



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1455—2016

应用参考测量程序对酶催化活性浓度赋值 及其不确定度评定指南

Guidelines for values assignment of catalytic activity concentrations of enzymes
using reference measurement procedures and evaluation of uncertainty

2016-01-26 发布

2017-01-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布



目 次

前言	I
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 符号和缩略语	1
4 赋值	2
4.1 参考测量程序的选择	2
4.2 建立溯源性	2
4.3 参考测量程序的评定	2
4.4 实验室内部质量控制	6
4.5 样本测量	6
5 测量不确定度评定	6
5.1 不确定度的来源分析	6
5.2 测量模型的建立	8
5.3 标准不确定度的评定	9
5.4 合成标准不确定度的计算	10
5.5 扩展不确定度的确定	11
6 测量结果及其不确定度评定结果的报告	11
附录 A (资料性附录) 酶学参考测量程序信息表	12
附录 B (资料性附录) 限值在其他文献或活动中给出的信息	13
附录 C (资料性附录) LDH 赋值过程及不确定度评定方法举例	14
附录 D (资料性附录) 使用灵敏系数进行 LDH 测量不确定度评定举例	19
参考文献	22

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。

本标准由国家食品药品监督管理总局提出。

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、四川迈克科技生物股份有限公司、上海复星长征医学科学有限公司、深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司、宁波美康生物科技股份有限公司。

本标准主要起草人:杨宗兵、吕磊、吴杰、王英国、邹继华。

应用参考测量程序对酶催化活性浓度赋值 及其不确定度评定指南

1 范围

本标准规定了应用参考测量程序对酶催化活性浓度赋值及其不确定度评定的方法。

本标准适用于体外诊断系统的参考测量实验室应用参考测量程序对酶催化活性浓度赋值及其不确定度评定工作。

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 15000.3 标准样品工作则(3) 标准样品 定值的一般原则和统计方法

YY/T 0638 体外诊断医疗器械 生物样品中量的测量 校准品和控制物质中酶催化浓度赋值的计量学溯源性

WS/T 403—2012 临床生物化学检验常规项目分析质量指标

3 符号和缩略语

3.1 符号

下列符号适用于本文件。

U :扩展不确定度。

U_{rel} :相对扩展不确定度。

$u_{\text{c,rel}}$:合成不确定度。

$\alpha_1; \alpha_2$:预先选择的调整值。

3.2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

ALP:碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase)

ALT:丙氨酸氨基转移酶(Alanine Aminotransferase)

AMY:淀粉酶(α -amylase)

AST:天门冬氨酸氨基转移酶(Aspartate Aminotransferase)

BIPM:国际计量局(Bureau International des Poids et Mesures)

CK:肌酸激酶(Creatine Kinase)

CNAS:中国合格评定国家认可委员会(China National Accreditation Service for Conformity Assessment)

CRM:有证参考物质(Certified Reference Material)

CV:变异系数(Coefficient of Variance)

GGT: γ -谷氨酰基转移酶(γ -Glutamyltransferase)

IFCC: 国际临床化学和检验医学联合会(International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine)

ILAC: 国际实验室认可合作组织(International Laboratory Accreditation Cooperation)

JCTLM: 国际检验医学溯源联合会(Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine)

LDH: 乳酸脱氢酶(Lactate Dehydrogenase)

RELA: 检验医学参考实验室室间质量评价(External Quality Assessment for Reference Laboratories in Laboratory Medicine)

SD: 标准(偏)差(Standard Deviation)

4 赋值

4.1 参考测量程序的选择

4.1.1 概述

人血清中酶催化活性浓度测定是临床诊断、治疗、监测的重要医学指标。酶学测量是临床化学中测量频率很高的项目,其标准化工作尤为重要。目前 IFCC 颁布的 37 °C 时酶学测量的参考方法主要有 ALT、AST、ALP、AMY、GGT、CK、LDH 七个项目。2002 年 JCTLM(由 BIPM、IFCC、ILAC 组成)开始运行参考测量程序实验室之间的质量评价(RELA)活动,为酶学测量的标准化起到了重要的推动作用。

4.1.2 参考测量程序的选择

酶催化活性浓度测量的参考测量程序主要包括:JCTLM 网站列表的参考测量程序(见附录 A)、相关国家标准、行业标准中规定的参考测量程序。

4.2 建立溯源性

酶学测量中,IFCC 出版了一系列的一级参考测量程序。使用这一系列参考测量程序时,SI 单位定义为“摩尔每秒立方米($\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-3}$)”,国际计量局将其命名为“卡特每立方米(katal m^{-3})”,是溯源等级的最高级,通常以 $\mu\text{kat/L}$ 或 U/L 表示, $1 \text{ katal m}^{-3} = 10^3 \mu\text{kat/L} = 6 \times 10^4 \text{ U/L}$ 。作为酶学测量的测量标准,其催化活性浓度的测量按照 37 °C 时 IFCC 参考测量程序进行。运行参考测量程序时,试剂配制及每一步骤的测量均应严格按照 IFCC 程序详细规定进行,其中涉及的温度、质量、体积均溯源至我国法定计量单位。

为了建立、证明活性浓度测量的溯源性,对参考测量程序中规定的以下步骤应进行严格控制:

- 称量:使用计量合格的万分之一天平(或十万分之一)进行所有称量;
- 溶液配制过程中所涉及化学试剂的称量,全部按照试剂纯度换算后称进行称量;
- 测量过程中的温度控制使用计量合格的高精度温度测量仪进行监测;
- 所使用的分光光度计应定期检定和期间核查;
- 溶液配制用容量瓶和量筒应使用称重法进行确认;
- 结果处理使用合理有效的统计学方法。

具体溯源性建立过程参见 YY/T 0638 的规定。

4.3 参考测量程序的评定

4.3.1 概述

4.3.1.1 实验室运行参考测量程序时应使用 CRM 验证程序的正确度,使用特性值稳定的质量控制物

质验证程序的精密度,即测量结果的 SD 或 CV 和偏倚应落在实验室预定的限度内,该限度通常有多种来源。

4.3.1.2 使用正确度验证物质进行测量过程的评定时,其测量结果的平均值应落在正确度验证物质规定的限度内,精密度(重复性)应落在实验室预定的限度内。

正确度验证物质宜选用国家或国际相关权威机构提供用于正确度验证的物质、IFCC 提供的用于参考测量实验室室间质量评价的物质等。

4.3.1.3 关于预定的限度的确认通常考虑以下几点:

