

• 质控与标规 •

“自上而下”方法在评定生化检测指标测量不确定度中的应用

王前明, 宋秀宇[△], 洪 强

(厦门大学附属第一医院检验科, 福建厦门 361004)

摘要:目的 探讨“自上而下”方法在评定临床生化指标的测量不确定度中的应用。方法 利用室内质控和室间质评数据, 采用“自上而下”方法评定 26 个生化指标的精密度和正确度, 综合以上 2 个变量合成测量不确定度。结果 18 个生化指标的不确定度符合目标不确定度要求, 约占所有评估项目 69.2%, TBIL、清蛋白、CK、钙、镁 5 个指标不符合目标不确定度要求, 约占总评估项目 19.2%。结论 采用“自上而下”方法评定生化指标的测量不确定度有效、可行。

关键词:生化检测指标; 测量不确定度; “自上而下”方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.09.035

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)09-1169-03

Application of “top-down” method in assessment of measurement uncertainty of biochemical detection indicators

Wang Qianming, Song Xiuyu[△], Hong Qiang

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361004, China)

Abstract: Objective To investigate the application of “top-down” method in assessment of measurement uncertainty of biochemical detection indicators. **Methods** The assessment data of internal quality control and external quality and “top-down” method were used to assess the precision and accuracy of 26 biochemical indicators, and the two variables above were combined to calculate the measurement uncertainty. **Results** Uncertainty of 18 biochemical indicators was compatible with the target uncertainty, accounting for approximately 69.2% of all assessment projects. Five indicators, such as TBIL, albumin, CK, calcium and magnesium, was not compatible with the target uncertainty, accounting for approximately 19.2% of all assessment projects. **Conclusion** The “top-down” method is effective and feasible for assessment of measurement uncertainty of biochemical detection indicators.

Key words: biochemical detection indicators; measurement uncertainty; “top-down” method

测量不确定度是表征合理赋予被测量值的分散性, 与测量结果相联系的参数。《医学实验室质量和能力认可准则》明确要求检验性能参数应包括“以测量不确定度表示的准确性”和结果计算程序的原理。测量不确定度表示导则(Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, GUM)推荐使用的“模式方法”需要“自下而上”尽可能找出不确定度来源的所有组分, 再把各组分的标准不确定度加以合成, 这种方法耗费大量人力、物力和财力, 且不易掌握, 不同实验室评定结果常明显不同, 在临床工作中难以推广。2012 年, 中国合格评定国家认可委员会(China National Accreditation Service for Conformity Assessment, CNAS)出版的《医学实验室——测量不确定度的评定与表达》指出, 对于常规医学实验室, “自上而下”评定测量不确定度的方法是经济、实用和可接受的方法, 并将“自上而下”方法定义为在控制不确定度来源或程序的前提下, 评定测量不确定度, 即运用统计学原理直接评定特定测量系统之受控结果的测量不确定度。典型方法是依据特定方案(正确度评估和校准方案)的试验数据、质量控制数据或方法验证试验数据进行评定, 正确度/偏移和精密度/实验室复现性是 2 个主要的分量。常规医学实验室常将这两者与系统误差和随机误差相联系。笔者根据该报告对测量不确定度的评定方法, 利用室内质控数据和室间质评数据, 对该科 26 项临床生化指标进行测量不确定度的评定, 报道如下。

1 材料与方法

1.1 数据来源 收集 2012 年 7~12 月室内质控中值数据, 共计 173 个; 计算靶值、标准差和变异系数。2011~2012 年卫生部临床检验中心室间质评共计 6 次, 取与室内质控中值水平接

近公认值(Ccons), 每个参加实验室测量值(x_i)以及由全部 PT 数据得出的测量复现性(SR)。

1.2 主要仪器与试剂 主要仪器为日立 H7600 全自动生化仪(日本日立公司)。主要试剂: 钾、钠、氯试剂及校准品采用日立 H7600 全自动生化仪配套产品; 总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)等试剂和校准品购自科华生化试剂公司; 铁和总铁结合力(total iron binding capacity, TIBC)试剂及校准品购自北京利德曼生化股份有限公司; 磷、总胆固醇、三酰甘油等试剂及校准品购自英国朗道实验诊断有限公司, 丙氨酸氨基转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、总蛋白、清蛋白、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(gamma-glutamyl transpeptidase, γ-GT)、肌酸激酶(creatine kinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、α-羟丁酸脱氢酶(α-hydroxybutyrate dehydrogenase, α-HBDH)、钙、葡萄糖、尿素、肌酐、尿酸、镁、淀粉酶等试剂购自上海复星长征医学科学有限公司, 校准品购自英国朗道实验诊断有限公司; 室内质控中值质控物购自美国 Beckman 公司。

