



CNAS-GL037

临床化学定量检验程序性能验证指南
Guidance on the Verification of Quantitative
Measurement Procedures used in the Clinical
Chemistry

中国合格评定国家认可委员会

前 言

本文件由中国合格评定国家认可委员会（CNAS）制定，是对 CNAS-CL02《医学实验室质量和能力认可准则》和 CNAS-CL02-A003《医学实验室质量和能力认可准则在临床化学检验领域的应用说明》中有关临床化学定量检验程序进行性能验证实验所做的具体解释和指导，供医学实验室和评审员参考使用。

本文件为首次发布。

临床化学定量检验程序性能验证指南

1 范围

本指南适用于申请认可或已获认可的医学实验室对临床化学检验程序进行性能验证，也可供评审员在现场评审过程中参考使用。

本指南主要适用于医学实验室使用的临床化学定量检验方法，其他专业领域使用的定量检验程序/方法可参考使用。

临床化学定量检验程序，也称临床化学定量检验方法，在本指南中统一称为临床化学定量检验程序（以下简称“检验程序”）。

本指南适用于实验室采用的经确认的检验程序。

2 规范性引用文件

下列文件对于本指南的应用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，仅该版本适用于本指南。凡是未注明日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改部分）适用于本指南。

GB/T 26124-2011 《临床化学体外诊断试剂（盒）》

WS/T 408-2012 《临床化学设备线性评价指南》

WS/T 416-2013 《干扰实验指南》

WS/T 420-2013 《临床实验室对商品定量试剂盒分析性能的验证》

WS/T 492-2016 《临床检验定量测定项目精密度与正确度性能验证》

3 术语和定义

对于本指南，GB/T 29791.1-2013（ISO 18113-1: 2009, IDT）中的定义适用。下列术语和定义适用于本指南。

3.1 可报告范围 reportable range

体外诊断医疗器械性能特征已被验证的测量区间。[GB/T29791.1-2013/ISO 18113-1: 2009 3.46 注 1]

4 总则

4.1 性能验证的时机

4.1.1 检验程序常规应用前。

4.1.2 任何严重影响检验程序分析性能的情况发生后，应在检验程序重新启用前对受影响的性能进行验证。影响检验程序分析性能的情况包括但不限于：仪器主要部件故障、仪器搬迁、设施（如纯水系统）和环境的严重失控等。

4.1.3 常规使用期间，实验室可基于检验程序的稳定性，利用日常工作产生的检验和质控数据，定期对检验程序的分析性能进行评审，应能满足检验结果预期用途的要求。现用检验程序的任一要素（仪器、试剂、校准品等）变更，如试剂升级、仪器更新、校准品溯源性改变等，应重新进行验证。

4.2 性能验证的参数

临床化学定量检验程序的分析性能参数一般包括：测量正确度、测量精密度（含测量重复性和测量中间精密度）、测量不确定度、分析特异性（含干扰物）、分析灵敏度、检出限和定量限、线性区间（可报告区间）等。实验室应根据不同检验项目的预期用途，选择对检验结果质量有重要影响的参数进行验证。

4.3 性能验证的判断标准

实验室应根据临床需求制定适宜的检验程序分析性能标准。实验室制定性能标准时宜考虑相关制造商或研发者声明的标准、国家标准、行业标准、地方标准、团体标准、公开发表的临床应用指南和专家共识等。

实验室性能验证的结果应满足实验室制定的判断标准。如果性能指标的验证结果不符合实验室制定的判断标准，应分析原因，纠正后再实施验证。

注：如果验证结果符合制造商或研发者声明的性能指标，但不满足实验室制定的判断标准，结果不可接受。

5 实验前准备

5.1 人员

实验操作人员应熟悉方法原理与日常操作，包括样本处理、校准、维护程序、质量控制等，确保检测系统工作状态正常。对于操作较简单的检测程序或仪器，建议操作人员的熟悉过程为 1~3 天。对于操作较复杂的检测程序或仪器，建议操作人员的熟悉过程更长，如 3~5 天。

