

中华人民共和国卫生行业标准

WS/T 356—2011

基质效应与互通性评估指南

Guideline for evaluation of matrix effects and commutability

2011-12-14 发布

2012-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由卫生部临床检验标准专业委员会提出。

本标准起草单位：卫生部临床检验中心。

本标准主要起草人：张传宝、闫颖、周伟燕、张天娇、赵海舰、陈文祥。

基质效应与互通性评估指南

1 范围

本标准适用于体外诊断产品生产商、临床实验室、室间质量评价及能力验证组织者。本标准适用的待评价样品包括标准物质、校准物、室内质控物和室间质评/能力验证物质等制备物。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

某一物质系统的(基质) matrix (of a material system)

一个物质系统中除被分析物之外的所有成分。

2.2

基质效应 matrix effect

被测量以外的某种样品特性对测量因而对被测量的值的影响。

2.3

互通性 commutability

在两种不同(指定)测量系统中,进行相同量的测量时,某一物质测量结果间的数字关系,与用此相同测定方法测量其他相关类型的物质(如:实际临床样品)时得的数字关系一致程度。

2.4

溯源性 traceability

通过一条具有规定不确定度的不间断的比较链,使测量结果或测量标准的值能够与规定的参考标准,通常是与国家标准或国际标准联系起来特性。

3 评估原理

在临床常规测定中,待测物的检测信号与其活性或浓度的关系通常会受到环境条件(如温度或基质)的影响。只有极少数的分析测量技术是完全特异的,因此两种测量方法之间的关系很大程度上依赖于所选择的待测样品的性质。由于临床检验分析的对象是临床样本,故在本评估标准中亦使用一批具有代表性的临床样本作为比对标准。

评估方式如下:用两种测定方法同时对选定的一系列具有代表性的临床样品和制备样品进行分析,利用两种方法测定临床样品的结果建立数学关系(回归)。制备样品测定的结果偏离这一数学关系的程度即反映其基质效应的大小。一般来说,制备样品与临床样品的性质差异越大,数据的偏离程度将越大,该物质的互通性越差。

4 实验方法

4.1 材料

4.1.1 比对方法和评估方法所用的试剂、校准物和仪器。

要求比对方法对于制备样品(校准物或质控样品)没有或只有轻微基质效应。比对方法选择顺序如下:

- 一级参考方法(如同位素稀释质谱法测定胆固醇);
- 二级参考方法(如美国 CDC 改良的 Abell-Kendall 法测定胆固醇);
- 指定的比对方法(如美国 CDC 的 HDLC 指定比对方法:硫酸葡聚糖-镁离子沉淀法制备 HDL,用胆固醇二级参考方法测定胆固醇);
- 常规测定方法。

注:理想的比对方法应为无基质效应的参考方法或者指定的比对方法。在实际工作中也可选用常规方法作为比对方法,但是在这种情况下,比较难以判断基质效应是来自于比对方法拟或评估方法。

4.1.2 制备样品(如参考物质、校准物、质控样品)。

4.1.3 20 份新鲜临床病人样本。

在实验浓度范围内,临床样本的分析物浓度或活性浓度应均匀分布,并涵盖制备样品的浓度范围。应选择具有代表性的临床样本(如健康人和患者的样本),避免使用含有已知干扰物的样品。若明确冰冻样本不影响测定,亦可采用新鲜冰冻样本。

注 1:为便于实验,可根据实验批次计算样本份数,将实验样品分装后进行保存。

注 2:某些情况下,为了提供更多的数据,需要增加新鲜临床病人样本的个数。

4.2 步骤

4.2.1 准备实验样品。

4.2.2 将制备样品与 20 份新鲜临床样品随机穿插排列,分别使用评估方法与比对方法测定所有样品,重复测定 3 批,每批每个样品测定 1 次,每批测定都需校准。评估方法与比对方法宜同步进行,若不能实现同步测定,应在适宜的条件下储存样本。

4.2.3 使用合适的方法剔除离群值,如 Grubbs 法。

4.2.4 实验完成后,将实验样本在适宜条件下保存。如在数据分析过程中发现问题,有必要选用其他比对方法(如决定性方法或参考方法)对样品进行重新测定。

4.3 数据分析

4.3.1 利用新鲜临床样品及制备样品重复测定结果的均值(使用不同符号)作散点图,Y 轴为评估方法结果,X 轴为比对方法结果。

4.3.2 根据新鲜临床样品测定结果散点的分布方式,选择合适的回归分析方法。

4.3.2.1 线性回归分析方法如下:

——目视,评估方法和比对方法测定结果呈线性关系,无明显弯曲;在实验浓度范围内,临床样本的评估方法测定值(回归线的 Y 轴)呈均匀分布。

——检查数据是否适合回归分析(参考最新版 CLSI/NCCLS 文件 EP6-定量测定方法的线性评估:统计方法)。

——将评估方法测定临床样品结果的均值作为 y 值,比对方法测定临床样品的均值作为 x 值,进行线性回归分析(见附录 A)。

4.3.2.2 多项式回归分析[多项式回归指二项式回归以上(包括)的回归模式,一项式即线性回归]

