯(Cl)、钙、磷(P)等指标的测量不确定度。**结果** 19 项临床生物化学指标中, 低浓度 Cl 及高浓度 Na 扩展不确定度值最小, 低浓度 P 及高浓度 ALP 扩展不确定度值最大。低浓度 ALT、ALP、P 及高浓度 ALP 扩展不确定度大于 10%, 检测结果与真实值差波动较大, 其他各项指标扩展不确定度均较小。**结论** 本研究采用的测量不确定度评估方法简单方便, 能分析不同因素对测量结果的影响程度, 可用于医学实验室认可工作。

【关键词】 测量不确定度; 临床生化指标; 评估

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.23.032 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)23-3153-02

Evaluation on measurement uncertainty of clinical biochemical indicator LIU Mi-feng, LIU Wei, GUO Hai, HAN Xiao-yu, LIN Ling-yun, HUANG Shan[△] (Beijing Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated of Capital Medical University, Beijing 100010, China)

【Abstract】 Objective To explore a method for evaluation of measurement uncertainty of clinical biochemical indicator. **Methods** The laboratory internal quality control data and the National Center for clinical laboratory EQA data were analyzed, the measurement uncertainty of ALT, AST, LDH, CK, ALP, γ -GT, TP, ALB, Glu, Urea, Cr, UA, TG, TC, Na, K, Cl, Ca and P were evaluated, respectively. **Results** CL of low concentration and Na of high concentration in 19 clinical biochemistry indicators expanded minimum value, and P of low concentration and ALP of high concentration expanded maximum value. The measurement uncertainty in ALT, ALP, P of low concentration and ALP of high concentration were greater than 10%. The larger fluctuations were between the testing results and the true value of measurement uncertainty, and measurement uncertainty of another indexes were small. **Conclusion** This evaluation method of measurement uncertainty is simple and convenient, and can analyze the influence of different factors on the measurement results. It can be used for the medical laboratory.

【Key words】 measurement uncertainty; clinical biochemical indicator; evaluation

检测结果的准确性、精确性及可靠性对于降低误差意义重大^[1]。本研究使用批内、批间重复性测定结果及室间质评结果定量不确定度分量, 对本科室贝克曼全自动生化分析仪 AU5421 所检测项目进行测定, 评估其不确定度, 以探讨临床实验室简单有效的不确定度评估方法。

1 材料与方 法

1.1 材料 贝克曼全自动生化分析仪 AU5421, Beckman-原厂配套试剂, 多项复合校准品和质控品分别为伯乐液体质控品 2、3 水平, 批号分别为 C876800、C886900。

1.2 检测指标 检测指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)、总蛋白(TP)、血清清蛋白(ALB)、葡萄糖(GLU)、尿素(Urea)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、钠(Na)、钾(K)、氯(Cl)、钙(Ca)、磷(P)。

1.3 不确定度评估和计算^[2-4] (1) 批内变异系数(CV)的计算: Beckman-配套质控品伯乐 2、3 水平液体质控品(批号为 C876800、C886900)重复测定 20 次以上, 2 h 内完成。用双侧

迪克逊检验法^[1]($P=95\%$)剔除离群值后分别计算其 $\bar{x}$ 、 s 和 CV。(2) 批间 CV 的计算: 收集 2012 年 5 月 1~31 日本室 Beckman AU5421 全自动生化分析仪每日质控数据, 并计算批间 CV。(3) 偏倚不确定度计算: 收集 2012 年 Beckman AU5421 全自动生化分析仪参加卫生部临床检验中心 2 次常规化学能力验证结果。根据卫生部临床检验中心提供的靶值和本室测定值, 计算 PT 结果的百分偏差(d)、其 $\bar{x}$ 及 s , 根据公式 $CV_{bias} = \sqrt{(\bar{d}/2)^2 + s^2}$ 计算偏移变异。(4) 标准不确定度的合成: 评定各不确定度分量后, 各分量以方差形式合成。本研究中标准不确定度的合成主要由批内 CV、批间 CV 及偏倚的不确定度合成, 忽略了其他原因的不确定度。合成标准不确定度为上述 3 项合成方差的正平方根。标准不确定度 $\mu_c(y)$ 的计算公式如下: $\mu_c(y) = (\sqrt{CV_W^2 + CV_B^2 + CV_{Bias}^2 + CV_{OTH}^2})$ 。 CV_W = 批内 CV, CV_B = 批间 CV, CV_{Bias} = 偏倚的不确定度, CV_{OTH} = 其他原因的不确定度。(5) 扩展不确定度的计算: 扩展不确定度等于合成标准不确定度与包含因子(k)的乘积, 根据临床检验专业的需要, 一般取 $k=2$ (95% 置信水平), 所以

