

肌酐检测系统溯源性研究

陈 卫, 周 帅, 韩 帅, 邓志武, 谭 韬(四川省新成生物科技有限责任公司, 成都 611731)

【摘要】 目的 建立新成生物肌酐检测系统的溯源性, 提高用户最终检测结果的准确性, 为检测结果互认提供条件。方法 依据《GB/T 21415-2008/ISO 17511:2003》中的国际标准溯源链式图自建新成生物溯源流程图; 购买参考物质 NIST SRM 909b, 首先将厂商工作校准品溯源至参考物质, 然后将产品校准品溯源至厂商工作校准品, 并计算合成不确定度, 完成新成肌酐产品校准品的量值溯源。结果 通过测定临床新鲜血清标本进行临床比对确保参考物质具有互通性, 同时采用 SPSS17.0 进行统计学分析, 以 97% 的预测区间和检测项目 1/4CLIA'88 总允许误差为标准, 达到量值传递验证要求, 进一步确定不确定度, 完成量值溯源工作。结论 新成生物自建溯源流程成功对产品校准品进行了赋值, 实现了产品校准品的溯源, 提高了新成试剂检测结果的准确性。

【关键词】 NIST SRM 909b; 量值溯源; 肌酐; 线性回归模型; CLIA'88

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.20.011 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)20-2453-02

Traceability study on creatinine measuring system CHEN Wei, ZHOU Shuai, HAN Shuai, DENG Zhi-wu, TAN Tao (Sichuan Sinew Bio-technology Co., LTD., Chengdu 611731, China)

【Abstract】 **Objective** To create the traceability of XC Test's creatinine measurement system, and improve the accuracy of customers' final test results, and contribute to the mutual recognition of the test results. **Methods** We created XC Test's own traceability flow chart on the basis of traceability chain map according to the GB/T 21415-2008/ISO 17511:2003 document of international standards; and purchased reference material (NIST SRM 909b). Firstly, we traced the manufacturer's working calibrator to the reference material. Then traced the product calibrator to manufacture's working calibrator and calculate the uncertainty of the combination, to complete the tracing of the value of creatinine product calibrator made by XC Test. **Results** By testing and comparing the fresh clinical serum samples to ensure reference materials had interoperability. Meanwhile, we adopted SPSS17.0 to analyze the data statistically. We took the standard of the 1/4CLIA'88 of testing projects and a total allowable error of 97% prediction interval in order to meet the requirements of value transferring verification, and then ensured the uncertainty and completed the tracing job. **Conclusion** XC Test is successful in assigned the product calibrator with the built-in traceability and improves the accuracy of the test results of reagents generated.

【Key words】 NIST SRM 909b; traceability; creatinine; linear regression model; CLIA'88

目前在追求检验结果可靠性时, 非常强调患者检测结果的溯源性和其他检测系统的可比性, 具有溯源性的检测系统才能保障患者检测结果的追溯性和可比性^[1-2]。新成生物以国际标准溯源链式图为参考自建新成生物溯源流程图, 以购买的国际二级参考物质 NIST SRM 909b 作为厂家一级参考物质, 通过一系列的临床比对试验和统计学分析, 成功完成对产品校准品值的溯源, 提高了新成试剂检测结果的准确性。

1 材料与方 法

1.1 材料 NIST SRM 909b 是 2009 年购入, 有效期为 2011 年 11 月。工作校准品: 收集新鲜血清高低两个浓度水平, 不添加任何防腐剂, 0.2 μm PP 滤膜过滤后分装成每支 500 μL, 用专用样品管保存于 -80 °C。产品校准品: 由新成生物生产的供客户使用的稳定的校准品, 保存于 2~8 °C。

1.2 仪器与试剂 新成生物 HITACHI 7060 全自动生化分析仪, 编号 02085201007。试剂由四川省新成生物科技有限责任公司提供。新成选择试剂: 肌酐测定试剂(肌氨酸氧化酶法), 批号: S-CREA001。新成试剂: 肌酐测定试剂(肌氨酸氧化酶法), 批号: 0709181。

