

肌酐在不同检测系统间的测量不确定度和可比性研究*

李有强^{1,2}, 张云燕³, 陈 茶¹, 张 轩¹, 曾建明¹, 刘健平¹, 徐建华^{1△}

(1. 广东省中医院检验医学部, 广州 510006; 2. 广州中医药大学第二临床医学院, 广州 510405; 3. 广东省广州市妇女儿童医疗中心口腔科 501180)

[摘要] **目的** 评定不同检测系统间肌酐测定结果的测量不确定度和量值溯源, 探讨不同检测系统肌酐测定结果的可比性, 为实验室检验结果互认和实验室认可提供实验数据。**方法** 以国家有证参考物质作为“正确性质控物”, 参考 NATA 颁布的“化学测量结果不确定度评定与报告导则”, 对不同检测系统肌酐测定结果的测量不确定度进行评定, 将结果溯源至国家有证参考物质。根据 CLSI 的 EP9-A2 文件, 对不同检测系统肌酐测定结果进行偏差评估和对比分析, 以检测系统偏倚的不确定度(Ub) 作为判断依据, 将 $t(0.05, \nu)Ub$ 作为临床可接受的判断标准, 评定肌酐在不同检测系统测定结果的可比性。**结果** 3 个检测系统测定肌酐国家参考物质所测均值均不同, 检测系统 A、B 和 C 分别为 61.72 mol/L、62.59 mol/L 和 61.54 mol/L。3 个检测系统间的偏倚差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 3 个检测系统肌酐测定结果的扩展不确定度亦不相同, 但均在卫生部临床检验中心室间质评规定的最大允许范围之内。3 个检测系统用新鲜血清标本进行两两两两比较显示测定结果间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 结果具有可比性。**结论** 肌酐在不同检测系统进行检验结果的互认时, 应测定各检测系统的测量不确定度和量值溯源, 并对不同检测系统间测定结果进行偏差评估, 判断其临床可接受性, 以保证检验结果的准确性和可比性。

[关键词] 肌酐; 测量不确定度; 量值溯源; 实验室技术和方法**[中图分类号]** R446.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)17-2398-03**The study of measurement uncertainty and traceability on the results of different detecting system in creatinine assay***Li Youqiang^{1,2}, Zhang Yunyan³, Chen Cha¹, Zhang Xuan¹, Zeng Jianming¹, Liu Jianping¹, Xu Jianhua^{1△}

(1. Department of Laboratory Medicine, Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 2. The Second Clinical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 3. Department of Stomatology, Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou, Guangdong 501180, China)

[Abstract] **Objective** To study the measurement uncertainty and traceability of creatinine assay and study the comparability of results among three different detection systems. **Methods** Three different detecting systems were used to detect creatinine concentration using the national certified reference material as "quality control substance". The measurement uncertainty of the results was evaluated referring "Guidelines for estimating and reporting measurement uncertainty of chemical test results" of NATA. The results were traced back to national certified reference material. According to the CLSI document EP9-A2, the results were analyzed by bias estimation with the $t(0.05, \nu) Ub$ as the clinical criterions, and investigated the comparability in different detecting systems. **Results** The means measured by three creatinine assay systems were 61.72 mol/L, 62.59 mol/L and 61.54 mol/L, respectively. The bias in the three detection systems did not have statistical significance ($P > 0.05$). The expanded uncertainty of three detection systems was different, but the difference was within the maximum acceptable range of the external quality assessment from National Center for Clinical Laboratory. There was not statistical significant difference among the three systems ($P < 0.05$) used fresh clinical specimen in comparing system bias. **Conclusion** It is necessary to estimate the uncertainty and traceability when comparing the creatinine concentration among different detection system. It also needs to estimate the bias of different systems and evaluate the clinical acceptability to ensure the accuracy and comparability of results.

