

测量不确定度评估临床干生化检验的初步应用

尹晶平,董菁[#],徐杰,任亚璐,曹君,史进方,邱骏,顾国浩[△](苏州大学附属第一医院检验科 215006)

【摘要】目的 探讨临床干生化检验测量不确定度的评估方法及其应用。**方法** 针对强生 Vitro5600 全自动生化免疫分析仪检测的 15 项指标,利用室内质控和室间质评等数据评估测量不确定度。**结果** 15 项临床干生化检测指标的测量不确定度为 4.62%~18.39%,在整个检测过程中测量不确定度受各因素影响不一。**结论** 通过评估 15 项检测指标的测量不确定度,根据不确定度分量的贡献大小可为临床干生化检验改进质量提供理论依据。

【关键词】 测量不确定度; 临床干生化检验; 质量控制

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.20.024 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)20-3033-02

Preliminary application of measurement uncertainty for assessing clinical dry biochemical tests YIN Jing-ping, DONG Jing[#], XU Jie, REN Ya-lu, CAO Jun, SHI Jin-fang, QIU Jun, GU Guo-hao[△] (Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215006, China)

【Abstract】Objective To investigate the evaluation methods of measurement uncertainty and its application in clinical dry chemistry tests. **Methods** The data of internal quality control and external quality assessment were applied to assess the measurement uncertainty aiming at 15 indicators in Johnson Vitro5600 automatic biochemical and immunity analyzer. **Results** The measurement uncertainty of 15 clinical indicators in dry biochemical testing ranged 4.62%—18.39%, the measurement uncertainty were affected by the various factors in the entire testing processes. **Conclusion** Evaluating the measurement uncertainty of 15 detection indicators can provide a theoretical basis for the quality improvement of clinical dry biochemistry tests according to the contribution of the uncertainty components.

【Key words】 measurement uncertainty; clinical dry biochemical tests; quality control

临床检验的主要任务是对人体各种标本的特性进行赋值。所赋值的可靠性、准确性及其分散性将会直接影响临床对疾病的诊断,治疗方案的选择及疗效的判断。因此,确保检验结果的准确性至关重要,在检验医学的发展中具有重要意义。目前,临床生化检验中多以“误差理论”来评价检测结果,测量不确定度的评价体系并未得到广泛的应用。然而 ISO 15189 认可实验室时明确要求“必要且可能”时实验室应确定检测结果的测量不确定度^[1]。测量不确定度是表征合理的赋予被测量值的分散性,与检测的准确度呈现负相关^[2],是客观反映检测结果准确性和重复性的重要参数。本文利用室内质控数据及室间质评结果,根据王治国等^[3]学者提出的以批内、批间重复性和方法偏移为分量进行测量不确定度的评估。对临床干生化定量检测指标检测重复性和分析偏移的不确定度进行评定的可行性和临床应用价值,以评估其适用性,为科室急诊干化学检验建立一个较简单又实用的临床生化定量检验测量不确定度的评定方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 强生 Vitro5600 全自动生化免疫分析仪及配套试剂、校准品,质控品购自强生公司。室间质评(EQA)盲样由卫生部临床检验中心提供。

1.2 检测程序 参照本室 SOP 文件对仪器进行校准和保养,每天严格进行室内质控,每批包括 2 个不同浓度水平的质控品,质控品检测与常规标本检测同等条件。

1.3 检测指标 钠(Na)、钾(K)、氯(Cl)、钙(Ca)、磷(P)、总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBil)、肌酐激酶(CK)、尿素

氮(Urea)、肌酐(Crea)、葡萄糖(Glu)、淀粉酶(AMY)。

1.4 测量不确定度的计算分析

1.4.1 批内变异 将 2 个水平质控血清 2 h 内重复测定 20 次,根据双侧迪克逊检验法($P=95\%$)剔除离群值后分别计算均值(\bar{x}),标准差(s)及批内变异系数 CV_w 。

1.4.2 批间变异 收集本室 2014 年 1~10 月强生 Vitro5600 全自动生化免疫分析仪室内质控数据计算其 \bar{x} 、 s 及批间变异系数(CV_B)。

1.4.3 方法偏移的计算 收集本室 2013~2014 年 6 次参加卫生部临检中心干化学室间质评结果。根据卫生部临检中心提供的靶值和本室结果、百分偏差($d_n\%$),计算其相对差值的平均值($d_m\%$)及其标准差(s_{dr}), $s_{dr} = \sqrt{\frac{\sum(d_n\% - d_m\%)^2}{n-1}}$,根