1.3 实验方法 以国际标准溯源链式图为参考自建新成生物溯源流程图; 以购买的国际二级参考物质 NIST SRM 909b 作为厂家一级参考物质, 首先将厂商工作校准品溯源至参考物

质, 然后将产品校准品溯源至厂商工作校准品, 从而完成产品校准品的溯源工作。采用 SPSS17.0 软件包, 验证结果进行配对 *t* 检验, 并进行线性回归, 要求二者无明显统计学差异, 则线性回归方程截距应不大于 1/4 允许偏差范围。若达到量值传递要求, 证明工作校准品赋值过程准确有效, 参考物质与工作校准品互通性满足量值传量要求, 然后计算校准品不确定度, 确定工作校准品赋值。采用相同的方法, 完成工作校准品向产品校准品的量值传递, 计算产品校准品不确定度, 最终完成对产品校准品的赋值, 完成新成试剂的量值溯源工作。

2 结 果

分别以参考物质校准的选择试剂与工作校准品校准的新成试剂测定临床标本 20 例, 同时将参考物质、工作校准品作为样本随机插入进行平行测定^[3-4], 通过临床比对实验和统计学分析, 得到线性回归方程 $Y = 0.980X + 1.153$, 则: $0.970 < 0.980 < 1.030$, $1.153 < 1/4TEA = 26.5/4 = 6.625$, 达到量值传递验证要求, 证明工作校准品赋值过程准确有效, 参考物质与工作校准品互通性满足量值传量要求, 通过厂家自制不确定计算公式得到两个水平的不确定度, 工作校准品赋值分别表示为水平 I (61.02 ± 2.09) μmol/L、水平 II (338.87 ± 4.85) μmol/L。通过相同方法得到对产品校准品赋值, 得到线性回归方程 $Y = 1.009X - 1.390$, 则: $0.970 < 1.009 < 1.030$, $1.390 < 1/$

4TEA=26.5/4=6.625, 达到量值传递验证要求, 证明工作校准品赋值过程准确有效, 参考物质与工作校准品互通性满足量值传量要求, 通过厂家自制不确定计算公式得到产品校准品的不确定度, 赋值表示为(308.41±5.43) $\mu\text{mol/L}$, 见表 1、2。

表 1 测定工作校准品和产品校准品结果统计

测试序号	工作校准品($\mu\text{mol/L}$)		产品校准品($\mu\text{mol/L}$)
	水平 I	水平 II	
测试一	60.17	341.78	307.22
测试二	63.61	337.46	309.48

表 2 校准结果统计

参考物质空白校准结果			工作校准品校准结果			产品校准品校准结果		
校准序号	空白	K 值	校准序号	空白	K 值	校准序号	空白	K 值
校准一	206	409 582	校准一	217	399 210	校准一	63	396 924
校准二	204	409 582	校准二	213	398 637	校准二	66	397 435
校准三	202	409 990	—	—	—	—	—	—
校准四	202	408 767	—	—	—	—	—	—
校准五	198	406 344	—	—	—	—	—	—
均值	202	408 853	均值	215	398 924	均值	65	397 180

注: —表示无数据。

3 讨 论

临床检验已成为疾病诊断、危险分析、治疗效果评价和健康状况监测的重要手段, 检验结果准确, 具有跨时空的可比性, 是防病治病和提高人类健康水平的基本需要, 也一直是检验医学工作者的工作目标。目前普遍认为实现这一目标最有效的手段是建立和保证检验结果的溯源性^[5-6]。让检验结果最好地符合患者实际情况, 这也是临床对实验室的基本要求。

