

• 质控与标规 •

速率法检测献血者丙氨酸转氨酶的测量不确定度评定

邬旭群, 程 曦, 李雪梅, 古醒辉
(深圳市血液中心, 广东深圳 518035)

摘 要:目的 通过丙氨酸转氨酶(ALT)测量不确定度的评定,探讨血站实验室建立测量不确定度的评定方法和程序。方法 依据《JJF1059-1999 测量不确定度评定与表示》和《CNAS-GL05 测量不确定度要求的实施指南》对 ALT 速率法的测量不确定度进行评定,明确测量不确定度分量来源,采用不确定度 A 类和 B 类评定方法评定各不确定度分量,计算合成不确定度与扩展不确定度。结果 献血者血浆 ALT 浓度为 52.5 U/L 时,其扩展不确定度为 $U=3.31\text{ U/L}$ (包含因子 $k=2$,置信区间 $P=95\%$)。结论 本实验室所建立的测量不确定度评定方法可分析不同因素对测量结果的影响程度,有助于实验室提高检测质量。

关键词:测量不确定度; 丙氨酸转氨酶; 速率法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.037

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)04-0470-03

Evaluation of measurement uncertainty in detecting blood donor plasma ALT by kinetic rate method

Wu Xuqun, Cheng Xi, Li Xuemei, Gu Xinghui

(Shenzhen blood center, Shenzhen, Guangdong 518035, China)

Abstract: **Objective** To investigate the method of estimating the measurement uncertainty in blood bank laboratory. **Methods** The uncertainty of measurement in detecting of plasma ALT by kinetic rate method can be reasonably estimated according to Evaluation and Expression of Uncertainty in Measurement (JJF1059-1999) and Guideline on the Application of the Requirements for Measurement Uncertainty(CNAS-GL05), the sources of each uncertainty component were identified, evaluation of the uncertainty components was processed by using two types of method and then a combined standard uncertainty was calculated, finally an expanded uncertainty was given. **Results** When concentration of blood donor plasma ALT was 52.5 U/L, the expanded uncertainty was 3.31 U/L with a coverage factor of 2. **Conclusion** The method described in this research may be used to analyze contribution of various components of uncertainty on measurement and help laboratory to improve test quality.

Key words: Uncertainty of measurement; glutamic-pyruvic transaminase; kinetic rate method

测量不确定度是指表征合理地赋予被测量之值的分散性,与测量结果相联系的参数。由于不确定度比经典的误差表示方法更为科学和实用,使其在当今国际计量测试技术领域得到广泛使用,我国已于 1999 年颁布实施了计量技术规范《JJF1059-1999 测量不确定度评定与表示》对测量不确定度的评定和表示方法作出了明确规定。测量不确定度作为实验室认可质量管理的重要内容,在中国合格评定国家认可委员会(CNAS)颁布的《CNAS-CL01 检测和校准实验室能力认可准则》、《CNAS-CL02 医学实验室质量和能力认可准则》和相应实施指南中均提出了测量不确定度的要求^[1-2],实验室必须建立测量不确定度评定程序,并加以实施和应用。

1 材料与方法

1.1 标本来源 在无偿献血者献血的同时,使用含 EDTA- K_2 抗凝剂的真空采血管抽取静脉血 4~5 mL,1 500×g 离心 10 min,分离血浆。

1.2 仪器与试剂 仪器:日本 HITACHI 7080 全自动生化分析仪;丙氨酸转氨酶(ALT)检测试剂:烟台澳斯邦生物工程有限公司 ALT 检测试剂,批号:120912;校准品:罗氏定标干粉试剂,批号:166528,浓度:86 U/L。

1.3 方法 罗氏定标干粉试剂在使用前加蒸馏水 3 mL 复溶,用复溶后的定标液对 HITACHI 7080 全自动生化分析仪进行定标,定标后再进行无偿献血者血浆样本的检测。

1.4 数学模型 由于 ALT 检测使用全自动生化分析仪,标本上样后仪器自动检测、分析和计算结果,因此根据其检测原理建立简单的数学模型: $C=KA_s$, $K=C_{cal}/A_{cal}$;其中 C

结果的标准不确定度： $u_1 = s(Acal) = 0.000\ 228$ ，单次定标结果的相对不确定度： $u_{rel(1)} = s(Acal) / \bar{x}(Acal) = 0.005$ 。(2) 标本吸光度测定引入的不确定度。定标后连续测定 ALT 浓度在医学决定水平附近的献血者血浆标本吸光度 20 次，其吸光度均值 $\bar{x}(As) = 0.029\ 16$ ，标准差 $s(As) = 0.000\ 312$ ；则单次测量结果的标准不确定度： $u_2 = s(As) = 0.000\ 312$ ，单次测量结果的相对不确定度： $u_{rel(2)} = s(As) / \bar{x}(As) = 0.011$ 。