[△] 通讯作者, E-mail: Jyk0727@126.com。

$U = 2 \times \mu c(y)$, 扩展不确定度的计算公式如下: $U = (\sqrt{CV_W^2 + CV_B^2 + CV_{Bias}^2 + CV_{OTH}^2}) \times 2$ 。其中 CV_W = 批内 CV , CV_B = 批间 CV , CV_{Bias} = 偏倚的不确定度, CV_{OTH} = 其他原因的不确定度。

2 结 果

依据此评定方法对临床检验中心申报认可 19 项临床生物

化学指标进行不确定度评估, 结果见表 1。生物化学 19 项指标中, 低浓度 CL 及高浓度 Na 扩展不确定度值最小, 低浓度 P 及高浓度 ALP 扩展不确定度值最大。低浓度 ALT、ALP、P 及高浓度 ALP 扩展不确定度值大于 10, 上述几项检测指标其检测结果与真实值的差波动较大。其他检测项目不确定度值较小, 相对较好。

表 1 生化室贝克曼全自动生化分析仪 AU5421 检测项目不确定度评定报告

指标	低水平						高水平					
	$\bar{x}$	CV_W	CV_B	CV_{bias}	U	报告结果($\bar{x} \pm s$)	$\bar{x}$	CV_W	CV_B	CV_{bias}	U	报告结果($\bar{x} \pm s$)
ALT(U/L)	37.32	2.44	1.94	4.14	10.36	37.32±3.87	136.43	0.69	1.38	1.44	4.22	136.43±5.76
AST(U/L)	35.53	2.93	1.85	2.10	8.10	35.53±2.88	147.50	0.85	1.58	2.64	6.38	147.50±9.41
LDH(U/L)	186.82	1.64	2.18	2.24	7.06	186.82±13.19	326.32	0.75	2.39	2.80	7.51	326.32±24.51
CK(U/L)	183.00	0.52	1.14	2.24	5.13	183.00±9.39	493.10	0.28	0.95	2.80	5.94	493.10±29.29
ALP(U/L)	213.98	1.14	4.39	5.40	14.10	213.98±30.17	430.81	2.32	3.28	5.42	13.49	430.81±58.12
GGT(U/L)	50.71	1.60	2.19	3.13	8.28	50.71±4.20	169.38	1.00	2.00	3.06	7.58	169.38±12.84
TP(g/L)	60.01	0.50	1.81	1.60	4.93	60.01±2.96	46.07	0.56	1.80	1.05	4.32	46.07±1.99
ALB(g/L)	40.37	0.80	1.48	3.36	7.52	40.37±3.04	26.96	1.34	1.56	2.20	6.02	26.96±1.62
Ca(mmol/L)	2.42	0.39	1.32	1.92	4.72	2.42±0.11	2.87	0.26	1.44	2.19	5.27	2.87±0.15
P(mmol/L)	1.47	0.89	1.85	10.90	22.18	1.47±0.33	2.33	0.76	1.88	1.46	5.00	2.33±0.12
GLU(mmol/L)	5.86	1.27	3.09	2.51	8.36	5.86±0.49	14.30	0.74	1.87	2.26	6.05	14.30±0.87
Urea(mmol/L)	7.07	2.22	3.16	2.80	9.54	7.07±0.67	17.79	1.22	3.63	1.29	8.08	17.79±1.44
Cr(μ mol/L)	121.80	0.43	2.68	1.85	6.57	121.80±8.00	344.40	0.65	2.31	2.99	7.67	344.40±26.42
UA(μ mol/L)	342.90	0.60	2.81	3.35	8.83	342.90±30.28	546.50	0.65	2.43	1.52	5.88	546.50±32.13
CHO(mmol/L)	4.08	0.46	1.35	2.18	5.21	4.08±0.21	8.14	0.43	1.34	0.84	3.28	8.14±0.27
TG(mmol/L)	1.17	0.89	2.33	3.10	7.96	1.17±0.09	2.88	1.81	2.19	1.28	6.23	2.88±0.18
Na(mmol/L)	143.32	0.38	0.51	0.86	2.14	143.32±3.07	160.14	0.38	0.99	0.63	2.47	160.14±3.96
K(mmol/L)	4.06	0.37	1.05	0.30	2.31	4.06±0.09	6.08	0.42	1.40	0.78	3.31	6.08±0.20
Cl(mmol/L)	99.16	0.32	0.59	0.46	1.63	99.16±1.62	116.73	0.29	1.01	0.85	2.70	116.73±3.15