- a) 认可方案的限度,如从 CRM 定值报告中获得;
- b) 程序使用者或组织者给出的限度,如从正确度验证物质提供者获得;
- c) 经验的限度,程序使用者根据先前测量过程中获得的值制定预定的限度或依据多家实验室测量结果的中位值制定预定的限度;
- d) 采用标准文件给定的限度,如 CNAS-CL33 文件规定:IFCC 参考方法对酶学参考物质的测量结果应在统计学达到无差异。

4.3.2 CRM 的选择

使用者在选择 CRM 时,应考虑参考测量程序和 CRM 的特性,同时应考虑 CRM 定值方法、预期用途及 CRM 证书上关于该 CRM 的详细使用说明。

- a) 溯源性:CRM 的特性值应有计量溯源性,并附有合理有效的测量不确定度;
- b) 水平:CRM 的标示值应在参考测量程序的测量范围内;
- c) 基质:CRM 的基质尽可能接近人血清基质;
- d) 分析物:CRM 的分析物应与参考测量程序相同或是参考测量程序分析物的同工酶;
- e) 最小取样量:CRM 规定的最小取样量应小于参考测量程序规定用量;
- f) 数量:CRM 的量应满足整个实验用量;
- g) 稳定性:CRM 的稳定性应满足参考测量程序相关要求。

4.3.3 参考测量程序测量精密度评定

4.3.3.1 概述

精密度的评定,是将重复性条件或其他规定条件下实验室内 SD (或 CV)与预定的限度进行比较。

4.3.3.2 重复测量次数 n 的选择

重复测量的次数 n 主要取决于 α 和 β 的值以及评定精密度所选择的假设条件。

通常假设在自由度 $\nu = n - 1$ 时 $\alpha = 0.05$ 、 $\beta = 0.01$ 的临界值与 σ_w 和 σ_{w0} 比率的关系作为判定标准,表 1 给出了不同自由度下 $\alpha = 0.05$ 、 $\beta = 0.01$ 时,测量过程标准偏差和所要求标准偏差之比的判定临界值。

推荐的测量次数不少于 10 次。

表 1 不同自由度下 $\alpha = 0.05$ 、 $\beta = 0.01$ 时,测量过程标准偏差和所要求标准偏差之比

ν	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\alpha = 0.05$ $\beta = 0.01$	159.3	17.3	6.25	5.65	4.47	3.80	3.37	3.07	2.85
ν	10	12	15	20	24	30	40	60	120
$\alpha = 0.05$ $\beta = 0.01$	2.67	2.43	2.19	1.95	1.83	1.71	1.59	1.45	1.30

4.3.3.3 评定方法

在重复性条件或其他规定的条件下,重复测量至少 10 次,用 Grubbs 法或其他适用统计方法进行异常值取舍后分别按式(1)、式(2)计算平均值 $\bar{x}$ 和标准偏差估计值 s_w :

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^n \frac{x_i}{n} \dots\dots\dots (1)$$

$$s_w = \left[\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right]^{\frac{1}{2}} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

x_i —— 单个测量结果;
 n —— 剔除离群值之后测量结果的数目。

按式(3)计算比值:

$$\chi_c^2 = \left(\frac{s_w}{\sigma_{wo}} \right)^2 \dots\dots\dots (3)$$

式中:

χ_c^2 —— 测量过程标准偏差和所要求标准偏差之比的平方;
 σ_{wo} —— 实验室内标准偏差预定的限值;

注: Grubbs 法或其他适用统计方法检查时,最多只能删除一个离群值,如取舍过多则表明测量过程存在问题。此时,应重新进行相关测量。

4.3.3.4 结果判定

$\chi^2 \leq \chi_{table}^2$ —— 表明测量过程达到所要求的精密度;
 $\chi^2 > \chi_{table}^2$ —— 表明测量过程达不到所要求的精密度。

注: 当实验室内标准偏差(变异系数)预定的限值是实验室通过有限的测量次数获得时,通常情况下,将测量过程标准偏差(变异系数)和所要求标准偏差(变异系数)直接进行比较,判定结果。表 2 给出的推荐实验室内标准偏差(变异系数)预定的限值为有限的测量次数获得的限值,因此,当使用表 2 的限值进行结果判定时,应将测量过程标准偏差(变异系数)和所要求标准偏差(变异系数)直接进行比较。

表 2 实验室内标准偏差(变异系数)预定的限值

分析物	GGT	LDH	ALT	CK	AMY	AST	ALP
浓度区间/(U/L)	≤40	≤120	≤40	≤125	≤100	≤40	≤100
SD/(U/L)	≤0.8	≤5.0	≤0.8	≤2.5	≤2.0	≤0.8	≤2.0
浓度区间/(U/L)	>40	>120	>40	>125	>100	>40	>100
CV/%	≤2.0	≤2.0	≤2.0	≤2.0	≤2.0	≤2.0	≤2.0

4.3.4 参考测量程序测量正确度评定

4.3.4.1 概述

正确度的评定,是将测量结果的平均值与 CRM 标示值或正确度验证物质允许的限度进行比较。测量结果的平均值与 CRM 标示值进行比较时,应考虑测量程序精密度的各实验室之间的分量,不应把 CRM 的不确定度简单的当做偏倚的允许限值使用。参考测量程序的测量结果不应使用修正因子进行修正。

4.3.4.2 评定方法

通常情况下,对所选用物质进行至少3次测量,计算平均值 $\bar{x}$ 和正确度评定物质标示值的差值或比较平均值 $\bar{x}$ 和正确度评定物质标示范围的关系。

4.3.4.3 结果判定

测量结果的 SD (或 CV)应符合表2的要求,测量结果平均值 $\bar{x}$ 和正确度评定物质标示值的偏差应符合表3的要求或应在正确度评定物质的标示范围范围内。

使用CRM进行评定时,有两个因素直接影响测量结果的判定,分别为:

- CRM标示值的不确定度;
- 待评定测量过程的测量不确定度,表示为 σ_D 。

对于严格按照GB/T 15000.3制备的CRM,标示值的不确定度与测量过程的标准偏差 σ_D 相比应是很小的,这种情况下用式(4)作为可接受的准则。

$$-\alpha_2 - 2\sigma_D \leq \bar{x} - \mu \leq -\alpha_1 + 2\sigma_D \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中 α_1 和 α_2 是根据实际情况或技术的限制或规定由实验室事先选择的调整值,为保证测量结果的可靠性,通常情况下选择 $\alpha_1 = \alpha_2 = 0$ 。表3给出了运行参考测量程序时几种酶测量结果可接受的限值。如果 α_1 和 α_2 有特殊要求,应有充分的证据证明。

在测量过程中不可能完全控制影响测量结果的因素,因此在每次测量中都存在随机误差,在正确度评定时应予以考虑。测量结果的随机波动分为两个部分:

- 实验室内或短期波动,标准偏差为 σ_w , s_w 是 σ_w 的估计值。
- 实验室间波动,标准偏差为 σ_{LM} 。如果实验仅在一个实验室内进行时, σ_{LM} 不能被确定。在大多数情况下,可以用在中间精密度条件下得到的标准偏差 σ_1 代替 σ_{LM} ;或使用CRM证书或其他来源,如适当的国际标准提供的 σ_L 代替 σ_{LM} 。

因此, σ_D^2 值的计算见式(5):

$$\sigma_D^2 = \sigma_{LM}^2 + \frac{s_w^2}{n} \quad \dots\dots\dots(5)$$

在实际测量中, s_w 与 σ_{LM} 相比很小,因此当重复次数(≥ 10)时,在式(5)中 σ_D 可以等于 σ_{LM} 或 σ_L 。于是,式(4)可简化为式(6):

$$-\alpha_2 - 2\sigma_{LM} \leq \bar{x} - \mu \leq -\alpha_1 + 2\sigma_{LM} \quad \dots\dots\dots(6)$$

表3 运行参考测量程序时几种酶测量结果偏倚可接受的限值

分析物	GGT	LDH	ALT	CK	AMY	AST	ALP
浓度区间/(U/L)	≤ 40	≤ 120	≤ 40	≤ 125	≤ 100	≤ 40	≤ 100
绝对偏差/(U/L)	± 1.7	± 4.0	± 1.3	± 5.0	± 3.3	± 2.4	± 4.0
浓度区间/(U/L)	> 40	> 120	> 40	> 125	> 100	> 40	> 100
相对偏差	$\pm 4.2\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 4.0\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 5.8\%$	$\pm 4.0\%$

注1: 所使用标准物质的不确定度小于该限值时,以该限值作为判定依据;所使用标准物质的不确定度大于该限值时,以不确定度作为判定依据。

注2: 关于限值在其他文献或活动中给出的信息见附录B。

4.4 实验室内部质量控制

4.4.1 概述

实验室应使用稳定、均匀的高低水平的质量控制物质,进行参考测量程序的质量控制。在每次实验时均应进行质量控制物质的测量,如有必要应建立相应的质量控制图。

4.4.2 质量控制物质的选择

由于参考测量程序的特殊性,对质量控制物质有一定的特殊要求,实验室应选择适宜的质量控制物质,可以选择以下几种来源的物质:

- a) RELA 样品;
- b) 商品质量控制物质;
- c) 混合人血清等。

质量控制物质的均匀性、特性值浓度水平和稳定性应能满足预期要求。

4.4.3 质量控制物质的复溶/融化

实验室应制定样本复溶/融化的标准操作规程,保证每次试验样本处理的一致性。

4.4.4 质量控制物质范围

实验室应建立本实验室的质控合格范围。

4.4.5 质量控制物质结果

实验室应预先制定预期的 SD (或 CV) 限值,当质量控制物质测量精密度满足规定要求时,计算测量结果的平均值并与质量控制物质范围进行比较。当其落在质量控制物质范围内时,可以运行参考测量程序,进行样本测量;当其未落在质量控制物质范围内时,应重复试验进行确认并查找原因。适当时,应重新配制试剂。

4.5 样本测量

4.5.1 方案

在运行参考测量程序之前,实验室应对主要测量设备关键参数进行验证或内部校准,性能应符合参考测量程序要求。当参考测量程序的正确度满足要求后方可进行样本的赋值。赋值应至少进行两个实验批次,每个批次应至少进行 3 次测量。赋值结果的处理应使用统计学方法进行,适当时应对结果进行异常值(离群值)的取舍后再进行统计学处理。

4.5.2 数据处理

对所有测量结果使用 Grubbs 或其他适用统计方法进行异常值检查,剔除离群值后计算所有结果的平均值和 SD (或 CV),当 SD (或 CV) 落在预定的限值内时,可报告结果;如 SD (或 CV) 未落在预定的限值内时,应分析原因,适当时重新进行赋值。

5 测量不确定度评定

5.1 不确定度的来源分析

5.1.1 概述

测量不确定度是根据所用到的信息,表征赋予被测量值分散性的非负参数。国家认可机构发布的

相关文件中规定,参考测量实验室(校准实验室)出具的测量结果应附有测量不确定度,因此,使用参考测量程序赋值时应进行测量不确定度的评定。

使用参考测量程序进行酶催化活性浓度测量,不确定度来源于多方面的因素。因此评定不确定度时,应考虑所有可能产生不确定度的因素,比如定义的不完整或测量方法的局限性、样本基质不同、试剂、测量条件、仪器设备、所涉及常数引起的不确定度、统计学处理以及实验室测量精密度等方面。但对于酶学参考测量程序赋值的不确定度来说,还应进行参考测量程序规定限值的不确定度的评定,本文评定方法中不包括该类不确定度的评定。

5.1.2 不确定度来源

5.1.2.1 定义的不完整或测量方法的局限性

对于酶学测量,由于定义的不完整或测量方法的局限性引起的不确定度主要是分析物的结构不一,绝大多数的酶存在同工酶,不同的同工酶和反应液具有不同的反应性。

5.1.2.2 样本基质不同

当评定不同于人血清基质样本的不确定度时,应考虑样本的基质效应。

5.1.2.3 试剂

试剂来源主要有两个方面:

- a) 配制反应液、启动液所需的原料试剂。如试剂纯度不足或杂质超限、试剂中含有酶的抑制剂或激活剂、不同批次试剂之间的差异、显色物质最大吸收波长等;
- b) 酶学反应所需的反应液、启动液。如已配制好的溶液具有不稳定性、底物浓度或缓冲液。

