

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.08.011

## 参考测量程序测定血清三酰甘油水平的测量不确定度评定

曾晓君<sup>1</sup>, 李景碧<sup>2△</sup>

(1. 广东省中山市创艺生化工程有限公司研发中心 528400; 2. 广东省中山市中医院检验科 528400)

**摘要:**目的 以血清三酰甘油(TG)为例,探讨临床生化检验的不确定度评定方法。方法 建立测量血清 TG 水平的参考测量程序,使用“bottom-up”的方法对各不确定度分量的来源进行分析,并对各不确定度分量分别进行评定。通过合成标准不确定度,进一步计算获得血清 TG 水平的测量扩展不确定度。结果 实验室测量得到朗道常规生化质控水平 2 TG 的平均水平为 1.10 mmol/L,合成标准测量不确定度结果为 0.04 mmol/L,在 95%CI 其水平的测量不确定度为(1.10±0.09) mmol/L,  $k=2$ ;实验室测量得到朗道常规生化质控水平 3 TG 的平均水平为 2.96 mmol/L,合成标准测量不确定度结果为 0.04 mmol/L,在 95%CI 其水平的测量不确定度结果为(2.96±0.20) mmol/L,  $k=2$ 。结论 建立了血清 TG 的测量不确定度评定方法,为临床生化检验不确定度的评定提供了有效的参考依据;对于促进临床实验室管理标准化,提高临床生化检验质量有指导意义。

**关键词:**三酰甘油; 参考测量程序; 测量不确定度评定

中图法分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)08-1044-03

### Evaluation of measurement uncertainty of serum triglyceride concentration by reference measurement procedure

ZENG Xiaojun<sup>1</sup>, LI Jingbi<sup>2△</sup>

(1. Research and Development Center, Zhongshan Chuangyi Biochemical Engineering co., LTD, Zhongshan, Guangdong 528400, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Chinese Medical Hospital of Zhongshan City, Zhongshan, Guangdong 528400, China)

**Abstract: Objective** To investigate the evaluation method for measurement uncertainty of clinical biochemical test, taking serum triglyceride (TG) as an example. **Methods** A reference measurement procedure for serum triglyceride concentration was established. The source of each uncertainty component was identified by 'bottom-up' method and each uncertainty component was evaluated separately. The expanded uncertainty was obtained by calculating combined standard uncertainty. **Results** TG average concentration of assayed human sera level 2 form RANDOX was 1.10 mmol/L and the combined standard uncertainty was 0.04 mmol/L. The measurement uncertainty of 95% confidence interval was (1.10±0.09) mmol/L,  $k=2$ . TG average concentration of assayed human sera level 3 form RANDOX was 2.96 mmol/L and the combined standard uncertainty was 0.04 mmol/L. The measurement uncertainty of 95% confidence interval was (2.96±0.2) mmol/L,  $k=2$ . **Conclusion** The established method of reference measurement procedure for serum triglyceride concentration provided an effective reference for the evaluation of the uncertainty of clinical biochemical test. It had guiding significance to promote standardization of clinical laboratory management and improve the quality of clinical biochemical test.

**Key words:** triglyceride; reference measurement procedure; evaluation of measurement uncertainty

随着国内体外诊断技术和计量学溯源的不断发展,检验标准化在检验医学领域逐渐得到重视<sup>[1-2]</sup>。临床检验中不确定度的影响因素一般包括:对被测量的定义不完善、抽样缺乏代表性、添加剂的干扰、离心条件、贮存条件、日间或批间不精密度、系统误差、标本缺乏特异性、校准物的赋值等<sup>[3]</sup>。血清三酰甘油(TG)作为 TG 的一项重要的临床生化检验指标,对于临床诊断具有重要的指导作用<sup>[4]</sup>。国内外均推荐 GPO-PAP 法作为 TG 的临床测定方法,生产商试剂

盒大多数采用该方法<sup>[5]</sup>。检验结果的准确性将影响疾病诊断、治疗方案的准确性及合理性<sup>[6]</sup>。从产品质量改进和更好应用测量结果的角度出发,本研究分析检测过程中的风险,在 GUM 理论上进一步考虑了由分辨力引入的标准不确定度,建立了对 TG 测量不确定度评定的方法。