据公式 $CV_{Bias} = \sqrt{(d_m\%/2)^2 + s_{dr}^2}$ 计算方法偏移。依据国家测试局协会(NATA)及国内王治国等^[3]学者推荐的公式 $U = \sqrt{CV_w^2 + CV_B^2 + CV_{Bias}^2} \times k$ 计算扩展不确定度。根据目前临床生化检验专业的需要,选择包含因子 $k=2$ (95%置信水平)。

2 结 果

依据上述方法及公式计算,两个不同浓度水平检测指标的变异系数及扩展不确定度,见表 1~2。高浓度水平时,各检测指标扩展不确定度(U)均在 10% 以内,低浓度 TBil、ALT、CK、Urea、Crea、Glu、AMY 的扩展不确定度 U 均大于 10%,此时检测结果与真值波动较大,需进行质量持续改进。应用 SPSS16.0 软件分析 U 与 CV_w 、 CV_B 及 CV_{Bias} 之间的相关性,其 r 值分别为 0.13、0.83、0.79,显示 U 与 CV_B 和 CV_{Bias} 的相关程度较

高,与 CV_w 无明显相关性。

表 1 检测指标低浓度水平各种变异系数及扩展不确定度结果

指标	\bar{x}	$CV_w(\%)$	$CV_B(\%)$	$CV_{Bias}(\%)$	$U(\%)$	报告结果
K	2.78 mmol/L	1.90	2.30	1.82	6.99	(2.78±0.19)mmol/L
Na	116.63 mmol/L	0.80	1.90	1.04	4.62	(116.6±35.39)mmol/L
Cl	82.05 mmol/L	0.70	2.20	1.15	5.16	(82.05±4.23)mmol/L
Ca	2.30 mmol/L	1.00	2.70	2.80	8.03	(2.30±0.18)mmol/L
P	1.09 mmol/L	1.50	2.10	1.89	6.40	(1.09±0.07)mmol/L
TP	37.52 g/L	0.30	3.10	2.98	8.62	(37.52±3.23)g/L
ALB	23.67 g/L	2.30	2.90	2.31	8.73	(23.67±2.07)g/L
TBil	29.87 mmol/L	1.50	5.70	2.28	12.64	(29.87±3.78)mmol/L
ALT	35.12 U/L	1.00	8.10	4.24	18.39	(35.12±6.46)U/L
AST	41.99 U/L	1.20	2.40	3.34	8.60	(41.99±3.61)U/L
CK	154.87 U/L	1.20	3.70	4.77	12.31	(154.87±19.06)U/L
Urea	6.95 mmol/L	0.40	2.70	6.39	13.90	(6.95±0.97)mmol/L
Crea	92.89 μ mol/L	0.70	3.80	3.79	10.83	(92.89±10.06) μ mol/L
Glu	4.50 mmol/L	0.40	3.00	5.47	12.50	(4.50±0.56)mmol/L
AMY	72.16 U/L	0.70	5.10	3.49	12.44	(72.16±8.98)U/L

表 2 检测指标高浓度水平各种变异系数及扩展不确定度结果

指标	\bar{x}	$CV_w(\%)$	$CV_B(\%)$	$CV_{Bias}(\%)$	$U(\%)$	报告结果
K	5.29 mmol/L	1.40	2.10	3.45	8.54	(5.29±0.45)mmol/L
Na	144.24 mmol/L	0.60	2.10	1.78	5.63	(144.24±8.12)mmol/L
Cl	110.12 mmol/L	0.50	2.20	1.44	5.36	(110.12±5.90)mmol/L
Ca	2.94 mmol/L	0.60	2.40	1.22	5.52	(2.94±0.16)mmol/L
P	2.33 mmol/L	1.00	2.40	2.34	6.99	(2.33±0.16)mmol/L
TP	67.30 g/L	0.60	2.70	2.14	6.99	(67.30±4.70)g/L
ALB	42.48 g/L	0.90	2.90	2.81	8.27	(42.48±3.51)g/L
TBil	239.98 mmol/L	0.50	2.50	2.68	7.40	(239.98±17.76)mmol/L
ALT	174.77 U/L	0.40	2.80	3.00	8.25	(174.77±14.42)U/L
AST	213.72 U/L	0.40	2.20	2.62	6.89	(213.72±14.73)U/L
CK	867.10 U/L	0.50	2.20	2.51	6.75	(867.10±58.53)U/L
Urea	18.91 mmol/L	0.20	2.10	2.88	7.13	(18.91±1.35)mmol/L
Crea	490.17 μ mol/L	0.20	3.20	1.35	6.96	(490.17±34.12) μ mol/L
Glu	16.56 mmol/L	1.90	2.90	2.80	8.91	(16.56±1.48)mmol/L
AMY	330.41 U/L	0.30	2.20	2.07	6.07	(330.41±20.06)U/L

