

• 质控与标规 •

# 临床凝血检验的测量不确定度评估

林旭红<sup>1</sup>, 赵耀亭<sup>1</sup>, 王亚强<sup>1</sup>, 白春洋<sup>1</sup>, 任学群<sup>2</sup>

(河南大学淮河医院: 1. 检验科; 2. 普外科, 河南开封 475000)

**摘要:**目的 初步探索测量不确定度在临床凝血检验中的应用。方法 分析不确定度分量的来源并采用 A、B 类评定方法, 评定本实验室几个常规凝血项目(PT、APTT、FIB)的测量不确定度, 合成标准不确定度(uC), 计算扩展不确定度(U)。结果 常规凝血项目的测量不确定度不尽相同, PT、APTT、FIB 的 A 类不确定度分别为 0.025 0、0.073 1、0.028 0; B 类不确定度分量 uB1 分别为 0.065 8、0.147 8、0.122 1; uB2 均为 0.007 0; uB3 均为 0.000 1; uB4 均为 0.007 8; uB5 均为 0.0177。计算 uC(PT)、uC(APTT)、uC(FIB)分别为 0.073 3、0.166 2、0.126 9, U(PT)、U(APTT)、U(FIB)分别为 0.146 6、0.332 4、0.253 8。结论 本研究采用 A、B 类评定方法, 对凝血检验中测量不确定度进行评估, 作为临床凝血检验工作的不确定度研究的初步探索, 以期临床诊断、治疗、预后提供更为客观、可靠的依据。

**关键词:**测量不确定度; 临床凝血检验; 质量控制

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.03.032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)03-0330-03

## Measurement uncertainty of clinical coagulation tests

Lin Xuhong<sup>1</sup>, Zhao Yaoting<sup>1</sup>, Wang Yaqiang<sup>1</sup>, Bai Chuanyang<sup>1</sup>, Ren Xuequn<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. General Surgery, Huaihe Hospital of Henan University, Kaifeng, Henan 475000, China)

**Abstract:** **Objective** This study was aimed to investigate the application of measurement uncertainty in clinical coagulation tests. **Methods** The source of measurement uncertainty was analyzed, and the conventional coagulation indexes (PT, APTT, FIB) were estimated according to A and B type method. The relative standard uncertainties (uC) were combined, and expanded uncertainty (U) was calculated. **Results** The measurement uncertainty varied among these indexes, A type uncertainties from PT, APTT, FIB were 0.025 0, 0.073 1, 0.028 0, respectively; B type uncertainties uB1 were 0.065 8, 0.147 8, 0.122 1 for PT, APTT, FIB, respectively; and uB2 were all 0.007 0; uB3 were all 0.000 1; uB4 were all 0.007 8; uB5 were all 0.017 7. uC(PT), uC(APTT), uC(FIB) was calculated as 0.073 3, 0.166 2, 0.126 9, respectively, and U(PT), U(APTT), U(FIB) were 0.1466, 0.3324, 0.2538 respectively. **Conclusion** A and B type method was used in this study to evaluate measurement uncertainty in coagulation tests, it may provide preliminary exploration of measurement uncertainty in coagulation test, and provide more objective and reliable basis for clinical diagnosis, treatment and prognosis.

**Key words:** measurement uncertainty; clinical coagulation tests; quality control

临床检验的主要任务就是对人体标本的各种特性进行赋值。所赋值的准确性、可靠性及其分散性都会直接影响到疾病的诊断和治疗方案的确定。在国际标准化组织颁布的 ISO15189、ISO15193、ISO15194 等文件中, 分别指出“必要且可能时, 实验室应确定检验结果的不确定度”、“应该注明所有分析性能特征的值及其测量不确定度”、“应该对不确定度进行描述”<sup>[1]</sup>。因此, 中国实验室国家认可委员会在充分考虑目前国际上与合格评定相关的各方对测量不确定度的关注, 以及测量不确定度对测量、实验结果的可信性、可比性和可接受性的影响, 在认可体系的运行中给予测量不确定度评定以足够的重视, 制订了《中国实验室国家认可委员会测量不确定度政策》<sup>[2]</sup>。