### 1 材料与方法

**1.1 仪器与试剂** 日立全自动生化分析仪(证书编号:WYLD20160034)。可调移液器,证书编号:

CRLD20160452。所用仪器均由中山市质量计量监督检测所进行检定,在校准有效期内。TG 测定试剂盒(GPO-PAP 法)由中山市创艺生化工程有限公司生产,在使用有效期内。

## 1.2 方法

**1.2.1 定义被测量** 采用 GPO-PAP 法试剂盒测量血清 TG 水平(mmol/L)。其测量原理为:标本中的 TG 在脂蛋白脂肪酶的作用下水解成甘油和脂肪酸,甘油在甘油激酶的催化下和 ATP 一起反应生成甘油-3-磷酸和 ADP,其中的产物甘油-3-磷酸在甘油-3-磷酸氧化酶的氧化下生成磷酸二羟丙酮和过氧化氢,最后过氧化氢在过氧化物酶的催化下与 4-氨基安替比林和苯酚反应生成红色化合物醌亚胺。醌亚胺在波长 546 nm 处有最大吸收峰。标本中 TG 的水平与全自动生化分析仪在 546 nm 处测得的吸光度的变化值呈正比,从而得到测量范围内血清 TG 水平。

**1.2.2 识别测量不确定度的来源** 分析前步骤包括:校准品和质控品的复溶、仪器校准;分析中步骤包括自动生化分析仪自检、室内质量控制、标本测定;分析后为结果统计、报告。根据测量程序, TG 的测量不确定度的来源主要包括 2 个方面:(1)校准品复溶方面;(2)标本测量时仪器的影响。仔细考虑影响 TG 测量的所有因素,将其绘制成 TG 测量不确定度评估的因果关系图(鱼骨图),见图 1。

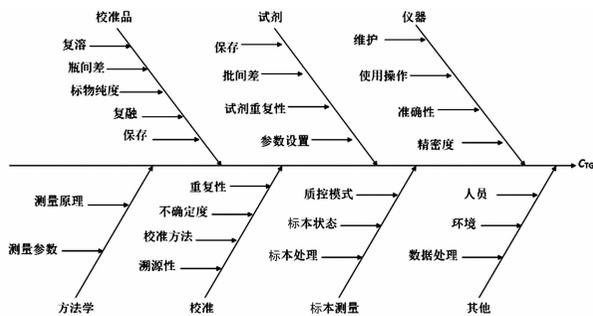


图 1 TG 测量不确定度评估的因果关系图

**1.2.3 测量不确定度评定方法的选择** 实验使用“bottom-up”方法,将 TG 标准不确定度的 A 类和 B 类分开进行评定,然后评定其合成标准不确定度,最终进行扩展不确定度的评定。

## 1.3 血清 TG 水平测定的合成标准不确定度评定

**1.3.1 TG 水平测定重复性引入的标准不确定度(A 类评定)** 根据 CLSI 颁布的 EP5-A2 文件要求<sup>[7]</sup>,实验按照临床生化检验相关规程采用全自动分析,测定朗道常规生化质控水平 2 和水平 3,每天测两批,每批重复检测 2 次,共 20 d,每个水平均获得 80 个有效数据。根据贝塞尔公式法  $s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}$ ,求得 TG 水平单次实验标准差为: $s_{水平2} = 0.0339$  mmol/L,  $s_{水平3} = 0.0619$  mmol/L。通过  $U_A = s(\bar{x}) = \frac{s}{\sqrt{n}}$  转化为

测量重复性引入的标准不确定度,得到  $U_{A水平2} = 0.00379$  mmol/L,  $U_{A水平3} = 0.00692$  mmol/L。计算获得两个水平质控品的相对标准不确定度  $U_{A水平rel}$  分别为  $U_{A水平2rel} = 0.00345$ ,  $U_{A水平3rel} = 0.00234$ 。

**1.3.2 复溶用可调移液器引入的不确定度评定(B 类评定)** 使用可调移液器移取 5.00 mL 去离子水复溶校准品。依据证书,其 5.00 mL 处标准扩展不确定度  $u_{B移液器-1} = 0.2\%$ ,  $k_1 = 2$ 。由此可得,该处标准不确定度  $u_{B移液器-2} = 0.005$  mL。