3 讨 论

临床检验中误差的存在不可避免,如何减小误差使检验结果无限接近真值对于提高检验质量至关重要。测量不确定度作为一个检测结果分散性的指标,是反映检验结果质量的重要参数。不确定度越小表示检测质量越高,可信度越高,反之亦然。然而,由于检验前和实验室内部不可控制因素较多,临床医学检验的不确定度受到多方面因素的影响。在常规临床检验中,不确定度 U 常存在多种可能的来源,需根据不确定度的评估报告分析不同变量来源的大小,按照贡献大小合理选择相应的质量改造方案。目前,国内外对测量不确定度的评估方法尚未达成共识,张晓红等^[4]曾报道应用 Nordtest 准则评估测量不确定度, Magnusson 等^[5]依据 Nordtest 准则以室内质控数据和室间质评结果评定测量不确定度。国内有报道利用室

内质控数据和室间质评结果对常规血凝检测指标进行测量不确定度的评估^[6-7]。

本研究利用室内质控数据和室间质评结果对本科室急诊干生化检验 15 个检测项目进行测量不确定度评估。结果显示,所选 15 个检测项目的扩展不确定主要来源于 CV_B 和 CV_{Bias} 。同时,不同项目扩展不确定度的来源有所不同,如低浓度 ALT、TBil 的 CV_B 值分别为 8.10%、5.10% 均高于 CV_{Bias} (分别为 4.24%、2.28%),此时主要需改进 CV_B 的来源即可减小扩展不确定度;低浓度 CK、Urea、Glu 等项目检测指标的 CV_{Bias} 大于 CV_B 和 CV_w ,扩展不确定度主要来源于方法偏移,主要需改进 CV_{Bias} 的来源即可减小扩展不确定度。可见,对于不同项目需要改进质量的主要方面不一样。对于低浓度 TBil、ALT、CK、Urea、Crea、Glu、AMY 的扩(下转第 3037 页)

凋亡、血管生成、运动等正常生理过程中起着重要的作用,而且系统异常造成的细胞内重要功能蛋白质降解失常与恶性肿瘤的发生和发展有着密切的关系^[2]。有研究表明,泛素蛋白酶体系统不但参与调控结直肠癌上皮细胞的增殖与分化,还参与调控结直肠癌发病机制的常见损害^[7-8]。

结直肠癌肿瘤组织及其癌旁正常组织中 UbcH10 表达的检测结果(图 1)表明:泛素结合酶 UbcH10 的表达与肿瘤的发生、发展密切相关,特别是局部浸润灶组织中泛素结合酶 UbcH10 的表达更是与其周围正常组织形成了鲜明对比。在此基础上对收集标本中泛素结合酶 UbcH10 的表达与临床病理特征进行统计分析发现:UbcH10 在结直肠癌肿瘤组织中的表达水平明显高于癌旁正常组织中 UbcH10 基因的蛋白表达水平($P < 0.01$),而且表达水平与肿瘤分化程度、淋巴结是否转移密切相关。因此,本研究认为 UbcH10 基因与结直肠癌的发生、发展密切相关,可作为结直肠癌诊断的潜在肿瘤标记物及结直肠癌基因治疗的新靶点。

结直肠癌淋巴结转移与肿瘤的分期和临床治疗方案的制订密切相关,也是影响其预后的最重要因素之一。目前,诊断淋巴结转移的金标准是病理组织学检查,然而它会受到手术中淋巴结清扫范围、取检淋巴结的方法及淋巴结微转移的客观存在等因素的影响。临床上一些病理分期为早期的患者出现预后差的情况,就可能与没有发现存在的淋巴结转移灶有关。本研究中,结直肠癌患者肿瘤组织标本的免疫组化结果(图 1E)及临床病理学特征分析(表 1)均提示 UbcH10 表达与肿瘤的侵袭转移有关。UbcH10 在结直肠癌淋巴结转移患者中的表达明显高于无淋巴结转移患者,而且 UbcH10 在局部的肿瘤浸润灶中表达升高。

