

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.13.023

多台仪器检测血小板计数的测量不确定度评估

李文悌, 李冠霖[△]

郑州大学第一附属医院检验科/河南省检验医学重点实验室, 河南郑州 450052

摘要:目的 参考医学实验室测量不确定度评定指南 ISO/TS 20914, 使用室内质量控制(质控)品、校准品与室间质量评价数据评估实验室 5 台血常规仪器检测血小板计数的测量不确定度。方法 使用 18 个月的室内质控数据评估实验室内重现性的相对标准不确定度, 通过室间质量评价数据评定由偏倚校正引入的测量不确定度, 将以上二者与用户校准品参考值的测量不确定度结合, 计算合成相对测量不确定度。结果 3 个水平质控品的组合不确定度分别为 4.67%、2.88%、2.40%, 最终用户校准品参考值的相对标准不确定度为 2.17%, 3 次室间质量评价数据评定的偏倚校正引入的相对标准不确定度为 4.89%, 3 个水平室内质控品的扩展相对标准不确定度($k=2$)及水平分别为 14% ($56 \times 10^9/L$)、12% ($220 \times 10^9/L$) 和 12% ($414 \times 10^9/L$)。结论 ISO/TS 20914 提供了采用现有数据评估测量不确定度的实用方法, 评估时需要考虑试剂、校准品和室内质控品批次的变化与多套检测系统间的细微差异。

关键词:测量不确定度; 室内质量控制; 变异系数; 室间质量评价; 偏倚

中图法分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2023)13-1922-04

Measurement uncertainty assessment of platelet count detected by multiple instruments

LI Wenti, LI Guanlin[△]

Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Zhengzhou University/Henan Provincial Key Laboratory of Laboratory Medicine, Zhengzhou, Henan 450052, China

Abstract: **Objective** To use the internal quality control (IQC), calibrator and external quality assessment (EQA) data to evaluate the measurement uncertainty (MU) of the results of platelet count measured by five blood routine instruments in reference to the Medical Laboratories-practical Guidance for the Estimation of MU ISO/TS 20914. **Methods** The relative standard MU of within-laboratory reproducibility was evaluated by using the 18 months IQC data, the MU introduced by bias correction was evaluated through the EQA data, the above two were combined with the MU of the value assigned to the end-user calibrator and the compounded relative MU was calculated. **Results** The combined MU in the three levels of quality control product were 4.67%, 2.88% and 2.40%, respectively. The relative standard MU of the value assigned to the end-user calibrator was 2.17%. The relative standard MU introduced by bias correction according to three times of EQA data was 4.89%. The expanded relative standard MU ($k=2$) of the three quality control products were 14% ($56 \times 10^9/L$), 12% ($220 \times 10^9/L$) and 12% ($414 \times 10^9/L$), respectively. **Conclusion** ISO/TS 20914 provides a practical method for evaluating MU by adopting available data. When evaluating, it is necessary to consider the changes of reagents, calibrators and IQC materials and the subtle differences among multiple measuring systems.

Key words: measurement uncertainty; internal quality control; coefficient of variation; external quality assessment; bias

测量不确定度(MU)被定义为“基于所使用的信息, 表示被测量值离散性的非负参数”, 可用于评估医学实验室检测结果的质量^[1]。血小板计数(PLT)增多或减少可能危及患者生命, 检测全血 PLT 对诊断和治疗相关疾病有重要意义^[2]。因此, 评估实验室内血常规仪器检测 PLT 的 MU 是十分必要的。尽管医学实验室质量和能力的要求 ISO15189 规定, 参加认可的医学实验室必须评估 MU^[3], 但 ISO15189 中没

有提供关于如何评估 MU 的明确建议, 实验室专业人员必须制订相应的程序来拟定评估 MU 的数据和公式。

医学实验室 MU 评定指南 ISO/TS 20914 推荐采用自上而下的方法, 使用长期室内质量控制(IQC)数据、校准数据和偏倚校正相关的不确定度来评估 MU^[4]。利用室间质量评价(EQA)数据是评估偏倚校正引入 MU 的一种方法^[5]。尽管已有关于评估

