

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 514—2017

临床检验方法检出能力的确立和验证

Establishment and verification of detection capability for
clinical laboratory measurement procedures

2017-01-15 发布

2017-07-01 实施

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准起草单位：华中科技大学同济医学院附属同济医院、北京民航总医院、中国医学科学院北京协和医院、首都医科大学附属北京同仁医院、卫生部临床检验中心。

本标准主要起草人：管青、王学晶、邱玲、刘向祎、张传宝、李辉军。

临床检验方法检出能力的确立和验证

1 范围

本标准规定了临床检验方法检出能力的确立和验证的技术要求及操作过程。
本标准适用于用户确立和验证临床检验方法的检出能力。

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 20470—2006 临床实验室室间质量评价要求

WS/T 403—2012 临床生物化学检验常规项目分析质量指标

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

参考值 reference value

用作与同类量进行比较的基础的量值。

注:参考值可来自于:

- 基于科学原理的理论值或确定值;
- 基于一些国家或国际组织的实验工作的指定值或认证值;
- 基于科学或工程组织赞助下合作实验工作中的约定值或认证值;
- 当 a)、b)、c) 不能获得时,则用(可测量)的期望值,即规定测量总体的均值。

3.2

准确度 accuracy

被测量的测量值与其真值间的一致程度。

注 1: 当术语“准确度”用于一组测量结果时,由随机误差分量和系统误差即偏移分量组成;

注 2: 在医学实验室测量中真值一般指参考值。

3.3

偏移 bias

系统测量误差的估计值。

注:偏移用来度量正确度,是测量结果的期望值与参考值之差。

3.4

空白 blank

不含分析物或含量至少低于有意义的最低水平的样本。

3.5

空白限 limit of blank

测量空白样本时可能观察到的最高测量结果。

注:并非样本中实际被测物的浓度,空白限也被称作净状态变量临界值(critical value of net state variable)。

3.6

检出限 limit of detection

由给定测量程序获得的测得值,其声称的物质成分不存在的误判概率为 β ,声称的物质成分存在的误判概率为 α 。

注1:国际理论和应用化学联合会(IUPAC)推荐的 α 和 β 的默认值为0.05。

注2:也被称作检测低限、最小可检测浓度(或值),缩写为LoD。

3.7

定量限 limit of quantitation

满足声明的精密度和正确度,在声明的实验条件下能够可靠定量的分析物的最低浓度。

注:又称定量检出限。

3.8

被测量 measurand

拟测量的量。

注1:在实验室医学中,被测量的规范要求包含种类(例如质量、浓度)、携带特征(例如全血、血浆)以及对应的化学实体(例如分析物)。

注2:被测量可具有生物活性。

3.9

测量范围 measuring interval

在规定的条件下,由具有一定的仪器不确定度的测量仪器或测量系统能够测量出的一组同类量的量值。

注1:在通常计量术语中,测量范围被定义为“测量区间”。

注2:测量范围的下限不应与检测限相混淆。

3.10

精密度 precision

在规定条件下,对同一或类似被测对象重复测量所得示值或测量值间的一致程度。

注1:精密度的度量通常以不精密度来表达,其量值以规定测量条件下的标准差、方差或变异系数来表示。

注2:规定条件可以是测量重复性条件、期间测量精密度条件、测量复现性条件。

注3:精密度用于定义测量重复性、期间测量精密度条件、测量复现性条件。

3.11

正确度 trueness

无穷多次重复测量所得量值的平均值与一个参考量值间的一致程度。

注:正确度量通常以偏移来表示。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CLSI:美国临床和实验室标准协会(Clinical and Laboratory Standards Institute)

CV:变异系数(coefficient of variation)

IVD:体外诊断(in vitro diagnostic)

LoB:空白限(limit of blank)

LoD:检出限(limit of detection)

LoQ:定量限(limit of quantitation)

RMS:均方根(root mean square)

SD:标准差(standard deviation)

TE:总误差(total error)

5 总述

5.1 检出能力概述

5.1.1 检出能力包含针对检测限低值附近的检测准确性进行评估的一组性能参数 LoB、LoD 和 LoQ。这 3 个参数之间的主要差异在于 LoB 和 LoD 是基于检测方法的变异和 I 类及 II 类错误设置的统计学术语,而 LoQ 的确立与定量分析项目的临床应用需求及方法建立者选择的可接受目标有关。

5.1.2 在大多数情况下,LoB 应小于 LoD,而 LoQ 可等于或高于 LoD,但不能小于 LoD。小于 LoD 的结果应报告为“未检出”。

5.1.3 在某些特殊情况下,LoB、LoD 和 LoQ 的概念没有实际意义,例如凝血检测项目中的凝血酶原时间和部分活化凝血酶原时间,这些检测项目影响因素众多且无法去单独衡量,因此不需去评价其 LoB、LoD 和 LoQ。

5.1.4 对可能会检测多种样本类型的检测方法可使用一种样本类型确立其检出能力,再来验证另一种样本类型的检出能力。针对不同样本类型有不同检出能力的方法,应对每种样本类型确立各自的检出能力。

5.2 标本选择原则

5.2.1 空白标本和低值标本应能反映出患者阴性标本检测结果的一致性。空白标本为不含被测量的标本,实验室比较容易得到的空白标本包括实验室纯水、超纯水、商业化生理盐水、检验系统清洗缓冲液。理想的空白标本是被证实不含特定被测量的商业化标本稀释液。

5.2.2 可通过稀释或添加标本的方法来获得所需最低检测浓度的低值标本和空白标本,并假设这些标本检测的结果和阴性患者标本的结果相似。

5.2.3 选择低值患者标本时应保证标本量充足。建议将标本分装并冰冻保存($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 到 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$),每次试验前取用以保持稳定性和一致性。

5.3 数据收集和复查原则

5.3.1 实验数据是在不同实验条件下通过大量检测而获得的,可运用不同的方法来设计试验过程,例如每天在不同的检测仪器上用不同批号的试剂进行检测,也可以用某一台仪器对某一批号的试剂进行检测。

5.3.2 实验数据在某些特殊情况可以通过获得仪器原始反应信号并通过脱机路径将其转化为检测结果。

5.3.3 在完成一个检测流程后应立即对数据进行检查以发现可能的操作失误或结果遗漏,除检测方法本身产生的错误外,其他原因产生的异常数据宜在当日重新检测并替换,任何重测数据都应和原始数据一起被记录。

5.3.4 所有数据收集完成后应充分考察,并应进行适当的统计分析以排除离群值。

6 LoB 和 LoD 的确立

6.1 经典方案

6.1.1 试验设计

试验设计方案如下:

- a) 使用同一设备,在多个工作日中用多个批号的试剂重复检测一系列空白标本。针对每个批号试剂计算 LoB 的估计值,选择最大的 LoB(2~3 个批号试剂)或结合所有批号试剂的数据(4 个或 4 个以上批号试剂)的估计 LoB 作为最终报告值。
- b) 使用同一设备,在多个工作日中用多个批号的试剂重复检测一系列低值标本。针对每个批号试剂计算 LoD 的估计值,选择最大的 LoD(2~3 个批号试剂)或结合所有批号试剂的数据(4 个或 4 个以上批号试剂)的估计 LoD 作为最终报告值。
- c) 试验方案最低要求:2 个试剂批号;1 台仪器;3 天试验;4 个空白标本;4 个低值标本;每个标本重复检测 2 次(分别在不同的天和不同的试剂批号);每个试剂批号至少 60 个空白测量结果(综合所有空白标本、试验日期及检测系统);每个试剂批号至少 60 个低值测量结果(综合所有低值标本、试验日期及检测系统)。

注:以上最简单的设计方案不能得到要求的每个批号 60 个总重复检测。建立者应根据特定的测量程序和可获得资源增加一个或多个设计因子(如仪器系统、试剂批号、校准频率、操作者等),以提供充足的测量结果数。

- d) 每个试剂批号共 60 个空白结果和 60 个低值结果是最低要求,如果此条件满足,空白标本和低值标本的检测结果数不一定相同。
- e) 如果达不到以上要求,操作者应增加重复检测数以保证数据的严谨和可靠。

6.1.2 数据分析

数据分析过程包括以下步骤:

- a) 选择合适的 α 和 β 值以用于确定 LoB 和 LoD 估计值(通常 $\alpha = \beta = 0.05$);
- b) 审核所有试剂批号的空白标本结果总的分布,明确是否可以使用参数统计方法;
- c) 选择数据统计方法(参数或非参数);
- d) 根据研究数据中试剂批号数量的不同,计算 LoB。

6.1.3 LoB 的计算

6.1.3.1 总述

根据空白标本测量结果分布选择数据分析方法计算 LoB。非参数统计方法没有分布要求,适用于所有的数据集。

6.1.3.2 非参数统计方法

如果只有 2~3 个试剂批号,则对每个批号分别执行步骤 a)~d)。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号,结合所有批号的数据执行步骤 a)~d)。

- a) 将 B 个空白标本的检测结果按从小到大的方式进行排序, B 表示整个数据集的总数: $X_1, X_2, X_3, \dots, X_B$ 。
- b) 按照预期的 I 类错误风险概率 α , 计算空白标本结果分布的百分位数(Pct_B) (如 $\alpha = 0.05, P = 0.95$)。
- c) 根据 Pct_B 计算相应的排列位置,如排列位置 $= 0.5 + B \times 0.95$ 。
- d) LoB 即为步骤 c) 中计算得到的排列位置对应的测量结果,如果该排列位置不是整数,则 LoB 通过该非整数两边的整数排列位置的插入值进行计算。如 $B = 60$, 排列位置 $= 0.5 + 60 \times 0.95 = 57.5$, 则 LoB 应根据第 57 和 58 位数计算得到,即 $LoB = X_{57} + 0.5(X_{57} - X_{58}) = 0.5(X_{57} + X_{58})$ 。如果 $B = 65$, 排列位置 $= 0.5 + 65 \times 0.95 = 62.25$, $LoB = X_{62} + 0.25(X_{63} - X_{62})$ 。
- e) 如果包含 2~3 个试剂批号,则选择每个试剂批号计算所得的 LoB 最大值。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号,则利用所有数据按步骤 a)~d) 计算 LoB。

6.1.3.3 参数统计方法

如果只有 2 ~ 3 个试剂批号, 则对每个批号分别执行步骤 a) ~ b)。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号, 结合所有批号的数据执行步骤 a) ~ b), 具体如下:

- a) 计算所有空白标本的均值(M_B)和标准差(SD_B);
- b) 按以下公式计算 LoB, 见式(1):

$$\text{LoB} = M_B + C_P SD_B \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

M_B ——空白标本的均值;

SD_B ——空白标本的标准差;

C_P ——正态分布 95 百分位数的乘数因子(用观察 SD 代替真实未知人群 SD 的校准因子), 其计算方法见式(2):

$$C_P = \frac{1.645}{1 - \left[\frac{1}{4(B - K)} \right]} \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

B ——数据集空白结果的总数;

K ——空白标本数。

注 1: 1.645 表示 $\alpha=0.05$ 时, 正态分布的 95 百分位数对应的界值。

注 2: 分母中的 $(B - K)$ 表示估计 SD_B 的自由度。

- c) 如果包含 2 ~ 3 个试剂批号, 则选择每个试剂批号计算所得的 LoB 最大值。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号, 则利用所有数据按步骤 a) ~ b) 计算 LoB。

6.1.4 LoD 的计算

6.1.4.1 总述

如低值标本的测量结果呈方差齐性, LoD 的计算应采用参数统计方法。反之则需采用非参数分析(见 6.1.4.3)或精密度曲线方法(见 6.2), 或者选择更合适的标本, 重复该研究。

6.1.4.2 参数统计方法

6.1.4.2.1 如果可能, 在计算前将数据转化成正态分布的形式。

6.1.4.2.2 如果只有 2 ~ 3 个试剂批号, 则对每个批号分别执行步骤 a) ~ c)。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号, 结合所有批号的数据执行步骤 a) ~ c)。具体如下:

- a) 计算数据集中每个低值标本的 SD 。
- b) 计算所有的 J 个低值标本的数据集 SD_L , 见式(3):

$$SD_L = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^J (n_i - 1) SD_i^2}{\sum_{i=1}^J (n_i - 1)}} \quad \dots\dots\dots(3)$$

式中:

SD_L —— J 个低值标本的数据集的 SD ;

J ——低值标本数;

n_i ——第 i 个低值标本所有结果数;

SD_i ——第 i 个低值标本所有结果的 SD 。

c) 按以下公式计算 LoD, 见式(4):

$$\text{LoD} = \text{LoB} + C_p SD_L \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

LoB ——测量程序的空白限(按 6.1.3.3 计算);

SD_L ——所有低值标本结果的标准差;

C_p ——正态分布 95 百分位数的乘数因子(用观察 SD 代替真实未知人群 SD 的校准因子),其计算方法见式(5):

$$C_p = \frac{1.645}{1 - \left[\frac{1}{4(L - J)} \right]} \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中:

L ——所有试剂批号所有低值标本结果总数;

J ——低值标本数。

注 1: 1.645 表示 $\beta=0.05$ 时, 正态分布的 95 th 位数的界值, 如果 β 改变, 应改变对应的乘数。

注 2: $(L - J)$ 表示 SD_L 估计值的自由度。

d) 如果包含 2 ~ 3 个试剂批号, 则选择每个试剂批计算所得的 LoD 最大值。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号, 则利用所有数据按步骤 a) ~ c) 计算 LoD。

以上 LoB 与 LoD 的计算实例可以参见附录 A。

6.1.4.3 LoD 衍生方法: 非参数统计方法

6.1.4.3.1 如果测量结果的变异性不能接近正态分布, 也不能通过转化得到近似正态分布, 则应采用非参数方法。

6.1.4.3.2 采集数据以后, 按照 6.1.3.2 确定 LoB, 每个试剂批号的所有低值标本的结果形成一个单独的分布, 计算 LoB 以下的结果百分数。如果该百分数低于预期的 II 类错误, 则该批号的 LoD 为所有低值标本结果分布的中位数。

6.1.4.3.3 如果包含 2 ~ 3 个试剂批号, 则选择每个试剂批号计算所得的 LoD 最大值。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号, 则利用所有数据计算 LoD。

6.1.4.3.4 典型的 II 类错误 $\beta=0.05$ 要求低于 LoB 值的低值标本分布结果应少于 5%。如果一个或以上试剂批号不能满足 II 类错误的要求, 则新用一批浓度较高的低值标本重新进行该研究。重新进行的研究不需要再重复计算 LoB 的部分。直到每个批号或所有批号的结果分布满足 II 类错误要求时终止检测。分析物的浓度即为测量程序的 LoD。

6.2 精密度曲线方案

6.2.1 方案简介

6.2.1.1 如果测量结果的分布服从相对正态分布, 但在预期 LoD 范围内有所改变时, 或者建立者对 LoD 没有很明确的初始估计, 希望得到较使用经典方法更宽的测量浓度范围时, 可采用精密度曲线方法。

6.2.1.2 连续 20 d 检测一组分析物浓度平均分布的患者标本, 获得不同浓度下实验室内变异估计值。

6.2.1.3 选择包含假定 LoD 的预期测量浓度范围的患者标本, 通常较经典方法采用的范围更宽。然后以 y 轴为实验室内变异, x 轴为各个平均分析物浓度来绘制精密度曲线图, 如图 1 所示。数据采用二阶多项式进行修整, 然后利用递归的方式从预期的 SD 计算试验的 LoD 值。如果试验 LoD 值与形成预期 SD 的分析物浓度拟合, 则该值可作为测量程序的 LoD 的估计值。

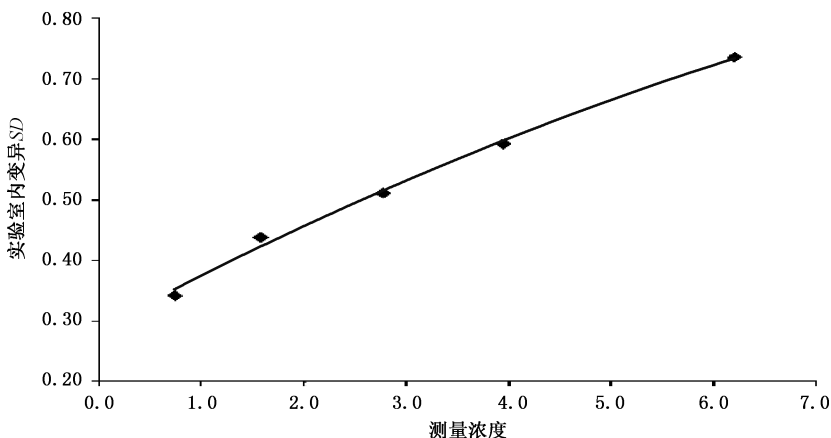


图1 精密度曲线示例

6.2.2 试验设计

按照技术和统计上可靠的精密度方案处理一组患者标本或类似物重复检测结果,获得实验室内变异的估计值。如果研究中包含 2 ~ 3 个试剂批号,则计算每个批号的 LoD,选择 LoD 最大值。如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号,则利用所有数据计算 LoD。最基本的试验设计包括:

- 2 个试剂批号;
- 1 个仪器系统;
- 5 天实验;
- 5 个标本;
- 每个标本重复检测 5 次;
- 每个试剂批号每个标本重复检测 40 次。

注:以上最简单的设计方案不能得到要求的每个批号的 40 个总数据。建立者应根据特定的测量程序和可获得的资源增加一个或多个设计因子(如仪器系统、试剂批号、校准频率、操作者等),以提供充足的测量结果数。

6.2.3 精密度模型

应根据检测样本分析物的浓度范围来选择合适的模型。应用最广的 3 种模型为线性模型、二次方模型及 Sadler 精密度曲线模型,后者描述见式(6):

$$SD_{WL} = (B_1 + B_2 X)^{B_3} \dots\dots\dots (6)$$

式中:

- SD_{WL} ——实验室内变异;
- B_1 、 B_2 、 B_3 ——模型中估计的参数;
- X ——相关的分析物浓度。

6.2.4 数据分析

按照以下步骤估计 LoD 值:

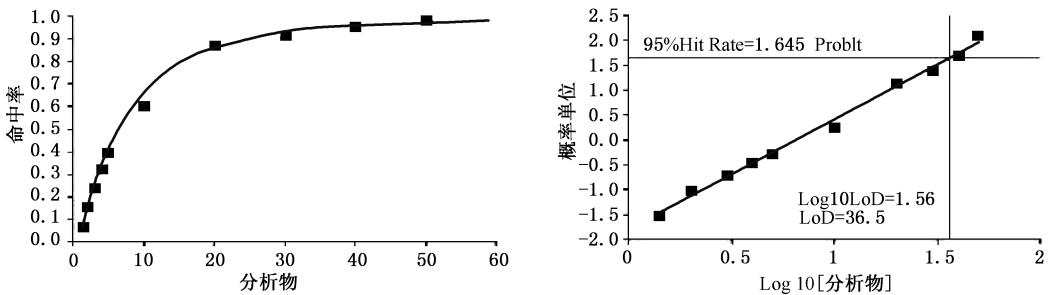
- 选择精密度曲线的模型;
- 评价模型确保进一步分析的适用性;
- 从 LoB 浓度开始逐渐增加,迭代计算实验室内变异 SD 及相关的 LoD;
- 如果预期的 SD 对应的 LoD 值等于分析物浓度时,将该值作为 LoD 的估计值。