5.2 验证方案

负责实施性能验证的人员应了解验证方案，制定验证计划，并组织实施。

5.3 仪器设备

实验相关分析仪器及辅助设备的性能指标（如加样精密度、携带污染等）应与标称值相符。

5.4 试剂和校准品

除特殊要求外，验证过程宜使用同一批号的试剂和校准品。

5.5 质量控制

验证过程中应使用适宜的质控品进行室内质量控制。

6 性能验证要求

6.1 正确度验证

实验室可采用偏倚评估、回收试验、与参考方法比对等方式进行正确度的验证。

6.1.1 偏倚评估

6.1.1.1 样本

按照如下优先顺序选用具有互换性的标准物质或基质与待测样本相类似的标准物质：

- 1) 有证标准物质（CRM），包括国家标准物质（如 GBW）、国际标准物质（如 WHO、IFCC）、CNAS 认可的标准物质生产者（RMP）提供的有证标准物质、与我国签署互认协议的其他国家计量机构提供的有证标准物质（如 NIST、JSCC）等；
- 2) 标准物质（RM），如厂商提供的工作标准品；
- 3) 正确度控制品；
- 4) 正确度验证室间质评样本，如 CNAS 认可的 PTP 提供的正确度验证样本。

宜根据测量区间选用至少 2 个浓度水平的标准物质样本。

6.1.1.2 验证方法

每个浓度水平的标准物质样本至少每天重复测定 2 次，连续测定 5 天，记录检测结果，计算全部检测结果的均值，并按公式（1）计算偏倚。

$$\text{偏倚} = \text{结果均值} - \text{参考值} \dots\dots\dots (1)$$

6.1.2 回收试验

6.1.2.1 样本

临床样本（基础样本）和被测物标准品。

6.1.2.2 样本配制

通过称重法配制标准溶液，在临床基础样本中加入不同体积标准溶液（标准溶液体积应少于总体积的 10%），制备至少 2 个水平的样本（样本终浓度在测量区间内）。

6.1.2.3 验证方法

每个样本重复测定 3 次或以上，计算均值浓度，按公式（2）计算回收率。

$$R = \frac{C \times (V_0 + V) - C_0 \times V_0}{V \times C_s} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中： R—回收率；

V—加入标准液体积；

V₀—基础样本的体积；

C—基础样本加入标准液后的测定结果（均值）；

C₀—基础样本的测定结果；

C_s—标准液的浓度。

6.1.3 与参考方法比对

6.1.3.1 样本

适宜的临床样本，不少于 8 份，被测物浓度在测量区间内均匀分布，并关注医学决定水平。

6.1.3.2 参考方法

公认的参考方法，如 CNAS 认可的参考实验室使用的参考方法。

6.1.3.3 验证方法

按照制造商说明书或作业指导书规定的方法对实验方法进行校准/校准验证，宜在相同时段内完成对同一样本的两种方法平行检测，每份样本每个检测方法重复检测 3 次，计算每份样本两种方法检测结果的均值，并按照公式（1）计算偏倚。

6.2 可比性验证

当实验室无法开展正确度验证时，可通过参加能力验证、比对试验等途径，证明其测量结果与同类实验室结果的一致性。如与 CNAS 认可的 PTP（或可提供靶值溯源性证明材料的 PTP）提供的 PT 项目结果进行比对，或与 CNAS 认可的实验室使用的经性能验证符合要求的在用检测程序进行比对。

6.2.1 样本

患者/受试者样本不少于 20 份，被测物浓度、活性等在测量区间内均匀分布，并关注医学决定水平。

使用 PT 样本时应不少于 5 份。

6.2.2 参比系统

经验证分析性能符合预期标准，日常室内质控、室间质评/能力验证合格的检测系统。优先选用符合以上要求的 CNAS 认可实验室的检测系统。

6.2.3 验证程序

按照 WS/T 492-2016 规定的方法进行验证。实验系统均值与参比系统均值的差异在可接受范围内。

检测 PT 样本时，每个样本应重复测定不少于 3 次。

6.3 精密度验证

精密度验证应包括重复性和中间精密度。

6.3.1 样本

可采用新鲜或冻存的样本。当样本中待测物不稳定或样本不易得到时，也可考虑使用基质与实际待检样本相似的样本，如质控品。应至少评估 2 个水平样本的不精密度。当 2 个水平样本的不精密度有显著差异时，建议增加为 3 个水平。所选样本的被测物水平应在测量区间内，适宜时，至少有 1 个样本的被测物水平在医学决定水平左右。