MU 的文献^[6-7],但是仍缺乏介绍、评估多台血常规仪器检测结果 MU 的研究。为探讨多台血常规仪器检测 PLT 的 MU 的方法,本研究采用自上而下的方法,基于 IQC 数据、用户校准品与 EQA 数据评估实验室内 5 台血常规仪器检测静脉全血 PLT 结果的组合相对标准不确定度(u_{rel})与扩展相对标准不确定度(U_{rel}),另外将评估的 u_{rel} 与分析性能规范(APS)进行比较,以确定测量系统是否满足 APS 的要求^[8]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 分析 2020 年 1 月至 2021 年 7 月约 18 个月的迈瑞 BC-6800 PLUS 血常规检测流水线的 5 台仪器获得的 8 130 个 PLT 的 IQC 结果,3 个批号校准品参考值的相对 MU 与 3 次 EQA 的 15 个结果数据。按照试剂、质量控制(质控)品与校准品批号的更换将 IQC 结果分为 9 个分区。

1.2 仪器与试剂 血常规检测仪器为 BC-6800Plus 血液分析仪流水线,由 1 台样品分配装置和 5 台迈瑞常规血液检测仪器(A~E)组成。静脉全血被随机分配到 5 台仪器中的任意 1 台进行检测。仪器、试剂、室内质控品和校准品均来自深圳迈瑞生物医学电子有限公司,EQA 材料来自原卫生部临床检验中心。室内质控品为迈瑞 BC-6D 常规血液质控品,有 3 个水平(1~3 分别为低、中、高)。校准频率为每半年 1 次。PLT 校准品参考值溯源至国际血液标准化委员会 2001 推荐的参考测量方法。

1.3 评估 MU

1.3.1 确定 MU 的来源 根据不同的临床实验室指南,对整体 MU 最重要的贡献包括最终用户校准品参考值的不确定度[$u(cal)$]、实验室内重现性的标准不确定度[$u(Rw)$]和偏倚校正的不确定度[$u(bias)$]^[9-10]。标准不确定度不能相加或相乘,为了整合来自整个测量过程的不确定度,标准不确定度必须首先转换为相对标准不确定度。因此,本研究使用了相对标准不确定度,包括最终用户校准品参考值的相对标准不确定度[$u_{rel}(cal)$]、实验室内重现性的相对标准不确定度[$u_{rel}(Rw)$]、偏倚校正引入的相对标准不确定度[$u_{rel}(bias)$]、 u_{rel} 和 U_{rel} ^[4]。

1.3.2 计算 $u_{rel}(cal)$ 在统计期间使用了 3 个批号的校准品, $u_{rel}(cal)$ 由公式(1)计算:

$$u_{rel}(cal) = \sqrt{\sum_{i=1}^n u_{rel,i}^2(cal)/n} \quad (1)$$

$u_{rel,i}(cal)$ 为第 i 次校准时校准品参考值的相对 MU,由制造商提供, n 为校准次数。

1.3.3 计算 $u_{rel}(Rw)$ 按照 PLT 的质控品、试剂与校准品批号的更换情况,将每个水平的 IQC 结果进行分区,计算每台仪器各个分区 IQC 结果的平均值、标准差(SD)和变异系数(CV)。使用公式(2)计算每台仪器每个水平 IQC 结果的合并 $CV(CV_{pooled})$ ^[9]。

$$CV_{pooled} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (n_i - 1) \times CV_i^2 / \sum_{i=1}^n n_i - i} = u_{rel}(Rw) \quad (2)$$

公式(2)表示计算室内质控结果 CV_i 的加权平均值的方法, n_i 是第 i 个分区质控品的检测数, CV_i 是第 i 个分区中 IQC 结果的 CV 。由于不同批次质控品的平均值不同, SD 难以比较,因此使用的是 CV ^[4]。 $u_{rel}(Rw)$ 为实验室内重现性的相对标准不确定度分量,等于 CV_{pooled} ^[11]。

5 台仪器检测相同批次的质控品获得的平均值可能不同,因此必须计算 5 台仪器不同批次室内质控结果平均值的不精密度,并应用在组合不确定度[$u_{rel}(pooled)$]的计算中^[4]。

$$u_{rel}(pooled) = \sqrt{u_{rel}^2(A,B,C,D,E) + u_{rel}^2 Rw(A,B,C,D,E)} \quad (3)$$

$u_{rel}(A,B,C,D,E)$ 为 5 台仪器 IQC 结果平均值的不精密度。 $u_{rel}Rw(A,B,C,D,E)$ 为 5 台仪器 IQC 结果的合并不精密度^[4]。计算每台仪器 IQC 结果的平均值 $\bar{x}(A)$ 、 $\bar{x}(B)$ 、 $\bar{x}(C)$ 、 $\bar{x}(D)$ 、 $\bar{x}(E)$,之后根据每台仪器 IQC 结果的平均值计算 5 台仪器每个水平 IQC 结果的总平均值 $\bar{X}(A,B,C,D,E)$ 。为了书写公式方便,将 $\bar{X}(A,B,C,D,E)$ 简写为 $\bar{X}$ 。

$$u_{rel}(A,B,C,D,E) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [\bar{x}(i) - \bar{X}]^2}{(n-1)}} / \bar{X} \times 100 \quad (4)$$