6.3 概率单位方案

6.3.1 方案简介

6.3.1.1 概率单位方案适用于当测量程序的检出能力以比例(阳性结果数/重复检测的总数)的形式表示时,如果用 LoB 定义阳性结果,则该方法可用于直接分析物定量。

6.3.1.2 典型的概率单位方案遵循有限稀释的剂量-反应曲线,对已知测量浓度的标本进行系列稀释,然后测量程序对这些稀释物进行重复检测,得到两种结果:检出或未检出。对每个稀释浓度,计算“检出”测量结果数/总的重复测量数的比例(命中率)。将这些命中率转化为累积正态概率单位,并用回归模型对各自的测量浓度进行修匀。最后用回归模型计算预期命中率(如 0.95)的测量浓度,即 LoD。如图 2 所示。



注:左图的曲线解释了假定的试验结果,右图通过概率单位方法确定分子测量程序的 LoD 的回归分析。

图 2 概率单位分析示意图

6.3.1.3 概率单位分析适用于临床实验室检测某些感染物质的分子生物学技术或其他利用 PCR 技术进行扩增和检测的测量程序。这种测量程序没有阴性标本结果的分布,因为此类结果通常报告为 0。这种情况下,空白标本检测结果的第 95 百分位数为 0,LoB 按定义设为 0。

6.3.1.4 评价分子测量程序的检出能力时应包括所有相关基因型的代表性标本,对各个有意义的基因型分别估计 LoD,然后选择最大的 LoD 作为整体测量程序的 LoD 估计值。

6.3.2 试验设计

对来源于多个已知分析物浓度的独立标本的重复检测结果进行分析。如测量程序在 3 d 内未达到测量标本数的最低要求,可增加检测天数。如果研究包含 2~3 个试剂批号,计算每个批号的 LoD,如果有 4 个或 4 个以上的试剂批号,结合所有数据估计 LoD。LoB 可以默认为 0,并通过多个阴性患者标本进行确认,也可以采用经典方法,利用阴性患者标本进行确定。最基本的试验设计包括:

- a) 两个试剂批号;
- b) 一个仪器系统;
- c) 3 天实验;
- d) 3 个已知浓度的标本(阳性标本);
- e) 30 个阴性患者标本;
- f) 每个阳性标本 5 个稀释度;
- g) 每个试剂批号每个阳性标本每个稀释度重复检测 20 次(所有的检测日期);
- h) 每个试剂批号每个阴性标本重复检测 2 次(所有的检测日期)。

6.3.3 数据分析

按照下面的步骤进行分析,得到最终的 LoB 和 LoD:

- 选择估计 LoB 的 α 错误风险和估计 LoD 的 β 错误风险(通常 $\alpha = \beta = 0.05$);
- 根据选择的方法定义或计算 LoB;
- 计算每个试剂批号的 LoD;
- 选择最大的 LoD 作为测量程序的最终 LoD 估计值。

7 LoQ 的确立

7.1 总述

7.1.1 LoQ 是仅适用于定量测量程序的性能属性。报告 LoQ 估计值时应包括相应的准确度目标。LoQ 的确立具有一定的灵活性,可接受要求越严格,LoQ 值越大。

7.1.2 评价 LoQ 可依照评价 LoD 的经典方法(见 6.1.1),也有很多其他方法可用于估计 LoQ。无论选择哪种设计方法,都应与测量程序及其应用相适应,技术和统计学上可靠,并应与预期准确度目标和最低设计要求相一致。

7.1.3 建立测量程序时应评价 LoQ,实验室可采用不同于方法建立者最初选择的准确度目标,确立自身特定的 LoQ。根据可接受目标,LoQ 可以等于或高于(但绝不会低于)LoD。

7.2 准确度目标规范

7.2.1 准确度目标规范通常以 TE 来表示,TE 的计算可依据两种被广泛接受的模型:Westgard 模型[见式(7)]和均方根(RMS),或方差模型[见式(8)]。这两种方法都结合了测量程序的偏移和精密度估计,在特定的分析物浓度进行评价。如果合适,也可采用其他的 LoQ 定义。

Westgard 模型:

$$TE = |Bias| + 2s \quad \dots\dots\dots(7)$$

RMS 模型:

$$TE = \sqrt{s^2 + Bias^2} \quad \dots\dots\dots(8)$$

式中:

TE ——允许总误差;

Bias ——偏移;

s ——标准差。

7.2.2 偏移宜通过标准品或具有参考值的标本进行评估,也可采用公认值标准品。如上述情况不可得,也可采用其他如患者标本作为起始材料,其浓度由参考测量程序或其他可接受准确度的程序确定或可溯源至参考测量程序。也可使用这些材料的稀释物,假定稀释液与测量程序兼容,并在低浓度范围具有线性。

7.2.3 不宜采用常规测量程序比对试验来估计偏移。

7.2.4 精密度估计反映了重复性和日间变异,宜包括其他来源的变异,如操作者之间、校准周期间等。仅包括重复性的精密度估计不适用于 LoQ 研究。

7.2.5 对 LoQ 应提供其相关的准确度目标。没有一种准确度目标适用于所有的测量程序及其应用。准确度目标的来源包括基于临床用途的(如心肌肌钙蛋白的 10%实验室内变异)、基于 TE 的质量目标(如 GB/T 20470—2006 或 WS/T 403—2012)及基于生物学变异的质量目标。

7.3 试验设计

7.3.1 选择一个靶浓度作为试验的 LoQ,并根据该浓度制备多个低值标本,分别在多天用一个或多个仪器系统,多个试剂批号进行重复检测。对每个试剂批号的检测结果计算 TE,如果满足既定目标,则将均值报告为测量程序的 LoQ。最基本的试验设计包括:

- a) 两个试剂批号;
- b) 一个仪器系统;
- c) 3 天实验;
- d) 每个标本重复测量 3 次;
- e) 4 个独立的已知分析物浓度的低值标本;
- f) 每个试剂批号共 36 个低值标本重复检测结果。

注:以上给出的设计方案为最基本的试验方案,根据特定的测量程序和期望的结果以及统计的严格性,可增加试验设计的因子数,各因子的水平数或重复测量的次数。

7.3.2 建立者可增加更多的因子或增加重复检测数,以提高 LoQ 估计的严谨性。

7.4 数据分析

7.4.1 如果研究包含 2~3 个试剂批号,对每个试剂批号分别分析数据,如果有 4 个或 4 个以上的批号,则结合所有数据进行分析。计算方式如下:

- a) 计算每个批号每个低值水平标本的所有重复检测结果的均值(\bar{x})和标准差(SD);
- b) 根据指定值(R)计算每个低值水平标本的偏倚:
 $Bias = \bar{x} - R$;
- c) 利用 Westgard TE 模型计算每个标本的 TE;
- d) 重复步骤 a) ~c) 计算所有试剂批号各个标本的 TE;
- e) 将每个试剂批号的 TE 与既定准确度目标进行比较,对每个试剂批号,如果最低浓度的标本满足准确度规范,则将其作为该批号的 LoQ;
- f) 选择所有批号中最大的 LoQ(2~3 个试剂批号时)或结合所有数据分析得到的 LoQ(4 个或 4 个以上试剂批号)作为测量程序最终的 LoQ。

7.4.2 如果有一个或以上的试剂批号不能满足准确度目标,则应用一批新的较高的分析物浓度重复整个研究过程。

7.5 衍生方法:LoD 和 LoQ 的综合评价

7.5.1 根据测量程序及其相关的准确度目标,可采用一种衍生方法,利用精密度曲线方法(见 6.2)将 LoQ 评价作为 LoD 评价的一部分。该衍生方法唯一的变化是低值标本必须是已知分析物浓度的,以便计算偏移。

7.5.2 选择合适的标本完成试验设计,按照 7.4 中的步骤 a) ~c) 计算每个批号每个标本的 TE 估计值。以 TE 为 y 轴,标本分析物浓度为 x 轴,得到 TE 曲线,采用合适的回归模型或图表差值进行修匀。利用曲线或回归模型,确定相应准确度目标下的分析物浓度,并将其报告为该测量程序的 LoQ。

以上 LoQ 的确立方法可参见附录 B。

8 检出能力声明的验证

8.1 总则

8.1.1 验证试验用于保证测量程序在标准实践中的性能与建立者提供的声明一致。

8.1.2 采用一个仪器系统一个试剂批号在多天内对小数量的标本进行重复检测。计算与声明一致的测量结果比例,与适当的临界值进行比较,以判断验证的结果。如果观察的比例小于规定临界值,则表明性能不符合声明。

8.1.3 以下描述的验证方案均基于最低的可接受试验设计要求。根据特定的测量程序及期望的统计严格性,可适当地增加试验设计因子数、因子的水平数或重复测量次数。

8.1.4 除了正式的验证试验,还可以从其他视角验证测量程序的检测能力,如包括低值分析物水平的能力验证结果等。

8.2 LoB 声明的验证

8.2.1 方案要求

最基本的试验方案应包括:

- a) 一个试剂批号;
- b) 一个仪器系统;
- c) 3 天实验;
- d) 2 个空白标本;
- e) 每天每个标本重复测量 2 次;
- f) 总计 20 个空白重复检测结果。

8.2.2 数据分析

数据分析方式如下:

- a) 保证检测结束时有足够的测量结果进行数据分析,至少应包括 20 个空白标本结果;
- b) 计算空白测量结果小于或等于 LoB 声明的百分比;
- c) 将得到的百分比与附录 E 中临界值比较,如果没有匹配的测量结果总数(N),选择最接近的值;
- d) 如果观察百分比大于附录 E 中的值,则验证成功;
- e) 如果观察百分比小于附录 E 中的值,则验证失败。查找原因,如有必要,咨询测量程序建立者,根据验证结果,执行新的验证研究或利用评价方案确立 LoB。

以上 LoB 声明的验证参见附录 C。

8.3 LoD 声明的验证

8.3.1 方案要求

最简单的试验设计应包括:

- a) 一个试剂批号;
- b) 一个仪器系统;
- c) 3 天实验;
- d) 2 个 LoD 声明浓度附近的标本;
- e) 每天每个标本重复测量 2 次;
- f) 总计 20 个低值重复检测结果。

如果提供了 LoD 声明,按照 8.2 进行验证。如果验证通过,则使用该声明;如果验证失败或未提供 LoD 声明,则可按照 6.1 要求先确立 LoD。

以上 LoD 声明的验证参见附录 C。

8.3.2 数据分析

数据分析方式如下：

- a) 保证检测结束时有足够的测量结果进行数据分析,至少应包括 20 个低值标本结果；
- b) 计算低值测量结果等于或超过 LoD 声明的百分比；
- c) 将得到的百分比与附录 E 的临界值比较,如果没有匹配的测量结果总数(N),选择最接近的值；
- d) 如果观察百分比大于或等于附录 E 中的值,则验证成功；
- e) 如果观察百分比小于附录 E 中的值,则验证失败,查找原因。如有必要,咨询测量程序建立者,根据验证结果,执行新的验证研究或利用评价方案确立 LoD 声明。

8.4 LoQ 声明的验证

8.4.1 以下方案适用于基于 TE 准确度目标的 LoQ 声明验证。仅基于精密度目标的 LoQ 声明可通过 CLSI EP15 中的精密度试验进行验证。

8.4.2 方案要求

最简单的试验设计应包括：

- a) 一个试剂批号；
- b) 一个仪器系统；
- c) 3 天实验；
- d) 2 个 LoQ 声明浓度附近的标本；
- e) 每天每个标本重复测量 2 次；
- f) 总计 20 个低值重复检测结果。

8.4.3 数据分析

数据分析方式如下：

- a) 保证检测结束时有足够的测量结果进行数据分析。至少应包括 20 个标本结果；
- b) 对每个标本计算靶值±允许 TE；
- c) 计算每个标本落在允许总误差范围内的检测结果个数,然后计算所有标本检测结果满足 LoQ 声明的可接受标准的比例；
- d) 将得到的百分比与附录 E 的临界值比较,如果没有匹配的测量结果总数(N),选择最接近的值；
- e) 如果观察百分比大于或等于附录 E 中的值,则验证成功；
- f) 如果观察百分比小于附录 E 中的值,则验证失败。查找原因。如有必要,咨询测量程序建立者,根据验证结果,执行新的验证研究或利用评价方案确立 LoQ 声明。

以上 LoQ 声明的验证参见附录 D。

附录 A (资料性附录)

利用经典方法评价 A 诊断试剂厂商肌钙蛋白 I 检测系统的 LoB 与 LoD 示例

A.1 初始精密度试验表明 A 诊断试剂厂商肌钙蛋白 I 在测量范围下限的样本检测结果具有一致的重复性,故采用经典方法评价 LoB 和 LoD。采用本标准中 6.1.1 中最低要求方案 C):2 个试剂批号;1 台仪器;3 天试验;5 个空白标本与 5 个低值标本,每个标本重复检测 2 次(分别在不同的天和不同的试剂批号);每个试剂批号至少 60 个空白测量结果和 60 个低值标本测量结果。