注 1：通常较高值样本的不精密度较小，较低值样本的不精密度偏大。对低值有临床意义的检测项目，宜评估有判断价值的低水平样本的不精密度。

注 2：如检测结果没有明确的医学决定水平，可在参考区间上限左右选一个浓度，再根据检验项目的特点在测量区间内选择另一个浓度。

注 3：如与厂商或文献报导的不精密度比较，所选样本水平宜与被比较的样本水平接近。

6.3.2 重复性验证

6.3.2.1 试剂和校准品

应使用同一批号的试剂和校准品，如适用，只进行一次校准。

6.3.2.2 验证方法

对样本进行至少 10 次重复测定，计算均值、SD 和 CV。

6.3.2.3 质量控制

实验过程中应至少检测一个质控品。当质控结果失控时，不论实验结果是否满意都应弃去不用，重新进行试验以取得全部实验数据。

6.3.2.4 数据收集

在进行数据分析前，检查数据中的离群值。任何结果与均值的差值(离均差)超过 4SD 时，可认为是离群值。进行重复性评估实验时，若离群值数量>1，应怀疑是否为方法不稳定或操作者不熟悉所致，解决问题后再进行新的评估实验。

6.3.2.5 数据分析

依据实验数据计算均值和标准差。

6.3.3 同时验证重复性和中间精密度

6.3.3.1 验证方法

每天检测 1 个分析批，每批检测 2 个水平的样本，每个样本重复检测 3~5 次，连续检测 5 天。

在每一批次测量中，应同时测量质控品。

6.3.3.2 数据收集

在进行数据分析前，可参考 WS/T 492-2016，检查数据中由偶然误差引起的离群值。

6.3.3.3 数据分析

$$\text{批内标准差} \quad S_r = \sqrt{\frac{\sum_{d=1}^D \sum_{i=1}^n (x_{di} - \bar{x}_d)^2}{D(n-1)}} \quad \dots\dots\dots (3)$$

$$\text{批间方差} \quad S_b^2 = \frac{\sum_{d=1}^D (\bar{x}_d - \bar{x})^2}{D-1} \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$\text{实验室内标准差} \quad S_1 = \sqrt{\frac{n-1}{n} \cdot S_r^2 + S_b^2} \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中： D—实验天数

n—每天重复次数

x_{di} —第 d 天第 i 次重复结果

\bar{x}_d —d 天所有结果的均值

\bar{x} —所有结果的均值

6.4 线性区间验证

6.4.1 样本

样本基质应与待检临床实验样本相似，不可采用含有对测定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。在已知线性区间内选择 5~7 个浓度水平，应覆盖定量限（低限和高限）。

6.4.2 样本准备

可将高浓度样本与低浓度样本按预定比例进行稀释得到系列样本。如果高/低浓度样本的值未知，可将每种血清编码，用编码代表每个血清的相对浓度。对于等浓度间隔样本，可用连续整数（如 1、2、3、4 与 5）代表连续样本。进行数据处理时，可用样本号代替浓度值。

示例：下表中描述的样本制备过程是按照等浓度间隔的设计进行的，每个浓度水平的样本量为 1.00ml。

表：5 个浓度水平的样本制备

样本号	1	2	3	4	5
低浓度血清 (ml)	1.00	0.75	0.50	0.25	0.00
高浓度血清 (ml)	0.00	0.25	0.50	0.75	1.00

6.4.3 验证方法

每个浓度水平的样本重复测定 3~4 次。所有样本应在一次运行中或几次间隔很短的运行中随机测定，最好在 1 天之内完成。

6.4.4 数据分析

分别计算每个样本检测结果的均值，排除离群值。

6.4.5 多项回归分析

对数据组进行多项回归分析，得到一阶、二阶或三阶多项式。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（在测量范围两端具有明显的非线性）。

多项式方程如下：

阶数	多项式	回归自由度 (Rdf)
一阶	$Y = a + b_1X$	2
二阶	$Y = a + b_1X + b_2X^2$	3
三阶	$Y = a + b_1X + b_2X^2 + b_3X^3$	4

6.4.6 线性检验

多元回归方程中以 b_i 表示的系数为回归系数。在二阶与三阶方程中， b_2 与 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，判断非线性系数与 0 是否有显著性差异。 b_1 不反映非线性，故不对其进行检验。

