



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1789.4—2022

体外诊断检验系统 性能评价方法 第4部分：线性区间与可报告区间

In vitro diagnostic test systems—Performance evaluation method—
Part 4: Linear interval and reportable interval

2022-07-01 发布

2024-01-01 实施

国家药品监督管理局 发布

目 次

前言	III
引言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 线性区间的建立	2
4.1 总体要求	2
4.2 试验过程	3
4.3 试验数据处理	4
4.4 线性区间的确立	5
5 测量区间的建立	6
5.1 数据处理	6
5.2 测量区间的确立	6
6 可报告区间的建立	6
6.1 总体要求	6
6.2 可报告区间的上下限	6
6.3 样本准备	6
6.4 试验过程	7
6.5 可报告区间的确立	7
7 线性区间和测量区间的验证	8
7.1 总体要求	8
7.2 梯度样本的制备	8
7.3 验证方法	8
7.4 试验过程	8
7.5 线性区间和测量区间的确认	9
7.6 验证不通过时的改进措施	9
8 可报告区间的验证	9
8.1 总体要求	9
8.2 样本选择与准备	9
8.3 验证方法	9
8.4 试验过程	9
8.5 可报告区间的确认	9
8.6 验证不通过时的改进措施	9
附录 A (资料性) 线性区间、测量区间、可报告区间的建立和验证方法实例	11
A.1 线性区间试验样本制备稀释度方法实例	11
A.2 离群值检验法实例	12

A.3 线性区间判断方法实例	14
A.4 线性区间试验数据组不精密度检验方法实例	16
A.5 甲胎蛋白(AFP)检测试剂盒(磁微粒化学发光法)线性区间(测量区间)建立实例	17
A.6 钙(Ca)测定试剂盒(偶氮肿Ⅲ法)线性区间验证实例	24
A.7 β 人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)可报告区间(最大稀释倍数)建立实例	26
参考文献	28

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是 YY/T 1789《体外诊断检验系统 性能评价方法》的第 4 部分，YY/T 1789 已经发布了以下部分：

- 第 1 部分：精密度；
- 第 2 部分：正确度；
- 第 3 部分：检出限与定量限；
- 第 4 部分：线性区间与可报告区间。

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专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件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。

本文件起草单位：郑州安图生物工程股份有限公司、北京市医疗器械检验所、北京中关村水木医疗科技有限公司、河南省医疗器械检验所、北京市医疗器械技术审评中心、北京九强生物技术股份有限公司。

本文件主要起草人：李忠信、赵丙锋、杨宗兵、张娟丽、孙嵘、王晓建、李彬。

引言

在对体外诊断医疗器械产品进行性能评价时,体外诊断仪器、试剂、校准品等共同参与,反映的是仪器、试剂、校准品等组成的测量系统的性能,因此 YY/T 1789《体外诊断检验系统 性能评价方法》采用系统的概念进行描述。

分析性能的评价是指对测量系统检测患者样品结果可靠性的估计。体外诊断检验系统的分析性能包括精密度、正确度、准确度、检出限与定量限、线性区间与可报告区间、分析特异性等。YY/T 1789 拟由下列部分构成。

- 第 1 部分:精密度。目的在于给制造商对定量检验的体外诊断检验系统进行的精密度(包括重复性、实验室内精密度、实验室间精密度)性能评价提供方法指导。
- 第 2 部分:正确度。目的在于给制造商对定量检验的体外诊断检验系统进行的正确度性能评价提供方法指导。
- 第 3 部分:检出限与定量限。目的在于给制造商对定量检验的体外诊断系统进行的检出限与定量限性能评价提供方法指导。
- 第 4 部分:线性区间与可报告区间。目的在于给制造商对定量检验的体外诊断检验系统进行的线性区间与可报告区间性能评价提供方法指导。
- 第 5 部分:分析特异性。目的在于给制造商对定量检验的体外诊断检验系统进行的分析特异性性能评价提供方法指导。
- 第 6 部分:定性试剂的精密度、诊断灵敏度和特异性。目的在于给制造商对定性检验的体外诊断检验系统的精密度、诊断灵敏度和特异性、预测值评价等性能评价提供方法指导。

线性区间、测量区间与可报告区间是定量测定体外诊断试剂研发与评价的关键指标。线性区间是在排除随机误差的情况下反映待评价被测量在样本中稀释能力的指标,主要基于统计学计算;测量区间与可报告区间是基于待评价检测系统要求的随机误差范围内且包含系统误差的指标。采用定量限作为线性区间和可报告区间的下限。测量区间是在线性区间建立的基础上进一步考察测量结果的偏倚,理论上测量区间不超过线性区间。可报告区间的上限是测量区间上限与最大稀释倍数的乘积。

体外诊断检验系统 性能评价方法

第4部分：线性区间与可报告区间

1 范围

本文件规定了体外诊断检验系统的线性区间和可报告区间性能评价方法。

本文件适用于制造商对定量测定的体外诊断检验系统进行性能评价。

本文件不适用于结果报告为名义标度和序数标度的体外诊断检验系统的性能评价,例如用于血细胞鉴定、微生物分型、核酸序列鉴定、尿液颗粒鉴定,结果报告为阴性、阳性或1+、2+、3+的体外诊断检验系统。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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。

YY/T 1441 体外诊断医疗器械性能评估通用要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

偏倚 bias

系统测量误差的估计值。

注1: 偏倚反相关于正确度。

注2: 偏倚的估计是一系列测量值的平均值减去参考量值。

[来源:GB/T 29791.1—2013,A.3.25]

3.2

线性 linearity

给出与样品中被测量的值直接成比例的测得量值的能力。

注1: 对于体外诊断医疗器械,线性与测量示值校正或线性化后给定测量区间内的测量结果有关。

注2: 线性通过测量包含配方已知或相对关系已知(不必绝对知道)的被测量样品来评估。当测量结果相对被测量绝对或相对数值作图时,所划曲线对直线的符合程度即线性度的量度。

[来源:GB/T 29791.1—2013,A.3.21]

3.3

线性区间 linear interval

使实验系统的最终分析结果为可接受的线性的浓度范围,此时非线性误差应低于允许误差。

[来源:WS/T 408—2012,2.3]

3.4

测量区间 measuring interval

在规定条件下,可由给定测量仪器或测量系统以规定的仪器不确定度测量的相同类量的量值的集合。

[来源:GB/T 29791.1—2013,3.46]

3.5

可报告区间 reportable interval

体外诊断医疗器械性能特征已被验证的测量区间。

3.6

定量限 quantitation limit; limit of quantitation; LoQ

在规定的测量条件下以指定的测量不确定度能测量的样品中可被测量的最低值。

注 1: 在体外诊断标示中,有时候也被用来指检测下限、定量下限、测量下限。

注 2: 不鼓励使用术语“功能灵敏度”表示此概念。

[来源:GB/T 29791.1—2013,A.3.44]

3.7

性能声明 performance claim

在制造商提供的信息中给出的体外诊断医疗器械性能特征指标。

注: 可以基于前瞻性性能研究、现有性能数据或科学文献中发表的研究。

[来源:GB/T 29791.1—2013,3.51]

3.8

性能评价 performance evaluation

对预期成为体外诊断医疗器械的器械,为建立或验证其性能声明而进行的研究。

[来源:GB/T 29791.1—2013,3.52]

4 线性区间的建立

4.1 总体要求

4.1.1 基本要求

在进行试验前,应明确待评价项目的目标不确定度或允许误差(偏倚、不精密度)设定目标。

在进行线性区间试验时应满足以下要求:

- a) 所使用的样本不应有使试验结果无效的干扰存在且浓度或稀释度已知;
- b) 所使用的检测系统在检验的线性区间内其他各项性能均符合要求;
- c) 对系统的最后结果采用多项式进行线性区间的建立,应假设数据是非线性的,并假定试验过程不存在随机误差。

