



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1709—2020

体外诊断试剂用校准物测量不确定度评定

Evaluation of measurement uncertainty of calibrators for in vitro diagnostic kits

2020-06-30 发布

2021-12-01 实施

国家药品监督管理局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家药品监督管理局提出。

本标准由全国医用临床检验实验室和体外诊断系统标准化技术委员会(SAC/TC 136)归口。

本标准起草单位:北京市医疗器械检验所、北京利德曼生化股份有限公司、中生北控生物科技股份有限公司、贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司、希森美康医用电子(上海)有限公司、上海复星长征医学科学有限公司、四川新健康成生物股份有限公司。

本标准主要起草人:康娟、刘春龙、蒋琳、崔骏、苏静、金惠红、杨溢。

体外诊断试剂用校准物测量不确定度评定

1 范围

本标准规定了体外诊断试剂用校准物测量不确定度的评定方法。
本标准适用于体外诊断定量试剂用产品校准品测量不确定度的评定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 21415 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准物和控制物质赋值的计量学溯源性

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

产品校准物(品) product calibrator

校准物(品) calibrator

预期用于制造商最终产品的校准品。

注:这里产品校准品包含制造商内部用于最终产品校准的校准品,该校准品的校准信息将通过电子载体等方式传递到临床样本的测量。

3.2

工作校准物(品) working calibrator

主校准物(品) master calibrator

用于制造商常设测量程序校准的测量标准。

3.3

计量学溯源性 metrological traceability

通过文件规定的不间断的校准链将测量结果与参照联系起来特性,每次校准均会引入测量不确定度。

[GB/T 29791.1—2013,定义 3.48]

3.4

测量不确定度 measurement uncertainty

不确定度 uncertainty

根据所用信息,表征赋予被测量量值分散性的非负参数。

[GB/T 29791.1—2013,定义 A.3.35]

3.5

目标不确定度 target uncertainty

最大允许测量不确定度 maximum allowable measurement uncertainty

根据测量结果的预期用途确定的测量不确定度规定上限。

3.6

测量精密度 precision of measurement

在规定条件下,相互独立的测量结果间的一致程度。

注 1: 测量精密度不能给出被测量的数值,在指定目的下只能以“足够”或“不足”进行描述。

注 2: 精密度的程度通常用与精密度相反的测量不精密度统计量表示,如标准差和变异系数。

注 3: 给定测量程序的“精密度”可以根据特定的精密度条件进行分类。“重复性”与基本不变的条件有关,常称为“序列内精密度”和“批内精密度”。“重现性”与条件改变有关,如:时间、不同实验室、不同操作者和不同测量系统(包括不同校准和试剂批号)下的精密度。

[GB/T 21415—2008,定义 3.23]

3.7

标准测量不确定度 standard measurement uncertainty

标准不确定度 standard uncertainty

以标准偏差表示的测量不确定度。

[JJF 1001—2011,定义 5.19]

3.8

相对标准测量不确定度 relative standard measurement uncertainty

相对标准不确定度 relative standard uncertainty

标准不确定度除以测得值的绝对值。

[JJF 1001—2011,定义 5.23]

3.9

合成标准测量不确定度 combined standard measurement uncertainty

合成标准不确定度 combined standard uncertainty

由在一个测量模型中各输入量的标准测量不确定度获得的输出量的标准测量不确定度。

[JJF 1001—2011,定义 5.22]

3.10

扩展测量不确定度 expanded measurement uncertainty

扩展不确定度 expanded uncertainty

合成标准不确定度与一个大于 1 的数字因子的乘积。

注:“因子”指包含因子。

[JJF 1001—2011,定义 5.27]

3.11

包含概率 coverage probability

在规定的包含区间内包含被测量的一组值的概率。

[JJF 1001—2011,定义 5.29]

3.12

包含因子 coverage factor

为获得扩展不确定度,对合成标准不确定度所乘的大于 1 的数。

[JJF 1001—2011,定义 5.30]

4 评定过程

4.1 总则

4.1.1 基本流程

依据图 1 所示流程评定体外诊断校准品的测量不确定度。

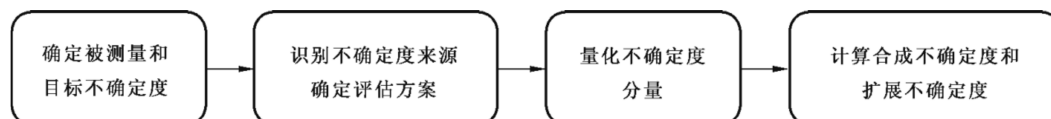


图 1 体外诊断校准品不确定度评定流程图

4.1.2 被测量和目标不确定度

制造商应明确被测量,包括量在特定医学决定中的预期用途、生物样品基质和任何有关被分析组分、量的类型和计量单位,这些直接关系到校准品的制备和计量溯源链的建立。并且,制造商应基于临床应用要求、技术能力和商业成本建立校准品的目标不确定度 u_d ,通过选择合适的制备工艺和科学的定值方法,来尽可能减小或消除引起不确定度的影响因素,将不确定度控制在目标不确定度范围内。