采用合适的统计分析软件(如 SPSS)进行多项式回归分析,以比对方法测定每个临床样本的均值为自变量(X 轴),评估方法测定每个样本的均值为因变量(Y 轴),求出最佳拟合回归方程,以期得到最小的置信区间(见 4.3.4),提高检出基质效应的能力。若最佳拟合为二项式,则回归方程为: $y=a_0+a_1x+a_2x^2$ 。对该二项式回归方程中的回归系数 a_2 进行统计分析,若 a_2 与 0 有显著性差异(如 t 检验结果

$p < 0.05$), 则采用此二项式回归模式; 若 a_2 与 0 无显著性差异 (如 $p > 0.05$), 则使用线性回归分析。

注: 若两种方法测定结果之间不呈线性, 很可能是因为 20 个临床样品的浓度范围分布较窄, 建议增加样本以得到更宽的 x 值范围, 不可利用 20 个样本的数据来判定非线性的原因出自何处。

4.3.3 若临床样品测定结果分布近似等比数列 (如 20, 40, 80, 160), 而非均匀 (如 20, 30, 40, 50, 60, 70), 可将测定结果进行对数转换后再进行分析。

4.3.4 用公式(1)计算给定 x 值下 (重复测量均值), 新鲜临床样品评估方法测定均值 y 的双侧 95% 置信区间。

$$\bar{y}_{\text{pred}} \pm t(0.975, n-2) S_{y,x} \sqrt{\left[1 + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{x}_i - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}\right]}$$

式中:

\bar{y}_{pred} —— 根据回归曲线, 计算出来的在 x 值的 y 值;

n —— 新鲜患者样本数量;

g —— 常数项, 线性回归时为 2, 二次回归时为 3;

$S_{y,x}$ —— 回归标准误, 计算公式为 $[\sum (y_{\text{pred}} - \bar{y}_i)^2 / (n - g)]^{1/2}$;

\bar{x}_i —— X 轴上第 i 个值 (某样本比对方法测定均值);

\bar{y}_i —— Y 轴上第 i 个值 (某样本评估方法测定均值);

\bar{x} —— 所有样本比对方法测定均值的整体均值。

利用以上方程, 将比对方法测定均值作为 X 轴, 计算每个制备样本的 y 值的 95% 置信区间, 如果评估方法的测定均值落在该区间内, 说明该制备样本对评估方法无基质效应, 表明该物质在比对方法和评估方法间具有互通性。需注意的是, 若两种测定方法间的特异性差异较大, 测定结果间的相关性将会受到影响, 从而导致计算出来的置信区间偏大, 以至于无法检出不太显著的基质效应, 影响最终的结论。

4.3.5 在散点图上, 可将一系列临床样品的比对方法测定均值 (x) 与对应的 y 值的 95% 预测区间在回归线两边标记出来 (见附录 B)。若制备样品的点落在预测区间线条之外则说明存在基质效应 (见附录 B)。若制备样品的点在置信区间内, 则表明不存在基质效应 (见附录 B)。

注: 若回归曲线附近的数据点分布和待测物浓度的关系既非比例关系亦非恒定关系, 宜将数据分成几组较小的浓度区间, 在每个区间内单独进行线性回归分析。区间组的划分标准为: 每组内新鲜临床样品结果的分布保持大体一致, 每组应至少含有 10 份新鲜临床样品的数据, 且包含制备样品。

附录 A
(资料性附录)