2.1.2 不确定度 B 类评定 (1) 校准品自身不确定度。制造商提供 ALT 定标液浓度为 86 U/L，扩展不确定度为 0.924 U/L，按正态分布，置信水平 $P = 95\%$ ， $k = 2$ ；则标准品的标准不确定度： $u_3 = 0.462\ U/L$ ，标准品的相对标准不确定度： $u_{rel(3)} = 0.005$ 。(2) 校准品 ALT 活性浓度引入的不确定度。制造商提供的校准品 ALT 浓度的扩展不确定度为 5%，按正态分布，置信水平 $P = 95\%$ ， $k = 2$ ，则校准品的标准不确定度： $u_4 = 2.15\ U/L$ ，校准品的相对标准不确定度： $u_{rel(4)} = 0.025$ 。(3) 校准品复溶时引入的不确定度。① 刻度吸管校准引入不确定度：制造商提供的 5 mL 刻度吸管在 20℃ 的体积为 $(5 \pm 0.025)\ mL$ ，未给出的不确定度的置信水平或分布情况信息，假设为三角形分布， $k = \sqrt{6}$ ；则标准不确定度： $u_5 = 0.010\ mL$ ，相对标准不确定度： $u_{rel(5)} = 0.003$ 。② 刻度吸管重复性引入的不确定度：刻度吸管吸取 3 mL 去离子水的变化引起的不确定度可通过该刻度吸管样品的重复性实验来评估^[6]。用刻度吸管吸取去离子水 3 mL 并称量，重复 10 次，计算出标准偏差为 0.013 mL，可直接作为标准不确定度 $u_6 = 0.013\ mL$ ；相对标准不确定度： $u_{rel(6)} = 0.004$ 。③ 实验室环境温度变化引入的不确定度：假设实验室温度变化范围在为 $(20 \pm 5)\ ^\circ C$ 之间，可通过估算该温度范围和体积膨胀系数来计算不确定度。由于水的体积膨胀远大于刻度吸管的体积膨胀，因此在计算时只需考虑前者即可。水的体积膨胀系数为 2.1×10^{-4} ，实验室温度变化所致的体积变化为 0.003 mL，按矩形分布估计， $k = \sqrt{3}$ ，则标准不确定度： $u_7 = 0.002\ mL$ ，相对标准不确定度： $u_{rel(7)} = 0.001$ 。(4) 设备校准过程中引入的不确定度。根据生化分析仪校准报告所提供的扩展不确定度为 1.8 U/L，按正态分布，置信水平 $P = 95\%$ ， $k = 2$ ；测量均值为 68 U/L，由此可得生化分析仪的标准不确定度： $u_8 = 0.9\ U/L$ ，生化分析仪的相对标准不确定度： $u_{rel(8)} = 0.013$ 。

2.2 合成相对标准不确定度及扩展不确定度

2.2.1 合成相对标准不确定度 8 个分量的合成相对标准不确定度 $u_{rel(c)}$ 为各分量相对不确定度的平方和，见表 1，经计算 $u_{rel(c)} = 3.15\%$ 。

表 1 ALT 测量不确定度分量汇总表

不确定度分量	标准 不确定度	概率分布	相对 标准不确定度方法	评定
定标液吸光度测定	3.28×10^{-4}	正态分布	0.005	A 类
标本吸光度测定	3.12×10^{-4}	正态分布	0.011	A 类
校准品自身	0.462 U/L	正态分布	0.005	B 类
校准品 ALT 活性浓度	2.15 U/L	正态分布	0.025	B 类
刻度吸管校准	0.010 mL	三角形分布	0.003	B 类
刻度吸管重复性	0.013 mL	正态分布	0.004	B 类
实验室环境温度	0.002 mL	矩形分布	0.001	B 类
设备校准	0.9 U/L	正态分布	0.013	B 类

2.2.2 扩展不确定度 献血者血浆 ALT 检测结果为 52.5 U/L，取 95% 置信区间，包含因子 $k = 2$ ，则扩展不确定度 $U = 52.5\ U/L \times 3.15\% \times 2 = 3.31\ U/L$ 。