1.3 方法 本研究采用《临床生物化学检验常规项目分析质量指标》(简称《指标》)提出的分析质量指标作为目标不确定度。用 $u(R_w)$ 和 $uref(R_w)$ 分别表示实验室内测量复现性引入的测量不确定度分量和相对测量不确定度分量。采用 6 个月室内质控数据, 此数据包含影响结果的各种因素(如不同检验人员、仪器维护保养、试剂批号更换以及校准等), 因此, 可以用来估计不确定度^[1]。以 $uc(bias)$ 和 $ucrel(bias)$ 分别表示由

偏移引入的测量不确定度分量和相对测量不确定度分量,包括方法和实验室偏倚(RMSbias)和多次 PT 公认值的测量复现性引入的测量不确定度[$u(Cref)$],采用卫生部临检中心 2011~2012 年 6 次室间质评结果来评定该分量。

2 结 果

室内质控的标准差和变异系数在数值上与实验室内测量复现性引入的测量不确定度和实验室内测量复现性引入的相对测量不确定度相等,即 $u(Rw) = S(Rw)$, $uref(Rw) = RSD$

(Rw), $S(Rw)$ 和 $RSD(Rw)$ 分别为室内质控的标准差和变异系数。以 $uCrel$ 表示相对测量不确定度,则 $uCrel^2 = u(Rw)^2 + uCrel(bias)^2$; $urel$ 为相对扩展不确定度,当包含因子 $k=2$ 时, $urel=2uCrel$,见表 1。

18 个生化指标的不确定度符合目标不确定度要求,约占所有评估项目 69.2% (其中氯、尿素和三酰甘油稍高于指标,基本符合要求), TBIL、清蛋白、CK、钙、镁 5 个指标不符合目标不确定度要求,约占总评估项目 19.2%。

表 1 26 项生化检测指标测量不确定度的结果

项目	精密度/实验室内复现性结果			正确度/偏移相对不确定度			$uCrel^2$	$uCrel$ (相对不确定度)	$urel$ (扩展相对不确定度,k=2)	质量目标 (%)
	$S(Rw)$	$uref(Rw)$	$uref(Rw)2$	$RMSrelbias^2$	$urel(cref)^2$	$uCrel(bias)^2$				
ALT	13.73	7.71	59.44	4.01	0.02	4.03	63.48	7.97	15.93	16.0
AST	9.18	5.15	26.52	11.78	0.02	11.80	38.32	6.19	12.38	15.0
TBIL	4.10	8.82	77.79	26.94	0.08	27.02	104.82	10.24	20.48	15.0
DBIL	0.69	5.60	31.36	122.71	0.31	123.02	154.38	12.42	24.85	—
总蛋白	0.57	0.95	0.90	4.75	0.01	4.75	5.66	2.38	4.76	5.0
清蛋白	1.26	3.13	9.80	7.06	0.01	7.07	16.86	4.11	8.21	6.0
ALP	3.15	2.36	5.57	13.99	0.07	14.06	19.63	4.43	8.86	18.0
γ -GT	3.70	1.70	2.89	11.66	0.03	11.70	14.59	3.82	7.64	11.0
CK	36.92	10.83	117.29	26.31	0.03	26.34	143.62	11.98	23.97	15.0
LDH	5.09	2.23	4.97	8.04	0.03	8.07	13.04	3.61	7.22	11.0
α -HBDH	12.68	5.40	29.16	12.16	0.07	12.23	41.39	6.43	12.87	—
钾	0.03	0.66	0.44	8.05	0.00	8.06	8.49	2.91	5.83	6.0
钠	1.20	0.89	0.79	0.99	0.00	1.00	1.79	1.34	2.68	4.0
氯	1.17	1.20	1.44	2.62	0.01	2.62	4.06	2.02	4.03	4.0
钙	0.10	4.09	16.73	5.18	0.02	5.20	21.93	4.68	9.37	5.0
葡萄糖	0.15	1.13	1.28	5.54	0.01	5.56	6.83	2.61	5.23	7.0
尿素	0.24	2.00	4.00	13.05	0.01	13.06	17.06	4.13	8.26	8.0
肌酐	4.64	1.18	1.39	4.18	0.01	4.20	5.59	2.36	4.73	12.0
尿酸	13.70	3.35	11.22	3.05	0.03	3.09	14.31	3.78	7.57	12.0
镁	0.13	12.15	147.62	21.21	0.10	21.31	168.93	13.0	26.00	15.0
无机磷	0.05	3.42	11.70	12.59	0.03	12.62	24.31	4.93	9.86	10.0
总胆固醇	0.09	2.15	4.62	2.15	0.01	2.16	6.79	2.60	5.21	9.0
三酰甘油	0.04	2.91	8.47	42.99	0.03	43.03	51.49	7.18	14.35	14.0
淀粉酶	15.24	3.11	9.67	19.77	0.07	19.84	29.51	5.43	10.86	15.0
血清铁	0.98	3.48	12.11	22.08	0.10	22.18	34.29	5.86	11.71	15.0
TIBC	3.34	10.64	113.21	57.84	2.37	60.21	173.42	13.17	26.34	—