式中 i 为第 i 台仪器, n 为仪器的数量。

1.3.4 计算 $u_{rel}(bias)$ 实际工作中,由于每次 EQA 的公认值很难一致,所以采用 EQA 数据评定由偏倚引入的 MU 时采用相对值进行计算,需要的参数包括 EQA 组织者给出的公认值(C_{cons})、实验室测量值 x_i 和由同组全部 EQA 数据得出的测量复现性 RSD_R ^[5],可按以下步骤计算:

$$RMS_{rel}(bias) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n b_{rel,i}^2}{n}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left[\frac{(x_i - C_{cons,i}) \times 100}{C_{cons,i}} \right]^2}{n}} \quad (5)$$

$$u_{rel}(C_{cons}) = \frac{\sum_{i=1}^n u_{rel}(cons,i)}{n} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{RSD_{R,i}}{\sqrt{m}}}{n} \quad (6)$$

$$u_{rel}(bias) = \sqrt{RMS_{rel}^2(bias) + u_{rel}^2(C_{cons})} \quad (7)$$

$RMS_{rel}(bias)$ 为方法和实验室的相对偏倚, $b_{rel,i}$ 为单个 EQA 测量值的相对偏倚量值, n 为 EQA 样本数, x_i 为实验室单个 EQA 的测量值, $C_{cons,i}$ 为单个 EQA 的公认值, $u_{rel}(cons,i)$ 为单个 EQA 公认值的测量复现性引入的相对 MU。 $RSD_{R,i}$ 为单个 EQA 结果的相对复现性,由 EQA 组织者提供。 m 为单次参

加同组 EQA 的实验室数量。 $u_{rel}(C_{cons})$ 为多个 EQA 公认值的测量复现性引入的相对 MU。

1.3.5 计算 u_{crel} 及 U_{rel} u_{crel} 的计算是基于 $u_{rel}(Rw)$ 、 $u_{rel}(cal)$ 与 $u_{crel}(bias)$ 的 2 次组合^[12]。

$$U_{rel}=k\times u_{crel}=k\times\sqrt{u_{rel}^2(pooled)+u_{rel}^2(cal)+u_{rel}^2(bias)}$$

(8)

$U_{rel}(k=2)$, k 是包含因子,对于正态分布的数据, $k=2$ 时,包含概率 $P=95.45\%$ 。以 u_{crel} 乘以 2 的包含因子来确定 U_{rel} ,其正到负的包含区间在统计上表示真实值在这些范围内的概率约为 95%。按照要求,需要对 U_{rel} 进行数字修约,本研究依照四舍五入的方法,将 U_{rel} 的小数部分四舍五入为整数^[4]。

2 结 果

2.1 PLT 的 $u_{rel}(cal)$ 3 个批号 $U_{rel}(cal)$, ($k=2$) 分别为 3.82%、4.67%、4.51%,使用公式(1)计算总的校准品示值的 $u_{rel}(cal)$ 为 2.17%。

2.2 PLT 的 3 个水平 IQC 结果的平均值与 $u_{rel}(Rw)$ 首先,IQC 的结果为正态分布,5 台仪器检测 3 个水平室内质控品的平均值和 $u_{rel}(Rw)$ 见表 1。PLT 检测结果的 $u_{rel}(Rw)$ 随着室内质控品水平的增加呈逐渐降低的现象,也印证了医学实验室中许多分析物的 MU 随测量值的变化而变化的说法。本实验室 PLT 低水平(水平 1)的室内质控品结果的

$u_{crel}(Rw)$ 约为高水平(水平 3)的 2 倍。

表 1 PLT 的室内质控结果的平均值与 $u_{rel}(Rw)$

项目	平均值($\times 10^9/L$)			$u_{rel}(Rw)(\%)$		
	水平 1	水平 2	水平 3	水平 1	水平 2	水平 3
仪器 A	55.3	218.9	411.2	4.25	2.44	2.01
仪器 B	56.6	220.4	414.9	4.26	2.73	2.30
仪器 C	55.1	219.5	412.2	4.28	2.73	2.10
仪器 D	57.4	221.5	415.3	4.33	2.80	2.17
仪器 E	56.5	219.4	414.7	4.20	2.85	2.11
平均值	56.2	220.0	413.7	4.26	2.71	2.14