数据分析-酶法肌酐测定试剂盒基质效应评估-直线回归

表 A.1 数据分析-酶法肌酐测定试剂盒基质效应评估-直线回归

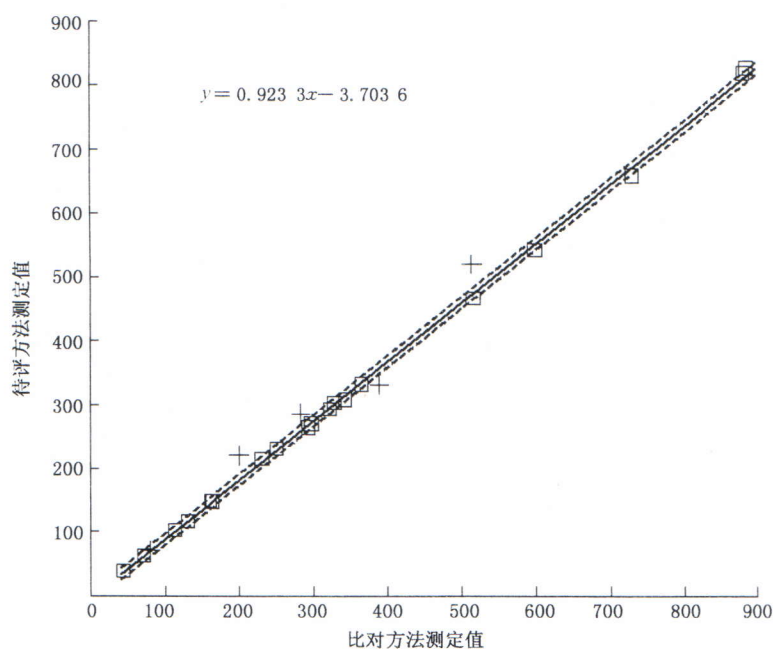
样品	比对方法		评估方法				
	均值(\bar{x}_i)	$(\bar{x}_i - \bar{x})^2$	均值(\bar{y}_i)	\bar{y}_{pred}	$(\bar{y}_{pred} - \bar{y}_i)^2$	95%上限	95%下限
新鲜血清 1	129.3	50 273.6	116.3	115.8	0.3	125.0	106.5
新鲜血清 2	881.9	279 195.2	820.0	810.6	87.6	820.7	800.6
新鲜血清 3	163.3	36 196.1	147.7	147.1	0.3	156.3	138.0
新鲜血清 4	886.4	283 894.7	827.3	814.7	158.9	824.8	804.7
制备物 1	200.0	—	220.0	181.0	—	190.1	171.9
新鲜血清 5	298.3	3 050.7	269.0	271.8	7.7	280.8	262.7
新鲜血清 6	112.5	58 090.9	103.3	100.2	9.6	109.5	91.0
新鲜血清 7	322.9	939.5	292.7	294.5	3.3	303.5	285.4
新鲜血清 8	293.3	3 635.0	263.7	267.1	11.8	276.1	258.1
制备物 2	80.0	—	70.0	70.2	—	79.2	61.2
新鲜血清 9	599.9	60 698.7	541.5	550.3	76.6	559.5	541.0
新鲜血清 10	730.6	142 195.9	658.5	670.9	154.8	680.5	661.4
新鲜血清 11	250.3	10 658.2	230.0	227.5	6.5	236.5	218.4
新鲜血清 12	516.7	26 630.0	466.0	473.4	55.5	482.6	464.3
制备物 3	283.0	—	285.0	257.6	—	266.8	248.5
新鲜血清 13	160.9	37 130.0	149.0	144.9	17.1	154.0	135.7
新鲜血清 14	70.8	79 948.5	63.5	61.7	3.2	71.0	52.4
新鲜血清 15	43.7	96 020.2	39.0	36.7	5.4	46.0	27.3
新鲜血清 16	343.5	101.3	307.5	313.5	35.8	322.5	304.5
制备物 4	390.0	—	330.0	356.4	—	365.7	347.2
新鲜血清 17	230.8	15 066.5	215.0	209.4	30.9	218.5	200.4
新鲜血清 18	366.2	160.3	331.0	334.5	12.0	343.5	325.4
新鲜血清 19	328.7	617.1	302.5	299.8	7.1	308.9	290.8
新鲜血清 20	340.9	159.9	312.0	311.1	0.8	320.1	302.1
制备物 5	515.2	—	520.0	472.1	—	481.4	462.7

注 1: 项目:肌酐,单位:μmol/L。
注 2: 比对方法:ID-LC/MS/MS(同位素稀释液相色谱串联质谱方法),评估方法:日立 7170A/酶法肌酐测定试剂盒。

附 录 B
(资料性附录)
制备样品基质效应评估

表 B.1 制备样品基质效应评估

样本	均值 (\bar{x}_i)	均值 (\bar{y}_i)	\bar{y}_{pred}	95% 上限	95% 下限	判断
制备物 1	200.0	220.0	181.0	190.1	171.9	正基质效应
制备物 2	80.0	70.0	70.2	79.2	61.2	无基质效应
制备物 3	283.0	285.0	257.6	266.8	248.5	正基质效应
制备物 4	390.0	330.0	356.4	365.7	347.2	负基质效应
制备物 5	515.2	520.0	472.1	481.4	462.7	正基质效应



图中实线为新鲜血清样品测定的回归曲线,虚线为其预测值 y 的 95% 置信区间;“□”代表新鲜血清,“+”代表制备物。凡是落在虚线范围外的“+”,均判断为有基质效应。

图 B.1 基质效应分析图

参 考 文 献

- [1] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Matrix Effects; Approved Guide-line—Second Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute document EP14-A2 (ISBN 1-56238-561-5)
- [2] 周伟燕,赵海舰,张江涛,等. 血清总甘油测定基质效应的研究. 中华检验医学杂志,2008;31(5): 568-573
- [3] 张传宝,陈忠余,马嵘,等. 血清肌酐测定基质效应的研究. 中华检验医学杂志,2009,32(5)
- [4] 赵海舰,周伟燕,张传宝,等. 血清总胆固醇测定的基质效应研究. 现代检验医学杂志,2009,24(3)
-