

腹时胰岛素有所增加,但仍较健康人低,可能是由于胰岛 β 细胞功能受损所致。作者建议在葡萄糖耐量试验中,最好能联合检测胰岛素、C 肽的血清含量,以致达到糖尿病分型的目的,同时了解胰岛 β 细胞功能,对于糖尿病的治疗和预后有重要的指导作用。

参考文献

[1] 尹伯元,王仁芝. 标记免疫学[M]. 北京:原子能出版社,

1998:247-249.

[2] 谢玮,赵枰,陶国华. 化学发光免疫分析测定胰岛素及 C 肽在 2 型糖尿病诊断的临床应用[J]. 标记免疫分析与临床,2009,16(5):283-284.

[3] 贾伟平,项坤三. 胰岛 β 细胞功能评估——从基础到临床[J]. 中华内分泌杂志,2005,21(3):199-201.

(收稿日期:2010-04-19)

利用质控数据进行测量不确定度的评定

王景阳,孙 艳,尹艳霞,张瑞青(河北省沧州市中心医院检验科 061001)

【摘要】 目的 以荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 HBV-DNA 试验为例,探讨利用质控数据进行测量不确定度评定的可行性。**方法** 利用室内质控数据和室间质评数据或回收率实验数据,计算相对标准不确定度分量,然后再按不确定度传播规律计算得到相对合成标准不确定度。**结果** 浓度愈低的样本显示出更大的相对不确定度,荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 试验在中值(10^5 U/mL)附近的相对扩展不确定度为 $U_{rel} = 0.11(k=1.96)$ 。**结论** 利用质控数据来评定测量不确定度具有简便、客观和准确的优点,是一个很值得尝试的方法。但是该方法不能具体区分各不确定度分量权重大小。

【关键词】 测量不确定度; 室内质控; 室间质评; 回收实验; 乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.20.054

中图分类号:R-331;R446.61

文献标志码:B

文章编号:1672-9455(2010)20-2269-02

测量不确定度(uncertainty in measurement)是经典的误差理论发展和完善的产物,是对测量结果的补充,表明对这一结果怀疑的程度。目前,这一概念已成为一般计量学的重要话题,其在临床检验领域的重要性也在增加。但是临床检验项目繁杂,影响因素较多,对各不确定度分量进行逐一评定是十分困难的。根据 JJF1059-1999《测量不确定度评定和表示》“由于数学模型可能不完善,所有有关的量应充分反映其实际的变化,以便可以根据尽可能多的观测数据来评定不确定度。在可能的情况下,应采用按长期积累的数据建立起来的经验模型。核查标准和控制图可以表明测量过程是否处于统计控制状态之中,有助于数学模型的建立和测量不确定度的评定。”据此,可以利用实验室内的一个长期积累的数据——质量控制数据来完成不确定度的评定。下面以基因扩增实验室荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测乙型肝炎病毒(HBV)DNA 载量试验为例进行讨论。

1 材料与与方法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 室内质控品 室内质控样品为广州中山大学达安基因股份有限公司提供的 HBV 分子生物学室内质控物(中值),批号 2008005,其稳定性与均一性均达到国家一级标准物质的要求(一级标准物质技术规范,JJG1006-1994)。

1.1.2 室间质评所用质控物 HBV-DNA 质控品,每年由卫生部临床检验中心统一发放。

1.1.3 试剂 HBV-DNA 荧光定量 PCR 试剂盒为广州中山大学达安基因股份有限公司产品。

1.1.4 仪器 美国应用生物系统公司所产 ABI PRISM-7000 型荧光定量 PCR 仪。

1.2 实验方法

1.2.1 室内质控数据 通过卫生部临床检验中心评审验收的基因扩增实验室,规范和完善了实验室标本拒收程序、PCR 操

作程序及质量控制程序等 SOP 文件,此为测量不确定度的评定打下了基础,同时提供了便利。严格执行本室 SOP 文件,每次试验均做室内质控样本检测并绘制质控图。收集 2008 年 5 月至 2008 年 10 月室内质控数据 86 个,取对数后计算。