注:一般来讲,校准品的目标不确定度 u_d 不超过对病人样品结果的最大允许测量不确定度 u_{max} 的 50%。本标准中 u_d 和 u_{max} 均为标准不确定度,可依次依据检验质量对临床应用后果的影响、检验项目的生物学变异和目前检验技术水平等考虑 u_{max} 。另外,目前已有相关行业标准、临床指南、专家共识或意见等对部分检验项目的分析性能提出建议。

4.1.3 不确定度来源

体外诊断试剂用校准品测量不确定度来源见图 2。均匀性和稳定性引入的测量不确定度,及与定值过程有关的不确定度共同构成校准品测量不确定度的主要分量。

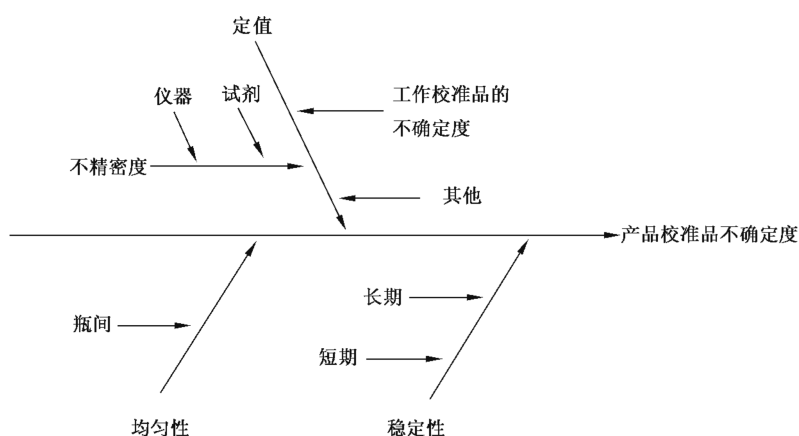


图 2 体外诊断试剂用校准品测量不确定度来源因果图

4.1.4 不确定度评定策略

本标准所提方案非限制性方案,校准品不确定度评定可采用其他合理方案,也可对本标准方案做合

理修改或补充,但都应结合具体产品全面评价各不确定度要素,采用规范的评定过程和科学的统计方法,保留数据记录和计算过程,保证校准品赋值及其不确定度满足临床需求。

4.2 均匀性引入的测量不确定度 u_{bb}

4.2.1 通则

体外诊断试剂用产品校准品通常成批生产,批内瓶间均匀性引入的测量不确定度 u_{bb} 构成校准品不确定度的重要分量。

注:由于体外诊断试剂用校准品为溶液(或在使用前复融/复溶为溶液),且取样后不能被多次测试,难以对瓶内均匀性进行准确评估,所以瓶内均匀性引入的测量不确定度 u_{bb} 往往被忽略,必要时可以用测试方法的重复性标准偏差 s_r 来估计。

如产品校准品存在 2 个以上浓度时,需要对每个浓度的校准品进行均匀性检验(零浓度校准品除外)。

如产品校准品中含有多个测试项目,需要分别评估每个测试项目的瓶间均匀性,除非 2 个项目之间有明确的分布关系。

4.2.2 测试方案

4.2.2.1 测试方法

测试方法宜满足如下要求:

- 可以采用为产品校准品定值的制造商常设测量程序或其他测量程序,并在重复性条件下完成测试。
- 可报告浓度范围应覆盖产品校准品的预期浓度。如产品校准品的预期浓度高于测试系统的浓度范围,可以在严格规定的试验条件下采用称量方式对产品校准品进行准确稀释,并保证该稀释不会改变校准品的互换性从而影响均匀性测试结果。
- 方法精密度应能反映出瓶间差异,且不劣于定值方法的精密度,理想条件下 $s_r \leq \frac{u_d}{3}$, 其中 s_r 为测试方法的重复性标准偏差, u_d 为校准品的目标标准不确定度。
- 应规定能够保证均匀性的最小取样量,建议不高于校准配套试剂盒时的取样量。

注:如校准品稀释后再用于校准配套试剂盒,则均匀性测试的最小取样量不高于稀释操作中的样本最小取样量(梯度稀释取首次稀释操作的最小取样量)。

4.2.2.2 抽样

按照随机分层方式抽取最小包装单元的校准品用于均匀性检验,对抽取样品依次编号,如 1、2、…、15。考虑到体外诊断试剂用校准品为溶液(或在使用前被复融/复溶为溶液),均匀性较好,抽取 $\text{MAX}(10, \sqrt[3]{N_{\text{prod}}})$ 个包装(N_{prod} 为批生产量)。对于均匀性差的测试项目或重复性欠佳的均匀性测试方法,可适当加大样本抽取量,如 $2\sqrt[3]{N_{\text{prod}}}$ 或 $3\sqrt[3]{N_{\text{prod}}}$ 。如 $N_{\text{prod}} \leq 100$, 抽取 $\text{MAX}(3, 10\% N_{\text{prod}})$ 个包装,并适当增加每个包装单元的重复测定次数。

4.2.2.3 测试

每个包装单元分别测量至少 3 次。考虑测量系统随时间等因素引起的波动,3 次测量之间需要颠倒样品的顺序,例如 1-3-5-7-9-11-13-15-2-4-6-8-10-12-14-15-14-13-12-11-10-9-8-7-6-5-4-3-2-1-2-4-6-8-10-12-14-1-3-5-7-9-11-13-15。