3 讨 论

实际上测量不确定度指某一个量在一定条件下重复测量, 所得测量结果的最佳估计值, 由于随机效应包括已识别的系统效应评定的不完善而不能确定的程度。测量不确定度分量用标准差表示, 它们或者由随机误差引起, 或者由系统误差引起, 都对测量结果的分散性产生相应影响。测量不确定度越小, 所述结果与被测量的真实值越接近, 测量质量越高; 测量不确定度越大, 测量结果的质量越低。

通常测量不确定度一般由若干个分量组成, 其中部分分量可根据一系列测量值统计分布, 按测量不确定度 A 类评定, 并用标准差表征^[5]。而另一部分分量则可根据经验或其他信息假设的概率密度函数, 按测量不确定度 B 类评定, 也可用标准偏差表征。常规定量方法的测量不确定度主要来源^[6]: 一是校准品的赋值带来的测量不确定度, 通常由厂商提供, 若实验室自制校准品, 则由实验室评定; 二是随机误差引入的不确定度, 用重复测量值的“离散度”(即变异度)表示, 可用室内质控数据进行计算, 是测量不确定度的主要来源, 影响临床医生对患者病情的诊断和治疗。总测量不确定度由上述两种来源的测量

不确定度合成。在常规临床生化检测中, 测量不确定度常存在大量可能的来源, 应根据测量不确定度的评估结果, 确定不同定值变量来源的大小, 按照贡献大小合理选择质量改进方案^[7-8]。

采样、标本选择与制备、校准物、参考物、标本加入量、仪器设备、环境条件、样品状态和操作人员等均会产生不确定度^[6]。检测程序的测量不确定度是标准操作规程中每一操作步骤引入的不确定度分量的总和。校准物、参考物和仪器设备等引入的不确定度由校准证书给出。如果原始标本质量不适合检测或可能影响检验结果时应在报告中说明。参考物质的测量提供了与溯源相关的不确定度估计, 因此考虑利用参考物质测量直接评估不确定度。同时也可以利用外部质量评估计划(EQAS)获得的结果估计不确定度, 合作研究或来自 EQAS 的资料可以构成一个不确定度评估的来源。假若实验室经过一个时间段的重复测量, 在靶值和测量值之间差异的标准差可以加入不确定计算。假若一个有意义的系统差异被观察到, 应当考虑做一个校正。日常工作中, 不确定度的计算可以使用室内质控结果、方法确认的实验数据、文献和厂家(下转第 3157 页)

的评价中,良好的准确度及精密度是评价的基础,方法学的线性范围、干扰因素及操作易推广性也是重要条件之一,透射免疫比浊法比较适合于 Cys-C 检测的常规方法。

本文对 Cys-C 试剂盒及透射免疫比浊法进行了方法学评估,试剂用量的设置严格按照说明书设置,尽量避免因试剂用量设置不合理造成对方法学精密度、准确度及线性范围的影响。临床患者血清标本于 4 ℃ 保存,方法学有较好的稳定性,检出限依据试剂空白均值计算得出,低于国外文献[5]报道的参考下限,符合临床应用标准。采用定值血清检测的 Bias 评价准确度均在 8% 以内,检测的准确度良好。精密度评估中考虑临床血清标本与质控定值血清的差异性,采取两组标本不同时间段不同试剂批号检测评估方法学的精密度,其中批内、批间及总 CV 均在允许范围内,批间 CV 稍高于批内 CV,均在可接受范围内。EP-6 文件定义线性范围为系统最终输出值(浓度或活性)与被分析物的浓度呈正比。本研究线性范围评估良好,未发现离群点,测定标本拟合度 $r=0.983$,大于试剂盒要求的 0.97,稀释变异 P 小于 $P_{0.05}$ 界限值,稀释变异尚处于可接受范围,线性良好。干扰试验主要是评估偏倚和不精密度作用,临床标本主要干扰一般为溶血、黄疸及脂血,干扰效果可随干扰物浓度不同发生变化^[6-7]。本文对 IBil、DBil、Hb、乳糜浊度与临床血清标本进行不同比例混合,以 Bias < 8% 为医学决定水平^[8],IBil < 28.2 μmol/L, DBil < 29.1 μmol/L, Hb < 9.7 g/L,乳糜浊度小于 2 583 FTU, Cys-C 的 Bias 尚在可接受范围内。

