



CNAS-CL33

**检测和校准实验室能力认可准则
在临床酶学参考测量领域的应用说明**

**Guidance on the Application of Testing and
Calibration Laboratories Competence Accreditation
Criteria in the Field of Clinical Enzymology
Reference Measurement**

中国合格评定国家认可委员会

前 言

申请 CNAS 医学参考测量实验室认可的机构应满足 CNAS-CL01:2006 “检测和校准实验室能力认可准则”和 CNAS-CL32 “检验医学领域参考测量实验室特定的认可要求”的要求。

本文件是根据酶学参考测量实验室的特点对 CNAS-CL01 和 CNAS-CL32 所做的进一步说明,本文件应与 CNAS-CL01 和 CNAS-CL32 共同使用。在结构编排上,本文件章、节的条款号和条款名称均采用 CNAS-CL01:2006 中章、节条款号和名称。为方便使用,本文件的正文部分列示了 CNAS-CL01 二级(含)以上的条款编号和条款名称,二级以下的条款号是不连续的。只要适用,对本文件中未作说明或未列示的条款执行 CNAS-CL01 相应条款的要求。

在临床酶学领域,通常使用“参考测量”的概念。因此,在本文件中(除所引用的 CNAS-CL01 的条目外)统一使用“参考测量”而不使用“校准”。此外,除非需要特别注明时,“参考物质/标准物质/标准样品”在本文件中统一使用“参考物质”表达。

本文件增加了 4 个附录。附录 A 《临床酶学参考测量实验室主要设备的计量性能要求》,附录 B 《临床酶学参考测量实验室测量不确定度评定指南》,附录 C 《临床酶学参考测量实验室需参考的技术文件》,附录 D 《本文件条款与 CNAS-CL32、CNAS-CL01 条款对照》。附录 A 为规范性附录,附录 B 附录 C 和附录 D 为资料性附录。

检测和校准实验室能力认可准则

在临床酶学参考测量领域的应用说明

1 范围

本文件规定了对检验医学领域临床酶学参考测量实验室的专用要求。本文件不包括以定名性或定序性方式报告结果的特性的测量，也不适用于常规医学实验室。

2 引用文件

下列文件对于本文件的应用不可缺少。对注明日期的引用文件，只采用所引用的版本；对没有注明日期的文件，采用最新的版本(包括任何的修订)。

CNAS-CL32 检验医学领域参考测量实验室的特定认可要求 (ISO 15195, IDT)

GB 19781 医学试验室 安全要求 (ISO 15190, IDT)

ISO 15193, 对应国标 GB/T 19702 《体外诊断医疗器械—生物源性样本中量的测量—参考测量程序的说明》

ISO 17511, 对应国标 GB/T 21415 《体外诊断医疗器械—生物源性样品中量的测量—校准品和控制物质定值的计量学溯源性》

ISO 18153, 对应行标 YY/T 0638 《体外诊断医疗器械—生物源性样品中量的测量—校准品和控制物质中酶催化浓度定值的计量学溯源性》

3 术语和定义

3.1 临床酶学参考测量实验室 reference measurment laboratories for clinical enzymology

以在临床酶学领域提供计量学服务为目的，实施参考测量程序并提供声明了测量不确定度的结果的实验室。

注 1: 临床酶学指以人类临床医学为应用目的的酶学。

注 2: 本定义是新增的定义，参考了“参考测量实验室”(ISO15195 3.6)的定义。

4 管理要求

4.1 组织

4.2 管理体系

4.2.5 实验室的质量管理体系应形成文件。质量手册应表述总体目标、质量方针和质量控制工作安排，以使实验室确保参考测量结果的质量。

质量手册的内容应适合于实验室人员利用与执行，至少包括以下要素：

- a) 介绍;
- b) 实验室法律地位的说明;
- c) 质量方针;
- d) 组织机构图 (识别实验室在组织中的地位);
- e) 实验室内部组织以及负责人和员工职责分配的说明;
- f) 实验室设施及其功能、环境控制的说明;
- g) 全部安全要求;
- h) 所用参考物质清单;
- i) 实验室主要设备及其维护和确认程序的说明;
- j) 实验室所能提供的参考测量量的清单;
- k) 实验室应用的参考测量程序文件 (符合 ISO15193 的要求);
- l) 室内质量控制和室间质量评价程序的说明;
- m) 实验室提供的计量服务声明;
- n) 避免卷入任何可能降低对实验室能力、公正性、判断或操作诚实性信任的活动的政策和程序;
- o) 发现不符合项或错误时应执行的反馈、纠正措施和报告程序;
- p) 处理偏离规定测量程序的政策和程序;
- q) 处理投诉并记录所采取措施的程序;
- r) 保护客户机密和所有权的程序;
- s) 内部审核和管理评审程序;
- t) 文件控制和维护程序;
- u) 遵守管理部门的要求;
- v) 关于认可状态和实施认可之机构的说明;
- w) 证书签发程序。

4.3 文件控制

4.4 要求、标书和合同的评审

4.5 检测和校准的分包

4.6 服务和供应品的采购

4.7 服务客户

4.8 投诉

4.9 不符合检测和/或校准工作的控制

4.10 改进

4.11 纠正措施

4.12 预防措施

4.13 记录的控制

4.14 内部审核

4.15 管理评审

5 技术要求

5.1 总则

实验室应建立运行日志，记录与参考测量相关的重要技术活动。

5.2 人员

5.2.1 酶学参考测量报告授权签字人应至少具有相关专业（如检验医学、生物化学、医学、计量学等）的硕士学位或高级技术职称，具有 5 年以上的相关专业校准工作经验，熟悉相关的法规和技术文件（见附录 C）。