4.2.3 结果统计

检查试验数据,非技术操作原因不得剔除试验数据。

以瓶号为变量进行 4.3.3 中的 t 检验趋势分析,确认瓶间不存在显著性趋势,可以进行批定值;否则需要重新设计分装程序以有效消除这种趋势。

在此基础上采用单因素方差分析法进行均匀性统计。假设抽取 m 瓶校准品测试,按式(1)~式(10)计算各统计量。

$$\bar{x}_i = \frac{\sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}}{n_i} \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^m \bar{x}_i}{m} \quad \dots\dots\dots (2)$$

$$N = \sum_{i=1}^m n_i \quad \dots\dots\dots (3)$$

$$SS_{bb} = \sum_{i=1}^m n_i (\bar{x}_i - \bar{X})^2 \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$SS_{wb} = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 \quad \dots\dots\dots (5)$$

$$v_{bb} = m - 1 \quad \dots\dots\dots (6)$$

$$v_{wb} = N - m \quad \dots\dots\dots (7)$$

$$MS_{bb} = \frac{SS_{bb}}{v_{bb}} \quad \dots\dots\dots (8)$$

$$MS_{wb} = \frac{SS_{wb}}{v_{wb}} \quad \dots\dots\dots (9)$$

$$F = \frac{MS_{bb}}{MS_{wb}} \quad \dots\dots\dots (10)$$

式中:

x_{ij} ——瓶 i 的第 j 次测试结果;

n_i ——瓶 i 重复测试次数(通常每瓶重复测试次数 n_i 均相同,记作 n);

\bar{x}_i ——瓶 i 的测试均值;

\bar{X} —— m 瓶的总测试平均值;

N —— m 瓶的总测试次数;

SS_{bb} ——方差分析的瓶间离均差平方和;

SS_{wb} ——方差分析的瓶内离均差平方和;

v_{bb} ——瓶间自由度;

v_{wb} ——瓶内自由度;

MS_{bb} ——瓶间均方;

MS_{wb} ——瓶内均方;

F ——统计量。

如 $F \geq F_{0.05(v_{bb}, v_{wb})}$, 其中 $F_{0.05(v_{bb}, v_{wb})}$ 是置信度 0.05、自由度 (v_{bb}, v_{wb}) 的 F 分布变量,认为校准品瓶间均匀性较差,但如 $\sqrt{\frac{MS_{bb} - MS_{wb}}{n}} \leq \frac{u_d}{3}$, 可按式(11)计算瓶间不均匀性引入的不确定度分量,否则必须重新制备;如 $1 < F < F_{0.05(v_{bb}, v_{wb})}$, 认为校准品瓶间均匀性良好,按式(11)计算瓶间不均匀性引入的

确定度分量；如 $F \leq 1$ 或 $s_r > \frac{u_d}{3}$ ($s_r = \sqrt{MS_{wb}}$)，认为均匀性测试方法重复性较差，可选择重复性更好的方法重新评价，或者按式(12)计算瓶间不均匀性引入的不确定度分量。

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{bb} - MS_{wb}}{n}} \dots\dots\dots(11)$$

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{wb}}{n}} \cdot \sqrt{\frac{2}{u_{wb}}} \dots\dots\dots(12)$$

4.3 稳定性引入的测量不确定度 u_s

4.3.1 通则

校准品的稳定性包括长期稳定性和短期稳定性。长期稳定性是制造商规定条件下的贮存稳定性，短期稳定性包括运输稳定性和使用稳定性(如涉及多次取样)。一般长期稳定性引入的测量不确定度 u_{lts} 构成校准品不确定度的重要分量，短期稳定性引入的测量不确定度 u_{sts} 在不可忽略的情况下也应被考虑。

注：使用稳定性可以是开瓶稳定性、在机稳定性、复溶稳定性等。

如产品校准品存在 2 个以上浓度时，需要对每个浓度的校准品进行稳定性检验(零浓度校准品除外)。

如产品校准品中含有多个测试项目，需要分别评估每个测试项目的稳定性，除非 2 个项目之间有明确的分布关系。

4.3.2 测试方案

稳定性测试可选用“经典”方案或者“同步”方案设计。经典方案是将同时制备的样品放在预期保存条件下，随着时间的延续抽取部分样品进行测量，是在再现性条件下对样本稳定性进行实时跟踪测试。同步方案则分时抽取样本放到某参考条件下，认为此条件下可不考虑不稳定性的影响，到预期稳定时间后一起取出，在重复性条件下同时测量。具体选择视方法精密度和样本稳定特性来定。加速稳定性研究或从相似体外诊断试剂获得的经验，仅可考虑用于估计最初的失效期，不能替代实时稳定性测试。

可参照文献资料等经验结合使用需求初步确定校准品的预期稳定时效，按照先密后疏的原则在预期稳定时效的至少 5 个时间间隔内，随机抽取至少 2 个最小包装单元的校准品用于稳定性检验，每个包装单元分别测量 3 次。用于稳定性检验的测试系统可以选择与均匀性检验相同的测试系统，精密度不低于定值系统，并具有良好的灵敏度和稳定性。注意每次实验操作和实验条件的一致。