4.1.2 人员准备

试验操作人员应熟悉方法原理与操作系统,能对样本进行正确处理。

4.1.3 检测系统准备

4.1.3.1 仪器

仪器的各项性能指标(如精密度)应与标称值相符,不存在明显的携带污染等;应采用适当的校准品对仪器进行校准,确保仪器工作状态正常。

4.1.3.2 试剂

进行线性评价时不应采用过期试剂或不同批号试剂。试剂的贮存与配制应按照产品说明进行。

4.1.4 样本准备

4.1.4.1 基本要求

样本的选择应遵循以下要求：

- a) 样本基质应与临床样本相似,但不可采用含有对测量方法具有明确干扰作用物质的样本,如溶血、脂血、黄疸或含有某些特定药物的样本。
- b) 宜使用浓度为至少超过预期线性区间上限 120% 的临床样本,以及接近或位于线性区间下限的低浓度样本。
- c) 高浓度样本的选择应按照以下优先级进行:
 - 1) 可获得的天然单人份临床样本;
 - 2) 可获得的混合临床样本或在临床样本中添加分析物(加入量宜不超过总体积的 1/10);
 - 3) 商业质控物/定标物/线性物质。
- d) 低浓度样本的选择应按照以下优先级进行:
 - 1) 可获得的天然单人份临床样本;
 - 2) 处理过的临床样本;
 - 3) 推荐的稀释液/商业质控物/定标物/线性物质/生理盐水/水溶液等。
- e) 应至少使用 1 组高低值样本进行试验,其中高值样本记为 H,低值样本记为 L。

需在预期测量范围内选择至少 9 个浓度水平样本,所选用的浓度水平应可覆盖整个预期测量范围。

4.1.4.2 样本制备注意事项

样本制备时应考虑以下因素：

- a) 应选择经过校准且在有效校准周期内的移液装置;制备时应将样本完全混合并避免蒸发或其他使样本变质的情况;每份样本的浓度与体积单位应统一。
- b) 样本浓度水平应覆盖预期线性区间,包含性能指标中预设的最大值和最小值。

注:采用定量限作为样本浓度所覆盖的线性区间下限。

4.1.4.3 梯度样本制备方法

宜使用等间距或等比例稀释方法进行样本制备。如预期测量范围较宽,但该项目医学决定水平等应重点考核区段较窄时,可采用在特定区段内增加样本稀释点缩小样本间距的方式进行。不同项目及不同浓度水平个数的稀释方法实例见附录 A 中 A.1。

将低值样本 L 记为 0,将高值样本 H 记为 1,根据稀释比例计算各浓度样本稀释度。

注:对于不适合采用稀释方法获得较低浓度水平样本的待测分析物,可使用有目标值的多个样本进行线性试验测试。

4.2 试验过程

试验时,应在样本测量前后分别根据实验室室内质量控制规程进行室内质控,在质控结果在控的情况下进行样本测量。如测量前质控结果失控,则应分析原因并纠正;如出现测量后室内质控失控,则应重新试验。

每个水平样本重复检测 3 次~4 次。所有样本可在一次运行中测量或几次间隔很短的运行中随机测量。试验过程应在 1 d 之内完成。

4.3 试验数据处理

4.3.1 线性评价数据记录

可按表 1 进行数据记录,应注意保留原始数据。

表 1 线性区间建立数据记录表

样本编号	样本配制比例	重复测量结果 1	重复测量结果 2	重复测量结果 3	重复测量结果 4	实测均值
线性样本 1						
线性样本 2						
.....						

4.3.2 剔除离群值

通过离群值检验方法对试验数据进行检验。如果确定是分析或技术问题,纠正后重做试验;若仅有 1 个离群值,应剔除并补充数据;如果出现 1 个以上的离群值,应进行故障排除,重新试验。

离群值检验宜使用格拉布斯(Grubbs)检验法或狄克逊(Dixon)检验法,具体操作见 A.2。

4.3.3 多项回归分析

以线性样本的理论浓度或稀释度作为 X 轴,以实测浓度作为 Y 轴,对数据组进行多项回归分析,得到一阶、二阶与三阶多项式。一阶多项式为直线,二阶多项式表示上升曲线或下降曲线,三阶多项式表示 S 形曲线(在测量区间两端具有明显的非线性)。各阶方程的数学模型见表 2。

表 2 一阶、二阶、三阶多项式数学模型

阶数	多项式	回归自由度(R_{df})
一阶	$Y=b_0+b_1X$	2
二阶	$Y=b_0+b_1X+b_2X^2$	3
三阶	$Y=b_0+b_1X+b_2X^2+b_3X^3$	4

4.3.4 对回归方程进行线性检验

多元回归方程中以 b_i 表示的系数为回归系数。二阶方程中的 b_2 和三阶方程中的 b_2 、 b_3 为非线性系数。对回归方程进行线性检验就是对每个非线性系数作 t 检验,判断回归系数与零是否有显著性差异。 b_0 与 b_1 不反映非线性,故不需对其进行检验。对 b_2 与 b_3 的检验方法如下:

按式(1)计算统计量 t :

$$t = \frac{b_i}{SE_i} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

b_i ——非线性系数;

SE_i ——每个非线性系数的斜率标准误。

按式(2)计算自由度：

$$df = L \times R - R_{df} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

L ——浓度水平数；

R ——每个浓度水平的测量次数；

R_{df} ——回归自由度。

在 t 值表中查找 t 界值(双侧检验, $\alpha=0.05$), 将计算出的 t 值与界值比较。

比较结果可能出现 3 种情况。

- a) 二阶、三阶方程系数均 $P > 0.05$, 表示非线性系数与零无显著性差异, 数据组被认为具线性, 此时可对数据组进行不精密度检验, 具体方法见 A.4。当精密度符合线性判断要求时, 数据分析可结束。
- b) 二阶方程系数 b_2 或三阶方程系数 b_2/b_3 经检验, $P < 0.05$, 表示此非线性系数具有统计学显著性, 此时需通过计算各阶方程回归标准误 $s_{Y,X}$ 进行判断, 计算见式(3)。

$$s_{Y,X} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{L \times R} (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{L \times R - R_{df}}} \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中：

Y_i ——各阶方程 i 浓度水平下的实测值；

$\hat{Y}_i$ ——各阶方程 i 浓度水平下的拟合值；

L ——浓度水平数；

R ——每个浓度水平的测量次数；

R_{df} ——回归自由度。

若二阶方程和/或三阶方程的 $s_{Y,X}$ 大于一阶方程 $s_{Y,X}$, 则可认为该数据组的最适多项式为一阶方程, 呈线性, 可进行数据组的精密度检验。

- c) 二阶方程系数 b_2 或三阶方程系数 b_2/b_3 经检验 $P < 0.05$, 且一阶方程的 $s_{Y,X}$ 非最小, 则认为数据组为非线性, 此时应进行临床标准的线性区间的判断及数据组不精密度检验。

4.4 线性区间的确立

4.4.1 线性区间的判断

上述多项式回归分析主要是利用统计学方法进行线性判断, 统计学标准的线性可称为一阶线性, 对数据组的要求很高。对于在临床实验室中使用的测量方法, 在其临床应用实践中允许有一定的非线性不确定度或误差, 此时通过对统计学标准的非线性程度做判断, 可得到临床标准的线性。判断方法见 A.3。

当判定为临床不可接受的非线性时, 应考虑从以下两个方面进行处理：

- a) 排查线性试验所使用的样本准备是否合规、是否存在干扰物质、检测系统定标是否正常等情况, 并加以改正。
- b) 判断造成非线性的点是在中间段还是在两端。若在两端, 则需试着去除这些浓度点, 适当缩小预设范围, 并重新寻找合适样本再次进行试验。

4.4.2 数据组不精密度检验

通过与设定的允许不精密度比较, 判断数据组的不精密度是否符合要求, 如符合要求, 则本项目线性区间得以建立。如不符合, 则查找原因, 再次试验。数据组不精密度检验方法及判定方法见 A.3 和 A.4。