可调式移液器分辨力为  $\delta_{x1} = 0.01$  mL。根据 JJF1059.1-2012 中 4.3.3.4<sup>[8]</sup>,由分辨力引入的标准不确定度为: $u_{B移液器-3} = \frac{a}{k} = \frac{\delta_{x1}}{2\sqrt{3}} = 0.29\delta_{x1} = 0.0029$  mL。

两组不确定度分量互不相关,所以其合成的标准不确定度  $u_{cB移液器} = \sqrt{u_{B移液器-2}^2 + u_{B移液器-3}^2} = 0.0058$  mL。转化为复溶用可调移液器引入的相对标准不确定度  $u_{B移液器rel}$  为: $u_{B移液器rel} = \frac{u_{cB移液器}}{U} = 0.0012$ 。

**1.3.3 校准全自动生化仪用校准品引入的不确定度评定(B 类评定)** 校准品厂家说明书声明,在日立系列全自动生化仪上校准的 TG 测定(GPO-PAP 法)扩展不确定度  $u_{B校准品-1} = 0.11$  mmol/L,  $k_2 = 2$ 。校准靶值  $c = 3.06$  mmol/L 处的相对标准不确定度为: $u_{B校准品rel} = \frac{0.11}{2 \times 3.06} = 0.018$ 。

**1.3.4 测量用全自动生化分析仪引入的不确定度评定(B 类评定)** 日立全自动生化分析仪采用取样、混匀、温浴检测、结果计算、判断、显示和打印结果及清洗等步骤全部自动运行。检定证书上标示, TG 测定结果的示值在水平 2 处扩展不确定度为 0.08,  $k_2 = 2$ ; 水平 3 处扩展不确定度为 0.07,  $k_3 = 2$ 。由此得两个水平处生化仪的相对标准不确定度为  $u_{B生化仪-1} = 0.04$  mmol/L,  $u_{B生化仪-2} = 0.1$  mmol/L。日立全自动生化分析仪分辨力为  $\delta_{x2} = 0.01$  mmol/L。同 2.2,由分辨力引入的标准不确定度为  $u_{B生化仪-3} = 0.0029$  mmol/L。两组标准不确定度互不相关,所以其合成的标准不确定度为  $u_{cB水平2} = 0.04$  mmol/L,  $u_{cB水平3} = 0.1$  mmol/L。计算得到测量用全自动生化分析仪引入的相对标准不确定度  $u_{B生化仪rel}$  为  $u_{B生化仪水平2rel} = 0.04$ ,  $u_{B生化仪水平3rel} = 0.04$ 。

**1.3.5 合成标准不确定度的计算** 因各标准不确定度分量互不相关,故合成标准不确定度  $u_c$  为:

$$u_c = \sqrt{u_{A水平rel}^2 + u_{B移液器rel}^2 + u_{B校准品rel}^2 + u_{B生化仪rel}^2}$$

计算得到水平 2 和水平 3 处血清 TG 水平的测量结果合成标准不确定度  $u_{c水平2} = 0.04$ ,  $u_{c水平3} = 0.04$ 。

**1.3.6 扩展不确定度的评定** 在 95% CI 其水平的测量不确定度取包含因子  $k = 2$ ,其扩展不确定度为  $U = k \times u_c$ 。

**1.3.7 不确定度评定汇总** 见表 1。

表 1 不确定度评定汇总表

序号	不确定度来源	评定类型	概率分布	包含因子	标准不确定度		
					符号	水平 2	水平 3
1	TG 水平测定重复性引入	A	正态	1	$u_{A\text{水平rel}}$	0.003 45	0.002 34
2	复溶用可调移液器引入	B	均匀	$\sqrt{3}$	$u_{B\text{移液器rel}}$	0.001 2	
3	校准全自动生化仪用校准品引入的不确定度评定	B	均匀	$\sqrt{3}$	$u_{B\text{校准品rel}}$	0.018 0	
4	测量用全自动生化分析仪引入	B	均匀	$\sqrt{3}$	$u_{B\text{生化仪rel}}$	0.040 00	0.040 00
5	合成标准不确定度				$u_c$	0.040 00	0.040 00
6	扩展不确定度( $k=2$ )				$U$	0.080 00	0.080 00