—:此项目无数据。

3 讨 论

杨振华^[2]认为可以考虑将经验方法评定测量不确定度应用到临床化学实验室,张晓红等^[3-4]依据 Nordtest 准则,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,CNAS 的技术报告也对 Nordtest 准则建议方法进行了详尽的说明。无论经验方法或 Nordtest 准则建议方法,都区别于模式方法,其本质都是“自上而下”的方法,该方法无需了解测量过程中的每个不确定度来源,比 GUM 推荐的模式方法简单易行,更易在临床工作中使用和推广。笔者认为,“自上而下”方法是用来评估临床实验室定量检测项目测量不确定的一种较好的经验方法。

目标不确定度即根据测量结果的预期用途,规定作为上限的测量不确定度,是用于判断检测结果是否符合要求的重要指标。目前,目标不确定度的设定没有统一国际标准。以往常用的方法是与生物学变异和美国临床实验室改进修正案(Clinical Laboratory Improvement Amendments, CLIA)允许总误差(allowable total error, TEa)比较^[5],或与相关文献报道数据进行比较^[3],以了解所评定检测结果测量不确定度是否符合要求,由于标准不统一,往往引起不同实验室对检验结果测量不确定度要求差别较大,不利于检测结果的可比性。2012 年《指标》作为中国的卫生行业标准发布后,明确指出评定检验结果测量不确定度的实验室可将本标准总误差指标作为目标扩展不确定度,本研究以《指标》的要求作为目标不确定度,对 26 个生化指标进行测量不确定度评定,共有 18 个项目符合要求

目标不确定度即根据测量结果的预期用途,规定作为上限

(其中氯、尿素和三酰甘油稍高于指标,基本符合要求),占总评估项目的 69.2%;《指标》未对 DBIL、 α -HBDH 和 TIBC 提出要求,本科评估结果分别为 24.85%、12.87% 及 26.33%,其中 DBIL 高于张晓红等^[3]报道的结果(17.61%),与黄宪章等^[5]报道的结果(分别为 19.24%、12.06% 及 28.08%)基本相仿。

本研究中有 5 个不符合要求的项目,分别为 TBIL、清蛋白、CK、钙、镁,占总评估项目的 19.2%。清蛋白不精密度和偏倚对合成不确定度的构成比分别为 58.1% 和 41.9%,两者比较接近,说明精密度和正确度 2 个分量对清蛋白测量不确定度的影响基本一样,如要改进其测量不确定度,提高检测质量水平,一方面要注意仪器的维护,试剂的校准和工作人员的操作,提高室内质控的精密度;同时要参加各种室间质评活动,进行正确度验证,以减少测量结果的偏倚;TBIL、CK、钙、镁等项目不精密度占测量不确定度的构成比均在 70% 以上,提示引起这几个项目测量不确定度高的主要原因在于精密度较差,因此,做好室内质控,提高精密度是改进测量不确定度的关键。当从精密度和正确度两者进行改进后,测量不确定度仍然无法达到质量目标要求时,可用“自下而上”的方法来识别不确定度的各种来源,改进主要影响因素,从而减小测量不确定度。

尽管“自上而下”方法是用来评定测量不确定度的一种可行方法,但是该方法仍然存在着一些问题,有待于进一步探讨。首先,利用该方法进行测量不确定度评定是否需要对校准品的不确定度进行合成。张晓红等^[4]在其研究中对测量不确定度评定给出了“考虑校准品不确定度和未考虑校准品不确定度”2 种结果,并认为不应忽视校准品不确定度的影响。笔者认为,由于利用室内质控和室间质评数据对测量不确定度进行评估是一种“自上而下”的经验办法,数据结果本身已包含了分析过程中的各种影响因素,也包含了试剂校准品本身的不确定度,

(上接第 1168 页)