5 测量区间的建立

5.1 数据处理

根据 4.4.2 判断数据组的不精密度,如首尾两端稀释度不符合要求,则应去除影响不精密度的稀释度数据后再次判断。相对偏倚或绝对偏倚的计算分以下两种情况:

- a) 如已知线性样本的理论值时,计算每个稀释度结果与理论值的相对偏倚或绝对偏倚。
- b) 如仅知各线性样本的稀释度时,根据第 4 章中确定的最优拟合方程,将稀释度作为 X 代入方程中,计算该稀释度预估值,并计算每个稀释度结果与预估值的相对偏倚或绝对偏倚。

5.2 测量区间的确立

若单一稀释度下的相对偏倚或绝对偏倚不大于待评价项目的目标不确定度或允许误差,所获得的量值区间即为该项目的测量区间。如不符合,适当缩小测量区间。

注:测量区间建立所采用的数据为线性区间建立试验中的数据。

6 可报告区间的建立

6.1 总体要求

可报告区间(reportable interval)是针对临床诊断、治疗有意义的分析物浓度或活性范围。在临床测量过程中,可能会出现检测浓度或活性超出测量区间的情况,为得到相对准确的结果,以便帮助临床大夫进行临床判断,需通过对检测样本进行必要的预处理,包括稀释、浓缩等手段,使分析物浓度处于测量区间内。

人员准备和检测系统准备要求同 4.1.2 和 4.1.3。

6.2 可报告区间的上下限

下限:定量限。

上限:临床极限浓度或测量区间上限乘以最大稀释倍数。

本文件仅对不超过临床极限浓度的项目可报告区间上限的建立和验证方法进行说明。

6.3 样本准备

6.3.1 高值样本的准备

样本的选择应遵循以下要求:

- a) 样本基质要求:同 4.1.4.1 a)。
- b) 样本浓度选择:选择在测量区间内,但接近测量区间上限的样本。如无法获取高值样本,则可通过向真实样本中添加纯品分析物的方法进行。
- c) 样本例数选择:应至少使用 3 份测量区间内高值样本进行试验。

6.3.2 低值样本的准备

应选择经基质效应考核后,制造商认为其基质效应满足临床需求且易于临床获取的稀释液,宜优先使用制造商商品化配套稀释液、生理盐水或含蛋白的缓冲溶液,亦可选择经过处理的真实低值样本作为稀释液。

6.3.3 样本配制过程

利用选定的稀释液对 3 份高值样本进行不同比例的稀释,并记录稀释倍数。宜使用等间距或等比例稀释方法进行样本制备。

6.4 试验过程

6.4.1 试验方法

试验时,应在样本测量前后分别根据实验室室内质量控制规程进行室内质控,在质控在控的情况下进行样本测量。如出现测量前质控失控,则应分析原因并纠正;如出现测量后质控失控,则应将此次数据舍去,重新试验。

在一次运行中将 3 份高值样本及稀释样本进行测量,每个水平至少检测 3 次。

6.4.2 数据记录及处理

根据表 3 进行试验数据的记录,计算各样本不同稀释比例下的还原浓度,并计算与理论浓度的相对偏倚。

表 3 可报告区间建立与验证试验数据记录

样本编号	理论浓度	样本稀释比例	重复测量结果 1	重复测量结果 2	重复测量结果 3	实测均值	还原浓度	相对偏倚
样本 1								
样本 2								
样本 3								

6.5 可报告区间的确立

以相对偏倚不大于设定偏倚为判断标准,选取 3 份样本的相对偏倚均不大于设定偏倚的最大稀释

倍数为方法推荐的最大稀释倍数(小于此倍数的3份样本所有稀释比例的相对偏倚均不大于设定偏倚),测量区间上限与最大稀释倍数的乘积为该方法可报告区间的上限。

注:设定偏倚需要考虑稀释引入的误差。

7 线性区间和测量区间的验证

7.1 总体要求

人员、检测系统、样本选择等可参照第4章中建立部分进行。但鉴于验证可能选择多个批次进行,进行线性评价时,可选择不同批号试剂进行。

7.2 梯度样本的制备

采用高低值样本选择不同比例准确稀释,应至少选择一组高低值样本进行稀释,并且至少制备成5个浓度水平的样本,可采用等间距的比例稀释,也可根据待测物特点选择特定的稀释比例。具体稀释比例选择参考A.1所述。

将低值样本L记为0,高值样本H记为1,根据稀释比例计算各浓度样本稀释度。

7.3 验证方法

验证时,应在样本测量前后分别根据实验室室内质量控制规程进行室内质控,在质控在控的情况下进行样本测量。如出现测量前质控失控,则应分析原因并纠正;如出现测量后质控失控,则应将此次数据舍去,重新试验。

样本测量时,应尽可能在一个批次中完成,每个浓度水平至少重复3次。

7.4 试验过程

试验过程分以下流程进行:

- a) 数据记录:可参考表4进行数据记录,也可采用其他形式进行记录,但应注意保留原始数据。

表4 线性区间(测量区间)验证数据记录表

样本编号	样本配制比例	稀释度/理论值	重复测量结果1	重复测量结果2	重复测量结果3	实测均值
线性样本1						
线性样本2						
.....						

- b) 验证数据有效性判断:

- 1) 根据实验室室内质控规则确认本次试验数据的有效性;
- 2) 离群值判断:可使用A.2所列方法进行判断;
- 3) 数据剔除与补充原则:每个水平允许剔除数据不超过1个,如超过,需重新验证。

- c) 数据处理:在进行线性区间(测量区间)验证的数据处理与结果判读时,可采用两种方式进行。第一种方法为根据线性区间建立的方法,即“多项式回归法”,先假定制造商提供的试剂在其声明的线性区间内呈非线性,对拟合的二阶方程和三阶方程系数进行检验,判断是否是统计学线性、临床标准的线性,亦或是非线性。第二种方法为“线性回归结合偏倚法”,可假定制造商提供的试剂在其声明的线性区间内呈线性,使用一阶方程直接拟合,使用相关系数结合临床偏倚

进行判断。

1) 多项式回归法:参照第4章及第5章中所述方法进行。

2) 线性回归结合偏倚法:以理论值或稀释度为 x 轴,实测值为 y 轴,作散点图并利用最小二乘法作直线回归,得出线性回归方程 $Y=b_0+b_1X$ 及相关系数 r 。

如有理论值时,计算每个实测值与理论值的绝对偏倚或相对偏倚。

如无理论值时,将各浓度水平的稀释度作为 X 值代入线性回归方程中,计算每一个稀释度下符合线性的理论浓度,并计算每个稀释度的实测值与理论值的绝对偏倚或相对偏倚。

7.5 线性区间和测量区间的确认

结果判读:如果 $r>0.99$,则可初步判断建立的线性区间是符合要求的,若每一个稀释度结果的绝对偏倚或相对偏倚均不大于声称值,则可确认声称的测量区间是可接受的。

7.6 验证不通过时的改进措施

验证不通过时,应寻找原因并分析。

8 可报告区间的验证

8.1 总体要求

人员、检测系统、样本选择等参照第6章中建立部分进行。

8.2 样本选择与准备

选择至少1份在制造商声明测量区间内且接近测量区间上限的真实临床样本(如不易获取的情况下可采用向真实临床样本中添加分析物的方式)。

在制造商声明的最大可稀释倍数处,以及上下至少各选择一个稀释度,使用制造商给定的稀释液对高值样本进行稀释,记录稀释倍数。

8.3 验证方法

验证时,应在样本测量前后分别根据实验室室内质量控制规程进行室内质控,在质控在控的情况下进行样本测量。如出现测量前质控失控,则应分析原因并纠正;如出现测量后质控失控,则应将此次数据舍去,重新试验。

样本测量时,应尽可能在一个批次中完成,对原倍样本及各稀释比例样本各重复测量3次,记录结果。

8.4 试验过程

根据表3记录数据并处理,计算各稀释比例的还原浓度及与理论浓度的相对偏倚。

8.5 可报告区间的确认

以相对偏倚不大于制造商给定的偏倚限所对应的最大稀释比例为判断依据,若此比例不小于制造商声称的最大可稀释倍数,则制造商给定的可报告区间上限验证通过,即为测量区间上限乘以最大可稀释倍数。