2.3 PLT 的 $u_{crel}(bias)$ 分析 3 次原卫生部临床检验中心收集的 IQC 数据,每次 5 个标本,共 15 个标本。计算的 $u_{crel}(bias)$ 为 4.89%。

2.4 不同水平室内质控品结果的 U_{rel} 5 台仪器检测 3 个水平室内质控品的 $U_{rel}(k=2)$ 及水平分别为 14%($56\times 10^9/L$)、12%($220\times 10^9/L$)、12%($414\times 10^9/L$),3 个室内质控品水平的 u_{crel} 均未达到 MU 的理想 APS(4.85%),但都达到了 MU 的最小 APS(7.28%),表明 u_{crel} 随分析物水平的升高而降低。见表 2。

表 2 5 台仪器检测的不同水平室内质控品 PLT 的 MU(%)

水平	$u_{rel}(pooled)$	$u_{rel}(cal)$	$u_{crel}(bias)$	u_{crel}	U_{rel}
$56\times 10^9/L$	4.67	2.17	4.89	7.13	14
$220\times 10^9/L$	2.88	2.17	4.89	6.02	12
$414\times 10^9/L$	2.40	2.17	4.89	5.77	12

3 讨 论

ISO-TS 20914 介绍了利用校准品参考值相关的不确定度、IQC 数据和偏倚校正引入的不确定度评估 MU 的实用方法,不需要测量模型和复杂的统计数据^[4],且评估 MU 必须包括检测程序整个计量可追溯链引入的所有 MU^[13]。

计算 MU 是一个复杂的过程,实验室必须考虑试剂、室内质控品与校准品批号的更换、不同的环境条件及操作人员等多种因素。本研究采集约 18 个月的 IQC 数据,覆盖试剂、室内质控品和校准品批号更换、仪器维护保养、温度与操作人员变化的情况,使采集的数据更具有代表性;计算所有仪器的长期 MU,涵盖了仪器内部和仪器之间性能的细微差异所引起的可变性;根据试剂批号、室内质控品批号与校准品批号的更换对 IQC 数据进行分区。

评定偏倚校正引入的 MU 推荐优先采用参考物质和正确度验证计划的标本,因其能够计量溯源到公认的参考系统,其次采用 EQA 数据^[5]。EQA 材料的

公认值是参加 EQA 计划的同组实验室数据去除离群值后的平均值,受许多因素的影响,不具备溯源性。本研究未使用参考物质来评定偏倚,也未能参与正确度验证计划,因此使用 EQA 数据来评定 MU。北欧测试合作组织建议以 6 次 EQA 结果作为评定 MU 的依据,从而得到一个具有足够可信度的与偏倚相关的不确定度,本研究采用 15 个 EQA 标本的结果评定 MU。

如果 CV 随检测值水平变化而变化,则应使用多个 MU^[11]。本研究 PLT 的 3 个不同水平 IQC 数据的 $u_{rel}(pooled)$ 不同,随水平变化较大,因此本研究根据室内质控品水平计算了不同水平检测值的 MU。

本研究 3 个水平室内质控品结果的 u_{crel} 均达到标准 MU 的最小 APS(7.28%),但是都未达到 MU 的理想 APS(4.85%),回顾 IQC 数据发现,PLT 的室内质控品从开始使用至使用完毕,其测定值呈上升的趋势,但未触犯失控限。因此,应沟通制造商改进制造 IQC 品的工艺。

本研究不足之处在于仅评定了测量过程相关检验结果的不确定度,未涉及其他可能导致诊断错误的因素,如生物学变异、季节变化和分析前变异等^[14]。

本研究可能为临床实验室中使用自上而下的方法评估 MU 提供了基本实用的参考。评估 MU 有助于获得检验程序性能质量的客观信息,确定需要改进的分析物,并要求制造商提高其产品的分析性能质量。

参考文献

[1] Clinical and Laboratory Standards Institute. Expression of measurement uncertainty in laboratory medicine Approved Guideline; EP29-A [S]. Wayne, PA, USA; CLSI, 2012.

[2] KAUFMAN R M, DJULBEGOVIC B, GERNESHEIMER T, et al. Platelet transfusion; a clinical practice guideline from the AABB [J]. Ann Intern Med, 2015, 162 (3): 205213.

[3] International Organization for Standardization. Medical laboratories; requirements for quality and competence; ISO15189 [S]. Geneva, Switzerland; ISO, 2022.