关键测量人员应至少具有相关专业（如检验医学、生物化学、药学、公共卫生、医学等）的大专学历，具有 3 年以上酶学参考测量的工作经验。

5.2.2 实验室管理者应制订实验室人员的教育、培训和技能目标；应有确定培训需求和提供人员培训的政策和程序。实验室工作人员应接受有关参考方法、程序的教育和培训，有酶学专项培训经历；掌握给参考物质（校准品或质控品）赋值的方案和程序，掌握计算测量不确定度的方法；还应接受有关生物和化学品安全与防护的培训。实验室应有相应的培训记录以及评价这些培训活动有效性的具体措施和评价记录。

5.2.4 实验室至少应保留与其提供的计量学服务质量有关的实验室人员（包括签约人员）的技术档案。内容包括：技术人员（包括签约人员）的相关授权、能力、教育和专业资格、培训、技能和经验的记录，并包含授权和/或能力确认的日期。实验室应：

- a) 定期对技术人员进行周期性培训和能力评估，培训包括内部的和外部的；
- b) 对上岗人员和再上岗人员（未从事参考测量工作 3 个月以上）进行培训和能力评估；
- c) 保证操作人员专注于酶学参考测量工作并保持实验室人员的稳定。

5.3 设施和环境条件

5.3.1 应定期评估环境条件对测量结果及其不确定度的影响并形成评估报告。对需要控制的环境参数应按需要定期监测并记录，实验室应至少监测以下参数、有失控处理措施和相关的记录，包括：

a) 实验期间实验室温度应控制在 20-30℃，湿度应控制在 20%-80%；温湿度的位置应具代表性；

b) 每日监测并记录关键冰箱内的温度；

c) 对光照敏感的测量，实验室应采取有效防护措施；

d) 实验室内（实验台面）振动和磁场的强度应符合酶学参考测量的要求；振动应不大于仪器允许范围；漏磁通密度 $\leq 3\text{mT}$ ；

- e) 有其所在场所的气压变化的数据, 可以利用公共信息;
- f) 熟悉关键设备电源的稳定性和可靠性, 需要时, 应配备不间断电源;
- g) 需要时, 应控制室内空气的洁净度。

5.3.2 实验室应在风险评估的基础上制定并实施有关实验室安全管理的要求, 配备需要的安全防护设施、设备(如: 紧急淋洗和洗眼装置、烟雾报警器、生物安全柜、通风橱、负压罩、个体防护装备等)。

实验室应有安全处理和处置有毒、有害物质的规程和应急措施。对叠氮钠、硫柳汞、二巯基乙醇等以及生物源性危险材料的购买、使用、存放、销毁和记录应符合国家相关法规和标准的要求。适用时, 实验室应具备符合要求的存储设备和安保措施。

5.3.3 酶学参考测量活动应在独立的实验间内进行。

5.3.4 进行测量工作时, 应有措施防止无关人员随意进入。

5.3.5 实验室应有明确的内务管理要求、程序和计划, 以保证实验室的整洁、干净。在需要的位置, 应有符合国家规定的相关警示、指示、提醒等标识。

5.4 检测和校准方法及方法的确认

5.4.2 方法的选择

实验室应采用经 JCTLM 和/或国家权威机构等批准的参考方法(如: IFCC 发布的 ALT、AST、CK、LDH、GGT 和 AMY 测量酶活性浓度的方法)从事相关的参考测量服务; 适用时, 应使用本文件所引用的文件(见本文件条款 2)和附录 C 的相关文件中建议的术语、定义和表述方法。

a) 实验室应有相关参考方法的原始文件并确认实验室人员正确地理解了相关文件的要求;

b) 实验室应按照 ISO15193 的要求表述参考测量程序;

c) 实验室应制定执行相关参考测量程序的操作细则(SOP)。

5.4.5 方法的确认

5.4.5.1 实验室应提供实验数据和文件证据表明所用方法符合预期的性能要求。

5.4.5.3 对临床酶学参考测量程序的确认实验应至少包括:

- a) 温度变化与酶活性的关系;
- b) pH 值变化与酶活性的关系;
- c) 波长变化与酶活性的关系;
- d) 试剂质量分数的影响;
- e) 底物-速率线性(如果适用);
- f) 分光光度计的线性;
- g) 温孵、测量和延迟时间。

同时, 实验室应控制并提供以下与测量相关的性能及其在实施测量过程中的变化情况:

- a) 吸光值;
- b) 波长、光径(比色杯)、杂散光;
- c) 温度(比色杯内);
- d) 分光光度计的噪声和基线;
- e) 温度计的计量学水平;
- f) pH 计的计量学水平;
- g) 天平的计量学水平;
- h) 分液器具的计量学水平。

5.4.6 测量不确定度的评定

5.4.6.1 实验室应依据 GUM、QUAM 等文件的原则制定不确定度评估程序并实施,同时参见附录 B。

5.4.6.2 依据量值传递要求和 IFCC 参考方法现有测量水平,对酶学参考物质的测量

结果应在统计学达到无差异,即 $|En| \leq 1$, $E_n = \frac{X_{lab} - X_{ref}}{\sqrt{U^2_{lab} + U^2_{ref}}}$ 。

