

浅谈实验室校准原始数据的方法及应用

杨沙沙 刘露

作者单位: 410007 湖南长沙, 湖南省职业病防治院检验科

通信作者: 杨沙沙, Email: 346713028@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.02.007

【摘要】 **目的** 探讨如何提高实验室校准有效率, 研究校准原始数据在化学发光法检测室内质量控制(质控)中的应用价值。**方法** 分析 2017 年 6 月—2019 年 12 月湖南省职业病防治院检验科促甲状腺激素(TSH)、游离甲状腺素(FT_4)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT_3)、雌二醇(E2)、铁蛋白(Fer)的校准原始数据, 统计仪器校准无效次数, 分析校准无效类型; 根据试剂批次与校准品批次组合分组, 分析校准有效时低浓度校准品(CAL-L)和高浓度校准品(CAL-H)的化学发光值, 计算各组校准品数据的变异系数(CV); 统计每月室内质控 CV。**结果** 2017 年 6 月—2019 年 12 月 TSH、 FT_4 、 FT_3 、E2、Fer 累计校准 287 次, 校准无效 18 次, 总校准无效率为 6.27%, 其中 TSH、 FT_4 、 FT_3 、E2、Fer 的校准无效率分别为 15.25%、3.66%、1.52%、7.89%、4.76%。以高 CV 为原因的校准失败所占比例最高[38.89% (7/18)]。校准有效的数据中, FT_3 第 3 组 CAL-L 和 CAL-H 发光值的 CV 分别为 29.02%、135.66%, 第 4 组 CAL-H 发光值的 CV 为 76.59%; E2 第 5 组、第 6 组 CAL-H 发光值的 CV 分别为 55.21%、37.21%, 均高于其允许总误差(TEa), E2、 FT_3 室内质控出现 $CV > 1/3TEa$; TSH、 FT_4 、Fer 各组 CAL-L 和 CAL-H 的发光值 CV 均小于 TEa, 室内质控 $CV < 1/3TEa$ 。**结论** 通过分析校准原始数据可预测室内质控情况, 并为查找室内质控失控原因提供解决方案, 保证检验质量。

【关键词】 校准; 质量控制; 变异系数; 允许总误差

Discussion on methods and application of laboratory calibration original data

Yang Shasha, Liu Lu. Clinical Laboratory, Hunan Prevention and Treatment Institute for Occupational Diseases, Changsha 410007, Hunan, China

Corresponding author: Yang Shasha, Email: 346713028@qq.com

【Abstract】 **Objective** To discuss how to improve the calibration efficiency and study the application value of calibration original data for indoor quality control (QC). **Methods** The calibration data of thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT_4), free triiodothyronine (FT_3), estradiol (E2) and ferritin (Fer) in Hunan Prevention and Treatment Institute for Occupational Diseases from June 2017 to December 2019 were analyzed, the number of invalid instrument calibration and invalid calibration type were recorded. The groups were divided according to combination of reagent batch and calibrator batch, the luminescent values of low concentration calibrator (CAL-L) and high concentration calibrator (CAL-H) were analyzed when the calibration was valid, the coefficient of variation (CV) was calculated, and the CV of indoor QC was recorded by monthly. **Results** From June 2017 to December 2019, TSH, FT_4 , FT_3 , E2 and Fer were totally calibrated for 287 times, calibration was invalid for 18 times, and the calibration inefficiency was 6.27%. The calibration inefficiencies of TSH, FT_4 , FT_3 , E2 and Fer were 15.25%, 3.66%, 1.52%, 7.89% and 4.76%; the reason for 38.89% (7/18) of the calibration failure were high CV. In the valid calibration data, the CV of CAL-L and CAL-H luminescent values in group 3 of FT_3 were 29.02% and 135.66%, the CV of CAL-H luminescent value in group 4 was 76.59%; the CV of CAL-H luminescent values in groups 5 and 6 of E2 were 55.21% and 37.21%, which were higher than total allowable error (TEa); in E2, FT_3 indoor QC, $CV > 1/3TEa$. The CV of CAL-L and CAL-H luminescent values in each group of TSH, FT_4 and Fer were lower than TEa, and the CV of indoor QC were less than $1/3TEa$. **Conclusions** By analyzing the calibration data, the indoor QC can be predicted, and solutions for indoor QC out of control were provided to ensure the quality of inspection.