[4] International Organization for Standardization. Medical laboratories; Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty; ISO/TS 20914; 2019 [S]. Geneva, Switzerland; ISO, 2019.

[5] 中国合格评定国家认可委员会. 医学实验室:测量不确定度的评定与表达; CNAS-TRL-001; 2012 [S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会, 2012.

[6] 刘伟平, 杨新春, 殷明刚. 八项主要血细胞分析指标的测量不确定度评估及分析 [J]. 医学检验与临床, 2018, 29 (6): 25-27.

(上接第 1921 页)

[5] 周兰, 陈晓会, 熊姣娇, 雷玲. 2860 例不同产前诊断指征的羊水细胞染色体检查结果及高危因素分析 [J]. 重庆医科大学学报, 2023, 48(4): 450-456.

[6] 赵扬玉, 原鹏波, 陈练. 二胎时代高龄产妇面临的问题 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2020, 36(2): 97-100.

[7] 刘洁, 左娟, 朱瑾, 等. 1 837 例不同指征产前诊断羊水细胞染色体核型分析 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24 (11): 57-59.

[8] 杨济敏, 宋正玲, 陆军燕. 胎儿染色体核型检测与产前诊断指征分析 [J]. 中国现代药物应用, 2019, 13(3): 46-47.

[9] 赵干业, 代鹏, 郜珊珊, 等. 无创产前检测在 14 279 例单胎染色体异常筛查中的应用 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(7): 702-704.

[10] XU L, HUANG H, LIN N, et al. Non-invasive cell-free fetal DNA testing for aneuploidy: multicenter study of 31 515 singleton pregnancies in southeastern China [J]. Ul-

[7] 黄福达, 张秀明, 傅强, 等. 血常规项目测量不确定度评定 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(22): 3232-3234.

[8] MARTINELLO F, SNOJ N, SKITEK M, et al. The top-down approach to measurement uncertainty: which formula should we use in laboratory medicine [J]. Biochem Med (Zagreb), 2020, 30(2): 020101.

[9] RIGO-BONNIN R, DÍAZ-TROYANO N, GARCÍA-TEJADA L, et al. Estimation of the measurement uncertainty and practical suggestion for the description of the metrological traceability in clinical laboratories [J]. Biochem Med (Zagreb), 2021, 31(1): 010501.

[10] SEPAROVIC L, SIMABUKURO R S, COUTO A R, et al. Measurement uncertainty and conformity assessment applied to drug and medicine analyses; a review [J]. Crit Rev Anal Chem, 2023, 53(1): 123-138.

[11] CERIOTTI F. Deriving proper measurement uncertainty from internal quality control data; an impossible mission [J]. Clin Biochem, 2018, 57: 37-40.

[12] ÇELAP I, VUKASOVIĆ I, JURIĆIĆ G, et al. Minimum requirements for the estimation of measurement uncertainty; Recommendations of the joint Working group for uncertainty of measurement of the CSMBLM and CCMB [J]. Biochem Med (Zagreb), 2017, 27(3): 030502.

[13] PANTEGHINI M. The simple reproducibility of a measurement result does not equal its overall measurement uncertainty [J]. Clin Chem Lab Med, 2022, 60(10): e221-e222.

[14] COSKUN A, THEODORSSON E, OOSTERHUIS W P, et al. Measurement uncertainty for practical use [J]. Clin Chim Acta, 2022, 531: 352-360.

(收稿日期: 2022-10-29 修回日期: 2023-02-26)

trasound Obstet Gynecol, 2020, 55(2): 242-247.

[11] 黎昱, 宋婷婷, 徐盈等. 染色体微阵列技术在高龄孕妇产前诊断中的价值 [J]. 兰州大学学报(医学版), 2021, 47 (3): 80-83.

[12] 王游声, 张翠翠, 蔡婵慧, 等. 高龄孕妇年龄与胎儿染色体异常的相关性分析 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2021, 38(1): 96-98.

[13] SINAJON P, CHITAYAT D, ROIFMAN M, et al. Increased nuchal translucency: results from microarray and RASopathy disorders testing [J]. Ultrasound Obstet Gynecol, 2020, 55(3): 383-390.

[14] HU T, ZHANG Z, WANG J, et al. Prenatal diagnosis of chromosomal aberrations by chromosomal microarray analysis in fetuses with ultrasound anomalies in the urinary system [J]. Prenat Diagn, 39(12): 1096-1106.

(收稿日期: 2022-12-16 修回日期: 2023-03-14)