5.5 设备

5.5.2 实验室应具备可达到实施参考测量要求的全部设备。主要测量和检测设备的计量学性能要求见附录 A。

对于基本量(如:长度、质量、体积和温度)的测量,实验室应使用按规定定期经国家计量部门校准的仪器设备,须溯源至 SI 单位,包括:

- a) 分光光度计;
- b) 比色杯光径;
- c) 温度计;
- d) 天平;
- e) 分液器具。

对于不稳定的设备或参数,实验室应建立内部校准程序。在每次正式实验前,实验室均应对不稳定的设备或参数进行校准。实验室应至少具备以下符合预期用途的有证计量器具用于内部校准:

- a) 砝码;
- b) 水银温度计;
- c) 容量器具;
- d) 计时器具;
- e) 标准吸光材料;
- f) 标准缓冲液。

上述测量设备和用于内部校准的器具的不确定度水平或计量学等级应符合参考测量的技术要求。

相关时，应考虑、评估和记录环境温度、湿度、大气压力、光照、振动、磁场、辐射等对精确测量的影响，并采取相应措施。

5.5.4 每台设备均应有唯一身份。应将所有主要设备的使用和维护情况记录在有关文件中，内容至少包括：

- a) 实施的测量类型、控制或维护程序；
- b) 校准和检定状态；
- c) 测量或维护日期；
- d) 测量或维护人员；
- e) 维护原因（预防或故障修理）；
- f) 明确规定的操作条件（相关时）；
- g) 有必要应调查的异常情况。

5.5.13 实验室应制定有关溶液配制的程序，包括制备、标定、验证、有效期限及其标签的程序，并保存详细的配制记录。

5.5.14 实验室试剂应有标识，适用且需要时，至少应考虑标明以下内容：

- a) 溶液名称；
- b) 含量（浓度、滴度、活性等）；
- c) 储存要求；
- d) 制备或复溶日期；
- e) 效期；
- f) 制备人；
- g) 收到日期；
- h) 开封日期；
- i) 开封人；
- j) 安全警示/提示标识。

5.6 测量溯源性

5.6.1 总则

实验室应证明其测量结果可以按照 ISO 17511 和 ISO 18153 的要求，通过不间断的比较链溯源至现有最高计量学等级的参考物质或参考测量程序。报告的测量结果均应附有测量不确定度说明。

用于参考测量的对结果有显著影响的所有设备，包括辅助测量设备（如：用于测量环境条件的设备），在投入使用前均应保证其性能符合预期的要求。实验室应识别

需校准（包括内部校准）的设备并制定设备校准的程序和年度计划。

5.6.2.1.2 实验室应使用 JCTLM、国家权威机构颁布的参考物质。在为提供服务之前，实验室应参加国际公认的参考测量实验室室间比对（如：IFCC 的 RELA 计划），适用时，还应参加国家权威机构指定的实验室间比对（包括测量审核活动）；参加频次为至少 1 次/每年。

5.6.2.2 实验室在提供参考测量服务（如：给国际或国家参考物质、或候选参考物质赋值）时，应同时测量相当计量学等级的有证参考物质（如：ERM、JCERM、NIST 或国家参考物质等），详细记录并保留原始测量数据。实验室对参考物质进行赋值或对室间比对标本测量时，应制定赋值或测量计划，以及实施方案，并应保存详细的记录。

5.6.2.2.1 报告测量结果及其不确定度时，应合理保留有效数字的位数。多数情况下，表示不确定度无需超过两位有效数字。在估算和合成不确定度分量时，为了尽可能把数字修约误差降至最小，应至少需要三位有效数字。

5.6.3 参考物质

实验室应：

- a) 使用适宜的有证参考物质；
- b) 不得将同一参考物质同时用作校准物和质控物；
- c) 应按照参考物质证书的说明对其进行正确的制备、应用和保存；
- d) 考虑的因素至少包括：
 - 接到参考物质时和打开其包装后所需的保存条件和稳定性
 - 标识
 - 容器开启
 - 样品制备，如融化、复溶、混匀、环境条件等
 - 样本的分割
 - 测量过程
 - 开瓶后的保存与稳定性
 - 剩余材料的处理

5.6.3.2 实验室应明确对设备进行期间核查的政策，并制定期间核查的程序和年度计划。

5.6.3.3 实验室应有接收、确认、保存和使用参考物质和室间比对标本的程序和相应的记录，以防止其被污染或损坏，确保完整性。

5.7 抽样

5.7.1 需要时，实验室应制定基于统计学原理的抽样方法和程序，应识别和明确何时需要进行抽样。

5.8 检测和校准物品（样品）的处置

5.8.1 实验室应有样品识别、登记、标识以及对测量样品进一步处理（如：分装等；适用时，包括保管链）的操作程序。

5.8.4 实验室应有程序和适当的保存措施以避免在由实验室负责的运输过程中造成样品变质或损坏。

5.8.5 生物源性标本（如：血清、尿液、脑脊液和组织等）应视为有风险的传染性物质，应在风险评估的基础上制定采样、测量、废弃时的安全处理程序，相关的要求参见 GB19781。

5.9 检测和校准结果质量的保证

5.9.1 实验室应按照客户的要求确定测量目标和质量标准，并达到相应的计量学水平以使客户的参考物质、校准品、室间对比标本等可满足医学实验室常规检验的要求。

实验室应有明确的质控政策和规则，并保证所有的测量过程处于监控之下并符合相关的质量要求（包括对失控的处理）。为保持参考测量能力，实验室应有措施保证参考测量的工作（包括赋值、比对、方法研究、确认、改进等）量并每年进行评估。