注：对于稳定性较差的校准品，适当增加监测频率；对于瓶间均匀性较差的校准品，增加每个时间点的抽取量；而对于精密度欠佳的测试系统，则可增加每个包装的测量次数。

4.3.3 结果统计

检查试验数据，非技术操作原因不得剔除试验数据。

采用 t 检验进行趋势的显著性分析。假设有 n 个时间点稳定性监测数据，以 X 代表时间点，以 Y 代表各时间点校准品的特征信号，以经验线性模型拟合，按式(13)~式(16)计算斜率 b_1 、截距 b_0 、直线的标准偏差 s 、斜率的不确定度 $s_{(b_1)}$ 。

$$b_1 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(\bar{Y}_i - \bar{Y})}{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \dots\dots\dots(13)$$

$$b_0 = \bar{Y} - b_1 \bar{X} \dots\dots\dots(14)$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{Y}_i - b_0 - b_1 X_i)^2}{n - 2}} \dots\dots\dots (15)$$

$$s(b_1) = \frac{s}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}} \dots\dots\dots (16)$$

式中：

X_i ——第 i 个时间点；

\bar{X} ——所有时间点的平均值；

\bar{Y}_i ——第 i 个时间点的测试结果的均值；

$\bar{\bar{Y}}$ ——所有时间点测试结果的总平均值。

如果 $|b_1| < t_{0.95, n-2} \cdot s(b_1)$ ，则斜率是不显著的，证明校准品的特性量值在该时间段内是稳定的；或者虽然 $|b_1| \geq t_{0.95, n-2} \cdot s(b_1)$ ，但 $t \cdot s(b_1) \leq \frac{u_d}{3}$ (t 为给定的保存期限) 时，可以认为校准品在该时间段内相对稳定。此时，按式(17)计算稳定性引起的不确定度分量。

$$u_s = t \cdot s(b_1) \dots\dots\dots (17)$$

否则，该校准品通常需要重新制备，或者相应缩短其有效期。

4.4 定值引入的测量不确定度 u_{char}

4.4.1 通则

产品校准品应按照 GB/T 21415 的规定建立溯源性，包括定义被测量、设计校准等级、保证溯源链各环节所用测量程序和测量标准的适用性。如图 3 所示，通常产品校准品通过严格规定的制造商常设测量程序溯源到制造商工作校准品，定值引入的测量不确定度 u_{char} 主要来自工作校准品和定值过程。

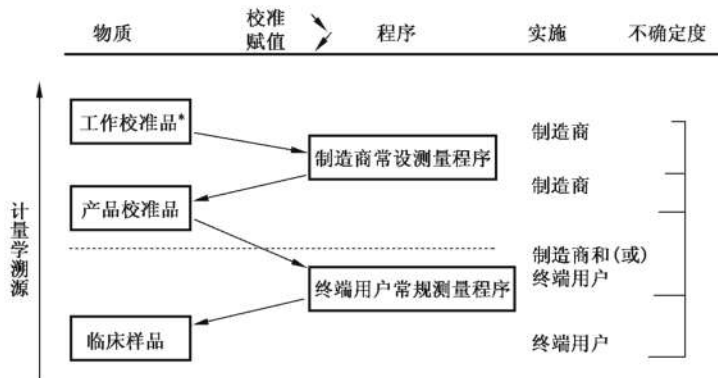


图 3 体外诊断试剂用校准品量值溯源示意图

* 这里工作校准品也可以是具有互换性的参考物质或者是参考测量程序赋值的人体样品组。

4.4.2 定值过程

体外诊断产品校准品定值通常采用如下步骤：

a) 测量系统检查

测量系统应足够精密、特异和稳定，这是建立和保证校准品定值溯源性的前提。通过室内质控和空间质评结果初步判断测量系统的性能；通过测定参考物质、正确度质控物、工作校准品，或方法学比对等一种或多种方式进一步确认测试系统的正确度；通过对一组样本多次测量确认测试系统的

精密度。

b) 赋值

采用工作校准品校准制造商常设测量程序,为产品校准品赋值。制造商常设测量程序应在严格控制的实验条件下操作,通过优化的试验设计保证常设测量程序的准确性,并进行多次测定,对所得到的数据进行技术和统计分析得到校准品的赋值。

c) 赋值确认

可依次选用方法学比对或测量参考物质等方法进行赋值确认。如偏倚结果超出制造商规定允许范围应首先检查赋值过程,如有仪器故障、人为操作等错误需及时纠正并重新赋值;否则需考虑方法特异性和校准物互换性问题,必要时可考虑对赋值进行修正。

4.4.3 定值引入的不确定度评定

4.4.3.1 工作校准品引入的相对不确定度 $u_{wcal,rel}$ 见式(18)

$$u_{wcal,rel} = \frac{U_{wcal}}{k \cdot C_{wcal}} \dots\dots\dots(18)$$

式中:

C_{wcal} ——工作校准品的定值;

U_{wcal} ——该定值的扩展不确定度;

k ——对应的包含因子。

注:工作校准品不确定度一般由均匀性、稳定性和定值过程引入的不确定度共同构成。工作校准品赋值方法多样,定值过程引入的不确定度包含了从量值溯源链顶端到工作校准品量值传递的所有步骤的贡献,均匀性和稳定性引入的不确定分量则可参照 4.2、4.3 规定的方法来评定。

4.4.3.2 测量不精密度引入的相对不确定度 $u_{REF,rel}$

假设校准品赋值中得到 m 组数据:

$x_{1(1)}, x_{1(2)}, \dots, x_{1(n_1)}$, 平均值 \bar{x}_1 , 单次测量的标准偏差为 s_1 ;

$x_{2(1)}, x_{2(2)}, \dots, x_{2(n_2)}$, 平均值 \bar{x}_2 , 单次测量的标准偏差为 s_2 ;

.....