国际上有多种溯源方法, 新成生物采用的是将产品校准品溯源至国际二级参考物质 NIST SRM 909b 的方法。该方法的关键在于以下三点。

3.1 国际二级参考物质 NIST SRM 909b 由于该参考物质是血清基质, 且需要通过国外购得, 来源受到限制。同时, 参考物质的互通性问题是临床检验标准化和质量保证中的重要问题, 是否具有互通性决定了量值传量是否能进行。根据 EP14-A2^[7] 要求, 新成生物采用了临床新鲜标本测定结果比对的方法对互通性进行了验证, 验证结果说明 NIST SRM 909b 和厂家工作校准品之间存在互通性, 能够实现 NIST SRM 909b 向厂家工作校准品的赋值, 完成量值传量过程。

3.2 溯源链的建立 国际上通用的临床检验量值溯源链见图 1。溯源链自上而下各环节的溯源性逐渐降低, 而不确定度则逐渐增加, 因此, 量值溯源过程应尽量减少中间环节。新成生物科技公司根据国际通用溯源链自建了新成生物溯源流程图, 为溯源实验的开展提供了依据。见图 2。

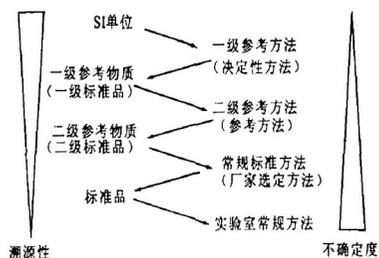


图 1 国际生物溯源流程图

3.3 不确定度测定方案 依据《测量不确定度评定与表示指

续表 1 测定工作校准品和产品校准品结果统计

测试序号	工作校准品($\mu\text{mol/L}$)		产品校准品($\mu\text{mol/L}$)
	水平 I	水平 II	
测试三	59.13	340.57	311.90
测试四	62.18	335.87	303.70
测试五	60.01	338.65	309.76
均值	61.02	338.87	308.41

南》建立符合实际的不确定度测定方案是量值溯源过程的关键步骤。新成生物科技公司结合实际情况综合分析, 建立不确定度测定体系如下。

3.3.1 量值传递实验过程的结果计算 $C_X = C_T \times K_{PT} \times K_R \times K_{UC}$ 。 C_X 表示测定样品的真实浓度; C_T 表示连续多次测定样本的平均浓度; K_{PT} 表示测定系统的精密度影响因素(主要由仪器与试剂因素引入, 包括比色杯光径误差、光源误差、加样误差等引入, 同时还包括试剂本身精密度等引入); K_R 表示参考物质复溶影响因素(主要由复溶参考物质使用的移液管引入); K_{UC} 表示参考物质本身不确定度的影响因素(由 NIST SRM 909b 使用说明书直接提供)。

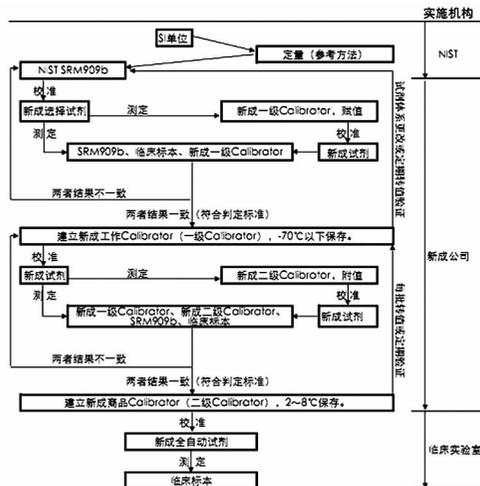


图 2 新成生物溯源流程图

3.3.2 不确定度来源分析 依据《测量不确定度评定与表示指南》建立符合实际的不确定度测定方案, 是量值溯源过程的关键步骤。陕西省铜川矿务局中心医院结合实际情况综合分析, 建立了不确定度测定体系。即量值传递实验过程的结果计算及来源分析: $C_X = C_T \times K_{PT} \times K_R \times K_{UC}$ 。