实验室应根据商品参考物质（校准品或质控品）来源情况、赋值范围以及工作的频率等因素来制定室内质量控制方案，实验室：

- a) 应尽量使用与被测样品基质相同的有证参考物质（含校准品和质控品等）；
- b) 应测量足够数量的质控样品；
- c) 质控样品的测量值应在实验室声明的测量能力范围内；
- d) 应定期参加国际、区域和国家的参考实验室室间的比对计划；
- e) 应定期与同行参考测量实验室（如可行，包括境外的）进行比对；
- f) 应建立适宜的室内质控规则和计划；
- g) 应参照国际公认的标准规定实验室允许变异的范围或目标不确定度；
- h) 应制定对可疑结果的判断标准（如：失控规则）；
- i) 宜通过参考测量实验室网络提供重要的参考测量服务（如：对酶类的国家级参考物质赋值等）。

5.10 结果报告

5.10.2

参考测量结果报告或证书应符合 CNAS-CL32 5.8 的要求。此外：

a) 测量结果及其不确定度的报告内容应根据客户的要求、规范及结果的用途而确定；

b) 报告或记录中应说明计算结果及其不确定度的方法，包括：

- 测试步骤和数据计算步骤，确保结果可追溯
- 测量过程中所进行的所有修正和使用的常数及其来源
- 不确定度的计算过程

c) 除非另有规定，应同时报告测量结果和测量不确定度，置信概率应在 95%左右；报告方式如下：

测得值： 100.1 (U/L)

测量扩展不确定度 ($k=2$, 自由度)： 0.5 (U/L)

附录 A: (规范性附录)

临床酶学参考测量实验室主要设备的计量学性能要求

表 A.1 临床酶学参考测量实验室主要设备的计量学性能要求

仪器名称	计量参数	性能要求	备注
紫外、可见分光光度计	波长	$\pm 1\text{nm}$	
	波长重复性	$\leq 0.5\text{nm}$	
	透射比	$\pm 0.5\% \tau$	建议采用 ABTC (Roche) 检测。若采用重络酸钾方法检测, 1A 时, 不确定度要求为 0.010Abs。
	透射比重复性	$\leq 0.2\% \tau$	
	基线平直度	$\pm 0.002 \tau$	
	仪器噪音	在 500nm 透射比为 100% 噪音 $\leq 0.2\% \tau$	
	比色杯光径	$10.00 \pm 0.01\text{mm}$	
温度计	温度示值	$37^\circ\text{C} \pm 0.1^\circ\text{C}$	
pH 计	pH 示值	$\leq 0.05\text{pH}$	淀粉酶: $\leq 0.03 \text{ pH}$
移液器	容量	0.5-2ul: $\pm 10\%$; 2-10ul: $\pm 4\%$; 10-50ul: $\pm 1\%$; 50-2000ul: $\pm 0.5\%$;	
	测量重复性	0.5-2ul: $\leq 5.0\%$; 2-10ul: $\leq 3.0\%$; 0-50ul: $\leq 0.5\%$; 50-2000ul: $\leq 0.3\%$;	
天平	天平准确度级别	符合 JJG1036-2008 检定规程上高准确度级的天平要求	
单标线容量瓶	容量	1ml : $\pm 0.010 \text{ ml}$ 2 ml : $\pm 0.015 \text{ ml}$ 5 ml : $\pm 0.020 \text{ ml}$ 10 ml : $\pm 0.020 \text{ ml}$	

		25 ml : ± 0.03 ml	
		50 ml : ± 0.05 ml	
		100ml : ± 0.10 ml	
		200ml : ± 0.15 ml	
		250 ml : ± 0.15 ml	
		500 ml : ± 0.25 ml	
		1000 ml : ± 0.40 ml	
		2000 ml : ± 0.60 ml	

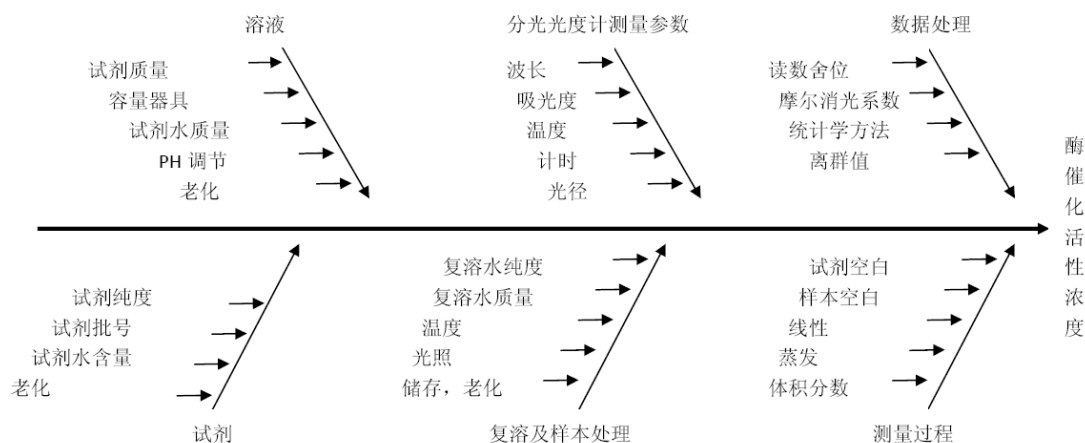
附录 B: (资料性附录)