5.1.2.4 测量条件

影响结果的测量条件主要有:

- a) 测量时的环境温度、湿度;
- b) 反应过程中试剂的蒸发;
- c) 反应过程中混合液的温度;
- d) 反应时间;
- e) 延迟时间;
- f) 反应过程中的混匀;
- g) 反应混合液的 pH。

5.1.2.5 仪器设备

下列仪器设备会影响测量结果:

- a) 容量瓶:使用容量瓶定容时的温度、容量瓶体积;
- b) 酸度计:调节 pH 时,酸度计的温度补偿;
- c) 分光光度计:波长准确度、半波宽、透射比的准确度、稳定性、读数重复性;
- d) 秒表:时间的准确性;
- e) 比色皿:光径;
- f) 加样设备:加样准确度、重复性、试剂样本加样的体积比;
- g) 天平:准确度、重复性、偏载误差;
- h) 温度计:温度测量的准确度。

5.1.2.6 所涉及常数引起的不确定度

最终显色物质的摩尔消光系数(ϵ)的不确定度影响测量结果。

5.1.2.7 统计学处理

测量数据统计处理中的数值修约、异常值(离群值)取舍影响测量结果。

5.1.2.8 实验室测量精密度

酶学测量其测量条件比较严格,反应过程中的温度控制、溶液 pH 值的下降或上升、样本中分析物特性值的不稳定性直接影响测量结果,因此,测量精密度是影响测量结果可靠程度的主要因素。

5.1.3 可忽略的不确定度来源

下列不确定度来源在此文件中予以忽略:

- 在酶学测量中,考虑到底物浓度过量,同时称量使用万分之一天平进行,定容使用至少 10 mL 的容量瓶进行,质量和体积引起的不确定度非常小,因此,溶液配制过程中引起的不确定度在此予以忽略;
- 测量过程中,由于试剂提前加热到 37 °C 且反应在密闭的环境中进行,试剂蒸发引起的不确定度在此予以忽略;
- 每次实验前配制试剂,因此试剂不稳定引起的不确定度在此予以忽略;
- 时间的不确定度对于测量结果的不确定度贡献及其微小,在此予以忽略;
- 光径的不确定度引起吸光度的测量不确定度,光径的相对标准不确定度为 0.05%,酶学测量中精密度引起的测量不确定度约为 1%,因此,光径的不确定度在此予以忽略;
- 本文件是赋值的 uncertainty 评定指南,其评定过程中不包括样本复溶因素引起的 uncertainty 来源。

5.1.4 不确定度主要来源

不确定度主要来源有:

- 摩尔消光系数(ϵ);
- 吸光度变化率($\frac{\Delta A}{\Delta t}$);
- 反应液体积(V_{reaction});
- 启动液体积(V_{start});
- 样本体积(V_{sample});
- 波长(λ);
- 温度(T);
- pH 值;
- 测量精密度。

5.2 测量模型的建立

酶催化活性浓度(U/L)测量结果的计算见式(7):

$$c = \frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} \dots\dots\dots (7)$$

式中：

$\frac{\Delta A}{\Delta t}$ ——吸光度变化率；

ϵ ——摩尔消光系数，单位为平方米每摩尔(m^2/mol)；

L ——光径，单位为厘米(cm)；

V_{reaction} ——反应液体积，单位为微升(μL)；

V_{start} ——启动液体积，单位为微升(μL)；

V_{sample} ——样本体积，单位为微升(μL)。

5.3 标准不确定度的评定

5.3.1 摩尔消光系数(ϵ)

不同显色剂在温度、pH 为变量的条件下，摩尔消光系数的不确定度不同。按照相关资料的数据显示，其不确定度 $<1\%$ 即有理由认为该值不可能是极限值，其分布形态假定为三角形分布，其相对不确定度为 $u_{\epsilon, \text{rel}} = \frac{1\%}{\sqrt{6}} = 0.4\%$ 。

5.3.2 吸光度变化率($\frac{\Delta A}{\Delta t}$)

酶学反应是假定在规定条件下吸光度变化在一段时间内呈线性变化的基础上计算测量结果，吸光度变化率($\frac{\Delta A}{\Delta t}$)的测量不确定度即线性拟合的标准差 s_{yx} 除以 $\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}$ ，参与计算的吸光度变化率等于样本吸光度变化率减去空白吸光度变化率。按式(8)、式(9)计算吸光度变化率的标准不确定度：

$$u_{\frac{\Delta A}{\Delta t}} = \sqrt{u_{\text{k sample}}^2 + u_{\text{k blank}}^2} \quad \dots\dots\dots (8)$$

$$u_{\frac{\Delta A}{\Delta t}, \text{rel}} = \frac{\sqrt{u_{\text{k sample}}^2 + u_{\text{k blank}}^2}}{\frac{\Delta A}{\Delta t}} \quad \dots\dots\dots (9)$$

5.3.3 体积比($\frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{sample}}}$)

将不确定度来源中 c)、d)、e)的各不确定度分量看作是一个整体进行评定，即为体积比。

按式(10)计算体积比的不确定度：

$$\frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} = 1 + \frac{V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} \quad \dots\dots\dots (10)$$

不确定度的 A 类评定：

对规定各加样体积至少重复测量 10 次，计算各测量结果的标准偏差 SD ，不确定度分别为 $u_{V_{\text{reactionA}}}$ 、

$u_{V_{\text{startA}}}$ 、 $u_{V_{\text{sampleA}}}$ 。

不确定度的 B 类评定：

查看加样设备计量证书相关信息确定，标准不确定度分别为 $u_{V_{\text{reactionB}}}$ 、 $u_{V_{\text{startB}}}$ 、 $u_{V_{\text{sampleB}}}$ 。

按式(11)进行不确定度的计算：

$$u_{\frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{sample}}}, \text{rel}} = \sqrt{\frac{u_{V_{\text{reactionA}}}^2 + u_{V_{\text{reactionB}}}^2 + u_{V_{\text{startA}}}^2 + u_{V_{\text{startB}}}^2}{(V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}})^2} + \frac{u_{V_{\text{sampleA}}}^2 + u_{V_{\text{sampleB}}}^2}{V_{\text{sample}}^2}} \quad \dots\dots\dots (11)$$