空白标本来源于该检验系统清洗缓冲液。对该厂家肌钙蛋白 I 浓度为 0 的校准品重复测量 20 次,最大观察值为 0.007 ng/mL,将该值作为 LoB 初始估计值,同时确定选择低值标本的期望浓度范围为 0.007 ng/mL~0.030 ng/mL(LoB 的 1~5 倍)。从另一独立的方法比较研究 5 例落在该范围内的标本。

表 A.1~表 A.4 列出了 2 个试剂批号的空白和低值标本结果。

表 A.1 试剂批号 1 的观察空白标本结果

单位为 ng/mL

| 日期 | 重复次数 | 空白 1 | 空白 2 | 空白 3 | 空白 4 | 空白 5 |
|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| | 2 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| | 3 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| | 4 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 1 | 0.006 | 0.003 | 0.006 | 0.008 | 0.008 |
| | 2 | 0.003 | 0.007 | 0.006 | 0.007 | 0.007 |
| | 3 | 0.003 | 0.003 | 0.003 | 0.007 | 0.009 |
| | 4 | 0.008 | 0.007 | 0.003 | 0.007 | 0.009 |
| 3 | 1 | 0.003 | 0.006 | 0.005 | 0.004 | 0.004 |
| | 2 | 0.006 | 0.007 | 0.008 | 0.005 | 0.005 |
| | 3 | 0.002 | 0.002 | 0.007 | 0.005 | 0.004 |
| | 4 | 0.007 | 0.006 | 0.006 | 0.004 | 0.004 |

表 A.2 试剂批号 1 的观察低值标本结果

单位为 ng/mL

| 日期 | 重复次数 | 低值 1 | 低值 2 | 低值 3 | 低值 4 | 低值 5 |
|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1 | 0.015 | 0.012 | 0.012 | 0.017 | 0.023 |
| | 2 | 0.014 | 0.007 | 0.013 | 0.016 | 0.018 |
| | 3 | 0.014 | 0.013 | 0.009 | 0.014 | 0.021 |
| | 4 | 0.015 | 0.019 | 0.011 | 0.014 | 0.020 |

表 A.2 (续)

单位为 ng/mL

| 日期 | 重复次数 | 低值 1 | 低值 2 | 低值 3 | 低值 4 | 低值 5 |
|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 2 | 1 | 0.024 | 0.019 | 0.017 | 0.022 | 0.019 |
| | 2 | 0.023 | 0.014 | 0.019 | 0.024 | 0.020 |
| | 3 | 0.022 | 0.017 | 0.018 | 0.025 | 0.021 |
| | 4 | 0.022 | 0.017 | 0.016 | 0.025 | 0.020 |
| 3 | 1 | 0.017 | 0.009 | 0.011 | 0.025 | 0.032 |
| | 2 | 0.016 | 0.009 | 0.009 | 0.023 | 0.030 |
| | 3 | 0.017 | 0.008 | 0.012 | 0.024 | 0.031 |
| | 4 | 0.017 | 0.011 | 0.012 | 0.024 | 0.034 |

表 A.3 试剂批号 2 的观察空白标本结果

单位为 ng/mL

| 日期 | 重复次数 | 空白 1 | 空白 2 | 空白 3 | 空白 4 | 空白 5 |
|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1 | 0.007 | 0.005 | 0.005 | 0.005 | 0.007 |
| | 2 | 0.006 | 0.003 | 0.009 | 0.007 | 0.008 |
| | 3 | 0.006 | 0.005 | 0.006 | 0.001 | 0.006 |
| | 4 | 0.006 | 0.007 | 0.007 | 0.004 | 0.007 |
| 2 | 1 | 0.003 | 0.005 | 0.010 | 0.006 | 0.006 |
| | 2 | 0.004 | 0.005 | 0.007 | 0.007 | 0.009 |
| | 3 | 0.004 | 0.005 | 0.010 | 0.010 | 0.009 |
| | 4 | 0.004 | 0.005 | 0.007 | 0.005 | 0.005 |
| 3 | 1 | 0.006 | 0.007 | 0.006 | 0.005 | 0.005 |
| | 2 | 0.006 | 0.008 | 0.007 | 0.005 | 0.004 |
| | 3 | 0.005 | 0.001 | 0.007 | 0.005 | 0.009 |
| | 4 | 0.008 | 0.006 | 0.004 | 0.003 | 0.004 |

表 A.4 试剂批号 2 的观察低值标本结果

单位为 ng/mL

| 日期 | 重复次数 | 低值 1 | 低值 2 | 低值 3 | 低值 4 | 低值 5 |
|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 1 | 0.016 | 0.008 | 0.010 | 0.018 | 0.022 |
| | 2 | 0.015 | 0.012 | 0.011 | 0.017 | 0.021 |
| | 3 | 0.015 | 0.010 | 0.012 | 0.016 | 0.022 |
| | 4 | 0.013 | 0.012 | 0.011 | 0.015 | 0.023 |

表 A.4 (续)

单位为 ng/mL

| 日期 | 重复次数 | 低值 1 | 低值 2 | 低值 3 | 低值 4 | 低值 5 |
|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 2 | 1 | 0.016 | 0.016 | 0.015 | 0.020 | 0.023 |
| | 2 | 0.019 | 0.015 | 0.014 | 0.023 | 0.030 |
| | 3 | 0.015 | 0.013 | 0.015 | 0.017 | 0.023 |
| | 4 | 0.015 | 0.014 | 0.012 | 0.021 | 0.025 |
| 3 | 1 | 0.018 | 0.014 | 0.016 | 0.020 | 0.025 |
| | 2 | 0.021 | 0.013 | 0.015 | 0.019 | 0.025 |
| | 3 | 0.021 | 0.015 | 0.017 | 0.022 | 0.022 |
| | 4 | 0.021 | 0.014 | 0.016 | 0.019 | 0.027 |

A.2 LoB 的评价。数据处理采用非参数统计方法,步骤见下:

- 对 2 个试剂批号分别估计 LoB, 将 5 个空白标本的所有测量结果按从低到高的顺序进行排序;
- 采用典型的 I 类错误风险 $\alpha=0.05$, 其相应的百分位数为: $Pct_B=1-\alpha=0.95$;
- 该百分位数对应的排列位置计算如下: 排列位置 $=0.5+(B \times Pct_B)=0.5+(60 \times 0.95)=57.5$ (B 为每个批号的空白标本检测总数, 即此例中 $B=60$);
- 因排列位置必须是整数, 通过插入至 57.5 相邻的整数 57 和 58 计算该排列位置对应的值, 即 LoB 估计值。