临床酶学参考测量不确定度评定指南

A.1 依据

GUM 和 QUAM (见附录 C) 的原则和方法适用于临床酶学参考测量不确定度的评定。

A.2 临床酶学参考测量不确定度的建议鱼骨图如下:



A.3 实验室宜重点评定以下 (不限于) 来源的测量不确定度

- 波长
- 吸光度
- pH 值
- 温度
- 试剂批号
- 最终反应液中试剂的浓度
- 最终反应液中样本的体积分数
- 孵育、测量、延迟时间
- 比色杯中反应液的挥发量
- 样本和试剂溶液的老化
- 反应速率的线性
- 测量结果的标准差

A.4 评定实例

A. 4. 1 温度变化引入的相对标准不确定度的评定

a) 实验名称

温度变化对 GGT 测量不确定度的影响

b) 实验目的

评定温度变化对 GGT 测量不确定度的影响

c) 实验方法

以三种不同浓度的混合血清为实验样本，分别在 36℃、37℃、38℃ 进行 GGT 催化活性浓度的测量，根据测量结果分析温度变化对于 GGT 催化活性浓度测量的影响，建立测量温度与 GGT 催化活性浓度变化的函数关系，据此计算温度变化对 GGT 测量影响的灵敏系数，将温度作为 GGT 测量不确定度评定的独立因素参与 GGT 测量不确定度的评定与合成。

d) 实验结果

各浓度血清测量结果见表 A1。

表 A1 各浓度血清测量结果表

温度	测量结果 (U/L)			
	浓度 1	浓度 2	浓度 3	
36℃	1	56.2	99.1	227.1
	2	55.8	99.8	226.8
	3	56.8	98.2	227.9
37℃	1	58.8	103	238.2
	2	57.8	102.1	237.5
	3	58.4	103.6	237
38℃	1	60.5	106.2	242.5
	2	61.0	106.9	243.6
	3	60.1	105.8	242.8

e) 数据处理

各浓度血清数据处理结果见表 A2。

表 A2 各浓度血清数据处理结果表

温度		结果		
		1	2	3
36℃	均值 (U/L)	56.27	99.03	227.27
	SD (U/L)	0.50	0.80	0.57
	CV%	0.89	0.81	0.25
	相对均值%	96.46	96.24	95.66
	均值%	96.12		
37℃	均值 (U/L)	58.33	102.90	237.57
	SD (U/L)	0.50	0.75	0.60
	CV%	0.86	0.73	0.25
	相对均值%	100.00	100.00	100.00
	均值%	100.00		
38℃	均值 (U/L)	60.53	106.30	242.97
	SD (U/L)	0.45	0.56	0.57
	CV%	0.74	0.52	0.23
	相对均值%	103.77	103.30	102.27
	均值%	103.11		

GGT 催化活性浓度与温度的关系见图 A1。

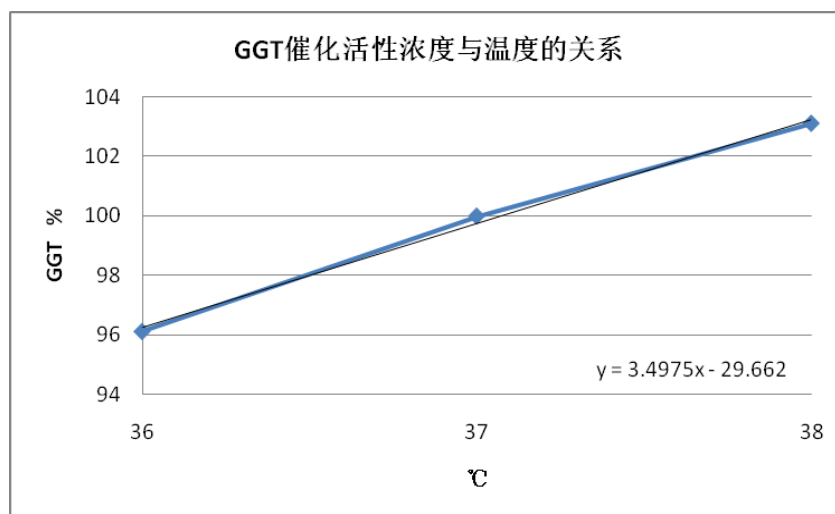


图 A1 GGT 催化活性浓度与温度的关系

温度对 GGT 测量影响灵敏系数的计算:

根据温度变化对 GGT 催化活性浓度影响的函数关系： $Y=3.4975X-29.662$ ，知温度每变化 1°C ，相应 GGT 催化活性浓度变化 3.50%（灵敏系数）。

f) 温度变化对 GGT 测量不确定度影响的评定

根据 IFCC—GGT 催化活性测量参考方法文件要求，GGT 测量温度变化不超过 0.1°C 。假定温度变化引起的 GGT 测量结果的变化为矩形分布，该输入量对 GGT 催化活性浓度测量引入的标准不确定度为 $\frac{0.1}{\sqrt{3}}$ 乘以温度变化对 GGT