【Key words】 Calibration; Quality control; Coefficient of variation; Total allowable error

目前化学发光法在临床检验领域得到广泛应用, 其利用抗原抗体结合反应、化学发光和磁性分离技术相结合的测定方法, 以磁性颗粒作为固相载体, 吡啶酯作为发光底物, 在酸碱变化过程中测定发光值, 通过电路和计算机计算发光强度^[1]。校准是测试和调整检验系统(包括仪器、试剂、方法学参

数等)的过程, 用于建立该系统的计量学溯源性^[2]。通常实验人员对校准原始数据及其与室内质量控制(质控)的相关性未予足够重视。本研究通过回顾促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT_4)、游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT_3)、雌二醇(estradiol,

E2)、铁蛋白(ferritin, Fer)的校准原始数据,分析校准原始数据与室内质控情况,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 西门子 ADVIA Centaur 化学发光分析仪(德国西门子公司),试剂、校准品均为原装配套产品;质控品为美国伯乐公司生产。

1.2 研究方法

1.2.1 质控品与校准品的配制与分装 将质控品和校准品从冰箱取出复温,复溶冻干粉,严格按说明书操作^[3-4]。复溶 20~30 min 后,将溶液颠倒混匀 6~8 次,分装至标注批号及日期的冻存管内,在 -20 °C 条件下保存,有效期为 1 个月。

1.2.2 质控品检测及结果判定 每日取分装的低、中、高浓度质控品在室温下复溶 20~30 min 后进行检测。采用 Westgard 多规则质控方法(I₂S、I₃S、2-2S、R₄S)判断室内质控情况,并记录总结。

1.2.3 校准流程及数据分析 在更换试剂批号、校准到期、质控失控或仪器大修后进行校准。低浓度校准品(low concentration calibrator, CAL-L)、高浓度校准品(high concentration calibrator, CAL-H)在室温下复溶 20~30 min 后上机检测。校准完成后记录各浓度校准原始数据的发光值,并进行室内质控检测。将各指标 CAL-L、CAL-H 的有效校准原始数据根据试剂和校准品批次组合分组(TSH 8 组, FT₄ 12 组, FT₃ 5 组, E2 6 组, Fer 4 组),分析各组发光值,计算不同指标的变异系数(coefficient of variation, CV),比较校准原始数据的 CV 与允许总误差(total allowable error, TEa)的差异。

1.2.4 室内质控数据 收集 2017 年 6 月—2019 年 12 月 TSH、FT₄、FT₃、E2、Fer 的室内质控 CV。各指标 TEa 为室内质量评价规范设定的 25%,本实验室质控目标为室内精密度 < 1/3TEa。

1.3 统计学处理 采用 Excel 软件处理数据,计数资料以次(百分比)表示,计算各组均值、标准差及 CV。

2 结果

2.1 校准情况

2.1.1 校准有效率 2017 年 6 月—2019 年 12 月本实验室各指标共校准 287 次,校准无效总次数 18 次,校准无效率为 6.27%。见表 1。

2.1.2 校准无效原因统计 校准无效的主要原因有高 CV、低浓度范围偏差、比例超范围、高浓度范围偏差等,未定义比例、未定义斜率造成的校准无效占比较低。各无效类型在不同指标中的分布见表 2。

表 1 2017 年 6 月—2019 年 12 月各指标校准无效率比较

指标	校准次数(次)	校准无效次数(次)	无效率(%)	指标	校准次数(次)	校准无效次数(次)	无效率(%)
TSH	59	9	15.25	E2	38	3	7.89
FT ₄	82	3	3.66	Fer	42	2	4.76
FT ₃	66	1	1.52	合计	287	18	6.27

注: TSH 为促甲状腺激素, FT₄ 为游离甲状腺素, FT₃ 为游离三碘甲状腺原氨酸, E2 为雌二醇, Fer 为铁蛋白

表 2 不同校准无效类型在各指标中的分布

校准无效类型	校准无效次数(次)						构成比(%)
	TSH	FT ₄	FT ₃	E2	Fer	合计	
高 CV	3	2	1		1	7	38.89
低浓度范围偏差	1			3		4	22.22
比例超范围	3					3	16.66
高浓度范围偏差	2					2	11.11
未定义比例		1				1	5.56
未定义斜率					1	1	5.56
合计	9	3	1	3	2	18	100.00