众所周知,恶性肿瘤是一种人体细胞异常而且无限制的增生。除了细胞生长失控的基本生物学特性外,肿瘤细胞的转移侵袭性也是其重要生物学特征之一。为了进一步探寻泛素结合酶 UbcH10 的表达与结直肠癌淋巴结转移的关系,在细胞水平研究了 UbcH10 对结直肠癌细胞 HT-29 侵袭能力的影响。根据实验结果推测结直肠癌淋巴结转移的潜在原因可能是 UbcH10 的表达改变影响到细胞侵袭能力的变化而导致的。因此,认为 UbcH10 的检测不仅可以作为结直肠癌的肿瘤预后标志物,而且可用于结直肠癌淋巴结转移的辅助诊断。

越来越多的研究表明,恶性肿瘤是一类细胞周期性疾病,

细胞分裂周期中所涉及的相关蛋白和基因的改变都会导致肿瘤的发生。结直肠癌是经多阶段多基因改变而发生的,从目前的研究来看,细胞周期调控系统和结直肠癌的发生、发展有密切联系,但其基因调控机制不十分清楚。对于 UbcH10 作用的分子机制是直接参与细胞周期调控引起肿瘤的发生、发展,还是通过泛素蛋白酶途径间接引起,值得进一步研究来阐明。

参考文献

- [1] Gramont A, Ganier O, Cohen-Fix O. Before and after the spindle assembly checkpoint——an APC/C point of view [J]. *Cell Cycle*, 2006, 5(18): 2168-2171.
- [2] Engel K, Bassermann F. The ubiquitin proteasome system and its implications for oncology [J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2013, 138(22): 1178-1182.
- [3] Grande E, Earl J, Fuentes R, et al. New targeted approaches against the ubiquitin-proteasome system in gastrointestinal malignancies [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2012, 12(4): 457-467.
- [4] Shen M, Schmitt S, Buac D, et al. Targeting the ubiquitin-proteasome system for cancer therapy [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17(9): 1091-1108.
- [5] 陈世敏, 徐春晓, 刘斌, 等. UbcH10 及其 siRNA 真核表达载体的构建与表达 [J]. *放射免疫学杂志*, 2009, 22(4): 382-384.
- [6] Thompson SJ, Loftus LT, Ashley MD, et al. Ubiquitin-proteasome system as a modulator of cell fate [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2008, 8(1): 90-95.
- [7] Aragaki M, Tsuchiya K, Okamoto R, et al. Proteasomal degradation of Atoh1 by aberrant Wnt signaling maintains the undifferentiated state of colon cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(4): 923-929.
- [8] Voutsadakis IA. Peroxisome proliferator activated receptor- γ and the ubiquitin-proteasome system in colorectal cancer [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2010, 2(5): 235-241.

(收稿日期:2015-03-26 修回日期:2015-07-10)

(上接第 3034 页)

展不确定度均大于 10% 的情况,均需改善检测系统性能及稳定性,提高检测的准确度和精密度。

综上所述,临床检验作为分析领域较为复杂、影响因素多的检测过程,利用室内质控数据和室间质评回报结果,对临床检测指标进行测量不确定度的评估,可以为改善临床检验质量提供科学有效的依据。

参考文献

- [1] International Organization for Standardization. ISO5189 Medical laboratories: particular requirements for quality and competence [S]. Geneva, Switzerland: ISO, 2003: 39.
- [2] Fuentes-Arderiu X. Uncertainty of measurement in clinical laboratory sciences [J]. *Clin Chem*, 2000, 46(9): 1437-1438.
- [3] 王治国, 王蔽, 李小鹏, 等. 测量不确定度及其在临床检验

中应用 [J]. *中国卫生统计*, 2005, 22(2): 85-86.

- [4] 张晓红, 刘向祥, 文江平, 等. 利用“室内质控和室间质评”数据评估临床生化检验中的测量不确定度 [J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(5): 457-462.
- [5] Magnusson B, Ossowicki H, Rienitz O, et al. Routine internal and external quality control data in clinical laboratories for estimating measurement and diagnostic uncertainty using GUM principles [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2012, 72(3): 212-220.
- [6] 严能兵, 吕辉, 李俊枫, 等. 医学实验室常规血凝检验项目测量不确定度的评定 [J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(8): 997-998.
- [7] 严欣亮. 临床凝血检验项目测量不确定度的评定 [J]. *检验医学与临床*, 2013, 10(23): 3199-3200.

(收稿日期:2015-03-25 修回日期:2015-07-15)