$x_{m(1)}, x_{m(2)}, \dots, x_{m(n_m)}$, 平均值 \bar{x}_m , 单次测量的标准偏差为 s_m 。

有如下两种情形:

1) 单一实验室单一型号设备

当校准品赋值在单一实验室单一型号设备上完成时,通常可以认为这 m 组数据是等精度的。对这 m 组数据进行统计可疑值和界外值审查剔除后,按式(19)计算总平均值 $\bar{\bar{X}}$,按式(20)计算测量精密度引入的相对不确定度 $u_{REF,rel}$ 。

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}}{\sum_{i=1}^m n_i} \dots\dots\dots(19)$$

$$u_{REF,rel} = \frac{1}{\bar{\bar{X}}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{\bar{X}})^2}{\sum_{i=1}^m n_i (\sum_{i=1}^m n_i - 1)}} \dots\dots\dots(20)$$

2) 多型号设备和(或)多家实验室

当校准品赋值采用了多个型号设备或者由多个实验室共同完成,首先通过平均值一致性检验各组

数据之间有无系统偏差。有系统偏差或系统偏差超出制造商规定允许范围,则需要分别定值。如无系统偏差,且等精度测试证明各组数据等精度,可参照“1)单一实验室单一设备”计算测量精密度引入的不确定度;如不等精度,则按加权平均法统计,各自的权 W_i 正比于 $\frac{1}{(s_i/\sqrt{n_i})^2}$,总平均值 $\bar{\bar{X}}$ 和测量精密度引入的相对不确定度 $u_{\text{REP,rel}}$ 按式(21)和式(22)计算如下。

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\sum_{i=1}^m W_i \bar{x}_i}{\sum_{i=1}^m W_i} \dots\dots\dots(21)$$

$$u_{\text{REP,rel}} = \frac{1}{\bar{\bar{X}}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m W_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{X}})^2}{(m-1) \sum_{i=1}^m W_i}} \dots\dots\dots(22)$$

4.4.3.3 其他定值相关的相对不确定度 $u_{0,rel}$

某些情况下,存在其他定值相关的不确定度分量,如复溶引入的不确定度、测量模型的某些参数引入的不确定度、偏倚引入的不确定度、一致化公式引入的不确定度等,在不可忽略的情况下也应合成到定值引入的不确定度中。

4.4.3.4 定值引入的不确定度评定

按式(23)计算校准品定值引入的相对不确定度 $u_{\text{char,rel}}$ 。

$$u_{\text{char,rel}} = \sqrt{u_{\text{wcal,rel}}^2 + u_{\text{REP,rel}}^2 + u_{0,rel}^2} \dots\dots\dots(23)$$

注:至多一项小于最大相对不确定度分量的 1/3 的不确定度分量可考虑被忽略。

按式(24)计算校准品定值引入的标准不确定度 u_{char} 。

$$u_{\text{char}} = u_{\text{char,rel}} \cdot C \dots\dots\dots(24)$$

式中:

C——产品校准品赋值。

4.5 不确定度合成

按式(25)计算校准品的合成标准不确定度 u_c 。

$$u_c = \sqrt{u_{\text{char}}^2 + u_{\text{bb}}^2 + u_{\text{s}}^2} \dots\dots\dots(25)$$

注:至多一项小于最大不确定度分量的 1/3 的不确定度分量可考虑被忽略。

如均匀性测试方法、稳定性测试方法和定值方法不一致,要注意各测试结果的量值和量纲是否一致,如有差异需采用经过相对不确定度转化的绝对不确定度分量进行合成。

按式(26)计算校准品的扩展不确定度 U 。

$$U = u_c \cdot k \dots\dots\dots(26)$$

式中:

k ——包含因子,一般取 $k=2$ (包含概率约 95%)。

不确定度一般保留 1 位有效数字,最多只保留 2 位有效数字,采用只入不舍的规则。

注:对于评定过程中的各不确定度分量,可以适当保留多一些位数。

4.6 不确定度的报告和评价

用户需要时,制造商应向用户提供校准品赋值的不确定度,并能够提供各不确定度分量结果和不确定

定度的评定过程。

建议产品校准品不确定度以标准不确定度的形式“(赋值 $\pm u_c$ 的数字值)单位”报告。如以扩展不确定度的形式“(赋值 $\pm U$ 的数字值)单位”报告,需明确包含因子 k 的取值。

若校准品测量不确定度小于预先设定的目标不确定度,校准品定值的溯源性得以确认。否则,应分析查找原因,改进制备工艺或者测试系统,必要时改变溯源链,重新进行校准品赋值和不确定度评定。

5 换批校准品的不确定度

通常校准品换批需要重新评定不确定度。

如采用不确定度分量或者合成不确定度的历史批数据,需满足如下条件:

- a) 校准品特性量值变化在 $\pm 10\%$ 内;
- b) 关键原料来源和货号没有发生变化,且制备工艺没有改变;
- c) 校准品赋值系统(包括溯源链、工作校准品、设备和操作规程等)没有变化;
- d) 已有连续3批及以上校准品不确定度评估数据,显示合成标准不确定度的变异在制造商规定允许范围内。