5.3.4 波长(λ)

参考测量程序规定的测量波长为 $\lambda \pm 1 \text{ nm}$ ，其分布形态假定为正态分布，根据经验的灵敏系数，波

长引起的测量不确定度 $u_{\lambda, \text{rel}} = \frac{a}{2}$, 灵敏系数见表 4。

表 4 灵敏系数

分析物	GGT	LDH	ALT	CK	AMY	AST
测量波长/nm	410	339	339	339	405	339
系数 $a/(%/nm)$	3.25	0.08	0.13	0.28	0.40	0.20

5.3.5 温度(T)

参考测量程序规定测量温度的扩展不确定度为 0.1 °C、 $k=2$, 根据经验的灵敏系数, 温度引起的测量不确定度 $u_{T, \text{rel}} = \frac{b \times 0.1}{2}$, 灵敏系数见表 5。

表 5 灵敏系数

分析物	GGT	LDH	ALT	CK	AMY	AST
系数 $b/(%/^{\circ}\text{C})$	3.20	6.80	5.05	5.28	4.62	5.30

5.3.6 pH

参考测量程序规定 pH 的扩展不确定度为 0.05、 $k=2$, 根据经验的灵敏系数, pH 引起的测量不确定度 $u_{\text{pH}, \text{rel}} = \frac{c}{2}$, 灵敏系数见表 6。

表 6 灵敏系数

分析物	GGT	LDH	ALT	CK	AMY	AST
系数 $c/(%/0.05\text{pH})$	0.22	0.09	0.23	0.90	2.47	0.25

5.3.7 测量精密度(precision)

测量精密度引起的测量不确定度是酶学参考测量不确定度的主要来源, 其评定方法是对规定浓度的样本重复测量至少 10 次, 计算测量结果的 SD, 精密度引起的相对标准不确定度为:

以多次测量的平均值报结果时, 按式(12)、式(13)计算精密度引起的不确定度:

$$u_{\text{precision}} = \frac{SD}{\sqrt{n}} \dots\dots\dots (12)$$

$$u_{\text{precision}, \text{rel}} = \frac{u_{\text{precision}}}{\bar{X}} \dots\dots\dots (13)$$

5.4 合成标准不确定度的计算

按式(14)对 5.3 各项来源的不确定度进行合成:

$$u_{c, \text{rel}} = \sqrt{u_{\epsilon, \text{rel}}^2 + u_{\frac{\Delta A}{\Delta t}, \text{rel}}^2 + u_{\frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{sample}}}, \text{rel}}^2 + u_{\lambda, \text{rel}}^2 + u_{T, \text{rel}}^2 + u_{\text{pH}, \text{rel}}^2 + u_{\text{precision}, \text{rel}}^2} \dots\dots\dots (14)$$

式中：

$u_{\epsilon, \text{rel}}$ ——摩尔消光系数的不确定度；

$u_{\frac{\Delta A}{\Delta l}, \text{rel}}$ ——吸光度变化率的不确定度；

$u_{\frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{sample}}}, \text{rel}}$ ——体积比的不确定度；

$u_{\lambda, \text{rel}}$ ——波长引起的不确定度；

$u_{T, \text{rel}}$ ——温度引起的不确定度；

$u_{\text{pH}, \text{rel}}$ ——pH 引起的不确定度；

$u_{\text{precision}, \text{rel}}$ ——精密度引起的不确定度。

5.5 扩展不确定度的确定

如果数据成正态分布，假设置信概率为 95%，取包含因子 $k=2$ ，通过合成不确定度乘以包含因子即可得到扩展不确定度 U_{rel} 、 U ，按式(15)、式(16)计算扩展不确定度：

$$U_{\text{rel}} = k \times u_{\text{c}, \text{rel}} \quad \dots\dots\dots (15)$$

$$U = U_{\text{rel}} \times \bar{X} \quad \dots\dots\dots (16)$$

注 1：赋值过程及不确定度评定方法举例见附录 C。

注 2：使用灵敏系数进行测量不确定评定举例见附录 D。

6 测量结果及其不确定度评定结果的报告

测量结果及其不确定度的报告内容应预期确定，至少包括以下内容：

- a) 明确说明被测量的测量模型或被测量的定义；
- b) 给出被测量的估计值、扩展不确定度，必要时给出有效自由度；
- c) 必要时也可给出相对标准不确定度。

测量结果及其不确定度的报告形式举例：

AST:40.5 U/L, $U=2.0$ U/L, $k=2$ 。

附 录 A
(资料性附录)
酶学参考测量程序信息表

酶学参考测量程序信息表见表 A.1。

表 A.1 酶学参考测量程序信息表

测量项目	测量原理	参考文献
丙氨酸氨基转移酶(ALT)	动力学分光光度法	Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,718-724 Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,739-745
丙氨酸氨基转移酶(ALT)	动力学分光光度法	WS/T 352—2011
天冬氨酸氨基转移酶(AST)	动力学分光光度法	Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,725-733
天冬氨酸氨基转移酶(AST)	动力学分光光度法	WS/T 353—2011
肌酸激酶(CK)	动力学分光光度法	Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,635-642 Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,739-745
γ -谷氨酰转移酶(GGT)	动力学分光光度法	Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,734-738 Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,739-745
乳酸脱氢酶(LDH)	动力学分光光度法	Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,643-648 Clin.Chem.Lab.Med.,2002,40,739-745
α -淀粉酶(AMY)	动力学分光光度法	Clin.Chem.Lab.Med. 2006;44(9):1146-1155
碱性磷酸酶(ALP)	动力学分光光度法	Clin.Chem.Lab.Med. 2011;49(9):1439-1446

附 录 B
(资料性附录)