炎。宫颈有充血、水肿、触之易出血、黄色黏液脓性分泌物增多以及下腹部不适等症状。但也有相当数量的患者症状轻微或无任何临床症状。沙眼衣原体不仅感染女性泌尿生殖道,也感染男性泌尿生殖道,引起男性不育^[2]。男性患者表现为尿道炎,常有尿痛或尿道分泌物。尿痛的程度比淋病症状轻,有时仅表现为尿道的刺痛和瘙痒。尿道分泌物常为浆液脓性,较稀薄,量少。沙眼衣原体寄生在男性尿道和前列腺上皮细胞内,会影响生精和输精功能,导致男性不育^[3]。治疗沙眼衣原体感染的关键是及时、准确的诊断。沙眼衣原体检测方法有很多种,主要有细胞培养法、聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)分子生物法、金标法、ELISA 法等。细胞培养法的敏感性和特异性虽最高^[4],但培养周期长,不适合每天检测;PCR 分子生物法虽然准确性、敏感性高,但条件及检测成本也较高,不适合基层医院广泛应用;而金标法及 ELISA 法条件要求不高,一般实验室即可满足条件,尤其是免疫胶体金技术所需时间更短,30 min 内便可出结果。在沙眼衣原体检测方面,免疫胶体金技术应用最为普及^[5]。但免疫胶体金技术也有明显的不足,虽然快速、方便,但其敏感性并不十分理想,文献报道,免疫胶体金技术敏感性较 ELISA 法低^[5]。用免疫胶体金技术检出患者体内有沙眼衣原体抗体时,患者的病情已到中期,达不到早期发现、早期诊断及早期治疗的效果^[6]。ELISA 法也是一种实验室常用的检测方法,其敏感性和特异性介于 PCR 分子生物法和免疫胶体金技术之间。ELISA 法具有特异

如再对校准品的不确定度加以合成,势必引起重复计算,扩大测量不确定度。其次,一个完整的检验过程应包括分析前、分析中和分析后,“自上而下”方法只评定与分析过程相关的医学检验结果的不确定度,而未涉及到生物学变异、分析前和分析后过程对结果分散性的影响,因此,该方法具有一定的局限性,对分析前和分析后测量不确定度的评定仍需要进一步探讨。最后,测量不确定度和测量物浓度水平是明显相关的,不同浓度很难有一致的不确定度,“自上而下”方法采用的是室间质评结果,室间质评质控物往往包含多个浓度水平,且不同批次质评的质控物浓度水平也常有变化,很难做到与室内质控物浓度水平一致,实际工作中只能采用与室内质控浓度水平接近的结果数据计算,这种由于质控物浓度水平不一致以及质控物的基本效应对测量不确定度的影响是否需要评估也是一个值得商榷的问题。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 杨振华. 用“经验办法”评定测量不确定度[J]. 中华检验医学杂志, 2011, 34(3): 278-230.
- [3] 张晓红,鲁辛辛. 依据 Nordtest 准则评估测量不确定度更适合于临床实验室[J]. 中华检验医学杂志, 2012, 35(5): 404-406.
- [4] 张晓红,刘向炜,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] 黄宪章,王东梅,徐建华,等. 28 个临床化学指标 3 种不确定度评定方法的比较[J]. 临床检验杂志, 2012, 30(12): 953-956.

(收稿日期:2013-12-06)

性好、敏感性高、漏检率低、重复性好等优点,其敏感性较免疫胶体金技术高^[5]。但比免疫胶体金技术耗时,需 3 h 左右出结果。因 ELISA 法检测男性尿道拭子标本的阳性检出率远高于免疫胶体金技术,故建议 2 种方法灵活运用,标本量小且急需出报告时用免疫胶体金技术检测;标本量大时,用 ELISA 法检测。对于男性尿道拭子标本最好集中到一定的量后再用 ELISA 法检测,这样能最大限度地提高检出率。用 ELISA 法检测男性沙眼衣原体对其感染的早期诊断具有重要的意义。

参考文献

- [1] 李振林. 微生物及检验技术[M]. 广州: 广东科技出版社, 1994.
- [2] 丁显平, 唐乃秋, 岳秀兰, 等. 沙眼衣原体和解脲支原体感染与不育不孕症的相关性研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2001, 9(5): 28-30.
- [3] 段孝勤. 沙眼衣原体感染与继发不孕症的关系探讨[J]. 海南医学, 2010, 21(5): 90-91.
- [4] 叶顺章, 邵长庚. 性病治疗与预防[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [5] 幸彩梅. 二种沙眼衣原体抗原检测方法比较与评价[J]. 海南医学, 2009, 20(3): 92-93.
- [6] 刘洪庆, 徐秀香. 克隆荧光抗体染色法与金标免疫斑点法检测沙眼衣原体的比较[J]. 内蒙古医学杂志, 2006, 38(5): 431-432.

(收稿日期:2014-01-23)