综上所述,Cys-C 透射比浊检测试剂盒的各项性能均符合要求,适合于生化仪的大批量操作,对临床相关疾病的诊断、评估有重要临床意义。

参考文献

[1] 侯振江,魏明.胱抑素 C 及其检测方法研究进展中华心内

(上接第 3154 页)

信息、国际或国家参考物质、空间质量评价计划或有经验分析人员的判断来定量确定不确定度分量,利用 CV 来定量确定标准不确定度。根据上述分析及目前水平,本实验室的不确定度来源分为批内 CV、批间 CV、偏倚的不确定度 3 个方面进行计算^[9]。本研究对 19 项临床生物化学检测项目的不确定度进行了评估,19 项中低浓度 ALT、ALP、P 及高浓度 ALP 的扩展不确定度值均大于 10,由此可见检测结果与真实值的差波动较大,需进行质量改进。

通过不确定度评价,分析主要不确定度分量产生的原因,尽可能降低该类不确定度分量,做到检验工作的持续改进,这也是不确定度评价的目的之一。目前,以室内质量控制及室内质评数据评价实验室检验项目测量不确定度的方法简单、实用,适合于临床实验室。

参考文献

[1] 黄永富,许文荣,曹兴建,等.全自动生化分析仪检测系统过程能力与不确定度的研究[J].国际检验医学杂志,2010,31(7):650-652.
 [2] 吴斌,李一松,贺勇,等.25 项临床生物化学指标测量不确

管病杂志[J].国际检验医学杂志,2007,28(11):1013-1015.
 [2] National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A method comparison using patient samples [S]. PA, USA: NCCLS, 1995.
 [3] 李海霞,张春丽,徐园宾,等.健康人群血清半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 与肌酐分布及其评价慢性肾脏病患者肾小球滤过功能的比较研究[J].中华检验医学杂志,2006,29(11):970-973.
 [4] 王建琼,牛华,刘莉,等.透射比浊法和散射比浊法测定血清胱抑素 C 的方法学评价[J].国际检验医学杂志,2011,32(3):340-343.
 [5] Stowe H, Lawrence D, Newman DJ, et al. Analytical performance of a particle-enhanced nephelometric immunoassay for serum cystatin C using rate analysis [J]. Clin Chem, 2001, 47(8): 1482-1485.
 [6] 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,2006:470-471.
 [7] 孙晓慧.血清胱抑素 C 测定在疾病监测中的应用[J].医学综述,2006,12(7):443-445.
 [8] 韩平治,丁进芳,张狮,等.兰州市健康人血清胱抑素 C 浓度参考范围的调查[J].国际检验医学杂志,2006,27(2):176-178.

(收稿日期:2013-03-20 修回日期:2013-07-10)

定度的评估[J].临床检验杂志,2012,30(5):378-379.
 [3] 胡丽涛,何法霖,王薇,等.临床检验测量不确定度的评定[J].临床检验杂志,2011,29(9):658-659.
 [4] 雷名禄.临床生化检验测量不确定度的评估[J].当代医学,2013,19(7):23-24.
 [5] 陈文祥.临床检验测量不确定度[J].临床检验杂志,2011,29(5):321.
 [6] White GH, Farrance I. Uncertainty of measurement in quantitative medical testing[J]. Clin Biochem Rev, 2004, 25(4): S1-24.
 [7] 鲁涛,李江,赵兴波,等.临床生物化学实验室测量不确定度的评估[J].临床检验杂志,2010,28(3):224-226.
 [8] 陈辉,邓小玲,毕小云,等.人血清胆固醇常规测量不确定度的研究[J].临床检验杂志,2010,28(5):372-374.
 [9] 陈孝红,杨红英,邵文琳.利用室内质控和室内质评资料计算测量不确定度[J].国际检验医学杂志,2009,30(2):194-195.

(收稿日期:2013-05-01 修回日期:2013-08-05)