限值在其他文献或活动中给出的信息

限值在其他文献或活动中给出的信息见表 B.1。

表 B.1 限值在其他文献或活动中给出的信息表

分析物	GGT	LDH	ALT	CK	AMY	AST	ALP
限值 1	$\pm 5.25\%$	$\pm 4.5\%$	$\pm 5.25\%$	$\pm 5.0\%$	$\pm 5.25\%$	$\pm 5.25\%$	$\pm 5.25\%$
限值 2	$\pm 4.2\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 4.0\%$	$\pm 3.3\%$	$\pm 5.8\%$	$\pm 4.0\%$
限值 3	$\pm \frac{1}{4} \times 11.0\%$	$\pm \frac{1}{4} \times 11.0\%$	$\pm \frac{1}{4} \times 16.0\%$	$\pm \frac{1}{4} \times 15.0\%$	$\pm \frac{1}{4} \times 15.0\%$	$\pm \frac{1}{4} \times 15.0\%$	$\pm \frac{1}{4} \times 18.0\%$
限值 4	$\pm 2.1\%$	$\pm 1.4\%$	$\pm 2.0\%$	$\pm 4.0\%$	$\pm 3.4\%$	$\pm 2.6\%$	—
注：限值 1 为 RELA 活动信息。 限值 2 选择 $\alpha_1 = \alpha_2 = 0$ ，并根据现有国际 CRM 研制报告中给出的 σ_{LM} 进行制定。 限值 3 为 WS/T 403—2012 中推荐值。 限值 4 为现有国际 CRM 赋值不确定度。							

附 录 C
(资料性附录)

LDH 赋值过程及不确定度评定方法举例

C.1 赋值

C.1.1 参考测量程序的选择及溯源性的建立

选择 JCTLM 列表中 IFCC 参考测量程序(37 ℃)作为 LDH 赋值的参考测量程序。
实验室设备均使用国家计量合格产品,同时实验用试剂均按照纯度换算后的值进行称量。

C.1.2 参考测量程序的评定

C.1.2.1 测量精密度评定

选择商业化质量控制物质作为精密度评定用物质,该物质有两个水平。当测量结果>120 U/L 时实验室的精密度(变异系数)限度预设为≤1.5%。在 5 d 时间内分别对两个水平的质量控制物质进行测量 20 次,计算测量结果的变异系数。结果见表 C.1。

表 C.1 LDH 精密度评定结果

物质	水平一质量控制物质				水平二质量控制物质			
测量结果/ (U/L)	221.6	218.5	221.6	219.2	432.3	427.6	430.7	433.7
	219.6	221.3	219.5	222.0	429.4	429.8	427.4	430.7
	223.4	217.0	221.9	220.2	433.7	426.4	435.4	432.0
	223.6	223.7	218.8	222.4	428.1	433.5	433.8	434.2
	220.1	218.8	221.9	218.8	431.7	429.3	435.6	430.7
平均值/ (U/L)	220.70				431.30			
变异系数	0.9%				0.6%			

测量结果的变异系数小于实验室预设的限度要求,测量过程达到所要求的精密度。

C.1.2.2 测量正确度评定

选择 ERM AD453、RELA 2011A、RELA 2011B 作为测量正确度评定用物质。当测量结果>120 U/L 时实验室的正确度限度预设为±3.3%。分别对正确度验证物质重复测量 3 次,计算各物质测量结果的平均值、平均值与正确度评定用物质标示值的相对偏差。结果见表 C.2。

表 C.2 LDH 正确度评定结果

项目	ERM AD453	RELA 2011A	RELA 2011B
测量结果/(U/L)	220.7	351.7	492.5
	217.9	357.0	496.2
	218.4	357.6	496.8
平均值/(U/L)	219.00	355.43	495.17
相对偏差	0.0%	-1.3%	-1.4%

测量结果的相对偏差在实验室预设的限度内,测量过程达到所要求的正确度。

C.1.3 样本测量

分两个实验批次进行,每个批次测量 3 次,计算所有测量结果的平均值及变异系数。结果见表 C.3。

表 C.3 LDH 精密度评定结果

样本	第一实验批次	第二实验批次
测量结果/(U/L)	168.7	170.6
	171.8	168.7
	170.1	173.1
	169.9	167.9
	168.0	171.4
	170.2	170.0
平均值/(U/L)	169.8	170.3
总平均值/(U/L)	170.0	
SD/(U/L)	1.58	
变异系数	0.93%	

样本测量结果为 170.0 U/L。

C.2 测量不确定度评定

C.2.1 分析测量不确定度主要来源

测量不确定度的主要来源有以下几个方面:

- 数学模型中摩尔消光系数;
- 数学模型中吸光度变化率;
- 数学模型中试剂样本体积比;
- 测量波长;
- 测量温度;
- 反应液的 pH 值;
- 测量精密度。

C.2.2 建立数学模型

测量结果的计算公式见式(C.1)。

$$c = \frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} \dots\dots\dots (C.1)$$

式中：

$\frac{\Delta A}{\Delta t}$ ——吸光度变化率；

ϵ ——为摩尔消光系数,单位为平方米每摩尔(m^2/mol)；

L ——光径,单位为厘米(cm)；

V_{reaction} ——反应液体积,单位为微升(μL)；

V_{start} ——启动液体积,单位为微升(μL)；

V_{sample} ——样本体积,单位为微升(μL)。

C.2.3 评定标准不确定度

C.2.3.1 数学模型中摩尔消光系数

根据相关资料显示,摩尔消光系数的不确定度 $<1\%$,假定分布形态为三角形分布,所以: $u_{\epsilon, \text{rel}} = \frac{1\%}{\sqrt{6}} = 0.4\%$ 。

C.2.3.2 数学模型中吸光度变化率

以测量结果为 168.7 U/L 为例,吸光度变化率、线性拟合的标准差(s_{yx})及斜率的不确定度见表 C.4。

表 C.4 吸光度变化率、线性拟合的标准差及斜率的不确定度

监测时间/min	空白吸光度	样本吸光度
1.5	0.536 8	0.872 2
2.0	0.539 3	0.897 5
2.5	0.541 2	0.922 4
3.0	0.543 6	0.948 7
3.5	0.545 8	0.973 0
4.0	0.547 4	0.998 9
4.5	0.549 6	1.023 3
吸光度变化率/min	0.004 27	0.050 47
s_{yx}/min	0.000 14	0.000 47
斜率的不确定度, u_k	0.000 09	0.000 17
吸光度变化率/min	0.046 2	
结果/(U/L)	168.7	

假定在测量范围内吸光度呈线性,吸光度变化率($\frac{\Delta A}{\Delta t}$)的测量不确定度即线性拟合引起的不确定度,所以吸光度变化率的标准不确定度为 $u_{\frac{\Delta A}{\Delta t}} = \sqrt{u_{k\text{sample}}^2 + u_{k\text{blank}}^2} = \sqrt{0.000\ 17^2 + 0.000\ 09^2}$,