测量影响的灵敏系数，即下式：

$$\begin{aligned} & \text{温度（输入量）引起的 GGT 催化活性浓度测量的相对标准不确定度} \\ &= \frac{0.1}{\sqrt{3}} \times 3.50\% = 0.20\%。 \end{aligned}$$

g) 实验结论

温度变化（输入量）引起的 GGT 催化活性浓度测量的相对标准不确定度为 0.20%。

A.4.2 波长变化引入的相对标准不确定度的评定

a) 实验名称

波长变化对 GGT 测量不确定度的影响

b) 实验目的

评定波长变化对 GGT 测量不确定度的影响

c) 实验方法

以三个浓度的混合血清为样本，分别采用 408.5nm、410nm、411.5nm 进行 GGT 催化活性浓度的测量，根据测量结果分析波长变化对于 GGT 催化活性浓度的影响，建立测量波长与 GGT 催化活性浓度变化的函数关系，据此计算波长变化对 GGT 测量影响的灵敏系数，将波长做为 GGT 测量不确定度评定的独立因素参与 GGT 测量不确定度的评定与合成。

d) 实验结果

各浓度血清测量结果见表 A3。

表 A3 各浓度血清测量结果表

波长	测量结果 (U/L)		
	1	2	3
408.5nm	58.9	118.7	261.1
	58.4	118.1	259.4
	58	117.9	258.8
	57.9	118.6	260.1
	58	118	260
410.0nm	56.6	113	248.2
	57.1	112.1	247.5
	56.5	113.6	247
	57.3	113.5	247.9
	55.9	112.5	248
411.5nm	53.5	107.1	236.8
	53.1	106.9	237.5
	53.1	106.1	236.1
	52.9	106.5	237
	54	107.2	236.5

e) 数据处理

各浓度血清数据处理结果见表 A4。

表 A4 各浓度血清数据处理结果表

温度		结果		
		1	2	3
408.5nm	均值 (U/L)	58.24	118.26	259.88
	SD (U/L)	0.42	0.36	0.86
	CV%	0.71	0.31	0.33
	相对均值%	102.75	104.71	104.91
	均值%	104.12		
410.0nm	均值 (U/L)	56.68	112.94	247.72
	SD (U/L)	0.55	0.64	0.48
	CV%	0.97	0.57	0.19
	相对均值%	100.00	100.00	100.00
	均值%	100.00		

411.5nm	均值 (U/L)	53.32	106.76	236.78
	SD (U/L)	0.44	0.46	0.53
	CV%	0.82	0.43	0.22
	相对均值%	94.07	94.53	95.58
	均值%	94.73		

GGT 催化活性浓度与波长的关系见图 A2。

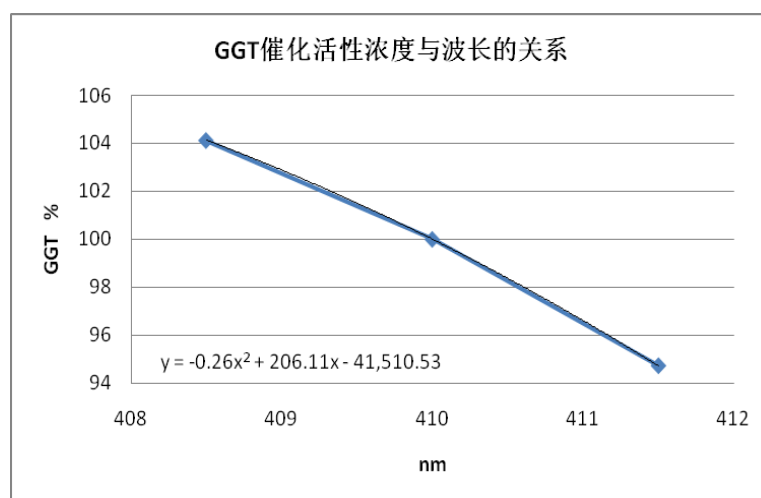


图 A2 GGT 催化活性浓度与波长的关系

波长对 GGT 测量影响灵敏系数的计算：

根据温度变化对 GGT 催化活性浓度影响的函数关系：
 $Y = -0.26X^2 + 206.11X - 41510.53$ ，知波长每变化 1nm，相应 GGT 催化活性浓度变化 3.39%（灵敏系数）。

f) 波长变化对 GGT 测量不确定度影响的评定

根据 IFCC—GGT 催化活性测量参考方法文件要求，GGT 测量波长变化不能超过 1nm，但是由于 GGT 测量受波长影响明显，因此实验室标准操作规程规定波长漂移不能大于 0.2nm。假定波长变化引起的 GGT 测量结果的变化为矩形分布，该输入量对 GGT 催化活性浓度测量引入的标准不确定度为 $\frac{0.02}{\sqrt{3}}$

乘以波长变化对 GGT 测量影响的灵敏系数，即下式：

波长（输入量）引起的 GGT 催化活性浓度测量的相对标准不确定度

$$= \frac{0.02}{\sqrt{3}} \times 3.39\% = 0.39\%。$$

g) 实验结论

波长变化（输入量）引起的 GGT 催化活性浓度测量的相对标准不确定度为 0.39%。

A.4.3 pH 变化引入的相对标准不确定度的评定

a) 实验名称

pH 变化对 Amylase 测量不确定度的影响

b) 实验目的

评定 pH 变化对 Amylase 测量不确定度的影响

c) 实验方法

以三种不同浓度的混合血清为样本，分别采用三种不同的反应液：pH 为 6.909，7.020，7.133 进行样本中 Amylase 的催化活性浓度的测量，根据测量结果分析 pH 变化对于 Amylase 催化活性浓度的影响，建立 pH 与 Amylase 催化活性浓度变化的函数关系，据此计算 pH 变化对 Amylase 测量影响的灵敏系数，将 pH 作为 Amylase 测量不确定度评定的独立因素参与 Amylase 测量不确定度的评定与合成。

d) 实验结果

各浓度血清测量结果表 A5。

表 A5 各浓度血清测量结果表

pH	测量结果 (U/L)		
	1	2	3
6.909	61.2	165.5	201.9
	61.0	166.3	202.6
	61.1	165.8	202.1
	60.9	166.7	203.7
	61.0	166.5	202.0
7.020	63.8	175.8	217.9
	64.6	177.3	217.3
	64.1	176.8	216.5
	64.0	177.2	218.0
	63.9	176.0	217.6