C_X 表示测定样品的真实浓度。 C_T 表示连续多次测定样本的平均浓度; 来源于多次测定均数, 不确(下转第 2457 页)

坏死因子- α 等增多^[3], 这些细胞因子抑制血浆促甲状腺激素释放激素 (TRH)、TSH、血清甲状腺球蛋白 (Tg)、T₃、甲状腺激素结合球蛋白 (TBG) 的合成, 从而引起 T₃、TSH 水平下降。细胞因子还可能降低肝脏和肾脏的 I 型 5'-脱碘酶活性, 并降低 T₃ 与核受体的结合能力, 增加瘦素分泌及减少神经肽 Y 表达^[4]。同时, 由 IL-6 或 IL-1 型细胞因子诱导产生特异的急性期反应蛋白, 导致肝脏抑制 T₄ 的转运及外周组织中 T₄ 向 T₃ 转化, 机体处于严重应激状态, 血中皮质醇增高, 抑制了 TRH 的分泌及抑制 TSH 对 TRH 刺激的反应性, 导致 TSH 水平低下, T₃ 降低。应激状态时血中多巴胺浓度升高, 使垂体功能降低, TSH 水平下降, T₃ 降低。细胞因子也影响 TRH 和 TSH 的分泌。这种作用在动物和人体内部都得到了证实^[5]。

从病程长短比较可以看出, 随着病程延长, T₃、FT₃ 呈现下降趋势。与 1 年以下组比较, 另外 3 组均呈不同程度降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 而 rT₃ 均呈现升高趋势 ($P < 0.05$); 10 年以上组与 1~5 年组比较, T₃、FT₃ 均呈不同程度降低 ($P < 0.05$), 4 组间 T₄、FT₄、TSH 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。DM 患者血清中甲状腺激素的这种变化可能是机体在应激状态下的保护性功能, 它可能减少机体耗氧和酶作用的消耗, 减慢分解过程, 节省能量, 维持机体的基本生理需要, 有利于病情恢复。对于 DM 合并 ESS, 有学者认为, DM 患者补充甲状腺激素对 TSH 无明显作用^[6], 也有学者发现, 使用甲状腺激素对 2 型 DM 的治疗具有一定的价值^[7], 目前大部分学者认为不应常规给予甲状腺激素制剂治疗, DM 合并低 T₃ 综合征, 经纠正血糖、血脂代谢紊乱、治疗各种并发症后, 甲状腺激素水平也将逐渐恢复正常^[8]。因此, 检测 DM 患者血清中甲状腺激素水平除可评价患者的甲状腺功能外, 血清甲状腺激素水平的动态观察对判断 DM 患者病情严重程度及预后评估具有重要临床意义。

(上接第 2454 页)

定由之后影响因素决定, 无不确定度分类。K_{PT} 表示测定系统的精密度影响因素 (主要由仪器与试剂因素引入, 包括比色杯光径误差、光源误差、加样误差等引入, 同时还包括试剂本身精密度等引入); 来源于测定系统本身存在不精密度影响, 需对其进行统计学分析。计算各测定系统不精密度并转化为不确定度^[8], 属于不确定度分类中的 A 类。K_R 表示参考物质复溶影响因素 (主要由复溶参考物质使用的移液管引入); 来源于复溶参考物质所用的大肚吸管, 校准后其标示偏差为 ± 0.02 mL, 属于正态分布, 计算其不确定度公式为: $U = \Delta / 1.96$ (不存在产品校准品赋值过程中), 属于不确定分类中的 B 类。K_{UC} 表示参考物质本身不确定度的影响因素 (由 NIST SRM 909b 使用说明书直接提供); 来源于参考物质本身不确定度已明确标注, 工作校准品也存在不确定度, 需根据包含因子对其进行分解计算, 属于不确定度分类中的 A 类。