$u_{\Delta t,rel} = \sqrt{0.000\ 17^2 + 0.000\ 09^2} / (0.046\ 2) = 0.42\%$ 。

C.2.3.3 数学模型中试剂样本体积比

A 类评定：

在 20 ℃条件下分别进行 100 μL、200 μL、2 000 μL 体积的加样重复性实验，每个体积重复 10 次，记录重量，并按照密度换算为体积后计算变异系数。加样体积及计算结果见表 C.5。

表 C.5 加样体积及计算结果

加样体积/μL	100	200	2 000
测量结果/μL	99.96	199.93	2 000.7
	99.96	200.03	2 000.8
	99.96	199.93	2 000.7
	99.86	200.03	2 000.7
	100.06	199.93	2 000.8
	99.96	199.93	2 001.3
	100.06	199.93	2 000.7
	99.96	199.93	2 000.7
	99.96	199.93	2 000.7
	99.96	200.03	2 000.7
平均值/μL	99.97	199.96	2 000.78
SD/μL	0.06	0.05	0.19
变异系数	0.06%	0.02%	0.01%

B 类评定：

100 μL、200 μL、2 000 μL 加样设备的加样误差分别为：0.06 μL、0.07 μL、1.56 μL，按照正态分布取 $k=2$ ，得 $u_{V_{reactionB}}$ 、 $u_{V_{startB}}$ 、 $u_{V_{sampleB}}$ 分别为：0.03 μL、0.04 μL、0.78 μL。

按式(C.2)合成不确定度：

$$u_{\frac{V_{total}}{V_{sample}},rel} = \sqrt{\frac{u_{V_{reactionA}}^2 + u_{V_{reactionB}}^2 + u_{V_{startA}}^2 + u_{V_{startB}}^2 + u_{V_{sampleA}}^2 + u_{V_{sampleB}}^2}{(V_{reaction} + V_{start})^2 + V_{sample}^2}} \dots\dots\dots (C.2)$$
$$u_{\frac{V_{total}}{V_{sample}},rel} = \sqrt{\frac{0.19^2 + 0.78^2 + 0.05^2 + 0.04^2}{(2\ 000 + 200)^2} + \frac{0.06^2 + 0.03^2}{100^2}} = 0.08\%$$

C.2.3.4 测量波长

测量波长为 339 nm±1 nm，波长的标准不确定度为 $\frac{1}{2}$ nm，波长引起结果的变化可根据经验的灵敏系数计算： $c_{\lambda}=0.08\%/1\text{ nm}$ ， $u_{\lambda,rel} = \frac{1}{2}\text{ nm} \times \frac{0.08\%}{1\text{ nm}} = 0.04\%$ 。

C.2.3.5 测量温度

测量温度的扩展不确定度为 0.1 ℃、 $k=2$ ，温度的标准不确定度为 $\frac{0.1}{2}$ ℃，温度引起结果的变化可

根据经验的灵敏系数计算： $c_T = 6.8\%/1\text{ }^\circ\text{C}$ ， $u_{T,\text{rel}} = \frac{0.1}{2}^\circ\text{C} \times \frac{6.8\%}{1\text{ }^\circ\text{C}} = 0.34\%$ 。

C.2.3.6 反应液的 pH

反应液的 pH 的扩展不确定度为 0.05、 $k=2$ ，反应液的 pH 的标准不确定度为 $\frac{0.05}{2}$ ，反应液的 pH 引起结果的变化可根据经验的灵敏系数计算： $c_{\text{pH}} = 0.09\%/0.05$ ， $u_{\text{pH},\text{rel}} = \frac{0.05}{2} \times \frac{0.09\%}{0.05} = 0.04\%$ 。

C.2.3.7 测量精密度

根据 C.1.3 的结果，测量精密度引起的标准不确定度为 $\frac{1.57}{\sqrt{12}}$ U/L，测量结果为 170.0 U/L，所以其

相对不确定度为： $u_{\text{precision},\text{rel}} = \frac{\frac{1.57}{\sqrt{12}}}{170.0} = 0.27\%$ 。

C.2.4 合成标准不确定度

按式(C.3)进行不确定度的合成：

$$\begin{aligned} u_{c,\text{rel}} &= \sqrt{u_{\epsilon,\text{rel}}^2 + u_{\frac{\Delta A}{\Delta t},\text{rel}}^2 + u_{\frac{V_{\text{total}}}{V_{\text{sample}}},\text{rel}}^2 + u_{\lambda,\text{rel}}^2 + u_{T,\text{rel}}^2 + u_{\text{pH},\text{rel}}^2 + u_{\text{precision},\text{rel}}^2} \quad \dots\dots (C.3) \\ &= \sqrt{0.4\%^2 + 0.42\%^2 + 0.08\%^2 + 0.04\%^2 + 0.34\%^2 + 0.04\%^2 + 0.27\%^2} \\ &= 0.74\% \\ c &= 170.0 \text{ U/L} \\ u_c &= 1.3 \text{ U/L} \end{aligned}$$

C.2.5 确定扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ ，扩展不确定度 $U = k \times u_c$

$$U = 2 \times 1.3$$

$$= 2.6 \text{ U/L}$$

C.3 测量结果及其不确定度评定结果的报告

LDH 测量结果为：170.0 U/L， $U=2.6 \text{ U/L}$ ； $k=2$ 。

附录 D

(资料性附录)

使用灵敏系数进行 LDH 测量不确定评定举例

D.1 建立数学模型

使用 IFCC 参考测量程序(37 ℃)进行赋值的数学模型见式(D.1):

$$c = \frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} \dots\dots\dots (D.1)$$