如同时满足 a)和 b),可以引用历史批的稳定性不确定度分量,但仍应实时监测稳定性。制造商可积累多批的稳定性数据作为评定稳定性引入不确定度分量的基础。

如同时满足 a)~d),则可选择历史批的最大不确定度作为未来批次校准品的不确定度。制造商仍应定期验证该不确定度的有效性,保证满足目标不确定度的要求,并及时反映技术能力的变化。

附 录 A
(资料性附录)

均匀性引入的不确定度举例

均匀性引入的不确定度评定以××公司 C 反应蛋白(CRP)项目产品校准品举例。

A.1 方案

该 CRP 校准品水溶液基质,批生产量 2 213 支,按照分装顺序随机分层抽取 14 支。选用贝克曼 AU680 测试仪及配套试剂盒进行均匀性测试。在重复性条件下,每瓶测试 3 次,测试顺序 1-3-5-7-9-11-13-2-4-6-8-10-12-14-14-13-12-11-10-9-8-7-6-5-4-3-2-1-2-4-6-8-10-12-14-1-3-5-7-9-11-13。

A.2 检验结果

均匀性检验结果见表 A.1。

表 A.1 均匀性检验结果

单位:mg/dL

瓶号	第一次	第二次	第三次
1	6.98	7.22	7.23
2	7.36	7.24	7.10
3	7.18	7.00	6.95
4	7.03	7.25	7.12
5	6.94	7.06	7.07
6	7.16	7.18	7.00
7	7.13	7.31	7.32
8	7.23	7.15	7.23
9	7.35	7.19	7.21
10	7.26	7.22	7.05
11	6.94	7.11	7.18
12	7.27	7.10	7.06
13	7.02	7.14	7.33
14	7.21	6.99	7.04

A.3 结果统计

采用单因素方差分析,结果见表 A.2。

表 A.2 均匀性方差分析结果

差异源	SS	ν	MS	F	$F_{0.05}(\nu_{bb}, \nu_{wb})$
组间	0.211 440 476	13	0.016 264 652	1.280 68	2.088 93
组内	0.355 6	28	0.012 7		

F 值为 1.280 681, $1 < F < 2.088 929$, 校准品瓶间均匀性良好。

瓶间不均匀性引入的测量不确定度:

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{(MS_{bb} - MS_{wb})}{n}} = \sqrt{\frac{0.016\ 264\ 652 - 0.012\ 7}{3}} = 0.034\ 491\ 6$$

附 录 B
(资料性附录)

稳定性引入的不确定度举例

稳定性引入的不确定度评定以××公司促卵泡生成素(FSH)项目产品校准品举例。

B.1 方案

该校准品为冻干粉基质,2℃~8℃贮存,预期贮存稳定性较好。选用××公司测试系统的磁微粒化学发光法测试进行校准品长期稳定性和短期稳定性(包括运输稳定性和复溶稳定性)实验。

B.1.1 长期稳定性

校准品按照规定的2℃~8℃贮存,分别在0个、3个、6个、9个、12个、15个、18个月时各取出2瓶,每瓶测试3次。

B.1.2 运输稳定性

虽然采用冷链运输,但考虑到运输环境和时间的变动,考察了室温和37℃的运输稳定性。分别在0 d、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d和7 d时各取出2瓶到模拟温度下,在第7 d统一在重复性条件下测试,每瓶测试3次。

B.1.3 复溶稳定性

采用称重法复溶2瓶校准品,贮存于2℃~8℃,分别在0 d、1 d、2 d、3 d、4 d、5 d、6 d和7 d时取出测试,每瓶测试3次。

B.2 检验结果

结果见表B.1~表B.4。

表 B.1 长期稳定性检验结果

单位:mIU/mL

月	瓶 1			瓶 2		
	第一次	第二次	第三次	第一次	第二次	第三次
0	50.07	51.04	50.46	49.89	50.32	50.21
3	49.57	49.86	49.34	51.02	49.69	48.87
6	49.61	49.14	49.73	49.43	49.46	49.53
9	50.28	50.71	50.79	49.99	49.77	50.18
12	50.02	49.79	49.90	49.84	49.44	49.75
15	49.67	50.12	49.88	50.04	49.78	49.37
18	49.84	49.61	50.11	49.86	49.74	49.57

表 B.2 运输稳定性检验结果(室温)

单位:mIU/mL

天	瓶 1			瓶 2		
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 1 次	第 2 次	第 3 次
0	50.68	50.5	50.92	50.71	50.43	50.61
1	50.49	50.3	50.59	50.38	50.69	50.57
2	49.96	50.24	50.15	50.05	49.87	50.27
3	49.94	49.62	49.73	49.72	49.51	49.75
4	50.89	50.49	50.57	50.56	50.49	50.77
5	49.36	49.27	49.2	49.22	49.27	49.34
6	50.1	49.79	49.56	49.69	50.08	50.89
7	50.57	50.78	50.89	50.64	50.48	50.37

表 B.3 运输稳定性检验结果(37 ℃)