[Key words] creatinine; measurement uncertainty; traceability; laboratory techniques and procedures

肌酐浓度是评价肾小球滤过率(GFR)的有效指标^[1-3], 临床实验室检测其浓度的方法有湿化学的苦味酸法、肌氨酸氧化酶法和干化学的肌氨酸氧化酶法^[4-7]。相同检测项目在不同检测系统间结果的互认是检验医学一致化和标准化的目标, 也是医学实验室认可和循证检验医学的要求^[8]。量值溯源是医学实验室在定量测量中通过不同级别的参考测量程序、参考物质和校准物实现的连续测量, 可确保不同检测系统间的正确

度^[9-10]。检测结果只有直接或间接地溯源到参考物质或参考测量程序, 才能实现检验结果的互认。

测量不确定度用以表示被测量值的分散性, 是量值溯源的基础。2009 年 NATA 修订并颁布了“化学测量结果不确定度评定与报告导则”^[11]。本研究参考该导则对肌酐在不同检测系统间测定结果的测量不确定度进行评定, 并将肌酐测量结果溯源至国家有证参考物质。进一步根据 CLSI 的 EP9-A2 文

* 基金项目: 国家中医药行业专项(201007005); 广东省中医院拔尖人才项目(2014-47); 广州中医药大学优秀青年基金项目(KAB11133K02)。 作者简介: 李有强(1982-), 主管技师, 硕士, 主要从事临床生化检验和临床免疫检验。 △ 通讯作者, Tel: 020-87351238; E-mail: jhXu1976@126.com。

件,对不同检测系统间肌酐的测定结果进行比对分析和偏差评估,验证溯源的有效性,为实现肌酐在不同检测系统间的可比性和互认提供实验依据。

1 材料与与方法

1.1 材料 国家有证参考物质购自中国卫生部临床检验中心,标准品编号:NCCL-RM5。其肌酐定值为 61.9 μmol/L,扩展不确定度为 ±1.2 μmol/L。

1.2 仪器与试剂 检测系统组成:根据所使用的仪器、试剂、校准品的不同分为 3 个检测系统,统一采用国家有证参考物质作为“正确性质控物”。各检测系统的组成如下。(1)检测系统 A:日本日立公司 7180 全自动生化分析仪,德国罗氏公司肌酐苦味酸法试剂、罗氏 C. fas 校准品和美国伯乐公司中、高值常规化学质控品;(2)检测系统 B:美国强生公司 Vitro 350 干化学分析仪,美国强生公司肌氨酸氧化酶法试剂、强生 Kit 1 校准品和美国伯乐公司中、高值常规化学质控品;(3)检测系统 C:日本日立公司 7180 全自动生化分析仪,德国罗氏公司肌酐肌氨酸氧化酶法试剂、罗氏 C. fas 校准品和美国伯乐公司中、高值常规化学质控品。

1.3 方法

1.3.1 量值溯源与测量不确定度评定 (1)国家有证参考物质的测定:以血清为基质的卫生部有证参考物质作为“正确性质控物”,在上述 3 个检测系统室内质控在控情况下,随同日常工作每批次盲测。统计 30 次盲测结果的均值(\bar{x})、标准差(s)和变异系数(CV)。(2)偏倚的计算: $b = \bar{y} - y_{exp}$, y_{exp} 为国家参考物质的标准定值。(3)偏倚的不确定度评定: $U_b = \sqrt{U_y^2 + U_{y_{exp}}^2}$,在本研究中 U_y 为国家有证参考物质的测量均值不确定度, $U_y = s/\sqrt{n}$ ($n=30$); $U_{y_{exp}}$ 为国家有证参考物质定值的不确定度。(4)偏倚的显著性检验:查 t 值表,将 $|b|$ 值与 $t(0.05, \nu) U_b$ 作比较,若 $|b| > t(0.05, \nu) U_b$ 则表明偏倚具有统计学意义 ($P < 0.05$),实验室需用偏倚来校正其检测结果,小于则表明偏倚无统计学意义。(5)合成标准不确定度与扩展不确定度的确定:检测系统的测量不确定度与方法学的精密度和偏倚相关,合成不确定度 $U_c = \sqrt{CV^2 + U_b^2}$; 扩展不确定度 $U_{0.95} = 2U_c$ 。