## 2 结 果

结合上述计算所得,实验室测量得到朗道常规生化质控水平 2 TG 的平均测定水平为 1.10 mmol/L,其合成标准测量不确定度结果为 0.04 mmol/L,在 95%CI 其水平的测量不确定度为  $(1.10 \pm 0.09)$  mmol/L,  $k=2$ ;朗道常规生化质控水平 3 TG 的平均测定水平为 2.96 mmol/L,其合成标准测量不确定度结果为 0.04 mmol/L,在 95%CI 其水平的测量不确定度结果为  $(2.96 \pm 0.20)$  mmol/L,  $k=2$ 。

## 3 讨 论

测量不确定度是表征赋予被测量量值分散性的非负参数,是测量结果质量的参数<sup>[8]</sup>。在实际的临床生化检测过程中,测量不确定度是测量系统检验结果的固有属性<sup>[9]</sup>。其在计量行业的应用始于 20 世纪 90 年代,但迄今为止检验医学领域仍未广泛应用<sup>[10]</sup>。认识和评定测量不确定度是为了改进临床生化检验的质量和更好应用测量的结果,了解和控制测量过程中的风险。导致测量误差的贡献量难以得到,但是与引起误差的随机影响以及和系统影响有关的不确定度是可以评定的。评定测量不确定度的方法有很多,其中包括“bottom-up”(自下而上)的方法、“top-down”(自上而下)的方法和蒙特卡洛方法(MCM 法)等<sup>[11]</sup>。与 top-down 方法相比,bottom-up 测量不确定度的评定方法是基于对测量过程的全面了解。本研究采用 bottom-up 的方法在建立 TG 参考测量程序的基础上,探讨了 TG 测量不确定度的评定方法。本研究全面地分析并识别出 TG 测量过程中所有可能的测量不确定度来源,并且考虑了由分辨力引入的标准不确定度对测量过程的影响,从而建立了 TG 水平测量不确定度的评定方法。该方法操作简便,适用性强,为临床生化检验不确定度的评定提供了有效的参考依据;对于促进临床实验室标准化管理,提高临床生化检验质量有指导意义<sup>[12]</sup>。

## 参考文献

[1] 戴绘芬,王惠民,王建新,等.参考测量程序测定血清总胆

红素浓度的不确定度评定[J].检验医学,2016,31(5):368-372.

[2] RAMSEY M H, ELLISON S L. Uncertainty factor: an alternative way to express measurement uncertainty in chemical measurement[J]. Accredited Qual Assur, 2015, 20(2): 153-155.

[3] 杨有业,张秀明.临床检验方法学评价[M].北京:人民卫生出版社,2008:98-117.

[4] NISHIKAWA T, OKAMURA T, SHIMA A, et al. Casual serum triglyceride as a predictor of premature type 2 diabetes mellitus: an 8-year cohort study of middle-aged Japanese workers[J]. Diabetol Int, 2016, 7(3): 252-258.

[5] 尚红,王毓三,申子瑜.全国临床检验操作规程[M].4版.北京:人民卫生出版社,2014:317-320.

[6] 朱骥.评估常规生化检验项目测量不确定度及探讨其在临床检验中的应用价值[J/CD].临床检验杂志(电子版),2018,7(2):303-304.

[7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods approved guideline-second edition; EP5-A2[S]. Wayne, PA, USA: CLSI, 2004.

[8] 国家质量监督检验检疫总局.测量不确定度评定与表示:JJF1059.1-2012[S].北京:国家质量监督检验检疫总局,2012.

[9] 张诗诗,王薇,赵海建,等.临床检验测量不确定度的进一步认识[J].现代检验医学杂志,2017,32(2):1-4,9.

[10] 吕京,陈宝荣,王惠民.生物医学实验室测量不确定度评定案例与分析[M].北京:科学出版社,2015:5-6.

[11] 崔明,鞠少卿,保方,等.基于质控数据用 Top-Down 方法评定凝血检验项目测量不确定度[J].检验医学与临床,2017,14(1):1-2.

[12] 刘靖,陈特,邓小玲,等.利用室内质评回报结果对临床生化检验常规项目不确定度评定的方法探讨[J].检验医学与临床,2014,11(2):152-154.

(收稿日期:2018-08-11 修回日期:2018-11-24)