8.6 验证不通过时的改进措施

宜从以下两方面进行改进:

- a) 重复试验。
- b) 自我排查试验过程可能存在的问题：
 - 1) 样本中是否存在干扰物质；
 - 2) 试验过程中出现交叉污染或结果出现偏离或漂移；
 - 3) 方法或试剂盒存在较大的变异；
 - 4) 测量结果本身存在较大偏倚。

附录 A

(资料性)

线性区间、测量区间、可报告区间的建立和验证方法实例

A.1 线性区间试验样本制备稀释度方法实例

A.1.1 甲胎蛋白(AFP)线性区间建立试验样本制备

AFP项目的预期线性区间上限在1 000 ng/mL,则线性区间试验的高浓度样本预期值应在1 300 ng/mL左右。同时,预期的正常人浓度水平主要分布在低浓度区。故制备该项目线性区间试验样本时应既考虑覆盖0 ng/mL~1 300 ng/mL的各个区段,还应重点考虑低浓度区段的样本设置,具体制备参考表A.1。

表 A.1 AFP 项目不同个数浓度水平样本制备稀释比例

样本编号	9 个浓度水平		11 个浓度水平		14 个浓度水平	
	配制比例	稀释度	配制比例	稀释度	配制比例	稀释度
线性样本 1	10L	0	10L	0	10L	0
线性样本 2	9.875L+0.125H	0.0125	9.875L+0.125H	0.0125	9.875L+0.125H	0.0125
线性样本 3	9.75L+0.25H	0.025	9.75L+0.25H	0.025	9.75L+0.25H	0.025
线性样本 4	9.5L+0.5H	0.05	9.5L+0.5H	0.05	9.5L+0.5H	0.05
线性样本 5	9L+1H	0.1	9L+1H	0.1	9L+1H	0.1
线性样本 6	7.5L+2.5H	0.25	8.5L+1.5H	0.15	8L+2H	0.2
线性样本 7	5L+5H	0.5	7L+3H	0.3	7L+3H	0.3
线性样本 8	2.5L+7.5H	0.75	5L+5H	0.5	6L+4H	0.4
线性样本 9	10H	1	3L+7H	0.7	5L+5H	0.5
线性样本 10	—	—	1.5L+8.5H	0.85	4L+6H	0.6
线性样本 11	—	—	10H	1	3L+7H	0.7
线性样本 12	—	—	—	—	2L+8H	0.8
线性样本 13	—	—	—	—	1L+9H	0.9
线性样本 14	—	—	—	—	10H	1
注：“—”代表无数据。“L”代表低值样本,“H”代表高值样本,“5L+5H”代表低值样本与高值样本的比例为“5:5”。						

A.1.2 谷丙转氨酶(ALT)线性区间验证试验样本制备

具体见表 A.2。

表 A.2 ALT 项目线性区间验证样本制备稀释比例

样本编号	5 个浓度水平		7 个浓度水平	
	配制比例	稀释度	配制比例	稀释度
线性样本 1	10L	0	10L	0
线性样本 2	9.5L+0.5H	0.05	9.75L+0.25H	0.025
线性样本 3	7.5L+2.5H	0.25	9L+1H	0.1
线性样本 4	5L+5H	0.5	7.5L+2.5H	0.25
线性样本 5	10H	1	5L+5H	0.5
线性样本 6	—	—	2.5L+7.5H	0.75
线性样本 7	—	—	10H	1

注：“—”代表无数据。“L”代表低值样本，“H”代表高值样本，“5L+5H”代表低值样本与高值样本的比例为“5：5”。

A.1.3 样本制备稀释比例选择的其他方法

具体见表 A.3。

表 A.3 ALT 项目线性区间试验样本制备稀释比例

样本编号	5 个浓度水平		7 个浓度水平		9 个浓度水平		11 个浓度水平	
	配制比例	稀释度	配制比例	稀释度	配制比例	稀释度	配制比例	稀释度
线性样本 1	10L	0	10L	0	10L	0	10L	0
线性样本 2	7.5L+2.5H	0.25	9L+1H	0.1	9L+1H	0.1	9L+1H	0.1
线性样本 3	5L+5H	0.5	8L+2H	0.2	8L+2H	0.2	8L+2H	0.2
线性样本 4	2.5L+7.5H	0.75	6L+4H	0.4	7L+3H	0.3	7L+3H	0.3
线性样本 5	10H	1	4L+6H	0.6	5L+5H	0.5	6L+4H	0.4
线性样本 6	—	—	2L+8H	0.8	3L+7H	0.7	5L+5H	0.5
线性样本 7	—	—	10H	1	2L+8H	0.8	4L+6H	0.6
线性样本 8	—	—	—	—	1L+9H	0.9	3L+7H	0.7
线性样本 9	—	—	—	—	10H	1	2L+8H	0.8
线性样本 10	—	—	—	—	—	—	1L+9H	0.9
线性样本 11	—	—	—	—	—	—	10H	1

注：“—”代表无数据。“L”代表低值样本，“H”代表高值样本，“5L+5H”代表低值样本与高值样本的比例为“5：5”。

A.2 离群值检验法实例

A.2.1 格拉布斯(Grubbs)检验法

A.2.1.1 计算均值与标准差

假设某次实验进行 4 次重复, $X_1=18.85$, $X_2=20.38$, $X_3=21.97$, $X_4=22.32$ 。将 4 个结果中最大

值记为 $X_{\max}$, 最小值记为 $X_{\min}$ 。由 4 个测量值计算均值 $\bar{x}$ 和标准差 s , 见式(A.1)和式(A.2)。

$$\bar{x} = \frac{X_1 + X_2 + X_3 + X_4}{4} \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

X_1, X_2, X_3, X_4 ——每组数据中的 4 次测量结果。

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^4 (X_i - \bar{x})^2}{3}} \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

i ——样品的重复测量次数;

X_i ——样品第 i 次测量结果。

A.2.1.2 计算统计量 t

统计量计算公式见式(A.3)和式(A.4)。

$$t_{\max} = \frac{X_{\max} - \bar{x}}{s} \quad \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

$X_{\max}$ ——测量结果中的最大值。

$$t_{\min} = \frac{\bar{x} - X_{\min}}{s} \quad \dots\dots\dots (A.4)$$

式中:

$X_{\min}$ ——测量结果中的最小值。

A.2.1.3 判断离群值

根据给定的显著性水平 α 和重复测量次数查表 A.4, 得临界值 $G_{1-\alpha/2(n)}$ 。

检验最大值时, 如 $t_{\max} > G_{1-\alpha/2(n)}$, 判定 $X_{\max}$ 为离群值。

检验最小值时, 如 $t_{\min} > G_{1-\alpha/2(n)}$, 判定 $X_{\min}$ 为离群值。

否则判未发现离群值, 具体数据见表 A.5。

表 A.4 Grubbs 检验临界值表

n	0.95	0.975	0.99	0.995
3	1.153	1.155	1.155	1.155
4	1.463	1.481	1.492	1.496

表 A.5 Grubbs 检验法数据统计表

样本编号	测量结果 ng/mL	$\bar{x}$ ng/mL	s	$t_{\max}$	$t_{\min}$	临界值 ($\alpha=0.05$)	离群值 判断($t_{\max}$)	离群值 判断($t_{\min}$)
1	18.85	20.88	1.595	0.902 8	1.272 7	1.481	非离群值	非离群值
2	20.38							
3	21.97							
4	22.32							

A.2.2 狄克逊(Dixon)检验法

A.2.2.1 高低端离群值统计量的计算

检验高端离群值的统计量计算见式(A.5),检验低端离群值的统计量计算见式(A.6)。

$$D_n = \frac{X_{(n)} - X_{(n-1)}}{X_{(n)} - X_{(1)}} \dots\dots\dots (A.5)$$

$$D'_n = \frac{X_{(2)} - X_{(1)}}{X_{(n)} - X_{(1)}} \dots\dots\dots (A.6)$$

式中:

- $X_{(1)}$ ——所有结果中最小的检测结果;
- $X_{(2)}$ ——从小到大排序第 2 小的检测结果;
- $X_{(n-1)}$ ——从小到大排序第 2 大的检测结果;
- $X_{(n)}$ ——所有结果中最大的检测结果。

A.2.2.2 判断离群值

根据给定的显著性水平 α 和重复测量次数查表 A.6,得临界值 $D_{1-\alpha(n)}$ 。

检验高端值时,如 $D_n > D_{1-\alpha(n)}$,则判定 $X_{(n)}$ 为离群值。

检验低端值时,如 $D'_n > D_{1-\alpha(n)}$,则 $X_{(1)}$ 为离群值。

否则判未发现离群值,具体数据见表 A.7。

表 A.6 双侧 Dixon 检验临界值表

n	0.95	0.99
3	0.970	0.994
4	0.829	0.926

表 A.7 Dixon 检验法数据统计表

样本编号	测量结果 ng/mL	D_n	D'_n	临界值 ($\alpha=0.05$)	高端离群值 判断	低端离群值 判断
1	18.85	0.101	0.441	0.829	非离群值	非离群值
2	20.38					
3	21.97					
4	22.32					

A.3 线性区间判断方法实例

本实例介绍两种临床标准的线性判定方法,一种根据最优拟合曲线与直线的平均差异值(average deviation from linearity,ADL)和有临床意义的临界相关界值(the cutoff for clinical relevance,PctBnd)进行判定,简称“ADL-PctBnd 法”;另一种根据线性偏倚 DL 进行判定,简称“线性偏倚法”。

A.3.1 ADL-PctBnd 法

A.3.1.1 计算 ADL

计算公式见式(A.7)和式(A.8)。

$$ADL = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [p(X_i) - (b_0 + bX_i)]^2}{n}}}{\bar{c}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.7)$$

$$\bar{c} = \frac{\sum_{i=1}^n Y_i}{L \times R} \quad \dots\dots\dots (A.8)$$

式中：

$p(X_i)$ ——最优拟合二阶或三阶方程的拟合值；

$b_0 + bX_i$ ——拟合一阶方程的拟合值；

n ——样本水平数；

$\bar{c}$ ——所有测量浓度的平均值；

Y_i ——第 i 个测量值。

A.3.1.2 计算最优拟合方程的回归标准误 $s_{Y,X}$ 值

计算见式(A.2)。

A.3.1.3 临床可接受非线性的判定

设定 PctBnd(大多数分析物取 5%)作为临床允许的不确定度或误差,将计算的 ADL 值代入临界值判断表中(表 A.8、表 A.9),若 ADL 小于临界值,则判定为临床可接受的非线性。否则,判定为临床不可接受的非线性。

表 A.8 不精密度和 ADL 的临界值(PctBnd=5%,1 阶或 2 阶方程)

$s_{Y,X}/\bar{c} \times 100\%$	$L \times R = 10$	$L \times R = 12$	$L \times R = 14$	$L \times R = 16$	$L \times R = 18$	$L \times R = 20$
1	5.5	5.5	5.4	5.4	5.4	5.4
2	6.1	6.0	5.9	5.8	5.8	5.7
3	6.6	6.4	6.3	6.3	6.2	6.1
4	7.1	6.9	6.8	6.7	6.6	6.5
5	6.6	7.4	7.2	7.1	7.0	6.9
6	8.2	7.9	7.7	7.5	7.4	7.2
7	8.7(P)	8.4(P)	8.1	7.9	7.8	7.6
8	P	P	8.6(P)	8.3(P)	8.1	8.0
9	P	P	P	P	8.5(P)	8.3(P)
>9	P	P	P	P	P	P

注：标注“P”的表格表示最优拟合方程的精密度太差,无法进行线性判断。

表 A.9 不精密度和 ADL 的临界值(PctBnd=5%, 3 阶方程)

$s_{Y,X}/\bar{c} \times 100\%$	$L \times R=10$	$L \times R=12$	$L \times R=14$	$L \times R=16$	$L \times R=18$	$L \times R=20$
1	5.5	5.5	5.4	5.4	5.4	5.4
2	6.1	6.0	5.9	5.9	5.8	5.8
3	6.7	6.5	6.4	6.3	6.2	6.2
4	7.2	7.0	6.9	6.8	6.7	6.6
5	7.8	7.6	7.4	7.2	7.1	7.0
6	8.4	8.1	7.9	7.7	7.5	7.4
7	9.0(P)	8.7(P)	8.4	8.2	8.0	7.8
8	P	P	8.9(P)	8.6(P)	8.4	8.2
9	P	P	P	P	8.9(P)	8.7(P)
>9	P	P	P	P	P	P

注：标注“P”的表格表示最优拟合方程的精密度太差，无法进行线性判断。

A.3.2 线性偏倚法

在线性评价时，若经统计学标准判断多项式回归为非线性，应计算在每个浓度水平下最优拟合方程与一阶方程的绝对偏倚 DL_i 及相对偏倚 $\%DL_i$ ，通过与预先设定的目标进行比较，如果小于预先设定不确定度或误差，即使检测到统计学上的非线性，由于非线性不确定度或误差小于设定目标，亦可认为是临床可接受的非线性。如果任意一个浓度点的 DL_i 或 $\%DL_i$ 超过设定目标，则代表该点可能是非线性，即可判定为临床不可接受的非线性。

每个浓度处的线性偏倚计算见式(A.9)和式(A.10)。

$$DL_i = p(X_i) - (b_0 + b_1 X_i) \quad \dots\dots\dots (A.9)$$

$$\%DL_i = \frac{p(X_i) - (b_0 + b_1 X_i)}{c_i} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.10)$$

式中：

c_i ——浓度水平 i 处的浓度值(已知值)或测量均值(相对浓度)。

A.4 线性区间试验数据组不精密度检验方法实例

本实例介绍两种数据组不精密度检验方法，一种结合 A.3.1 进行检验，简称“界值判断法”，其主要依据于 WS/T 408—2012；另一种根据所有浓度水平样本的重复测量结果的集合不确定度或误差进行检验，简称“集合不确定度或误差法”。

A.4.1 界值判断法

计算最优拟合方程的不精密度，并进行判断，见式(A.11)。

$$\frac{s_{Y,X}}{\bar{c}} \times 100\% < \text{PctBnd} \sqrt{\frac{L \times R}{C}} \quad \dots\dots\dots (A.11)$$

式中：

C ——不精密度界值常数，见表 A.10。

表 A.10 不精密度界值常数

最优拟合方程的阶数	不精密度界值常数 C
一阶或二阶	6.3
三阶	6.5

PctBnd 对大多数被测量取 5%，在最优拟合方程条件下，满足式(A.11)，则说明数据的精密度好，多项式回归分析有较高的统计功效。否则，数据的精密度不能作线性评价。

对数据组的不精密度检验，也可通过表 A.8 或表 A.9 进行判断，通过计算的最优拟合方程不精密度和 $L \times R$ ，确认二者对应临界值表中是否标注有 P ，若有，则表明测量数据的精密度差，不能满足进行线性判断的需求。在查表时，最优拟合方程的不精密度需向上取整数。

A.4.2 集合不确定度或误差法

计算集合绝对不确定度或误差 SD_r ，或集合相对不确定度或误差 CV_r ，见式(A.12)和式(A.13)。

$$SD_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^R (c_{ij} - \bar{c}_i)^2}{L \times (R - 1)}} \quad \dots\dots\dots (A.12)$$

$$CV_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^L \sum_{j=1}^R \left(\frac{c_{ij} - \bar{c}_i}{\bar{c}_i} \right)^2}{L \times (R - 1)}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.13)$$