7.133	68.5	192.3	239.5
	67.9	191.1	238.1
	67.5	191.7	238.6
	68.7	190.2	237.9
	68.2	191.1	237.1

e) 数据处理

各浓度血清数据处理结果见表 A6。

表 A6 各浓度血清数据处理结果表

温度		结果		
		1	2	3
6.909	均值 (U/L)	61.04	166016	202.46
	SD (U/L)	0.11	0.50	0.74
	CV%	0.19	0.30	0.37
	相对均值%	95.26	94.08	93.10
	均值%	94.15		
7.020	均值 (U/L)	64.08	176.62	217.46
	SD (U/L)	0.31	0.69	0.60
	CV%	0.49	0.39	0.28
	相对均值%	100.00	100.00	100.00
	均值%	100.00		
7.133	均值 (U/L)	68.16	191.28	238.24
	SD (U/L)	0.48	0.78	0.89
	CV%	0.70	0.41	0.37
	相对均值%	106.37	108.30	109.56
	均值%	108.07		

Amylase 催化活性浓度与 pH 的关系见图 A3。

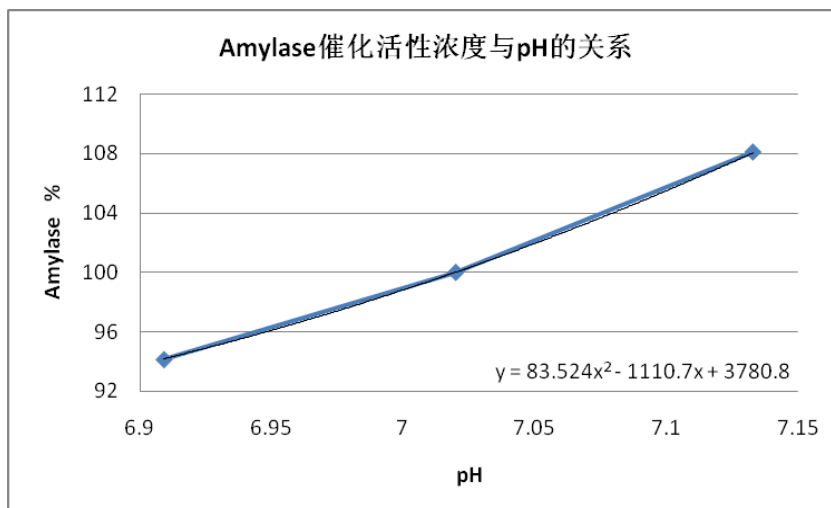


图 A3 Amylase 催化活性浓度与 pH 的关系

pH 对 Amylase 测量影响灵敏系数的计算:

根据 pH 变化对 Amylase 催化活性浓度影响的函数关系： $Y=83.524X^2-1110.7X+3780.8$ ，知 pH 每变化 0.03，相应 Amylase 催化活性浓度变化 2.00%（灵敏系数）。

f) pH 变化对 Amylase 测量不确定度影响的评定

根据 IFCC—Amylase 催化活性测量参考方法文件要求，测量 pH 变化不能超过 0.03。假定 pH 变化引起的 Amylase 测量结果的变化为矩形分布，因此该输入量对 Amylase 催化活性浓度测量引入的标准不确定度为 $\frac{0.03}{\sqrt{3}}$ 乘以

pH 对 Amylase 测量影响的灵敏系数，即下式：

$$\begin{aligned} & \text{pH (输入量) 引起的 Amylase 催化活性浓度测量的相对标准不确定度} \\ & = \frac{0.03}{\sqrt{3}} \times 2.00\% = 1.15\%。 \end{aligned}$$

g) 实验结论

pH（输入量）引起的 Amylase 催化活性浓度测量的相对标准不确定度为 1.15%。

A. 4. 4 合成标准不确定度

A. 4. 4. 1 合成标准不确定度 $u_c(y)$ 是个估计的标准差，是合理赋予被测量 Y 之值的表征其分散性的参数，根据不确定度传播律（鉴于酶学测量的特殊性，此处不确定度传

播律可简化为估计值的合成方差为 $u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left[\frac{\partial f}{\partial x_i} \right]^2 u^2(x_i)$ ，指输入量彼此独立或不相关的线性函数，不包括非线性函数的高阶项)，将每一影响因素按独立因素进行合成，相对合成标准不确定度计算公式如下：

$$u_{rel}(y) = \sqrt{u_{rel}^2(wl) + u_{rel}^2(temp) + u_{rel}^2(ph) + \dots}$$

合成标准不确定度计算公式如下：

$$u_c(y) = u_{rel}(y) \times \bar{x}$$

A. 4. 4. 2 实验室测量 GGT 催化活性浓度合成标准不确定度计算示例

假定实验室测量 GGT 催化活性浓度的不确定度来源有三个：温度、波长和实验室内复现性精密度，其中温度变化（输入量）引起的 GGT 催化活性浓度测量的相对标准不确定度为 0.20%，波长变化（输入量）引起的 GGT 催化活性浓度测量的相对标准不确定度为 0.39%，实验内复现性精密度为 0.35%，相对合成标准不确定度计算如下：

$$\begin{aligned} u_{rel}(GGT) &= \sqrt{u_{rel}^2(wl) + u_{rel}^2(temp) + u_{rel}^2(cv)} \\ &= \sqrt{(0.2\%)^2 + (0.39\%)^2 + (0.35\%)^2} \\ &= 0.56\% \end{aligned}$$