1.3.2 量值溯源有效性的验证 (1)比较检测系统间肌酐测定结果:按 EP9-A2 方案 3 个检测系统每天都收集患者新鲜标本 8 份,连续收集检测 5 d,每份标本按不同顺序分别检测 2 次计算其均值。新鲜血清标本浓度尽量覆盖整个检测范围,采用成组设计的方差分析对检测结果进行比较分析。(2)计算检测系统间测定结果的偏差($b_1 - b_2$):将不同检测系统间的患者数据作两两相关与回归分析,得出线性回归方程 $Y = aX + b$,将肌酐线性范围内的 3 个医学决定水平浓度 $X_c = 50$ mol/L、 $X_c = 140$ mol/L、 $X_c = 530$ mol/L 分别代入回归方程得到相应浓度水平 Y_c ,计算检测系统 X 与检测系统 Y 测定结果的偏差: $|b_1 - b_2| = |Y_c - X_c|$ 。由于回归方程是线性方程,根据 $|b_1 - b_2| = |Y_c - X_c|$ 可以推断 $|b_1 - b_2|$ 最大值总会出现在线

性范围上限或下限。(3)不同检测系统间测定结果偏差的临床可接受性判断:以检测系统偏倚的不确定度 U_b 作为理论依据,将 $t(0.05, \nu) \sqrt{U_{b_1}^2 + U_{b_2}^2}$ 作为临床可接受的判断标准 ($\nu = n_1 + n_2 - 2, n_1 = n_2 = 40$; U_{b_1} 、 U_{b_2} 为接受比较的 2 个检测系统各自偏倚的不确定度)。查 t 界值表,将 $|b_1 - b_2|$ 值与 $t(0.05, \nu) \sqrt{U_{b_1}^2 + U_{b_2}^2}$ 作比较,若 $|b_1 - b_2|$ 小于 $t(0.05, \nu) \sqrt{U_{b_1}^2 + U_{b_2}^2}$ 则表明 2 个检测系统间测定结果偏差无统计学意义,则认为 2 个检测系统间测定结果的偏差临床可以接受,测定结果具有可比性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS12.0 软件进行数据统计学处理。检测系统偏倚的显著性检验采用 t 检验;3 个检测系统肌酐测定数据采用成组设计的方差分析,差异有统计学意义则用 q 检验进行组间两两比较;2 个检测系统间偏差的显著性检验采用 t 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同检测系统测定肌酐方法学参数与不确定度评定 结果显示 3 个不同检测系统测定国家参考物质的均值(\bar{y})不同,3 个不同检测系统的扩展不确定度也不同,但检测系统 A、B、C 的偏倚差异无统计学意义 ($P > 0.05$);均在卫生部临床检验中心室内质量评价规定的最大允许范围 (± 0.15) 之内。见表 1。

表 1 不同检测系统测定肌酐方法学参数与不确定度比较

检测系统	\bar{y}	CV	y_{exp}	b	U_b	U_c	$U_{0.95}$	$t(0.05, 29) U_b$
A	61.72	2.57	61.9	-0.18	0.34	2.59	5.18	0.70
B	62.59	2.98	61.9	0.59	0.68	3.06	6.12	1.39
C	61.54	1.74	61.9	-0.36	0.41	1.79	3.58	0.74