式中：

c_{ij} ——浓度水平 i 处的 j 次实测值 ($j=1, 2, 3, \dots, R$)；

$\bar{c}_i$ ——浓度水平 i 处的实测均值。

将计算的 SD_r 或 CV_r 与设定的不精密度目标进行比较，如果超过设定目标则可能是精密度太差，不足以用来真实、可靠地评价线性。

A.5 甲胎蛋白(AFP)检测试剂盒(磁微粒化学发光法)线性区间(测量区间)建立实例

A.5.1 试验准备

根据第 4 章相关内容进行试验前准备工作，包括检测仪器、设备、人员、试剂、环境等方面。

A.5.2 样本准备

选择 3 份预期浓度在 1 200 ng/mL~1 300 ng/mL 的 AFP 高值样本，根据 A.1 所述方法，按照表 A.1 中 14 个浓度水平样本的稀释度，利用低值样本对高值样本进行稀释，每份样本分别制备含高低浓度水平在内的各 14 个浓度水平样本。

A.5.3 允许不精密度与线性允许误差的设定

以国家标准及行业标准为最低要求，并结合检测系统实际情况，设定线性区间建立时的允许不精密度为 $\leq 8\%$ ，线性允许误差为 $\leq 10\%$ 。

A.5.4 试验过程

试验时，应在样本测量前后分别根据实验室室内质量控制规程进行室内质控，在质控在控的情况下

进行样本测量。如出现测量前质控失控,则应检查仪器状态,排除问题;如出现测量后质控失控,则应将此次数据舍去,重新试验。

在对应的检测系统上,1 d 内做完所有样本,每个样本重复 4 次,线性样本应随机检测,最好穿插在临床样本中检测,避免携带污染所带来的非线性影响。

A.5.5 数据处理

A.5.5.1 数据记录

3 组样本数据记录及初步处理见表 A.11、表 A.12、表 A.13。

表 A.11 线性区间建立试验样本 1 数据

浓度水平	稀释度	重复测量 结果 1 ng/mL	重复测量 结果 2 ng/mL	重复测量 结果 3 ng/mL	重复测量 结果 4 ng/mL	实测均值 ng/mL
线性样本 1	0	4.63	4.56	4.55	4.42	4.54
线性样本 2	0.012 5	18.85	21.32	20.38	20.97	20.38
线性样本 3	0.025	35.94	37.10	35.65	35.53	36.06
线性样本 4	0.05	62.10	63.87	62.02	61.44	62.36
线性样本 5	0.1	131.06	135.4	137.71	133.02	134.30
线性样本 6	0.2	259.35	245.41	245.2	239.26	247.31
线性样本 7	0.3	386.52	382.51	358.52	396.21	380.94
线性样本 8	0.4	456.35	485.42	476.45	454.96	468.30
线性样本 9	0.5	596.66	576.83	598.56	589.47	590.38
线性样本 10	0.6	733.90	766.82	772.45	751.47	756.16
线性样本 11	0.7	872.75	801.89	780.68	812.21	816.88
线性样本 12	0.8	1 004.80	1 038.29	980.21	965.09	997.10
线性样本 13	0.9	1 082.34	1 039.38	1 041.17	1 068.15	1 057.76
线性样本 14	1	1 268.28	1 254.07	1 233.8	1 222.96	1 244.78

表 A.12 线性区间建立试验样本 2 数据

浓度水平	稀释度	重复测量 结果 1 ng/mL	重复测量 结果 2 ng/mL	重复测量 结果 3 ng/mL	重复测量 结果 4 ng/mL	实测均值 ng/mL
线性样本 1	0	4.52	4.43	4.60	4.48	4.51
线性样本 2	0.012 5	21.57	22.62	22.34	22.58	22.28
线性样本 3	0.025	36.82	39.14	38.44	37.18	37.90
线性样本 4	0.05	74.34	76.54	74.23	73.70	74.70

表 A.12 线性区间建立试验样本 2 数据 (续)

浓度水平	稀释度	重复测量 结果 1 ng/mL	重复测量 结果 2 ng/mL	重复测量 结果 3 ng/mL	重复测量 结果 4 ng/mL	实测均值 ng/mL
线性样本 5	0.1	133.74	137.81	139.22	134.23	136.25
线性样本 6	0.2	267.27	255.59	261.72	269.13	263.43
线性样本 7	0.3	394.40	381.33	393.30	387.99	389.26
线性样本 8	0.4	541.58	538.25	524.17	544.84	537.21
线性样本 9	0.5	703.30	719.45	698.78	718.11	709.91
线性样本 10	0.6	796.85	759.29	764.61	817.23	784.50
线性样本 11	0.7	957.05	934.20	996.88	921.36	952.37
线性样本 12	0.8	1 033.71	979.56	1 079.27	1 033.07	1 031.40
线性样本 13	0.9	1 208.77	1 221.54	1 249.82	1 185.93	1 216.52
线性样本 14	1	1 326.09	1 334.95	1 303.24	1 373.10	1 334.35

表 A.13 线性区间建立试验样本 3 数据

浓度水平	稀释度	重复测量 结果 1 ng/mL	重复测量 结果 2 ng/mL	重复测量 结果 3 ng/mL	重复测量 结果 4 ng/mL	实测均值 ng/mL
线性样本 1	0	4.74	4.88	4.61	4.68	4.73
线性样本 2	0.012 5	21.30	20.54	21.18	20.41	20.86
线性样本 3	0.025	32.22	31.94	31.70	32.11	31.99
线性样本 4	0.05	59.26	61.98	60.75	62.55	61.14
线性样本 5	0.1	124.71	131.45	130.80	127.95	128.73
线性样本 6	0.2	238.29	240.27	236.39	241.41	239.09
线性样本 7	0.3	380.69	375.73	390.72	384.16	382.83
线性样本 8	0.4	506.41	508.09	496.67	495.01	501.55
线性样本 9	0.5	590.79	578.99	592.06	565.76	581.90
线性样本 10	0.6	731.72	713.52	747.00	752.64	736.22
线性样本 11	0.7	863.24	852.31	829.74	815.70	840.25
线性样本 12	0.8	922.81	970.76	937.55	990.72	955.46
线性样本 13	0.9	1 087.00	1 007.54	1 079.44	1 031.22	1 051.30
线性样本 14	1	1 243.90	1 259.95	1 233.48	1 261.97	1 249.83

A.5.5.2 离群值检验

具体参照 A.2 中 Grubbs 方法进行。

以样本 1 浓度水平 1 为例。分别确定该浓度水平 4 个检测结果的最大值和最小值(分别为 $X_{\max}=4.63$, $X_{\min}=4.42$), 并计算总均值($\bar{x}=4.54$)与标准差($s=0.088$), 根据公式 $(X_{\max}-\bar{x})/s$ 及 $(X_{\min}-\bar{x})/s$ 计算最大值和最小值的 t 值($t_{\max}=1.028$, $t_{\min}=1.370$), 查找 Grubbs 检验临界 T 值表在 0.05 显著性水平下、重复 4 次时的 T 值($T=1.463$), 若 $t_{\max}$ 及 $t_{\min}$ 小于 T 值, 则不存在离群值, 若大于或等于, 则定义为离群值, 需剔除后进行下步计算。

每个样本剔除的离群值不得超过 1 个, 如果超过, 应进行重复试验或系统检查。

经检验, 本次试验无离群值。

A.5.5.3 多项式回归分析及线性检验

对上述各样本检测结果进行分析, 分别建立理论浓度及实测均值的一阶、二阶、三阶方程, 并对各阶方程的非线性系数 b_i 进行检验, 利用 $t=b_i/SE_i$ 计算各非线性系数 t 值, 并通过查找 t 界值表, 与相应自由度下的 t 值比较。

以 SPSS17.0 为例, 进行数据计算, 具体步骤如下:

- 将稀释度与实测均值粘贴入数据表中, 以稀释度为 x , 实测值为 y ;
- 依次点击“分析”“回归”“曲线估计”;
- 将稀释度导入变量栏, 实测值导入因变量栏, 勾选“线性”“二次项”“立方”, 并勾选“显示 ANOVA 表格”, 点击确定;
- 在输出中寻找各阶方程“系数”表, 其中“未标准化系数-标准误”即为对应的 SE_i 值;
- 统计各样本各阶方程的“估计值的回归标准误”。

各样本各系数检验结果见表 A.14、表 A.15、表 A.16。

表 A.14 线性区间建立试验样本 1 数据分析

阶别	系数符号	自由度	t 检验界值	系数 SE	t 检验	显著性	估计值的回归标准误
1	b_0	54	2.005	—	—	—	21.783
2	b_0	53	2.006	—	—	—	22.205
2	b_2			66.926	0.740	无显著性	
3	b_0	52	2.007	—	—	—	22.558
3	b_2			403.494	—0.677	无显著性	
3	b_3			272.345	0.811	无显著性	
注：“—”代表无数据。							

表 A.15 线性区间建立试验样本 2 数据分析

阶别	系数符号	自由度	t 检验界值	系数 SE	t 检验	显著性	估计值的回归标准误
1	b_0	54	2.005	—	—	—	18.514
2	b_0	53	2.006	—	—	—	19.321
2	b_2			58.232	-0.138	无显著性	

表 A.15 线性区间建立试验样本 2 数据分析 (续)

阶别	系数符号	自由度	t 检验界值	系数 SE	t 检验	显著性	估计值的回归 标准误
3	b_0	52	2.007	—	—	—	20.264
3	b_2			362.449	—0.034	无显著性	
3	b_3			244.641	0.012	无显著性	
注：“—”代表无数据。							

表 A.16 线性区间建立试验样本 3 数据分析

阶别	系数符号	自由度	t 检验界值	系数 SE	t 检验	显著性	估计值的回归标准误
1	b_0	54	2.005	—	—	—	19.488
2	b_0	53	2.006	—	—	—	20.095
2	b_2			60.564	0.535	无显著性	
3	b_0	52	2.007	—	—	—	17.932
3	b_2			320.743	—1.824	无显著性	
3	b_3			216.491	1.953	无显著性	
注：“—”代表无数据。							

最适拟合方式确定步骤(以样本 3 为例)如下:

- 根据 SPSS 计算所得各阶方程系数及 t 检验结果,除常数外,一阶方程 b_1 的 t 值为 78.665,当取 $\alpha=0.05$ 时,其大于自由度 54 下的 t 检验界值为 2.005(查 t 检验界值表所得),故一阶方程 b_1 判定为“显著”,以此类推,二阶方程的二阶系数 b_2 及三阶方程的三阶系数 b_3 的 t 值均小于该自由度下的 t 检验界值,故二阶和三阶方程无显著性,该样本通过线性检验,最适方程为一阶直线方程。
 - 若二阶或三阶方程的非线性系数经检验呈显著性,应与一阶方程对比“估计值的回归标准误”,回归标准误最小者为该样本结果的最适拟合方程。
 - 若通过比较回归标准误判定二阶或三阶方程为最适方程时,应进行临床可接受的非线性检验。对各浓度点最适方程拟合值与一阶方程拟合值计算偏倚,如果偏倚均小于设定的线性拟合偏倚,则可认为“非线性误差在临床上可接受,判定试验结果呈线性”;
 - 若判定最适方程为二阶或三阶方程,且临床可接受非线性检验无法通过,则应进行以下操作:
 - 试图找到非线性的原因(样本准备、干扰物质、仪器校准等);
 - 观察测量值与预期值散点图,判断非线性是在分析浓度范围的两端或是中间,如果是在两端,试着舍去偏倚最大值的浓度点,重新进行试验及统计分析。但这样会缩小线性区间。
- 经以上步骤判断,3 组样本结果的最适拟合方程均为一阶方程。

A.5.5.4 数据组不精密度检验

根据式(A.13)计算 3 组样本的数据组不精密度分别为 3.1%、2.5%、2.2%,均小于 8% 的设定误差

目标,不精密度符合要求。

A.5.5.5 测量区间计算

根据稀释度及最适拟合方程(一阶方程),将稀释度作为 x 值代入方程中计算该稀释度预估值,并计算每个稀释度结果与预估值的相对偏倚或绝对偏倚。各样本计算结果见表 A.17、表 A.18、表 A.19。

表 A.17 测量区间建立试验样本 1 数据分析

浓度水平	稀释度	最适方程预估值 ng/mL	测量结果偏倚
线性样本 1	0	4.28	6.07%
线性样本 2	0.012 5	19.40	5.05%
线性样本 3	0.025	34.52	4.46%
线性样本 4	0.05	64.75	−3.69%
线性样本 5	0.1	125.22	7.25%
线性样本 6	0.2	246.16	0.47%
线性样本 7	0.3	367.10	3.77%
线性样本 8	0.4	488.04	−4.04%
线性样本 9	0.5	608.98	−3.05%
线性样本 10	0.6	729.92	3.59%
线性样本 11	0.7	850.86	−3.99%
线性样本 12	0.8	971.80	2.60%
线性样本 13	0.9	1 092.74	−3.20%
线性样本 14	1	1 213.68	2.56%

表 A.18 测量区间建立试验样本 2 数据分析

浓度水平	稀释度	最适方程预估值 ng/mL	测量结果偏倚
线性样本 1	0	4.64	−2.80%
线性样本 2	0.012 5	21.26	4.80%
线性样本 3	0.025	37.88	0.05%
线性样本 4	0.05	71.12	5.03%
线性样本 5	0.1	137.61	−0.99%
线性样本 6	0.2	270.58	−2.64%
线性样本 7	0.3	403.55	−3.54%

表 A.18 测量区间建立试验样本 2 数据分析 (续)

浓度水平	稀释度	最适方程预估值 ng/mL	测量结果偏倚
线性样本 8	0.4	536.52	0.13%
线性样本 9	0.5	669.49	6.04%
线性样本 10	0.6	802.46	-2.24%
线性样本 11	0.7	935.43	1.81%
线性样本 12	0.8	1 068.40	-3.46%
线性样本 13	0.9	1 201.37	1.26%
线性样本 14	1	1 334.34	0.00%

表 A.19 测量区间建立试验样本 3 数据分析

浓度水平	稀释度	最适方程预估值 ng/mL	测量结果偏倚
线性样本 1	0	4.48	5.58%
线性样本 2	0.012 5	19.52	6.86%
线性样本 3	0.025	34.56	-7.44%
线性样本 4	0.05	64.64	-5.41%
线性样本 5	0.1	124.80	3.15%
线性样本 6	0.2	245.12	-2.46%
线性样本 7	0.3	365.44	4.76%
线性样本 8	0.4	485.76	3.25%
线性样本 9	0.5	606.08	-3.99%
线性样本 10	0.6	726.40	1.35%
线性样本 11	0.7	846.72	-0.76%
线性样本 12	0.8	967.04	-1.20%
线性样本 13	0.9	1 087.36	-3.32%
线性样本 14	1	1 207.68	3.49%

A.5.6 结论

经试验,样本 1 的线性区间(测量区间)为 4.54 ng/mL~1 244.78 ng/mL,样本 2 的线性区间(测量区间)为 4.51 ng/mL~1334.35 ng/mL,样本 3 的线性区间(测量区间)为 4.73 ng/mL~1 249.83 ng/mL。

使用多组样本进行线性区间(测量区间)建立时,以取最窄范围为建立的线性区间(测量区间),故经

试验分析后将线性区间(测量区间)设定为 4.73 ng/mL~1 244.78 ng/mL。

A.6 钙(Ca)测定试剂盒(偶氮胂Ⅲ法)线性区间验证实例

A.6.1 试验准备

根据第 4 章相关内容进行试验前其他准备工作,包括检测仪器、设备、人员、试剂、环境等方面。

根据 WS/T 403—2012,将钙离子检测的允许不精密度设定为不大于 2%,线性允许误差为不大于 2.5%。

A.6.2 样本准备

该试剂盒厂商声称线性区间为 0.2 mmol/L~4.5 mmol/L,在接近该范围上下限处各选择一份真实高值临床样本(H),一份真实低值临床样本(L),根据表 A.20 稀释比例配制成 6 个梯度线性验证样本,并计算稀释度。