单位:mIU/mL

天	瓶 1			瓶 2		
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 1 次	第 2 次	第 3 次
0	50.58	50.94	50.72	50.63	50.9	50.8
1	50.67	50.46	50.98	50.38	50.49	50.78
2	50.21	50.32	50.13	50.24	50.36	50.04
3	49.87	49.69	50.19	49.83	49.67	50.06
4	49.59	49.68	49.38	50.57	49.48	49.68
5	50.24	50.36	50.13	50.14	49.25	49.34
6	49.08	50.79	50.98	50.87	50.19	50.78
7	50.83	50.46	50.62	50.6	50.58	50.79

表 B.4 复溶稳定性检验结果

单位:mIU/mL

天	瓶 1			瓶 2		
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 1 次	第 2 次	第 3 次
0	50.45	50.81	50.14	49.98	50.21	50.1
1	49.97	49.55	49.36	50.21	49.97	49.88
2	49.86	49.56	49.27	49.64	49.86	49.57
3	49.64	49.31	48.93	48.85	49.47	49.56
4	49.4	49.08	49.27	49.54	48.94	49.38
5	49.16	49.07	49.28	49.01	48.97	48.99
6	50.84	50.63	50.71	50.86	50.66	49.54
7	50.79	50.87	50.58	50.77	50.49	49.66

B.3 结果统计

结果统计见表 B.5。

表 B.5 稳定性结果统计

稳定性	b_1	b_0	s	$s_{(b_1)}$	$t_{0.05, n-2}$	$t_{0.05, n-2} \cdot s_{(b_1)}$
长期	-0.013 7	50.011 4	0.323 8	0.020 4	2.571	0.052 4
运输(室温)	-0.048 7	50.356 8	0.545 1	0.084 1	2.450	0.206 1
运输(37 ℃)	-0.033 0	50.393 6	0.431 0	0.066 5	2.450	0.162 9
复溶	0.043 3	49.653 6	0.631 9	0.097 5	2.450	0.238 9

可见 $|b_1| < t_{0.05, n-2} \cdot s_{(b_1)}$ ，证明校准品的特性量值在所考察的温度和时间段内是稳定的。由此引起的不确定度计算如下：

长期稳定性引入的不确定度 $u_{\text{ls}} = t \cdot s_{(b_1)} = 18 \times 0.020 4 = 0.367 2$

运输稳定性(室温)引入的不确定度 $u_{\text{sts2}} = t \cdot s_{(b_1)} = 7 \times 0.084 1 = 0.588 7$

运输稳定性(37 ℃)引入的不确定度 $u_{\text{sts2}} = t \cdot s_{(b_1)} = 7 \times 0.066 5 = 0.465 5$

复溶稳定性引入的不确定度 $u_{\text{sts3}} = t \cdot s_{(b_1)} = 7 \times 0.097 5 = 0.682 5$ 。

附 录 C
(资料性附录)

定值过程引入的不确定度评定举例

定值过程引入的不确定度评定以××公司总胆红素(TBiL)项目产品校准品的定值过程举例。

C.1 定值过程

以常设测量程序进行产品校准品定值。常设测量程序由贝克曼 AU5800 全自动生化分析仪及配套试剂组成的测试系统组成。经验证所用试剂盒批间差可忽略,赋值实验采用同一批试剂。用该公司工作校准品定标常设测量程序,抽取 2 个最小包装单元的产品校准品,每个单元在 2 台仪器上各重复测试 5 次,连续完成 5 d 的实验,每天的测试需重新定标,共得到 50 个测试数据,经分析得到产品校准品赋值。

使用新定值的产品校准品和常规测量程序组成测量系统,直接测试国家冰冻人血清总胆红素标准物质 GBW09184,与靶值进行比较进行赋值确认。

C.2 结果

具体赋值数据见表 C.1。对 5 d 的数据进行统计可疑值和界外值审查无需剔除数据,计算其总均值 \bar{X} 作为校准品的初步赋值。

表 C.1 校准品赋值原始数据

单位: $\mu\text{mol/L}$

测量日期	重复次数	瓶 1	瓶 2
第 1 d	1	176.80	177.27
	2	178.96	177.88
	3	177.25	181.06
	4	178.68	179.14
	5	179.45	178.30
第 2 d	1	180.71	181.20
	2	177.99	178.47
	3	179.91	180.27
	4	181.13	180.99
	5	176.86	179.67
第 3 d	1	181.42	181.44
	2	180.07	178.67
	3	181.37	180.27
	4	179.29	181.49
	5	180.22	180.34

表 C.1 (续)

单位: $\mu\text{mol/L}$

测量日期	重复次数	瓶 1	瓶 2
第 4 d	1	179.83	177.79
	2	179.90	180.92
	3	178.02	178.61
	4	179.02	180.09
	5	176.97	180.91
第 5 d	1	181.51	179.15
	2	178.86	177.09
	3	180.66	181.44
	4	182.34	182.61
	5	181.56	182.62

赋值确认结果见表 C.2, 测试均值为 $107.72 \mu\text{mol/L}$ 在标准物质靶值 $(108.1 \pm 2.0) \mu\text{mol/L}$ 范围内, 赋值有效。

表 C.2 偏倚测量数据表

单位: $\mu\text{mol/L}$

重复次数	测量结果	平均值	靶值	偏倚
1	108.02	107.72	108.1 ± 2.0	-0.38
2	106.99			
3	107.22			
4	108.27			
5	108.12			