根据国际度量学基本和一般概念术语(VIM), 测量不确定度被定义为“与一个测量结果有关的参数, 其特征是由于测量引起的测量值的离散度”<sup>[3]</sup>, 它代表测量结果的分散性, 是一个反映测量结果质量的参数<sup>[4-5]</sup>。测量不确定度在医学检验中的作用不可忽视, 它不仅是实验室通过认可必须考虑的条件, 而且是患者比较前后检测结果或临床决定水平(如参考值)的重要依据。另外, 国内外的相关标准和规范明确规定参考测量结果和标准物质定值都必须给出测量不确定度。因此, 临床实验

室的管理和医学检验的发展离不开测量不确定度, 临床实验室建立一个简单、实用的评定常规检验结果的测量不确定度的方法, 会促进测量不确定度在医学检验中的应用和发展。本研究旨在探索不确定度在临床凝血检验中的应用。

## 1 材料与方 法

**1.1 仪器与试剂** 法国 STAGO 公司 STA-R Evolution 全自动凝血仪, STAGO 公司原装试剂, 校准品, 标本选用液体未定值质控血清 N。

## 1.2 方法

**1.2.1 规定被测量物测量过程** 严格按照 STAGO 公司的用户手册中相关仪器操作, 其中分析参数由 STAGO 公司提供; 在进行室内质控工作时遵循《临床实验室定量测定室内质量控制指南》。

**1.2.2 确定被测量及数学模型** 鉴于凝血功能检验采用全自动分析, 标本上样后仪器自动检测、分析、得出结果, 建立其简单的数学模型  $y=x$ , 只有一个输入量, 但引入了若干个不确定度分量。

**1.2.3 识别不确定度来源** 分析前过程的不确定度(包括受试者的准备和标本采集、储存与制备过程、个体间的生物学变

异)存在很多无法控制的情况,因此,本研究只评定测量过程的不确定度。由于凝血仪对凝血功能的测量结果以数字显示,故校准人员读数对测量结果的不确定度影响可以忽略不计;环境温度在本校规范要求范围内,可以忽略环境温度对测量结果的影响。因此,测量不确定度主要来源有两方面,见图 1。A 类评定:各种随机因素的影响造成偶然误差而引入的测量不确定度分量,可利用实验和统计分析方法评定,一般以重复测量的标准差表示。B 类评定:由质控物引入的误差(uB1)、试剂溶解稀释过程的误差(uB2)、仪器测量显示的量化误差(uB3)、仪器温度控制误差(uB4)、加样误差而构成的测量不确定度(uB5)分量,利用非统计方法评定,是基于经验或其他信息的假定概率分布估算的。主要根据厂家溯源性报告来评定。

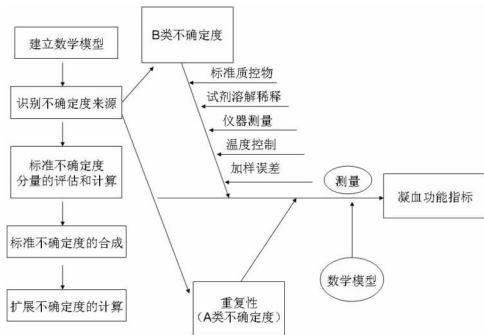


图 1 凝血检验过程中测量不确定度的来源

2 结果

2.1 A 类评定 在测量条件下对各凝血功能指标的未定值质控品 N 进行 10 次重复测量,计算测量值 PT、APTT、FIB 的平均值分别为 13.22s、32.57s、2.99 g/L,标准差分别为 0.079、0.231 1、0.088 6。uA(PT) = PT 标准差 ÷ √n = 0.079 ÷ √10 = 0.0250; uA(APTT) = APTT 标准差 ÷ √n = 0.231 1 ÷ √10 = 0.073 1; uA(FIB) = FIB 标准差 ÷ √n = 0.088 6 ÷ √10 = 0.028 0。