我国临床检验的准确性溯源长期以来一直未能得到解决, 使用同类试剂出现不同的检验结果也就可以理解了。这是国内各医院化验结果互不认可的重要原因之一。缺乏互换性是各种临床检验质量保证中的常见问题。现在国际上很强调量值溯源, 为试剂和检验结果制定统一标准, 应该是未来的一个发展趋势。我国临床检验参考系统还很不完善, 根据临床需要, 建立必要的临床检验参考系统, 加强有关国际合作, 应成为我国检验医学和计量学工作者的重要课题。值得指出的是, 临床检验量值溯源的中心目的是提高和保证临床诊断与治疗的有效性, 鉴于建立参考系统是一项昂贵、艰巨而复杂的工作, 故开展此项工作应有合理的针对性, 不应为溯源而溯源。四川省

参考文献

- [1] Vondra K, Vrbikova J, Dvorakova K. Thyroid gland diseases in adult patients with diabetes mellitus [J]. *Minerva Endocrinol*, 2005, 30(4): 217-236.
- [2] 张宏, 方佩华, 郑凝, 等. 住院 2 型糖尿病患者甲状腺功能状态的分析 [J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2007, 27(2): 139-141.
- [3] Mora C, Navarro JF. The role of inflammation as a pathogenic factor in the development of renal disease in diabetes [J]. *Curr Diab Rep*, 2005, 5(6): 399-401.
- [4] Eric F, Unga AU, Siema M, et al. Decreased neuropeptide Y (NPY) expression in the infundibular nucleus of patients with nonthyroidal illness [J]. *Peptides*, 2001, 22(1): 59-65.
- [5] Boutin H, Lefevre RA, Horai R, et al. Role of IL-1alpha and IL-1beta in ischemic brain damage [J]. *Neurosci*, 2001, 21(15): 5528-5534.
- [6] Robert A, Vigersky A, Filmore N, et al. Thyrotropin suppression by metformin [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(1): 225-227.
- [7] Grover GJ, Mellstrom K, Malm J. Development of the thyroid hormone receptor beta-subtype agonist KB-141: a strategy for body weight reduction and lipid lowering with minimal cardiac side effects [J]. *Cardiovasc Drug Rev*, 2005, 23(2): 133-148.
- [8] 王生龙. 糖尿病合并促甲状腺激素、甲状腺激素异常 28 例临床分析 [J]. *中国实用医药*, 2008, 3(9): 42-43.

(收稿日期: 2011-05-29)

新成生物科技有限责任公司作为集体外诊断试剂研发、生产、销售为一体的高新技术企业, 通过参考国际标准溯源链式图自建新成生物溯源流程图, 通过临床比对试验和统计学分析, 将产品校准品溯源至国际二级参考物质 NIST SRM 909b, 从而提高了新成试剂临床检验结果的准确性。

参考文献

- [1] 苏建荣, 姚虹, 黄辉明. 临床生化检验量值溯源性探讨 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2005, 4(4): 208-209.
- [2] 吴平平. 自建生化检测系统检验结果溯源性分析 [J]. *内蒙古医学杂志*, 2009, 41(9): 1099-1101.
- [3] 陈文祥. 临床检验参考测量系统与临床检验分析质量保证 [J]. *中华检验医学杂志*, 2007, 30(4): 478-480.
- [4] 冯仁丰. 临床检验管理技术基础 [M]. 上海: 上海科学文献出版社, 2003: 5-11.
- [5] 王治国. 临床检验质量控制技术 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 59.
- [6] 杨振华. 建立参考系统是当务之急 [J]. *中国临床实验室*, 2003, 4(1): 11-13.
- [7] 丛玉隆, 冯仁丰, 陈晓东. 临床实验管理学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 111-114.
- [8] 国家质量技术监督局计量司组. 测量不确定度评定与表示指南 [M]. 北京: 中国计量出版社, 2000: 45.

(收稿日期: 2011-05-30)