C.3 各不确定度分量评估

定值相关的各不确定度分量分别评定如下:

1) 工作校准品引入的不确定度 $u_{\text{wcal,rel}}$

本次赋值使用的工作校准品赋值为 $(178.06 \pm 6.01) \mu\text{mol/L}$ ($k=2$), 故工作校准品引入的不确定度

$$u_{\text{wcal,rel}} = \frac{U_{\text{wcal}}}{2 \cdot C_{\text{wcal}}} = \frac{6.01}{2 \times 178.06} = 0.0168763。$$

2) 测量不精密度引入的相对不确定度 $u_{\text{REP,rel}}$

$$\text{校准品赋值 } \bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} x_{ij}}{\sum_{i=1}^m n_i} = \frac{\sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^{10} x_{ij}}{\sum_{i=1}^5 10} = 179.73 (\mu\text{mol/L})$$

$$\text{测量不精密度引入的相对不确定度 } u_{\text{REF,rel}} = \frac{1}{\bar{X}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} (x_{ij} - \bar{X})^2}{\sum_{i=1}^m n_i (\sum_{i=1}^m n_i - 1)}} = \frac{1}{179.73}$$

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^5 \sum_{j=1}^{10} (x_{ij} - 179.73)^2}{50 \times (50 - 1)}} = 0.001\ 256$$

3) 其他定值相关的相对不确定度

复溶引入的不确定度 $u_{\text{sol,rel}}$

工作校准品和产品校准品均为冻干粉基质,在使用前需要复溶。按照说明书规定,工作校准品采用电子天平称量一定质量的稀释液来复溶,查阅检定证书 MPE_m 为 $-0.03\ \text{mg}$,称量质量 m 为 $0.997\ 58\ \text{g}$,

计算该复溶引起的相对不确定度 $u_{\text{sol1,rel}} = \frac{|MPE_m|}{\sqrt{3} \cdot m} = \frac{0.000\ 03}{\sqrt{3} \times 0.997\ 58} = 0.000\ 017\ 36$ 。产品校准品采用移

液器吸取一定体积的稀释液来复溶,查阅检定证书 MPE_v 为 1.0% ,计算该复溶引起的相对不确定度

$$u_{\text{sol2,rel}} = \frac{|MPE_v|}{\sqrt{3}} = \frac{0.010}{\sqrt{3}} = 0.005\ 773\ 5。复溶引入的不确定度 $u_{\text{sol,rel}} = \sqrt{u_{\text{sol1,rel}}^2 + u_{\text{sol2,rel}}^2} =$$$

$$\sqrt{0.000\ 017\ 36^2 + 0.005\ 773\ 5^2} = 0.005\ 773\ 5$$

C.4 定值引入不确定度评定

定值引入的相对不确定度:

$$u_{\text{char,rel}} = \sqrt{u_{\text{wcal,rel}}^2 + u_{\text{REF,rel}}^2 + u_{\text{sol,rel}}^2} = \sqrt{0.016\ 876\ 3^2 + 0.001\ 256^2 + 0.005\ 773\ 5^2} = 0.017\ 89$$

定值引入的标准不确定度:

$$u_{\text{char}} = u_{\text{char,rel}} \cdot C = 0.017\ 89 \times 179.73 = 3.22(\mu\text{mol/L})$$

参 考 文 献

- [1] GB/T 3358.1—2009 统计学词汇及符号 第1部分:一般统计术语与用于概率的术语
- [2] GB/T 29791.1—2013 体外诊断医疗器械制造商提供的信息(标示) 第1部分:术语、定义和通用要求
- [3] GB/T 15000.3—2008 标准样品工作导则(3) 标准样品 定值的一般原则和统计方法
- [4] GB/T 20470—2006 临床实验室室间质量评价要求
- [5] WS/T 403—2012 临床生物化学检验常规项目分析质量指标
- [6] WS/T 406—2012 临床血液学检验常规项目分析质量要求
- [7] JJF 1001—2011 通用计量术语及定义
- [8] JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示
- [9] JJG 646—2006 移液器
- [10] JJF 1135—2005 化学分析测量不确定度评定
- [11] JJF 1343—2012 标准物质定值的通用原则及统计学原理
- [12] ISO GUIDE 30 Reference materials—Selected terms and definitions
- [13] EURACHEM/CITAC Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement
- [14] CLSI EP5 Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures
- [15] CLSI EP9 Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples
- [16] CLSI EP29 Expression of Measurement Uncertainty In Laboratory Medicine
- [17] CLSI EP30 Characterization and Qualification of Commutable Reference Materials For Laboratory Medicine
- [18] LGC/R/2010/17 Evaluating measurement uncertainty in clinical chemistry
- [19] Sandberg S, et al. Defining analytical performance specifications: Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(6):833-5
-

中华人民共和国医药
行 业 标 准
体外诊断试剂用校准物测量不确定度评定

YY/T 1709—2020

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址: www.spc.org.cn

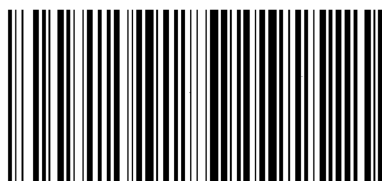
服务热线: 400-168-0010

2020年7月第一版

*

书号: 155066·2-35011

版权专有 侵权必究



YY/T 1709-2020