注: 该例中不确定度的评定只进行数学模型中各输入量的评定。

D.2 确定各输入量及评定标准不确定度

D.2.1 确定各输入量

以测量结果为 168.7 U/L 为例, 各输入量分别为:

$$\frac{\Delta A}{\Delta t} = 0.0462 / \text{min}$$

$$\epsilon = 630 \text{ m}^2 / \text{mol}$$

$$V_{\text{sample}} = 100 \mu\text{L}$$

$$V_{\text{reaction}} = 2000 \mu\text{L}$$

$$V_{\text{start}} = 200 \mu\text{L}$$

$$u_L = 1.000 \text{ cm}$$

注: 由于测量结果按照斜率进行计算, 所以将斜率看做是一个整体进行评定。

D.2.2 评定标准不确定度

根据附录 C, 我们可以得到:

$$u_{\frac{\Delta A}{\Delta t}} = 0.00019 / \text{min}$$

$$u_{\epsilon} = u_{\epsilon, \text{rel}} \times 630 = 2.52 \text{ m}^2 / \text{mol}$$

$$u_{V_{\text{sample}}} = 0.067 \mu\text{L}$$

$$u_{V_{\text{reaction}}} = 0.803 \mu\text{L}$$

$$u_{V_{\text{start}}} = 0.064 \mu\text{L}$$

根据参考测量方法规定, 光径为 $10.00 \text{ mm} \pm 0.01 \text{ mm}$, 其标准不确定度为:

$$u_L = 0.0005 \text{ cm}$$

注: 时间 t 的不确定度为 $1 \times 10^{-8} \text{ s}$, 所以在 $u_{\frac{\Delta A}{\Delta t}}$ 的计算中未考虑时间的不确定度。

D.3 确定灵敏系数

酶催化活性浓度计算数学模型中不确定度分量的灵敏系数见表 D.1。

表 D.1 不确定度分量的灵敏系数

不确定度分量	不确定度来源	灵敏系数 $c_i = \frac{\partial c}{\partial x_i}$
$u_{\frac{\Delta A}{\Delta t}}$	吸光度变化率线性拟合	$\frac{10^5}{\epsilon L} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}}$
u_{ϵ}	摩尔消光系数	$-\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon^2 L} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}}$
$u_{V_{\text{sample}}}$	样本加样体积	$-\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}^2}$
$u_{V_{\text{reaction}}}$	反应液加样体积	$\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{1}{V_{\text{sample}}}$
$u_{V_{\text{start}}}$	启动液加样体积	$\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{1}{V_{\text{sample}}}$
u_L	光径	$-\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L^2} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}}$

数学式中 $\frac{\Delta A}{\Delta t}$ 、 ϵ 、 L 、 V_{sample} 、 V_{reaction} 、 V_{start} 的灵敏系数分别见式(D.2)、式(D.3)、式(D.4)、式(D.5)、式(D.6)、式(D.7)：

$$\left[\frac{\partial c}{\partial \frac{\Delta A}{\Delta t}} \right] = \frac{10^5}{\epsilon L} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} = 3\,650.794 \quad \dots\dots\dots (\text{D.2})$$

$$\left[\frac{\partial c}{\partial \epsilon} \right] = -\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon^2 L} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} = -184.256 \quad \dots\dots\dots (\text{D.3})$$

$$\left[\frac{\partial c}{\partial L} \right] = -\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L^2} \times \frac{V_{\text{sample}} + V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}} = 0.080 \quad \dots\dots\dots (\text{D.4})$$

$$\left[\frac{\partial c}{\partial V_{\text{sample}}} \right] = -\frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{V_{\text{reaction}} + V_{\text{start}}}{V_{\text{sample}}^2} = 0.080 \quad \dots\dots\dots (\text{D.5})$$

$$\left[\frac{\partial c}{\partial V_{\text{reaction}}} \right] = \frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{1}{V_{\text{sample}}} = -1.762 \quad \dots\dots\dots (\text{D.6})$$

$$\left[\frac{\partial c}{\partial V_{\text{start}}} \right] = \frac{\Delta A \times 10^5}{\Delta t \epsilon L} \times \frac{1}{V_{\text{sample}}} = -0.292 \quad \dots\dots\dots (\text{D.7})$$

D.4 合成标准不确定度

由于各输入量之间不相关,按式(D.8)合成方差:

$$u_c^2(c) = \left[\frac{\partial c}{\partial \frac{\Delta A}{\Delta t}} \right]^2 u^2\left(\frac{\Delta A}{\Delta t}\right) + \left[\frac{\partial c}{\partial \epsilon} \right]^2 u^2(\epsilon) + \left[\frac{\partial c}{\partial L} \right]^2 u^2(L) + \left[\frac{\partial c}{\partial V_{\text{sample}}} \right]^2 u^2(V_{\text{sample}}) + \left[\frac{\partial c}{\partial V_{\text{reaction}}} \right]^2 u^2(V_{\text{reaction}}) + \left[\frac{\partial c}{\partial V_{\text{start}}} \right]^2 u^2(V_{\text{start}}) \quad \dots\dots\dots (\text{D.8})$$

将 D.2、D.3 中的数据代入式(D.8):

$$u_c^2(c) = 3\,650.794^2 \times 0.000\,19^2 + (-184.256)^2 \times 2.52^2 + 0.080^2 \times 0.000\,5^2 + 0.080^2 \times 0.067^2 + (-1.762)^2 \times 0.803^2 + (-0.292)^2 \times 0.064^2$$

$$u_c^2(c) = 1.0$$

$$u_c(c) = 1.0 \text{ U/L}$$

D.5 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$, $U=2.0 \text{ U/L}$ 。

D.6 报告

测量结果为: 168.7 U/L , $U=2.0 \text{ U/L}$; $k=2$ 。

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 15000.8—2003 标准样品工作导则(8) 有证标准样品的使用
 - [3] JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示
 - [4] CNAS-CL06 量值溯源要求
 - [5] CNAS-CL07 测量不确定度的要求
 - [6] 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
 - [7] CNAS-GL04 量值溯源要求的实施指南
 - [8] CNAS-GL05 测量不确定度要求的实施指南
 - [9] Clin Chem Lab Med 2002;40(6):643-648 IFCC Primary Reference Procedures for Measurement of Catalytic Activity Concentrations of Enzymes at 37 °C
-

中 华 人 民 共 和 国 医 药
行 业 标 准
应用参考测量程序对酶催化活性浓度赋值
及其不确定度评定指南
YY/T 1455—2016

*

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.net.cn
总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

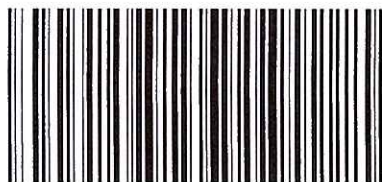
*

开本 880×1230 1/16 印张 1.75 字数 46 千字
2017年1月第一版 2017年1月第一次印刷

*

书号: 155066 • 2-30929 定价 33.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



YY/T 1455-2016