2.2 B 类评定

2.2.1 uB1,按正态分布, uB1 = a/k, a 为置信区间的半宽, k

为置信水平对应的包含因子;校准报告给出的 PT、APTT、FIB 在 95% 置信水平下的区间分别为: 12.771~13.029 s、35.910 4~36.489 6 s、13.060 6~13.539 4 s, a(PT) = (13.029 - 12.771) ÷ 2 = 0.129, a(APTT) = (36.489 6 - 35.910 4) ÷ 2 = 0.289 6, a(FIB) = (13.539 4 - 13.060 6) ÷ 2 = 0.239 4, uB1(PT) = 0.065 8, uB1(APTT) = 0.147 8, uB1(FIB) = 0.122 1。

2.2.2 uB2,采用 1 mL 移液枪稀释 APTT、PT、TT、FIB 等试剂,按均匀分布。A:移液枪经检定为 A 级,允许误差为 ±0.01 mL,故 uB2-1 = 0.005 8; B:重复性,取移液枪,精密量取水 1 mL,称重,重复 10 次,结果依次为 0.964 7、0.973 8、0.981 0、0.974 5、0.969 2、0.973 9、0.972 2、0.961 8、0.980 1、0.962 7 g。计算称重的标准偏差为 0.006 7 g, uB2-2 = 0.003 9。因此, uB2 = 0.007 0。

2.2.3 uB3,按均匀分布, uB3 = a ÷ √3, 根据经验,仪器测量显示的量化误差即十进制与二进制、十六进制之间的转换误差小于 10<sup>-4</sup>, uB3 = 0.000 1。

2.2.4 机器温度为 (37 ± 0.5) °C, uB4,按均匀分布换算成标准偏差为 0.288 7 °C, uB4 = 0.288 7 ÷ 37 = 0.007 8。

2.2.5 根据仪器参数,加样针 1 加样范围在 PT、APTT、FIB 分别为 (57.5 ± 2.5) μL、(57.5 ± 2.5) μL、(115 ± 5) μL 按三角分布换算成标准偏差分别为 1.020 6 μL、1.020 6 μL、2.041 2 μL; uB5(PT) = 1.020 6 ÷ 57.5 = 0.017 7; uB5(APTT) = 1.020 6 ÷ 57.5 = 0.017 7; uB5(FIB) = 2.041 2 ÷ 115 = 0.017 7。

2.2.6 标准不确定度(uC)的合成 评定各不确定度分量后,各分量以方差的形式合成。不确定度分量 uA 和 uB1、uB2、uB3、uB4 独立不相关,且为相对数,故凝血功能测量的合成标准不确定度公式为 uC(PT) = 0.073 3; uC(APTT) = 0.166 2, uC(FIB) = 0.126 9。

2.2.7 扩展不确定度(U)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% 的置信水平),所以 U(PT) = 2 × uC(PT) = 0.146 6; U(APTT) = 2 × uC(APTT) = 0.332 4; U(FIB) = 2 × uC(FIB) = 0.253 8。

表 1 各不确定度分类汇总

项目	uA	uB1	uB2	uB3	uB4	uB5	uC	U
PT	0.025 0	0.065 8	0.007 0	0.000 1	0.007 8	0.017 7	0.073 3	0.146 6
APTT	0.073 1	0.147 8	0.007 0	0.000 1	0.007 8	0.017 7	0.166 2	0.332 4
FIB	0.028 0	0.122 1	0.007 0	0.000 1	0.007 8	0.017 7	0.126 9	0.253 8

3 讨论

目前临床检验领域对测量不确定度研究多集中于临床生化检验测量不确定度的评估,如酶类、蛋白类、血糖、乙醇等<sup>[6-8]</sup>。近年来,血栓栓塞作为多种系统疾病的并发症成为临床医学的研究热点。因此,止血血栓学检验在出血性疾病的诊断、术前筛查和抗凝治疗检测中得到了广泛应用。凝血功能筛查是诊断和治疗出血与血栓性疾病的常规项目,决定着抗凝治疗或手术愈合的效果<sup>[9]</sup>,另外,长期使用抗凝药物者容易出现凝血异常和并发症<sup>[10]</sup>,虽然自动化凝血仪的普及大大提高了检测效率,使检测结果的精密度和准确度达到了一定的水平,但若凝血检验系统误差显著,将导致严重后果,因此,凝血功能测量不确定度的估计,对于疾病诊断、疗效观察和预后判断等具有重要临床应用价值。新近研究表明,检验领域对凝血功能测