1.2.2 室间质评信息 上述由室内质控数据计算不确定度的过程没有考虑方法偏倚(即系统效应)所致的不确定度分量。这个不确定度分量可以利用室间质量评价数据计算得到,也可以在实验室内用回收率实验结果来判断。本院基因扩增实验室已连续数年参加卫生部临床检验中心组织的室间质量评价活动,HBV-DNA 室间质量评价信息见表 1。

1.2.3 回收率实验数据 目前临床实验室有些检验项目没有参与室间质量评价活动,对此可以利用实验室内部的回收率试验结果,同样也可以计算得到方法偏倚所致的不确定度分量。每更换新批号试剂都要做回收率实验,收集 2008 年 1 月至 2009 年 1 月回收率试验结果 9 个,计算回收率均值为 92.8%,因此方法偏倚即为 $(100-92.8)\% = 7.2\%$,按均匀分布取包含因子 $k=\sqrt{3}$,则该相对不确定度分量为 $7.2\%/\sqrt{3} = 0.042$ 。在此未考虑加标样品的不确定度分量。

1.2.4 相对合成标准不确定度及相对扩展不确定度的确定 根据不确定度传播律,相对合成标准不确定度 $U_{rel} = \sqrt{(u_{rel(q)})^2 + (u_{rel(Bias)})^2}$ = 相对扩展不确定度: $U_{rel} = Ku_{rel}$ (取 $k=1.96$,此时对应的置信概率约为 95%)。

1.3 统计学方法 所有数据采用 SPSS15.0 统计软件进行处理。HBV-DNA 检测结果取对数后进行统计学分析。

2 结果

室内质控数为 86 次,均值(\bar{x}) = 5.21,标准偏差(s) = 0.14,据计算得到的相对标准不确定度为 $U_{rel(q)} = s/\bar{x} = 0.027$ 。根据如下公式可以计算出方法偏倚的变异: $CV_{(Bias)} = \sqrt{(a_m\%/2)^2 + s_{dr}} = \sqrt{(5.47/2)^2 + 4.00^2} = 4.85\%$,即方法偏倚的相对标准不确定度 $U_{rel(Bias)} = CV_{(Bias)} = 0.0485$ 。在此,仅

对中值(10⁵ U/mL)附近质评数据进行了统计计算得出方法偏倚的相对不确定度分量。同样也可以计算出低值(10³~10⁴ U/mL)附近的方法偏倚相对不确定度分量为 0.070, 高值(10⁶~10⁷ U/mL)附近的方法偏倚相对不确定度分量为 0.032。这与沈伟锋等^[2]的研究结果有异, 而与余南等^[3]的研究结论一致, 即愈低浓度的样本显示出更大的相对不确定度。提示室内质控宜应分别做高、中、低值质控。

荧光定量 PCR 检测 HBV-DNA 试验(中值附近)的相对合成标准不确定度: $u_{rel} = \sqrt{(u_{rel(q)})^2 + (u_{rel(Bias)})^2} = \sqrt{0.027^2 + 0.048^2} = 0.055$ 。相对扩展不确定度: $U_{rel} = Ku_{rel} = 1.96$ 。该相对扩展不确定度可用于患者检验结果报告, 如 x 为检验结果的对数值, 那么患者 HBV-DNA 检测结果表示为: $10^{x(1 \pm 0.11)}$ U/mL($k=1.96$)。

表 1 HBV-DNA 室内质量评价信息

时间(年)	室内质评次数	实验室结果(取对数)	靶值	百分差值 $d_n\%$	$d_n\% - d_m\%$	$(d_n\% - d_m\%)^2$
2006	1	5.44	5.12	6.25	0.78	0.61
2006	2	5.58	5.3	5.28	-0.19	0.04
2007	1	5.58	4.94	12.96	7.49	56.10
2007	2	5.08	4.94	2.83	-2.64	6.97
2008	1	4.96	4.92	0.81	-4.66	21.71
2008	2	5.15	4.92	4.67	-0.80	0.64
	和			32.81		86.07
	平均($d_m\%$)			5.47		
						$s_{dr} = \sqrt{\frac{\sum(d_n\% - d_m\%)^2}{n-1}}$
						4.00