表 A.5 包含了空白测量结果的上面 5 个排列, 0.008 和 0.010 分别为批号 1 和批号 2 的 LoB 估计值。选择较大的 0.010 作为该测量程序的 LoB。

表 A.5 空白标本检测结果的排列位置和 LoB

单位为 ng/mL

| 排列位置 | 值(批号 1) | 值(批号 2) |
|------|---------|---------|
| 56 | 0.008 | 0.009 |
| 57 | 0.008 | 0.009 |
| 58 | 0.008 | 0.010 |
| 59 | 0.009 | 0.010 |
| 60 | 0.009 | 0.010 |
| LoB | 0.008 | 0.010 |

A.3 LoD 的评价。按本标准 6.1.4.3 提供的方案, 计算分析每个试剂批号的低值标本结果, 表 A.6 给出了每个标本的 SD_s 。汇集这些结果计算 SD_L , 利用 $L=60, J=5$ 计算乘数因子 c_p 。结合上面报告的 LoB 估计值计算每个批号的 LoD, 即试剂批号 1 和 2 分别为 0.017 3 和 0.014 1。取较大的 0.017 3 作为测量程序的 LoD 估计值。

表 A.6 低值标本检测结果的 SDs 和 LoD 计算

单位为 ng/mL

| 标本 | 试剂批号 1 | | 试剂批号 2 | |
|--------|--------|---------|--------|---------|
| | n | SD | n | SD |
| 低值 1 | 12 | 0.003 7 | 12 | 0.002 8 |
| 低值 2 | 12 | 0.004 3 | 12 | 0.002 3 |
| 低值 3 | 12 | 0.003 4 | 12 | 0.002 3 |
| 低值 4 | 12 | 0.004 5 | 12 | 0.002 4 |
| 低值 5 | 12 | 0.005 8 | 12 | 0.002 6 |
| SD_L | | 0.004 4 | | 0.002 5 |
| c_p | | 1.653 | | 1.653 |
| LoD | | 0.017 3 | | 0.014 1 |

附录 B (资料性附录)

利用经典方法评价 A 诊断试剂厂商肌钙蛋白 I 检测系统的 LoQ 示例

以 A 诊断试剂厂商肌钙蛋白 I 测量程序为例,准确度目标定义为实验室内不精密度 = 10% (CV), 采用本标准 7.3.1 方案给出的最低要求。

研究开始时对两个试剂批号进行校准。从健康人中获取 9 个血清标本池,其浓度覆盖了测量范围的下限区域。将标本池分成小份,并冷冻于 -40°C 。以随机的顺序检测每个标本池的新鲜解冻血清,每个分析批用 2 个试剂批号进行检测,收集连续 20 个工作日的数据。计算每个试剂批号每个标本的均值和实验室内不精密度 (SD_{wL}),结果见表 B.1,每个试剂批号的精密度曲线见图 B.1、图 B.2。

表 B.1 观察不精密度估计值总结

| 标本池编号 | 试剂批号 1 | | | 试剂批号 2 | | |
|-------|------------|--------------------|------|------------|--------------------|------|
| | 均值/(ng/mL) | SD_{wL} /(ng/mL) | CV/% | 均值/(ng/mL) | SD_{wL} /(ng/mL) | CV/% |
| 标本池 1 | 0.010 | 0.001 4 | 24.4 | 0.010 | 0.001 4 | 14.1 |
| 标本池 2 | 0.014 | 0.001 6 | 11.8 | 0.021 | 0.001 7 | 8.3 |
| 标本池 3 | 0.024 | 0.001 6 | 6.5 | 0.026 | 0.001 1 | 4.3 |
| 标本池 4 | 0.034 | 0.001 8 | 5.3 | 0.035 | 0.001 9 | 5.3 |
| 标本池 5 | 0.040 | 0.002 6 | 6.5 | 0.043 | 0.002 1 | 5.0 |
| 标本池 6 | 0.051 | 0.002 5 | 4.9 | 0.054 | 0.002 1 | 3.5 |
| 标本池 7 | 0.058 | 0.003 0 | 5.3 | 0.062 | 0.003 2 | 4.9 |
| 标本池 8 | 0.432 | 0.018 5 | 4.3 | 0.415 | 0.025 6 | 5.2 |
| 标本池 9 | 0.634 | 0.011 5 | 1.8 | 0.649 | 0.010 5 | 1.7 |

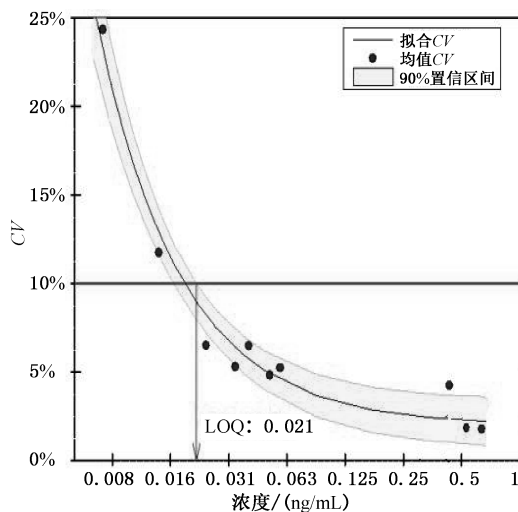


图 B.1 试剂批号 1 精密度曲线

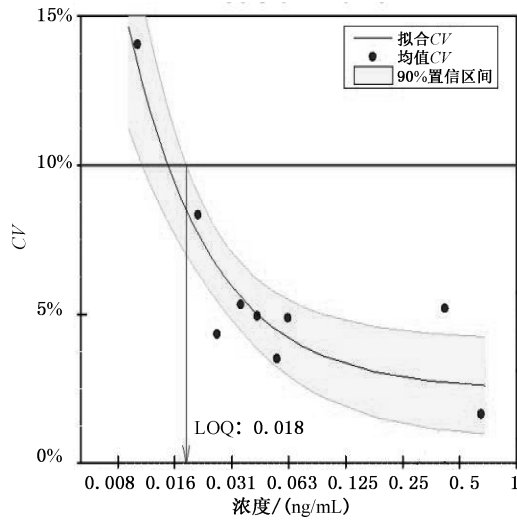


图 B.2 试剂批号 2 精密度曲线

根据精密度曲线形状,利用功效函数模型对数据进行修匀,然后利用回归分析估计每个试剂批号的功效曲线模型参数,从而得到满足相应不精密度要求时不同批号试剂的分析物浓度,如:

试剂批号 1 $X=0.021$ ng/mL

试剂批号 2 $X=0.018$ ng/mL

也可以直接从精密度曲线(10%准确度目标)中分析物浓度与曲线的交点得到。

选择最大的 0.021 ng/mL 作为测量程序的 LoQ。

附录 C
(资料性附录)

验证 B 诊断试剂厂商超敏肌钙蛋白 I 检测系统 LoB 与 LoD 声明示例

B 诊断试剂厂商超敏肌钙蛋白 I 检测系统声明的 $LoB = 0.7 \text{ pg/mL} \sim 1.3 \text{ pg/mL}$, $LoD = 1.1 \text{ pg/mL} \sim 1.9 \text{ pg/mL}$, $\alpha = \beta = 0.05$ 。

LoB 声明验证:连续 3 d 检测对 2 个空白标本(用厂家专用样本稀释液代替)重复检测 4 次,所有数据来源于 1 个仪器系统和 1 个批号的试剂。检测结果按浓度升序进行排序,见表 C.1。

表 C.1 LoB/LoD 验证的空白和低值标本结果

单位为 pg/mL

| 排列 | 空白标本 | 低值标本 |
|----|------|------|
| 1 | 0.00 | 1.3 |
| 2 | 0.00 | 1.3 |
| 3 | 0.00 | 1.4 |
| 4 | 0.00 | 1.4 |
| 5 | 0.00 | 1.4 |
| 6 | 0.00 | 1.5 |
| 7 | 0.00 | 1.5 |
| 8 | 0.00 | 1.5 |
| 9 | 0.1 | 1.5 |
| 10 | 0.1 | 1.5 |
| 11 | 0.1 | 1.6 |
| 12 | 0.1 | 1.6 |
| 13 | 0.2 | 1.7 |
| 14 | 0.2 | 1.7 |
| 15 | 0.3 | 1.7 |
| 16 | 0.4 | 1.7 |
| 17 | 0.4 | 1.7 |
| 18 | 0.4 | 1.8 |
| 19 | 0.4 | 1.8 |
| 20 | 0.5 | 1.8 |
| 21 | 0.6 | 1.8 |
| 22 | 0.7 | 1.9 |
| 23 | 0.7 | 1.9 |
| 24 | 0.8 | 1.9 |

将空白标本的结果与厂商 LoB 声明($LoB = 0.7 \text{ pg/mL} \sim 1.3 \text{ pg/mL}$)进行比较,表明所有结果都满足该声明,即 100%的结果满足声明,该百分数超过了本标准附录 E 测量结果总数与临界值观察比例对

照表中的要求,24 个标本选择的 95%可信区间的 87%(见表 E.1),即厂家 LoB 声明得到验证。 $N=24$ 时选择 30 对应的值。

LoD 声明验证:连续 3 d 检测对 2 个低值患者标本重复检测 4 次,所有数据来源于 1 个仪器系统和 1 个批号的试剂。检测结果按浓度升序进行排序,见表 C.1。

类似地,大于或等于 LoD 声明的阳性结果百分数为 $22/24=91.7\%$,高于表 1 中的 87%,即 LoD 声明也通过验证。

附录 D

(资料性附录)

验证 B 诊断试剂厂商超敏肌钙蛋白 I 检测系统 LoQ 示例

B 诊断试剂厂商超敏肌钙蛋白 I 检测系统 LoQ 声明值为 4.7 pg/mL(基于 10% CV 准确度目标)。假定 $\alpha = \beta = 0.05$ 。

LoQ 验证:采用本标准 8.4.2 介绍的实验方案,选取 5 个低值患者标本,用已知的准确度可接受的测量程序得到这 5 个标本的靶值,分别计算其允许不精密度范围。将每个标本的结果与允许不精密度范围进行比较,计数超过范围的结果个数。

各个标本的检测结果、靶值、允许误差范围及超出范围的结果个数见表 D.1。

表 D.1 LoQ 验证的结果

单位为 pg/mL

| 靶值 | 标本 1 | 标本 2 | 标本 3 | 标本 4 | 标本 5 |
|-------|------|------|------|------|------|
| | 4.5 | 4.6 | 4.4 | 4.5 | 3.7 |
| 误差窗 | | | | | |
| 下限 | 4.1 | 4.1 | 4.0 | 4.1 | 3.3 |
| 上限 | 5.0 | 5.1 | 4.9 | 5.0 | 4.1 |
| 检测时间 | | | | | |
| 第 1 天 | 4.4 | 4.5 | 4.3 | 4.2 | 3.7 |
| 第 2 天 | 4.5 | 4.3 | 4.6 | 4.5 | 4.0 |
| 第 3 天 | 4.2 | 4.2 | 4.7 | 4.2 | 3.9 |
| 第 1 天 | 4.6 | 4.4 | 3.8 | 4.5 | 3.8 |
| 第 2 天 | 4.2 | 4.2 | 4.8 | 4.4 | 3.5 |
| 第 3 天 | 5.1 | 4.5 | 4.3 | 4.3 | 4.2 |
| 第 1 天 | 4.3 | 4.0 | 4.2 | 4.6 | 3.8 |
| 第 2 天 | 4.3 | 4.2 | 4.3 | 4.2 | 3.9 |
| 第 3 天 | 3.7 | 4.3 | 4.1 | 4.3 | 4.0 |
| # 离群值 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 |

由表 D.1 可知,一共有 5 个标本超过误差窗,即满足准确度目标的比例为 $40/45 = 89\%$,而 $N = 45$ 的最低百分数为 88% (见表 E.1,取 $N = 40$ 和 $N = 50$ 中的较大者),因此 LoQ 声明通过验证。

附 录 E

(资料性附录)

测量结果总数与临界值观察比例对照表

测量结果总数与临界值观察比例对照表见表 E.1。

表 E.1 测量结果总数与临界值观察比例对照表

| 研究中测量结果总数(N) | 临界值观察比例 |
|--------------|---------|
| 20 | 85 |
| 30 | 87 |
| 40 | 88 |
| 50 | 88 |
| 60 | 90 |
| 70 | 90 |
| 80 | 90 |
| 90 | 91 |
| 100 | 91 |
| 150 | 92 |
| 200 | 92 |
| 250 | 92 |
| 300 | 93 |
| 400 | 93 |
| 500 | 93 |
| 1 000 | 94 |