</

MUN 的抗 RV 抗体 IgG 检测试剂盒(酶联免疫吸附法)作为对照试剂。1 020 例临床研究样本采用自研试剂与对照试剂进行平行比对试验,以对照试剂结果为参考标准,待验证试剂盒与对照试剂盒检测临床样本结果阳性符合率达 100%(529/529);阴性符合率达 100%(491/491); $Kappa$ 指数为 1,为高度一致,认为两系统等效。定量结果在 6.4 IU/mL 之间的样本共 116 例。同时在待验证试剂和对照试剂线性范围内的定量检测结果(0~124.44 IU/mL),进行线性回归分析,线性回归方程为 $Y=0.977\ 8X+0.106\ 3$, $r=0.9973$ 。

3 讨 论

我国每年出生的新生儿中 2.5%有先天缺陷,除遗传因素外,其中孕妇感染 RV 是引起先天缺陷的主要病因之一^[5]。RV 感染所导致的危害度与孕龄相关,孕妇在妊娠 2 个月之内感染,婴儿先天性畸形的发生率为 11%~58%,在妊娠 2~3 个月感染发生率 7%~15%,在妊娠 3~4 个月内感染发生率小于 7%^[6]。血清 RV IgG 抗体水平提示是否曾经感染过 RV,或者是否注射过 RV 疫苗。对婚前育龄妇女进行 RV IgG 抗体筛查,抗体阴性,属易感染者,应予以 RV 活疫苗接种,3 个月或半年后抗体转为阳性后怀孕,这是预防 RV 感染孕妇,进而避免婴儿因母亲感染 RV 而发生 CRS 的一个重要手段^[7]。在一些发达国家已将 TORCH 感染的检测作为婚前、孕前和孕期的常规检测项目,而 CRS 在许多发展中国家是一个未被重视的公共卫生问题。风疹在我国存在暴发流行,对孕早期妇女的威胁普遍存在,同时也关系到 CRS 的发病率。制定有针对性、成功的免疫策略必须以监测数据为依据^[8]。我国已将 CRS 列入国家出生缺陷干预工程^[9]。本研究采用了 TrFIA 技术研制了 RV IgG 定量测定试剂盒,其具有灵敏度高、特异性强、线性范围宽、本底噪音低等优点,试剂盒溯源至 WHO 标准品(NIBSC code: 67/182, 80 IU/瓶)。近年黄杰等^[7]研制了 RV IgG 抗体国家参考品,为 RV IgG 检测试剂盒

评价和临床实验室质量评价提供了质量控制品。连续三批自研试剂盒检测此国家参考品,能达到国家检定标准的要求。通过临床研究比对试验,自研试剂盒与对照试剂盒的检测结果具有等效性。TrFIA 法 RV IgG 定量测定试剂盒的研制,将为临床 RV 的检测提供一个科学的、可靠的诊断依据。

参考文献

[1] WHO. Accelerated control of rubella and prevention of congenital rubella syndrome,WHO Region of the Americas[J]. Wkly Epidemiol Rec,2003,78(8):50-54.

[2] 彭杰雄,林连成,黄涛.风疹病毒实验室检测技术研究进展[J]. 职业与健康,2010,26(17):2016-2019.

[3] 张括,王露楠.定性免疫测定的试剂性能评价方法[J]. 中华检验医学杂志,2010,33(9):893-896.

[4] WHO. Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella virus infection [M]. 2nd ed. Geneva,Switzerland:WHO Document Production Services,2007:1-10.

[5] 邓文,姜敏,张璇,等.风疹病毒 IgG 抗体 ELISA 诊断试剂的研制[J]. 中华腹部疾病杂志,2004,4(6):403-405.

[6] Leuridan E, Van Damme P. Passive transmission and persistence of naturally acquired or vaccine-induced maternal antibodies against measles in newborns [J]. Vaccine, 2007, 25 (34): 6296-6304.

[7] 黄杰,刘志远,孙彬裕,等.风疹病毒 IgG 抗体参考品的建立[J]. 药物分析杂志,2013,33(3):493-497.

[8] 张颖.先天性风疹综合征发病与监测研究现状及进展[J]. 医学综述,2007,13(5):394-395.

[9] 封玥,姜海燕,高锦声.先天性风疹综合征分子生物学研究新进展[J]. 国外医学:遗传学分册,2004,27(4):224-227.

(收稿日期:2013-11-20)

(上接第 471 页)

生产厂家对产品的质量控制水平,因此在选择检验程序和使用前性能评价时,应选择测量不确定度较小的检测程序,且其性能应满足实验室预先设定的不确定度要求,确保检验程序准确性。医学