定的探索多关注凝血功能分析的系统差异<sup>[10-11]</sup>,而如何提高血栓与止血检验结果的可靠性是临床亟待解决的问题,因此,在现有国内外对凝血因子Ⅶ等不确定度评估的基础上<sup>[12]</sup>,本研究对凝血功能测定中测量不确定度来源及其合成进行分析,可望为临床决策提供合理依据。

不确定度的评定分 A 类和 B 类, A 类评定是采用统计学方法进行分析,而 B 类是充分利用一些信息源,如各种证书和手册、技术说明文件提供的数据,以前测量的数据,以及与测量有关的经验和知识等,在一定程度上带有某种客观的因素。本研究 A 类不确定度分量采用未定值质控品 N 进行 10 次重复测量计算, B 类不确定度分量根据厂家的校准报告并结合经验评定,主要包括由未定值质控物引入的 uB1、uB2、uB3、uB4、uB5、uC,计算 U。研究结果表明,凝血功能检(下转第 335 页)

**2.3 不同浓度的 ADA 试剂 I 对镁离子浓度测定的影响** 对每一项测定的数值取均值进行计算并进行回归分析,得到直线回归方程: $Y=0.013+0.43X, r=0.968$ 。ADA 试剂浓度与镁离子浓度检测值的增加幅度呈正相关,见表 1。

### 3 讨论

通过测定 ADA 试剂 I 和 II 中镁离子的浓度,发现试剂 I 中镁离子的浓度为 0.739 mmol/L。试剂 II 中不含镁离子。经与生产厂家沟通证实,其试剂成分中确实含一定浓度的镁离子。

由于 ADA 测定中试剂 I 的加样量为 225  $\mu$ L,是镁离子测定的样本加样量(1.6  $\mu$ L)的数百倍,即使存在百分之几的试剂残留,其影响也是可观的。本研究显示,混合血清先测 ADA 再测镁离子,可使镁离子的浓度从 1.319 mmol/L 上升到 1.459 mmol/L,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。这表明,因 ADA 试剂含一定浓度的镁离子,分析仪试剂针若携带此种残余试剂的污染,可影响镁离子的测定。进一步的研究显示,镁离子浓度增加的幅度与 ADA 试剂 I 的浓度呈正相关。

某些试剂或项目对其他项目的测定会产生不同程度影响和干扰<sup>[2-4]</sup>。ADA 检测是近几年新开展的生化检测项目,而 ADA 试剂对生化项目测定的干扰的报道较少。笔者在实际工作中发现 ADA 试剂对镁离子浓度的测定有影响。全自动生化分析仪试剂针在两次吸样之间往往只清洗一次,可能无法将前次试剂残液完全洗净,从而产生携带污染。

由于交叉污染发生较为隐蔽,一些受污染的检测结果不易及时发现<sup>[5]</sup>,容易影响检验质量。因此,生化检验人员在实际工作中应高度重视试剂间的相互干扰问题,并根据不同分析仪的特点,采取相应措施,避免此类影响的发生。例如,将

ADA 与镁离子检测设置在不同的测定通道中或设置在不同的测定单元中,或是将 ADA 与镁离子检测放在不同的批次中进行测定<sup>[6-7]</sup>。然而,由于相互影响的检测项目较多,实际工作中难以做到面面俱到。笔者认为最有效的解决办法是生化检测仪器的生产厂家应增加不同项目测定间试剂针的清洗次数,或者可以设定某些相互影响的项目不可紧邻测定,将试剂间的相互干扰问题降到最少。根据此次实验的结果,笔者将 ADA 与镁离子的检测设置在不同的单元中进行检测,解决了 ADA 试剂对镁离子浓度测定的干扰。