注: CV 为变异系数, TSH 为促甲状腺激素, FT₄ 为游离甲状腺素, FT₃ 为游离三碘甲状腺原氨酸, E2 为雌二醇, Fer 为铁蛋白;空白代表无此项

2.2 不同指标校准原始数据的 CV 比较 各指标的 TEa 均为 25%,以 < 25% 为判断标准, TSH、FT₄、Fer 各组 CAL-L、CAL-H 发光值的 CV 均在 TEa 范围内; FT₃ 第 3 组 CAL-L、CAL-H 发光值的 CV 为 29.02%、135.66%,第 4 组 CAL-H 发光值的 CV 为 76.59%,其余各组 CAL-L、CAL-H 发光值的 CV 均在 TEa 范围内; E2 第 5 组 CAL-H 发光值的 CV 为 55.21%,第 6 组 CAL-H 发光值的 CV 为 37.21%,其余各组 CAL-L、CAL-H 发光值的 CV 均在 TEa 范围内。见表 3。

表 3 不同指标低、高浓度校准品(CAL-L、CAL-H)原始数据的变异系数(CV)比较

指标	校准品	CV (%)					
		第 1 组	第 2 组	第 3 组	第 4 组	第 5 组	第 6 组
TSH	CAL-L	5.24	11.22	11.03	2.26	8.31	4.69
	CAL-H	5.02	24.29	21.83	5.73	10.71	12.59
FT ₄	CAL-L	8.84	3.18	10.78	3.07	2.05	15.06
	CAL-H	22.65	3.77	21.25	17.59	14.81	23.24
FT ₃	CAL-L	5.90	12.74	29.02	12.00		4.87
	CAL-H	15.07	10.49	135.66	76.59		3.68
E2	CAL-L	8.54	7.37	1.71	0.97	4.97	4.41
	CAL-H	15.29	4.28	2.33	1.21	55.21	37.21
Fer	CAL-L	8.63	1.69	1.66	2.66		
	CAL-H	0.96	5.64	1.15	3.97		

指标	校准品	CV (%)					
		第 7 组	第 8 组	第 9 组	第 10 组	第 11 组	第 12 组
TSH	CAL-L	6.04	7.39				
	CAL-H	11.90	7.91				
FT ₄	CAL L	3.50	7.33	6.18	4.05	2.67	10.08
	CAL H	10.55	20.07	11.96	13.41	8.11	7.11

注: TSH 为促甲状腺激素, FT₄ 为游离甲状腺素, FT₃ 为游离三碘甲状腺原氨酸, E2 为雌二醇, Fer 为铁蛋白;空白代表无此项

2.3 2017年6月—2019年12月室内质控情况 TSH、FT₃、E2、Fer 的室内质控 CV 均小于 8.33%，即低于 1/3TEa。而 FT₄ 2018 年 12 月和 2019 年 1 月室内质控 CV 分别为 9.97% 和 8.92%，室内质控未达标，其他月份室内质控 CV 均控制在 1/3TEa 内。

3 讨论

为临床提供准确的检测结果是检验科的目标，而保证检验质量是检验医师的职责，提高检验质量需要建立一套全面的质控体系^[5-6]。据统计，目前有 7%~13% 的差错产生于检验中^[7]。大量文献表明，校准品、试剂、质控品以及仪器问题和人为因素是发生质控失控的主要原因^[8-10]。本研究中校准无效率达 6.27%，仪器提示校准无效原因以高 CV 最多见（占 38.89%），且在多个指标中均有体现，与仪器、试剂、校准品都有关系。为提高校准成功率，需要做到以下几点：① 保证仪器正常运行，定期进行维护保养；② 由于化学发光试剂含有顺磁微粒，上机前需将磁珠充分混匀，且 TSH、E2 检测试剂需避光保存；③ 校准品应保存于适宜条件，溶解过程严格按照流程操作，上机前充分混匀，避免气泡产生。