对 b_2 与 b_3 的检验方法可参考 WS/T 408-2012，5.2.2。

6.4.7 判断标准

线性验证实验结果为一阶方程式为线性，检测样本的最低值和最高值之间为线性区间，应满足 4.3 的要求。

6.5 可报告范围验证

定量分析方法的报告范围是临床实验室发出检验报告的依据之一，可报告范围的验证包括可报告低限（定量下限）与可报告高限（定量上限×样本最大稀释倍数）。

6.5.1 样本

宜选择与待测样本具有相同基质的样本。

6.5.2 样本准备

以血清样本为例。低值样本准备：将待测样本（含被分析物）用混合人血清（含被分析物浓度水平较低）或 5%牛血清白蛋白生理盐水溶液进行稀释，产生接近于方法测量区间低限（定量下限）浓度水平的样本，通常为 3~5 个浓度水平，浓度间隔应小于测量区间低限的 20%。

高值样本准备：使用混合血清或 5%牛血清白蛋白生理盐水溶液或测定方法要求的稀释液对高值待测样本（必要时可添加被分析物，并计算出理论值）进行稀释，使其接近于线性范围的上 1/3 区域内，并记录稀释倍数。至少选用 3 个高

浓度样本，稀释倍数应为方法性能标明的最大稀释倍数并适当增加或减小稀释比例。

6.5.3 验证方法

在一次运行中将每个低值样本重复测定 5~10 次，每个高值样本重复测定 3 次。

6.5.4 数据分析

分别计算每个低值样本的均值、SD、CV 值。

对高值样本，计算乘以稀释倍数后的还原浓度和相对偏差。

6.5.5 可报告范围的确定

6.5.5.1 可报告范围低限（定量下限）

以方法性能标示的总误差或不确定度为可接受限值，从低值样本结果数据中选取总误差或不确定度等于或小于预期值的最低浓度水平作为可报告范围低限。部分检验项目，如促甲状腺激素（TSH）、肌钙蛋白 I（TnI），在低浓度水平具有重要临床意义，在验证可报告范围低限（定量下限）时，应特别关注其结果与预期标准的符合性。

6.5.5.2 可报告范围高限

选取还原浓度与理论浓度的偏差（%）等于或小于方法预期偏倚值时的最大稀释倍数为方法推荐的最大稀释倍数，测量区间的高限与最大稀释倍数的乘积为该方法的报告范围的高限。可报告范围高限的确定应考虑临床需求。

注：超出可报告范围时，实验室检测结果不能满足其预期总误差或不确定度的要求。

6.6 分析特异性验证

6.6.1 样本

宜选取被测量水平不同的 2 个样本为基础样本，可参考医学决定水平或参考区间限值。WS/T 416-2013 附录 B 中列出了常见被测量的建议实验浓度。

6.6.2 干扰物质选择

宜根据检测方法的原理和预期用途选择常见的可能产生干扰作用的物质，至少应考虑样本中的异常物质如：血红蛋白（溶血）、胆红素（黄疸）、甘油三酯（脂血），适宜时，还应考虑文献中提及的有关干扰物，如药物、抗凝剂等。

6.6.3 验证方法

6.6.3.1 干扰物原液中干扰物的浓度应高于实验浓度 20 倍以上，以减少对基础样本基质的稀释作用。

6.6.3.2 实验样本与对照样本的制备方法可参考 WS/T 416-2013 表 2。

6.6.3.3 重复检测 ($n \geq 3$) 实验样本和对照样本，分别计算 2 组结果均值，和均值间的差值。

6.6.4 判断标准

满足干扰标准时的最高干扰物浓度，应符合检测方法规定的要求。

6.7 分析灵敏度验证（参见 GB/T 26124-2011）

6.7.1 样本

宜选取与待测样本相同基质的样本，浓度或活性已知，且水平处于参考区间上限（或医学决定水平）附近。

6.7.2 验证方法

在检测方法正常运行的条件下重复检测样本 3 次，记录吸光度改变。

6.7.3 数据分析

将实验结果的吸光度改变换算为 n 单位被测物的吸光度差值 (ΔA) 或 n 单位被测物的吸光度变化率 ($\Delta A/\text{min}$)。

6.7.4 判断标准

实验结果符合检测程序规定的范围，如企业标准。