$t(0.05, 29) = 2.045$ 。

2.2 不同检测系统肌酐测定结果的比较 量值溯源后,检测系统 A、B、C 肌酐测定结果分别为 (212.1 ± 188.7)、(215.8 ± 193.9)、(210.5 ± 185.5) mol/L。经方差分析,不同检测系统间肌酐测定结果的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$);两两比较显示:检测系统 A 与检测系统 B、检测系统 B 与检测系统 C、检测系统 C 与检测系统 A 的测定结果差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 不同检测系统肌酐的相关性分析与可比性评价 将各检测系统进行两两相关与回归分析,结果见表 3。各检测系统间的相关系数均大于 0.975,表明回归统计的斜线和截距可靠,可以用他们去估计不同检测系统间的偏差;将线性范围的两个方法学决定水平浓度 $X_c = 50$ mol/L、 $X_c = 140$ mol/L、 $X_c = 530$ mol/L 分别代入各自相应的回归方程,计算线性范围两个水平浓度的偏差;将 $|b_1 - b_2|$ 与 $t(0.05, \nu) \sqrt{U_{b_1}^2 + U_{b_2}^2}$ 作比较,结果显示任意两个检测系统间的偏差均无统计学意义 ($P > 0.05$),表明经溯源后 3 个检测系统中任意 2 个检测系统间肌酐测定结果的偏倚均可接受,检测结果具有可比性。

表 2 不同检测系统间肌酐测定结果的相关性分析与可接受性评价

检测系统	回归方程	r^2	$ b_1 - b_2 $			$t(0.05, 78)$	P
			$X_c = 50$	$X_c = 140$	$X_c = 530$		
A 和 B	$Y = 1.027X - 2.074$	0.999 3	0.53	0.26	0.92	1.51	> 0.05
A 和 C	$Y = 0.9827X + 2.0946$	0.999 5	0.27	0.09	0.69	1.05	> 0.05
B 和 C	$Y = 0.9563X + 4.194$	0.999 1	0.21	0.12	0.27	1.58	> 0.05

3 讨 论

不同检测系统中同一检验项目检验结果的可比性是实现检验结果互认的基础,也是临床生化检验一致化和标准化的目标^[12-13]。目前,临床实验室检测肌酐的方法主要有湿化学的苦味酸法、肌氨酸氧化酶法和干化学的肌氨酸氧化酶法。国内外市场上不同试剂厂商生产的肌酐试剂盒虽然有进行量值溯源,但溯源的参考物质来源不尽相同,不同肌酐检测方法间的原理也不尽相同,易导致不同检测系统测定结果的差异。在本实验中,检测系统 A 和 B 均是溯源至 ID-MS,检测系统 C 溯源至 NIST 的 SRM@914a。

“测量不确定度”用以表征地赋予被测量值的分散性,是建立量值溯源的基础。NATA 于 2009 年修订颁布的“导则”指出合理评价测量不确定度是确保检测结果溯源至国际或国家标准,实现不同实验室或不同检测系统间检测结果可比的方式。“导则”提出根据实验室内或/和实验室间的偏倚与精密度评定测量不确定度的方法,并对存在统计学意义的偏倚进行校正。“导则”将测量不确定度评定与测定结果的量值溯源联系在一起,为检验结果的可比性奠定了基础,具有较好的操作性和实践指导意义。沈伟锋等^[12]采用卫生部临检中心研制的国家参考物质作为不同检测系统间共同的“正确性质控物质”,研究了不同检测系统间检测 HBV-DNA 的测量不确定度和溯源性,具有一定的借鉴意义。

结果的准确度与正确度和精密度两者有关^[13]。溯源性解决的是测量结果的准确度问题,用偏倚表示,而方法学比对实验是确定、验证、或传递定值的手段。临床常规实验室通过量值溯源求得偏倚的方法是通过与参考方法或参考物质相比较。本研究将检测系统溯源至国家有证参考物质后,利用方法比较实验对溯源的有效性进行了验证。成组设计资料的方差分析表明,不同检测系统肌酐测定结果的差异有统计学意义,说明肌酐在不同检测系统间的偏倚在临床可接受范围内。NATA 的“导则”认为如果不同检测系统间的偏倚差异有统计学意义,则需依据检测系统偏倚的测量不确定度,通过系统校正等手段,将系统偏倚控制在可接受范围内。