假如 GGT 催化活性浓度的测量均值为 125.4U/L，其合成标准不确定度计算如下：

$$u_c(GGT) = u_{rel}(GGT) \times \bar{x} = 0.56\% \times 125.4U/L = 0.703U/L$$

A. 4. 5 扩展不确定度

A. 4. 5. 1 扩展不确定度的计算方法

扩展不确定度的计算方法通常包括：

$$U = k \times u_c(y) \text{ 或 } U_p = k_p \times u_c(y)$$

其中 U/U_p 为扩展不确定度， k/k_p 为包含因子， $u_c(y)$ 为合成标准不确定度。对于第一种 $U = k \times u_c(y)$ 计算方法，因在实际工作中，大多数情况下假定 Y 值的分布为正态分布，且 V_{eff} （合成标准不确定度的自由度，即有效自由度，公式为 $V_{eff} = \frac{u^4(y)}{\sum_{i=1}^N \frac{u_i^4(y)}{v_i}}$ ），

并不太小 (>50) 时, 包含因子 K 推荐选择 2, 对 U 的估计, 其置信概率近似为 95%, 此种计算方法可包含测量结果预估值的大部分。但是, 当 V_{eff} 小于 6 时, 应选择第二种扩展不确定度的计算方法 $U_p = k_p \times u_c(y)$, 即依据置信概率 p (双侧) 的 t 分布临界值和公式 $k_p = t_p \times (v_{eff})$, 求出相应的包含因子 k 值, 一般采用的 p 值为 99% 或 95%, 多数情况下选择 95%。

A. 4. 5. 1 实验室测量 GGT 催化活性浓度扩展不确定度计算示例

$$\begin{aligned} U &= k \times u_c(y) \\ &= 2 \times 0.703 \\ &= 1.41U / L \end{aligned}$$

A. 4. 6 不确定度报告

GGT 测量催化活性浓度: $C_{GGT} = (125.4 \pm 1.41)U / L, k = 2$

附录 C: (资料性附录)

临床酶学参考参考实验室需参考的技术文件

- C1 BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML. Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)[M]. 1st edition. Switzerland: International Organization for Standardization, 1995.
- C2 BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML. International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (VIM)[M]. 2nd edition. Switzerland: International Organization for Standardization, 2008.
- C3 ILAC. ILAC Policy on Traceability of Measurement Results[S]. Australia: International Laboratory Accreditation Cooperation, 2002.
- C4 ILAC. Guideline on Assessment and Reporting of Compliance with Specification (based on measurements and tests in a laboratory) [S]. Australia: International Laboratory Accreditation Cooperation, 1996.
- C5 APLAC. Method of stating test and calibration results and compliance with specification[S]. Australia: the Asia Pacific region that accredit laboratories, 2006.
- C6 ISO. In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Presentation of reference measurement procedures[S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 2003.
- C7 ISO. In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Description of reference materials [S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 2003.
- C8 ISO. Clinical laboratory medicine — Requirements for reference measurement Laboratories[S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 2003.
- C9 ISO. In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in biological samples — Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials[S]. Switzerland: International Organization for Standardization, 2003.
- C10 ISO. In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in biological samples — Metrological traceability of values for catalytic concentration of enzymes assigned to calibrators and control materials [S].

- Switzerland:International Organization for Standardization , 2003.
- C11 IFCC.IFCC Primary Reference Procedures for the Measurement of Catalytic Activity Concentration of Enzymes at 37°C.Part1-9[S]. Germany: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2003.
- C12 ISO.Reference Materials-General and statistical Principals for certification(ISO Guide 35)[S].Switzerland:International Organization for Standardization, 2003.
- C13 CLSI.Evaluation of matrix effects;Approved gaideline(EP14-A2)[S].2nd edition.America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- C14 CLSI.Method comparison and bias estimation using patient sampls;Guideline-second edition (EP9-A2) [S].2nd edition. America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002.
- C15 IFCC, CLSI.Metrological traceability and its implementat;a raport(X5) Germany: International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine ;America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
- C16 Eurachem/CITAC.Quantifying uncertainty in analytical mesearment[S].QAUM:2000.P1

附录 D: (资料性附录)

本文件条款与 CNAS-CL32、CNAS-CL01 条款对照

表 D.1 本文件条款与 CNAS-CL32、CNAS-CL01 条款对照表

本文件条款	CNAS-CL32 条款	CNAS-CL01 条款
1	1	1
2	2	2
3	3	3
4.1	4.1	4.1
4.2	4.2	4.2
5.2	4.3	4.1.5,5.2
4.3	4.4	4.3
4.4,4.5	4.5	4.4,4.5
4.6~4.15		4.6~4.15
5.1		5.1
5.3	5.1	5.3
5.8	5.2	5.8
5.5	5.3	5.5,5.6.1,5.6.2.1
5.6.3	5.4	5.6.3
5.4	5.5	5.4
5.4.6,5.6	5.6	5.4.6,5.6
5.7		5.7
5.9	5.7	5.9
5.10	5.8	5.10