### 参考文献

- [1] 陈茹,张波,王永新,等.日立 7180 全自动生化分析仪项目间交叉污染实验研究[J]. 检验医学与临床,2010,07(18):1973-1975.
- [2] 邓述欢.胆固醇对总胆汁酸在自动分析中是否存在交叉污染的探讨[J]. 检验医学与临床,2011,08(5):604-605.
- [3] 易向民,郑敏.生化分析仪试剂间交叉污染对总胆汁酸测定的影响及分析[J]. 临床医学工程,2010,17(3):21-23.
- [4] 崔军.三酰甘油和总胆固醇试剂对总胆汁酸检测结果的影响[J]. 华西医学,2010(7):1328-1329.
- [5] 于嘉屏.全自动生化分析仪及其试剂间化学污染对检测结果的影响[J]. 中华检验医学杂志,2007,30(11):1301-1302.
- [6] 邵国庆,孙萍,王大明.自动生化分析仪项目设置顺序探讨[J]. 实用医技杂志,2006,13(9):1522-1523.
- [7] 葛鑫,刘刚.全自动生化分析仪分析项目间试剂交叉污染及避免方法[J]. 蚌埠医学院学报,2010,35(9):943-944.

(收稿日期:2013-10-03)

(上接第 331 页)

验的不确定度主要由未定值质控物和重复测量产生。因此,在临床测定凝血功能时,应尽可能选用来源规范、质量可靠的质控品,同时平行操作多份,降低重复性的相对不确定度。本文测量不确定度的评定可使不同实验室对同一测量结果作有意义的比较,使测量结果与技术规范或标准中所给出的参考值作比较,帮助实验室人员有效地解释一些检测结果,另外,当患者结果在参考值附近或定性测量的临界值时,了解不确定度可有助于其临床意义的判断。

目前,临床实验室中不确定度的合理评定和应用,可能还需要一定程度的国际约定,美国的临床和实验室标准协会及国际临床化学联合会已经提出了一份临床检验测量不确定度表达指南,正在征求意见。2010 年中国合格评定国家认可中心也启动了医学实验室测量不确定度的研究课题,希望有更多的临床检验同仁尝试评估和应用测量不确定度。

综上所述,本项目以凝血功能测定中测量不确定度为研究对象,在确证其来源的基础上,研究其相关分量的分布状态及计算,并进一步评定合成标准不确定度、扩展不确定度,以期为临床诊断、治疗、预后等提供更为客观的依据。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部医政司.全国临床检验操作规程[M].3 版.南京:东南大学出版社,2006:54.
- [2] 中国实验室国家认可委员会.中国实验室国家认可委员会测量不确定度政策[J]. 现代计量通讯,2007,4(6):5-6.
- [3] BIPM, IEC, IFCC, et al. International vocabulary of metrology: Basic and general concepts and associated terms (VIM)[R]. Geneva:ISO,2008.

- [4] Kristiansen J. The guide to expression of uncertainty in measurement approach for estimating uncertainty: an appraisal[J]. Clin Chem,2003,49(11):1822-1829.
- [5] Krouwer JS. Critique of the guide to the expression of uncertainty in measurement method of estimating and reporting uncertainty in diagnostic assays[J]. Clin Chem,2003,49(11):1818-1821.
- [6] Cavalier E, Ferir AM, Delanaye P, et al. Measurement uncertainty of creatinine in low values: Another good reason not to use the MDRD formula with low creatinine values[J]. Clin Biochem, 2007,40(3/4):285-286.
- [7] 朱红梅,吴美辉,罗丹,等.临床生化检验测量不确定度的评估[J]. 检验医学与临床,2012,9(8):922-923.
- [8] Bercik Inal B, Koldas M, Inal H, et al. Evaluation of measurement uncertainty of glucose in clinical chemistry[J]. Ann N Y Acad Sci,2007,1100:223-226.
- [9] 彭黎明,王鸿利.我国临床血液学检验亟待解决的问题[J]. 中华检验医学杂志,2005,28(3):235-236.
- [10] 王海,王成彬,齐晓伟,等.凝血功能分析的系统差异性对临床决策的影响探讨[J]. 中华临床医师杂志:电子版,2012,6(15):4371-4374.
- [11] 丛玉隆,李健.浅析国际标准化比值与纤维蛋白原测定的实验室校准[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(6):568-569.
- [12] Sobas F, Benattar N, Bellisario A, et al. Impact of quality control matrix effect: application to the calculation of uncertainty of measurement in one-stage clotting factor VIII assay[J]. Blood Coagul Fibrinolysis,2010,21(5):498-501.

(收稿日期:2013-11-05)