本研究在量值溯源的有效性验证时,3 个检测系统间两两比较的 r 均大于 0.975,说明回归分析的斜率和截距可靠。由于回归方程是线性方程,根据 $|b_1 - b_2| = |YC - XC|$ 可以推断,计算 2 个检测系统的偏差时, $|b_1 - b_2|$ 最大值总会出现在线性范围上限或下限。因此作者将线性范围肌酐的 3 个医学决定水平浓度分别代入各自的回归方程,计算相应的相对偏差。目前国内外尚没有临床可接受的统一判断标准,国内通常以 $1/2 CLIA'88$ 允许总误差为临床可接受性能的判断标准,但上述标准尚缺乏足够理论依据。因为它没有充分考虑不同检测系统的方法性能差异(如精密度、偏倚和偏倚的测量不确定度等)^[14]。本研究通过检测国家有证参考物质,统计不同检测系统的偏倚大小以及评定检测系统偏倚的不确定度。以 2 个

检测系 U_b 为依据,将 $t(0.05, \nu)$ 作为 2 个检测系统间测定结果偏差的临床可接受性能的判断标准。该方法理论依据充分,对具备有证参考物质的检验项目,临床应用可行性和可操作性较强,可供同行参考与推广。

参考文献

- [1] Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and creatinine metabolism[J]. *Physiol Rev*, 2000, 80(3): 1107-1213.
- [2] Levey AS, Coresh J, Greene T, et al. Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values[J]. *Clin Chem*, 2007, 53(4): 766-772.
- [3] Herget-Rosenthal S, Bökenkamp A, Hofmann W. How to estimate GFR-serum creatinine, serum cystatin C or equations[J]. *Clin Bioc*, 2007, 40(3): 153-161.
- [4] 程武, 连国军. 血清肌酐测定方法学进展及其评价[J]. *中国保健*, 2009, (15): 562-565.
- [5] Myers GL. Standardization of serum creatinine measurement: theory and practice[J]. *Scan J Clin Lab Inve*, 2008, 68(S241): 57-63.
- [6] Peake M, Whiting M. Measurement of serum creatinine-current status and future goals[J]. *Clin Bioc Rev*, 2006, 27(4): 173-184.
- [7] Greenberg N, Roberts WL, Bachmann LM, et al. Specificity characteristics of 7 commercial creatinine measurement procedures by enzymatic and Jaffe method principles[J]. *Clin Chem*, 2011, 58(2): 1-12.
- [8] 瞿良, 朱玉琨, 王惠莹. 循证检验医学在现代临床检验工作中的应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(9): 857-857.
- [9] 陈文祥. 临床检验量值溯源与参考系统[J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(1): 17-19.
- [10] 陈文祥, 申子瑜, 王抒, 等. 临床检验的量值溯源问题[J]. *中华检验医学杂志*, 2003, 26(3): 153-158.
- [11] 闫国超, 武艳, 冯英海, 等. 临床生化项目结果互认前的准备及改进措施[J]. *中国实验诊断学*, 2006, 10(8): 926-928.
- [12] 沈伟锋, 范骏, 邵平扬, 等. 不同检测系统 HBV DNA 测定结果的不确定度评定与溯源性研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2011, 34(3): 271-275.
- [13] 陈文祥, 申子瑜, 郭健, 等. 临床检验量值溯源中的重要术语与概念及有关问题[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(2): 142-146.

(收稿日期: 2015-01-08 修回日期: 2015-03-26)

2015 年本刊投稿须知

尊敬的广大读者,本刊一律接受网上投稿,不再接受纸质和电子邮箱投稿!请您直接登录网站 <http://cqyx.journalserv.com/> 进行注册投稿以及稿件查询。咨询电话:023-63604477。

来稿须将审稿费 100 元通过邮局或支付宝汇至本刊编辑部,编辑部若未收到审稿费,稿件将不予处理。

感谢您对本刊工作的支持!