表 A.20 Ca 线性区间验证试验样本配制比例

浓度水平	稀释比例	稀释度
线性评价样本 1	10L	0
线性评价样本 2	8L+2H	0.2
线性评价样本 3	6L+4H	0.4
线性评价样本 4	4L+6H	0.6
线性评价样本 5	2L+8H	0.8
线性评价样本 6	10H	1

A.6.3 试验过程

试验时,应在样本测量前后分别根据实验室室内质量控制规程进行室内质控,在质控在控的情况下进行样本测量。如出现测量前质控失控,则应检查仪器状态,排除问题;如出现测量后质控失控,则应将此次数据舍去,重新试验。

每个水平重复 3 次。所有样本应在一次运行中随机测量,在 1 d 之内完成。

A.6.4 数据记录与处理

记录各样本检测结果,见表 A.21。

根据 A.2 所述进行离群值检验,经检验,本试验无离群值。

表 A.21 Ca 线性区间验证试验数据记录

样本编号	稀释度 mmol/L	重复测量结果 1 mmol/L	重复测量结果 2 mmol/L	重复测量结果 3 mmol/L	实测均值 mmol/L
线性样本 1	0	0.21	0.21	0.21	0.21
线性样本 2	0.2	1.03	1.01	1.04	1.025
线性样本 3	0.4	1.82	1.86	1.84	1.84

表 A.21 Ca 线性区间验证试验数据记录 (续)

样本编号	稀释度 mmol/L	重复测量结果 1 mmol/L	重复测量结果 2 mmol/L	重复测量结果 3 mmol/L	实测均值 mmol/L
线性样本 4	0.6	2.73	2.75	2.68	2.72
线性样本 5	0.8	3.54	3.53	3.55	3.54
线性样本 6	1	4.28	4.26	4.31	4.28

A.6.5 多项式回归分析及线性检验

具体数据见表 A.22。

表 A.22 Ca 线性区间验证数据多项式回归分析

阶别	系数符号	自由度	t 检验界值	系数 SE	t 检验	显著性	估计值的回归 标准误 $s_{Y,X}$
1	b_0	16	2.120	—	—	—	0.037
2	b_0	15	2.131	—	—	—	0.036
2	b_2			0.148	—1.069	无显著性	
3	b_0	14	2.145	—	—	—	0.017
3	b_2			0.411	2.890	显著	
3	b_3			0.270	—3.326	显著	
注：“—”代表无数据。							

经检验,三阶方程系数均呈显著性,且回归标准误小于一阶方程,最适多项式为三阶方程,该结果不成线性,应进行临床可接受的非线性检验。

A.6.6 临床可接受的非线性检验

使用 A.3.1 所述方法进行,根据一阶及三阶方程系数,并根据式(A.7)及式(A.8)分别计算 $\bar{c}$ 、ADL,见表 A.23。

表 A.23 Ca 临床可接受标准的线性与非线性检测数据

浓度水平	一阶方程拟合值	三阶方程拟合值	$\bar{c}$	ADL	$s_{Y,X}/\bar{c}$
线性评价样本 1	0.21	0.21	2.27	0.88%	0.75%
线性评价样本 2	1.04	1.01			
线性评价样本 3	1.86	1.86			
线性评价样本 4	2.68	2.71			
线性评价样本 5	3.50	3.54			
线性评价样本 6	4.33	4.28			

查表 A.8, 取 $\text{PctBnd}=5\%$, 在 $s_{y,x}/\bar{c}=0.75\%\approx 1\%$, 对应 $L\times R=18$ 的情况下, 计算的 ADL 值小于其临界值 5.5% , 可认为是临床可接受的非线性。

同时, 根据式(A.11)及表 A.10, 该数据组的不精密度经检测符合要求。

A.6.7 结论

经验证, 线性区间 $0.21\text{ mmol/L}\sim 4.28\text{ mmol/L}$ 为临床可接受的非线性, 与制造商声称的线性区间基本一致。

A.7 β 人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)可报告区间(最大稀释倍数)建立实例

A.7.1 试验准备

根据第 4 章相关内容进行试验前其他准备工作, 包括检测仪器、设备、人员、试剂、环境等方面。

A.7.2 样本准备

准备在测量区间上限 $1/3$ 内的临床高值样本 3 份, 使用试剂盒系统稀释液或推荐稀释液, 进行等比或非等比稀释, 每份临床样本至少稀释 5 个浓度, 最大稀释倍数不超过测量区间上限/下限。

A.7.3 允许偏倚的设定

允许偏倚设定为不大于 $\pm 15\%$ 。

A.7.4 试验过程

试验时, 应在样本测量前后分别根据实验室室内质量控制规程进行室内质控, 在质控在控的情况下进行样本测量。如出现测量前质控失控, 则应检查仪器状态、排除问题; 如出现测量后质控失控, 则应将此次数据舍去, 重新试验。

对 3 份样本稀释后, 在一次运行中将每个稀释倍数均重复测量 3 次, 记录结果。

A.7.5 数据记录与处理

具体数据见表 A.24。

表 A.24 β -HCG 可报告区间建立数据

样本编号	理论浓度 mIU/mL	稀释 倍数	重复测量 结果 1 mIU/mL	重复测量 结果 2 mIU/mL	重复测量 结果 3 mIU/mL	实测均值 mIU/mL	还原浓度 mIU/mL	相对偏倚
高值 样本 1	1 823.21	5	338.12	335.09	344.48	339.23	1 696.15	-6.97%
		25	75.73	71.84	73.59	73.72	1 843.00	1.09%
		50	38.22	39.03	37.20	38.15	1 907.50	4.62%
		100	20.41	19.18	17.53	19.04	1 904.00	4.43%
		200	9.97	10.75	10.51	10.41	2 082.00	14.19%

表 A.24 β -HCG 可报告区间建立数据 (续)

样本编号	理论浓度 mIU/mL	稀释 倍数	重复测量 结果 1 mIU/mL	重复测量 结果 2 mIU/mL	重复测量 结果 3 mIU/mL	实测均值 mIU/mL	还原浓度 mIU/mL	相对偏倚
高值 样本 2	1 536.44	5	290.53	278.66	265.95	278.38	1 391.90	-9.41%
		25	54.90	57.05	61.36	57.77	1 444.25	-6.00%
		50	30.29	32.14	31.23	31.22	1 561.00	1.60%
		100	17.95	17.15	16.83	17.31	1 731.00	12.66%
		200	9.13	9.67	8.80	9.2	1 840.00	19.76%
高值 样本 3	1 711.87	5	308.86	333.45	325.25	322.52	1 612.60	-5.80%
		25	66.32	68.07	64.03	66.14	1 653.50	-3.41%
		50	31.40	34.59	32.86	32.95	1 647.50	-3.76%
		100	19.03	18.87	18.38	18.76	1 876.00	9.59%
		200	9.77	10.30	10.74	10.27	2 054.00	19.99%

3 份样本在稀释倍数 100 倍及以下时,实测均值与理论值的偏倚均小于 $\pm 15\%$,而 200 倍时两份样本偏倚已超过允许偏倚,故最大稀释倍数为 100 倍。

A.7.6 结论

可报告区间为 3.0 mIU/mL(声称 LoQ)~200 000 mIU/mL(声称测量区间上限 $\times$ 最大稀释倍数)。

参 考 文 献

- [1] GB/T 4883—2008 数据的统计处理和解释 正态样本离群值的判断和处理
 - [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] WS/T 403—2012 临床生物化学检验常规项目分析质量指标
 - [4] WS/T 408—2012 临床化学设备线性评价指南
 - [5] EP6-A Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures; A Statistical Approach; Approved Guideline(2010)
-