3 讨 论

临床实验室更多检测项目测定程序复杂, 影响因素较多, 且各因素相互影响或包容, 很难界定各个不确定度分量。按照常规的不确定度评定方法对各不确定度分量进行逐一评定较难实现, 而且需要做大量的批内、批间重复性实验, 不宜临床实验室推广。其实, 完全可以利用实验室已有的质控数据, 计算得到不确定度。利用半年或更长时间跨度的室内质控数据和室内质量评价信息计算的不确定度, 几乎涵盖了检测的各个环节的不确定度分量, 如标准品所致的不确定度分量、标准曲线拟合所致的不确定度分量、数据处理带来的不确定度分量、实验人员所致的不确定度分量等。但是如果采用的质控样品是直接应用未经稀释的, 那么由样品稀释所导致的不确定度则不包括在内, 这可由计量局对用于稀释的移液器的校准报告获得, 然后再合成进去, 在此不予赘述。测定样本间的不均匀性, 其确定度较难估计, 在样本接收、处理和保存严格标准化的前提下, 使分析前因素的影响降至最低($<1/5$ 最大不确定度分量), 可以不予考虑这些因素^[1]。另外, 如果已知质控样品赋值的不确定度, 也应该合成进去。本研究中厂家没有给出质控品赋值的不确定度, 因此未予考虑。

批内重复性和批间重复性数据可以用于不确定度评定^[2]。重复性数据的获取有着比较明确的规定, 即在一个比较短的时期内重复试验, 则重复性数据就可能不包括人员间、日间、月间等有关量对测量结果的影响。但是通过长期的数据积累, 这些因素对最终测量结果的影响都能在质控数据中得以体现, 所以由质控数据得到的不确定度更为准确、客观, 而且无需做大量的重复性试验。

值得注意的是, 利用质控数据和回收率试验数据进行不确定度的评定时, 一个合适的质控样品是必需的。其基质、含量水平、均匀性和稳定性都要满足一定的要求。质控样品也可以直接使用标准品, 但实际上, 一个基质与检测样本一致的实物

标样更合适。一般标准品基质都有所改变, 比通常的检测样品更均匀, 用于不确定度评定时可能无法反映出样本不均匀性所致的不确定度分量。而单独评定样本不均匀性的不确定度分量是很困难的。而实物标样由于是本实验室内自己制作的, 对基质、含量水平、均匀性等方面都可以自己控制, 可以部分反映样本不均匀性导致的不确定度分量, 但需要一个制作过程, 且质控样品赋值的不确定度未知^[3]。

从本研究可以看出, 不确定度大小和待测样品浓度相关, 愈低浓度的样本显示出更大的相对不确定度。因此, 不确定度的计算应根据待测样品浓度分高、中、低 3 个区段分别计算。

总之, 利用质控数据来评定测量不确定度是一个很值得尝试的方法。质控过程是每个临床实验室都必须做的, 产生的大量数据可以直接利用, 而不需要单独开展不确定度评定工作, 减小了工作量。而且它还具有以下优点: 质控数据量大, 不确定度评定客观、准确; 不需要太深的数理统计知识; 不确定度的各个影响量都能包含, 遗漏和重复的可能性小。当然, 也有一些缺点, 比如需要一个合适的质控样品、需要一个较长时间的质控数据积累过程、不能具体区分各不确定度分量权重大小等。

参考文献

[1] 王治国, 王薇, 李小鹏. 测量不确定度及其在临床检验中的应用[J]. 中国卫生统计, 2005, 22(2): 85-86.
 [2] 沈伟锋, 丁韧焯, 杨清萍, 等. 荧光定量 PCR 测定 HBV-DNA 的不确定度评定与应用[J]. 中华检验医学杂志, 2007, 30(2): 169-172.
 [3] 余南, 甘明, 詹希美, 等. 乙型肝炎病毒核酸定量检测中不确定度的研究[J]. 热带医学杂志, 2007, 7(4): 310-314.