在仪器提示校准有效时出现质控失控，排除质控品问题、人为因素、仪器故障后，校准原始数据依然需要重点关注。同批号校准品与同批号试剂作为组合，组内数据有可比性。本研究结果显示，各组校准原始数据的差异较大，FT₃ 第 3 组 CAL-L 和 CAL-H 发光值的 CV、第 4 组 CAL-H 发光值的 CV 以及 E2 第 5 组与第 6 组 CAL-H 发光值的 CV 均高于该指标的 TEa。结合校准数据和室内质控数据，可见 FT₃、E2 的室内质控 CV 有 >1/3TEa 的情况。临床实验室内质控通常被用作考察检测结果可靠性的标准，通过项目的不精密程度来评价测量过程的稳定程度^[11]。只有室内质控在控情况下，检验结果才能得到保证。TEa 可以作为判断校准原始数据是否有效以及室内质控是否在控的预测因子，同时也能作为检验结果准确与否的预测因子。

试剂稳定性是质控品最重要的指标^[12]。当变异较大时，排除仪器故障、校准品失效等因素后，可能原因为试剂变质或瓶间差大，此时更需注意试剂质量。试剂从出厂到使用需经过运输、储存等多个环节，大部分医院对检验试剂的验收及入院后的监管力度不够^[13]。任一环节出现问题都会影响检验结果的准确性。日常工作中为保证试剂的有效性需注意以下方面：① 入库验货时，对有冷藏、冷冻

要求的试剂，重点检查是否使用规定设施运输^[14]，温度记录设备是否实时监测且温度在规定范围内；② 目测试剂性状，因含有磁珠，试剂入库前可进行混匀验证，若磁珠不能混匀或有凝块，则为不合格；③ 部分化学发光试剂需避光保存；④ 对用量少、使用周期长的试剂，需详细记录开瓶日期。

现阶段实验室信息管理系统在室内质控中运用广泛，但未能从仪器中直接提取校准原始数据。进口试剂校准品的有效期较短，导致本研究样本量少，若收集更多的校准品发光值数据，则 CV 计算更加准确。临床工作中关注的多为质控品的精密度，而校准原始数据的精密度和准确度易被忽视。如何确定校准原始数据的精密度仍是未来探索方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 余杨,陈华根,王桂香,等. ADVIA Centaur XP 全自动免疫分析仪常见问题及处理对策[J]. 基层医学论坛, 2015, 19(19): 2651-2652.
- 2 程志祥,张华,黄成利. Hitachi 7600 型全自动生化分析仪理论 K 值与校准 K 值的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(10): 1331-1332. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.044.
- 3 洪雁. 临床免疫检验质量控制的影响因素和具体措施[J]. 中国医药指南, 2014, 30(11): 378-379. DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2014.30.286.
- 4 韦慧玲,时芳芳. 临床免疫检验质量控制方法及效果研究[J]. 航空航天医学杂志, 2017, 28(5): 519-520. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1434.2017.05.002.
- 5 梁晶晶,蒲荣,郭永灿. 临床生化室内质量控制性能评价及全面质量控制策略的建立[J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(4): 467-469. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.04.036.
- 6 杨伟,于瑞梅,张小涛,等. 内分泌激素室内质量控制失控分析[J]. 检验医学与临床, 2018, 15(16): 2520-2521, 2524. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2018.16.052.
- 7 肖亚玲,王薇,王治国. ISO 15189:2012 与室内质量控制[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(2): 124-125. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2014.02.008.
- 8 庄秋娟,薛少青. 日立 7180 生化仪室内质控失控处理方法[J]. 医药前沿, 2016, 6(1): 369-370. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1752.2016.01.325.
- 9 刘院和. 临床生化室内质控失控情况及原因分析体会[J]. 健康导报(医学版), 2015, 20(4): 268.
- 10 张云飞,贾黎方,蔡荣旺. 临床生化检验室内质控失控案例分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(3): 399-401. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.03.047.
- 11 王明富. CLIA'88 推荐精密度目标在生化室内质控中的应用价值[J]. 实用检验医师杂志, 2018, 10(1): 30-31, 35. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2018.01.010.
- 12 欧志强. 全面质量控制方法在生化室内质量控制中的应用[J]. 实用检验医师杂志, 2017, 9(2): 68-70. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2017.02.002.
- 13 罗青,苏义武. 实验室试剂耗材的三级库管理模式应用[J]. 中国医疗设备, 2016, 31(10): 136-137, 163. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1633.2016.10.044.
- 14 李军,王建平. 某三甲医院体外诊断试剂的规范化管理[J]. 医疗装备, 2015, 28(6): 64-65. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2376.2015.06.032.

(收稿日期: 2021-01-21)

(本文编辑: 郜文)